

ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В.Н. КАРАЗІНА
МІНІСТЕРСТВА ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ЧИЖ МИКОЛА ОЛЕКСІЙОВИЧ

УДК: 616.12-009.72-085.31:615.38:577.3

ДИСЕРТАЦІЯ
**ІМУНОРЕГУЛЯТОРНІ МЕХАНІЗМИ КАРДІОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ
МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН ТА КРІОЕКСТРАКТІВ
СЕРЦЯ В УМОВАХ ІШЕМІЧНО-НЕКРОТИЧНОГО
УРАЖЕННЯ МІОКАРДА**

4.03.08 – Імунологія та алергологія

**Подається для здобуття наукового ступеня
ДОКТОРА МЕДИЧНИХ НАУК**

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело. При написанні тексту дисертації не використовувалися технології штучного інтелекту

(Підпис здобувача)

М.О. Чиж
(Ініціали та прізвище)

АНОТАЦІЯ

Чиж М.О. Імунорегуляторні механізми кардіопротекторної дії мезенхімальних стромальних клітин та кріоекстрактів серця в умовах ішемічно-некротичного ураження міокарда. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук (наукова спеціальність 14.03.08 – Імунологія та алергологія). Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, 2026. – 536 с.

Дисертаційна робота присвячена експериментальному обґрунтуванню нового вирішення наукової проблеми, спрямованої на дослідження кардіопротекторних, імуномодулювальних, регенеративних та метаболічних механізмів дії мезенхімальних стромальних клітин та екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят у моделях гострої ішемії та некрозу міокарда. Актуальність роботи зумовлена потребою у створенні високоефективних і безпечних біотехнологічних підходів для лікування гострих ішемічних та некротичних станів серця, з урахуванням обмежень, характерних для сучасних клітинних технологій.

Дослідження проведено на 916 нелінійних лабораторних щурах-самцях на базі віварію Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України.

Мета роботи – експериментально обґрунтувати кардіопротекторний потенціал мезенхімальних стромальних клітин та екстрактів кріоконсервованих фрагментів серцевої тканини шляхом вивчення їхніх імуномодулювальних, репаративних та регенеративних механізмів дії для підвищення ефективності й безпечності терапії гострого коронарного синдрому.

Для досягнення поставленої мети потребують вирішення такі **завдання**:

1. Дослідити біотехнологічні та імунологічні механізми формування експериментального некрозу міокарда, порівняти електрофізіологічні, морфологічні та імунні особливості різних моделей (перев'язка ЛВА, кріодеструкція, адреналінова міокардіодистрофія) та з'ясувати ключові патогенетичні відмінності між ними.
2. Вивчити фізико-хімічні властивості альгінатних гідрогелів і визначити динаміку екстракції біоактивних пептидів *in vitro* та *in vivo*; оцінити швидкість біодеградації гідрогелю в тканинах та вплив екстрагованих пептидів на клітини імунної системи.
3. Оцінити кардіопротекторний ефект мезенхімальних стромальних клітин (МСК) і кріоекстрактів серця пореєт за даними електрофізіологічних досліджень у різних моделях гострої ішемії та некрозу міокарда, встановити їхній вплив на провідність, ритм та відновлення функціонального стану серця.
4. Дослідити морфофункціональні зміни та ремоделювання міокарда під впливом МСК і кріоекстрактів за даними ультразвукового дослідження, визначити взаємозв'язок між ехокардіографічними показниками, інтенсивністю запалення та балансом Treg/Th17.
5. Встановити антиоксидантні та метаболічні ефекти МСК і кріоекстрактів у моделях гострої ішемії та кріонекрозу міокарда; дослідити їхній вплив на показники оксидантно-антиоксидантної рівноваги, гематологічні та біохімічні параметри.
6. Проаналізувати модульовальний вплив кріоекстрактів серця на біоенергетичні, антиоксидантні та метаболічні процеси при адреналіновій міокардіодистрофії, оцінити зміни глікогенолізу, лактатно-піруватного обміну та інтенсивності вільнорадикального окиснення.
7. Охарактеризувати морфологічні та ультраструктурні процеси деструкції й репарації кардіоміоцитів під впливом МСК і кріоекстрактів у моделях

перев'язки ЛВА, кріодеструкції та адреналінового ушкодження; визначити їхній внесок у відновлення архітекtonіки міокарда.

8. Провести імуногістохімічний аналіз для виявлення змін кількості CD68⁺ макрофагів, співвідношення M1/M2, інтенсивності апоптозу та автоімунних ушкоджень (TUNEL, IgG-депозиції) з метою встановлення імунних механізмів кардіопротекторної дії МСК і кріоекстрактів.

Об'єкт дослідження – перебіг деструктивно-відновлювальних змін у міокарді на тлі експериментальної гострої ішемії та некротичного ушкодження серця.

Предмет дослідження – біологічні, імунні та регенеративні властивості мезенхімальних стромальних клітин і екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят.

Детальний аналіз трьох патогенетично різних моделей ушкодження – ішемічної (перев'язка лівої коронарної артерії (ЛВА)), кріогенної (кріонекроз) та метаболічної (адреналінова міокардіодистрофія) – показав значні відмінності у характері запалення, клітинної інфільтрації, метаболічних зрушень та морфогенезу ушкоджень, що визначає різну чутливість структур міокарда до дії клітинних і безклітинних препаратів.

У роботі встановлено, що МСК та кріоекстракти чинять багатофакторну кардіопротекторну дію, яка проявляється зменшенням зони ушкодження, пригніченням оксидативного стресу та нормалізацією антиоксидантного захисту. Зокрема, застосування МСК знижувало рівень малонового діальдегіду на 35–40%, підвищувало активність СОД на 28–32% і збільшувало вміст АТФ у кардіоміоцитах на 20%. Кріоекстракт серця зменшував МДА на 30–35%, підвищував активність каталази та СОД на 22–25%, а лактат/піруват нормалізувався з 3,1 до 1,7, що свідчило про зниження анаеробного зсуву.

Показано, що моделі ушкодження істотно відрізняються за патогенезом: при кріонекрозі кількість нейтрофілів у зоні ушкодження у перші 24 год зростала у 3–3,5 рази, а співвідношення M1/M2 макрофагів досягало 2,4, тоді як

МСК знижували його до 1,1. При ішемії, спричиненій перев'язкою ЛВА, спостерігалася найбільша депресія сегмента ST – до 0,25–0,3 mV, що зменшувалася після введення МСК на 0,12 mV, а амплітуда R зростала на 18–22%. У моделі адреналінової міокардіодистрофії концентрація IL-1 β збільшувалася у 2,1 раза, TNF- α – у 1,8 раза, тоді як кріоекстракт знижував їх на 30–40%.

Ультразвукове дослідження підтвердило функціональні переваги терапії: МСК зменшували КДР ЛШ на 8–10% та підвищували фракцію викиду з 42–45% до 55–58%. Композит «альгінат–екстракт» у моделі кріодеструкції зменшував площу гіперехогенних зон на 25–30% та нормалізував локальну скоротливість. У моделі адреналінової міокардіодистрофії кріоекстракти знижували LF/HF із 3,8 до 1,9, що вказувало на відновлення автономної регуляції серця.

Морфологічний аналіз показав, що МСК зменшували набряк і сегментарний лізис міофібрил на 35–40%, збільшували кількість функціональних мітохондріальних крист та прискорювали відновлення міжміофібрилярних контактів. Кріоекстракти знижували площу некрозу при кріодеструкції на 25–30%, зменшували вакуолізацію цитоплазми і відновлювали розподіл глікогену на 25%. Кількість TUNEL⁺ ядер у групах лікування зменшувалася на 40–45%, а інтенсивність IgG-депозитів – у 1,8 раза, що свідчило про зменшення апоптозу та автоімунного ушкодження.

Окремий напрямок дослідження був присвячений застосуванню альгінатних гідрогелів як систем контрольованого вивільнення пептидів. Показано, що композити «альгінат–екстракт» забезпечують пролонговане вивільнення біоактивних речовин, зберігають локалізацію в тканині, модифікують запальну відповідь та сприяють покращенню функціональних параметрів серця, що дає підстави розглядати їх як перспективні біоматеріали для регенеративної терапії. Альгінатні гідрогелі як система контрольованого вивільнення: *in vitro* вивільняли 40–45% пептидів упродовж перших 24 год, тоді як *in vivo* – 20–25%, з подальшою деградацією протягом 7–14 діб. У культурах

макрофагів екстракти знижували експресію M1-маркерів та збільшували частку CD206⁺ клітин, а рівень IL-10 у Т-лімфоцитах підвищувався на 30–40%.

Узагальнено встановлено, що МСК та кріоекстракти забезпечують подібні кінцеві кардіопротекторні ефекти, але реалізують їх через різні механізми, зумовлені типом ушкодження. МСК є оптимальними для ішемічних станів із вираженою структурною деструкцією, тоді як кріоекстракти проявляють переваги при кріонекрозі та стрес-індукованій міокардіодистрофії. Важливо, що безклітинні біопрепарати позбавлені юридичних та етичних обмежень, властивих клітинним продуктам, що значно полегшує їхнє потенційне клінічне застосування.

Отримані результати створюють наукове підґрунтя для розробки та впровадження нових клітинних і безклітинних кардіопротекторних біотехнологій у регенеративній кардіології та терапії гострих і хронічних форм ушкодження міокарда.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що в дисертації **вперше:**

- комплексно досліджено механізми кардіопротекторної, імуномодулювальної, антиоксидантної та метаболічної дії мезенхімальних стромальних клітин (МСК) та екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят у трьох патогенетично різних моделях гострого ушкодження міокарда – перев'язки лівої коронарної артерії, локального кріонекрозу та адреналінової міокардіодистрофії.
- охарактеризовано біотехнологічні та імунологічні закономірності формування експериментального кріонекрозу міокарда, що дозволило виділити специфічні відмінності між моделями за електрофізіологічними, морфологічними та імунними реакціями.
- досліджено динаміку екстракції біоактивних пептидів з альгінатних гідрогелів *in vitro* та *in vivo* та встановлено взаємозв'язок між їх вивільненням і швидкістю біодеградації гідрогелю в тканинах, що дало

можливість створити керовану систему локального транспорту біомолекул у міокард.

- продемонстровано, що екстракти кріоконсервованих фрагментів серця, імпрегновані в альгінатний гідрогель, відновлюють електрофізіологічну провідність, зменшують зону некрозу та модулюють запальну відповідь, а ефект зіставляваний з МСК, але реалізується через безклітинні механізми.
- показано диференційовані механізми дії МСК та кріоекстрактів: МСК переважно впливають на ремоделювання, імунний баланс (Treg/Th17), регуляцію макрофагальних популяцій та структурну репарацію міокарда, тоді як кріоекстракти – на метаболічну адаптацію, глікогеноліз, антиоксидантний захист, лактат-піруватний обмін та пригнічення NLRP3-активації через контроль ROS.
- встановлено морфологічні та ультраструктурні маркери репаративної дії МСК і кріоекстрактів, зокрема зменшення апоптозу, IgG-депозитів і нормалізацію кількості CD68⁺ M1/M2 макрофагів у зоні ураження.
- доведено, що безклітинні кріоекстракти кріоконсервованої серцевої тканини можуть бути ефективною альтернативою МСК, забезпечуючи порівнянний кардіопротекторний ефект, але без етичних, імунологічних і регуляторних обмежень клітинної терапії.

Практичне значення отриманих результатів полягає в тому, що викладені в дисертаційному дослідженні положення мають виразну теоретико-прикладну спрямованість і можуть бути використані у:

- **науково-дослідній діяльності** – як підґрунтя для подальших поглиблених досліджень кардіопротекторних, метаболічних, антиоксидантних та імуномодулювальних ефектів мезенхімальних стромальних клітин і кріоекстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят. Результати створюють передумови для розробки нових біосумісних терапевтичних платформ та клінічно орієнтованих регенеративних технологій у кардіології.

- *практичній діяльності закладів охорони здоров'я* – для науково обґрунтованого розширення показань до медичного застосування безклітинних біопрепаратів.
- *освітньому процесі* – як науково обґрунтована база для розширення відомостей про сучасні клітинні та безклітинні біотехнології, механізми кардіопротекції, імуномодуляції та регенерації міокарда у викладанні дисциплін біомедичного профілю.

Ключові слова: мезенхімальні стромальні клітини, екстракти кріоконсервованих фрагментів серця, гостра ішемія міокарда, серцева недостатність, гіпертонічна хвороба, адреналінова (епінефринова) міокардіодистрофія, варіабельність серцевого ритму, перикисне окиснення ліпідів, оксидативний стрес, запалення, прозапальні та протизапальні цитокіни, апоптоз, ультразвукове дослідження, місцева анестезія, печінка, імуногістохімія, імунітет, імунна система, Т-лімфоцити, імунна відповідь.

ANNOTATION

Chyzh M.O. Immunoregulatory mechanisms of cardioprotective action of mesenchymal stromal cells and cryoextracts of the heart in conditions of ischemic-necrotic myocardial damage. Qualification scientific work in the form of a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Medical Sciences (scientific specialty 14.03.08 – Immunology and allergology). V. N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Sciences of Ukraine, Kharkiv, 2026. – 536 p.

The dissertation work is devoted to the experimental substantiation of a new solution to a scientific problem aimed at studying the cardioprotective, immunomodulatory, regenerative and metabolic mechanisms of action of mesenchymal stromal cells and extracts of cryopreserved piglet heart fragments in models of acute ischemia and myocardial necrosis. The relevance of the work is due to the need to create highly effective and safe biotechnological approaches for the

treatment of acute ischemic and necrotic heart conditions, taking into account the limitations characteristic of modern cellular technologies.

The study was conducted on 916 nonlinear male laboratory rats on the basis of the vivarium of the Institute of Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NAS of Ukraine.

The aim of the work is to experimentally substantiate the cardioprotective potential of mesenchymal stromal cells and extracts of cryopreserved fragments of heart tissue by studying their immunomodulatory, reparative and regenerative mechanisms of action to increase the effectiveness and safety of acute coronary syndrome therapy.

To achieve the set goal, the following tasks need to be **solved**:

1. To investigate the biotechnological and immunological mechanisms of experimental myocardial necrosis formation, to compare the electrophysiological, morphological and immune features of different models (LCA ligation, cryodestruction, adrenaline myocardial dystrophy) and to identify the key pathogenetic differences between them.
2. To study the physicochemical properties of alginate hydrogels and determine the dynamics of extraction of bioactive peptides in vitro and in vivo; to assess the rate of hydrogel biodegradation in tissues and the effect of extracted peptides on immune system cells.
3. To assess the cardioprotective effect of mesenchymal stromal cells and cryoextracts of piglet hearts according to electrophysiological studies in various models of acute ischemia and myocardial necrosis, to establish their effect on conduction, rhythm and restoration of the functional state of the heart.
4. To investigate morphofunctional changes and remodeling of the myocardium under the influence of MSCs and cryoextracts according to ultrasound data, to determine the relationship between echocardiographic parameters, inflammation intensity and Treg/Th17 balance.
5. To establish the antioxidant and metabolic effects of MSCs and cryoextracts in models of acute ischemia and myocardial cryonecrosis; to investigate their

effect on indicators of oxidant-antioxidant balance, hematological and biochemical parameters.

6. To analyze the modulating effect of heart cryoextracts on bioenergetic, antioxidant and metabolic processes in adrenaline myocardial dystrophy, to evaluate changes in glycogenolysis, lactate-pyruvate metabolism and the intensity of free radical oxidation.
7. To characterize the morphological and ultrastructural processes of destruction and repair of cardiomyocytes under the influence of MSCs and cryoextracts in models of LCA ligation, cryodestruction and adrenaline injury; to determine their contribution to the restoration of myocardial architectonics.
8. To conduct immunohistochemical analysis to detect changes in the number of CD68⁺ macrophages, the M1/M2 ratio, the intensity of apoptosis and autoimmune damage (TUNEL, IgG-deposits) in order to establish the immune mechanisms of the cardioprotective effect of MSCs and cryoextracts.

The object of the study is the course of destructive-regenerative changes in the myocardium against the background of experimental acute ischemia and necrotic heart damage.

The subject of the study is the biological, immune and regenerative properties of mesenchymal stromal cells and extracts of cryopreserved piglet heart fragments.

A detailed analysis of three pathogenetically different models of injury – ischemic (ligation of the left coronary artery (LCA)), cryogenic (cryonecrosis) and metabolic (adrenaline myocardial dystrophy) – showed significant differences in the nature of inflammation, cellular infiltration, metabolic shifts and morphogenesis of injuries, which determines the different sensitivity of myocardial structures to the action of cellular and acellular preparations.

The work established that MSCs and cryoextracts have a multifactorial cardioprotective effect, which is manifested by a reduction in the area of injury, suppression of oxidative stress and normalization of antioxidant protection. In particular, the use of MSCs reduced the level of malondialdehyde by 35–40%,

increased SOD activity by 28–32% and increased the ATP content in cardiomyocytes by 20%. Heart cryoextract reduced MDA by 30–35%, increased catalase and SOD activity by 22–25%, and lactate/pyruvate normalized from 3.1 to 1.7, indicating a decrease in anaerobic shift.

It was shown that the injury models differ significantly in pathogenesis: in cryonecrosis, the number of neutrophils in the injury zone increased 3–3.5 times in the first 24 h, and the M1/M2 ratio of macrophages reached 2.4, while MSCs reduced it to 1.1. In ischemia caused by LCA ligation, the greatest depression of the ST segment was observed – up to 0.25–0.3 mV, which decreased after the introduction of MSCs by 0.12 mV, and the R amplitude increased by 18–22%. In the model of adrenocortical myocardial dystrophy, the concentration of IL-1 β increased by 2.1 times, TNF- α by 1.8 times, while the cryoextract reduced them by 30–40%.

Ultrasound examination confirmed the functional benefits of therapy: MSCs reduced LV DRR by 8–10% and increased the ejection fraction from 42–45% to 55–58%. The «alginate–extract» composite in the cryodestruction model reduced the area of hyperechoic zones by 25–30% and normalized local contractility. In the model of adrenocortical myocardial dystrophy, the cryoextracts reduced LF/HF from 3.8 to 1.9, which indicated the restoration of autonomic regulation of the heart.

Morphological analysis showed that MSCs reduced myofibril swelling and segmental lysis by 35–40%, increased the number of functional mitochondrial cristae, and accelerated the recovery of intermyofibrillar contacts. Cryoextracts reduced the area of necrosis during cryodestruction by 25–30%, reduced cytoplasmic vacuolization, and restored glycogen distribution by 25%. The number of TUNEL⁺ nuclei in the treatment groups decreased by 40–45%, and the intensity of IgG deposits decreased by 1.8 times, indicating a decrease in apoptosis and autoimmune damage.

A separate area of research was devoted to the use of alginate hydrogels as systems for the controlled release of peptides. It has been shown that the «alginate–extract» composites provide prolonged release of bioactive substances, maintain localization in the tissue, modify the inflammatory response and contribute to the improvement of functional parameters of the heart, which gives grounds to consider

them as promising biomaterials for regenerative therapy. Alginate hydrogels as a controlled release system: in vitro released 40–45% of peptides during the first 24 h, while in vivo – 20–25%, with subsequent degradation within 7–14 days. In macrophage cultures, the extracts reduced the expression of M1 markers and increased the proportion of CD206⁺ cells, and the level of IL-10 in T lymphocytes increased by 30–40%.

It was generally established that MSCs and cryoextracts provide similar final cardioprotective effects, but implement them through different mechanisms determined by the type of damage. MSCs are optimal for ischemic conditions with pronounced structural destruction, while cryoextracts show advantages in cryonecrosis and stress-induced myocardial dystrophy. Importantly, cell-free biologics are free from the legal and ethical restrictions inherent in cell products, which greatly facilitates their potential clinical application.

The results obtained create a scientific basis for the development and implementation of new cellular and cell-free cardioprotective biotechnologies in regenerative cardiology and therapy of acute and chronic forms of myocardial damage.

The scientific novelty of the results obtained lies in the fact that the dissertation for the ***first time***:

- comprehensively investigated the mechanisms of cardioprotective, immunomodulatory, antioxidant and metabolic action of mesenchymal stromal cells (MSCs) and extracts of cryopreserved piglet heart fragments in three pathogenetically different models of acute myocardial injury – left coronary artery ligation, local cryonecrosis and adrenaline myocardial dystrophy.
- characterized the biotechnological and immunological patterns of the formation of experimental myocardial cryonecrosis, which allowed us to identify specific differences between the models in terms of electrophysiological, morphological and immune reactions.
- the dynamics of extraction of bioactive peptides from alginate hydrogels in vitro and in vivo were investigated and the relationship between their release

and the rate of biodegradation of the hydrogel in tissues was established, which made it possible to create a controlled system of local biotransport.

- it was demonstrated that extracts of cryopreserved heart fragments impregnated in alginate hydrogel restore electrophysiological conductivity, reduce the area of necrosis and modulate the inflammatory response, and the effect is comparable to MSCs, but is implemented through cell-free mechanisms.
- the differentiated mechanisms of action of MSCs and cryoextracts are shown: MSCs mainly affect remodeling, immune balance (Treg/Th17), regulation of macrophage populations and structural repair of the myocardium, while cryoextracts – on metabolic adaptation, glycogenolysis, antioxidant protection, lactate-pyruvate metabolism and inhibition of NLRP3 activation through ROS control.
- morphological and ultrastructural markers of the reparative effect of MSCs and cryoextracts were established, including a decrease in apoptosis, IgG deposits and normalization of the number of CD68⁺ M1/M2 macrophages in the lesion area.
- it has been proven that cell-free cryoextracts of cryopreserved heart tissue can be an effective alternative to MSCs, providing a comparable cardioprotective effect, but without the ethical, immunological and regulatory restrictions of cell therapy.

The practical significance of the results obtained is that the provisions set out in the dissertation research have a distinct theoretical and applied focus and can be used in:

- **scientific research activities** – as a basis for further research into cardioprotective, metabolic, antioxidant and immunomodulatory effects of mesenchymal stromal cells and cryoextracts of cryopreserved fragments of the heart of piglets. The results create new ideas for the development of new biomedical therapeutic platforms and clinically oriented regenerative technologies in cardiology.

- **practical activity of health protection** – for a scientifically supported expansion of indications for medical treatment of non-clinical biological products.
- **illumination process** – how the scientifically established base is for expanding knowledge about daily cellular and non-clinical biotechnologies, mechanisms of cardioprotection, immunomodulation and regeneration myocardium in various biomedical disciplines.

Key words: mesenchymal stromal cells, extracts of cryopreserved heart fragments, acute myocardial ischemia, heart failure, hypertension, adrenaline (epinephrine) myocardial dystrophy, heart rate variability, lipid peroxidation, oxidative stress, inflammation, pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines, apoptosis, ultrasound, local anesthesia, liver, immunohistochemistry, immunity, immune system, T-lymphocytes, immune response.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

*Статті у рецензованих фахових періодичних виданнях України,
включених до міжнародної наукометричної бази Scopus*

1. **Chizh MO**, Byzov DV, Shkand TV, Babaeva AG, Trofimova AV, Mikhaylova IP, Sleta IV, Sandomirsky BP. Experimental Model of Myocardial Necrosis and Creation of Vascular Xenoprostheses for Regenerative Medicine. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. 2013;23(4):368–372. Режим доступу: <http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/325>

*(Особистий внесок здобувача становить 45,0 % праці: аналіз літературних даних, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів. Внесок співавторів: Бизова Д.В. – виконання експериментальних досліджень, Шканд Т.В. – збір, аналіз та інтерпретація даних; Бабаєвої Г.Г. – виконання експериментальних досліджень; Трофімової А.В. – виконання експериментальних досліджень; Михайлової І.П. – написання тексту статті; Слети І.В. – редагування тексту статті; Сандомирського Б.П. – редагування рукопису статті, загальне керівництво. Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).*

2. Rohoza LA, **Chizh MO**, Galchenko SY, Sandomirsky BP. Effect of Extracts of Frozen-Thawed Heart Fragments on Rats. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. 2013;3(1):91–98. Режим доступу: <http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/15>

*(Особистий внесок здобувача становить 45,0 % праці: аналіз літературних даних, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів. Внесок співавторів: Рогози Л.А. – збір, аналіз та інтерпретація даних; Гальченка С.Є. – редагування рукопису статті; Сандомирського Б.П. – редагування рукопису статті, загальне керівництво. Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).*

3. **Chizh MO.** Parameters of Spectral Analysis of Heart Rate Variability in Rats. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2015**;25(3):235–245. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo25.03.235> Режим доступу: <https://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/788>
Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
4. **Chizh MO.** Effect of Respiration and Vascular Tone on Heart Rate Variability in Rats. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2016**;26(3):260–270. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo26.03.260> Режим доступу: <https://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/943>
Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
5. Shkand TV, **Chizh MO**, Sleta IV, Sandomirsky BP, Tatarets AL, Patsenker LD. Assessment of alginate hydrogel degradation in biological tissue using viscosity-sensitive fluorescent dyes. *Methods and Applications in Fluorescence*. **2016**;4(4):1–12. DOI: <https://doi.org/10.1088/2050-6120/4/4/044002> Режим доступу: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/2050-6120/4/4/044002>
(Особистий внесок здобувача становить 35,0 % праці: концепція та дизайн роботи, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Шканд Т.В. – участь у аналізі та інтерпретації даних; Слети І.В. – виконання експериментальних досліджень; Сандомирського Б.П. – участь у редагуванні рукопису; Татарця А.Л. – участь у статистичній обробці отриманих даних; Паценкера Л.Д. – написання тексту, формулювання висновків, загальне керівництво. Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
6. Trofimova AV, **Chizh MO**, Belochkina IV, Marchenko LN, Govorukha TP, Repin NV, Sandomirsky BP. Cardiomyocyte Ultrastructure of Rats with Experimental Myocardial Infarction After Therapeutic Hypothermia and Mesenchymal Stromal Cell Administration. *Problems of Cryobiology and*

Cryomedicine. 2017;27(4):334–347. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo27.04.334>

Режим доступу: <https://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/1354> (Особистий внесок здобувача становить 50,0 %

праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Трофімової А.В. – виконання експериментальних досліджень, участь у аналізі та інтерпретації даних; Бєлочкіної І.В. – підбір літературних джерел, участь у редагуванні рукопису; Марченко Л.М. – написання статті; Говорухи Т.П. – написання статті; Рєпіна М.В. – формулювання висновків; Сандомирського Б.П. – загальне керівництво. Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

7. **Chizh MO**. Endoscopic Cryosurgery. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. 2017;27(1):3–18. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo27.01.003>

Режим доступу: <https://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/1274> Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

8. **Chizh MO**. Effect of Postural Changes, Postprandial Load, N. Vagus Pharmacological Denervation and Cryodenervation on Heart Rate Variability in Rats. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. 2017;27(3):266–278. DOI:

<https://doi.org/10.15407/cryo27.03.266> Режим доступу:

<https://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/1342>

Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

9. Rohoza LA, Bєspalova IG, **Chizh MO**, Halchenko SYe, Sandomirsky BP. Biological influence of extracts of cryopreserved fragments of piglets' heart and skin. bioRxiv preprint first posted online Sep. 5, 2017; DOI:

<http://dx.doi.org/10.1101/184622> Режим доступу:

<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/184622v1> (Особистий внесок

здобувача становить 45,0 % праці: виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання

основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Рогози Л.А. – ідея, концепція та дизайн дослідження, участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті; Беспалової І.Г. – участь у виконанні експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів; Гальченка С.Є. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті; Сандомирського Б.П. – загальне керівництво. Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

10. **Chizh MO.** Cryogenic Equipment in Minimally Invasive Surgery. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2018**;28(3):200–211. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo28.03.200> Режим доступу:

<https://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/1440>

Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

11. Antonenko YeA, **Chizh MO**, Buriak MM, Osypenko AA, Shtoda DA. Wireless Charger for Implantable Biotelemetry SySTem International Conference on Ultrawideband and Ultrashort Impulse Signals, September 4-7, Odessa, Ukraine. **2020**;260–263. DOI: <https://doi.org/10.1109/UWBUSIS.2018.8520079> Режим доступу: <https://pubmed.com.ua/xmlui/handle/123456789/389> (Особистий внесок здобувача становить 50,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Антоненка Є.О. – збір, аналіз та інтерпретація даних, написання основного тексту; Буряка М.М. – редагування рукопису статті; Осіпенка А.А. – написання основного тексту; Штоди Д.О. – виконання експериментальних досліджень. Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

12. **Chizh MO.** Physiological interpretation of heart rate variability spectral analysis data. *Fiziologichnyi Zhurnal*. **2019**;65(2):31–42. Режим доступу: https://fz.kiev.ua/journals/2019_V.65/2019-2/2019-2-31-42.pdf Видання входить

до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

13. **Чиж МО**, Манченко АО, Трофімова ГВ, Белочкіна ІВ. Ультразвукова характеристика ремоделювання серця під впливом терапевтичної гіпотермії та МСК на моделі інфаркту міокарда. *Український радіологічний та онкологічний журнал*. 2020;28(3):222–240. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.3.2020.222-240> Режим доступу: <https://ukroj.com/index.php/journal/article/view/42/22> (Особистий внесок здобувача становить 55,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Манченко А.О. – виконання експериментальних досліджень; Трофімової А.В. – виконання експериментальних досліджень, участь у аналізі та інтерпретації даних; Белочкіної І.В. – підбір літературних джерел, формулювання висновків. Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
14. **Chyzh M**, Belozorov I, Aschabov D, Komyshanchenko D, Globa V, Marchenko L, Chyzh Y. Cryosurgical method for nervus vagus ablation in experimental studies. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. 2020;30(1):90–98. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo30.01.090> Режим доступу: <https://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/1593> Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Белозьорова І. – участь у зборі, аналізі та інтерпретації даних; Асхабова Д. – виконання експериментальних досліджень; Комишанченка Д. – редагування рукопису статті; Глоби В. – підбір літературних джерел, участь у редагуванні тексту рукопису; Чиж Ю.О. – виконання експериментальних досліджень. Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

15. **Chyzh MO**, Manchenko AO, Trofimova AV, Belochkina IV. Doppler examination of aorta after therapeutic hypothermia and administering MSCs in experimental myocardial infarction. *Ukrainian Journal of Radiology and Oncology* Open source preview. 2021;29(1):58–69. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.1.2021.58-69> Режим доступу: <https://ukroj.com/index.php/journal/article/view/73> (Особистий внесок здобувача становить 55,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Манченко А.О. – виконання експериментальних досліджень; Трофімової А.В. – виконання експериментальних досліджень, участь у аналізі та інтерпретації даних; Белочкіної І.В. – підбір літературних джерел, формулювання висновків. Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
16. Белочкіна ІВ, **Чиж МО**, Слета ІВ, Шканд ТВ. Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят у складі альгінатного гелю на електрофізіологічні показники серця щурів з кріонекрозом міокарда. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2024;32.3(50):314–338. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-04> Режим доступу: <https://ukrmedsci.com/index.php/visnyk/article/view/70> (Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Белочкіної І.В. – виконання експериментальних досліджень, підбір літературних джерел, формулювання висновків; Слети І.В. – підбір літературних джерел, формулювання висновків; Шканд Т.В. – виконання експериментальних досліджень, участь у аналізі та інтерпретації даних. Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

17. **Чиж МО**, Белочкіна ІВ, Глоба ВЮ, Слета ІВ, Михайлова ІП, Гладких ФВ.

Ультразвукове дослідження серця щурів після експериментального ураження адреналіном та застосування ксенокстракту серця. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2024;32.2(49):185–197. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-49-06> Режим доступу:

<https://ukrmedsci.com/index.php/visnyk/article/view/47> (Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Белочкіної І.В. – підбір літературних джерел, формулювання висновків; Глоби В.Ю. – виконання експериментальних досліджень; Слети І.В. – виконання експериментальних досліджень, участь у аналізі та інтерпретації даних; Михайлової І.П. – написання тексту статті; Гладких Ф.В. – підбір літературних джерел, формулювання висновків. Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

18. **Чиж МО**, Матвеєнко МС, Гладких ФВ, Лядова ТІ, Коморовський РР,

Козлова ТВ. Метаболічні зрушення в міокарді під час ураження, викликаного адреналіном, та вплив кріоекстракту серця на метаболізм лактату-пірувату. *Український журнал серцево-судинної хірургії*. 2025;33(2):53–61. DOI: [https://doi.org/10.63181/ujcvs.2025.33\(2\).53-61](https://doi.org/10.63181/ujcvs.2025.33(2).53-61) Режим доступу: <https://cvs.org.ua/index.php/ujcvs/article/view/731> (Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: концепція та дизайн дослідження, проведення експерименту, збір даних, остаточне затвердження статті. Внесок співавторів: Матвеєнко М.С. – аналіз та інтерпретація даних, написання статті, редагування статті, остаточне затвердження статті; Гладких Ф.В. – ідея дослідження, проведення експериментальних досліджень, статистичне опрацювання отриманих даних, написання тексту статті; Лядової Т.І. – підбір літературних джерел, участь в обговоренні результатів роботи, редагування тексту

статті; Коморовського Р.Р. – підбір літературних джерел, участь у обговоренні отриманих результатів, редагування рукопису; Козлової Т.В. – підбір літературних джерел, участь у обговоренні отриманих результатів, редагування рукопису. Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

19. **Chyzh MO**, Hladkykh FV, Liadova TI, Matvieienko MS, & Komorovsky RR. Modulatory effects of porcine cardiac cryoextract on glycogenolysis in experimental models of myocardial dystrophy. *Eastern Ukrainian Medical Journal*. 2025;13(3):712–722. DOI:

[https://doi.org/10.21272/eumj.2025;13\(3\):712-722](https://doi.org/10.21272/eumj.2025;13(3):712-722)

Режим доступу:

<https://eumj.med.sumdu.edu.ua/index.php/journal/article/view/940>

(Особистий

внесок здобувача становить 60,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Гладких Ф.В. – участь у виконанні експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків; Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті; Матвієнко М.С. – статистична обробка отриманих результатів, участь в обговоренні отриманих результатів; Коморовського Р.Р. – статистична обробка отриманих результатів, участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

20. **Chyzh MO**, Matvieienko MS, Hladkykh FV, Liadova TI, Komorovsky RR, Karafulidi OV. Effects of heart cryoextract on myocardial antioxidant capacity in rats with adrenaline-induced acute myocardial dystrophy. *Scripta Medica*. 2025;56(5):883-93. DOI: <https://doi.org/10.5937/scriptamed56-61304> Режим доступу: <https://aseestant.ceon.rs/index.php/scriptamed/article/view/61304>

(Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання

основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Матвієнко М.С. – статистична обробка отриманих результатів, участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті; Гладких Ф.В. – участь у виконанні експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків; Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті; Коморовського Р.Р. – статистична обробка отриманих результатів, участь в обговоренні отриманих результатів; Карафуліді О.В. – редагування тексту статті. Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

21. Komorovsky RR, **Chyzh MO**, Hladkykh FV, Liadova TI, Matvieienko MS. Adaptive action of heart cryoextract on myocardial energy metabolism in experimental epinephrine-induced myocardiodystrophy. *Odesa Medical Journal*. 2025;195(4):15–20. DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2025-4-2> Режим доступу: <https://journals.onmedu.od.ua/index.php/med/article/view/256> (Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Коморовського Р.Р. – статистична обробка отриманих результатів, участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті; Гладких Ф.В. – участь у виконанні експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків; Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті; Матвієнко М.С. – статистична обробка отриманих результатів, участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

22. **Chyzh M.O.**, Matvieienko M.S., Hladkykh F.V., Komorovsky R.R., Kozlova T.V. Evaluation of the cardioprotective activity of cardiac cryoextract in an

adrenaline-induced myocardiodystrophy model based on oxidative stress markers. *Journal of V N Karazin Kharkiv National University Series Medicine*. 2025;33(2):178–193. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-53-02>
Режим доступу: <https://ukrmedsci.com/index.php/visnyk/article/view/179/166>
(Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: концепція та дизайн дослідження, проведення експерименту, збір даних, остаточне затвердження статті. Внесок співавторів: Матвєєнко М.С. – статистична обробка отриманих результатів, участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті; Гладких Ф.В. – участь у виконанні експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків; Коморовського Р.Р. – статистична обробка отриманих результатів, участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті; Козлової Т.В. – редагування тексту статті; Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q4 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

Статті у рецензованих фахових періодичних виданнях України

23. **Chizh MO**, Babayeva AG, Sleta IV, Galchenko SE, Sandomirsky BP. Peculiarities of Myocardial Necrosis Development and Heart Remodeling After Coronary Artery Ligation and Left Ventricle Local Cryodestruction. *Problems of cryobiology*. 2011;21(3):321–329. Режим доступу: <http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/130/161> (Особистий внесок здобувача становить 50,0 % праці: концепція та дизайн дослідження, проведення експерименту, збір даних, остаточне затвердження статті. Внесок співавторів: Бабаєвої А.Г. – участь у виконанні експериментальних досліджень; Слети І.В. – редагування тексту статті; Гальченка С.Є – статистична обробка отриманих результатів, участь в обговоренні отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків; Сандомирського

Б.П. – участь в обговоренні отриманих результатів, загальне керівництво. Видання категорії Б).

- 24.Бабаєва ГГ, Рогоза ЛА, **Чиж МО**, Гальченко СЄ, Сандомирський БП. Вплив екстрактів серця на міокард. *Вісник невідкладної та відновлювальної медицини*. 2012;13(10):16–18. Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/306017519_Effects_of_heart_extracts_on_myocardium (Особистий внесок здобувача становить 50,0 % праці: ідея, концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Бабаєвої А.Г. – участь у виконанні експериментальних досліджень; Рогози Л.А. – статистична обробка отриманих результатів; Слети І.В. – редагування тексту статті; Гальченка С.Є – участь в обговоренні отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків; Сандомирського Б.П. – загальне керівництво. Видання категорії Б).
- 25.Бабаєва ГГ, Рогоза ЛА, **Чиж МО**, Дюбко ТС, Белочкіна ІВ, Гальченко СЄ, Сандомирський БП. Модуляція біохімічних змін в сироватці крові при експериментальному некрозі міокарда екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2014;62(1):5–11. Режим доступу: <https://ecm.knmu.edu.ua/article/view/75/68> (Особистий внесок здобувача становить 50,0 % праці: концепція та дизайн дослідження, проведення експерименту, збір даних, остаточне затвердження статті. Внесок співавторів: Бабаєвої А.Г. – участь у виконанні експериментальних досліджень; Рогози Л.А. – редагування тексту статті; Дюбко Т.С. – статистична обробка отриманих результатів; Белочкіної І.В. – написання основного тексту; Гальченка С.Є – участь в обговоренні отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків; Сандомирського Б.П. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання категорії Б).

26. **Чиж МО**, Гальченко СЄ. Електрофізіологічні показники серця та молекулярно-масовий розподіл пептидів в сироватці щурів з експериментальним інфарктом міокарда. *Вісник проблем біології і медицини*. 2019;2(1(149)) Випуск 1: 192–197. DOI: <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2019-1-2-149-192-197> Режим доступу: <https://vpbim.com.ua/wp-content/uploads/2023/03/43-min.pdf>
(Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Гальченка С.Є – участь в обговоренні отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Видання категорії Б).
27. **Чиж МО**, Бабаєва АГ, Рогоза ЛА, Гальченко СЄ. Екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят як регулятор стану серцевого м'яза щурів на моделі некрозу міокарда. *Вісник проблем біології і медицини*. 2020;4(158):78–83. DOI: <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2020-4-158-78-83> Режим доступу: <https://vpbim.com.ua/wp-content/uploads/2023/02/17-min-13.pdf>
(Особистий внесок здобувача становить 50,0 % праці: концепція та дизайн дослідження, проведення експерименту, збір даних, остаточне затвердження статті. Внесок співавторів: Бабаєвої А.Г. – участь у виконанні експериментальних досліджень; Рогози Л.А. – редагування тексту статті; Гальченка С.Є – участь в обговоренні отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Видання категорії Б).
28. Гладких Ф В, Лядова ТІ, **Чиж МО**, Матвеєнко МС, Коморовський РР. Ехокардіографічна оцінка впливу кріоекстрактів плаценти та селезінки на функціональний стан міокарду при експериментальному аутоімунному міокардиті. *Здоров'я суспільства*. 2024;2(14):16–24. DOI: <https://doi.org/10.32782/2306-2436.14.2.2024.314> Режим доступу: <https://nuozu.kyiv.ua/index.php/health-society/article/view/19> (Особистий внесок здобувача становить 20,0 % праці: виконання експериментальних

досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Гладких Ф.В. – ідея, концепція та дизайн роботи, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків; Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті; Матвеєнко М.С. – підбір літературних джерел, редагування тексту статті; Коморовського Р.Р. – участь в обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті. Видання категорії Б)

29. **Чиж МО**, Бизов ДВ, Антоненко ЄО, Рогоза ЛА, Гребенюк АІ, Мотко ОВ, Довгоп'ятенко ГД, Лук'яненко ПГ, Аврунін О.Г, Сандомирський БП. Ендоскопічний метод для операцій на експериментальних тваринах. *Фізіологічний журнал*. 2017;63(2):86–94. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz63.02.086> Режим доступу: https://fz.kiev.ua/journals/2017_V.63/2017_2/2-2017-86-94.pdf (Особистий внесок здобувача становить 50,0 % праці: – ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Бизова Д.В. – участь у виконанні експериментальних досліджень; Антоненка Є.О. – участь у виконанні експериментальних досліджень, редагування тексту статті; Рогоза Л.А. – написання основного тексту; Гребенюка А.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, написання основного тексту, Мотка О.В. – підбір літературних джерел; Довгоп'ятенко Г.Д. – підбір літературних джерел; Лук'яненка П.Г. – виконання експериментальних досліджень; Авруніна О.Г. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті; Сандомирського Б.П. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті. Видання категорії Б).

30. Гладких ФВ, Лядова ТІ, **Чиж МО**, Матвеєнко МС, Коморовський РР. Порівняльна характеристика морфофункціонального стану серця при

застосуванні кріоекстракту плаценти та кріоекстракту селезінки на моделі аутоімунного міокардиту за даними ультразвукового дослідження *Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я*. **2024**;4(18):27–36. DOI: <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2024-4-4> Режим доступу:

<https://journals.maup.com.ua/index.php/psych-health/article/view/4621>

(Особистий внесок здобувача становить 20,0 % праці: виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Гладких Ф.В. – ідея, концепція та дизайн роботи, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків; Лядової Т.І. – участь в обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті; Матвєєнко М.С. – підбір літературних джерел, редагування тексту статті; Коморовського Р.Р. – участь в обговоренні отриманих результатів, підбір літературних джерел, редагування тексту статті. Видання категорії Б).

31.Рогоза ЛА, Бабаєва АГ, **Чиж МО**, Гальченко СЄ, Сандомирський БП.

Тканиноспецифічний вплив пептидних комплексів на стан серця щурів в нормі та при некрозі міокарда. *Журнал Національної академії медичних наук України*. **2012**;18(Додаток):138–139. Режим доступу:

https://www.researchgate.net/publication/398725193_Zurnal_Nacionalnoi_akademii_nauk_Ukraini_1 (Особистий внесок здобувача становить 50,0 % праці

ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Бабаєвої А.Г. – участь у виконанні експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів; Гальченка С.Є. – участь в обговоренні отриманих результатів, формулювання висновків; Сандомирського Б.П. – загальне керівництво. Видання категорії Б).

Наукові праці, які засвідчують апробацію дисертації

Тези в іноземних збірниках

32. Babaeva G, **Chizh M**, Galchenko S, Sandomirsky B. Formation features of ischemic necrosis and myocardium cryonecrosis. *Abstract from the World Conference on Regenerative Medicine*, 2–4 November, 2011 Leipzig, Germany. *Regenerative Medicine* **2011**;6(6)(Suppl 2):342. Режим доступу: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.2217/rme.11.14> (Особистий внесок здобувача становить 50,0 % праці: концепція та дизайн дослідження, проведення експерименту, збір даних, остаточне затвердження тез. Внесок співавторів: Бабаєвої А.Г. – участь у виконанні експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів; Гальченка С.Є – ідея, концепція та дизайн дослідження, участь в обговоренні отриманих результатів, формулювання висновків; Сандомирського Б.П. – загальне керівництво. Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q1 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).
33. Babaieva AG, **Chizh MO**, Galchenko SYe, Sandomirsky BP. Cardiac microhemocirculation in experimental myocardium necrosis. *Abstract Book of: Frontiers in Cardiovascular Biology London 30th March – 1st April 2012 Second Congress of the ESC Council on Basic Cardiovascular Science. Cardiovascular Research*. **2012**;93(Suppl 1):265. Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/297568437_Cardiac_microhemocirculation_in_experimental_myocardium_necrosis (Особистий внесок здобувача становить 50,0 % праці ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Бабаєвої А.Г. – участь у виконанні експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів; Гальченка С.Є. – участь в обговоренні отриманих результатів, формулювання висновків; Сандомирського Б.П. – загальне керівництво. Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q1 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

- 34.Babaeva GG, Bogatyrova OO, Rogosa LA, **Chizh MO**, Galchenko S Ee, Sandomirsky BP. Biological effect of extract of cryopreserved piglets heart fragments upon ischemia and experimental myocardial necrosis. *Abstract from the 25 th conf. Intern. Soc. For Medical Innovation and technology, ISMT 2013, Baden-Baden, Germany Minimally Invasive Therapy and Allied Technologies.* **2013**;22(1):45–46. Режим доступу:

https://www.researchgate.net/publication/398282796_Invasive_Therapia_45-46

(Особистий внесок здобувача становить 50,0 % праці: концепція та дизайн дослідження, проведення експерименту, збір даних, остаточне затвердження статті. Внесок співавторів: Бабаєвої А.Г. – участь у виконанні експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів; Богатирьової О.О. – участь у виконанні експериментальних досліджень; Рогози Л.А. – написання тексту статті; Гальченка С.Є – участь в обговоренні отриманих результатів, формулювання висновків; Сандомирського Б.П. – загальне керівництво.).

- 35.Babaeva GG, Rogosa LA, **Chizh MO**, Galchenko SYe, Sandomirsky BP. Effect of extract of cryopreserved piglets heart fragments upon ischemia and experimental myocardial necrosis. *SLTB 2013. Soc. Low Temperature Biology Book of Abstr.* October 6–9, 2013. Hannover Germany, **2013**;47. Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/312498182_Effect_of_extract_of_cryopreserved_piglets

[%27 heart fragments upon ischemia and experimental myocardial necrosis](https://www.researchgate.net/publication/312498182_Effect_of_extract_of_cryopreserved_piglets)
(Особистий внесок здобувача становить 50,0 % праці: концепція та дизайн дослідження, проведення експерименту, збір даних, остаточне затвердження статті. Внесок співавторів: Бабаєвої А.Г. – участь у виконанні експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів; Рогози Л.А. – написання тексту статті; Гальченка С.Є – участь в обговоренні отриманих результатів, формулювання висновків; Сандомирського Б.П. – загальне керівництво.).

- 36.Trofimova AV, **Chizh MO**, Manchenko AA, Belochkina IV, Sandomirsky BP. Combined application of therapeutic hypothermia and mesenchymal stromal cells

in treatment of experimental myocardial infarction in rats. *SLTB 2014. Freezing biological time: 50th Anniversary Celebration, Annual Scientific Conference &AGM 8 th-10th October 2014, London. 2014;70.* Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/398283707_Combined_application_of_therapeutic_hypothermia_and_mesenchymal_stromal_cells_in_treatment_of_experimental_myocardial_infarction_in_rats (Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Трофімової А.В. – виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків; Манченко Г.О. – виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів; Бєлочкіної І.В. – участь у виконанні експериментальних досліджень, обговорення результатів, формулювання висновків; Сандомирського Б.П. – загальне керівництво.).

37. Shkand TV, **Chizh MO**, Sleta IV, Tatarets AL, Roshal AD, Patsenker LD, Sandomirskyi B.P. Use alginate implant after cryodestruction of myocardium. *Freezing biological time: 50th Anniversary Celebration, Annual Scientific Conference &AGM 8 th-10th October 2014, London. 2014;75.* Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/398334354_Use_alginate_implant_after_cryodestruction_of_myocardium (Особистий внесок здобувача становить 35,0 % праці: виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Шканд Т.В. – участь у аналізі та інтерпретації даних; Слети І.В. – виконання експериментальних досліджень; Татарця А.Л. – участь у статистичній обробці отриманих даних; Рошала О.Д. – участь у статистичній обробці отриманих даних, участь у аналізі та інтерпретації даних; Паценкера Л.Д. – написання тексту, формулювання висновків, Сандомирського Б.П. – участь у редагуванні рукопису; загальне керівництво).

- 38.Rohoza L, Bespalova I, **Chizh M**, Galchenko S, Sandomirsky B. Peptidic composition and biological action of extracts of cryopreserved fragments of piglets' heart and skin. *XLII Annual ESAO Congress – 2–5 September 2015, Leven, Belgium. The International Journal of Artificial Organs*. **2015**;38(7):411.

Режим

доступу:

https://www.researchgate.net/publication/398283488_JAO_2015_411

(Особистий внесок здобувача становить 50,0 % праці: виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Рогози Л.А. – написання тексту статті; Беспалов І.Г. – участь у виконанні експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів; Гальченка С.Є – ідея, концепція та дизайн дослідження, участь в обговоренні отриманих результатів, формулювання висновків; Сандомирського Б.П. – загальне керівництво.). Видання входить до міжнародних наукометричних баз **Scopus** (Q2 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)).

- 39.Tatarets AL, Shkand TV, **Chizh MO**, Sleta IV, Sandomirsky BP, Patsenker LD. Viscosity sensitive dyes for determining the rheological properties of hydrogels in biological tissues. *The 14 th Conference on Methods and Applications in Fluorescence MAF 14 Würzburg, Germany. 13-16 September 2015*;232. Режим доступу:

https://www.researchgate.net/publication/397832741_The_14_th_Conference_on_Methods_and_Applications_in_Fluorescence_MAF_14 (Особистий внесок

здобувача становить 35,0 % праці: виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Татарця А.Л. – участь у статистичній обробці отриманих даних; Шканд Т.В. – участь у аналізі та інтерпретації даних; Слети І.В. – виконання експериментальних досліджень; Сандомирського Б.П. – участь у редагуванні рукопису; Паценкера Л.Д. – написання тексту, формулювання висновків, загальне керівництво.).

40. Rohoza LA, **Chizh MO**, Halchenko SYe, Snadomirsky BP, Gromovoy TYu. Mass-spectrometry of extracts of young rats' hearts via MALDI-ToF. *Dutch Peptide Symposium Lelystad*, Netherlands. – 3 June **2016**;51. Режим доступу: <https://pubmed.com.ua/xmlui/handle/123456789/414> (Особистий внесок здобувача становить 50,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Рогози Л.А. – написання тексту статті; Гальченка С.Є – участь в обговоренні отриманих результатів, формулювання висновків; Сандомирського Б.П. – загальне керівництво.)
41. **Chyzh M**, Trofimova A, Belochkina I. Hypothermia and MSCS effect on some biochemical parameters in experimental myocardial infarction. *CRYO 2025, Annual Meeting of the Society for Cryobiology*, July 22 – 25, **2025**, Hannover, Germany, VP25. Режим доступу: https://drive.google.com/file/d/10uaqJVy1qpI5fhqHsVg3XCeNTcFkCv3c/view?usp=drive_link (Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Трофімової А.В. – написання тексту статті, статистична обробка отриманих результатів; Белочкіної І.В. – написання основного тексту, формулювання висновків).

Тези у виданнях України

42. Рогоза ЛА, Бабаєва ГГ, Богатирьова ОО, **Чиж МО**. Органна специфічність пептидного складу екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця, селезінки та шкіри свиней VII Міжнародна наукова конференція «Молодь та поступ біології». Тези доповідей, м. Львів, 5-8 квітня 2011 р. Львів, **2011**;306–307. Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/397832440_VII_MIZNARODNA_NAUKOVA_KONFERENCIA_STUDENTIV_Ta_ASPIRANTIV_VII_Molod_ta_pos_tup_biologii YOUTH AND PROGRESS OF BIOLOGY ABSTRACTS BOOK

(Особистий внесок здобувача становить 50,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Rogozi L.A. – написання тексту статті; Babayeva G.G. – участь у виконанні експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів; Bogatir'ova O.O. – виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих даних.).

43. **Чиж МО**, Бабаєва ГГ. Моделювання некрозу міокарда кріохірургічним методом. VII Міжнародна наукова конференція «Молодь та поступ біології». Тези доповідей, м. Львів, 5-8 квітня 2011 р. – Львів, 2011;360–361.

Режим

доступу:

https://www.researchgate.net/publication/397832440_VII_MIZNARODNA_NAUKOVA_KONFERENCIA_STUDENTIV_TA_ASPIRANTIV_VII_Molod_ta_pos_tup_biologii YOUTH AND PROGRESS OF BIOLOGY ABSTRACTS BOOK

(Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Бабаєвої Г.Г. – участь у виконанні експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів.).

44. Babayeva AG, **Chizh MO**. Comparative Characteristics of Ischemic Necrosis and Myocardium Cryonecrosis. Abstracts of the Conference of Young Scientists «Cold in Biology and Medicine 2011» May, 18–19th, 2011, Kharkov, Ukraine. Problems of Cryobiology. 2011;21(2):228. Режим

доступу:

<http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/144/175>

(Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Бабаєвої Г.Г. – участь у виконанні експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів.).

45. Бабаєва ГГ, **Чиж МО**. Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на перебіг експериментального некрозу міокарда. Матеріали X

Міжнародної наукової конференції студентів та молодих науковців «Шевченківська весна», м. Київ, 19-23 березня 2012 р. – Київ, **2012**;43–44.

Режим

доступу:

https://www.researchgate.net/publication/398380743_Sevcenkivska-vesna

(Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Бабаєвої Г.Г. – участь у виконанні експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів.)

- 46.Shkand TV, **Chizh MO**. Use of Alginate Hydrogels for Slow Ejection of Pig Heart Peptides into Liquid. Abstracts of the 36th Annual Conference of Young Scientists 'Cold in Biology and Medicine2012. Current Problems in Cryobiology, Transplantology and Biotechnology'May, 22–24th, 2012, Kharkov, Ukraine. Problems of Cryobiology. **2012**;22(2):211. Режим доступу:

<http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/86/112>

(Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Шканд Т.В. – участь у виконанні експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, статистична обробка отриманих даних.)

- 47.Babayeva AG,. **Chizh MO**. Effect of Spleen and Heart Extracts on Myocardium. Abstracts of the 36th Annual Conference of Young Scientists 'Cold in Biology and Medicine2012. Current Problems in Cryobiology, Transplantology and Biotechnology'May, 22–24th, 2012, Kharkov, Ukraine. Problems of Cryobiology. **2012**;22(2):213. Режим доступу: <http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/86/112>

(Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Бабаєвої Г.Г. – участь у виконанні експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, статистична обробка отриманих даних.)

48.Shkand TV, **Chizh MO**, Roshal AD, Sandomirsky BP. Ejection of Piglet Heart Peptides From Alginate Hydrogels Into Liquid Phase. *Abstracts of the 36th Annual Conference of Young Scientists 'Cold in Biology and Medicine 2012. Current Problems in Cryobiology, Transplantology and Biotechnology'* May, 22–24th, 2012, Kharkov, Ukraine. *Problems of Cryobiology*. **2012**;22(3):262. Режим доступу:

https://www.researchgate.net/publication/311307073_Izucenie_vyhoda_peptidov_serдца_porosat_iz_alginatnyh_gidrogelej_v_zidkuu_fazu (Особистий внесок здобувача становить 45,0 % праці: виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Шканд Т.В. – участь у аналізі та інтерпретації даних; Рошалья О.Д. – участь у статистичній обробці отриманих даних, виконання експериментальних досліджень; Сандомирського Б.П. – участь у редагуванні рукопису, формулювання висновків, загальне керівництво.).

49.**Chizh MO**, Rogoza LA, Babaeva GG, Galchenko SYE, Sandomirsky BP. Tissue-Specific Effect of Peptide Complexes of Heart. *Abstracts of the 36th Annual Conference of Young Scientists 'Cold in Biology and Medicine 2012. Current Problems in Cryobiology, Transplantology and Biotechnology'* May, 22–24th, 2012, Kharkov, Ukraine. *Problems of Cryobiology*. **2012**;22(3):263. Режим доступу:

https://www.researchgate.net/publication/397832376_Tkaninnospecificnij_vpliv_peptidnih_kompleksiv_serca *Tissue-Specific Effect of Peptide Complexes of Heart* (Особистий внесок здобувача становить 45,0 % праці: концепція та дизайн дослідження, проведення експерименту, збір даних, остаточне затвердження статті. Внесок співавторів: Рогози Л.А. – участь у аналізі та інтерпретації даних; Бабаєвої Г.Г. – участь у статистичній обробці отриманих даних, виконання експериментальних досліджень; Гальченка С.Є. – участь у аналізі та інтерпретації даних; Сандомирського Б.П. – участь у редагуванні рукопису, формулювання висновків, загальне керівництво.).

- 50.Бабаєва АГ, **Чиж МО**, Слета ІВ, Гальченко СЄ, Сандомирський БП. Адаптаційні зміни в серці при експериментальному некрозі міокарда. *Тези доповідей міждисциплінарної наукової конференції «Адаптаційні стратегії живих систем»*, м. Новий Світ, Крим, 11-16 червня 2012р. – Новий Світ, **2012**;133–134. Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/398334635_Adaptacijni_zmini_v_serci_pri_eksperimentalnomu_nekrozi_miokarda_133 (Особистий внесок здобувача становить 45,0 % праці: концепція та дизайн дослідження, проведення експерименту, збір даних, остаточне затвердження статті. Внесок співавторів: Бабаєвої Г.Г. – участь у статистичній обробці отриманих даних, виконання експериментальних досліджень; Слети І.В. – участь у аналізі та інтерпретації даних; Гальченко С.Є. – участь у аналізі та інтерпретації даних; Сандомирського Б.П. – участь у редагуванні рукопису, формулювання висновків, загальне керівництво.).
- 51.Рогоза ЛА, **Чиж МО**, Гальченко СЄ, Сандомирський БП. Вплив пептидних комплексів кріоконсервованих фрагментів свиней та поросят на морфологічну будову та електрофізіологічні показники серця щурів в нормі. *Тези доповідей Міждисциплінарної наукової конференції «Адаптаційні стратегії живих систем»*. м. Новий Світ, Крим, 11-16 червня **2012**;313–314. Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/398334379_Vpliv_peptidnih_kompleksi_v_kriokonservovanih_fragmentiv_svinej_ta_porosat_313 (Особистий внесок здобувача становить 55,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Рогози Л.А. – виконання експериментальних досліджень, участь у статистичній обробці отриманих даних; Гальченко С.Є. – участь у аналізі та інтерпретації даних; Сандомирського Б.П. – формулювання висновків, загальне керівництво.).
- 52.Shkand TV, **Chizh MO**, Sandomirsky BP. Study of Rat Myocardium Morphology at Experimental Heart Necrosis. *Abstracts of the 37th Annual Conference of Young Scientists 'Cold in Biology and Medicine.Current Issues in Cryobiology,*

Transplantology and Biotechnology May, 20–21st, 2013, Kharkov, Ukraine. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2013**;23(2):180. Режим доступу: <http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/33/54>

(Особистий внесок здобувача становить 65,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Шканд Т.В. – участь у статистичній обробці отриманих даних, виконання експериментальних досліджень; Сандомирського Б.П. – формулювання висновків, загальне керівництво.).

- 53.Рогоза ЛА, **Чиж МО**, Гальченко СЄ. Вплив екстрактів серця поросят на електрофізіологічні показники серця щурів з ішемією міокарда. *Збірник матеріалів доповідей Міжнародної міждисциплінарної наукової конференції «Біологічно активні речовини та матеріали: фундаментальні та прикладні питання одержання та застосування» 27 травня – 01 червня 2013, Новий Світ, Україна.* – Київ: Видавець В.С. Мартинюк, **2013**;2:273–274. Режим доступу:

https://www.researchgate.net/publication/397831261_Kievskij_nacionalnyj_universitet_imeni_Tarasa_Sevcenko (Особистий внесок здобувача становить 65,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Рогоза Л.А. – участь у статистичній обробці отриманих даних, виконання експериментальних досліджень; Гальченко С.Є. – формулювання висновків, загальне керівництво.).

- 54.Trofimova AV, **Chizh MO**, Belochkina IV, Manchenko AA, Shabliy VA, Sandomirsky BP. Functional State of Myocardium After Combined Application of Therapeutic Hypothermia and Mesenchymal Stromal Cells at Experimental Myocardial Infarction. *Abstracts of the 39th Annual Conference of Young Scientists 'Cold in Biology and Medicine. Current Issues in Cryobiology, Transplantology and Biotechnology'* May 20–21, 2015, Kharkov, Ukraine. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2015**;25(2):182. Режим доступу: <http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/841>

(Особистий внесок здобувача становить 45,0 % праці: концепція та дизайн дослідження, проведення експерименту, збір даних, остаточне затвердження статті. Внесок співавторів: Трофімової А.В. – участь у статистичній обробці отриманих даних, виконання експериментальних досліджень; Белочкіної І.В. – участь у аналізі та інтерпретації даних; Манченко Г.О. – участь у аналізі та інтерпретації даних; Шаблій В.А. – участь у аналізі та інтерпретації даних; Сандомирського Б.П. – участь у редагуванні рукопису, формулювання висновків, загальне керівництво.).

- 55.Trofimova AV, **Chizh MO**, Belochkina IV, Volina VV, Sandomirsky BP. Therapeutic Hypothermia and Injection of MSCs Improve Heart Structure under Experimental Myocardial Infarction. *Abstracts of the 40th Annual Conference of Young Scientists 'Cold in Biology and Medicine. Current Issues in Cryobiology, Transplantology and Biotechnology'* May 23–24, 2016, Kharkov, Ukraine. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2016**;26(2):166. Режим доступу: <http://journal.cryo.org.ua/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/879>

(Особистий внесок здобувача становить 55,0 % праці: концепція та дизайн дослідження, проведення експерименту, збір даних, остаточне затвердження статті. Внесок співавторів: Трофімової А.В. – участь у статистичній обробці отриманих даних, виконання експериментальних досліджень; Белочкіної І.В. – участь у аналізі та інтерпретації даних; Воліної В.В. – написання тексту статті, участь у аналізі та інтерпретації даних; Сандомирського Б.П. – участь у редагуванні рукопису, формулювання висновків, загальне керівництво.).

- 56.Grebenyuk AI, **Chizh MO**, Byzov DV, Rohoza LA, Antonenko EA, Lukyanenko PG, Sandomirsky BP. Designing of Device for Endoscopic Surgery In Experimental Animals. *Abstracts of the 40th Annual Conference of Young Scientists 'Cold in Biology and Medicine. Current Issues in Cryobiology, Transplantology and Biotechnology'* May 23–24, 2016, Kharkov, Ukraine. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2016**;26(2):189. Режим доступу: <http://journal.cryo.org.ua/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/900>

(Особистий внесок здобувача становить 50,0 % праці: ідея та дизайн

дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Гребенюка А.І. – участь у виконанні експериментальних досліджень; Бизова Д.В. – участь в обговоренні отриманих результатів, написання основного тексту; Рогози Л.А. – написання основного тексту; Антоненка Є.О. – участь у виконанні експериментальних досліджень, редагування тексту статті; Лук'яненко П.Г. – виконання експериментальних досліджень; Сандомирського Б.П. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту.).

- 57.Motko AV, Dolgopyatenko AD, **Chizh MO**, AvRunin OG, Sandomirsky BP. Designing of Insufflator for Endoscopic Surgery in Experimental Animals. *Abstracts of the 40th Annual Conference of Young Scientists 'Cold in Biology and Medicine. Current Issues in Cryobiology, Transplantology and Biotechnology'* May 23–24, 2016, Kharkov, Ukraine. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2016**;26(2):190. Режим доступу: <http://journal.cryo.org.ua/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/901>

(Особистий внесок здобувача становить 65,0 % праці: ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків. Внесок співавторів: Мотка А.В. – участь у виконанні експериментальних досліджень; Довгопятенко А.Д. – участь в обговоренні отриманих результатів, написання основного тексту; Авруніна О.Г. – редагування тексту; Сандомирського Б.П. – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту.).

- 58.Trofimova AV, **Chyzh MO**, Repin NV, Belochkina IV, Sandomirsky BP. Effect of Therapeutic Hypothermia and Mesenchymal Stromal Cells on Ultrastructure of Rats. Cardiomyocytes with Experimental Myocardial Infarction. *Abstracts of the 41st Annual Conference of Young Scientists 'Cold in Biology and Medicine. Current Issues in Cryobiology, Transplantology and Biotechnology'* May 24–25, 2017, Kharkiv, Ukraine. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2017**;27(2):166. Режим доступу: <http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/1309> (Особистий внесок здобувача становить

55,0 % праці: концепція та дизайн дослідження, проведення експерименту, збір даних, остаточне затвердження статті. Внесок співавторів: Трофімової А.В. – участь у статистичній обробці отриманих даних, виконання експериментальних досліджень; Репіна М.В. – участь у аналізі та інтерпретації даних; Белочкіної І.В. – участь у аналізі та інтерпретації даних; Сандомирського Б.П. – участь у редагуванні рукопису, формулювання висновків, загальне керівництво.).

59. Antonenko YeA, **Chizh MO**, Buriak MM, Osypenko OO. Development of Telemetry for Experimental Cryomedicine. Abstracts of the 42nd Annual Conference of Young Scientists 'Cold in Biology and Medicine. Current Issues in Cryobiology, Transplantology and Biotechnology' May 23–24, 2018, Kharkiv, Ukraine. Problems of Cryobiology and Cryomedicine. **2018**;28(2):161. Режим доступу:

<http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/1420/1503> (Особистий внесок здобувача становить

50,0 % праці: концепція та дизайн дослідження, проведення експерименту, збір даних, остаточне затвердження статті. Внесок співавторів: Антоненка Є.О. – збір, аналіз та інтерпретація даних, написання основного тексту; Буряка М.М – редагування рукопису статті; Осіпенка О.О. – написання основного тексту).

60. Шканд ТВ, Татарець АЛ, **Чиж МО**, Слета ІВ, Белочкіна ІВ. Використання чутливих до в'язкості флуоресцентних барвників для оцінки деградації гідрогелю альгінату в тканині міокарда. Матеріали другої всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології» 10-12 жовтня **2018**;182–184. Режим доступу:

https://www.researchgate.net/publication/341043386_NAUKOVO-PRAKTICNA_KONFERENCIA_Z_MIZNARODNOU_UCASTU_VIKORISTANNYA_CUTLIVIH_DO_V'AZKOSTI_FLUORESCENTNIH_BARVNIKIV_DLA_OCINKI_DEGRADACII_GIDROGELU_ALGINATU_V_TKANINI_MIOKARDA

(Особистий внесок здобувача становить 45,0 % праці: концепція та дизайн дослідження, проведення експерименту, збір даних, остаточне затвердження статті. Внесок співавторів: Шканд Т.В. – участь у аналізі

та інтерпретації даних; Татарця А.Л. – участь у статистичній обробці отриманих даних; Слети І.В. – виконання експериментальних досліджень; Белочкіної І.В. – участь у статистичній обробці отриманих даних, участь у аналізі та інтерпретації даних.).

61. **Chizh MO**, Manchenko AO, Trofimova AV, Belochkina IV. Cardiac muscle remodeling after therapeutic hypothermia and allogeneic mesenchymal stromal cells in a model of myocardial infarction. *Abstracts of the 44th Annual Conference of Young Scientists 'Cold in Biology and Medicine. Current Issues in Cryobiology, Transplantology and Biotechnology'* May 19, 2020, Kharkiv, Ukraine. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2020**;30(3):284. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo30.03a.284> Режим доступу:

<http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/1651>

(Особистий внесок здобувача становить 45,0 % праці: концепція та дизайн дослідження, проведення експерименту, збір даних, остаточне затвердження статті. Внесок співавторів: Манченко Г.О. – участь у аналізі та інтерпретації даних; Трофімова А.В. – виконання експериментальних досліджень, участь у статистичній обробці отриманих даних; Белочкіної І.В. – участь у статистичній обробці отриманих даних, участь у аналізі та інтерпретації даних.).

Публікації, які додатково відображають наукові результати дисертації

62. Україна, патент на винахід № 119124. МПК (2019) А61В 5/0402 А 61В 5/02 Заявл. 25.05.2018. Опубл. 25.04.2019, Бюл. №8 Пристрій для реєстрації електрокардіограми у дрібних лабораторних тварин, авт. **Чиж МО**, Белочкіна ІВ. З-к: Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України. Режим доступу: <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/1351080/>
63. Україна, патент на винахід №109751 МПК G01N 33/483 Заявл. 26.09.2014, Заявка № а 2014 10540 Опубл 25.09.2015, Бюл. № 18. Спосіб визначення гідрогелю в біологічних тканинах. Шканд ТВ, **Чиж МО**, Слета ІВ, Татарець АЛ, Рошаль ОД, Паценкер ЛД, Сандомирський БП. З-к: ІПКіК НАН України. Режим доступу: <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/870756/>

64. Shkand TV, **Chyzh MO**, Sleta IV, Tatarets AL, Roshal OD, Patsenker LD, Sandomyrskiy BP, Terpetschnig EA. *Viscosity-Sensitive Dyes And Method*. IPC8 Class: AG01N3358FI USPC Class: 436 94 Publication date: **2016-03-31 Patent USA** application number: 20160091495 Режим доступу: <https://patents.google.com/patent/US20160091495A1/en>
65. Україна, пат. на к/м № 65535, МПК (2006.01) G09B 23/28, Заявл. 10.05.2011, Опубл 12.12.**2011**, Бюл. № 23. *Спосіб моделювання інфаркту міокарда*. Бабаєва ГГ, **Чиж МО**, Гальченко СЄ, Сандомирський БП. З-к: ІПКіК НАН України. Режим доступу: <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/680868/>
66. Україна, пат. на к/м № 53408, МПК (2006.01) G09B 23/28, Заявл. 12.03.2010, Опубл 11.10.**2010**, Бюл. № 19. *Спосіб моделювання інфаркту міокарду*. **Чиж МО**, Слета ІВ, Гальченко СЄ, Сандомирський БП. З-к: ІПКіК НАН України. Режим доступу: <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/256187/>
67. Україна, пат. на к/м № 86783, МПК (2013) A61L27/00 A61K38/17(2006.01) A61K 38/02 (2006.01), Заявл. 15.07.2013, Опубл. 10.01.**2014**, Бюл. № 1 *Спосіб отримання імпланта з пролонгованим звільненням біологічно активних пептидних компонентів*, авт. Шканд ТВ, Рошаль ОД, **Чиж МО**, Сандомирський БП. З-к: Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна. Режим доступу: <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/1116137/>
68. Україна, патент на к/м № 135663, МПК (2019.01) A61B 17/00, A61B 18/02 (2006.01) Заявл. № у 201901250 под. 07.02.2019, Опубл. 10.07.**2019**, Промислова власність. Бюл. № 13. Книга 1: 4,25–4,26. *Спосіб денервації барорецепторів дуги аорти в експерименті*, авт. **Чиж МО**, Белочкіна ІВ. З-к: Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України. Режим доступу: <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/1367072/>
69. Ковальов ГО, Гальченко СЄ, **Чиж МО**, Белочкіна ІВ, Іщенко ІО, Власов ОО. Стимуляція репаративних процесів під впливом кріоконсервованих біологічно активних речовин після кріодеструкції шкіри. *Холод у біології та медицині: сучасний стан і перспективи*. За ред. О.Ю. Петренка. Монографія. – Київ.: Наукова думка, **2024**;252–267. DOI: <https://doi.org/10.15407/978-966-00-1867-9>

70. **Чиж МО**, Гальченко СЄ, Гладких ФВ, Бизов ВВ, Рогоза ЛА, Белочкіна ІВ, Слета ІВ. *Безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби: технологія отримання та визначення складу*. За ред. **М.О. Чижа**. Монографія. – Вінниця: Твори, **2024**;264. DOI: <https://doi.org/10.46879/2024.1>
71. **Чиж МО**, Гальченко СЄ, Гладких ФВ, Лядова ТІ, Бизов ВВ, Рогоза ЛА, Беспалова ІГ, Белочкіна ІВ, Слета ІВ, Матвєєнко МС, Кошурба ІВ, Глоба ВЮ. *Метаболічні, регенеративні та імунологічні властивості водно-сольових екстрактів кріоконсервованих тканин*. За ред. **М.О. Чижа**. Монографія. – Вінниця: Твори, **2025**;296. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.5>
72. Гладких ФВ, Лядова ТІ, **Чиж МО**, Коморовський РР, Бабаєва ГГ, Матвєєнко МС. *Кардіоселективність кріобіотехнологічних засобів у терапії серцево-судинних захворювань*. Монографія. – Вінниця: Твори; 2025;384. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.4>

ЗМІСТ

	Стор
АНОТАЦІЯ.....	2
ЗМІСТ.....	45
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, ОДИНИЦЬ ТА СКОРОЧЕНЬ.	51
ВСТУП	53
РОЗДІЛ 1. ПАТОГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ ТА СУЧАСНІ ТЕРАПЕВТИЧНІ ПІДХОДИ ДО ЛІКУВАННЯ ГОСТРОГО КОРОНАРНОГО СИНДРОМУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	70
1.1. Багаторівневі детермінанти ішемічного ушкодження серця: клітинні стресові відповіді, порушення мітохондріальної функції та ендотеліальна дисфункція	70
1.2. Механізми формування імунної відповіді при ішемічному ушкодженні серця: від початкових молекулярних подій у пошкоджених клітинах до розвитку повноцінної запальної реакції, участі регуляторних цитокінів та структурної перебудови серцевої тканини.....	87
1.3. Кріоконсервовані клітини та тканинні екстракти у кардіопротекції: сучасний стан проблеми.....	110
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	121
2.1. Об'єкт та предмети дослідження.....	121
2.1.1. Характеристика лабораторних тварин та біоетичні аспекти дослідження.....	121
2.1.2. Характеристика використаних кріоконсервованих біологічних засобів	123
2.2. Експериментальні моделі гострої ішемії та некрозу міокарда...	126
2.2.1. Перев'язка лівої коронарної артерії	126
2.2.2. Кріогенний некроз міокарда.....	127
2.2.3. Адреналінова міокардіодистрофія.....	129
2.3. Характеристика методик дослідження.....	129
2.3.1. Електрокардіографічні дослідження	129
2.3.2. Ехокардіографічні дослідження	131
2.3.3. Прижиттєва оцінка мікрогемоциркуляторного русла серця	134
2.3.4. Дослідження розчинності гелевих імплантатів.....	135
2.3.5. Біохімічні дослідження.....	139

2.3.6. Визначення молекулярно-масового розподілу низькомолекулярних фракцій пептидної природи	144
2.3.7. Імунологічні дослідження.....	144
2.3.8. Морфологічні та ультрамікроскопічні дослідження.....	147
2.4 Методи статистичної обробки	148
РОЗДІЛ 3. БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ПРИНЦИПИ ТА ІМУНОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО НЕКРОЗУ МІОКАРДА. ОСОБЛИВОСТІ МОДЕЛЕЙ ТА ЇХ ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА.....	150
3.1. Порівняльна характеристика та імунопатогенез при різних експериментальних моделях некрозу міокарда	151
3.1.1. Електрокардіографічні зміни показників серця щурів в умовах різних експериментальних моделей некрозу міокарда.....	151
3.1.2. Біомікроскопічна картина серця щурів в умовах різних експериментальних моделей некрозу міокарда.....	154
3.1.3. Морфологічні характеристики серця щурів в умовах різних експериментальних моделей некрозу міокарда.....	160
3.1.4. Імунобіологічні механізми цитодеструктивних процесів у зоні некрозу міокарда за різних експериментальних моделей	168
3.2. Динаміка цитокінів і активація NLRP3 при різних моделях некрозу міокарда.....	176
3.3. Порівняння імунних реакцій у різних моделях (перев'язка ЛКА, кріодеструкція, адреналінова міокардіодистрофія).....	180
РОЗДІЛ 4. ДОСЛІДЖЕННЯ ДИНАМІКИ ЕКСТРАКЦІЇ ПОЛІПЕПТИДІВ ІЗ АЛЬГІНАТНИХ ГІДРОГЕЛІВ І ВИВЧЕННЯ ШВИДКОСТІ БІОДЕГРАДАЦІЇ АЛЬГІНАТНИХ ІМПЛАНТАТІВ В МІОКАРДІ ТА ІМУНОБІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЕКСТРАКТІВ.....	184
4.1. Екстракція поліпептидів із альгінатних гідрогелів <i>in vitro</i> та <i>in vivo</i>	184
4.2. Оцінка деградації альгінатних гідрогелів у біологічних тканинах з використанням чутливих до в'язкості флуоресцентних барвників.....	191
4.2.1. Спектральна характеристика барвників, вільних в розчині і при зв'язуванні з щільним і негелеутворювальним альгінатом.....	191

4.2.2. Оцінка реологічних властивостей і локалізації альгінатного гідрогелю в м'язовій тканині стегна щурів	196
4.2.3. Оцінка реологічних властивостей і локалізації альгінатного гідрогелю в міокарді щурів.....	200
4.3. Імунобіологічна характеристика екстрактів.....	203
4.3.1. Молекулярно-масовий розподіл пептидів у серцевій цитоплазматичній фракції як показник імунобіологічної активності екстрактів.....	203
4.3.2. Імунопатогенетичні аспекти розвитку ендотоксикозу та змін пептидного профілю сироватки крові при експериментальному інфаркті міокарда.....	205
4.3.3. Вплив екстрагованих пептидів на макрофаги та Т-лімфоцити <i>in vitro</i>	209
РОЗДІЛ 5. КАРДІОПРОТЕКТОРНА АКТИВНІСТЬ КРІО-КОНСЕРВОВАНИХ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН ТА ЕКСТРАКТІВ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ФРАГМЕНТІВ СЕРЦЯ ПОРОСЯТ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГОСТРОЇ ІШЕМІЇ ТА НЕКРОЗУ СЕРЦЯ (ЗА ДАНИМИ ЕЛЕКТРОФІЗІОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ).....	215
5.1. Методика реєстрації електрокардіограм у щурів.....	216
5.2. Вплив мезенхімальних стромальних клітин на функціональний стан міокарда щурів на моделі перев'язки лівої коронарної артерії.....	221
5.3. Оцінка кардіопротекторної дії екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят, що входять у композит «альгінатний гідрогель – екстракт», імплантований в міокард щурів на моделі кріодеструкції серця.....	237
5.3.1. Вплив альгінатного гідрогелю на проведення електрофізіологічного сигналу серця у щурів.....	237
5.3.2. Динаміка електрокардіографічних змін у щурів на моделі кріодеструкції серця з використанням альгінатного гідрогелю, насиченого екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят.....	240
5.4. Вплив екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят на функціональний стан міокарда щурів на моделі введення токсичних доз адреналіну.....	264

5.4.1. Особливості електрокардіографічних змін у щурів під впливом кріоекстрактів серця поросят при адреналіновій міокардіодистрофії	264
5.4.2. Вегетативна регуляція серцево-судинної системи після застосування екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на тлі експериментальної адреналінової міокардіодистрофії	275
РОЗДІЛ 6. ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН І ЕКСТРАКТІВ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ФРАГМЕНТІВ СЕРЦЯ ПОРОСЯТ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ СЕРЦЯ ЗА УМОВ ГОСТРОЇ ІШЕМІЇ ТА НЕКРОЗУ МІОКАРДА (УЗ-ОЦІНКА)	289
6.1. Ремоделювання серцевого м'яза під впливом мезенхімальних стромальних клітин на моделі перев'язки лівої коронарної артерії.....	290
6.1.1. Допплерографічне дослідження аорти після введення МСК при експериментальному інфаркті міокарда.....	298
6.2. Ехокардіографічна динаміка у щурів із моделлю кріодеструкції серця при застосуванні альгінатного гідрогелю, насиченого екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят.....	302
6.3. Ультразвукова характеристика серця щурів після експериментального ураження адреналіном та застосування ксенокстракту серця	307
6.4. Імунні механізми ремоделювання.....	314
6.4.1. Зв'язок ехокардіографічних змін із інтенсивністю запалення.....	314
6.4.2. Кореляція Treg/Th17 і фракції викиду.....	319
РОЗДІЛ 7. МЕХАНІЗМИ АНТИОКСИДАНТНОЇ ТА МЕТАБОЛІЧНОЇ ДІЇ МСК І КРІОЕКСТРАКТУ СЕРЦЯ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ ТА НЕКРОЗУ МІОКАРДА ЩУРІВ.....	324
7.1. Кардіопротекторний ефект мезенхімальних стромальних клітин при моделі перев'язки лівої коронарної артерії за показниками антиоксидантної системи	324
7.2. Вплив альгінатного гідрогелю, насиченого екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят, на гематологічні та біохімічні параметри щурів з експериментальним кріонекрозом міокарда	332

7.3. Модулювальний вплив кріоекстракту серця на біоенергетичні та антиоксидантні системи міокарда при адреналіновій міокардіодистрофії	336
7.3.1. Модуляція ендогенної антиоксидантної системи під впливом кріоекстракту серця в умовах адреналінової міокардіодистрофії	337
7.3.2. Адаптаційна дія кріоекстракту серця на енергетичні процеси в міокарді при експериментальній адреналіновій міокардіодистрофії	346
7.3.3. Метаболічні порушення у міокарді при адреналіновому ушкодженні та вплив кріоекстракту серця на лактатно-піруватний обмін.....	354
7.3.4. Кріоекстракт серця як модулятор глікогенолізу в умовах експериментальної міокардіодистрофії	362
7.3.5. Оцінка кардіопротекторної активності кріоекстракту серця на моделі адреналінової міокардіодистрофії за показниками вільнорадикального окиснення	366
7.4. Імунологічні кореляти антиоксидантної дії.....	373
7.4.1. Взаємозв'язок між окисним стресом та продукцією цитокінів.....	373
7.4.2. Роль МСК/екстрактів у зниженні NLRP3-активації через контроль ROS.....	375
РОЗДІЛ 8. МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВПЛИВУ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН ТА ЕКСТРАКТІВ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ФРАГМЕНТІВ СЕРЦЯ ПОРОСЯТ НА ДЕСТРУКТИВНО-ВІДНОВЛЮВАЛЬНІ ПРОЦЕСИ КАРДІО-МІОЦИТІВ ПРИ ГОСТРІЙ ІШЕМІЇ СЕРЦЯ ТА НЕКРОЗІ МІОКАРДА..	379
8.1. Морфологічна характеристика міокарда під впливом мезенхімальних стромальних клітин при моделі перев'язки лівої коронарної артерії	379
8.1.1. Динаміка ультраструктурних змін міокарда під впливом введення мезенхімальних стромальних клітин на моделі перев'язки лівої коронарної артерії	389
8.2. Динаміка морфологічних змін міокарда під впливом екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят, що входять у композит «альгінатний гідрогель – екстракт», імплантований в міокард щурів на моделі кріодеструкції серця.....	398

8.3. Особливості морфологічної перебудови міокарда під впливом екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят на тлі експериментальної адреналінової міокардіодистрофії	415
8.4. Імуногістохімічний аналіз	427
8.4.1. Кількість CD68 ⁺ макрофагів та їх M1/M2 співвідношення.....	427
8.4.2. Маркери апоптозу й аутоімунного ураження (TUNEL, IgG-депозити).....	431
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ПРОВЕДЕНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	438
ВИСНОВКИ.....	487
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	493
ДОДАТКИ.....	529

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АДФ	- аденозиндифосфорна кислота
АлАТ	- аланінамінотрансфераза
АМД	- адреналінова міокардіодистрофія
аМо	- амплітуда моди
АМФ	- аденозинмонофосфорна кислота
АсАТ	- аспартатамінотрансфераза
АТФ	- аденозинтрифосфорна кислота
АФК	- активні форми кисню
ВСР	- варіабельність ритму серця
Г-6-Ф	- глюкозо-6-фосфат
ГКС	- гострий коронарний синдром
ГПО	- глутатіон-пероксидаза
ДК	- дієнові кон'югати
ЕЗ	- електронний заряд
ЕКГ	- електрокардіографія
ЕСцП	- екстракт серця новонароджених поросят
ІЛ	- інтерлейкін
ІМ	- інфаркт міокарда
КДД	- кінцево-діастолічний діаметр
КДО	- кінцево-діастолічний об'єм
КСД	- кінцево-сistolічний діаметр
КСО	- кінцево-сistolічний об'єм
ЛДГ	- лактатдегідрогеназа
ЛКА	- ліва коронарна артерія
ЛШ	- лівий шлуночок (серця)
МДА	- малоновий діальдегід
МЛШ	- маса лівого шлуночка серця
Мо	- мода
МСК	- мезенхімальні стромальні клітини
НМ	- некроз міокарда
ПОЛ	- перекисне окиснення ліпідів
Рис	- рисунок
РП	- регуляторні пептиди
СОД	- супероксиддисмутаза
СПЗСШ	- відсоток систолічного потовщення задньої стінки серця
СПМШП	- відсоток систолічного потовщення міжшлуночкової перегородки
СРБ	- С-реактивний білок
табл.	- таблиця
ТБК-АП	- тіобарбітурова кислота активний продукт
ТМПД	- товщина міжшлуночкової перегородки в діастолу
ТМПС	- товщина міжшлуночкової перегородки в систолу
УО	- ударний об'єм

ФВ	- фракція викиду
ФС	- фракція скорочення
ХО	- хвилинний об'єм
CD	- cluster designation
CV	- коефіцієнт варіації
DAMP	- damage-associated molecular patterns
G-SH	- відновлений гютаціон
HF	- потужність спектра кардіоритму в ділянці високих частот
HLA	- human leukocyte antigen
HRV	- триангулярний індекс
IgG-депозити	- скупчення імуноглобуліну G у тканинах
ISD	- Індекс Стюарта
LF	- потужність спектра в ділянці низьких частот
LQ	- верхня межа нижнього квартиля (lower quartile)
m (SE)	- стандартна похибка середнього арифметичного
NADPH	- нікотинамідаденіндинуклеотид фосфат
NLRP3	- білок, що запускає утворення інфламасоми
NO	- nitric oxide
PI	- Індекс Гослінга
RI	- Індекс Пурсело
ROS	- reactive oxygen species
SDNN	- стандартне відхилення нормальних RR інтервалів
Th	- лімфоцити Т-хелери
TLR	- Toll-подібні рецептори
TLR4	- Toll-like receptor 4
TNF	- фактор некрозу пухлини
TP	- повна потужність спектра коливань кардіоритму
T-reg	- регуляторні Т-клітини
UQ	- нижня межа верхнього квартиля (upper quartile)
Vd	- діастолічна швидкість
VLF	- потужність спектра в ділянці дуже низьких частот
Vm	- середня швидкість
Vs	- систолічна швидкість
WAM5	- ширина основного купола гістограми на рівні 5% амплітуди моди

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Серцево-судинні захворювання залишаються провідною причиною смертності та інвалідизації населення в усьому світі [1]. Одним із найбільш поширених і небезпечних проявів є гострий інфаркт міокарда, що супроводжується розвитком ішемічного ушкодження та некрозу серцевого м'яза [2]. Незважаючи на наявність сучасних методів фармакологічного та інтервенційного лікування, проблема збереження життєздатності кардіоміоцитів і відновлення функціональної активності міокарда після ішемії залишається актуальною [3].

Гострий коронарний синдром (ГКС) є клінічним проявом ішемічного ураження серця, найчастіше зумовленим розривом атеросклеротичної бляшки та тромботичною оклюзією коронарної артерії [4]. Сучасні дослідження доводять, що ключову роль у розвитку некрозу міокарда відіграють імунологічні механізми, які запускають і підтримують патогенетичний каскад подій [5].

Ініціація імунної відповіді відбувається завдяки пошкодженню ендотелію та розриву атеросклеротичної бляшки, що супроводжуються вивільненням danger-associated molecular patterns (DAMPs) – сигналів клітинного стресу. Ці молекули активують рецептори вродженого імунітету TLR (Toll-подібні рецептори, NOD-рецептори), що призводить до швидкої активації нейтрофілів і моноцитів [6].

Роль вродженого імунітету полягає в тому, що нейтрофіли мігрують у зону ішемії, продукують протеази та активні форми кисню, що сприяє ушкодженню кардіоміоцитів. Моноцити/макрофаги в свою чергу фагоцитують клітинні уламки та вивільняють прозапальні цитокіни (IL-1 β , TNF- α , IL-6), які посилюють локальне запалення та некроз [7]. Комплемент активується як класичним, так і альтернативним шляхами, формуючи мембраноатакуючі комплекси, які безпосередньо ушкоджують клітинні мембрани [8].

Важливу роль в асептичному запаленні відіграє і адаптивний імунітет. Т-лімфоцити беруть участь у підтриманні запальної реакції: Th1-клітини продукують IFN- γ , посилюючи цитотоксичний ефект, тоді як регуляторні Т-клітини (T-reg) відіграють протекторну роль, знижуючи надмірне запалення [9]. В-лімфоцити та антитіла можуть брати участь у формуванні автоімунних реакцій проти антигенів некротизованих кардіоміоцитів, що ускладнює перебіг післяінфарктного періоду [10].

В подальшому локальне ушкодження міокарда супроводжується системним викидом цитокінів у кров, що зумовлює активацію кісткового мозку та мобілізацію нових імунних клітин. Це формує цитокіновий шторм, який може сприяти прогресуванню некрозу і ремоделюванню серця [11]. Запальна відповідь, спрямована на елімінацію некротичних клітин, одночасно є патогенетичною ланкою, що визначає розмір зони некрозу та тяжкість ушкодження. Дисбаланс між прозапальними та протизапальними механізмами може призвести до надмірного руйнування тканини й запуску патологічного ремоделювання міокарда [12].

Таким чином, з імунологічної точки зору гострий коронарний синдром є не лише наслідком ішемії, а й результатом складної взаємодії клітин імунної системи, медіаторів запалення та молекул клітинного стресу. Розуміння цих патогенетичних ланок відкриває можливості для створення імуномодулювальних стратегій у терапії ГКС та профілактики післяінфарктного ремоделювання серця [12, 13].

Для поглибленого вивчення патогенетичних ланок захворювання використовують експериментальні моделі некрозу міокарда. Вони є необхідною передумовою для системного вивчення часової динаміки вроджених і адаптивних імунних реакцій, молекулярних сигналів (DAMPs, цитокіни, комплемент), клітинної рекрутації імунокомпетентних клітин та їх впливу на відновлення чи прогресуючу деструкцію міокарда [13].

У дослідників великий інтерес викликав отримання відтворюваної моделі некрозу міокарда, яка дозволить:

- хронологічно та кількісно охарактеризувати вроджені (нейтрофіли, макрофаги, комплемент) і адаптивні (Т- і В-лімфоцити) імунні реакції після ішемічного ушкодження;
- визначити профілі прозапальних і протизапальних цитокінів у локусі та системно;
- оцінити вплив імунних компонентів на розмір некрозу, інфільтрацію клітин і післяінфарктне ремоделювання;
- тестувати імуномодулювальні втручання (наприклад, блокаду IL-1 β , таргетну модифікацію макрофагів, застосування МСК або екстрактів) щодо їх кардіопротекторного ефекту [7, 9, 11].

Пошкодження міокарда, зокрема після інфаркту, призводить до втрати функціонально активних кардіоміоцитів та формування рубцевої тканини. На відміну від печінки чи шкіри, серцевий м'яз має обмежений регенеративний потенціал, що значною мірою залежить від імунної відповіді [12]. Оптимальна стратегія стимуляції регенерації міокарда полягає у тонкому регулюванні імунної відповіді: від швидкого усунення пошкоджених клітин до активації протизапальних механізмів та ангіогенезу [14]. Ключовим завданням сучасної імунології є створення терапій, які б не лише пригнічували запалення, але й спрямовували його у регенеративне русло. Імунна система виступає не лише «захисником», а й регулятором відновлення серця. Розуміння цих процесів відкриває нові можливості для розробки імунокерованих методів лікування серцевих патологій.

У фокусі експериментальної та клінічної кардіології опинилися клітинні технології та біологічно активні речовини, отримані з тканин серця. Зокрема, мезенхімальні стромальні клітини (МСК) привертають увагу завдяки своїм вираженим регенераторним, імуномодулювальним та кардіопротекторним властивостям [15, 16]. Їх здатність впливати на процеси репарації та ремоделювання міокарда після ішемічного ушкодження відкриває перспективи для створення нових методів лікування серцево-судинних захворювань. Вивчення імунобіології стромальних клітин і створення на їх основі нових підходів до регенерації серця залишаються актуальними.

Водночас у науковому середовищі поступово формується консенсус щодо визначальної ролі паракринного механізму дії МСК у реалізації їх терапевтичного потенціалу. Це зумовлює необхідність розробки експериментальних підходів до отримання продуктів МСК та впровадження більш стандартизованих протоколів лікування.

Науковий інтерес становлять екстракти кріоконсервованих фрагментів серцевої тканини, які містять комплекс біологічно активних молекул, здатних модулювати клітинні процеси та потенційно підсилювати відновлення функцій ураженого міокарда [17 18, 46]. Дослідження показали, що екстракти кріоконсервованих фрагментів органів, які складається з широкого спектра факторів росту, цитокінів, хемокінів та регуляторних пептидів демонструють плюрипотентний ефект [17].

Численні дослідження переконливо доводять, що основні системи, які відповідають за підтримку гомеостазу та адекватну реакцію на різноманітні впливи (нервова, ендокринна, імунна), мають спільний механізм хімічної регуляції. В основі цього механізму лежить продукція та секреція цілої низки речовин пептидної природи. Такі молекули отримали загальну назву регуляторні пептиди (РП). Сьогодні не викликає сумніву, що РП відіграють провідну роль у підтримці гомеостазу шляхом визначення основних параметрів формування компенсаційно-приспосувальних реакцій організму на стресорний вплив та порушення гомеостатичного балансу. І біологічна дія тканинних екстрактів пов'язується з наявністю в них РП.

Виходячи з результатів досліджень, було висунуто припущення про те, що комплексним пептидним біорегуляторам властива тканинспецифічність. Тобто, кожен комплекс пептидів здатний специфічно впливати на фізіологічний стан тканин, з яких він був виділений, при неспецифічному впливі на організм в цілому [18]. Характерною ознакою РП є наявність у більшості з них плейотропності – здатності кожного пептиду впливати на декілька фізіологічних функцій.

Експериментальні дослідження свідчать, що екстракти кріоконсервованих фрагментів органів за своєю терапевтичною ефективністю не поступаються

застосуванню МСК [18, 88]. Використання таких екстрактів дозволяє мінімізувати ризики, пов'язані з безпекою введення живих клітин, а також має низку технологічних переваг, зокрема спрощує процеси виробництва, зберігання та створення готових препаратів [18, 19.].

Дослідження препаратів, отриманих на основі пептидних комплексів з екстрактів органів, демонструють їх суттєві переваги над клітинними продуктами. По-перше, такі засоби характеризуються нижчим ризиком розвитку пухлин, аутоімунних реакцій та токсичних ефектів у порівнянні з клітинною терапією. По-друге, процеси їх виробництва, стерилізації та зберігання є менш складними, що робить їх більш привабливими для практичного застосування [88].

Таким чином, вивчення кардіопротекторного потенціалу мезенхімальних стромальних клітин та екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця в умовах експериментального некрозу міокарда є науково обґрунтованим і своєчасним. Це дослідження не лише поглибить розуміння механізмів клітинної, імунобіологічної та молекулярної кардіопротекції, але й може стати основою для розробки нових терапевтичних стратегій у лікуванні ішемічних уражень серця.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в рамках відомчих науково-дослідних робіт (НДР) відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини (ІПКіК) НАН України: «Деструктивні та відновні процеси в тканинах *in vivo* після дії низьких температур та біологічно активних речовин» (шифр 2.2.6.113, номер державної реєстрації 0117U001049, термін виконання: 2017–2021 рр., керівник – в. о. завідувача відділу експериментальної кріомедицини ІПКіК НАН України, канд. мед. наук, старший дослідник Чиж М.О.) та «Особливості перебігу деструктивно-запальних та репаративних процесів під впливом низьких температур та кріоекстрактів органів ссавців» (шифр 2.2.6.147, номер державної реєстрації 0121U113328, термін виконання: 2022–2026 рр., керівник – в. о. завідувача відділу експериментальної кріомедицини ІПКіК НАН України, канд. мед. наук, старший дослідник Чиж М.О.).

Мета роботи: експериментально обґрунтувати кардіопротекторний потенціал мезенхімальних стромальних клітин та екстрактів кріоконсервованих фрагментів серцевої тканини шляхом вивчення їхніх імуномодулювальних, репаративних та регенеративних механізмів дії для підвищення ефективності й безпечності терапії гострого коронарного синдрому.

Для досягнення поставленої мети потребують вирішення **наступні завдання:**

1. Дослідити біотехнологічні та імунологічні механізми формування експериментального некрозу міокарда, порівняти електрофізіологічні, морфологічні та імунні особливості різних моделей (перев'язка ЛВА, кріодеструкція, адреналінова міокардіодистрофія) та з'ясувати ключові патогенетичні відмінності між ними.
2. Вивчити фізико-хімічні властивості альгінатних гідрогелів і визначити динаміку екстракції біоактивних пептидів *in vitro* та *in vivo*; оцінити швидкість біодеградації гідрогелю в тканинах та вплив екстрагованих пептидів на клітини імунної системи.
3. Оцінити кардіопротекторний ефект мезенхімальних стромальних клітин і кріоекстрактів серця поросят за даними електрофізіологічних досліджень у різних моделях гострої ішемії та некрозу міокарда, встановити їхній вплив на провідність, ритм та відновлення функціонального стану серця.
4. Дослідити морфофункціональні зміни та ремоделювання міокарда під впливом МСК і кріоекстрактів за даними ультразвукового дослідження, визначити взаємозв'язок між ехокардіографічними показниками, інтенсивністю запалення та балансом Treg/Th17.
5. Встановити антиоксидантні та метаболічні ефекти МСК і кріоекстрактів у моделях гострої ішемії та кріонекрозу міокарда; дослідити їхній вплив на показники оксидантно-антиоксидантної рівноваги, гематологічні та біохімічні параметри.
6. Проаналізувати модулювальний вплив кріоекстрактів серця на біоенергетичні, антиоксидантні та метаболічні процеси при адреналіновій

міокардіодистрофії, оцінити зміни глікогенолізу, лактатно-піруватного обміну та інтенсивності вільнорадикального окиснення.

7. Охарактеризувати морфологічні та ультраструктурні процеси деструкції й репарації кардіоміоцитів під впливом МСК і кріоекстрактів у моделях перев'язки ЛВА, кріодеструкції та адреналінового ушкодження; визначити їхній внесок у відновлення архітектоніки міокарда.
8. Провести імуногістохімічний аналіз для виявлення змін кількості CD68⁺ макрофагів, співвідношення M1/M2, інтенсивності апоптозу та автоімунних ушкоджень (TUNEL, IgG-депозити) з метою встановлення імунних механізмів кардіопротекторної дії МСК і кріоекстрактів.

Об'єкт дослідження – перебіг деструктивно-відновлювальних змін в міокарді на тлі експериментальної гострої ішемії та некротичного ушкодження серця.

Предмет дослідження – біологічні, імунні та регенеративні властивості мезенхімальних стромальних клітин і екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що в дисертації вперше:

- Комплексно досліджено механізми кардіопротекторної, імуномодулювальної, антиоксидантної та метаболічної дії мезенхімальних стромальних клітин (МСК) та екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят у трьох патогенетично різних моделях гострого ушкодження міокарда – перев'язки лівої коронарної артерії, локального кріонекрозу та адреналінової міокардіодистрофії.
- Охарактеризовано біотехнологічні та імунологічні закономірності формування експериментального кріонекрозу міокарда, що дозволило виділити специфічні відмінності між моделями за електрофізіологічними, морфологічними та імунними реакціями.
- Досліджено динаміку екстракції біоактивних пептидів з альгінатних гідрогелів *in vitro* та *in vivo* та встановлено взаємозв'язок між їх

вивільненням і швидкістю біодеградації гідрогелю в тканинах, що дало можливість створити керовану систему локального транспорту біомолекул у міокард.

- Продемонстровано, що екстракти кріоконсервованих фрагментів серця, імпрегновані в альгінатний гідрогель, відновлюють електрофізіологічну провідність, зменшують зону некрозу та модулюють запальну відповідь, а ефект зіставляється з МСК, але реалізується через безклітинні механізми.
- Показано диференційовані механізми дії МСК та кріоекстрактів: МСК переважно впливають на ремоделювання, імунний баланс (Treg/Th17), регуляцію макрофагальних популяцій та структурну репарацію міокарда, тоді як кріоекстракти – на метаболічну адаптацію, глікогеноліз, антиоксидантний захист, лактатно-піруватний обмін та пригнічення NLRP3-активації через контроль ROS.
- Встановлено морфологічні та ультраструктурні маркери репаративної дії МСК і кріоекстрактів, зокрема зменшення апоптозу, IgG-депозитів і нормалізацію кількості CD68⁺ M1/M2 макрофагів у зоні ураження.
- Доведено, що безклітинні кріоекстракти кріоконсервованої серцевої тканини можуть бути ефективною альтернативою МСК, забезпечуючи порівнянний кардіопротекторний ефект, але без етичних, імунологічних і регуляторних обмежень клітинної терапії.

Основні наукові положення, що виносяться на захист:

1. Встановлено, що кріотехнологічна модель некрозу міокарда формує чітко окреслену зону первинного ушкодження з швидкою активацією TLR4–NLRP3-залежного запалення. У перші 24 год кількість нейтрофілів у вогнищі зростала у 3–3,5 рази, тоді як макрофаги M1 накопичувалися поступово, досягаючи піку на 3 добу. Порівняння моделей показало, що ішемічна перев'язка ЛВА викликала найбільші ЕКГ-порушення (депресія ST до 0,25–0,3 mV), тоді як кріонекроз супроводжувався інтенсивнішою цитодеструкцією та гемомікроциркуляторними розладами. Адреналінова міокардіодистрофія характеризувалася системною гіперферментемією без

чіткої зони некрозу, але з вираженим цитокіновим дисбалансом (IL-1 β зростав у 2,1 раза, TNF- α – у 1,8 раза). Таким чином, моделі відрізняються за типом імунного патерну: ішемічна – домінуванням нейтрофільного ушкодження, кріогенна – стерильним запаленням з вираженою NLRP3-активацією, адреналінова – метаболічним імунодисбалансом, що необхідно враховувати при оцінці кардіопротекторних засобів.

2. Дослідження альгінатних гідрогелів показало, що їх фізико-хімічні властивості забезпечують контрольовану екстракцію поліпептидів: у моделях *in vitro* до 40–45% пептидів вивільнялося протягом перших 24 год, тоді як у тканинах *in vivo* початковий викид був повільнішим – близько 20–25%. Визначено поступове розпушення матриці гідрогелю та його деградацію протягом 7–14 діб, що підтверджено зміною спектральних максимумів флуоресцентних барвників і зниженням в'язкості. У стегні та міокарді щурів гідрогелі зберігали локалізацію без міграції, при цьому структурні властивості руйнувалися швидше в міокарді через вищу механічну динаміку. Екстраговані пептиди проявляли виражений імуномодулювальний потенціал: у культурах макрофагів знижувалася експресія M1-маркерів і підвищувалася частка CD206⁺ клітин, тоді як у Т-лімфоцитах зростав рівень IL-10 на 30–40% і зменшувалася продукція TNF- α . Це підтверджує можливість використання композитів «альгінат–екстракт» як контрольованих систем доставки з протизапальною дією.
3. Встановлено виражену кардіопротекторну активність МСК та екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят на різних моделях гострого ушкодження міокарда. На моделі перев'язки ЛВА введення МСК сприяло стабілізації електрофізіологічної активності: амплітуда R-зубця зростала на 18–22%, а депресія ST зменшувалася в середньому на 0,12 mV. Композит «альгінат–екстракт» на моделі кріодеструкції знижував вираженість порушень провідності, скорочуючи тривалість комплексу QRS на 10–12% і нормалізуючи сегмент ST протягом 3–5 діб. У моделі адреналінової міокардіодистрофії екстракти серця поросят сприяли

відсутності аритмій удвічі та відновлювали вегетативний баланс: LF/HF знижувався з 3,8 до 1,9, що свідчить про зменшення симпатикотонії. Електрофізіологічні ефекти у всіх моделях корелювали з покращенням функціонального стану міокарда та відновленням регуляції серцевого ритму.

4. За даними ультразвукового дослідження встановлено, що МСК та екстракти кріоконсервованої тканини серця істотно модифікують ремоделювання міокарда при різних моделях ішемічно-некротичного ушкодження. На моделі перев'язки ЛВА МСК сприяли зменшенню дилатації ЛШ (КДР зменшився на 8–10%) і підвищенню фракції викиду з 42–45% до 55–58%. При кріодеструкції застосування композиту «альгінат–екстракт» зменшувало товщину гіперехогенних зон на 25–30% і покращувало локальну скоротливість. У моделі адреналінової кардіопатії вплив ксенокстрактів на структурно-функціональний стан ЛШ підтверджувалося відновленням фракції викиду на 30-у добу. Імунологічний аналіз підтвердив, що покращення ехокардіографічних параметрів корелювало зі зменшенням інтенсивності запалення та зсувом балансу Treg/Th17 у бік регуляторної відповіді (Treg підвищувався на 35–40%), що узгоджувалося з підвищенням ФВ на 10–12%.
5. Встановлено, що МСК і кріоекстракт серця реалізують виражену антиоксидантну та метаболічну дію при різних типах ішемічно-некротичного ушкодження міокарда. На моделі перев'язки ЛВА МСК знижували рівень малонового діальдегіду (МДА) у міокарді на 35–40% і підвищували активність супероксиддисмутази (СОД) на 28–32%, що супроводжувалося нормалізацією енергетичного обміну (АТФ зростала на 20%). При кріодеструкції застосування кріоекстракту сприяло зменшенню оксидативного стресу (МДА знижувався на 30%) і відновленню активності каталази та глутатіонпероксидази. Композит «альгінат–екстракт» додатково оптимізував системні біохімічні показники: рівень креатинфосфокінази знижувався у 1,7 раза, ЛДГ – у 1,5 раза, а лейкоцитарна формула нормалізувалася за рахунок зменшення

нейтрофіліозу на 20–25%. Отримані дані свідчать, що поєднання клітинних та неклітинних біотехнологічних підходів забезпечує стабільний антиоксидантний захист і метаболічну підтримку міокарда в умовах гострого ушкодження.

6. На моделі адреналінової міокардіодистрофії встановлено, що кріоекстракт серця чинить виражений модуляторний вплив на антиоксидантні, енергетичні та метаболічні системи міокарда при адреналіновій міокардіодистрофії. Під його дією рівень МДА знижувався на 30–35%, активність СОД і каталази зростала відповідно на 25% і 22%, що свідчить про відновлення ендогенної антиоксидантної ланки. Покращення енергетичного балансу проявлялося підвищенням вмісту АТФ на 18–20% та нормалізацією співвідношення лактат/піруват (з 3,1 до 1,7), що вказує на зменшення анаеробного зсуву. Кріоекстракт також коригував глікогеноліз, підвищуючи запас глікогену в кардіоміоцитах на 25%. Антиоксидантні ефекти супроводжувалися імунологічною модулюючою дією: знижувалася продукція $\text{TNF-}\alpha$ та $\text{IL-1}\beta$ на 30–40%, а пригнічення NLRP3-активації через контроль ROS узгоджувалося зі зменшенням оксидативного стресу. Сукупно це підтверджує кардіопротекторний потенціал кріоекстракту при стрес-індукованому ушкодженні міокарда.
7. Морфологічні дослідження показали, що МСК та кріоекстракти серця поросят суттєво зменшують деструктивні зміни та посилюють репаративні процеси в міокарді при гострій ішемії та некрозі. У моделі перев'язки ЛВА введення МСК приводило до зменшення набряку та сегментарного лізису міофібрил на 35–40%, збереження структури мітохондрій і зростання кількості функціональних крист. Ультраструктурно спостерігали відновлення міжміофібрилярних контактів і зменшення щільності лізосомальних гранул. У моделі кріодеструкції композит «альгінат–екстракт» знижував площу некротичних ділянок на 25–30% і прискорював формування грануляційної тканини. За умов адреналінової міокардіодистрофії

екстракти серця поросят зменшували вакуолізацію цитоплазми, нормалізували профіль саркоплазматичної сітки та покращували розподіл глікогенових гранул. Сукупність змін свідчить про потужний цитопротекторний та відновлювальний потенціал біотехнологічних препаратів при різних типах ушкодження міокарда.

8. Імуногістохімічний аналіз показав, що застосування МСК та кріоекстрактів серця поросят суттєво модифікує запальну та апоптичну відповідь у зоні ушкодження міокарда. Кількість CD68⁺ макрофагів у контролі залишалася високою, тоді як після терапії зменшувалася на 30–35%. Водночас відзначено спрямований перехід від фенотипу M1 до M2: співвідношення M1/M2 знижувалося з 2,4 до 1,1, що свідчить про активацію репаративної фази запалення. Маркери апоптозу за методом TUNEL демонстрували зменшення кількості позитивних ядер на 40–45%, а інтенсивність IgG-депозитів, характерних для аутоімунного ушкодження, знижувалася у 1,8 раза. Комплекс цих змін вказує на здатність біотехнологічних препаратів зменшувати імуно-опосередковане пошкодження, обмежувати апоптоз кардіоміоцитів і сприяти відновленню тканини в постішемичний період.

Практичне значення отриманих результатів полягає в тому, що викладені в дисертаційному дослідженні положення мають виразну теоретико-прикладну спрямованість і можуть бути використані у:

- **науково-дослідній діяльності** – як підґрунтя для подальших поглиблених досліджень кардіопротекторних, метаболічних, антиоксидантних та імуномодулювальних ефектів екстрактів кріоконсервованих фрагментів органів. Результати створюють передумови для розробки нових біосумісних терапевтичних платформ та клінічно орієнтованих регенеративних технологій у кардіології.
- **практичній діяльності закладів охорони здоров'я** – для науково обґрунтованого розширення показань до медичного застосування безклітинних біопрепаратів.

- **освітньому процесі** – як науково обґрунтована база для розширення відомостей про сучасні клітинні та безклітинні біотехнології, механізми кардіопротекції, імуномодуляції та регенерації міокарда у викладанні дисциплін біомедичного профілю.
- Результати роботи впроваджено у наукову, практичну та освітню діяльність:
 - кафедри фізіології людини та тварин Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна МОН України (Акт впровадження від 04.10.2023 р.);
 - кафедри фармації Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика (Акт впровадження від 08.07.2025 р.);
 - кафедри фармакології Полтавського державного медичного університету (Акт впровадження від 04.12.2025 р.);
 - кафедри внутрішньої медицини №2 Тернопільського національного університету імені І.Я. Горбачевського (Акт впровадження від 12.11.2025 р.);
 - кафедри загальної хірургії, анестезіології та паліативної медицини Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна МОН України (Акт впровадження від 22.10.2025 р.);
 - відділені сімейної медицини КНП «Міська поліклініка №10» Харківської міської ради (Акт впровадження від 25.10.2025 р.);
 - кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна МОН України (Акт впровадження від 15.12.2025 р.);
 - кафедри педіатрії Сумського державного університету МОН України (Акт впровадження від 16.12.2025 р.).

Методи дослідження. Для вирішення завдань роботи розроблено комплексну програму дослідження, реалізація якої досягалась низкою методів:

1. **патофізіологічні** (метод моделювання патологічного процесу) – для відтворення уражень серця;
2. **біохімічні** – при дослідженні змін з боку крові та гомогенатів серця;

3. **імунологічні** – для визначення імунного статусу організму;
4. **ультразвукові** – для дослідження функціонального стану серця;
5. **патоморфологічні** – при дослідженні стану міокарда;
6. **імуногістохімічні** – при дослідженні запальної та апоптичної відповіді;
7. **статистичні** – для опрацювання отриманих даних та оцінки їх значущості (W-критерій Шапіро–Уїлка, критерій Левена, t-критерій Стьюдента, H-критерій Краскела–Уолеса).

Особистий внесок дисертанта. Дисертація є самостійним закінченим науковим дослідженням автора. Дисертантом визначено основний напрям, мету та завдання дослідження; складено план роботи та розроблені її основні теоретичні і практичні положення. Автором проведено аналіз вітчизняних та закордонних публікацій за напрямом дослідження. Здобувачем самостійно проведено статистичне опрацювання первинних даних за допомогою стандартних статистичних методів і викладено в матеріалах дисертації у вигляді таблиць та графіків. Самостійно написані розділи дисертації. Дисертант самостійно сформулював основні положення та висновки роботи. Підготовлено публікації за матеріалами дисертаційної роботи у періодичних фахових наукових виданнях.

У роботах, опублікованих у співавторстві з к.мед.н. Бабаєвою, к. біол. н. Белочкіною І.В., д.біол.н. Гальченком С.Є., PhD Гладких Ф.В., PhD Глобою В.Ю., д-р мед. н., проф. Коморовським Р.Р., д.мед.н., проф. Лядовою Т.І., PhD Матвеєнко М.С., д.х.н., проф. Рошалем О.Д., к.біол.н. Слетою І.В., к.біол.н. Рогозою Л.А., д.мед.н., проф. Сандомирським Б.П., особистий внесок здобувача полягає:

- у роботах [20, 21] – аналіз літературних даних, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів;
- у роботах [22, 24, 25, 30, 32, 33, 34, 35, 36, 38, 39, 40, 43, 45, 48, 52, 55, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 70, 71, 72, 75, 76, 81, 84, 85, 87, 89, 90, 91] –

- ідея та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, написання основного тексту, формулювання висновків;
- у роботах [28, 47, 49, 50, 56, 57, 58, 67, 82, 83, 86] – виконання експериментальних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків;
 - у роботах [37, 41, 42, 44, 46, 51, 53, 54, 68, 69, 73, 74, 77, 78, 79, 80, 88] – концепція та дизайн дослідження, проведення експерименту, збір даних, остаточне затвердження статті.

Апробація результатів дисертації. Основні положення і результати дисертаційного дослідження, теоретичні та практичні висновки та рекомендації були оприлюднені та доповідались на 30 вітчизняних та закордонних науково-практичних заходах (зокрема 20 – у формі усної доповіді та публікації тез, 6 – у формі постерної доповіді та публікації тез та 4 – у формі опублікування у збірнику матеріалів):

1. World Conference on Regenerative Medicine, 2–4 November, 2011 **Leipzig**, Germany.
2. Frontiers in Cardiovascular Biology **London** 30th March – 1st April 2012 Second Congress of the ESC Council on Basic Cardiovascular Science.
3. 25 th conf. Intern. Soc. For Medical Innovation and technology, ISMT 2013, **Baden-Baden**, Germany. Minimally Invasive Therapy and Allied Technologies.
4. SLTB 2013. Soc. Low Temperature Biology. October 6–9, 2013. **Hannover**, Germany.
5. SLTB 2014. Soc. Low Temperature Biology. Freezing biological time: 50th Anniversary Celebration, Annual Scientific Conference &AGM 8 th-10th October 2014, **London**.
6. XLII Annual ESAO Congress – 2–5 September 2015, **Leven**, Belgium.
7. The 14 th Conference on Methods and Applications in Fluorescence MAF 14 **Würzburg**, Germany. 13–16 September 2015.
8. Dutch Peptide Symposium **Lelystad**, Netherlands. – 3 June 2016.
9. CRYO 2025, Annual Meeting of the Society for Cryobiology, July 22 – 25, 2025, **Hannover**, Germany.

10. VII Міжнародна наукова конференція «Молодь та поступ біології», 5–8 квітня 2011 р., **м. Львів** Україна.
11. Conference of Young Scientists «Cold in Biology and Medicine 2011» May, 18–19th, 2011, **Kharkiv**, Ukraine.
12. X Міжнародна наукова конференція студентів та молодих науковців «Шевченківська весна», 19–23 березня 2012 р., **м. Київ**, Україна.
13. 36th Annual Conference of Young Scientists ‘Cold in Biology and Medicine 2012. Current Problems in Cryobiology, Transplantology and Biotechnology’ May, 22–24th, 2012, **Kharkiv**, Ukraine.
14. Міждисциплінарна наукова конференція «Адаптаційні стратегії живих систем», 11–16 червня 2012 р., **м. Новий Світ**, Крим, Україна.
15. 37th Annual Conference of Young Scientists ‘Cold in Biology and Medicine. Current Issues in Cryobiology, Transplantology and Biotechnology’ May, 20–21st, 2013, **Kharkiv**, Ukraine.
16. Міжнародна міждисциплінарна наукова конференція «Біологічно активні речовини та матеріали: фундаментальні та прикладні питання одержання та застосування» 27 травня – 01 червня 2013, **м. Новий Світ**, Україна
17. 39th Annual Conference of Young Scientists ‘Cold in Biology and Medicine. Current Issues in Cryobiology, Transplantology and Biotechnology’ May 20–21, 2015, **Kharkiv**, Ukraine.
18. 40th Annual Conference of Young Scientists ‘Cold in Biology and Medicine. Current Issues in Cryobiology, Transplantology and Biotechnology’ May 23–24, 2016, **Kharkiv**, Ukraine.
19. 41st Annual Conference of Young Scientists ‘Cold in Biology and Medicine. Current Issues in Cryobiology, Transplantology and Biotechnology’ May 24–25, 2017, **Kharkiv**, Ukraine.
20. 42nd Annual Conference of Young Scientists ‘Cold in Biology and Medicine. Current Issues in Cryobiology, Transplantology and Biotechnology’ May 23–24, 2018, **Kharkiv**, Ukraine.
21. Друга Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології» 10-12 жовтня 2018 р. **м. Дніпропетровськ**, Україна.

22. 44th Annual Conference of Young Scientists ‘Cold in Biology and Medicine. Current Issues in Cryobiology, Transplantology and Biotechnology’ May 19, 2020, **Kharkiv**, Ukraine.

Публікації. За темою дисертації опубліковано 72 наукові роботи, 32 статті, з яких 23 – у рецензованих фахових періодичних виданнях, включених до міжнародної наукометричної бази Scopus, та 9 статей – у рецензованих фахових періодичних виданнях України за спеціальністю «І2 Медицина» категорії Б та 30 тез (зокрема 10 – у збірниках закордонних конференцій та 20 – у збірниках тез вітчизняних науково-практичних заходів). Одноосібно опубліковано 6 праць у виданнях, включених до наукометричної бази Scopus.

Додатково наукові результати дисертації відображено у 11 наукових працях, серед яких 4 монографії та 7 патентів.

Структура та обсяг дисертації. Структура дисертації зумовлена її метою, задачами, об’єктом і предметом, а також логікою розкриття теми дослідження та викладенням його результатів. Робота складається із основної частини (вступу, восьми розділів, узагальнення, висновків та практичних рекомендацій), списку використаних джерел та 1 додаток. Загальний обсяг дисертації становить 536 сторінок, з яких 441 сторінка основного тексту. Роботу ілюструють 125 рисунків та 115 таблиць. Список використаних джерел займає 36 сторінок та складається з 283 найменувань, з яких 195 – закордонні та 88 – вітчизняні публікації.

РОЗДІЛ 1

ПАТОГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ ТА СУЧАСНІ ТЕРАПЕВТИЧНІ ПІДХОДИ ДО ЛІКУВАННЯ ГОСТРОГО КОРОНАРНОГО СИНДРОМУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Багаторівневі детермінанти ішемічного ушкодження серця: клітинні стресові відповіді, порушення мітохондріальної функції та ендотеліальна дисфункція

Ішемічне ушкодження міокарда та його реперфузійні наслідки є складним багатофакторним процесом, що охоплює цілу низку взаємопов'язаних клітинних, молекулярних, біоенергетичних та мікросудинних порушень. Незважаючи на значний прогрес у кардіології та вдосконалення методів ранньої реперфузії, ішемічно-реперфузійне пошкодження залишається ключовим патофізіологічним чинником, який визначає обсяг некрозу, ступінь дисфункції серця та довгостроковий прогноз пацієнта. Сучасні експериментальні та клінічні дослідження демонструють, що ішемія ініціює складний каскад внутрішньоклітинних змін, включно з гіпоксичною перебудовою метаболізму, порушенням кислотнolужної рівноваги, дисрегуляцією кальцієвого гомеостазу та активацією сигналів клітинної загибелі.

Особливу роль у формуванні тяжкості ушкодження відіграють мітохондріальні дисфункції, зокрема відкриття пори мітохондріальної проникності, зниження синтезу АТФ та генерація надмірної кількості активних форм кисню (АФК). Ці зміни запускають низку механізмів некрозу, апоптозу та запрограмованого некрозу (некроптозу), які визначають структурно-функціональну деградацію кардіоміоцитів. Паралельно в умовах ішемії активуються інтенсивні процеси окисного стресу, виснаження антиоксидантних систем та порушення редокс-балансу, що потенціює ушкоджувальний ефект метаболічних та іонних змін.

Не менш важливими у контексті гострої ішемії міокарда є мікроциркуляторні та ендотеліальні порушення, які обмежують адекватне

відновлення кровотоку та оксигенації тканин навіть після успішної реперфузії. Дисфункція ендотелію, зниження біодоступності оксиду азоту, підвищена проникність судинної стінки, активація адгезії лейкоцитів та формування феномену «no-reflow» істотно погіршують результати лікування.

У цьому огляді узагальнено сучасні уявлення про ключові клітинні, мітохондріальні, молекулярні та мікросудинні механізми ішемічного й ішемічно-реперфузійного ушкодження міокарда. Представлений аналіз надає цілісне бачення патогенетичних взаємозв'язків, підкреслює роль критичних біологічних шляхів та окреслює потенційні мішені для майбутніх терапевтичних втручань.

Клітинні та молекулярні механізми ішемії: роль гіпоксії, ацидозу та порушення кальцієвого гомеостазу

Гіпоксія під час гострої коронарної оклюзії зумовлює негайне зміщення енергетичного метаболізму кардіоміоцитів від окисного фосфорилування до анаеробного гліколізу [92, 93]. Така перебудова є адаптивною лише на ранніх етапах: вона підтримує мінімально необхідний синтез АТФ для іонного транспорту та базової механохімічної роботи скоротливого апарату, але супроводжується накопиченням лактату й іонів H^+ , формуванням внутрішньоклітинного ацидозу та зниженням ефективності ензимних реакцій [94]. За умов тривалішої ішемії скорочується пул високоенергетичних фосфатів, зростає частка неорганічного фосфату, а в саркомерах формується стан кальцієзалежної «жорсткої» фіксації актоміозинових містків із розвитком контрактурного заціпеніння. Сукупно це переводить клітину з режиму оборотних порушень у фазу структурної дезінтеграції з ризиком незворотних ушкоджень [94].

Ацидоз є центральною ланкою метаболічної відповіді на гіпоксію та потужним модифікатором іонного гомеостазу. Падіння внутрішньоклітинного рН активує протонекструзійні системи плазматичної мембрани, насамперед Na^+/H^+ -обмін і бікарбонатзалежний транспорт [95]. Нормалізуючи рН, ці механізми автокумулятивно підвищують вміст Na^+ у цитозолі. Натрієве

перевантаження, у свою чергу, зміщує роботу $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмінника у «зворотний» режим із входом Ca^{2+} до клітини, що спричиняє кальцієву перевантаженість саркоплазми [95]. Паралельно ацидоз і дефіцит АТФ знижують активність Ca^{2+} -АТРаз саркоплазматичного ретикулума та сарколеми, погіршуючи реабсорбцію Ca^{2+} у ретикулум і його вичерпання зі скоротливого апарату під час діастолі. Результатом є діастолічна дисфункція, гіперскоротливість окремих сегментів і зростання енергетичної вартості одиниці механічної роботи [96].

Мітохондрії інтегрують наслідки гіпоксії, ацидозу й кальцієвої дисрегуляції. За ішемії порушується електрохімічний градієнт на внутрішній мембрані, зменшується швидкість переносу електронів, накопичуються відновлені субстрати та формується субстрат для сплеску АФК у момент реперфузії [97]. Надходження Ca^{2+} у матрикс знижує поріг відкриття мітохондріальної перехідної пори проникності (mPTP), а відновлення рН під час реперфузії додатково полегшує цей перехід [94, 98, 99]. Транзиторне або тривале відкриття mPTP призводить до розсіювання мембранного потенціалу, роз'єднання окисного фосфорилювання, набряку мітохондрій, вивільнення проапоптотичних факторів і лавиноподібного підсилення АФК (рис. 1.1) [94, 97].

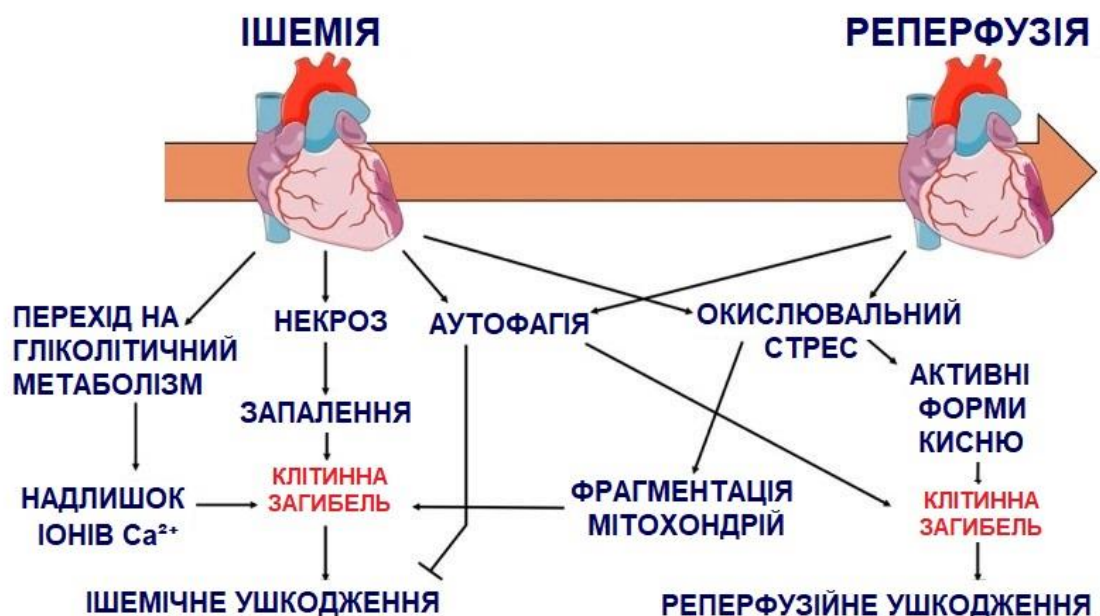


Рис. 1.1. Схематичне зображення молекулярних механізмів, що сприяють ішемії та реперфузійному пошкодженню [100]

Кислотно-лужні зсуви мають часову «парадоксальність»: у фазі глибокої ішемії ацидоз частково гальмує протеолітичні ферменти та зменшує чутливість скоротливого апарату до Ca^{2+} , обмежуючи структурні пошкодження; натомість швидка нормалізація рН із початком реперфузії «розблоковує» кальцієві й протеолітичні каскади, підсилює роботу Na^+/H^+ -обміну та полегшує зворотний режим $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмінника [94, 95]. Унаслідок цього зростає амплітуда цитозольних піків Ca^{2+} , підвищується діастолічний рівень Ca^{2+} , відбуваються аритмогенні коливання вмісту іонів у саркоплазматичному ретикулумі та посилюється витік Ca^{2+} через ріанодинові рецептори [101]. На тлі відновлення кисню мітохондріальний ланцюг транспорту електронів генерує імпульс АФК, які окиснюють ліпіди та білки мембран, ушкоджують ріанодинові рецептори й Ca^{2+} -АТРази, ще глибше порушуючи кальцієвий гомеостаз [97, 101]. Додатковий внесок мають ендотеліальні зсуви: дисбаланс оксиду азоту з формуванням пероксинітриду, мікросудинна дисфункція та клітинна адгезія, що підтримують локальну гіпоксію попри відновлений макрокровотік.

З системної позиції гіпоксія-ацидоз-кальцій утворюють тріаду, яка визначає клінічну траєкторію ушкодження: (1) гіпоксія запускає енергетичний дефіцит і метаболічне «підкислення» [93]; (2) ацидоз, коригуючись через натрійзалежні механізми, перемикає іонні обміни в режим, що накопичує Ca^{2+} [95]; (3) кальцієве перевантаження, синхронізоване з реперфузійним відновленням рН та кисню, тригерує дисфункцію мітохондрій, відкриття mPTP і каскади запрограмованої та неконтрольованої клітинної смерті [94, 99]. Клінічна релевантність цієї послідовності полягає в тому, що таргетування будь-якої з її ланок – контроль швидкості корекції рН на початку реперфузії, обмеження зворотного режиму $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмінника, стабілізація ріанодинових рецепторів і насосів Ca^{2+} , а також зсув метаболізму від окиснення жирних кислот до більш кисневоефективного окиснення глюкози – потенційно зменшує амплітуду реперфузійного ушкодження [94, 95, 101]. Водночас варіабельність відповіді визначається вихідним станом міокарда (гіпертрофія, діабет,

старіння), що модифікує буферні системи, експресію транспортерів і порого кальцієвих та мітохондріальних тригерів [94].

Підсумовуючи, можна відзначити, що ішемічна гіпоксія ініціює енергетичну нестачу та ацидоз, які через натрійзалежні механізми корекції рН запускають кальцієве перевантаження; на тлі реперфузії ця тріада реалізує мітохондріально опосередковане пошкодження із характерним розсинхронізуванням метаболічного й механічного відновлення [94, 97]. Розуміння часової логіки та вузлів перехресної регуляції між рН-гомеостазом, кальцієвою сигналізацією та мітохондріальною функцією створює основу для раціонального поєднання протективних підходів, спрямованих на зменшення розміру інфаркту та покращення відновлення скоротливої функції без введення нових аббревіатур чи числових припущень [94].

Мітохондріальні порушення та відкриття пори мітохондріальної проникності

Міокардіальна ішемія ініціює багатокomпонентний каскад порушень мітохондріального гомеостазу, в якому кожна ланка послідовно і взаємопідсилювально формує умови для критичного зростання імовірності відкриття пори мітохондріальної проникності (mPTP) під час реперфузії [102, 103, 104]. На етапі ішемії основним детермінантом дисфункції стає дефіцит кисню, що перериває транслокацію електронів уздовж дихального ланцюга й обмежує термінальне окиснення субстратів. Внаслідок цього метаболізм зміщується в бік субстратного рівня фосфорилування, який має низьку ефективність і супроводжується швидким виснаженням пулу АТФ та креатинфосфату. Падіння енергетичного резерву призводить до пригнічення йонозалежних насосів і порушення електрохімічних градієнтів [99]. Наростаючий ацидоз активує Na^+/H^+ -обмінник, що спричиняє внутрішньоклітинне накопичення Na^+ та підвищення осмотичного навантаження; за цих умов $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмінник переходить у реверсний режим із підвищенням входу Ca^{2+} у кардіоміоцит [99]. Оскільки активність SERCA пригнічена через дефіцит АТФ, порушується реабсорбція Ca^{2+} у

саркоплазматичний ретикулум, що, у поєднанні з діастолічною втратою Ca^{2+} через RyR2, створює високе цитозольне навантаження на мітохондріальний Ca^{2+} -уніпортер (MCU) [99].

Попри те, що кисле внутрішньоклітинне рН на ішемічному етапі частково стабілізує внутрішню мітохондріальну мембрану та утримує mPTP у закритому стані, у матриксі поступово накопичуються ключові тригери її майбутнього відкриття: надмірний Ca^{2+} , підвищена концентрація неорганічного фосфату, накопичення відновлених еквівалентів NADH/FADH₂ та сукцинату [99]. Сукупність цих факторів формує високу готовність системи до переходу у провідний стан за умов, що зміняться під час реперфузії.

Сукцинат виступає центральним метаболічним маркером ішемії: його накопичення за ішемії та швидке окиснення комплексом II на початку реперфузії відновлює убіхінон і за умов високого $\Delta\mu$ запускає зворотний транспорт електронів (RET) у комплексі I – домінантне джерело раннього сплеску мітохондріальних активних форм кисню [105, 107]. Саме RET-асоційовані ROS, у поєднанні зі швидкою нормалізацією рН та персистуючим перевантаженням Ca^{2+} , різко знижують поріг відкриття mPTP [99].

Структурні зміни внутрішньої мембрани відіграють важливу роль у втраті її бар'єрних властивостей. Окиснення кардіоліпіну – ключового ліпиду, що стабілізує дихальні суперкомплекси, порушує організацію мембрани та дестабілізує роботу комплексів, підсилюючи RET-генерацію ROS і схильність мембрани до провідного стану [107]. Терапевтична стабілізація кардіоліпіну зменшує ушкодження та підтримує функцію електронтранспортного ланцюга в умовах I/P та механічної підтримки кровообігу [108].

На молекулярному рівні регуляція mPTP є наслідком інтегральної взаємодії білково-ліпідного комплексу внутрішньої мембрани з Ca^{2+} , ROS, неорганічним фосфатом та рН; циклофілін D модулює чутливість пори до кальцієвого перевантаження та редокс-зсувів, а транзиторні «близькості» mPTP у нормі відрізняються від стійкого відкриття за I/P [109, 104]. Стійке відкриття супроводжується колапсом мембранного потенціалу, набуханням матриксу, розривом зовнішньої мембрани та вивільненням цитохрому C і Smac/DIABLO;

при критично низькому АТФ переважає некроз, тоді як часткове збереження енергетики сприяє апоптозу [99].

Детермінанти відкриття mPTP за умов ішемії/реперфузії можуть бути структуровані у три взаємопідсилювальні осі:

- (1) кальцієве перевантаження, пов'язане з RyR2-витоком, пригніченням SERCA, реверсним NCX, підвищеним навантаженням на MCU та недостатнім експортом через NCLX [99, 110];
- (2) оксидативний стрес RET-походження на тлі прискореного окиснення сукцинату комплексом II [105, 106];
- (3) реперфузійний рН-зсув, який усуває кислототонічне гальмування mPTP [99].

Ліпідні модифікації кардіоліпіну та дезорганізація суперкомплексів додатково знижують стабільність мембрани та підсилюють її схильність до провідного стану [107].

Терапевтичні стратегії спрямовані на розрив хоча б однієї з цих критичних осей. Ішемічне пре- та посткондиціонування модулюють ранній ROS-сплеск і чутливість mPTP через сигнальні осі PKC- ϵ , RISK/SAFE та підтримання деактивованого стану комплексу I на початку реперфузії [99]. Фармакологічне гальмування RET-асоційованої генерації ROS через інгібування сайту IQ комплексу I (S1QEL) знижує продукцію ROS без істотного пригнічення OXPHOS [111, 112]. Модуляція Ca^{2+} -потоків включає інгібіцію Na^+/H^+ -обмінника (NHE1), стабілізацію RyR2, посилення експорту Ca^{2+} через NCLX та зниження навантаження на MCU [113, 110]. Десенситизація mPTP через інгібування циклофіліну D є перспективною, але потребує точного відбору пацієнтів і виваженого таймінгу [109].

Механізми некрозу, апоптозу та запрограмованого некрозу кардіоміоцитів

Ішемія міокарда ініціює багаторівневу каскадну перебудову внутрішньоклітинного гомеостазу, що призводить до швидкого погіршення енергетичного стану кардіоміоциту та порушення цілісності мембранних структур. Брак O_2 різко пригнічує окисне фосфорилування в мітохондріях, що спричиняє падіння АТФ, накопичення АДФ та АМФ, а також компенсаторну активацію анаеробного гліколізу [116, 115]. Унаслідок цього утворюється лактат та розвивається метаболічний ацидоз, який змінює кислотно-лужний баланс цитозолу. Глибина ацидозу безпосередньо визначає ступінь пригнічення основних АТФаз кардіоміоциту: Na^+/K^+ -АТФаза та Ca^{2+} -АТФази сарколеми і саркоплазматичного ретикулума поступово втрачають функціональну активність [99]. Це створює біохімічні умови для прогресуючого Na^+ - та Ca^{2+} -перевантаження, що є ключовим патогенетичним вузлом ішемічного пошкодження [99].

Ацидоз активує Na^+/H^+ -обмінник, який виводить H^+ , але вводить Na^+ у клітину; надлишок Na^+ , у свою чергу, переключає Na^+/Ca^{2+} -обмінник (NCX) у реверсний режим, спрямований на проникнення Ca^{2+} у цитозоль [99].

Порушення іонного гомеостазу поширюється на всі компартменти кардіоміоциту. Пригнічення Ca^{2+} -АТФази саркоплазматичного ретикулума (SERCA) знижує ефективність реабсорбції Ca^{2+} у ретикулум, унаслідок чого Ca^{2+} затримується у цитозолі та бере участь у патологічній активації скоротливого апарату. Паралельно ріанодинові рецептори RyR2 стають джерелом неконтрольованого витоку Ca^{2+} , оскільки їхня функція порушується через оксидативні модифікації та зниження здатності до закриття. Скупчення Ca^{2+} у цитозолі створює надмірне навантаження на мітохондріальний Ca^{2+} -уніпортер (MCU), який транспортує значні об'єми Ca^{2+} у матрикс. Це призводить до мітохондріального кальцієвого перевантаження, деполяризації мембранного потенціалу, зменшення ефективності АТФ-синтази та

накопичення відновлених еквівалентів, які в ішемічних умовах не можуть бути використані в дихальному ланцюзі [97].

Реперфузія, попри життєву необхідність, є періодом максимальної біохімічної нестабільності. Раптове надходження кисню запускає зворотний електронний транспорт у комплексі I, формуючи ранній реперфузійний спалах активних форм кисню (АФК). Мітохондрії, які протягом ішемії накопичили сукцинат та відновлені еквіваленти, у перші хвилини реперфузії окиснюють їх надзвичайно швидко [115]. Такий різкий стрибок електронного потоку призводить до генерації АФК у концентраціях, що перевищують природні антиоксидантні можливості клітини. На тлі нормалізації рН, яка усуває кислотне гальмування, АФК і Ca^{2+} синхронно знижують поріг відкриття пори мітохондріальної проникності (mPTP) [99]. Як тільки mPTP переходить у відкритий стан, відбувається миттєве роз'єднання окисного фосфорилування, деполяризація мембрани, неконтрольована втрата АТФ та інших метаболітів, осмотичний набряк мітохондрій і руйнування їх структури. Формується енергетичний колапс, відновити який клітина вже не здатна [97].

Морфологічно та функціонально це призводить до набухання цитозоля, руйнування цитоскелета, розриву плазматичної мембрани та виникнення некрозу. Некробіотичні зміни розвиваються лавиноподібно: осмотичний дисбаланс посилюється через втрату іонної регуляції, мембрани втрачають бар'єрну функцію, внутрішньоклітинні компоненти виходять у міжклітинний простір, що стимулює гостре стерильне запалення. Такий некроз є домінантним механізмом загибелі кардіоміоцитів при тривалій ішемії та реперфузії в умовах глибокого енергетичного дефіциту [116].

Проте за умов часткового збереження енергетичного потенціалу активуються регульовані програми клітинної смерті. Апоптоз виступає еволюційно сформованим механізмом контрольованої елімінації клітини. Внутрішній шлях апоптозу запускається АФК, ушкодженням ДНК та ендоплазматичним стресом, які активують ВНЗ-тільки білки. Вивільнений цитохром С активує каскад каспаз через АРАФ-1 та каспазу-9, а надалі каспази-3/7, що забезпечує фрагментацію хроматину [116].

На відміну від апоптозу, некроптоз активується при блокаді каспази-8, що дозволяє RIPK1/RIPK3 формувати комплекс і фосфорилувати MLKL, який утворює пори у мембрані. У серці RIPK3 активує CaMKII, що додатково відкриває mPTP. PGAM5 та Drp1 посилюють фрагментацію мітохондрій [116].

Фероптоз – заліозалежна форма запрограмованого некрозу, що характеризується масивною ліпопероксидацією через дефект GPX4, накопичення Fe^{2+} і LOX-активність [117]. Реперфузійний спалах АФК суттєво прискорює цей процес [115].

Піроптоз – запальна форма некротичної смерті, керована інфламасомою NLRP3 та каспазою-1, що розщеплює Gasdermin D і формує пори у мембрані [116].

Крос-ток між апоптозом, некроптозом і піроптозом формує пластичний континуум фенотипів. ZBP1 і Piezo1 можуть запускати PANoptosis [118, 119]. Реперфузійний стан зміщує баланс у бік некротичних форм смерті клітин [116].

Узагальнюючи, доля кардіоміоциту визначається взаємодією енергетичного дефіциту, інтенсивності АФК, рівня Ca^{2+} -перевантаження та мітохондріальних механізмів [99]. Некроз домінує при критичній енергетичній кризі; апоптоз – при сублетальному стресі; фероптоз, некроптоз і піроптоз активуються при реперфузійній турбулентності [120, 121]. Це обґрунтовує комбіновані інтервенції, спрямовані на RET-АФК, ER–мітохондріальний кальцієвий потік та інфламасому.

Роль окисного стресу та дисфункції антиоксидантної системи в ішемічному ушкодженні

Ішемічне ушкодження тканин розглядається як багаторівневий і високоорганізований патологічний процес, у центрі якого домінує оксидативний стрес – дисбаланс між швидкістю утворення активних форм кисню (АФК) та ефективністю ендогенних антиоксидантних механізмів. У фізіологічних умовах базові концентрації АФК виконують низку регуляторних функцій: модулюють активність протеїнкіназ, регулюють експресію генів шляхом впливу на транскрипційні фактори та забезпечують тонке

налаштування скоротливості кардіоміоцитів через контроль за іонними потоками [122, 123]. У фізіологічних умовах базові концентрації АФК виконують низку регуляторних функцій: модулюють активність протеїніназ, регулюють експресію генів шляхом впливу на транскрипційні фактори та забезпечують тонке налаштування скоротливості кардіоміоцитів через контроль за іонними потоками. Проте у стані ішемії, а особливо в перші хвилини реперфузії, редокс-гомеостаз порушується настільки глибоко, що кількісні й якісні відхилення утворення супероксиду, перекису водню, гідроксильних радикалів і пероксинітриту стають визначальними для прогресування клітинної дисфункції. На тлі цього ферментативні та низькомолекулярні антиоксиданти стрімко виснажуються, що призводить до неконтрольованого росту перекисного навантаження [124].

Утворення надлишкових АФК формує патологічну редокс-матрицю, яка зумовлює електрофізіологічну нестабільність, прогресивне кальцієве перевантаження, дисфункцію мітохондрій та активацію програмованих форм загибелі клітин [94]

Головні джерела генерації АФК при ішемії та реперфузії охоплюють кілька вузлових структур. Центральною ланкою залишаються мітохондріальні комплекси електрон-транспортного ланцюга, в яких за умов гіпоксії різко зростає ймовірність «реверсного» транспорту електронів через комплекс I у ранню реперфузію. Таке «реверсне» перенаправлення електронів підсилюється високими концентраціями сукцинату, що накопичується під час ішемії, і після відновлення доступу кисню перетворюється на потужне джерело супероксиду. Паралельно активуються NADPH-оксидази, які в умовах кальцієвого навантаження та дії прозапальних сигналів вивільняють супероксид у цитоплазму та позаклітинний простір. Додатковий внесок забезпечує ксантинооксидаза, яка у нормі функціонує у формі дегідрогенази, але за ішемії переходить у форму, що продукує супероксид [124]. У ендотеліальній NO-синтазі за умов дефіциту тетрагідробіоптерину відбувається «роз'єднання», у результаті чого фермент замість синтезу NO генерує супероксид. Реакції за участю Fe^{2+} підсилюють окисне навантаження: вільне залізо, що вивільняється

з білкових кластерів у мітохондріях та цитозолі, запускає реакцію Фентона з утворенням гідроксильних радикалів [125]. Ці потужні окисники ініціюють ланцюгову ліпопероксидацію, порушують еластичність та проникність мембран сарколеми, мітохондрій і саркоплазматичного ретикулуму, підсилюють втрату іонного контролю та спричиняють прогресуюче порушення скоротливості клітини.

Редокс-чутливі іонні канали формують ключову ланку зв'язку між оксидативним стресом і порушенням електрофізіології. Окисні модифікації тіолових груп калієвих каналів призводять до пригнічення реполяризуючих струмів Ito, IKr, IKs та IK1. Паралельно АФК модифікують натрієві та кальцієві канали Nav1.5 і Cav1.2 шляхом S-нітрозилювання та глутатіонілювання, підвищуючи їхню активність та створюючи умови для надмірного припливу іонів. Окиснені ріанодинові рецептори сприяють діастолічному «витоку» Ca^{2+} із саркоплазматичного ретикулуму, що формує тригерні зони для ранніх і пізніх післядеполяризацій. На цьому тлі АФК пригнічують активність SERCA та змінюють роботу обмінника NCX, що посилює кальцієве перевантаження та переводить мітохондрії у стан критичного стресу. Надлишок Ca^{2+} у матриксі мітохондрій знижує поріг відкриття переходової пори проникності (mPTP), і її нефізіологічне раннє відкриття на тлі реперфузії спричиняє втрату мембранного потенціалу, набухання органел і некротичну загибель клітин [99, 101].

Оксидативний стрес виконує роль пускового механізму кількох програмованих форм загибелі клітин. Апоптоз активується через ушкодження ДНК, ендоплазматичний стрес і активацію шляху $\text{BH3} \rightarrow \text{BAX/BAK}$, що веде до вивільнення цитохрому С та запуску каспазного каскаду. Некроптоз посилюється завдяки АФК-опосередкованій активації комплексу RIPK1/3–MLKL та через кальцієво-залежну активацію CaMKII, яка сприяє відкриттю mPTP. Фероптоз формується у середовищі дефіциту GPX4 та транспортної системи SLC7A11, підвищеної активності ACSL4 й ліпоксигеназ та наявності надлишку вільного заліза. За цих умов порушується антиоксидантний ліпідний бар'єр і прогресує ліпопероксидація. Паралельно АФК і кальцієве

перевантаження провокують активацію інфламасоми NLRP3 та піроптоз із формуванням пор GSDMD, що підтримує локальне запалення та посилює вторинне ушкодження клітин [126, 127].

Антиоксидантна система кардіоміоцитів включає ферментативні (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза/редуктаза, тіоредоксин/глутаредоксин) та неферментативні (відновлений глутатіон, аскорбат, α -токоферол, каротиноїди, флавоноїди) компоненти [124]. Під дією ішемії/ацидозу порушується співвідношення GSH/GSSG, знижується активність GPx і каталази, виснажуються запаси NADPH, що порушує відновлення антиоксидантів. Пригнічення осі Nrf2–HO-1 зменшує експресію генів редокс-захисту, включно з транспортером цистину SLC7A11 і ферментами, що підтримують ліпідний антиоксидантний бар'єр. Одночасно активуються шляхи феритинолізу через NCOA4 і збільшується імпорт заліза через TFR1, що поглиблює ліпопероксидацію та підсилює ймовірність фероптозу [128]. У таких умовах навіть помірні «спалахи» АФК стають деструктивними, а не сигнальними, що сприяє прогресуванню ушкодження.

Мікросудинна дисфункція виступає ще одним ключовим наслідком оксидативного стресу. Ендотеліоцити втрачають здатність підтримувати вазодилатацію через зниження біодоступності оксиду азоту: його швидка реакція із супероксидом супроводжується утворенням пероксинітриду, який ушкоджує білки та ліпіди. Порушення ендотеліальної функції сприяє агрегації тромбоцитів, лейкоцитозу, дисфункції глікокаліксу та активації матриксних металопротеїназ. Підвищення проникності капілярів погіршує мікроперфузію навіть за умови відновлення коронарного кровотоку («no-reflow»), збільшуючи ефективну зону некрозу. Запальні медіатори та продукти ліпопероксидації, такі як малоновий діальдегід та 4-гідроксिनоненаль, формують замкнене коло позитивного зворотного зв'язку, що підтримує «редокс-пожежу» у зоні ушкодження [129].

Біомаркерами редокс-стресу та структурного ушкодження тканин є МДА/4-HNE, 8-оксогуанін, мієлопероксидаза та показники електрофізіологічної нестабільності. Їхні концентрації та динаміка корелюють з

обсягом інфаркту, ступенем порушення функції лівого шлуночка та ризиком виникнення аритмій, а також можуть бути використані для оцінки ефективності редокс-орієнтованих втручань [130, 131].

Терапевтичні стратегії корекції оксидативного стресу повинні враховувати часові особливості процесу реперфузії та комбінувати підходи, спрямовані на (1) зменшення генерації АФК, (2) підсилення антиоксидантних буферів і (3) переривання редокс-чутливих ланок ушкодження. До першої групи належать інгібування мітохондріальних джерел АФК, застосування мітохондріально-адресованих антиоксидантів, пригнічення ксантиноксидази та NADPH-оксидаз, а також нормалізація роботи eNOS [124, 130]. До другої групи відносять відновлення пулу GSH (наприклад, N-ацетилцистеїн), активацію осі Nrf2–HO-1, підтримання активності GPx і каталази та захист селен-залежних механізмів GPX4 [124, 128]. Третя група охоплює модулювання редокс-чутливих іонних каналів та антифероптозні підходи – підсилення SLC7A11/GPX4, пригнічення ACSL4 та ліпоксигеназ, контроль за балансом заліза [126]. Процедурні заходи – контрольовані режими реперфузії, пост- і прекодиціювання – додатково знижують пікові спалахи АФК та кальцієві коливання, зменшуючи масштаб ушкодження [129].

Таким чином, оксидативний стрес та дисфункція антиоксидантної системи становлять центральне патогенетичне ядро ішемічного ушкодження. Вони інтегрують порушений метаболізм кисню, дисфункцію іонних каналів, кальцієвий дисбаланс у системі ER–мітохондрії, відкриття mPTP, мікросудинну недостатність та мультипрограмну загибель клітин. Комбінаторна, часово таргетована редокс-терапія, що одночасно спрямована на пригнічення джерел АФК, підсилення ендогенних антиоксидантів та модифікацію редокс-чутливих каналів і залізо-залежних механізмів, має потенціал істотно зменшити розмір інфаркту, стабілізувати ритм і покращити відновлення насосної функції серця. Інтеграція цих втручань із сучасними методами реваскуляризації створює можливість перетворення редокс-лабільності ішемічної тканини на керований терапевтичний вектор.

Мікроциркуляторні та ендотеліальні зміни в умовах гострої ішемії міокарда

Гостра ішемія міокарда з подальшою реперфузією ініціює каскад мікроциркуляторних і ендотеліальних змін, що не зводяться до епікардіальної обструкції, та істотно визначають обсяг ішемічного ушкодження [132]. В основі лежить коронарна мікросудинна дисфункція – поєднання структурного ремоделювання преартеріол і артеріол з функціональними порушеннями ендотелій-залежного контролю тонуусу [133]. У зоні дистальніше стенозу тривала адаптація до зниженого перфузійного тиску обмежує резерв вазодилатації навіть після відновлення просвіту, а в найтяжчому випадку формується мікросудинна обструкція з феноменом «no-reflow», коли капілярна перфузія не відновлюється попри реканалізацію епікардіальної артерії [134]. Структурні зміни охоплюють стеноз інтрамуральних артеріол ($<100\ \mu\text{m}$), периваскулярний фіброз і розрідження капілярів ($<10\ \mu\text{m}$), що збільшує частку мікросудинного опору та поглиблює ішемію.

Центральною ланкою гострого ушкодження є ендотеліальна дисфункція. У резистивних судинах порушується відповідь на ендотелій-залежні вазодилататори, зростає утворення активних форм кисню (ROS) і прогресивно знижується біодоступність оксиду азоту (NO) [135]. Дисбаланс між вазодилаторами ендотеліального походження – NO, простаглінін, брадікінін, ендотелій-зумовлений гіперполяризуючий фактор – та вазоконстрикторами – ендотелін-1, тромбоксан A_2 , супероксид-аніон – зсуває вазомоторний тонус у бік звуження. Паралельно ендотелій переходить у активований прозапальний стан із підвищеною експресією молекул адгезії та хемокінів і посиленою взаємодією з тромбоцитами та лейкоцитами; це сприяє мікроагрегації, порушенню реології та закріпленню феномена «no-reflow». У сукупності ці процеси підсилюють гетерогенність перфузії та формують субстрат для аритмогенезу й подальшого ремоделювання.

Ключовим адаптивно-патогенним модулем у гострій ішемії є аутофагія ендотеліальних клітин (ендотеліальні клітини, англ. EC). Аутофагія – еволюційно консервативний шлях деградації пошкоджених білків і органел, що

послідовно включає: ініціацію преініціаційного комплексу ULK1/2–ATG13–FIP200 під контролем АМФ-активованої протеїнкінази (АМРК) та мішені рапаміцину 1 в ссавців (mTORC1); нуклеацію мембрани фагофору комплексом VPS34–VPS15–Beclin-1; елонгацію/закриття за участю систем ATG12/ATG5/ATG16L1 та кон'югації LC3 з фосфатидилетаноламіном; злиття аутофагосом з лізосомою за участю синтаксину-17 (Stx17), SNAP29, VAMP8 та LAMP1/2. У контексті ішемії/реперфузії (I/R) активація цього контуру має двоїстий ефект [136].

З одного боку, помірний аутофагічний потік виконує цитопротекторні функції: видаляє дисфункційні мітохондрії та токсичні білкові агрегати, знижує надлишок ROS, підтримує біодоступність NO через стабілізацію eNOS-сигналінгу, обмежує активацію інфламасоми та експресію прозапальних медіаторів. Важливою складовою є мітофагія – селективна елімінація пошкоджених мітохондрій. Вона реалізується шляхом PINK1–Parkin з убіквітинуванням білків зовнішньої мембрани та рекрутуванням адаптерів p62/OPTN/NDP52 до LC3, а також рецептор-залежними механізмами за участю BNIP3, NIX/BNIP3L, FUNDC1, BCL2L13 та FKBP8. Підтримання мітохондріального гомеостазу через ці осі зменшує ендотеліальний апоптоз, покращує реактивність мікросудин і полегшує відновлення перфузії.

З іншого боку, надмірна або дизрегульована аутофагія на тлі інтенсивного оксидативного/гіпоксичного стресу може набувати цитотоксичних рис. Гіпераутофагія пов'язується з депонуванням деградаційних продуктів, енергетичною децентралізацією клітини та запуском аутофагічної (тип II) загибелі, що посилює втрату ендотеліального покриву й мікросудинну обструкцію [137]. У таких умовах пригнічення надмірної аутофагії або її таргетоване перенаправлення на мітофагію відновлює життєздатність ЕС, зменшує ROS-перевантаження та покращує вазодилататорну відповідь.

Отже, клінічно релевантна мета – не «ввімкнути» чи «вимкнути» аутофагію, а відновити фізіологічний потік і селективність утилізації пошкоджених органел.

Суттєвим є перехресний зв'язок між ендотеліальною аутофагією та вазомоторикою. Активація AMPK у відповідь на енергетичний дефіцит одночасно стимулює аутофагію та eNOS-залежний синтез NO, тоді як гіперактивація mTORC1 пригнічує обидва контури, сприяючи вазоконстрикції. Окисно-редукційні зсуви модулюють ці шляхи: підвищення NADPH-оксидаз-залежних ROS у гострій ішемії може індукувати компенсаторну AMPK-mTOR-керовану аутофагію та покращувати EC-залежну коронарну вазодилатацію; натомість надлишковий гіпоксичний стимул через FoxO3α здатний переключити аутофагію в проапоптичний режим. У фазі реперфузії транскрипційний фактор EB (TFEB) підтримує лізосомальний біогенез і завершення аутофагічного циклу; його активація узгоджується зі зменшенням запалення та кращою виживаністю тканини.

В умовах інтервенційного відновлення кровотоку мікрооточення стента здатне модулювати ендотеліальну аутофагію. Індукція аутофагії під впливом антипроліферативних агентів із покриття може гальмувати реендотелізацію, зменшувати продукцію NO та сприяти тромбозу стента й рестенозу. Це підкреслює, що контроль над якістю й інтенсивністю аутофагічного потоку в перистентовій зоні є складовою профілактики мікросудинних ускладнень у гострому періоді.

Запалення та ендотеліально-мезенхімна транзиція (endothelial-to-mesenchymal transition, EndMT) формують відкладені наслідки гострої ішемії. Дефектний аутофагічний потік у EC сприяє NF-κB-залежній активації запалення та підсилює EndMT, що посилює периваскулярний фіброз і закріплює мікросудинну жорсткість; навпаки, відновлення аутофагії через TFEB-залежні механізми пригнічує EndMT і підтримує ангиогенез. Хоч ці події розгортаються поза гострою фазою, їхній початок закладається саме під час ішемії/реперфузії через зсуви в аутофагічних і мітофагічних контурах.

Таким чином, гостра ішемія міокарда характеризується взаємопов'язаними мікроциркуляторними та ендотеліальними порушеннями: структурним ремоделюванням резистивних судин і капілярів, дисбалансом ендотелій-залежних вазоактивних медіаторів, окисно-запальними зсувами та

контекст-залежною перебудовою аутофагії/мітофагії. Клінічно значущим є те, що кероване відновлення ендотеліального аутофагічного потоку, збереження мітохондріального гомеостазу та підтримка eNOS-залежної біодоступності NO потенційно пом'якшують феномен «no-reflow», покращують коронарний мікрокровотік і зменшують обсяг ішемічного ушкодження. Це визначає аутофагію ЕС як перспективну мішень для модифікації перебігу гострого ушкодження та запобігання подальшому мікросудинному ремоделюванню.

1.2. Механізми формування імунної відповіді при ішемічному ушкодженні серця: від початкових молекулярних подій у пошкоджених клітинах до розвитку повноцінної запальної реакції, участі регуляторних цитокінів та структурної перебудови серцевої тканини

Ішемічне ушкодження міокарда супроводжується комплексною сукупністю імунологічних подій, що охоплюють ранні сигнальні реакції, активацію вроджених механізмів запалення, залучення адаптивної ланки імунітету та формування багаторівневих цитокінових відповідей. Аналіз сучасних досліджень свідчить, що ініціація й розгортання запального процесу у відповідь на ішемічну загибель кардіоміоцитів є багатоступеневими та строго регульованими явищами, які визначають інтенсивність локального ушкодження, тривалість запальної фази та потенціал подальших репаративних або фіброзоутворюючих процесів. Синхронність або дискоординація між клітинними, гуморальними та молекулярними компонентами імунної відповіді визначає, яким буде клінічний сценарій – від сприятливого відновлення структури тканини до прогресуючого ремоделювання та розвитку хронічної серцевої недостатності.

Узагальнені дані дозволяють послідовно розглянути ключові етапи імунопатогенезу ішемічного ураження серця, зокрема: механізми вивільнення молекул небезпеки та їх взаємодію з патерн-розпізнавальними рецепторами; формування інфламасом та роль інтерлейкіну-1 β у некроз-асоційованому запаленні; функціональні зміни в популяціях нейтрофілів, моноцитів та макрофагів; участь адаптивної імунної відповіді; а також вплив цитокінового

каскаду на прогресування пошкодження та ремоделювання міокарда. Детальний розгляд кожного з цих компонентів дозволяє зрозуміти патогенетичні ланки, які можуть бути потенційними мішенями для розвитку таргетованих протизапальних стратегій.

Вивільнення сигнальних молекул небезпеки та активація рецепторів, подібних до Toll

Після пошкодження серцево-судинної тканини запускається багатокомпонентний каскад процесів, що супроводжуються інтенсивним вивільненням низки імуномодуючих молекул ендogenousного походження, які здатні функціонувати як молекулярні патерни, пов'язані з пошкодженням (DAMP). Ці структури, які часто називають алармінами, утворюються як прямий наслідок некротичної загибелі клітин, механічного руйнування тканин або деградації позаклітинного матриксу, та надходять у системний кровотік і міжклітинний простір, де виступають первинними тригерами стерильного запалення. Їхня біологічна роль полягає у негайному сповіщенні системи вродженого імунітету про пошкодження тканинної цілісності та необхідність швидкого відновлення гомеостазу [138, 139]. У поєднанні з екзогенними молекулярними патернами, пов'язаними з патогеном (PAMP), які надходять за умов мікробної інвазії, DAMP взаємодіють із рецепторами розпізнавання патернів (PRR). Останні кодуються зародковою лінією та являють собою висококонсервативні молекулярні структури, здатні специфічно розпізнавати консервативні сигнали небезпеки та запускати широкий спектр імунних сигнальних каскадів [139]. Саме PRR забезпечують перехід від структурного ушкодження тканин до координованої імунної відповіді, що включає активацію транскрипційних факторів, синтез цитокінів, ініціацію фагоцитозу та модуляцію адаптивної імунної відповіді.

За своєю субклітинною локалізацією PRR поділяються на дві основні функціональні групи, що забезпечує широкий спектр сприйнятливості до різних джерел сигналів небезпеки. Перша група представлена трансмембранними білками, такими як Toll-подібні рецептори (TLR) та

лектинові рецептори С-типу (CLR), які розміщуються на поверхні клітин або в ендосомах та здатні розпізнавати як мікробні структури, так і ендогенні DAMP. Друга група включає цитоплазматичні білки – рецептори нуклеотид-зв'язувального олігомеризаційного домену (NOD-подібні) (NLR), ретиноєво-кислотно-індуковані ген-І рецептори (RLR) та рецептори AIM2-подібної родини (ALR) [139]. Така багаторівнева структурна організація PRR дозволяє клітині здійснювати інтегрований моніторинг різних типів загроз – як зовнішніх (патогени), так і внутрішніх (структурні порушення), забезпечуючи гнучку та адаптивну імунну відповідь.

У контексті серцево-судинних захворювань (ССЗ) PRR виконують надзвичайно важливу патофізіологічну роль. Існує кілька класів PRR, відповідальних за посилення запальної реакції при ураженнях серцево-судинної системи, особливо за умов ішемічного стресу або надмірного механічного навантаження на серцевий м'яз та стінку судини [140, 141, 142, 143]. При ішемії та реперфузії PRR функціонують як ключові детектори ендогенних DAMP, що накопичуються внаслідок некрозу кардіоміоцитів і деградації позаклітинного матриксу. Подальша активація PRR призводить до формування інтенсивної прозапальної відповіді, що проявляється інфільтрацією нейтрофілів, активацією макрофагів та ремоделюванням тканин. Важливо зазначити, що TLR і NLR можуть функціонувати синергічно, утворюючи взаємопов'язану мережу сигналізації, яка сприяє прогресуванню атеросклерозу, серцевої недостатності та інших ССЗ [141, 144]. Така взаємодія підсилює ефекти окремих PRR, створюючи умови для персистуючого запалення та хронічного пошкодження тканин.

Попри те що PRR класично вважаються маркером імунних клітин, численні дослідження продемонстрували їхню присутність на клітинах серцево-судинної системи, зокрема на ендотеліальних клітинах, гладеньком'язових клітинах (ГМК), кардіоміоцитах та фібробластах [145]. Це має критичне значення для патофізіології ССЗ, оскільки локальна активація PRR безпосередньо в місці ушкодження призводить до негайної зміни клітинного фенотипу, посилення продукції цитокінів та активації внутрішньоклітинних сигнальних шляхів. Така автономна активність серцево-

судинних клітин формує додаткові рівні регуляції запалення, які не залежать від класичних імунних клітин, та бере участь у розвитку ендотеліальної дисфункції, судинного ремоделювання та фіброзу.

Серед усіх PRR TLR є найкраще вивченими та історично першими ідентифікованими рецепторами, що беруть участь у розпізнаванні патернів небезпеки. Спершу TLR були описані як рецептори, подібні до білка Toll дрозофіли, роль якого було встановлено в розвитку ембріональних структур. Подальші дослідження виявили, що Toll у дрозофіли відіграє ключову роль у захисті від патогенів через індукцію сигнальних шляхів, подібних до тих, що активують транскрипційний фактор Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer активованих В-клітин (NF-κB). У людини TLR здатні розпізнавати широкий спектр ендогенних немікробних молекул, зокрема білкові фрагменти, нуклеїнові кислоти та елементи позаклітинного матриксу, що утворюються внаслідок клітинної загибелі або тканинного стресу. Активація TLR приводить до каскадної активації внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, що регулюють як вроджену, так і адаптивну імунну відповідь. Кінцевим результатом такої активації є трансляція сигналів на рівень транскрипційних факторів, посилення синтезу прозапальних цитокінів, інтерферонів I типу та формування розгалуженої позитивно-зворотної петлі, здатної як сприяти репарації тканин, так і зумовлювати патологічне посилення запалення. За умови неконтрольованої стимуляції TLR ці механізми можуть спричиняти тривале хронічне запалення, яке лежить в основі атерогенезу та прогресування інших серцево-судинних патологій. Роль допоміжних молекул у модулюванні цих реакцій є критичною, оскільки саме вони забезпечують баланс між адекватною імунною відповіддю та уникненням надмірного запалення.

NLR формують окрему категорію PRR, що функціонують як внутрішньоклітинні сенсори DAMP. Залежно від структури N-кінцевого домену їх поділяють на чотири підродини, кожна з яких має унікальні функціональні властивості. NLR регулюють широкий спектр клітинних процесів, включаючи активацію сигнальних шляхів NF-κB, аутофагію, формування реакцій на дволанцюгову РНК, регуляцію експресії генів головного комплексу гістосумісності, клітинне розмноження та диференціацію [146]. Серед них

NLRP3 та NOD1 привертають особливу увагу у контексті ССЗ, оскільки їхня активність пов'язана з формуванням інфламасом – мультимірних білкових комплексів, відповідальних за активацію каспази-1 та дозрівання IL-1 β і IL-18. Інфламасоми NLRP3 та NOD1 відіграють ключову роль у розвитку та прогресуванні атеросклерозу [147], формуванні аневризми аорти, розвитку міокардіального запалення, фіброзу та ремоделювання серця. Крім того, нещодавні дані продемонстрували, що інфламасома AIM2 розпізнає цитоплазматичну дволанцюгову ДНК, що підкреслює її потенційну роль у стерильних запальних процесах, характерних для ішемічних уражень серцево-судинної системи [148].

Лектинові рецептори С-типу (CLR) становлять велику та структурно різноманітну групу PRR, що налічує понад 1000 білків, поділених на 17 груп залежно від їхньої архітектури та функціональних властивостей [149]. Хоча CLR традиційно розглядаються в контексті противірусного та протигрибкового імунітету, накопичуються докази, що вони здатні розпізнавати широкий спектр DAMP і беруть участь у регуляції запальних реакцій при раку, аутоімунних захворюваннях та ССЗ. Особливої уваги заслуговує кластер Dectin-1, що включає сім рецепторів і відіграє суттєву роль у регуляції імунної відповіді в серцево-судинній системі. Один із представників цього кластеру, LOX-1, широко вивчений у контексті розвитку атеросклерозу, гіпертензії та ішемічного інсульту [150, 151]. Важливим аспектом для розуміння взаємодії PRR є здатність CLR синергізувати із сигнальними шляхами TLR, посилюючи продукцію цитокінів, хемокинів та сприяючи розвитку запальних реакцій.

Сигнальні механізми тол-подібного рецептора 4 (TLR4) розглядаються як центральна ланка активації вродженої імунної відповіді та формування запального фенотипу при ішемічно/реперфузійному (І/Р) пошкодженні. TLR4 вирізняється здатністю розпізнавати широкий спектр екзогенних і ендогенних лігандів, включаючи бактеріальний ліпополісахарид (ЛПС), вірусні структурні білки, грибовий манан та певні молекулярні патерни, що вивільняються ушкодженими клітинами, тим самим виступаючи ключовим сенсором небезпеки для організму.

Сигнальні шляхи, активовані TLR4, формують інтегровану мережу молекулярних реакцій, що узгоджено регулюють розвиток запалення, оксидативного стресу та програмованої клітинної смерті під час ішемічно-реперфузійного ушкодження (рис. 1.2). Активація TLR4 призводить до активації внутрішньоклітинних каскадів, що опосередковуються ядерним фактором каппа В (NF- κ B). Цей шлях визначає ініціювання потужної прозапальної відповіді через транскрипційне підсилення синтезу прозапальних цитокінів, хемокінів, медіаторів запалення та регуляторних білків, які підтримують активацію лейкоцитів і посилення локального та системного запального сигналу.

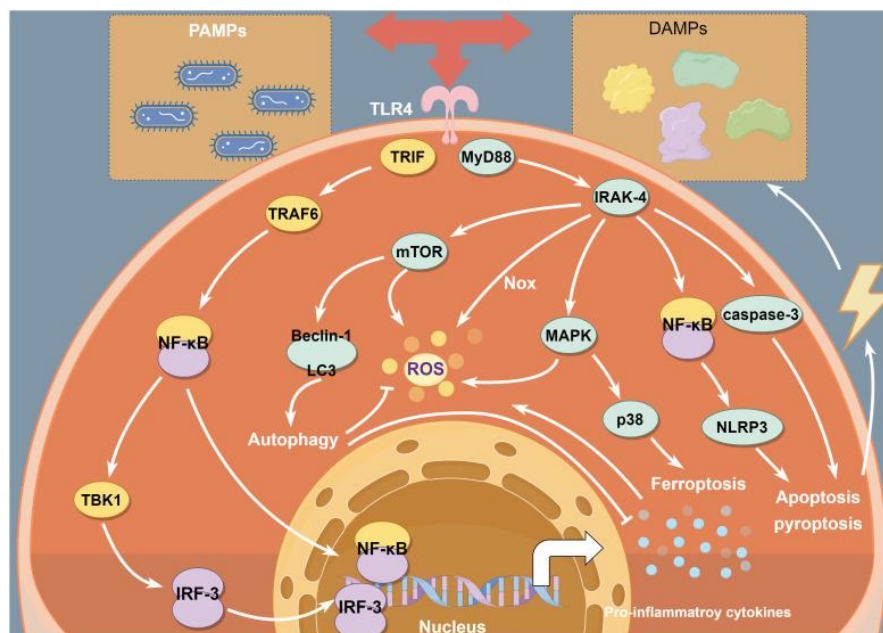


Рис. 1.2. Сигналізація TLR4 при ішемічно-реперфузійному пошкодженні: взаємодія із запаленням, оксидативним стресом та програмованою клітинною смертю [152]

Паралельно активуються шляхи мітоген-активованих протеїнкіназ (MAPK), механістичної цільової кінази рапаміцину (mTOR) та NADPH-оксидаз (Nox), що зумовлює посилену генерацію активних форм кисню. Надмірне утворення активних форм кисню призводить до розвитку оксидативного стресу, дисфункції мітохондрій та пошкодження клітинних структур, що сприяє порушенню внутрішньоклітинного гомеостазу.

Водночас активовані шляхи TLR4-NF- κ B, MAPK та mTOR запускають програми програмованої клітинної смерті, включно з апоптозом, некроптозом та піроптозом. Активація цих форм програмованої клітинної загибелі визначає подальше підсилення внутрішньоклітинного запалення, поглиблення оксидативного дисбалансу та формування каскадних ушкоджень, характерних для ішемічно-реперфузійного процесу.

Таким чином, TLR4 виступає центральним регулятором тісно інтегрованої патогенетичної тріади: запалення – оксидативний стрес – програмована клітинна смерть, визначаючи характер і тяжкість ушкоджень тканин під час ішемічно-реперфузійного стресу (див. рис. 1.2).

У випадку інфікування грамнегативними бактеріями TLR4 розпізнає ЛПС за участю білка, що зв'язує ліпополісахарид, фактора мієлоїдної диференціації 2 (MD-2) та CD14; після формування ліганд-рецепторного комплексу відбувається олігомеризація рецепторів, що забезпечує просторову організацію доменів Toll-інтерлейкіну-1 та рекрутування адаптерних білків [152]. Цей етап визначає запуск багаторівневих сигнальних каскадів, включаючи активацію кіназ, транскрипційних факторів та медіаторів запалення.

Як і для інших тол-подібних рецепторів, для TLR4 характерне функціонування у двох принципово відмінних сигнальних режимах – MyD88-залежному та MyD88-незалежному. У MyD88-залежному шляху зв'язування ліганду спричиняє рекрутування MyD88, активацію та фосфорилування IRAK-4, що запускає передачу сигналу через осі TRAF6–TAK1–NF- κ B/мітоген-активованих протеїнкіназ (MAPK). Це призводить до транскрипційної активації генів прозапальних цитокінів і посиленої секреції IL-1 β , IL-6 та TNF- α , які відіграють вирішальну роль у підтриманні запального процесу, індукції нітрооксидативного стресу та формуванні програмованої клітинної смерті (PCD). У MyD88-незалежному варіанті TRAM забезпечує вибіркове зв'язування TLR4 із TRIF, що зумовлює активацію факторів IRF3, NF- κ B та MAPK і стимулює продукцію інтерферонів I типу та додаткових прозапальних медіаторів [153]. Вказані шляхи демонструють тісну функціональну взаємодію

та здатні підсилювати ефекти один одного, що особливо важливо у контексті розвитку I/P-ушкодження.

Переважає кількість досліджень TLR4 сфокусована на аналізі його ролі при інфекційних процесах, однак накопичені дані переконливо свідчать про патогенетичну значущість TLR4 у неінфекційних станах, зокрема при ураженні органів унаслідок I/P. Оскільки TLR4 експресується у багатьох тканинах та органах, включаючи серце, нирки та печінку, його активація може сприяти формуванню гострого запального фенотипу та індукції вторинних ушкоджень. Встановлено, що активація TLR4 сприяє посиленню I/P-індукованого ушкодження нирок, тоді як дефіцит TLR4 чинить виражений протективний вплив. Послідовні експериментальні спостереження підтверджують, що TLR4 виступає ключовим модулюючим фактором при I/P-ушкодженні нирок: його надмірна активація асоціюється з тяжчим перебігом, тоді як генетичний або фармакологічний блокатор TLR4 значно зменшує виразність ушкоджень. Показано, що експресія TLR4 підвищується при серцевій недостатності та ішемічному ушкодженні міокарда, що свідчить про активацію системи вродженого імунітету за умов гіпоксичного стресу [154]. Подальші дослідження підтвердили участь осі TLR4–MyD88 у формуванні I/P-ушкодження серця: пригнічення TLR4 або MyD88 призводило до зниження інтенсивності ушкодження міокарда, зменшення площі інфарктів та покращення функціональних показників серця після епізоду ішемії. Аналогічні результати отримані при дослідженні I/P-ушкодження нирок: миші з генетичною делецією TLR4 (–/–) демонстрували зменшення вираженості запальних реакцій, покращення функції нирок, зниження продукції хемокінів та зменшену інфільтрацію клітин [155].

Нокаут компонентів сигнальних шляхів, що розташовані нижче в сигнальному каскаді TLR4, включаючи MyD88 або TRIF, також суттєво покращував перебіг хронічного ушкодження алотрансплантата та зменшував ступінь фіброзу після трансплантації нирки, що вказує на універсальність патогенетичних механізмів, пов'язаних із TLR4. Дефіцит TLR4 зменшував ушкодження печінки при I/P за рахунок пригнічення TNF- α , що додатково

підкреслює критичну роль запальних цитокінів у механізмах реперфузійного стресу. Показано також, що відсутність TLR4 пом'якшує ішемічне ушкодження головного мозку та зменшує розмір інфаркту через активацію PI3K/Akt-залежних механізмів нейропротекції [152].

Особливо показовим є дослідження, яке продемонструвало, що дефіцит TLR4 послаблює ушкодження легень після кишкової I/P шляхом пригнічення загибелі клітин та зменшення продукції прозапальних цитокінів [156]. У цих умовах сигнальні шляхи TLR4–NF-κB/p38 MAPK виступають ключовими регуляторами гострого ушкодження легень, що забезпечує механістичне пояснення мультиорганного залучення при тяжкому I/P. Попри накопичений масив доказів того, що інгібування TLR4 може покращувати клінічний прогноз у пацієнтів із трансплантатами та зменшувати тяжкість I/P-ушкоджень, механізми сигналізації TLR4 залишаються предметом активних досліджень. Актуальними залишаються питання ролі ендогенних лігандів небезпеки, варіабельності експресії рецептора, впливу супутніх патологій, а також потенційної участі TLR4 у ремоделюванні тканин після I/P-ушкодження [152].

Загалом сукупність досліджень свідчить, що TLR4 відіграє ключову роль у регуляції I/P-індукованих процесів ушкодження, активуючи множинні сигнальні каскади, що визначають розвиток запального фенотипу, клітинну дисфункцію та структурні зміни тканин. Однак подальші дослідження необхідні для повного з'ясування тонких механізмів регуляції TLR4, взаємодії між сигнальними каскадами та визначення терапевтичних мішеней, здатних селективно модулювати патологічну активацію цього рецептора.

Ініціація запального комплексу інфламасоми та роль інтерлейкіну-1 бета у некроз-асоційованому запаленні

Після гострого інфаркту міокарда в зоні ішемічного некрозу відбувається масивне та швидке вивільнення DAMP, які виступають первинними тригерами ініціації вродженої імунної відповіді. Відомо, що DAMP взаємодіють із широким спектром рецепторів розпізнавання патернів, включаючи Toll-подібні рецептори, активація яких запускає каскадні сигнальні шляхи, що сприяють

залученню клітин вродженого імунітету й посиленню локального запалення [156, 157, 158]. Такий механізм є фундаментальним для забезпечення швидкої реакції на некротичне пошкодження, проте водночас він закладає основу для потенційної надмірної запальної відповіді, здатної поглиблювати первинну ішемічну травму (рис. 1.3; позначка «1»).

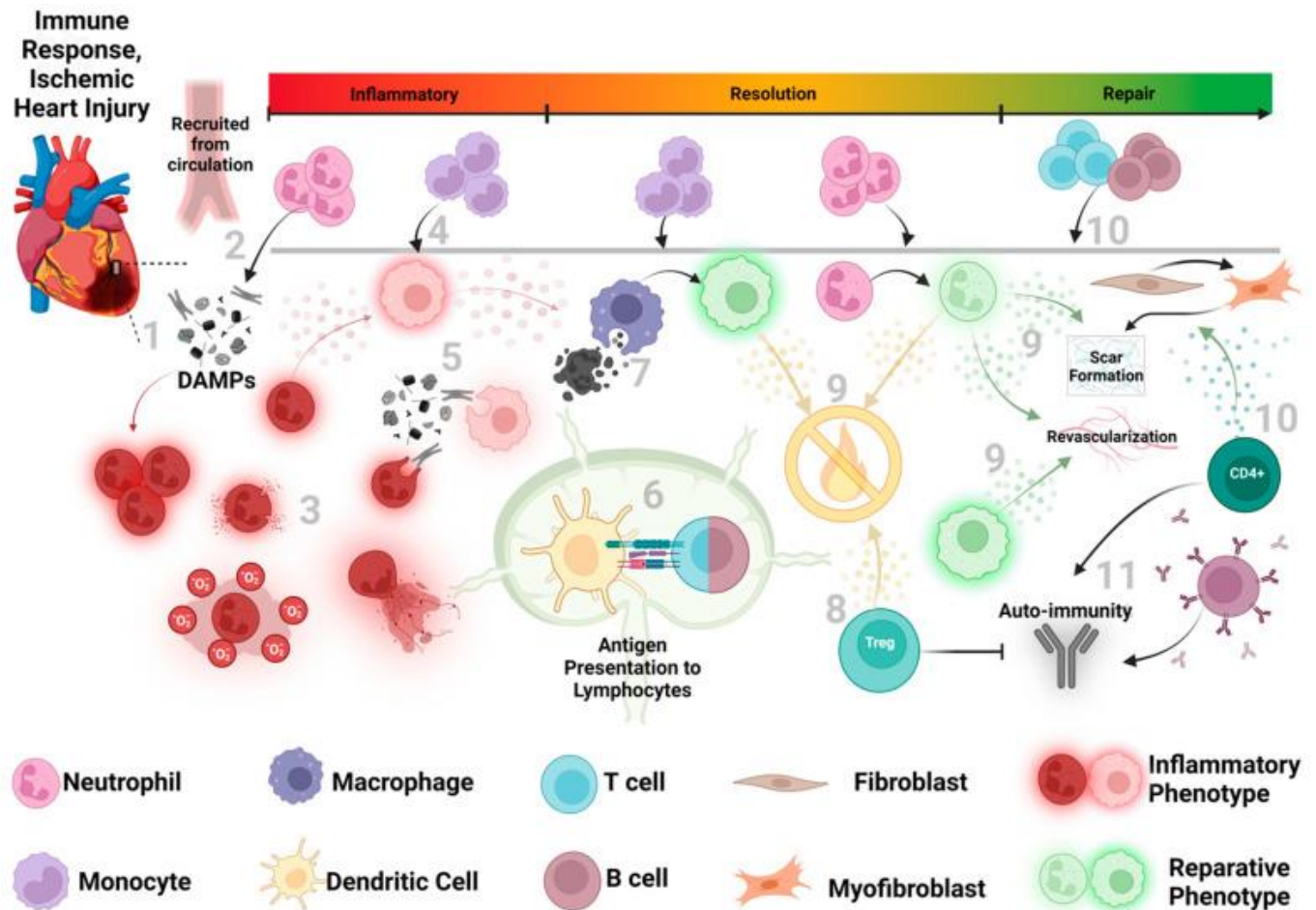


Рис. 1.3. Схема імунної відповіді на ішемічне ураження серця [158]

На ранній фазі імунної відповіді нейтрофіли рекрутуються з кровообігу внаслідок хемоатрактантних сигналів, що формуються у зоні пошкодження. Потрапляючи в інфарктований міокард, нейтрофіли зазнають фенотипової поляризації у бік вираженого запального профілю, що є характерною ознакою гострої фази запалення [159]. Встановлено, що їх накопичення у перші години після події відіграє вирішальну роль у формуванні мікросередовища некрозу та визначає інтенсивність подальшого притоку клітин імунної системи. При цьому перебіг подій є строго часово регульованим, а відхилення від фізіологічної

динаміки можуть призводити до посилення вторинного ушкодження тканини (рис. 1.3; позначка «2»).

Запальні нейтрофіли здійснюють низку ефекторних реакцій, включно з вивільненням активних форм кисню (ROS) та утворенням позаклітинних пасток нейтрофілів (NET), що супроводжується дегрануляцією та масивним викидом протеаз, цитокінів і хемоатрактантів. Ці процеси сприяють очищенню зони некрозу від клітинних уламків, проте надмірне або неконтрольоване утворення ROS та NET здатне стимулювати додаткове пошкодження міоцитів, що залишилися життєздатними, посилюючи оксидативний стрес і збільшуючи обсяг вторинної реперфузійної травми [159]. Характер взаємодії нейтрофілів з матриксом та ендотелієм суттєво впливає на швидкість прогресування запальної реакції та на подальший перебіг репаративних процесів (рис. 1.3; позначка «3»).

Моноцити, які рекрутуються у пошкоджену ділянку у відповідь на хемоатрактантні сигнали, диференціюються на запальні макрофаги, що виконують ключову роль у подальшому очищенні некротичної тканини та модулюванні імунної відповіді. Макрофаги цього фенотипу продукують широкий спектр прозапальних цитокінів та хемокінів, які посилюють рекрутмент додаткових популяцій лейкоцитів і стабілізують запальну фазу [160]. Вони активно фагоцитують залишки некротичних тканин і взаємодіють із нейтрофілами, формуючи складну мережу клітинних сигналів, що визначає інтенсивність і тривалість запальної реакції. Недостатня або надмірно тривала активність запальних макрофагів асоціюється з ризиком прогресуючого ушкодження міокарда та порушенням організації подальшої фази репарації (рис. 1.3; позначки «4 та 5»).

Дендритні клітини після фагоцитування некротичних структур та DAMP мігрують до медіастинальних лімфатичних вузлів, де здійснюють презентацію антигенів Т-лімфоцитам і тим самим формують місток між вродженим та адаптивним імунітетом [160, 161]. Їх активація є ключовою для формування антиген-специфічної відповіді, що може сприяти як фізіологічній резолуції

запалення, так і розвитку патологічних аутоімунних реакцій залежно від балансу прозапальних і протизапальних сигналів (рис. 1.3; позначка «6»).

Перехід від гострої запальної фази до резорбції характеризується активацією механізму ефероцитозу, за якого макрофаги поглинають нейтрофіли, що гинуть. Цей процес є визначальним, оскільки індукує фенотипову трансформацію макрофагів у напрямку репаративного профілю та запускає механізми, що сприяють розв'язанню запалення [160]. Ефероцитоз супроводжується зміною профілю секретованих медіаторів, зменшенням рівня прозапальних цитокінів і підвищенням концентрації протизапальних та регуляторних факторів, що створює умови для ініціації відновних процесів (рис. 1.3; позначка «7»).

Регуляторні Т-лімфоцити (Treg) відіграють важливу роль у гальмуванні надмірної імунної активності шляхом вивільнення протизапальних медіаторів і пригнічення прозапальних сигнальних шляхів [162]. Їх активність сприяє переходу імунної відповіді у фазу резолюції, попереджує хронізацію запалення та формує сприятливі умови для подальшої структурної перебудови міокарда (рис. 1.3; позначка «8»).

На етапі репарації нейтрофіли та макрофаги набувають репаративного фенотипу, що характеризується секрецією протизапальних медіаторів, проангіогенних факторів і сигнальних молекул, які активують ремоделювання міжклітинного матриксу. Ці клітини виконують критичну функцію у стимуляції утворення нових судин, репарації ушкоджених структур та стабілізації формованого рубця [163]. Збалансована активність репаративних клітин є визначальною для забезпечення ефективного відновлення тканини та попередження надмірного фіброзоутворення (рис. 1.3; позначка «9»).

Лімфоїдні клітини, включно з різними субпопуляціями Т-лімфоцитів, інфільтрують інфарктований міокард та чинять вплив на активацію фібробластів, регуляцію утворення рубця та темпи ремоделювання [164]. Хоча їх роль у процесах загоєння є потенційно корисною, надмірна або дисрегульована активність може сприяти формуванню ригідного або об'ємного

фіброзного рубця, що погіршує механічні властивості міокарда (рис. 1.3; позначка «10»).

Презентація аутоантигенів лімфоцитам у хронічну фазу відновлення здатна запускати аутоімунну відповідь, що затримує процеси репарації й потенційно сприяє прогресуванню серцевої недостатності. Дисрегуляція цього етапу може призводити до формування дефектного рубця, збільшення ризику постінфарктного ремоделювання та погіршення насосної функції серця (рис. 1.3; позначка «11»).

Послідовність зазначених імунних подій суттєво прискорюється та посилюється при реперфузійному інфаркті міокарда порівняно з нереперфузійним інфарктом, що зумовлено різким відновленням кровотоку та індукцією додаткового оксидативного та запального ушкодження [156, 158]. Порушення регуляції будь-якої фази імунної відповіді здатне призводити до неадекватного формування рубця й подальшої дисфункції серця, що має важливі клінічні наслідки та потребує подальшого вивчення з позицій пошуку терапевтичних мішеней.

Вроджений імунітет: участь нейтрофілів, моноцитів, макрофагів різної поляризації та системи комплементу

Вроджена імунна відповідь є визначальним модулем ушкодження та відновлення міокарда після ішемії/реперфузії (I/P). Її архітектуру формують швидка активація нейтрофілів, рекрутування моноцитів і диференціювання макрофагів у спектр запальних і репаративних фенотипів, а також каскад комплементу, що ініціює опсонізацію, лізис і стерильне запалення. Нижче узагальнено ключові механізми, часову динаміку та клінічну релевантність цих ланок, з акцентом на причинно-наслідкові зв'язки, потенційні точки терапевтичного втручання та обмеження [158, 165, 166].

У гомеостазі нейтрофіли є короткоживучими гранулоцитами з циркадичною міграцією між кістковим мозком і кровотоком, що контролюється рецепторами CXCR2/CXCR4. Після I/P сигнали ушкодження (DAMP) і

градієнти хемоатрактантів зумовлюють їх блискавичну мобілізацію до зони ризику. Перехід зі стану спокою до «готовності» (праймінг) характеризується зрізанням CD62L, підвищенням експресії інтегринів (CD11b/CD18), мобілізацією секреторних гранул і транслокацією комплексу NOX2 до плазматичної мембрани. Це готує клітину до швидкої продукції активних форм кисню (ROS), дегрануляції, NETозу, фагоцитозу та інтенсивного хемотаксису. Транскрипційна пластичність нейтрофілів (активація NF- κ B, C/EBP, HIF-1 α , MYC) спростовує давнє уявлення про їх «термінальну неактивність» і частково пояснює часову гетерогенність відповіді [167].

У місці пошкодження «N1-подібні» нейтрофіли розгортають ефекторні програми: генерацію ROS через NOX2/MPO, вивільнення гранул і формування позаклітинних пасток (NET). PAD4-опосередковане цитрулінування гістонів сприяє деконденсації хроматину та виходу NET, що, з одного боку, локалізує агенти небезпеки, а з іншого – може обтяжувати мікросудинну дисфункцію та феномен «no-reflow». Надмірна дегрануляція нейтрофілів і NETоз (утворення позаклітинних нейтрофільних пасток) у прикордонній зоні інфаркту підсилюють некроз та апоптоз кардіоміоцитів, що призводить до розширення зони інфаркту міокарда. Водночас нейтрофіли необхідні для очищення некротичного детриту та ініціації розв'язання запалення: їх контрольована загибель і ефероцитоз макрофагами знижують вогнищеве запалення та сприяють переходу тканини до репаративної фази [168].

Гетерогенність нейтрофілів виявляється також у часовому «зсуві» до репаративного фенотипу («N2»): у пізні строки вони під впливом спеціалізованих медіаторів розв'язання (SPM) та протизапальних цитокінів збільшують експресію маркерів розв'язання (наприклад, Arg1), виділяють ліпоксин A4/резолвін D1, секретують MMP9 і компоненти матриксу, підтримуючи ангіогенез та формування стабільного рубця. Здатність до «депраймінгу» *ex vivo* свідчить про потенційну терапевтичну керованість цієї ланки, однак клінічна трансляція підходів, що селективно зменшують шкідливі,

зберігаючи корисні функції нейтрофілів, потребує точнішої стратифікації пацієнтів і часу втручання [168].

Метаболічно нейтрофіли переважно спираються на гліколіз для виживання та NETозу в гіпоксії, але для ефективного хемотаксису можуть залучати мітохондріальне дихання (OXPHOS). Чи відтворюються інфекційні метаболічні патерни в умовах стерильного запалення I/P, залишається сферою активних досліджень [169].

Серце містить резидентні макрофаги ембріонального походження (CCR2⁻), які підтримуються самооновленням і виконують гомеостатичні функції: модулюють ангіо- та лімфангіогенез, електропровідність кардіоміоцитів, фагоцитують дисфункціональні органели та обмежують надмірне залучення моноцитів. Після інфаркту частина цієї популяції гине, але клітини, що вижили проліферують і чинять кардіопротекторну дію, зокрема шляхом негативної регуляції моноцитарної інфільтрації [169].

Паралельно з кісткового мозку та селезінки в кров виходять прозапальні моноцити (часто CCR2⁺), що швидко рекрутуються в ішемізовану тканину. На ранній запальній фазі ($\approx 1-4$ доби) вони диференціюються у запальні макрофаги, активують NF- κ B/STAT1/HIF-1 α , інтенсивно продукують цитокіни/хемокіни, підсилюють рекрутування лейкоцитів і здійснюють фагоцитоз детриту, знижуючи ризик розриву стінки. У цей період макрофаги демонструють метаболічний зсув до гліколізу: HIF-1 α підвищує експресію Glut1 і гліколітичних ферментів, активує пентозофосфатний шлях для генерації NADPH і ROS; порушення OXPHOS сприяє накопиченню сукцинату, який додатково стабілізує HIF-1 α й утримує запальний стан [170].

Початок розв'язання зумовлюють ефероцитоз мертвих нейтрофілів/кардіоміоцитів і сигнали мікрооточення (IL-4, IL-10, TGF β , SPM). Відбувається поляризаційний перехід до репаративного фенотипу: зростає експресія CD206, Arg1, секреція IGF-1, VEGF, факторів ремоделювання матриксу; активується OXPHOS, посилюється β -окиснення жирних кислот і зростає pool NAD⁺. Ітаконат, утворений у цитратному циклі, гальмує зворотний

електронний потік і надлишковий ROS, пригнічує інфламасому та послаблює запалення; збагачення NAD⁺ додатково обмежує HIF-1 α -опосередковані програми. Через MerTK-залежний ефероцитоз макрофаги підсилюють власну фагоцитарну спроможність і вироблення IL-10, стабілізуючи перехід до загоєння. Пізніше моноцит-деривовані клітини знижують Lu6C і домінують у формуванні зрілого рубця та реваскуляризації [171].

Клінічна імплікація цієї осі двояка. З одного боку, надмірний або затяжний ранній рекрут моноцитів/макрофагів поглиблює ушкодження, підсилюючи некроз і ремоделювання. З іншого – їх своєчасна репаративна переорієнтація є необхідною для очищення, відновлення мікроциркуляції, організації рубця і відновлення функції. Тому терапевтичні стратегії повинні бути часо- та фенотипоспецифічними: блокування надлишкової CCR2-сигналізації на старті або, навпаки, підтримка MerTK-опосередкованого ефероцитозу й метаболічного зсуву до OXPHOS у фазі розв'язання [170].

Дендритні клітини (ДК) серця представлені плазмцитотійними (пДК) і класичними (кДК) підтипами (рис. 1.4). Після I/P вони розширюються й активуються: пДК рано продукують інтерферони I типу, підсилюючи стерильне запалення, тоді як кДК можуть сприяти залученню Treg і процесам розв'язання. Ключова функція ДК – презентація антигену: фрагменти міокардіальних білків, звільнені внаслідок некрозу, презентуються в дренуючих лімфовузлах і можуть запускати аутоімунні контури за участю CD4⁺/CD8⁺ Т-клітин і В-клітин. Такі реакції підтримують субклінічне запалення, сприяють розширенню інфаркту і затримують відновлення. Метаболічно активація ДК супроводжується зсувом до гліколізу (особливо у кДК), що корелює з підсиленням цитокінової секреції і презентації антигену; пДК більшою мірою зберігають OXPHOS, що може визначати відмінності їхньої ролі в гострій і підгострій фазах [172, 173, 174].

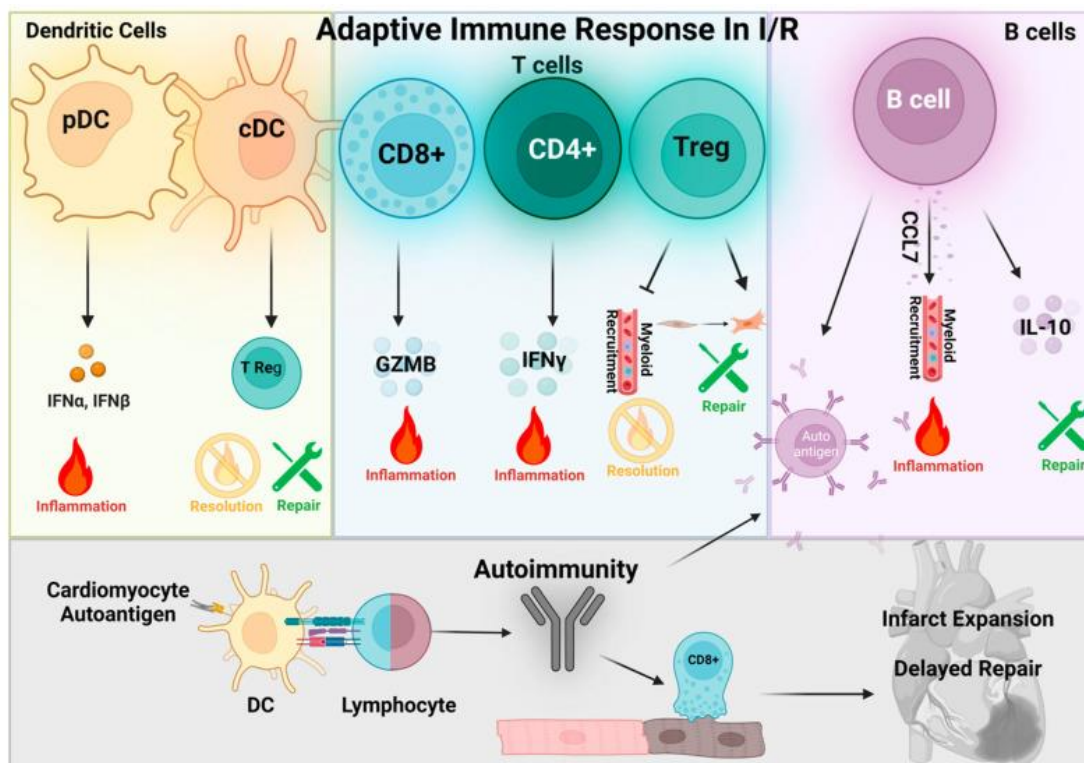


Рис. 1.4. Адаптивна імунна відповідь при ішемії/реперфузії міокарда [158]

Плазмоцитоїдні дендритні клітини (пДК) під час ішемії/реперфузії посилюють прозапальну відповідь через секрецію $\text{IFN}\alpha/\text{IFN}\beta$, тоді як класичні дендритні клітини (кДК) підтримують рекрутування та активацію Treg, сприяючи фазі розв'язання та репарації. Серед Т-клітин CD8^+ вивільняють гранзим В (GZMB) та посилюють апоптоз і запалення, CD4^+ продукують $\text{IFN}\gamma$ і підтримують запальний каскад, тоді як Treg обмежують рекрутування міелоїдних клітин і стимулюють тканинний ремонт. В-клітини регулюють перебіг I/P двонаправлено: секреція CCL7 посилює міелоїдний рекрут і запалення, тоді як продукція IL-10 сприяє розв'язанню та репарації. В умовах масивної загибелі кардіоміоцитів дендритні клітини презентують кардіоміоцитарні аутоантигени Т- і В-лімфоцитам, що може запускати автоімунну відповідь з утворенням аутоантитіл. Активовані CD8^+ Т-клітини можуть націлюватися на життєздатні кардіоміоцити, поглиблюючи розширення інфаркту й затримуючи відновлення (див. рис. 1.4) [158].

Комплемент активується класичним, лектиновим або альтернативним шляхом у відповідь на некротичні структури, модифіковані ліпіди та імунні

комплекси, що з'являються після I/P. C3-конвертазна активація приводить до утворення C3a/C5a – потужних анафілотоксинів, які підсилюють хемотаксис нейтрофілів і моноцитів, збільшують судинну проникність і потенціюють дегрануляцію. Опсонізація C3b сприяє кліренсу детриту фагоцитами, тоді як мембраноатакувальний комплекс (C5b-9) у надлишку здатен ушкоджувати життєздатні кардіоміоцити й ендотелій, поглиблюючи «no-reflow» і дисфункцію мікросудин. Таким чином, комплемент має амбівалентну роль: необхідний для ефективного прибирання та ініціації відповіді, але за відсутності контролю – посилює стерильне запалення та вторинне ушкодження. Перспективними виглядають часообмежені інтервенції на рівні C5/C5aR або регуляторів C3-конвертази, спрямовані на зниження ранньої шкоди без гальмування ефероцитозу та репарації [175].

Патерн вродженої відповіді після I/P має чітку часову стратифікацію. Рання фаза визначається швидкою інфільтрацією нейтрофілів і CCR2+ моноцитів під драйвом DAMP, анафілотоксинів і цитокінів; домінують гліколітичні метаболіти, висока продукція ROS, NETоз, інфламасомна активність і комплемент-залежне посилення запалення. Перехід до розв'язання потребує контрольованого ефероцитозу, SPM-сигналізації (через FPR2), метаболічного перемикання макрофагів до OXPHOS, зростання ітаконату та NAD⁺, а також зниження активності комплементу до рівня, достатнього для опсонізації без колатеральної шкоди. Порушення синхронізації цих етапів – ключовий детермінант розміру інфаркту, «no-reflow», якості рубця й довгострокової систолічної функції.

З огляду на плейотропність і пластичність клітинних відповідей, найперспективніші підходи – це фенотип- і часоспецифічні стратегії: селективне обмеження шкідливих програм (надлишковий NETоз, C5a-сигналізація, неконтрольований CCR2-рекрут) у вузькому вікні ранньої фази, паралельно з активною підтримкою механізмів розв'язання (MerTK-опосередкований ефероцитоз, SPM, метаболічна репрограмізація до OXPHOS). Валідація таких підходів потребує точного визначення біомаркерів фаз відповіді, стандартизації часових «вікон» і перевірки узагальнюваності

результатів на різні когорти пацієнтів з урахуванням віку, супутньої патології та реперфузійної стратегії [158, 175].

Узагальнюючи, вроджений імунітет при інфаркті – це не просто ініціатор пошкодження, а динамічна система з вбудованими механізмами розв’язання. Баланс між ранньою протимікробно-запальною ефекторністю та своєчасною репаративною переорієнтацією нейтрофілів і макрофагів, у тісній взаємодії з комплементом і дендритно-опосередкованим переходом до адаптивної відповіді, визначає клінічний перебіг і віддалені результати. Саме керування цим балансом – центральна мета майбутніх імунно-метаболических терапій при І/Р-ушкодженні міокарда [158].

Адаптивний імунітет: реакції Т-хелперів 1 та 17 типів, регуляторних Т-клітин і аутоімунні процеси

Як зазначалось, у перші години після реперфузії запускається хвиля запалення. Некротичні кардіоміоцити вивільняють внутрішньоклітинні компоненти, які розпізнаються як сигнали небезпеки. Це активує рецептори розпізнавання патернів та внутрішньоклітинні сигнальні шляхи, що стимулюють синтез прозапальних цитокінів. Паралельно активується каскад комплементу, який притягує нейтрофіли, моноцити та інші клітини вродженого імунітету у зону ішемічного ушкодження [164, 176]. Цей етап має важливу функцію очищення тканини, але за надмірної активації може самотійно спричинювати додаткове пошкодження.

Уже в ранні терміни, навіть у перші години після реперфузії, у міокарді виявляється інфільтрація CD4⁺ Т-клітин [94]. Їхня роль багатогранна: вони беруть участь у регуляції початкового запалення, впливають на характер поляризації макрофагів та можуть реагувати на серцеві аутоантигени. Такий механізм може бути одним із факторів, що визначає різну інтенсивність ремоделювання серця у пацієнтів після інфаркту.

Th1-клітини активуються під впливом інтерлейкіну-12 та інтерферону-гамма. У гострій фазі вони посилюють запалення, підтримують активацію макрофагів із прозапальними властивостями та збільшують секрецію цитокінів,

які стимулюють клітинне ушкодження. Експериментальні дані показують, що зменшення активності Th1-механізмів знижує площу інфаркту. Проте інтерферон-гамма має складну дію: він може пригнічувати синтез колагену та запобігати надмірному фіброзу, але у певних умовах здатний стимулювати фібробласти, посилюючи ремоделювання [177].

Th2-клітини активуються у більш пізні періоди та беруть участь у зменшенні інтенсивності запальної реакції. Інтерлейкіни-4, -5 і -13 сприяють переходу макрофагів у репаративний фенотип, посилюють очищення тканини та підтримують відновні процеси. Водночас їхня надмірна активація може формувати умови для надлишкового рубцювання, що є небажаним у довгостроковій перспективі [164].

Th9-клітини синтезують інтерлейкін-9, який може мати як ушкоджувальні, так і регуляторні властивості. У деяких моделях IL-9 посилює активацію цитотоксичних механізмів та збільшує ступінь ушкодження кардіоміоцитів. Однак у інших контекстах спостерігається протекторна дія, що свідчить про високу залежність результату від мікрооточення імунної реакції [164].

Th17-клітини формують інтенсивний нейтрофільний компонент запалення. Їхні цитокіни, зокрема інтерлейкін-17 та інтерлейкін-21, стимулюють утворення хемокінів і протеаз, які руйнують міжклітинний матрикс. Блокада цих цитокінів в експериментальних моделях зменшує апоптоз і покращує геометричну структуру лівого шлуночка. Однак у деяких клінічних спостереженнях низький рівень IL-17 асоціюється із гіршим прогнозом, що підкреслює складність та контекстність цього механізму [164].

Th22-клітини продукують інтерлейкін-22, який діє переважно на клітини-мішені через сигнальний шлях STAT3. У експериментальних умовах введення IL-22 зменшує розмір ушкодження та покращує функцію серця. Частина цього ефекту реалізується через підвищення рівня фактору росту FGF21, що має важливе значення для метаболічної адаптації та зменшення апоптозу [178, 179].

Регуляторні Т-клітини (Treg) є ключовими обмежувачами надмірного запалення. Вони продукують інтерлейкін-10 та трансформуючий фактор росту, пригнічують активацію ефektorних Т-клітин і сприяють формуванню організованого рубця. Підсилення регуляторних механізмів зменшує ступінь ушкодження та покращує функціональне відновлення серця після інфаркту.

Сучасні методи аналізу окремих клітин дозволили визначити, що різні субпопуляції Т-клітин активуються у специфічні часові періоди та взаємодіють між собою через складні сигнальні мережі. Виявлено ознаки антиген-залежної активації та клональної експансії, а окремі транскриптомні профілі корелюють із подальшим прогнозом, розвитком фіброзу та ступенем ремоделювання серця [180].

У цілому можна сформулювати узагальнення: прозапальні субтипи (Th1, Th17, Th9) домінують у гостру фазу та посилюють первинне ушкодження, тоді як Th2, Th22 і Treg підтримують відновні процеси та нормалізацію запалення. Однак баланс цих механізмів критично важливий: надмір прозапальної чи репаративної активності однаково може призвести до несприятливих результатів. Перспективні терапевтичні стратегії повинні враховувати фазність процесу, різну роль субтипів у окремі часові вікна та необхідність точкового впливу без надмірного пригнічення природних відновних механізмів.

Значення цитокінового каскаду (фактор некрозу пухлини альфа, інтерлейкіни-6,-10, трансформувальний фактор росту бета, інтерферон гамма) у прогресуванні ішемічного ушкодження

Нещодавні дослідження остаточно підтвердили концепцію «запальної теорії атеросклерозу» [181, 182], яка сучасними даними розглядається як фундаментальна патогенетична рамка для розуміння природи цього захворювання. Узгодженість клінічних, експериментальних та молекулярних спостережень дозволяє стверджувати, що атеросклероз є не лише ліпідним порушенням, а складним, імунозалежним процесом хронічного стерильного запалення. Ініціальним етапом, найімовірніше, залишається затримка модифікованих ліпопротеїнів у стінці судини, що призводить до локальної

дисфункції ендотелію та стимулює адгезію моноцитів і Т-лімфоцитів. Утворюється патологічно підтримуваний цикл, в якому окиснені ліпіди, реактивні форми кисню та прозапальні цитокіни взаємно підсилюють активацію клітин і сприяють прогресуванню ураження від ранніх ліпідних смужок до формування некротичного ядра зрілої бляшки.

Механістичні паралелі між атерогенезом та ішемічно-реперфузійним ушкодженням міокарда демонструють ключову роль запалення у перебігу обох процесів. У разі інфаркту міокарда запалення є центральним компонентом ушкодження тканин, оскільки ішемія запускає внутрішньоклітинний набряк кардіоміоцитів, а рання фаза реперфузії супроводжується швидким позаклітинним набряком через підвищення проникності мікросудин, активацію комплементу та вивільнення медіаторів запалення. У подальші години набряк зменшується, і в осередок некрозу активно мігрують нейтрофіли та макрофаги, формуючи інтенсивний запальний інфільтрат, який, з одного боку, спричиняє додаткове ушкодження через оксидативний стрес і протеоліз, але з іншого – є необхідним для видалення некротичних клітин та підготовки позаклітинного матриксу до репаративної фази [183]. У наступні дні відбувається потужна запальна відповідь, що завершується переходом до репарації з формуванням колагенового рубця. Подібна послідовність подій характерна і для ішемічного інсульту, що підкреслює універсальність запально-медіаторних механізмів. У зв'язку з цим цитокіни, які регулюють транспорт клітин, їхню активацію та проліферацію, розглядаються як терапевтичні мішені при ішемічному ушкодженні серця та мозку.

У тканинах серця після інфаркту міокарда спостерігається підвищення рівня фактора некрозу пухлини α (TNF- α), який чинить виражений негативний вплив на функцію міокарда завдяки порушенню кальцієвої сигналізації, активації оксидативного стресу та посиленню запальної відповіді [184]. У моделях ішемії/реперфузії нейтралізація TNF- α за допомогою антитіл або інфузії розчинного рецептора TNF (sTNFR1), що діє як рецептор-пастка, приводила до зменшення розміру інфаркту при постійній коронарній оклюзії. Проте досліді на трансгенних тваринах показали суперечливі результати щодо

впливу конституційного підвищення або відсутності TNF- α , що може пояснюватися активацією компенсаторних мереж цитокінів і хемокінів при генетичній модифікації. Важливо враховувати відмінності між двома рецепторами TNF, оскільки TNFR1 опосередковує активацію NF- κ B, ROS та MAPK p38/JNK, тоді як TNFR2 загалом інгібує ці процеси [185]. Це пояснює, чому нокаут TNFR1 знижує ушкодження, тоді як відсутність TNFR2 сприяє поглибленню дисфункції. Подвійність дії TNF- α особливо очевидна в моделі прекодиціонування міокарда, де накопичення цього цитокіну після мікроемболізації коронарної артерії чинить кардіопротективний ефект, і блокада його сигналізації призводить до втрати цього захисту. Окрім гострих ефектів, TNF- α відіграє роль у постінфарктному ремоделюванні через оксидативний стрес, апоптоз кардіоміоцитів, повільне згасання запалення, деградацію колагену металопротеїназами, порушення функції мітохондрій та дезактивацію адренорецепторів [186].

Інтерлейкін-1 також має ключове значення для патогенезу інфаркту міокарда, оскільки його ізоформи IL-1 α та IL-1 β беруть безпосередню участь у запуску й ампліфікації запальної відповіді після некрозу кардіоміоцитів. Некротичні клітини вивільняють сигнали небезпеки (DAMP), що активують рецептори розпізнавання образів (PRR), зокрема інфламасому NLRP3, сприяючи синтезу IL-1 β . Одночасно вивільнення IL-1 α посилює локальний сигнал запалення, підвищує експресію адгезійних молекул та хемоатрактантів у міокарді, стимулюючи інфільтрацію нейтрофілів і макрофагів. Надмірна активація IL-1 корелює з несприятливим ремоделюванням та погіршенням функції лівого шлуночка, тоді як блокування IL-1 за допомогою анакінри або пасток IL-1 модулює розмір інфаркту та ремоделювання у моделях I/R [187]. Ізоформ-специфічна нейтралізація IL-1 α чи IL-1 β знижує активацію інфламасоми та покращує систолічну функцію навіть при введенні у фазі реперфузії [188].

Інтерлейкін-6 демонструє неоднозначний вплив на ішемічне ушкодження міокарда, оскільки в моделях постійної оклюзії лівої передньої низхідної артерії його делеція або введення не змінювали розміру інфаркту або ступеня

ремоделювання. У моделях I/R блокування рецептора IL-6 також не впливало на ушкодження. Однак подальші дослідження показали, що травматичні хірургічні втручання значно підсилюють системну продукцію цитокінів, маскуючи специфічні ефекти IL-6. Використання моделі з закритою грудною кліткою дозволило встановити, що IL-6 чинить шкідливий вплив у ранній фазі реперфузії незалежно від нейтрофільної інфільтрації чи активації TNF- α та IL-1 β [189]. Це свідчить про складний «янусовий» характер дії IL-6 і підкреслює необхідність подальших досліджень його ролі в контексті ішемічних ушкоджень серця.

Таким чином, цитокіновий каскад відіграє ключову, багатовекторну роль у прогресуванні ішемічного ушкодження, регулюючи активацію, міграцію та взаємодію імунних клітин у зоні ішемії й реперфузії. TNF- α , IL-1, IL-6, IL-10, TGF- β та IFN- γ формують складну мережу сигналів, що визначає динаміку ушкодження та репарації: прозапальні медіатори (TNF- α , IL-1, IL-6, IFN- γ) посилюють оксидативний стрес, ендотеліальну дисфункцію, апоптоз і ремоделювання, тоді як антизапальні та репаративні цитокіни (IL-10, TGF- β) обмежують надмірну запальну відповідь і сприяють відновним процесам. Баланс між цими протилежними потоками визначає тяжкість некрозу, ефективність кліренсу ушкоджених структур і характер постішемічного ремоделювання, що робить цитокінові шляхи перспективними терапевтичними мішенями при інфаркті міокарда.

1.3. Кріоконсервовані клітини та тканинні екстракти у кардіопротекції: сучасний стан проблеми

Сучасний розвиток регенеративної кардіології супроводжується інтенсивним вивченням клітинних та безклітинних терапевтичних підходів, спрямованих на відновлення структурної цілісності та функціональної здатності міокарда в умовах ішемічного пошкодження. У цій сфері особливе місце займають МСК, тканинні екстракти та похідні позаклітинні компоненти, які демонструють різний спектр біологічної активності та потенційних терапевтичних механізмів. Систематичний аналіз літературних даних свідчить,

що ефективність цих підходів визначається низкою структурно-функціональних параметрів, серед яких – життєздатність і метаболічна стабільність МСК після кріоконсервації, паракринний потенціал клітин, біологічна активність тканинних екстрактів та їхня імунобіологічна сумісність.

У наукових публікаціях окремо акцентується увага на тому, що результати застосування МСК значною мірою залежать від збереження їхніх біологічних характеристик після етапу заморожування та розморожування. Літературні джерела описують широкий спектр факторів, які можуть модифікувати фенотип МСК, включно з умовами культивування, складом кріопротекторних середовищ і швидкістю температурних змін. Водночас паракринна активність МСК розглядається як ключовий механізм їхньої терапевтичної дії, що реалізується через секрецію мікровезикул, екзосом, цитокінів, факторів росту та імунорегуляторних молекул, які модулюють процеси репарації тканин та запальної відповіді.

Паралельно з клітинними підходами активно вивчаються тканинні екстракти серця та ксеногенних органів, які містять комплекс біологічно активних молекул, здатних впливати на клітинні та молекулярні механізми репарації. Доступні публікації висвітлюють їхній склад, біохімічні властивості, потенційні механізми дії та безпекові аспекти, пов'язані з імунологічною реактивністю та ризиками передачі біологічних агентів. Аналіз цих матеріалів дозволяє розглядати тканинні екстракти як перспективну безклітинну альтернативу з унікальним спектром сигнальних біомолекул.

Окремим науковим напрямом є порівняння клітинних і безклітинних стратегій при ішемічному ураженні міокарда. Літературні дані демонструють суттєві відмінності між механізмами дії МСК та тканинних екстрактів, а також потенційні переваги і обмеження кожного підходу. Поступове зміщення акценту від прямої трансплантації клітин до використання їхніх похідних відбувається на тлі накопичення даних про важливу роль позаклітинних сигнальних комплексів та можливості безпечного застосування безклітинних препаратів.

Біологічні властивості мезенхімальних стромальних клітин після заморожування та відновлення

Як відомо, МСК розглядаються як універсальна платформа для регенеративної медицини завдяки поєднанню двох базових властивостей – здатності до самооновлення *in vitro* та багатовекторної диференціації, а також, що принципово, завдяки складному комплексу функціональних реакцій на сигнали мікрооточення. За умов варіабельної стимуляції з боку сусідніх клітин, цитокінів чи розчинних медіаторів МСК проявляють двонаправлену імуномодуючу активність, переходячи від про- до протизапального фенотипу залежно від інтенсивності й тривалості сигналу, а також від контексту тканинного ушкодження. Така фенотипова пластичність поєднується з потужною секреторною програмою: МСК синтезують і вивільняють біологічно активні молекули – фактори росту, цитокіни, хемокіни та інші медіатори, формуючи аутокринні й паракринні контури регуляції, які впливають як на самі МСК, так і на клітини-ефектори імунної та стромальної ланок [190, 191, 192, 193]. Вироблення імуnoreгуляторних молекул забезпечує формування стану функціональної резистентності МСК до цитотоксичної дії імунних клітин, що знижує імовірність розвитку реакції «трансплантат проти господаря» та підвищує утримання й приживлення трансплантата; ці ефекти набувають особливого клінічного значення у трансплантаційних сценаріях із високим рівнем імунологічного ризику [194, 195].

Визначальним чинником ефективності МСК визнається мікрооточення, яке задає напрямок їх функціональної відповіді, ступінь диференціації та секреторний профіль. Водночас самі МСК є активними архітекторами тканинного середовища: вони перебудовують склад і організацію позаклітинного матриксу, впливаючи на механічні властивості, конфігурацію зв'язування лігандів та дифузії сигнальних молекул. Взаємодія «МСК–мікроніша» описується концептом «ніші», у межах якого клітини отримують координовані біохімічні та механічні сигнали, що узгоджують їх проліферацію, міграцію та комітмент, а також визначають долю клітин-попередників у

просторі ушкодженої тканини [196]. На основі цієї парадигми сформовано напрям біоінженерії каркасів, здатних відтворювати ключові риси позаклітинного матриксу, виконуючи роль штучних ніш для стандартизованої культури стромальних клітин. Такі каркаси проектуються з урахуванням пористості, топографії, модулів пружності та біосумісності, що дозволяє керувати адгезією, механотрансдукцією та просторовою організацією клітинних популяцій [197, 198, 199]. Перехід від двовимірного до тривимірного культивування відтворює фізіологічні градієнти кисню, поживних речовин і метаболітів, наближаючи умови існування клітин до *in vivo* та мінімізуючи артефакти, притаманні плоскому росту. Імітація природних параметрів ніші для МСК асоціюється з подовженням життєздатності в зоні імплантації, підсиленням диференціаційних програм і секреторної активності, що посилює трофічний і імуномодулюючий вплив на регенеруючі тканини [200]. У підсумку тканинно-інженерні продукти, сформовані на каркасній основі, демонструють потенційно вищу регенеративну спроможність порівняно з класичними клітинними препаратами завдяки інтеграції клітин, матриксу та контрольованих біофізичних сигналів.

Попри значні переваги МСК і створених на їх базі тканинно-інженерних конструкцій, клінічна трансляція супроводжується практичними обмеженнями. Зокрема, терапевтичні дози в регенеративних протоколах характеризуються широкою варіабельністю (діапазон може сягати 50–400 мільйонів клітин), що формує неоднорідність дизайн-рішень і ускладнює міждослідницьку порівнянність результатів [201, 202]. Отримати зазначені кількості клітин із тканини одного донора зазвичай неможливо з огляду на обмежену вихідну частку МСК у нативних джерелах і етичні/логістичні чинники, отже необхідне *ex vivo* розмноження. Проте розширення популяції *ex vivo* потребує часу, супроводжується ризиком фенотипових дрейфів, накопиченням клітинної гетерогенності та потенційними змінами секретомного профілю, що критично при терміновій клінічній потребі в готовому трансплантаті [203]. Потреба у повторних введеннях загострює проблему доступності вихідної тканини: повторний забір може бути технічно неможливим або небажаним для донора.

Навіть малоінвазивні процедури, як-от ліпосакція, несуть ризик серйозних ускладнень, тоді як інвазивніші втручання на кшталт аспірації кісткового мозку вимагають більшого періопераційного супроводу та несуть додаткові ризики, що впливає на прийнятність і масштабованість підходу [204].

Одним із рішень цих викликів є формування банку «готового до застосування» біологічного матеріалу. Біобанкінг МСК мінімізує часові витрати на підготовку терапевтичного продукту, забезпечуючи його негайну доступність, уніфікацію показників якості та стандартизацію характеристик випуску для клітинних препаратів, що підвищує відтворюваність клінічних результатів і спрощує порівняння протоколів між центрами [203].

Порівняльні дослідження демонструють, що «свіжі» МСК після культивування мають вищу імуносупресивну активність і клінічну відповідь, ніж клітини, введені безпосередньо після розморожування; останні потребують періоду відновлення для нівелювання апоптотичного праймінгу та відновлення відповіді на цитокіни [205, 206]. З позицій доказової медицини це визначає потенційний модифікатор ефекту в клінічних випробуваннях: різниця у часовому інтервалі між розморожуванням і введенням може суттєво впливати на результат, утворюючи приховане джерело гетерогенності та систематичної похибки при метааналітичному узагальненні [207].

Повільне програмоване охолодження зі швидкістю ≈ 1 °C/хв у присутності $\leq 1,0$ М проникного агента залишається найбільш відтворюваним підходом у лабораторній і виробничій практиці, хоча потребує відповідного обладнання. Вітрифікація забезпечує мінімізацію кристалізації завдяки ультрашвидкому охолодженню, але вимагає високих концентрацій кріопротектора та досконалої техніки маніпуляцій, що ускладнює масштабування та GMP-сумісність [208]. Режим зберігання залежить від цільової тривалості: для коротких періодів життєздатність МСК після -80 °C може бути порівнянною зі зберіганням у парах/рідинах азоту, тоді як для багаторічних інтервалів оптимальними лишаються -150 °C або рідкий азот, за умови суворого контролю термотранзієнтів під час логістики [209]. Розморожування зазвичай виконують у водяній бані 37 °C з подальшим поступовим видаленням кріопротектора та

ресуспендуванням у поживному середовищі; швидке прогрівання мінімізує рекристалізацію й додаткове ушкодження.

У перші години після розморожування фіксують зниження життєздатності, метаболічної та адгезивної активності МСК, що відображає універсальну стрес-відповідь клітини. На 24-й годині показники частково відновлюються, однак повне відновлення терапевтичного потенціалу потребує чітко валідованого «вікна акліматизації» з контролем фенотипу, життєздатності, колонієутворення й функціональних тестів (імуномодулювальні асайї) до випуску серії [207].

Комерційно доступні, безсироваткові та ксеноген-вільні середовища (наприклад, продукти на кшталт CryoStor CS10 з 10% DMSO) забезпечують стабільність складу, усувають міжпартійну варіабельність і полегшують відповідність GMP-вимогам. Опубліковані дані свідчать про збереження експресії біомаркерів, нормального каріотипу та мультилінійної диференціації МСК з різних джерел після довготривалого зберігання з використанням таких середовищ та автоматизованої кріологістики. Водночас стратегія вибору середовища має враховувати сценарії застосування (аутологічне/алогенне), допустиме навантаження DMSO на пацієнта та вимоги до «часу-до-приготування» у клініці [210].

Кріобанкінг інтактної тканини має логістичні переваги (оминути до-кріогенне виділення клітин), водночас висуваючи особливі вимоги до рівномірності охолодження та масоперенесення кріопротектора. Для ліпоаспірату доведено можливість зберігання при -80°C із збереженням життєздатності МСК та базових функцій; у низці протоколів відмічено прийнятні результати навіть без кріопротектора протягом обмежених термінів, що потенційно зменшує токсичне навантаження, але зазвичай поступається за кількістю життєздатних клітин після виділення [211]. Тканина пуповини як доступне джерело МСК також успішно кріоконсервується повільним охолодженням з подальшим зберіганням при -80°C або в парах рідкого азоту; активний пошук альтернатив DMSO (етиленгліколь, гліцерин, 1,2-пропандіол) спрямований на підвищення виходу життєздатних клітин і прискорення міграції з експлантатів [207].

Перехід від суспензій до 3D-продуктів (інкапсульовані клітини в альгінатних мікросферах, завантажені каркаси, сфероїди) змінює тепломасообмін і кінетику проникнення кріопротекторів. Інкапсуляція в гідрогелі (альгінат, трегалозовмісні матриці, термочутливі кополімери) може надавати додатковий захист завдяки зв'язуванню води, демпфуванню осмотичних коливань і фізичній стабілізації клітин, що відображається у вищій життєздатності та швидшому функціональному відновленні після розморожування порівняно з клітинами в суспензії [212]. Для клітинних агрегатів/сфероїдів показано, що вітрифікація може мати перевагу над повільним заморожуванням, а більший розмір сфероїда асоціюється з вищою виживаністю МСК, імовірно через градієнти кріозахисту й внутрішньоагрегатну «буферизацію» від кристалізації [208]. У завантажених каркасах повільне охолодження з контрольованим зародженням льоду та комбінацією DMSO з дисахаридами (сахароза/трегалоза) покращує збереження клітин, хоча ризик мікротріщин у матриці через розширення льоду зберігається і має оцінюватися в тестах механічної цілісності [213].

Ключова методологічна вимога – симетрія панелі тестів до і після кріоконсервування. Оцінка лише життєздатності недосяжна для гарантії клінічної ефективності; необхідні стандартизовані функціональні тести (імуномодулювальні, ангіогенні, диференціаційні), морфометрія/адгезія, показники старіння та геномна стабільність (каріотип), а для 3D-продуктів – додатково механічні властивості матриксу та однорідність заселення клітинами [207]. Для клінічних сценаріїв слід наперед валідувати «час-з-кріосховища-до-введення» з урахуванням обов'язкової акліматизації та межі допустимого резидуального DMSO у готовому препараті [210].

Порівняння «свіжих» і «свіжорозморожених» МСК часто обтяжене небалансами за умовами культивування, пасажем, джерелом тканини, складом кріосередовища та часовими інтервалами після розморожування. Ці фактори здатні створювати систематичні похибки та гетерогенність ефектів.

Біологічні основи використання екстрактів ксеногенних тканин та регуляторних пептидів у клітинній і тканинній терапії

Використання ксеногенних тканин для отримання препаратів клітинної терапії має деякі переваги перед алогенними завдяки їх відносній доступності і відсутності багатьох морально-етичних проблем. Виходячи з різноманіття тканинних структур і органів тварин зі своєю специфікою біохімічних і гістологічних властивостей, теоретично можна виготовити з кожного з них органо- або тканиноспецифічний препарат. Тому межі вдосконалення технологічного процесу, розширення асортименту органопрепаратів дуже широкі: від комплексів і індивідуальних пептидів окремих тканин і органів до цілого органу або системи. При цьому як початковий матеріал можуть використовуватися фетальні, ембріональні тканини або органи, а також тканини молодих і статевозрілих особин.

Регуляторні пептиди, одержані з різних органів, проявляють спрямований вплив на лімфоїдні клітини, модифікують експресію мембранних молекул і регулюють процеси апоптозу. Механізми їх дії включають взаємодію зі специфічними та низькоафінними рецепторами, зокрема молекулами головного комплексу гістосумісності, а також можливу інтеграцію у мембранні структури. Показано здатність екстрактів органів підвищувати експресію антиапоптичного білка Bcl-2 і гальмувати апоптоз.

Показано також, що пептидні препарати із тимуса (тималін) та нирок здатні здійснювати фізіологічну регуляцію процесів апоптозу тимоцитів [214]. Ця регуляція відбувається диференційовано в залежності від вихідного стану клітин, а саме – співвідношення експресії анти- та проапоптичних білків Bcl-2/P53 і полягає в індукції або інгібуванні апоптозу тимоцитів. Основним фактором регуляції апоптозу тимоцитів за фізіологічних умов виступає білок Bcl-2.

Препарати клітинної і тканинної терапії становлять важливу групу біологічних лікарських засобів. Вони включають фрагменти тканин, клітинні суспензії та екстракти різних органів – тимуса, селезінки, печінки, нирок,

слизової шлунка тощо. Особливу увагу нині приділяють ксеногенним екстрактам через відсутність етичних та юридичних бар'єрів і легку доступність матеріалу. Їх перевагою є низька імуногенність, отримання здійснюється кислотним або ферментативним гідролізом з подальшою очисткою від високомолекулярних компонентів.

Біологічні ефекти таких екстрактів багатогранні: вони відновлюють імунну реактивність, модулюють імунні реакції, стимулюють репарацію та впливають на апоптоз клітин. Пептиди можуть як індукувати, так і інгібувати апоптоз залежно від фізіологічного стану клітини, що підтверджує їх регуляторну природу [215].

Сучасна фізіологія та імунологія приділяє значну увагу вивченню механізмів міжклітинної взаємодії, кооперації клітин та сигнальних шляхів у нормі й патології. Встановлено, що нервова, ендокринна та імунна системи використовують спільний механізм хімічної регуляції, базований на продукції регуляторних пептидів. Вони забезпечують підтримання гомеостазу та формування адаптивних реакцій на стрес і порушення внутрішньої рівноваги.

Регуляторні пептиди – це низькомолекулярні біологічно активні сполуки (до 10 000 Да), здатні модифікувати функціональну активність клітинних популяцій, з яких були виділені. Їх фізико-хімічні характеристики залежать від походження та структури пептидних фракцій. Розрізняють олігопептиди, поліпептиди та регуляторні білки, які забезпечують широкий спектр сигнальних впливів у центральній та периферичній регуляції.

Отже РП – це біологічно активні речовини, що складаються з різної кількості амінокислотних залишків (від двох до декількох десятків). Розрізняють олігопептиди, що складаються з невеликої кількості амінокислотних залишків, і крупніші – поліпептиди, хоча точної межі між цими двома групами речовин не існує. Ще крупніші амінокислотні послідовності, що містять більше сотні амінокислотних залишків, звичайно називають регуляторними білками.

Було встановлено, що РП становлять обширну регуляторну систему, яка забезпечує широкий спектр міжклітинних регуляторних процесів в організмі, причому як в центральній нервовій системі, так і в периферичних системах.

Система регуляторних пептидів бере участь у контролі практично всіх фізіологічних процесів. Вона характеризується тканиноспецифічністю та плейотропністю, що визначає можливість цільового впливу пептидних комплексів на органи походження. Активні молекули, виділені з органів і тканин, розглядаються як перспективна основа для створення нових лікарських засобів природного походження, здатних регулювати біохімічні процеси та забезпечувати цілісні компенсаторні реакції. У зв'язку з цим на даний час кращою основою для створення нових лікарських засобів є природні біорегулятори – речовини, які в організмі передають інформацію і керують численними біохімічними реакціями, що становлять матеріальну основу життя.

Усе наведене вище зумовлює мету та задачі дослідження.

Висновки до розділу 1.

1. Гостра ішемія з подальшою реперфузією запускає послідовність *«гіпоксія – ацидоз – кальцієве перевантаження»*, яка призводить до відкриття мітохондріальної перехідної пори проникності, роз'єднання окисного фосфорилування та енергетичного колапсу клітини. Окиснювальний стрес у періоді реперфузії є центральним драйвером пошкодження: надмірне утворення активних форм кисню з мітохондрій, НАДФН-оксидаз, ксантиноксидази та «роз'єднаної» синтази оксиду азоту руйнує ліпіди і білки мембран, порушує роботу іонних каналів і насосів, посилює кальцієву дизрегуляцію та ураження мітохондрій.
2. Ішемічно-реперфузійне ушкодження серця розгортається як послідовність імунних подій: DAMP активують PRR (передусім TLR4) та інфламасому NLRP3, що запускає NF-κB/MAPK-каскади, секрецію IL-1β, TNF-α, IL-6 і рекрут нейтрофілів та моноцитів. Нейтрофіли здійснюють швидке очищення вогнища, але надлишкові ROS, протеази та NETоз ушкоджують життєздатні

кардіоміоцити й мікросудини. Цитокінетичний каскад визначає вектор ушкодження/репарації. TNF- α та IL-1 (через NLRP3) посилюють запалення, апоптоз і дисфункцію мітохондрій; IL-6 має контекстно-залежну, переважно шкодочинну дію у ранню реперфузію; IFN- γ модулює макрофаги та фіброз. Натомість IL-10 і TGF- β обмежують надмірну відповідь і організують відновлення матриксу. Адаптивний імунітет формує віддалений прогноз: Th1/Th17 підсилюють запалення та матриксну деструкцію, тоді як Th2/Th22 і Treg сприяють репарації й контрольованому рубцюванню; аутоантигенна презентація здатна підтримувати хронічне запалення.

3. Найбільший терапевтичний потенціал мають комбіновані, часово узгоджені втручання: контроль швидкості нормалізації кислотно-лужного стану на початку реперфузії, обмеження зворотного транспорту електронів у мітохондріях і чутливості мітохондріальної перехідної пори проникності, стабілізація кальцієвого гомеостазу, а також відновлення фізіологічного потоку аутофагії та мітофагії ендотеліальних клітин із підтриманням синтезу оксиду азоту.
4. МСК демонструють притаманну їм фенотипову пластичність, здатність до двонаправленої імуномодуляції та потужну секреторну активність, формуючи аутокринні й паракринні механізми регуляції. Екстракти з ксеногенних тканин, що включають регуляторні пептиди, становлять науково обґрунтовану основу для розробки нових біологічних лікарських засобів природного походження. Їх природна біорегуляторна активність, низька імуногенність та широкий спектр фізіологічних ефектів зумовлюють перспективність застосування у клітинній і тканинній терапії, зокрема при корекції порушень імунної реактивності, стимуляції репаративних процесів та підтриманні адаптивних реакцій організму.

Основні положення цього розділу викладено у 7 публікаціях автора [26, 42, 43, 47, 50, 51, 91].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведено на базі ІПКіК НАН України у відділі експериментальної кріомедицини (в. о. завідувача відділу – к. мед. н., старший дослідник Чиж М.О.). Робота виконана в контексті планових НДР відділу: «Деструктивні та відновні процеси в тканинах *in vivo* після дії низьких температур та біологічно активних речовин» (шифр 2.2.6.113, номер державної реєстрації 0117U001049, термін виконання: 2017–2021 рр., керівник – в. о. завідувача відділу експериментальної кріомедицини ІПКіК НАН України, к. мед. н., старший дослідник Чиж М.О.) та «Особливості перебігу деструктивно-запальних та репаративних процесів під впливом низьких температур та кріоекстрактів органів ссавців» (шифр 2.2.6.147, номер державної реєстрації 0121U113328, термін виконання: 2022–2026 рр., керівник – в. о. завідувача відділу експериментальної кріомедицини ІПКіК НАН України, к. мед. н., старший дослідник Чиж М.О.).

2.1. Об'єкт та предмети дослідження

Об'єкт дослідження – перебіг деструктивно-відновлювальних змін в міокарді на тлі експериментальної гострої ішемії та некротичного ушкодження серця.

Предмет дослідження – біологічні, імунні та регенеративні властивості мезенхімальних стромальних клітин і екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят.

2.1.1. Характеристика лабораторних тварин та біоетичні аспекти дослідження

Характеристика лабораторних тварин

Найзручнішим об'єктом для дослідження кардіопротекторної дії екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця є щури. Експериментальні

дослідження *in vivo* проводилися на 916 нелінійних лабораторних самцях щурів масою 200–220 г, яких утримували у віварії Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України.

До початку експерименту щури впродовж 14 діб перебували в умовах карантину (СТ-Н МОЗ України 42-6.0:2008 «Лікарські засоби. Належна лабораторна практика») після чого проводилась рандомізація на групи по 7 особин в кожній із подальшим утриманням в умовах стандартного водно-харчового раціону з вільним доступом (*ad libitum*) до води та їжі.

У всіх серіях дослідів тварин маркували індивідуальними позначками. Протягом усього експерименту здійснювали контроль маси тіла, спостерігали за зовнішнім виглядом і загальним станом щурів, включно з поведінковими реакціями та рефlekсами (зокрема харчовими).

Щоб уникнути впливу добових коливань біологічної активності, усі експерименти проводили в першій половині дня – з 8:00 до 11:00. У разі загибелі тварин проводили розтин і макроскопічне дослідження органів грудної клітки та черевної порожнини для підтвердження, що летальний випадок не був спричинений технічними помилками під час маніпуляцій, а також для встановлення можливої причини смерті.

Біоетичні аспекти дослідження

Всі експериментальні дослідження проведені у повній відповідності до чинних вітчизняних та міжнародних нормативно-правових актів: Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3477-IV від 21.02.2006 р. (зі змінами); Наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» № 249 від 01.03.2012 р.; Наказу Міністерства охорони здоров'я України «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» № 944 від 14.12.2009 р.; Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (м. Київ, 2001 р.); Директиви

2010/63/EU Європейського Парламенту і Ради Європейського Союзу «Про захист тварин, що використовуються з науковою метою» (м. Брюссель, 2010 р.); Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (м. Страсбург, 1986 р.).

Комплексну програму досліджень розглянуто та погоджено Комітетом з біоетики при ІПКіК НАН України (витяг з протоколу № 2 від 22 лютого 2016 р.; витяг з протоколу № 2 від 23 лютого 2021 р.).

2.1.2. Характеристика використаних кріоконсервованих біологічних засобів

Отримання мезенхімальних стромальних клітин

Мезенхімальні стромальні клітини плаценти щурів отримували та фенотипували за методикою Г.М. Світіної та співавт. [216]. Принцип отримання МСК плаценти ґрунтується на можливості міграції клітин із фрагментів ворсинчастої тканини плаценти при культивуванні в середовищі, що сприяє виселенню клітин на поверхню культурального флакона. При досягненні 90% конфлуентності моношару клітини знімали з субстрату для подальшого пересівання. У роботі використовували клітини 3–4-го пасажів.

Кріоконсервовані алогенні плацентарні МСК вводили внутрішньовенно у велику підшкірну вену (*v. saphena magna*) через 1 годину після моделювання інфаркту міокарда у дозі $1,2 \times 10^6$ клітин (рис. 2.1.).



Рис. 2.1. Введення МСК щурам у велику підшкірну вену (*v. saphena magna*)

Отримання екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят

Кріоконсервування фрагментів серця поросят

Новонароджених поросят отримували з агрокомбінату «Слобожанський» (Чугуївський район, Харківська область). Забір серцевої тканини здійснювали в операційній віварію Інституту проблем кріобіології та кріомедицини НАН України. Серця подрібнювали стерильними ножицями до отримання фрагментів масою 2–5 мг. Отримані зразки тричі промивали фізіологічним розчином (рН 7,4) у співвідношенні 1:10.

До підготовлених фрагментів поступово, по краплях, додавали 20% розчин поліетиленоксиду (ПЕО-1500) у фізіологічному розчині у співвідношенні 1:1, ретельно перемішуючи суспензію до однорідного стану. Отриману суспензію розфасовували у поліетиленові ампули об'ємом 20 мл.

Заморожування здійснювали за допомогою програмного заморозувача УОП-6 (виробництво СКТБ з ДВ ІПКіК НАН України) зі швидкістю охолодження 1 °С/хв до досягнення температури –70 °С, після чого зразки занурювали в рідкий азот для тривалого зберігання.

Розморожування проводили на водяній бані при температурі 37–40 °С. Деконсервовані фрагменти відмивали від залишків ПЕО-1500 фізіологічним розчином.

Одержання екстрактів фрагментів серця поросят

Для одержання екстрактів відігріті фрагменти серця інкубували в фізіологічному розчині 60 хв. Для видалення термолабільних протеїнів супернатант прогрівали на киплячій водяній бані 15 хв і очищували, пропускаючи через фільтрувальний папір [217].

Визначення концентрації пептидів в екстрактах

Концентрацію пептидів визначали спектрофотометричним методом при довжинах хвиль 280 нм і 260 нм на спектрофотометрі Perkin Elmer Lambda (Perkin Elmer, США).

*Визначення молекулярно-масового розподілу низькомолекулярних фракцій
пептидної природи в екстрактах*

Молекулярно-масовий розподіл низькомолекулярних фракцій пептидної природи визначали методом вискоєфективної геліпроникаючої хроматографії [218]. Перед проведенням хроматографічного аналізу екстракти фільтрували через мембранний фільтр «Міліпор» із діаметром пор 0,45 мкм.

Гель-фільтрацію здійснювали на колонці діаметром 16 мм і довжиною 400 мм, заповненій полівініловим гелем TSKGel Toyopearl HW-40 Fine (Японія). Як елюент використовували фосфатно-сольовий буфер такого складу: $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ – 30 ммоль/л, NaCl – 100 ммоль/л, pH 7,5. Елюент подавали в колонку через петльовий інжектор об'ємом 0,1 мл за допомогою перистальтичного насоса LKB-2132 (Швеція).

Реєстрацію хроматограм здійснювали за допомогою ультрафіолетового детектора LKB-2238 Uvicord SII при довжині хвилі 254 нм. Сигнал детектора записували двоканальним самописним потенціометром LKB-2210 Recorder та інтегратором Water-746, який забезпечував отримання даних про час утримання та кількісні співвідношення окремих фракцій у суміші (у відсотковому вираженні).

Попередньо колонку калібрували стандартними речовинами з відомими молекулярними масами: інсуліном, глюкагоном, соматостатином, а також вітамінами B_2 і B_{12} . Визначення молекулярної маси фракцій проводили за часом утримання зазначених стандартів.

Кріоконсервовані фрагменти серця поросят отримували відповідно до методики [217]. Концентрацію пептидів в екстрактах визначали спектрофотометричним методом при довжині хвилі 280 нм. Кінцева концентрація пептидів в екстракті складала 0,1 мг/мл. Екстракти серця поросят вводили внутрішньоочеревинно з розрахунку 50 мкг пептидів на 100 г маси тварини.

В якості першого референс-препарату обрано «Кордарон» (10 мг/кг, в/м; ТОВ «Санофі-Авентіс Україна», Україна), який широко використовується для лікування ішемічної хвороби серця [219].

В якості другого референс-препарату використовували «Метопролол» по (10 мг/кг, в/м; ТОВ «Артеріум», Україна), який широко використовується для лікування ішемічної хвороби серця.

2.2. Експериментальні моделі гострої ішемії та некрозу міокарда

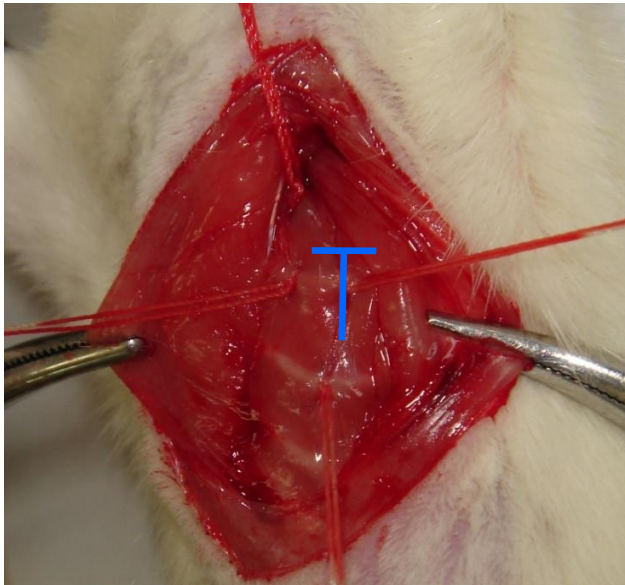
Оперативні втручання проводили під інгальційним масочним наркозом на спонтанному диханні. Інгальційний спосіб гарантує більш точне регулювання хірургічної стадії наркозу та забезпечує швидкий вихід тварин зі стану наркозу, що є суттєво важливою умовою при проведенні оперативних втручань на органах грудної порожнини. Після закінчення операцій експериментальним тваринам вводили знеболюючий препарат: Sol. Nalbuphine injections (10 мг/мл) в дозі 0,1 мл/100 г маси тварини протягом 2-х днів.

2.2.1. Перев'язка лівої коронарної артерії

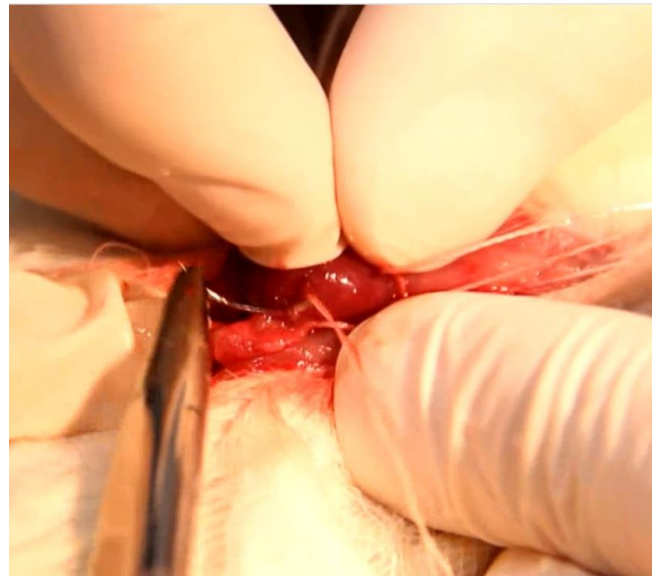
Під інгальційним масочним наркозом на спонтанному диханні фіксували щура на операційному столі. Після видалення шерстяного покриву з передньої грудної стінки і обробки операційного поля 70° спиртом на рівні п'ятого ребра проводили розріз шкіри. Шкірні клапті фіксували затискачами. [84].

Препарували великий та малий грудні м'язи та відокремлювали їх один від одного. Далі накладали провізорні шви на великий та малий грудні м'язи для забезпечення швидкої герметизації місця торакотомії.

Щоб не пошкодити органи грудної порожнини, передню грудну стінку підводили шляхом тракції за три лігатури, які накладали по середньо-ключичній лінії на 4 та 5 ребрах, а одну лігатуру по парастернальній лінії на 5-му ребрі (рис. 2.2 А). Скальпелем робили розріз м'яких тканин в четвертому міжребер'ї та проводили резекцію 5 ребра протягом 2 мм між двома лігатурами, формуючи таким чином Т-образний розріз. Швидко розкривали операційну рану і виводили серце. Проводили перев'язку низхідної гілки лівої коронарної артерії на рівні верхньої та середньої третини (рис. 2.1 В)



А



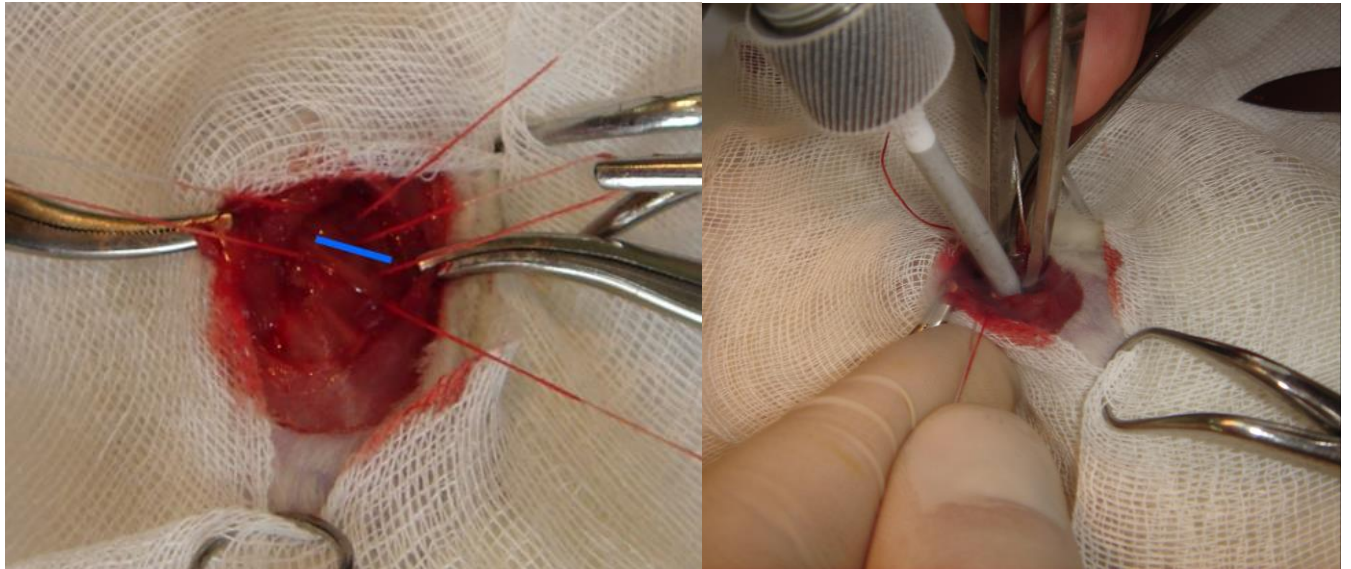
В

Рис. 2.2. Перев'язка лівої коронарної артерії у щура. А – накладання провізорних швів, синій маркер – місце розтину передньої грудної стінки; В – перев'язка лівої коронарної артерії

Після виконання маніпуляції серце занурювали в грудну порожнину, перев'язували лігатури, при цьому стягували між собою краї 4 і 5 ребер. Заздалегідь відсмоктували шприцом повітря з грудної порожнини для виключення пневмотораксу. Пошарово ушивали операційну рану. Накладали асептичну пов'язку. Тварину виводили з наркозу. З часом формувався передньо-бічний інфаркт міокарда.

2.2.2. Кріогенний некроз міокарда

Етап проведення оперативного втручання до виведення серця – аналогічний попередній методиці. Накладені провізорні шви міжреберних проміжках сприятимуть швидкому ушиванню передньої грудної стінки. При проведенні кріодеструкції серця резекцію 5 ребра не проводили. Розрізу в реберному проміжку було достатньо для проведення цієї маніпуляції (рис. 2.3, А).



А

В

Рис. 2.3. Кріодеструкція серця у щура. А – накладання провізорних швів, синій маркер – місце розтину передньої грудної стінки; В – кріодеструкція серця

Для проведення кріодеструкції серця використовували кріоінструмент «КД-3» (Національний науковий центр «Харківський фізико-технічний інститут» Національної академії наук України) з діаметром аплікатора 3 мм при температурі робочої поверхні приблизно -195°C протягом 30 с (рис. 2.3, В) [85].

Перед початком низькотемпературного впливу на тканини перевіряли вихід кріоінструмента в робочий режим шляхом вимірювання температури робочої поверхні аплікатора, яка становила від $-192,0$ до $-194,8^{\circ}\text{C}$. В якості температурного датчика використовували мідь-константову термопару («Овен»), під'єднану до модуля аналогового вводу «Овен МВ-110». Отримані дані передавалися на перетворювач інтерфейсів «Овен АС4», а далі – на персональний комп'ютер. Запис та аналіз результатів здійснювали за допомогою програмного забезпечення «Owen Process Manager 1.2» і «Owen Report Viewer 1.2».

Після виконання кріодеструкції серце занурювали в грудну порожнину, перев'язували лігатури, при цьому стягували між собою края 4 і 5 ребер. Заздалегідь відсмоктували шприцом повітря з грудної порожнини для виключення пневмотораксу. Пошарово ушивали операційну рану. Накладали асептичну пов'язку. Тварину виводили з наркозу.

В залежності від експозиції та топографії кріодеструкції формувався субепікардіальний / трансмуральний некроз міокарда в передньо-бічних ділянках чи на верхівці.

2.2.3. Адреналінова міокардіодистрофія

АМД моделювали за методикою Маркової О.О. (1998 р.) шляхом одноразового підшкірного (п/м) введення 0,18% розчину адреналіну тартрату (ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця», Україна) в дозі 5 мг/кг маси тіла [220, 221, 222]. З часом формувався дрібно-вогнищевий дифузний некроз міокарда.

2.3. Характеристика методик дослідження

2.3.1. Електрокардіографічні дослідження

Реєстрацію електрокардіограм (ЕКГ) проводили в трьох стандартних (I, II, III) та трьох додаткових (avR, avL, avF) відведеннях на апаратно-програмному комплексі «Полі-Спектр/8В» («Полі-Спектр», Україна). Частота дискретизації аналого-цифрового перетворювача (АЦП) складала 2000 Гц, а розрядність – 12 біт, що дає можливість досліджувати ЕКГ у тварин з високою частотою серцевих скорочень.

Контурний аналіз ЕКГ

Програма «Полі-Спектр-Аналіз» дозволяє проводити контурний аналіз усередненого кардіокомплексу PQRS_T. Аналіз полягає у вимірюванні часових інтервалів і амплітуд елементів кардіограми. Контурний аналіз ЕКГ був представлений за такою схемою [35]:

I. Аналіз серцевого ритму і провідності:

а) оцінка регулярності серцевих скорочень; б) підрахунок ЧСС; в) визначення джерела збудження; г) оцінка функції провідності.

II. Визначення поворотів серця навколо передньо-задньої, поздовжньої і поперечної осей.

III. Аналіз передсердного зубця Р.

IV. Аналіз шлуночкового комплексу QRS_T:

а) аналіз комплексу QRS; б) аналіз сегмента RS-T; в) аналіз зубця Т; г) аналіз інтервалу Q-T.

Вивчення варіабельності серцевого ритму (BCP)

Програма «Полі-Спектр-Ритм» дозволяє проводити дослідження у щурів по визначенню BCP. В дослідження включалися **часові** (SDNN – стандартне відхилення нормальних RR інтервалів, CV – коефіцієнт варіації, який враховує частоту серцевих скорочень), **геометричні** (HRV – триангулярний індекс, Мо – мода – значення інтервалу R-R у максимальному розряді гістограми, аМо – амплітуда моди – відсотковий вміст кардіоінтервалів у максимальному розряді гістограми по відношенню до всієї вибірки, WAM5 – ширина основного купола гістограми на рівні 5% амплітуди моди) та **спектральні** характеристики. На підставі літературних даних і власних досліджень параметри спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму (BCP) у щурів були такими: (табл. 2.1) [22]:

Таблиця 2.1

Частотні характеристики BCP, мс²

Показник	Частотний діапазон
TP, мс ²	повна потужність спектра коливань кардіоритму
VLF, мс ²	потужність спектра в ділянці дуже низьких частот (0-0,04 Гц)
LF, мс ²	потужність спектра в ділянці низьких частот (0,05-0,79 Гц)
HF, мс ²	потужність спектра кардіоритму в ділянці високих частот (0.8–3Гц)

Також визначали такі показники скатерограми: довжину «хмари» L, що відповідає варіаційному розмаху. За фізіологічним смислом цей показник не відрізняється від SDNN, тобто відображає сумарний ефект регуляції BCP, але вказує на максимальну амплітуду коливань довжини інтервалів R-R. Вивчали ширину скатерограми (перпендикуляр до довгої осі L, проведений через її середину – w) та площу скатерограми розраховували за формулою $S = (\pi \times L \times w)$ [223].

2.3.2. Ехокардіографічні дослідження

Структурні та функціональні особливості серця та аорти щурів вивчали на ультразвуковому ехотомоскопі «Сономед 500» («Спектромед» Україна) з відповідним програмним забезпеченням (пакетами) для серця та судин.

Дослідження морфофункціональних характеристик серця

Дослідження серця проводили в В- і М-режимі з використанням лінійного датчика 7,5L38 з частотою 7,5МГц. Ультразвукове сканування проводили в площині, перпендикулярній поверхні грудної клітки з парастернального доступу по довгій осі серця (рис. 2.4).

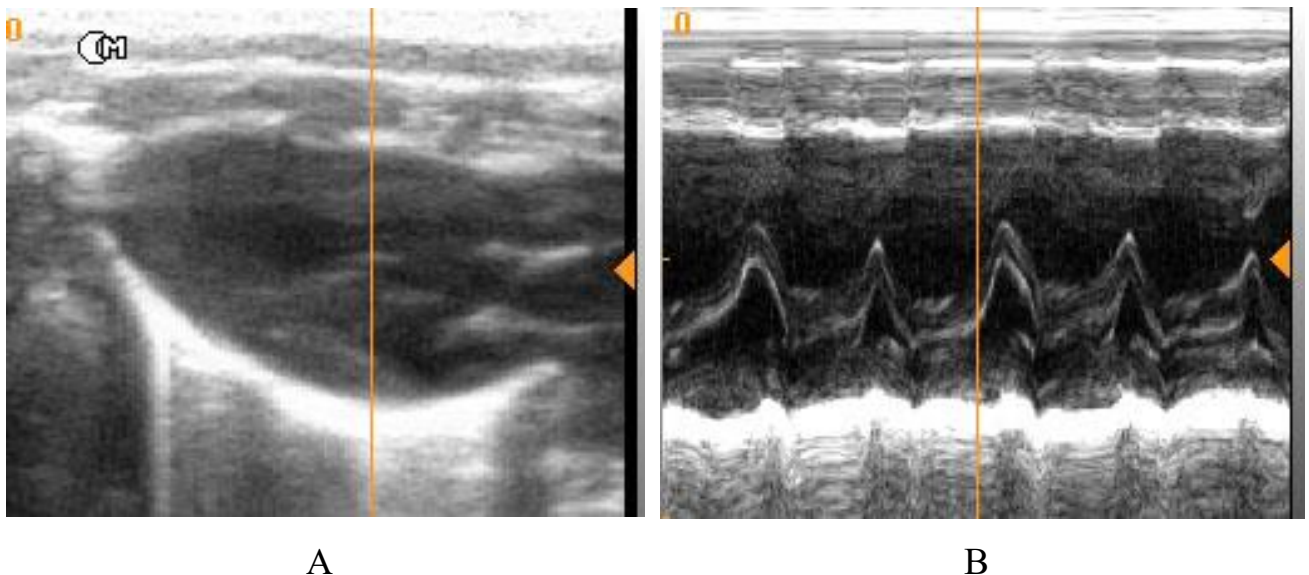


Рис. 2.4. Ехокардіографія щура в нормі: А – В-режим; В – М-режим

При дослідженні в М-модальному режимі вимірювали структури порожнин серця – діаметри та дистанції: кінцево-діастолічний діаметр ЛШ (КДД, DD, мм), кінцево-систоличний діаметр ЛШ (КСД, DS, мм), товщину міжшлуночкової перегородки в діастолу (ТМПД, IVSD, мм), товщину міжшлуночкової перегородки в систолу (ТМПС, IVSS, мм), товщину задньої стінки лівого шлуночка в діастолу (ТЗСД, PWDD, мм), товщину задньої стінки лівого шлуночка в систолу (ТЗСС, PWDS, мм) [32].

Після вимірювання анатомічних структур в автоматичному режимі ехотомоскоп розраховував основні показники об'ємно-швидкісних характеристик серця та показників скоротливої функції лівого шлуночка (табл. 2.2).

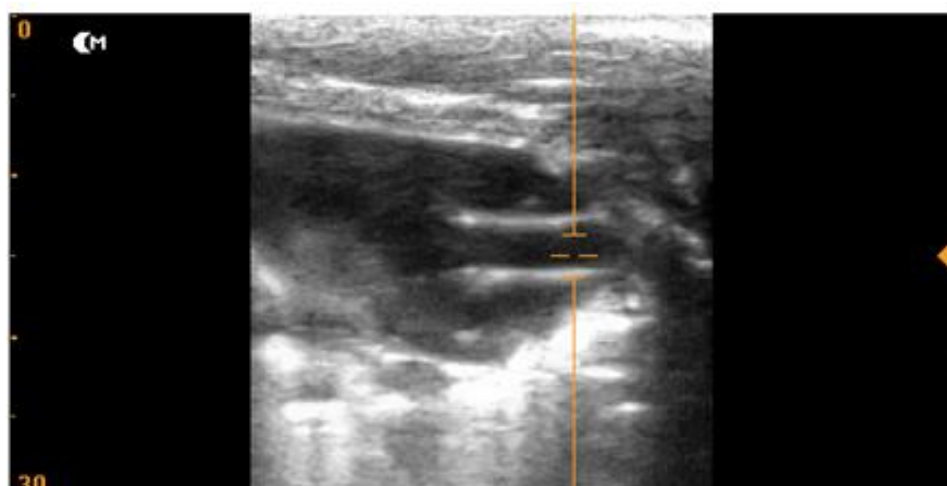
Таблиця 2.2

**Об'ємно-швидкісні характеристики та показники
скоротливої функції міокарда ЛШ**

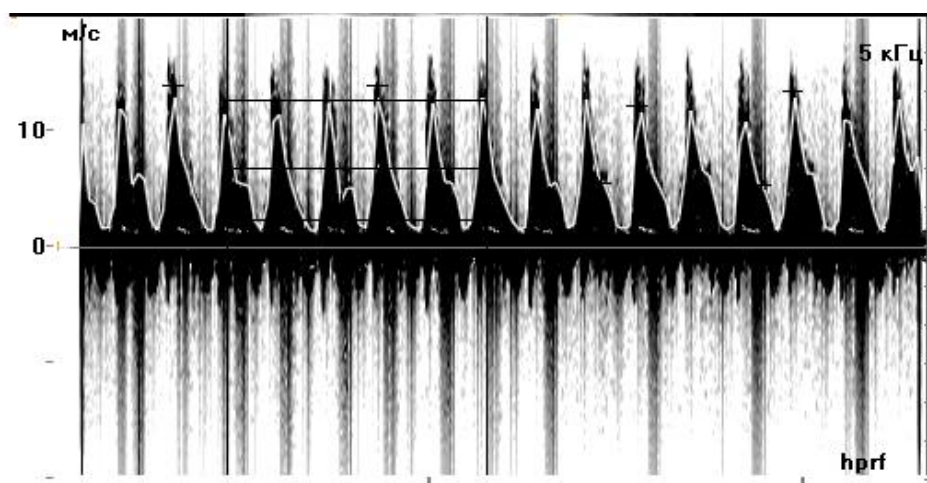
Показники	Одиниці виміру	Формула розрахунку
Об'ємно-швидкісні характеристики		
Кінцево-діастолічний об'єм	КДО, мл	$(7 \times (0,1 \times \text{КДД})^3) / (2,4 + 0,1 \times \text{КДД})$
Кінцево-систолічний об'єм	КСО, мл	$(7 \times (0,1 \times \text{КСД})^3) / (2,4 + 0,1 \times \text{КСД})$
Ударний об'єм	УО, мл	$\text{УО} = \text{КДО} - \text{КСО}$
Хвилинний об'єм	ХО, мл/хв	$\text{ХО} = \text{УО} \times \text{ЧСС}$
Фракція викиду	ФВ, %	$\text{ФВ} = \text{УО} / \text{КДО}$
Показники скоротливої функції міокарда		
Фракція скорочення	ФС, %	$(\text{КДД} - \text{КСД}) / \text{КДД} \times 100\%$
Відносна товщина стінки ЛШ	ВТС,	$\text{ВТС} = (\text{ТЗСД} \times 2) / \text{КДД}$
Маса ЛШ	МЛШ, г	$\text{МЛШ} = 0,832 \times ((\text{ТМПД} + \text{КДД} + \text{ТЗСД})^3 - (\text{КДД})^3) + 0,6$

Допплерографічне дослідження висхідного відділу аорти

Сонографічне дослідження висхідного відділу аорти на 7-му і 30-ту добу після перев'язки коронарної артерії проводили у В-режимі з ефектом Допплера (PW режим) з використанням лінійного датчика 7,5L38 з частотою 7,5МГц. Візуальним і акустичним методом вибирали точку з максимальною інтенсивністю аудіо- і відеосигналу і реєстрували лінійні (систолічну та діастолічну) швидкості кровотоку у висхідному відділі аорти (рис. 2.5). Програмне забезпечення апарата дозволяло в автоматичному режимі визначати індекс резистентності (індекс Пурсело), пульсаційний індекс (індекс Гослінга) та індекс спектрального розширення (індекс Стюарта) (табл. 2.3) [34].



А



В

Рис. 2.5. Ехокардіографія щура в нормі: А – В-режим, В – ВD-режим з ефектом Допплера

Таблиця 2.3.

Кількісні показники доплерографії висхідного відділу аорти

Показники	Позначення	Формула розрахунку
Систолічна швидкість, м/с	Vs	Пікова систолічна швидкість кровотоку
Діастолічна швидкість, м/с	Vd	Мінімальна діастолічна швидкість кровотоку
Середня швидкість, м/с	Vm	Середня швидкість кровотоку за серцевий цикл
Індекс Пурсело	RI	$RI = (Vs - Vd) / Vs$
Індекс Гослінга	PI	$PI = (Vs - Vd) / Vm$
Індекс Стюарта	ISD	$ISD = Vs / Vd$

2.3.3. Прижиттєва оцінка мікрогемоциркуляторного русла серця

Прижиттєву мікроскопію серця виконували за допомогою контактного мікроскопа ЛЮМАМ К-1 («ЛОМО») в режимі люмінесценції (рис. 2.6).

Під час досліджень використовували контактні об'єктиви з кратністю збільшення $\times 10$, $\times 20$, $\times 25$ та $\times 43$, а також окуляр із кратністю $\times 7$. Зображення з об'єктива проєктувалося на кольорову цифрову камеру eTREK DCM510 5.0 MPix («eTREK», Китай). Для фіксації зображень також застосовували цифровий фотоапарат DSC-T5 («Sony», Японія).



Рис. 2.6. Загальний вигляд мікроскопа «Люам К-1» з відеокамерою для дослідження мікроциркуляції *in vivo* з регульованою операційною платформою для фіксації тварин

Методика біомікроскопії мікрогемоциркуляторного русла серця

Після анестезії тварин фіксували на платформі. Через 15 хв після внутрішньовенного введення 2% р-ну флуоресцеїну натрію (уранін) в дозі 1,0 мл проводили серединну стернотомію. Серце виводили в операційну рану, підводили об'єктив для щільного контакту з біологічним об'єктом та проводили фото і відео реєстрацію.

Отримані відео- і фотоматеріали піддавалися комп'ютерному аналізу. Діаметр капілярів та площу судинного русла міокарда розраховували за допомогою комп'ютерної програми Bio Vision 4.0 («BioVision Technologies», USA).

2.3.4. Дослідження розчинності гелевих імплантатів

Альгінат натрію (в'язкість середовища, МВт ~ 350 000 Да [224]) був від Sigma (A2033). Амін-реактивні флуоресцентні барвники Seta-470-NHS, Seta-560-NHS та Seta-650-NHS були з *Seta Biomedicals, Урбана, Іллінойс* (США). 4-морфолінетансульфо кислота, N-(3-диметиламінопропіл)-N'-етилкарбодимід гідрохлорид (EDC), N-гідроксисукцинімід (NHS) і 1,6-діаміногексан були від Aldrich. Розчинники були від Merck. Всі вихідні матеріали використовувалися без додаткового очищення, як вони були придбані.

Приготування аміно-модифікованого альгінату натрію

2,0 г альгінату натрію (Alg) розчиняли 200 мл 50 мМ буфера MES, pH 6,1. Буфер MES готували розчиненням 9,8 г 4-морфолінетансульфонової кислоти в 1 л води і потім доводили pH до 6,1, використовуючи концентрований гідроксид натрію. 930 мг EDC та 310 мг NHS додавали при постійному перемішуванні до розчину альгінату. Через 30 хв до реакційної суміші додавали 2 г 1,6-діаміногексану і перемішували протягом 12 год. Для видалення залишкового 1,6-діаміногексану отриманий аміно-модифікований альгінат натрію осаджували ізопропанолом, фільтрували, промивали ізопропанолом і сушили. Вихід: 2,03 г.

Приготування альгінату натрію з флуоресцентною міткою барвниками Seta-470 та Seta-650

До розчину 270 мг аміно-модифікованого альгінату натрію в 15 мл 50 мМ бікарбонатного буфера (pH 9,0) додавали розчин 6,0 мг ефіру Seta-470-NHS та 5,0 мг ефіру Seta-650-NHS, розчинених у 1 мл N,N-диметилформаміду (ДМФ). Отриману реакційну суміш перемішували протягом 2 год при кімнатній температурі.

Для видалення залишкових некон'югованих барвників утворений

кон'югат альгінат–барвник осаджували додаванням 50 мл ізопропанолу, після чого осад фільтрували, промивали ізопропанолом і висушували.

Вихід кон'югату Seta-470–Seta-650–Alg становив 215 мг. Молярне співвідношення Seta-470 : Seta-650 : альгінат дорівнювало 1,3 : 1,0 : 2,5. Ступінь функціоналізації визначали з використанням оптичної щільності, виміряної для попередньо зважених зразків забарвленого альгінату, із застосуванням закону Бера–Ламберта–Бугера.

Молярна абсорбційна здатність (ϵ) становила $50\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ для Seta-470 та $200\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ для Seta-650. Максимуми поглинання: $\lambda_{\text{max}}(\text{abs}) = 469$ та 651 нм , максимуми флуоресценції: $\lambda_{\text{max}}(\text{em}) = 518$ та 671 нм (вимірювання проводили у воді при $\lambda_{\text{ex}} = 470\text{ нм}$).

Отриманий кон'югат барвник–альгінат не містив фізично захопленого барвника, що було підтверджено методом гель-хроматографії (Sephadex G-50, 67 мМ фосфатний буфер, рН 7,4).

*Приготування альгінату натрію з флуоресцентною міткою барвниками
Seta-560 та Seta-650*

До розчину 150 мг аміно-модифікованого альгінату натрію в 8,5 мл 50 мМ бікарбонатного буфера (рН 9,0) додавали розчин 2,5 мг ефіру Seta-560-NHS та 2,7 мг ефіру Seta-650-NHS, розчинених у 0,5 мл N,N-диметилформаміду (ДМФ). Отриманий розчин перемішували протягом 3 годин при кімнатній температурі. Для видалення залишкових некон'югованих барвників одержаний кон'югат альгінат-барвник осаджували 30 мл ізопропанолу, фільтрували, промивали ізопропанолом і сушили. Вихід Seta-560 – Seta-650 – Alg: 149 мг. Молярне співвідношення барвників та альгінату Seta-560 : Seta-650 : альгінат становило 2,5 : 1,0 : 4,2. Ступінь функціоналізації визначали з використанням абсорбції, виміряної для попередньо зважених зразків забарвленого альгінату, із застосуванням закону Бера–Ламберта–Бугера.

Молярна абсорбційна здатність (ϵ) становила $65\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ для Seta-560 та $200\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ для Seta-650. Максимуми поглинання: $\lambda_{\text{max}}(\text{abs}) = 565$ та 651 нм ; максимуми флуоресценції: $\lambda_{\text{max}}(\text{em}) = 591$ та 669 нм (вимірювання проводили у воді при $\lambda_{\text{ex}} = 530\text{ нм}$).

Отриманий кон'югат альгінат–барвник не містив фізично захопленого барвника, що було підтверджено методом гель-хроматографії (Sephadex G-50, 67 мМ фосфатний буфер, рН 7,4).

Імплантація флуоресцентно міченого альгінатного гідрогелю

в м'яз стегна щура

Тварина, яка перенесла кетамінову анестезію, була поміщена на хірургічний стіл. Після попередньої обробки хірургічної ділянки (гоління волосся та антисептичної обробки) було зроблено поздовжній розріз через шкіру щура та операційна рана була розширена за допомогою тримачів.

Потім 0,04 мл 10% розчину глюконату кальцію (CaGluc) та 0,05 мл 1,0–1,5% флуоресцентно міченого альгінату натрію у фізіологічному розчині послідовно заливали у шприц без перемішування. Голка з конічним кінцем 20° була введена під кутом ~ 20° у *m.gluteus superficialis*, і весь розчин у шприці було введено на необхідну глибину 1 мм. Щоб запобігти витoku ін'єкційного розчину, голку видаляли з м'яза із затримкою в 4–5 с після ін'єкції. Взаємодія альгінату натрію з глюконатом кальцію в м'язовій тканині призводить до утворення флуоресцентно міченого щільного альгінатного гідрогелю-імплантата. Згодом флуоресцентні зображення було взято в нульовий момент часу і рану зашивали.

Імплантація флуоресцентно міченого альгінату гідрогель у міокард щура

Щура, що зазнав кетамінової анестезії, фіксували на операційному столі. Після попередньої обробки операційного поля було виконано торакотомію в 4–5 міжребер'ї. Серце живого щура було виведено через хірургічну рану.

Одночасно з операцією послідовно додавали 0,03 мл 10% розчину глюконату кальцію та 0,04 мл 0,5–1% флуоресцентно міченого альгінату натрію у фізіологічному розчині без перемішування. Голка з конічним кінцем 20° була введена під кутом ~20° у міокард лівого шлуночка, і весь розчин у шприці був швидко введений на необхідну глибину 1 мм. Ін'єкцію було зроблено відразу після того, як серце було виведено. Для запобігання витoku введеного розчину голку вилучали з міокарда із затримкою 4-5 с після введення. Взаємодія

альгілату натрію з глюконатом кальцію в тканинах призводить до *утворення in situ* флуоресцентно міченого альгілатного щільного імплантата.

Потім серце видаляли, щоб отримати нульовий момент часу, або повертали назад у грудну порожнину, щоб отримати наступний момент часу, і рана пошарово ушивалася. Для знеболювання тварини «Налбуфін» вводили внутрішньом'язово в стегно щура в дозі 1 мг/кг маси тіла.

Флуоресцентна візуалізація in vitro

Для отримання зображень *in vitro* флуоресцентно міченого альгілату при різних концентраціях глюконату кальцію (s (CaGluc)) ряд розчинів CaGluc (10, 8, 6, 4, 2, 1, 0,5, 0,25 і 0,1%) у фізіологічному розчині підготовлені. Потім два зразки по 0,02 мл 1,0% флуоресцентно міченого альгілату натрію у фізіологічному розчині поміщали в чашки Петрі, після чого до кожної краплі розчину альгілату натрію додавали по 0,015 мл розчину глюконату кальцію (CaGluc) відповідної концентрації, обережно перемішуючи накриванням кришками чашок.

Щоб уникнути залежності вимірюваних інтенсивностей і площ флуоресценції від потужності збудження, фільтрів, яскравості барвника та інших експериментальних умов, у експериментах з візуалізації використовували стандарти яскравості. Ці стандарти були невеликими шматочками (діаметром 3–4 мм) флуоресцентно міченого щільного альгілату.

Потім кришки знімали з чашок Петрі та отримували зображення, як описано нижче. Зображення були зроблені через 10 і 30 хвилин після 1 години приготування гелю, і ці зображення були знайдені незмінними протягом цього періоду часу. Знімки, зроблені за 30 хвилин, представлені у статті. Чотири зображення для кожного s (CaGluc) були отримані, математично оброблені, як описано нижче, та середні значення розрахованих яскравих ділянок флуоресценції були побудовані як функція s (CaGluc).

Спостереження за альгілатом у стегні щура

Експериментальну тварину під кетаміновим наркозом фіксували на операційному столі. Після попередньої обробки операційного поля (гоління волосся та антисептичне лікування) післяопераційну рану було розширено за

допомогою тримачів. Флуоресцентні зображення були отримані при нормальному освітленні, а потім у зеленому та червоному каналах для Seta-470-Seta-650-Alg або помаранчевих та червоних каналах для Seta-560-Seta-650-Alg та краї рани ушивали.

Спостереження за альгінатом у міокарді щурів

Розташування імплантата гелю в кожному серці візуально визначали за сигналом його флуоресценції, отриманому в червоному каналі. Потім серце було вирізане в місці максимальної концентрації імплантата і зображення були зроблені в зеленому і червоному каналах для Seta-470 – Seta-650 – Alg або в помаранчевих і червоних каналах для Seta-560 – Seta-650 – Алг.

Обробка зображень

Усі зображення мали однаковий розмір (2784 × 1856 пікселів). Зображення оброблялися та аналізувалися за допомогою програмного забезпечення ImageJ, доступного в Національному інституті охорони здоров'я США (<http://rsbweb.nih.gov/ij/index.html>). Ділянки флуоресценції та інтегральні інтенсивності (яскравість) зразків та стандарти яскравості були локалізовані за допомогою інструмента Wang (відстеження) (режим Legacy, Tolerance 25) та визначені за допомогою команди Analyze–Measure.

Періоди напіврозпаду щільного гідрогелю розраховували за профілями зменшення площі флуоресценції, отриманих з барвниками Seta-470 та Seta-560. Подвійна експоненційна відповідність використовувалася для Seta-470 та моноекспоненційна відповідність для Seta-560.

2.3.5. Біохімічні дослідження

Матеріалом дослідження виступали гомогенат тканин серця щурів та змішана (венозна й артеріальна) кров, яку отримували після декапітації тварин. Для отримання плазми цільну кров відбирали у пробірки з попередньо внесеним антикоагулянтом (етилендіамінтетраоцтова (ЕДТА) кислота). Плазму відділяли центрифугуванням впродовж 15 хв при 3000 g.

Для отримання сироватки кров відбирали у скляні пробірки без антикоагулянта та витримували при кімнатній температурі (20–26 °C) до

повного відділення сироватки, яку відбирали у пробірку й центрифугували впродовж 15–20 хв при 3000 g.

Для отримання гомогенату тканини серця перфузували холодним (+4 °C) ізотонічним 1,15% розчином KCl та гомогенізували при 3000 об/хв (тефлон-скло) у середовищі буферного розчину при співвідношенні 1:10 (маса/об'єм: наважка 250 мг + 2,25 мл 1,15% розчину KCl), отримуючи 10,0% гомогенат.

Постядерний супернатант отримували шляхом центрифугування гомогенату впродовж 30 хв при 600 g з подальшим відбором аліквот у мікропробірки «Eppendorf».

Депротейнізований екстракт отримували додаванням до гомогенату тканини серця трихлороцтової кислоти (0,6 М) з подальшою нейтралізацією 5,0 М калію карбонатом.

Вміст ТБК-АП у тканинах серця визначали спектрофотометрично за методом [225].

Комплексна програма біохімічних досліджень представлена в табл. 2.4.

Таблиця 2.4

**Комплексна програма біохімічних досліджень кардіотропної дії
МСК та ЕСцП при ішемії / некрозі міокарда у щурів**

Об'єкт дослідження	Сироватка крові	Гомогенат тканин серця
Вільнорадикальні процеси	МДА (нмоль/мл)	ТБК-АП (мкмоль/г тк.) ДК (мкмоль/г тканини)
Антиоксидантна система (АОС)	СОД (умов.од./л) Каталаза (мкат/г протеїну)	ГПО (мкмоль/ хв/мг протеїну); G-SH (ммоль/кг)
Енергетичний обмін		АТФ; АДФ; АМФ (мкмоль/г сухої тканини); енергетичний заряд серця
Вуглеводний обмін	ЛДГ (мкат/л)	Лактат; піруват (мкмоль/г сухої тканини); глікоген (мг/г сухої тканини); Г-6-Ф (мкмоль/г)
Цитолітичні процеси	АлАТ, АсАТ (мкмоль/ год / мл)	
Запальний процес	С-реактивний білок (мг/л)	

Вміст малонового діальдегіду (МДА) в сироватці крові розраховували за показниками оптичної густини, визначеної за світлопоглинанням при довжини хвилі $\lambda = 535$ нм, враховуючи коефіцієнт молярної екстинції забарвленого комплексу, який дорівнює $1,56 \times 10^5$ моль⁻¹ / см⁻¹ та виражали у нмоль/мл [226, 227].

Вміст дієнових кон'югатів (ДК) у тканинах серця проводили спектрофотометрично за методом Гаврилова В. Б. [228, 229], принцип якого ґрунтується на здатності до інтенсивного УФ-поглинання кон'югованих дієнових структур гідропероксидів ліпідів у діапазоні хвиль довжиною $\lambda = 232$ – 234 нм. Методика визначення: до 0,4 мл 10,0% гомогенату додавали 4 мл гептано-ізопропанолової суміші (1:1), екстрагували досліджуваний метаболіт при $+ 20$ °С впродовж 15 хв, додавали 1,0 мл розчину HCl (рН = 2,0) та 2,0 мл гептану. Після відстоювання та розшарування суміші, через 30 хв, визначали оптичну густину відділеної гептанової фази за світлопоглинанням при довжини хвилі $\lambda = 233$ нм. Результати підраховували за формулою та виражали в мкмоль/г тканини: $KDK = D_{232} \times V_e / V_g$, де К – концентрація, D – оптична густина, V_e – об'єм гептанового екстракту, V_g – об'єм гомогенату.

Активність супероксиддисмутази (СОД) в сироватці крові визначали за методом Чеварі С. та співавт. [230], який ґрунтується на здатності ензиму конкурувати з нітротетразолієм синім за супероксидні аніони, які утворюються внаслідок аеробної взаємодії відновленої форми нікотинамідаденіннуклеотиду та феназинметасульфату. В результаті реакції нітротетразолій синій відновлюється з утворенням гідразинтетразолію. В присутності СОД відсоток відновлення нітротетразолію синього зменшується. Досліджували 1 мл плазми крові. Кількість ферменту, що спричиняла інгібування відновлення нітротетразолію синього на 50,0%, приймали за 1 умовну одиницю (умов.од.) активності.

Активність каталази в сироватці крові визначали спектрофотометрично за методом Корольок М.А. та співавт. [231].

Активність глутатіон-пероксидази (ГПО) у тканинах серця (КФ 1.11.1.9) визначали спектрофотометрично за швидкістю окиснення глутатіону

(GSH) до і після інкубації з гідропероксидом третинного бутилу (трет-бутил (t-BuOOH)) [232]. Залишок відновленого трет-бутилу визначали за інтенсивністю забарвлення нітропрусидом натрію (5,5'-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою), який має максимум поглинання при довжині хвилі $\lambda = 540$ нм. Кількість останнього прямо пропорційна кількості SH-груп, що прореагували. Активність ГПО виражали в мкмоль глутатіону відновленого/мг білка/хв.

Вміст відновленого глутатіону (G-SH) у тканинах серця визначали флюорометрично за методом, який ґрунтується на взаємодії ортофталієвого ангідриду з відновленим глутатіоном, внаслідок чого утворюється флюоресціюючий комплекс, який реєструється при $E_x/E_m = 340/420$ нм. Розрахунок глутатіону проводили за калібрувальним графіком [233]. Вміст G-SH виражали у ммоль/кг.

Вміст аденілових нуклеотидів у тканинах серця досліджували хроматографічним методом [234].

Сумарну активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) у сироватці крові визначали спектрофотометричним методом, який ґрунтується на прямопропорційності активності ЛДГ та швидкості зменшення світлопоглинання при довжині хвилі $\lambda = 340\text{--}365$ нм, яка характерна для перетворення пірувату на лактат з одночасним окиснюванням НАДН (Піруват + НАДН + H^+ $\rightarrow$ Лактат + НАД $^+$). Результати виражали в мккат/л [235]. Дослідження проводили із використанням наборів для біохімічних досліджень «ЛДГ-СПЛ» (ТОВ «СпайнЛаб», Україна).

Вміст лактату та пірувату у тканинах серця визначали спектрофотометрично [236].

Вміст глікогену у тканинах серця визначали шляхом заморожування тканини з подальшою її обробкою гарячою сумішшю спирту з лугами. Висушений осад піддавали кислотному гідролізу сірчаною кислотою до глюкози, за кількістю якої визначали вміст глікогену, що виражали в мг/г. [237].

Вміст глюкозо-6-фосфату (Г-6-Ф) у тканинах серця визначали спектрофотометрично гексокіназним методом. Глюкоза під дією гексокінази за

участю АТФ перетворюється на Г-6-Ф, який під дією Г-6-Ф-дегідрогенази перетворюється на 6-фосфоглюконо-D-лактон. Кількість НАДФН, що утворилася під час цієї реакції, пропорційна кількості глюкози в розчині й визначається за світлопоглинанням при довжини хвилі $\lambda = 340$ нм. Вміст Г-6-Ф виражали у мкмоль/г [237].

Активність аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспартатамінотрансферази (АсАТ) в сироватці крові визначали колориметричним методом Райтмана-Френкеля, який ґрунтується на тому, що комплекс 2-кетоглутарат з L-аланіном під впливом АлАТ утворює комплекс L-глутамату з піруватом (оксалоацетатом), який в свою чергу з NADH та H^+ під дією лактатдегідрогенази (малатдегідрогенази) утворює L-лактат (L-малат) і NAD^+ . Визначення базується на вимірюванні оптичної щільності 2,4-динітрофенілгідразонів 2-оксоглутарової та піровиноградної кислот в лужному середовищі. Оскільки гідразон піровиноградної кислоти має більш високий коефіцієнт молярної екстинції, то спостерігається прямо пропорційна залежність оптичної щільності реакційного розчину від активності фермента. Вимірювали світлопоглинання при довжині хвилі $\lambda = 490\text{--}540$ нм та проводили розрахунок активності ензиму за калібрувальним графіком й виражали у мкмоль/(л×год). Дослідження проводили із використанням наборів для біохімічних досліджень «АлАТ (АсАТ) (Райтмана-Френкеля з калібратором)» (ТОВ НВП «Філісім-Діагностика», Україна).

Визначення вмісту С-реактивного білка (СРБ) в сироватці крові щурів проводили, використовуючи принцип латексної аглютинації. Антиген (антитіла проти СРБ), адсорбований на нейтральних частинках латексу, вступає в реакцію аглютинації з СРБ. Інтенсивність аглютинації прямо пропорційна кількості СРБ. Використовували діагностикум (ТОВ «Лабораторія Гранум», Україна).

2.3.6. Визначення молекулярно-масового розподілу низькомолекулярних фракцій пептидної природи

Для визначення молекулярно-масового розподілу низькомолекулярних фракцій пептидної природи використовували метод високоефективної гельпроникної хроматографії. Гель-фільтрацію проводили на колонці діаметром 16 мм та довжиною 400 мм, заповнену полівініловим гелем TSKGel Toyopearl HW-40 Fine (Японія). Елюацію проводили фосфатно-сольовим буфером такого складу: $\text{Na}_2\text{HPO}_4 / \text{NaH}_2\text{PO}_4$ – 30 ммоль/л, NaCl – 100 ммоль/л, pH – 7,5. Хроматограми реєстрували за допомогою ультрафіолетового детектора LKB -2238 Uvicord S11 при довжині хвилі 254 нм.

Сироватку крові щурів для спектральних досліджень розводили натрій-фосфатним буфером в 40 разів. Середній вміст альбуміну в сироватці складав 2,4 мкмоль/мл.

У дослідженнях використовували флуоресцентні зонди K-35 і E-176, синтезовані в ДНУ "НТК Інститут монокристалів" НАН України (Харків). Для проведення досліджень зонди готували у вигляді спиртових розчинів. Спектри флуоресценції зразків записували на спектрофлуориметрі Cary Eclipse (Varian, Australia). Для обробки і візуалізації спектрів використовували програму Microcal Origin 6.0. Експериментальні дослідження проводили на 1, 7, 14 та 30 добу.

2.3.7. Імунологічні дослідження

Визначення цитокінів

Рівень прозапальних цитокінів інтерлейкіну-1 β та інтерлейкіну-6 у сироватці крові піддослідних тварин визначали методом імуноферментного аналізу з використанням наборів реактивів Biotrak ELISA System фірми «Healthcare» згідно з інструкціями.

У сироватці крові експериментальних тварин методом твердофазного імуноферментного аналізу визначали вміст неколагенових білків (ОК, ОП) та цитокінових (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ТФР- β 1) маркерів метаболізму кісткової тканини. Дослідження виконані з використанням аналізатора імуноферментного «LisaScan» (Erba® Diagnostics Mannheim GmbH, Німеччина) у відповідності до

інструкцій виробників наборів: – ОП (набір «Human Osteopontin Platinum ELISA BMS2066 / BMS2066TEN», Affymetrix Inc., eBioscience, Австрія); – ОК (набір «N-MID® Osteocalcin ELISA», Immuno diagnostic Systems Limited, Великобританія); – IL-1 β (набір «Інтерлейкін-1 бета-ІФА-БЕСТ», АО «БЕКТОР-БЕСТ», А-8766); – IL-6 (набір «Інтерлейкін-6-ІФА-БЕСТ», АО «БЕКТОР-БЕСТ», А-8768); – ТФР- β 1 (набір «Human TGF beta 1 Platinum ELISA BMS249/4 / BMS249/4TEN», Affymetrix Inc., eBioscience, Австрія).

Вміст ізоформ протеїнів TNF- α та TGF- β визначали методом вестерн-блот гібридизації.

Визначення концентрації NLRP3 у сироватці крові

Після забору крові у щурів сироватку розділяли центрифугуванням при 1000 г/хв протягом 10 хвилин у пробірках з антикоагулянтами та зберігали при температурі -80°C. Їх зберігали та оцінювали як партію. Зразки сироватки тестували у трьох повторностях. Концентрацію NLRP3 у сироватці визначали за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА). Набір отримано від Wuhan Fine Biotech (EH4202), з діапазоном виявлення 0,781-50 нг/мл та чутливістю 0,469 нг/мл.

Визначення імуномодулюючих властивостей екстрактів серця поросят на макрофагах лінії RAW 264.7

Для оцінювання імуномодулювальних властивостей екстрактів серця поросят було проведено *in vitro* дослідження із використанням культури клітин макрофагальної лінії RAW 264.7. Макрофаги інкубували з різними концентраціями білково-пептидних екстрактів (25, 50 та 100 мкг/мл) упродовж 24 годин. Контрольні клітини культивували без додавання екстракту (негативний контроль), а як позитивний контроль застосовували ліпополісахарид (LPS, 1 мкг/мл).

Після інкубації у супернатантах клітин визначали концентрації цитокінів IL-6, TNF- α та IL-10 методом імуноферментного аналізу (ELISA).

Оцінювання імуномодулюючої активності екстрагованих пептидів на Т-лімфоцитах

Для оцінювання імуномодулювальної активності екстрагованих пептидів серця поросят було проведено дослідження *in vitro* з використанням культури Т-лімфоцитів (клітинна лінія Jurkat). Клітини інкубували з різними концентраціями екстрактів (25, 50 та 100 мкг/мл) упродовж 48 годин. Контрольні зразки культивували без додавання екстракту, а як позитивний контроль застосовували фітогемаглютинін (РНА, 5 мкг/мл), що є класичним стимулятором проліферації Т-клітин.

Проточна цитометрія імунних клітин

Оцінка рівня лімфоцитів Treg.

Перед проведенням експерименту клітини розморожували при 37 °С і відмивали в 10 мл повного живильного середовища RPMI% 1640, що містить 10% ЕТС (Corning, США), 100 од./мл пеніциліну і 100 мкг/м. Розморожені моноклеарні клітини забарвлювали флуоресцентно міченими (фікоеритрином (PE) або FITC) антитілами, специфічними до поверхневих молекул CD4 і CD25, після чого клітини фіксували, пермеабілізували і фарбували антитілами до внутрішньоядерних транскрипцій. Використовували набір FlowX Rat Regulatory T CellKit (R&D Systems, США), що включає анти%CD25%PE, анти CD4%FITC і анти%FOXP3%AlexaFluor 647 антитіла. Фенотип Treg визначали як CD4+CD25+FOXP3+ (рис. 1). Аналіз проводили на проточному цитометрі CytoFLEX S (Beckman Coulter, США). Дані представлені у вигляді абсолютної та відносної кількості Treg в пулі CD4+T% лімфоцитів. Абсолютні значення були отримані шляхом визначення лейкоформули і підрахунку кількості лейкоцитів у периферичній крові.

Визначення Th17

Для визначення Th17 (% CD4⁺IL-17⁺) використовували метод проточної цитометрії, який дозволяє кількісно визначити відсоток Т-лімфоцитів, що експресують одночасно CD4 та інтерлейкін-17 (IL-17). Для цього виділяли моноклеари периферичної крові, стимулювали їх для активації Th17-клітин та забарвлювали за допомогою специфічних антитіл, мічених флуоресцентними

барвниками: одне антитіло проти CD4, інше проти IL-17. Потім клітини аналізували за допомогою цитометра, а відсоток CD4⁺IL-17⁺ клітин обчислювали у популяції Т-хелперів.

2.3.8. Морфологічні та ультрамікроскопічні дослідження

Гістологічні методи дослідження

Морфологічні дослідження серця проводили по гістологічним зрізах методом світлової мікроскопії. Для проведення гістологічного аналізу серцеву тканину тварин фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну з подальшим зневодненням і заливкою у парафін. Із отриманих парафінових блоків виготовляли серійні зрізи товщиною 6–8 мкм.

Мікропрепарати забарвлювали гематоксилином та еозином за загальноприйнятою методикою [238]. Морфологічне дослідження та мікрофотографування гістологічних зрізів проводили з використанням мікроскопа «Granum R 4003» і камери «eTREK DCM 510». Для цифрової обробки та аналізу зображень застосовували програмне забезпечення AxioVision Rel. 4.8 («Carl Zeiss», Німеччина) та Bio Vision 4.0 («BioVision Technologies», USA).

При морфологічному дослідженні моделей некрозу міокарда візуально оцінювали стромально-кардіоміоцитарний стан гістологічних зразків тканин (форму кардіоміоцитів, діаметр просвіту судин, їх кровонаповнення і стан периваскулярних інтерстиціальних просторів). Оцінювали площу сполучної тканини щодо загальної площі препарату, відносну площу судин і кількість судин на 100000 кв. мкм.

Імуногістохімічні реакції

Непрямим імунопероксидазним методом з системою візуалізації DAKO EnVision (Данія) визначали експресію p53 в ядрах кардіоміоцитів. Кількісна оцінка інтенсивності імуногістохімічної реакції здійснювалася шляхом визначення процентного вмісту p53-позитивних ядер кардіоміоцитів по відношенню до загальної кількості ядер кардіоміоцитів у полі зору.

Визначення апоптотичних клітин у парафінових тканинних зрізах шляхом маркування 3'-ОН кінців фрагментованої ДНК (метод TUNEL).

Зразки готували так, щоб відкрити ДНК для доступу ферменту TdT. Створювали позитивний контроль – інкубували зріз з ДНК-нуклеазою, що збільшує кількість розривів, негативний контроль – пропускали стадію інкубації з TdT (комерційний набір «Roche In Situ Cell Death Detection Kit», Fluorescein) містить два ключові компоненти: TdT-фермент забезпечує приєднання мічених dUTP до 3'-ОН кінців ДНК. Мічені dUTP (fluorescein-dUTP) дають зелений флуоресцентний сигнал. Реагенти змішували безпосередньо перед нанесенням на зрізи. Зрізи покривали реактивною сумішшю TUNEL та інкубували. Під час інкубації TdT приєднував fluorescein-dUTP до розривів ДНК, що забезпечувало формування специфічного флуоресцентного сигналу в апоптотичних клітинах.

Після інкубації зрізи промивали у відповідному буфері набору та контрастували ядерним барвником (типово – DAPI, що забарвлює ядра в синій колір).

Визначення IgG-депозитів

Для визначення IgG-депозитів застосовували поліклональні антитіла з високою чутливістю для виявлення загального IgG (Dako). Підготовка зрізів: зрізи розміщували на склі і фіксували для прямої IF. Блокування неспецифічного зв'язування – загальна концепція для зменшення фонової флуоресценції.

Інкубація флуоресцентно-міченим anti-Human IgG: антитіло та зв'язується з тканинними депозитами IgG і дає флуоресцентний сигнал. Потім промивали, проводили контрзабарвлення ядер і монтаж, а потім підготовлювали до візуалізації. Мікроскопічна оцінка: проводили перегляд під флуоресцентним мікроскопом у відповідних каналах.

2.4. Методи статистичної обробки

Статистичну обробку одержаних результатів проведено з використанням прикладної програми Statistica 10.0 (STatSoft Inc. USA) для Windows. Оцінку характеру розподілу величин в кожній групі вибіркової сукупності проводили з використанням W-критерію Шапіро–Віллка (Shapiro–Wilk teST, $n < 50$). Однорідність дисперсій визначали за критерієм Левена (Levene's teST). Для оцінки значущості виявлених відмінностей досліджуваних показників за різних умов експерименту проводили статистичний аналіз з використанням параметричних або непараметричних критеріїв.

При нормальному розподілі незалежних величин відмінності між групами визначали попарно за t-критерієм Стюдента. При ненормальному розподілі принаймні однієї з груп незалежних величин відмінності між ними визначали за непараметричним H-критерієм Краскела–Уолліса.

Цифрові дані у разі нормального розподілу величин наведені у вигляді « $M \pm m$ » ($M \pm SE$), де M – середнє арифметичне значення, m (SE) – стандартна похибка середнього арифметичного. При ненормальному розподілі отриманих величин дані представлено у вигляді $Me [LQ; UQ]$, де Me – медіана, $[LQ; UQ]$ – верхня межа нижнього (першого) квартиля (lower Quartile – LQ) та нижня межа верхнього (третього) квартиля (upper Quartile – UQ) [239, 240].

Основні положення цього розділу викладено у 24 публікаціях автора [20, 22, 23, 27, 29, 30, 31, 33, 45, 48, 52, 62, 63, 75, 76, 79, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 89].

РОЗДІЛ 3

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ПРИНЦИПИ ТА ІМУНОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО НЕКРОЗУ МІОКАРДА. ОСОБЛИВОСТІ МОДЕЛЕЙ ТА ЇХ ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА

Для правильного розуміння патогенетичних механізмів некрозу міокарда, розробки методів профілактики і лікування необхідно його експериментальне відтворення на різних моделях. До завдань даного етапу роботи входило вивчення особливостей розвитку деструктивно-некротичних процесів і репаративної регенерації серця після різних видів пошкодження міокарда з метою вибору адекватної моделі під конкретні експериментальні дослідження. У розділі представлена динаміка електрокардіографічних, біомікроскопічних, морфологічних змін у міокарді після кріовпливу на серце протягом 15 і 30 с, перев'язки лівої коронарної артерії і введення токсичних доз адреналіну. У таблиці 3.1 представлено розподіл експериментальних тварин за групами.

Таблиця 3.1

Розподіл експериментальних тварин за групами

Групи	К-ть тварин
1 група – Інтактні тварини (Контроль)	7
2 група – Перев'язка лівої коронарної артерії	42
3 група підгрупа А – Кріовплив 15 с	42
3 група підгрупа Б – Кріовплив 30 с	42
4 група – Введення токсичних доз адреналіну	42

Моделювання ішемічного інфаркту міокарда шляхом перев'язки лівої коронарної артерії представляє собою травматичну операцію. У наших експериментах інтраопераційна смертність тварин досягала 30%. У більшості випадків причиною летальності був відкритий пневмоторакс. Більшою мірою це зумовлено тим, що оперативні втручання виконувались на самотійному (спонтанному) диханні без використання апарата штучної вентиляції легенів. Смертність у групі після введення адреналіну досягала 25%. Для виконання цього розділу в відділі експериментальної кріомедицини була розроблена модель некрозу міокарда з використанням кріобіотехнологічних підходів.

3.1. Порівняльна характеристика та імунопатогенез при різних експериментальних моделях некрозу міокарда

Патогенез некрозу міокарда є складним багатofакторним процесом, у якому провідну роль відіграють не лише ішемічні та метаболічні порушення, але й активація імунної відповіді організму. Імунопатогенез некрозу міокарда охоплює широкий спектр клітинних і гуморальних механізмів, спрямованих спочатку на усунення некротизованих клітин, а згодом – на ініціацію репаративних процесів у пошкодженій тканині серця.

У даному підрозділі представлено порівняльну характеристику найбільш інформативних експериментальних моделей некрозу міокарда, зокрема моделі перев'язки коронарної артерії, моделі кріодеструкції серця та моделі токсичного ураження адреналіном. Проведення порівняльного аналізу дозволяє виявити переваги та обмеження кожної моделі з погляду відтворюваності, патоморфологічної подібності до клінічного інфаркту міокарда, ступеня контролюваності ушкодження.

Залежно від моделі некрозу міокарда – ішемічної, токсичної, кріогенної – активність імунних механізмів, співвідношення клітинних субпопуляцій, рівень цитокінів і характер перебігу запалення можуть істотно відрізнятися. Це визначає як швидкість розвитку ушкодження, так і ефективність подальшого відновлення тканини.

Дослідження особливостей імунопатогенезу при різних моделях некрозу міокарда має важливе значення для розуміння ролі запальних та імунних факторів у розвитку постнекротичних змін, вибору оптимальних експериментальних підходів і розробки нових стратегій імунотерапії серцево-судинних захворювань.

3.1.1. Електрокардіографічні зміни показників серця щурів в умовах різних експериментальних моделей некрозу міокарда

Дослідження ЕКГ у щурів перед втручанням показало, що у них був правильний синусовий ритм, були відсутні порушення провідності і зміни в

комплексі P-QRS-T (рис. 3.1 А). Частота серцевих скорочень становила 420 ± 25 за хв.

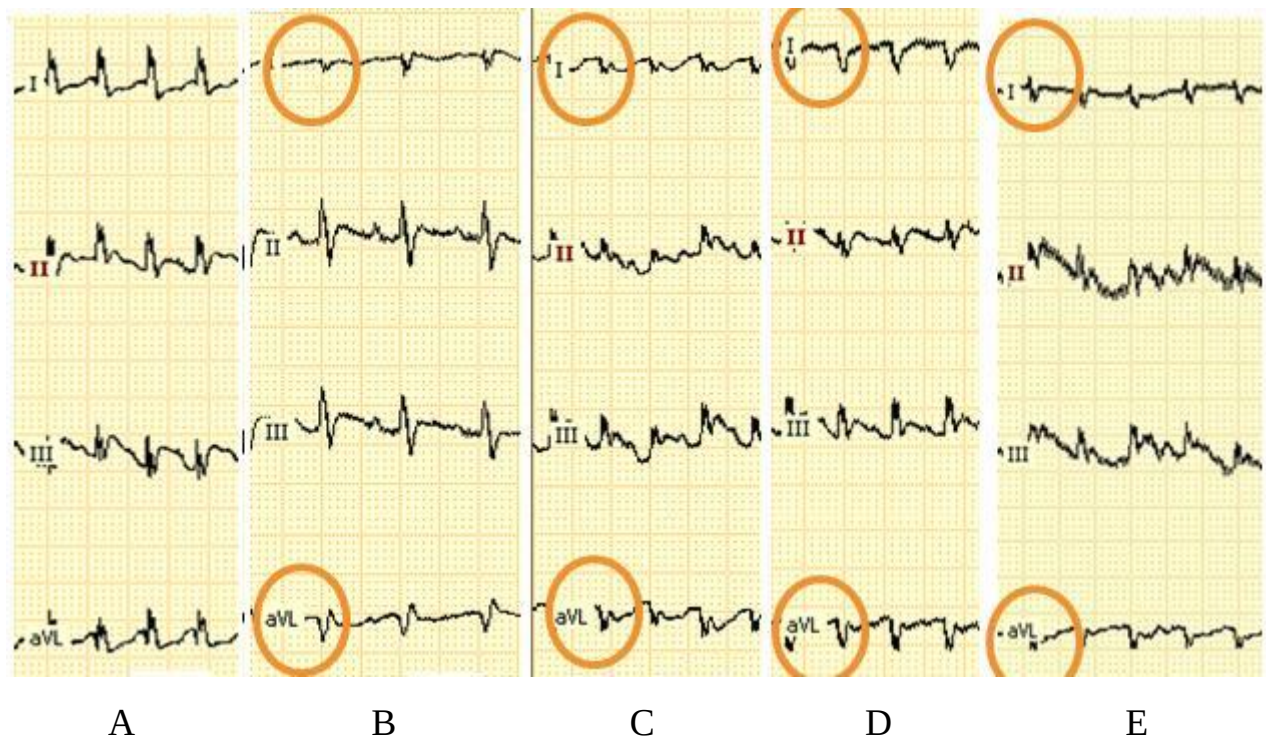


Рис. 3.1. Дослідження ЕКГ через 1 добу після оперативних втручань: А – норма; В – перев'язка лівої коронарної артерії; С – кріодеструкція серця 15с; D – кріодеструкція серця 30с; Е – введення адреналіну

Оскільки при перев'язці лівої коронарної артерії формується передньо-бічний некроз міокарда, то в подальшому в своїх дослідженнях кріовплив на бічну поверхню лівого шлуночка ми проводили в 4–5 міжребер'ї. При таких умовах кріовтручання також формується передньо-бічний некроз міокарда. У тварин після кріовпливу на серце тривалістю 15 с на 1-шу добу спостерігалось зниження амплітуди зубців R, поява $q \leq 1 / 4R$ (табл. 3.2) і негативних зубців Т в I, і aVL відведеннях, що свідчило про розвиток передньо-бічного субепікардіального НМ (рис. 3.1 С).

При збільшенні часу кріовпливу на серце до 30 с збільшувалася глибина пошкодження серця. На ЕКГ реєстрували зубець Q і елевацію сегмента ST в I і aVL відведеннях, що свідчило про розвиток трансмурального некрозу міокарда (табл. 3.2) (рис. 3.1 D).

**Електрокардіографічні показники щурів після втручання
(в I і avL відведеннях)**

Параметри	доба	Норма	Перев'язка <i>a.coronalis</i>	Кріодеструкція серця 15 с	Кріодеструкція серця 30с	Введення адренал.
Наявність q або Q зубця	1	$q < \frac{1}{4} R$	$Q > \frac{1}{4} R$	$q < \frac{1}{4} R$	$Q > \frac{1}{4} R$	$Q > \frac{1}{4} R$
	7	$q < \frac{1}{4} R$	$Q > \frac{1}{4} R$	$q < \frac{1}{4} R$	$Q > \frac{1}{4} R$	$Q > \frac{1}{4} R$
	14	$q < \frac{1}{4} R$	$Q > \frac{1}{4} R$	$q < \frac{1}{4} R$	$Q > \frac{1}{4} R$	$Q > \frac{1}{4} R$
Сегмент ST і зубець T	1	$T \leq \frac{1}{3} R$	Елевація ST	T «←»	Елевація ST	Елевація ST
	7	$T \leq \frac{1}{3} R$	T «←»	T «←»	T «←»	T «←»
	14	$T \leq \frac{1}{3} R$	T «←»	T «←»	T «←»	T «←»
Некроз міокарда		—	Транс- муральний	Субепі- кардіальний	Транс- муральний	Транс- муральний

Аналогічні зміни на електрокардіограмах з формуванням трансмурального некрозу міокарда реєстрували у тварин після перев'язки лівої коронарної артерії (рис. 3.1 В).

Через 1-шу добу після введення адреналіну на електрокардіограмах у щурів реєстрували зубець Q і елевацію сегмента ST в I і avL відведеннях, що також свідчило про наявність у тварин цієї групи трансмурального передньо-бічного НМ (табл. 3.2) (рис. 3.1 Е).

Електрокардіографічна картина, зареєстрована на 1-шу добу, зберігалася протягом усього терміну спостереження у всіх експериментальних групах. Поява аритмій і екстрасистолій не спостерігалася. Частота серцевих скорочень варіювала в межах значень норми.

Таким чином, у всіх моделях на 1-шу добу після втручання фіксувалися стійкі зміни ЕКГ, які зберігалися протягом періоду спостереження (14 діб), що підтверджує стабільність сформованого некрозу. Ознак аритмії або екстрасистолій не виявлено. Перев'язка лівої коронарної артерії є класичною та високовідтворюваною моделлю інфаркту міокарда, що забезпечує формування трансмурального некрозу з типовими електрокардіографічними проявами

(зубець Q, елевація ST, негативний T). Модель кріодеструкції серця дозволяє дозовано відтворювати ураження міокарда різної глибини залежно від тривалості кріовпливу. Короткочасне охолодження (15 с) викликає субепікардіальний некроз, тоді як триваліше (30 с) – трансмуральний некроз. Модель токсичного ураження адреналіном викликає трансмуральний некроз міокарда, супроводжуваний типовими ЕКГ-ознаками ішемічного ушкодження.

3.1.2. Біомікроскопічна картина серця щурів в умовах різних експериментальних моделей некрозу міокарда

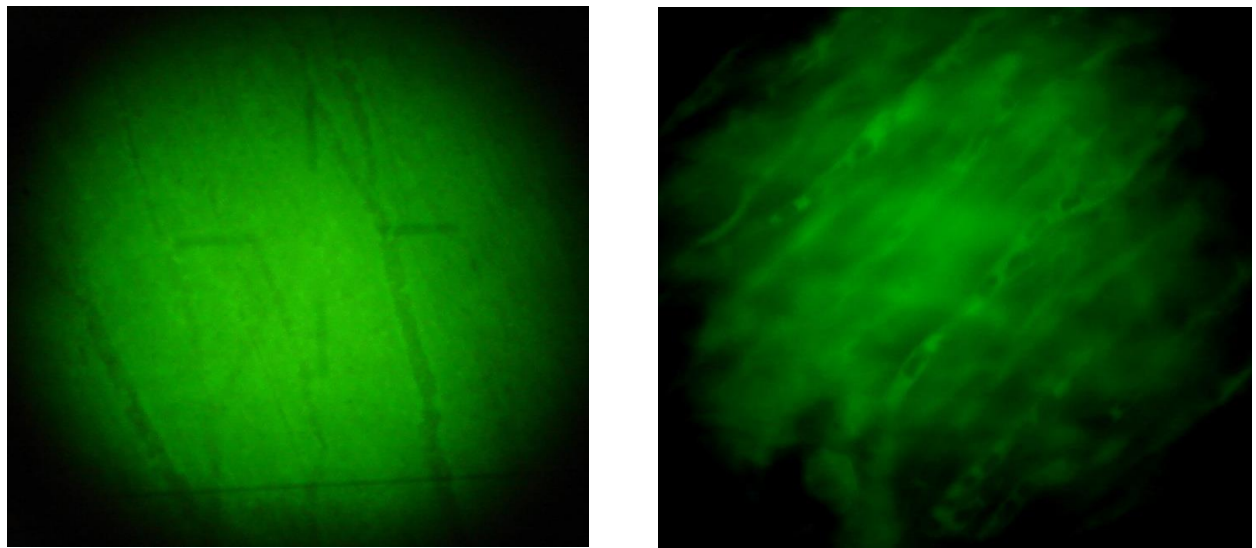
Система мікрогемоциркуляції є важливим компонентом забезпечення адекватної перфузії органів і тканин. Прижиттєва контактна люмінесцентна мікроскопія дозволяє спостерігати за станом мікросудин серця в поверхневих шарах органа і за характером змін можна робити правомірні висновки про стан мікрогемоциркуляції в цілому органі. В літературі нами не було знайдено даних про такі дослідження. Після внутрішньовенного введення появи мітки, що флуоресцює (флуоресцеїн натрію (уранін)) реєстрували на 2-й хвилині у вигляді жовто-зеленого світіння інтактної поверхні серця.

Мікросудини поверхні серця являють собою систему капілярів, які утворюються в результаті поділу артеріальних судин. У нормі капіляри міокарда йдуть уздовж м'язових волокон паралельно один одному. По системі капілярів кров потрапляє в термінальні серцеві венули, а потім у венозні судини.

Рух крові в судинах – це основний фізіологічний параметр кровообігу. Швидкість кровотоку від аорти і до капілярів – найважливіша характеристика цього параметра. Вона визначає ефективність транспорту кисню до тканин і ліквідацію різного роду гіпоксичних синдромів. Характер кровотоку по капілярам складний: іноді на тлі більш-менш рівномірного потоку крові в капілярах виникають короткочасні уповільнення або прискорення кровотоку, що перешкоджає проведенню замірів швидкості кровотоку. Однак загалом кровотік у капілярах є швидким, струменевим і гомогенним (рис. 3.2).

Діючі в нормальних умовах механізми регуляції кровотоку при патології працюють у режимі підвищеного навантаження, при цьому різні ділянки русла

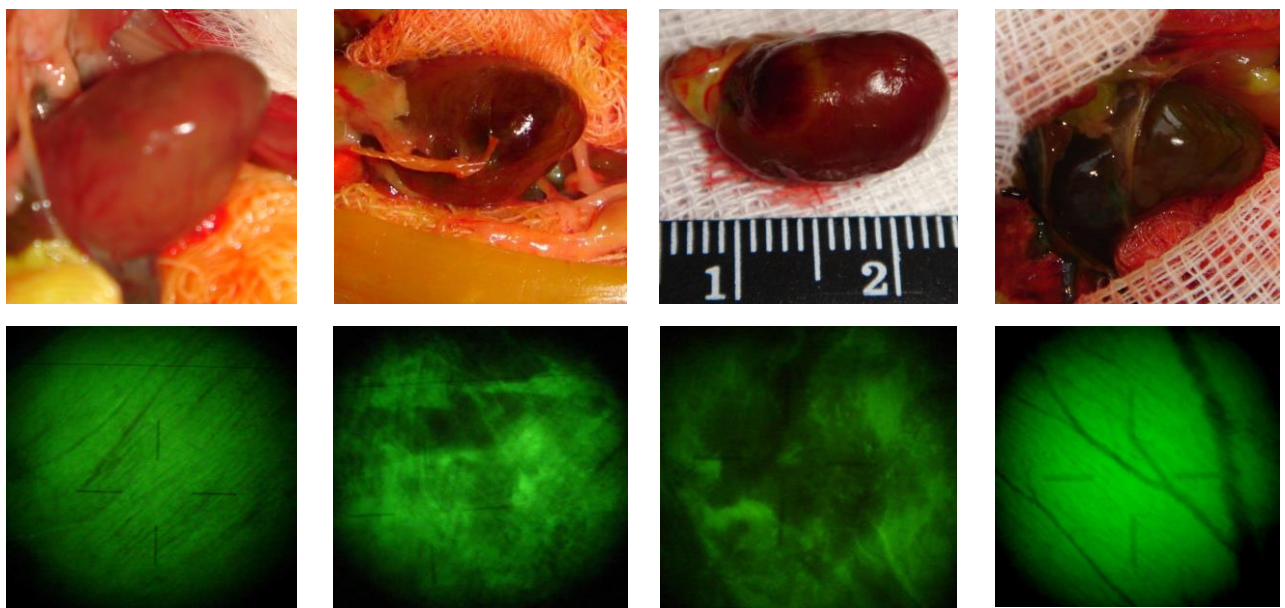
знаходяться в неоднакових функціональних станах, а при виникненні гострих ішемічних ускладнень виникають відмінності в самій структурі мікроциркуляторного русла (рис. 3.3, нижній ряд).



А

В

Рис. 3.2. Біомікроскопічна картина гемоциркуляторного русла серця в нормі. А – $\times 70$; В – $\times 175$. Барвник: флуоресцеїн натрію



А

В

С

Д

Рис. 3.3. Біомікроскопічна картина гемоциркуляторного русла серця через 1 годину після втручань. А – норма; В – Перев'язка *a.coronalis*; С – Кріодеструкція серця 30 с; Д – введення токсичних доз адреналіна. Верхній ряд фото – макроскопічна картина серця після різних втручань. Нижній ряд – біомікроскопічна картина гемоциркуляторного русла серця з боку епікарда. $\times 70$. Барвник: флуоресцеїн натрію

При моделюванні деструктивних порушень серця мікроархітектоніка зазнавала істотних змін. Ці зміни, в першу чергу, стосувалися капілярів і площі мікросудинної системи. В зоні пошкодження люмінесценція була відсутня (рис. 3.3, верхній ряд).

В результаті перев'язки коронарної артерії і локальної кріодеструкції серця утворювалися центральні та прикордонні зони пошкодження (рис. 3.3 В, С, нижній ряд). Перев'язка коронарної артерії і кріовплив призводили до утворення зони ішемії і некрозу міокарда. У центральних зонах ураження спостерігали руйнування мікроструктури органа, гемостаз в мікросудинах і вихід формених елементів за межі капілярів. Після введення адреналіну з боку епікарда мікроструктурних змін не виявлено (рис. 3.3 D, нижній ряд).

Однак, з боку ендокарда розгорталися драматичні події з пошкодженням всієї мікроархітектоніки органа (рис. 3.4).

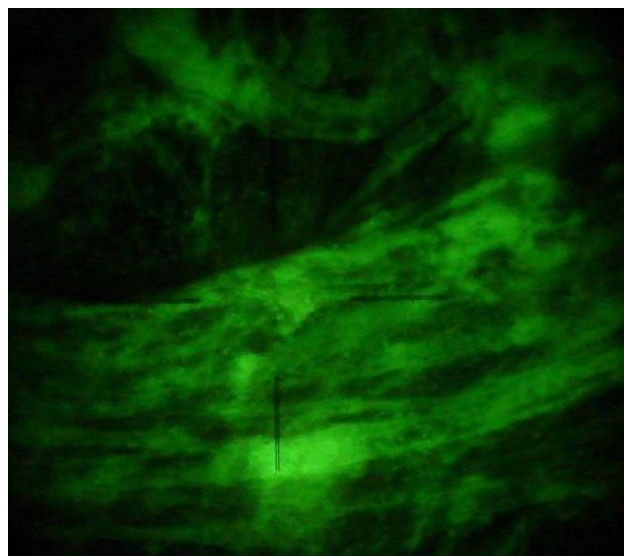


Рис. 3.4. Біомікроскопічна картина гемоциркуляторного русла серця з боку ендокарда через одну годину після введення адреналіну. $\times 70$. Барвник: флуоресцеїн натрію

На ділянках міокарда, віддалених від зони кріодеструкції і перев'язки артерії, через 1 годину діаметр капілярів збільшувався по відношенню до норми, а після введення адреналіну діаметр капілярів достовірно знижувався до 3 мкм, що зумовлено різким спазмом вінцевих артерій і зокрема судин мікроциркуляторного русла. Перев'язка коронарної артерії приводила до стазу на рівні мікроциркуляторного ланки, що виражалося у збільшенні діаметрів капілярів (табл. 3.3).

Показники мікроциркуляторного русла серця (діаметр капілярів, мкм) при експериментальному некрозі міокарда

Групи	Норма	Перев'язка <i>a.coronalis</i>	Кріодеструкція серця 30 с	Введення адреналіну
1 година	4,05±0,09	5,02±0,22 ¹	4,73±0,17	3,17±0,19 ¹
14 діб		4,22±0,25	3,84±0,18	4,06±0,12

Примітка. ¹ – достовірно відносно норми, $p < 0,05$.

Макроскопічно через 7 діб після втручань розміри зон ушкодження у всіх груп тварин не відрізнялися від розмірів, зафіксованих через одну годину спостережень. Біомікроскопічно в цих зонах встановлено порушення структурної організації мікроциркуляторного русла серця, яке свідчило про розвиток некрозу міокарда (рис. 3.5).

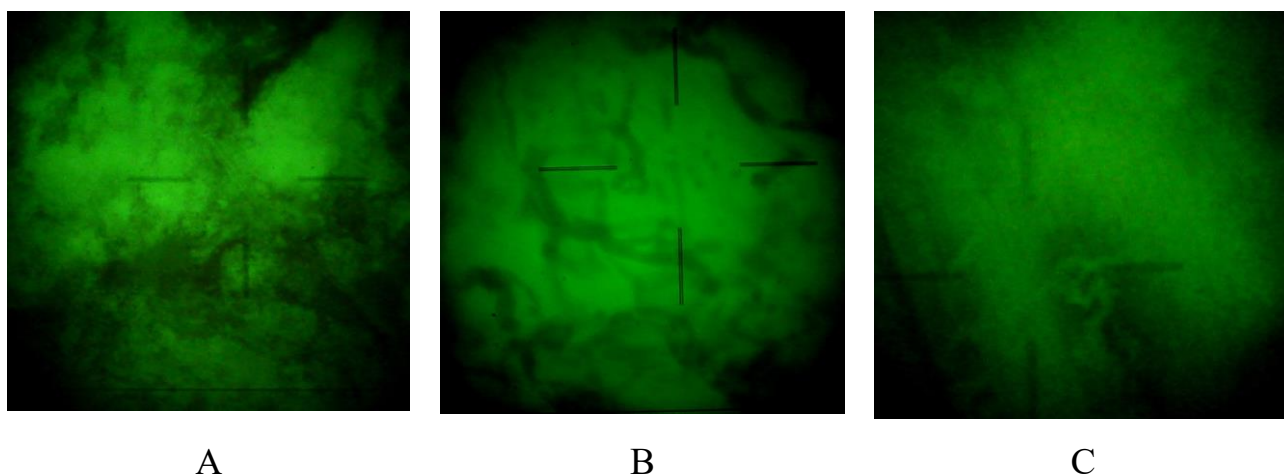


Рис. 3.5. Біомікроскопічна картина гемоциркуляторного русла серця через 7 діб після втручань. А – Перев'язка *a.coronalis*; В – Кріодеструкція 30 с; С – введення адреналіну. $\times 70$. Барвник: флуоресцеїн натрію

Значні відмінності між зонами ушкодження спостерігали на 14-ту добу. У зоні кріонекрозу відзначали рідкісні невеликого діаметра судини, що утворюють нетрадиційний для серця малюнок. По периметру зона кріонекрозу була оточена великими мікросудинами. Після перев'язки коронарної артерії мікрогемооціркуляція, як і раніше, була порушена. Після введення адреналіну також було встановлено порушення нормальної мікроструктури міокарда. У

прикордонній зоні спостерігали клітини-тіні ймовірно, за рахунок апоптотичного пошкодження (рис. 3.6).

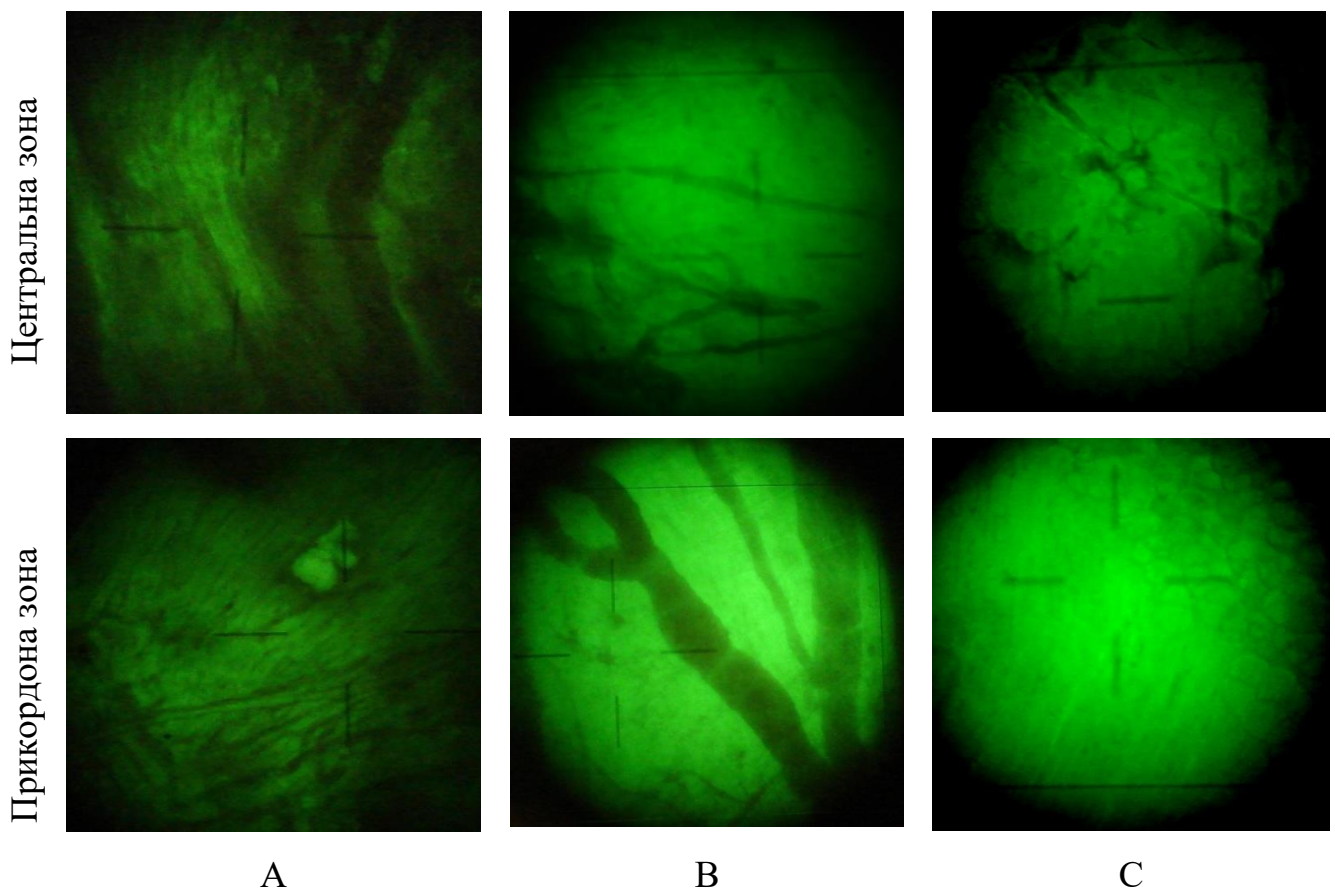


Рис. 3.6. Біомікроскопічна картина гемоциркуляторного русла серця через 14 діб після втручань. А – Перев'язка *a.coronalis*; В – Кріодеструкція 30 с; С – введення адреналіну. $\times 70$. Барвник: флуоресцеїн натрію

Структурні зміни в серцевому м'язі при НМ поширювалися далі зони порушеного коронарного кровотоку і зони кріовпливу. На периферичних ділянках міокарда в ділянці лівого шлуночка діаметр капілярів зменшувався в порівнянні з нормою, а на 14-ту добу у тварин після перев'язки коронарної артерії діаметр мікросудин і відносна площа судинного русла поверталися до початкових значень.

Таким чином, у структурі мікросудинного русла серцевого м'яза в осередку ушкодження через одну годину, як після перев'язки коронарної артерії, так і після локальної кріодеструкції серця, відзначені однотипні зміни з вираженими явищами деструкції міокарда. Після введення адреналіну відзначено різке зменшення діаметра капілярів. За даними прижиттєвої

мікроскопії при введенні токсичних доз адреналіну деструктивні процеси більшою мірою спостерігали з боку ендокарда.

На 14-ту добу відмінності мікроциркуляторного русла в центральних і прикордонних зонах пошкодження міокарда після моделювання експериментального некрозу міокарда були максимальними.

Таким чином, мікроциркуляторне русло серця щура у нормі представлено системою капілярів, що орієнтовані паралельно м'язовим волокнам міокарда та забезпечують рівномірний, гомогенний кровотік. Прижиттєва люмінесцентна мікроскопія підтвердила швидкий та рівномірний рух крові у капілярах інтактного серця.

При моделюванні некрозу міокарда (перев'язка коронарної артерії, локальна кріодеструкція) відбувається глибоке порушення мікроархітекτονіки серця: у центральних зонах ураження спостерігається руйнування мікроструктури, стаз крові в капілярах, вихід формених елементів за межі судин і відсутність люмінесценції.

Введення адреналіну спричинює виражений спазм капілярів і зменшення їх діаметра до 3 мкм, що супроводжується різким погіршенням мікрогемоциркуляції, особливо в ділянках ендокарда, де реєструються деструктивні зміни, характерні для ішемічного пошкодження.

Динаміка змін у часі: через 1 годину після експериментального впливу – однотипні прояви деструкції мікросудинного русла в усіх моделях некрозу; через 7 діб – зони ушкодження зберігають ознаки порушеної мікроциркуляції без істотної регенерації; через 14 діб – виявляються максимальні відмінності між центральними та прикордонними зонами: у зоні кріонекрозу – наявність поодиноких судин малого діаметра, а після перев'язки артерії – часткове відновлення діаметра мікросудин до нормальних значень.

Отже, ураження мікроциркуляторного русла є ключовою ланкою у патогенезі некрозу міокарда незалежно від моделі пошкодження. Найбільш виражені порушення відзначені при ішемічній (перев'язка артерії) та токсичній (адреналіновій) моделях, що свідчить про їхню високу деструктивність для мікросудин серця.

3.1.3. Морфологічні характеристики серця щурів в умовах різних експериментальних моделей некрозу міокарда

Відмінності в механізмах пошкодження і загибелі кардіоміоцитів при різних видах несприятливих впливів зумовлюють різний характер реактивних змін з боку паренхіми і строми міокарда. Незважаючи на увагу дослідників до проблеми репаративної регенерації міокарда при його вогнищевих ураженнях, деякі аспекти цієї проблеми, зокрема, що стосуються особливостей паренхіматозно-стромальних взаємовідносин, залишається недостатньо вивченим.

При мікроскопічному дослідженні ендокард лівого шлуночка серця у інтактних тварин вистелений ендотеліоцитами плоскої форми, з помірно забарвленим ядром гематоксиліном і помірно базофільною цитоплазмою (рис. 3.7).

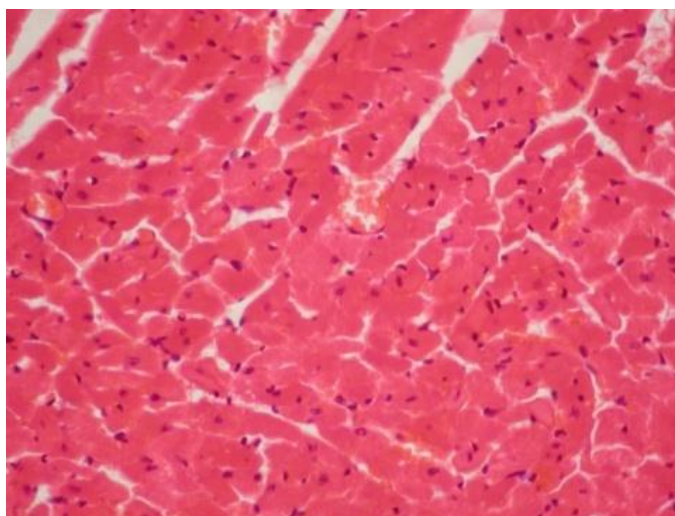


Рис. 3.7. Міокард інтактного щура. Групи м'язових волокон міокарда, що анастомозують один з одним, не різко виражений набряк строми, повнокров'я венозних судин і капілярів. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 400$

Підендотеліальний шар при забарвленні пікрофуксином за Ван Гізоном представлений помірно фуксинофільними колагеновими волокнами. На кордоні з міокардом сполучнотканинні волокна потовщені, між ними виявляються нечисленні судини капілярного типу.

Міокард утворений групами кардіоміоцитів, які формують м'язові

волокна. На гістологічних зрізах скоротливі кардіоміоцити зображені у вигляді клітин з помірно забарвленим гематоксиліном паличкоподібним ядром на тлі еозинофільної цитоплазми з добре контурованим малюнком міофібрил. В стромі закладені судини різного калібру. Інтрамуральні артерії середнього і дрібного калібру помірно кровонаповнені. Ендотелій, який вистилає артерії, декілька сплоснений, його цитоплазма слабо базофільна, ядра витягнуті. Артеріоли покручені, з невеликою кількістю еритроцитів, ендотеліоцити розташовувалися на деякій відстані один від одного, ядра їх еухромні, базофільні. Вени і венули помірно звиті, розширені, повнокровні; ядра ендотеліоцитів також чіткі, еухромні. Капіляри незначно розширені звиті, повнокровні.

Епікард зрощений з міокардом і представлений тонкою сполучнотканинною платівкою, покритою мезотелієм. Він складається з переплетених помірно фуксинофільних колагенових волокон і тонких еластичних волокон.

У 2-й експериментальній групі через годину після перев'язки лівої коронарної артерії в міокарді спостерігали зміни переважно дисциркуляторного характеру у вигляді набряку строми, повнокрів'я венозних судин і капілярів з виходом плазми і формених елементів за межі судинної стінки. Поперечна смугастість м'язових волокон була змазана, а малюнок міофібрил – нечіткий. Міжм'язові і периваскулярні простори нерівномірно розширені. У віддалених ділянках міокарда набряк строми був менш виражений.

Через добу поряд з розладами кровообігу в зоні басейну перев'язаної судини спостерігали виражені деструктивні зміни. Поперечна смугастість у скорочувальних кардіоміоцитах не визначалась. М'язові клітини, що формують м'язові волокна, були набряклими з вираженою еозинофілією цитоплазми, базофільними пікнотичними ядрами. Периваскулярні простори розширені, відзначалася вогнищева десквамація ендотелію з початком нейтрофільної лейкоцитарної інфільтрації.

Мікроскопічно на 7-му добу в зоні пошкодження, переважно в центральних відділах, визначали осередки зруйнованих без'ядерних

кардіоміоцитів з набряклом гомогенною еозинофільною цитоплазмою. Зона інфаркту оточена широким клітинним валом з нейтрофільних лейкоцитів, макрофагів, фібробластів. Зрідка зустрічалися новостворені повнокровні судини з тонкою слабо фуксинофільною стінкою (рис. 3.8).

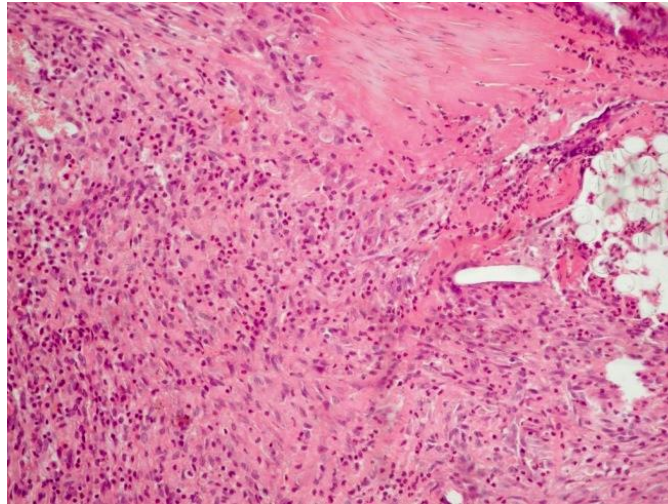


Рис. 3.8. Міокард щура після перев'язки лівої коронарної артерії на 7-му добу. Ділянки деструкції м'язової і жирової тканини з перифокальним запаленням. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

У зоні інфаркту міокарда на 14-ту добу спостерігали переважання репаративної регенерації над деструктивними процесами. До цього терміну зникала лейкоцитарна інфільтрація, і на місці загиблих кардіоміоцитів формувалася пухка, добре васкуляризована грануляційна тканина, в структурі якої визначалися ніжні слабо фуксинофільні сполучнотканинні волокна з великою кількістю гістіоцитів і фібробластів. У прилеглих до цієї зони групах кардіоміоцитів відзначали компенсаторну гіпертрофію.

На 30-ту добу експерименту зона інфаркту заміщена сполучною тканиною різного ступеня зрілості, яка у вигляді конуса вдавалася у відносно не пошкоджений міокард. Між сполучнотканинних волокон визначали переважно фібробласти і фіброцити. Новостворені судини до цього терміну спостереження набували диференціювання на артеріальні і венозні. На периферичних ділянках від інфаркту кардіоміоцити мали середні, приблизно однакові розміри з еозинофільною цитоплазмою і базофільним паличкоподібним ядром, поперечна смугастість була слабо виражена. Судини

всіх калібрів помірно повнокровні, ендотелій зплющений з помірно базофільним ядром і світлою цитоплазмою.

Таким чином, на гістологічних препаратах міокарда щурів після перев'язки лівої коронарної артерії в зоні басейну перев'язаної судини визначали деструкцію паренхіматозно-стромальних компонентів міокарда з яскраво вираженими дисциркуляторними порушеннями, при цьому процес формування сполучнотканинного рубця завершувався з 14-ї по 30-ту добу спостереження.

Після впливу на серце низькими температурами відразу формувалася зона реактивного запалення. Зміни морфологічної структури серця після кріовпливу чітко корелювали з результатами електрокардіологічного дослідження. При мікроскопічному вивченні препаратів серця щурів 3-А досліджуваної групи через 1 годину після кріовпливу протягом 15 с відзначали розвиток некротичних змін в структурних компонентах міокарда, відмежованих субепікардіальним відділом (рис. 3.9).

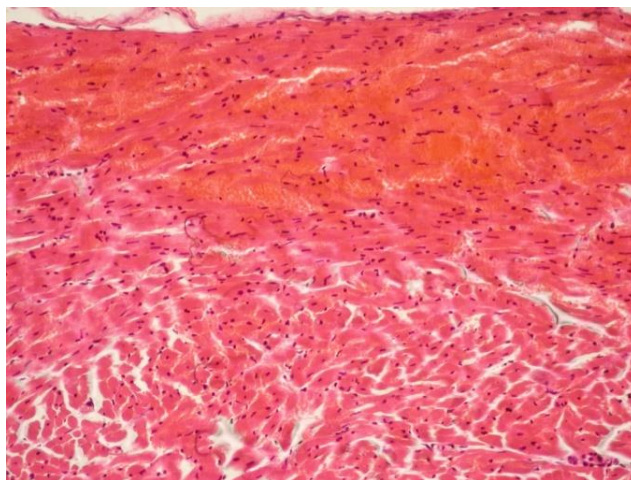


Рис. 3.9. Міокард щура після кріовпливу на серце протягом 15 с, через 1 годину. Зона некрозу з прилеглими відділами міокарда. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$.

Кардіоміоцити в зоні кріонекрозу стоншені, дефрагментовані, зі слабо еозинофільною гомогенною цитоплазмою і пікнотичними слабо базофільними ядрами. Просвіти судин розширені і містили гемолізовану кров у вигляді еозинофільних зернистих мас. Між фрагментами м'язових волокон і навколо судин при забарвленні пікрофуксином за Ван Гізоном виявлялися обривки тонких слабо фуксинофільних колагенових волокон.

Через добу після кріовпливу на серце візуалізувалася зона некрозу міокарда, представлена еозинофільними фрагментами без'ядерних кардіоміоцитів. У просвіті судин визначалися еозинофільні зернисті маси, еритроцити у вигляді «тіней», численні лейкоцити з виходом в периваскулярний простір. У напрямку до периферії зони некрозу кількість лейкоцитів наростала, формувалася зона перифокального запалення, з'являлися макрофаги, фібробласти. У віддалених зонах міокарда спостерігався помірно виражений набряк строми.

На 7-му добу деструктивні процеси поступалися місцем репаративним. До цього терміну спостереження, на відміну від попередньої групи, в зоні кріонекрозу була сформована грануляційна тканина. У прилеглої до неї тканині відзначали гіпертрофію кардіоміоцитів з великими базофільними ядрами і слабо або помірно еозинофільною цитоплазмою, в якій чітко візуалізувався малюнок міофібрил.

На 14-ту добу тривав репаративний процес. У поверхневих відділах регенераторний пласт був менш зрілий, в ньому фіксували більше недиференційованих тонкостінних судин, що встелені соковитими ендотеліоцитами, зустрічалися численні нейтрофільні лейкоцити. Сполучнотканинні волокна, які виявляються при забарвленні за Ван Гізоном, були тонкі, ніжні і розташовані без певної орієнтації. У напрямку до периферії зони регенерату кількість судин зменшувалася, частина з них спорожня (просвіт заповнюється тонкими колагеновими волокнами, між ними визначалися численні фібробласти), в інших з'являлися ознаки диференціювання на артеріальні і венозні.

На 30-ту добу експерименту зона регенерату була представлена неправильної форми пластом сполучної тканини різного ступеня зрілості, що складається переважно з паралельно фуксинофільних пучків колагенових волокон, орієнтованих паралельно поверхні стінки серця. Між волокнами зустрічалися фібробласти, фіброцити, поодинокі судини з диференціюванням на артеріальні і венозні. У прилеглому міокарді відзначали гіпертрофію кардіоміоцитів, нерівномірно виражену еозинофілію цитоплазми, чіткий малюнок міофібрил та укрупнення ядер (каріомегалію). Кардіоміоцити

віддалених відділів міокарда звичайних розмірів з еозинофільною цитоплазмою і базофільним паличкоподібним ядром. Поперечна смугастість була слабо виражена.

Дані мікроскопічного дослідження препаратів серця щурів 2-Б групи показали, що через годину після кріовпливу протягом 30 с у всіх структурних компонентах стінки серця розвивалися деструктивні зміни. У препаратах серця відзначали появу ділянки ушкодження субепікардіального і інтрамурального відділів міокарда, що займає близько $1/2 - 2/3$ товщини передньої стінки лівого шлуночка. Стінки інтрамуральних судин всіх калібрів з тотальним, рідше фокальним фібриноїдним некрозом, у частині судин повністю зруйновані. Перифокально по відношенню до зони некрозу простори між групами кардіоміоцитів розширені і виглядали оптично порожніми.

Через добу після кріовпливу протягом 30 с інтенсивність деструктивних змін наростала. Зона пошкодження представлена тканинним детритом з гомогенізованих слабо еозинофільних обривків без'ядерних м'язових волокон. До 7-ї доби поряд з деструктивними змінами в серці виявляли ознаки репаративного процесу у вигляді макрофагальної резорбції некротичних мас, що починається, і формування широкого валу з проліферуючих фібробластів навколо зони некрозу (рис. 3.10).

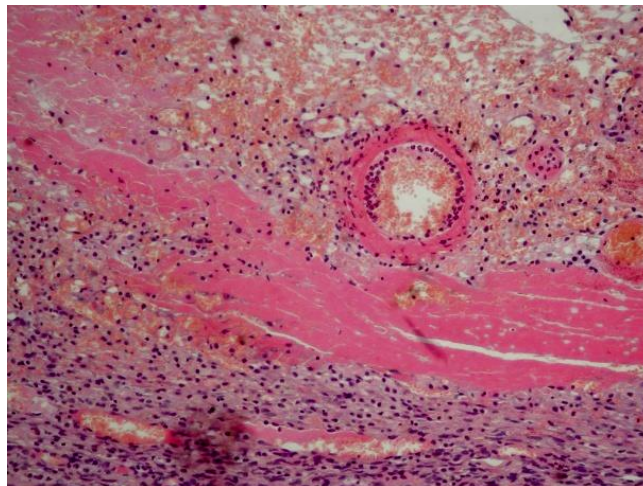


Рис. 3.10. Міокард щура після кріовпливу на серце протягом 30 с, 7-ма доба. Зона некрозу перифокального клітинного вала. Загиблі м'язові волокна, фібриноїдний некроз стінки артерії з крайовим стоянням лейкоцитів у просвіті. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

До 14-ї доби переважали процеси репарації – в більшості спостережень процес очищення зони пошкодження від некротичних мас закінчений і

сформована грануляційна тканина; прилеглі кардіоміоцити піддавалися гіпертрофії. До 30-ї доби регенерат характеризувався нерівномірним фіброзуванням, в прилеглому міокарді розвивалася компенсаторна гіпертрофія кардіоміоцитів з надмірним розвитком міжм'язової і периваскулярної строми.

Таким чином, дані мікроскопічного дослідження в динаміці препаратів серця щурів після кріовпливу протягом 15 і 30 с показали, що масштабність і ступінь пошкодження міокарда тварин знаходяться в залежності від тривалості кріовпливу, проте тривалість репаративних процесів відбувається в одні і ті ж терміни, минаючи фазу ішемічного ушкодження.

Дані мікроскопічного дослідження препаратів серця щурів 4-ї досліджуваної групи показали, що через годину після введення адреналіну, в міокарді всіх відділів серця відзначався виражений спазм артеріальних судин. Просвіт артерій був звужений, мав зірчастий обрис. Ендотеліоцити осередковано десквамовані і представлені у вигляді частоколу. Венозні судини повнокровні. Капіляри паретично розширені, повнокровні. У різних відділах міокарда зустрічалися ділянки хвилястої будови кардіоміоцитів (рис. 3.11).

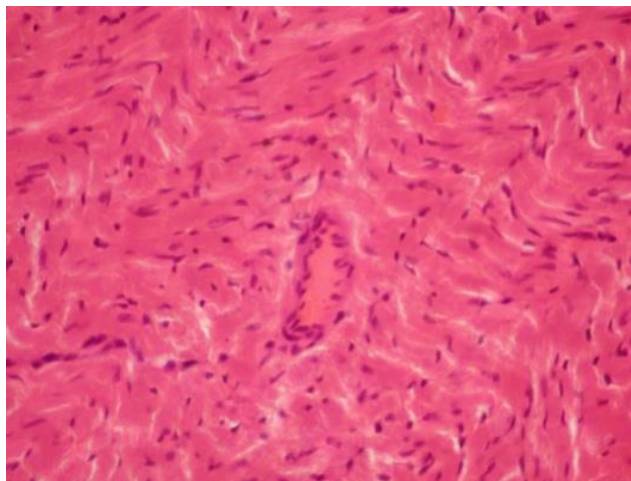


Рис. 3.11. Міокард щура після токсичної дії на серце адреналіну. 1 година. Розташування ендотеліоцитів у вигляді частоколу, вогнищева їх десквамація в інтрамуральні артерії дрібного калібру. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

Через добу спазм змінювався парезом артеріальних судин. На зрізах спостерігали не тільки виражені вогнищеві деструктивні зміни в

кардіоміоцитах і судинах (пікноз ядер кардіоміоцитів і ендотеліоцитів, вогнищева десквамація ендотелію судин), але і реєстрували міграцію лейкоцитів за межі судинної стінки.

До 7-ї доби експерименту на зрізах виявляли ознаки репаративного процесу у вигляді макрофагальної розробки, якій піддавалися некротизовані кардіоміоцити. Групи без'ядерних кардіоміоцитів були оточенні макрофагами, фібробластами, нечисленними поліморфноядерними лейкоцитами. У періартеріальних просторах спостерігали осередкову проліферацію фібробластів з формуванням вогнищ пухкої грануляційної тканини.

На 14-ту добу у всіх відділах серця в міжм'язовій стромі і периваскулярних просторах спостерігали осередково-дифузну проліферацію фібробластів. Між численними дрібними острівцями грануляційної тканини з новоутвореними судинами відзначали нерівномірно виражену гіпертрофію неушкоджених кардіоміоцитів. У субендокардіальних відділах міокарда зустрічалися групи м'язових волокон з ознаками колікваційного некрозу, які характеризуються відсутністю в кардіоміоцитах ядра, слабкою сприйнятливістю цитоплазми кислих і основних барвників (рис. 3.12).

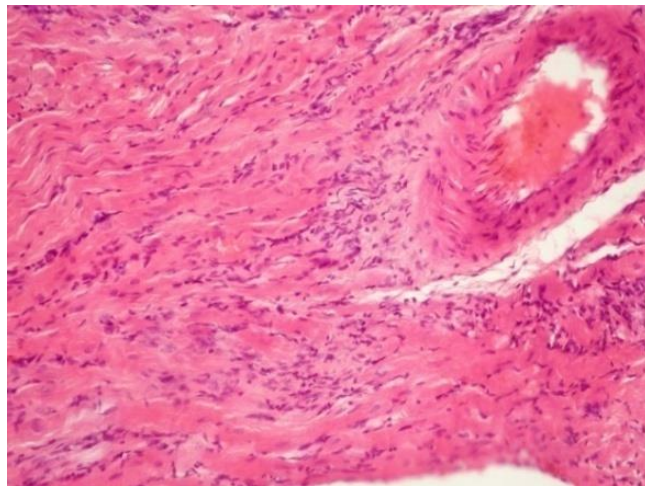


Рис. 3.12. Міокард щура після токсичної дії на серце адреналіну, 14-та доба. Проліферація фібробластів. Острівці грануляційної тканини в періартеріальних і міжм'язових просторах. Нерівномірно виражена гіпертрофія кардіоміоцитів. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

На 30-ту добу після введення адреналіну за даними мікроскопічного дослідження серця щурів виявили більш виражений дифузний міжм'язовий і периваскулярний кардіосклероз з нерівномірно вираженою гіпертрофією

кардіоміоцитів. Периваскулярні простори розширені за рахунок надлишкового розвитку в них фуксинофільних сполучнотканинних волокон.

Із сказаного вище випливає, що підшкірне введення адреналіну призводило до осередково-дифузного ураження всіх відділів серця і в фіналі закінчувалося формування острівців грануляційної тканини в періартеріальних і міжм'язових просторах.

Таким чином, кріодеструкція серця, перев'язка коронарної артерії і введення токсичних доз адреналіну достовірно призводили до появи експериментального некрозу міокарда, і відновлення серця мало перебіг за класичним шляхом: від асептичного запалення до формування сполучнотканинного рубця з певними особливостями в кожній групі.

Після перев'язки лівої коронарної артерії в зоні басейну перев'язаної судини визначали деструкцію міокарда, при цьому вираженість дисциркуляторних порушень виходила на перше місце.

Кріодія на серце приводила до появи некротичної зони в міокарді без ішемічної фази запалення, при цьому глибина ураження серцевого м'яза безпосередньо залежала від тривалості кріовпливу.

Токсичні дози адреналіну сприяли виникненню асептичного запалення, яке було зосереджено навколо артеріальних судин, що в подальшому призводило до осередкової періартеріальної проліферації фіброblastів і формування грануляційної тканини.

3.1.4. Імунобіологічні механізми цитодеструктивних процесів у зоні некрозу міокарда за різних експериментальних моделей

Експериментальні та клінічні дослідження інфаркту міокарда націлені на більш детальне вивчення патогенетичних механізмів даної патології з метою підбору науково-обґрунтованих терапевтичних і профілактичних заходів.

Як відомо, в гострій фазі інфаркту міокарда при загибелі кардіоміоцитів поряд з некрозом, важливу роль відіграє апоптоз, який призводить до утворення апоптотичних тіл без активації запальної реакції [241]. Ключовим моментом в

блокуванні клітинного циклу і в індукції апоптозу є експресія p53, який служить фактором транскрипції для p21 – інгібітора G1-фази клітинного циклу і для деяких проапоптотичних білків [241]. Показник цитохімічного визначення білка p53 в ядрі клітин міокарда – один із критеріїв для оцінки стану апоптозу.

До теперішнього часу залишаються багато в чому не ясні клітинні та молекулярні механізми апоптотичних змін, що відбуваються як в зоні інфаркту та прикордонній зоні, так і в міокарді, віддаленому від ділянки некрозу. Вогнищева локалізація апоптотично-змінених кардіоміоцитів в перинфарктній зоні здатна привести до розширення пошкодженого міокарда. Тому дослідження, спрямовані на вивчення перинфарктної зони і прогнозування ступеня апоптотично-пошкоджених ділянок міокарда, є актуальними.

При аналізі гістологічного матеріалу міокарда виявлено, що в інтактних тварин сарколема кардіоміоцитів з чіткими кордонами, ядра добре видно, подовжено-овальної форми, цитоплазма деяких кардіоміоцитів насичено забарвлена. Експресія p53 у кардіоміоцитах не виявляється.

В експериментальних групах у зонах пошкодження міокарда лівого шлуночка і в прилеглій зоні при рутинних гістологічних забарвленнях зустрічалися кардіоміоцити, що містять збільшені, набряклі ядра, що складаються зі скупчень різнокаліберних округлих, різного ступеня конденсації «тілець», оточених мембраною – кардіоміоцити в стані апоптозу.

Імуногістохімічно в групі ішемічного некрозу через 1 годину після перев'язки низхідної гілки лівої коронарної артерії в стінці лівого шлуночка визначали локус міокарда зі слабо або помірно вираженою внутрішньоядерною експресією p53 в частині кардіоміоцитів у вигляді коричневого забарвлення їх ядер; відсотковий вміст p53-позитивних ядер становив $13,08 \pm 0,42\%$ (табл. 3.4).

**Відсотковий вміст p53-позитивних ядер кардіоміоцитів у міокарді,
що прилежить до зони некрозу (%) (M±m)**

Строк спостереження	Групи			
	Перев'язка <i>a.coronalis</i>	Кріодеструкція серця 15 с	Кріодеструкція серця 30 с	Введення адреналіну
1 година	13,08±0,42	4,04±0,24	9,08±0,36 [^]	1,52±0,15 [°]
1-ша доба	2,44±0,19	6,4±0,30 ^{*#}	11,68±0,40 ^{#^}	1,84±0,17 ^{#^°}
7-ма доба	5,04±0,27 [*]	6,8±0,31	14,24±0,43 ^{*#^}	4,24±0,25 ^{*^°}
14-та доба	11,48±0,39 [*]	9,68±0,37 ^{*#}	17,36±0,47 ^{*#^}	6,2±0,30 ^{*#^°}
30-та доба	21,96±0,51 [*]	17,56±0,47 ^{*#}	29,44±0,56 ^{*#^}	22,12±0,51 ^{*^°}

Примітки: * – $p < 0,05$ (в порівнянні з попереднім строком); # – $p < 0,05$ (в порівнянні з ішемічним некрозом); ^ – $p < 0,05$ (в порівнянні з групою 15 с)

° – $p < 0,05$ (в порівнянні з групою 30 с)

На 1-шу добу після перев'язки коронарної артерії в серцевому м'язі розвивалися дистрофічні зміни м'язових волокон і їх некроз. Зона пошкодження поширювалася на всю товщину міокарда лівого шлуночка за ходом кровопостачання перев'язаної судини, що свідчило про розвиток передньо-бічного трансмурального некрозу міокарда. У зоні інфаркту експресія p53 не виявлялася, по периферії зони некрозу визначали групи кардіоміоцитів зі слабо або помірно вираженою експресією p53 (рис. 3.13).

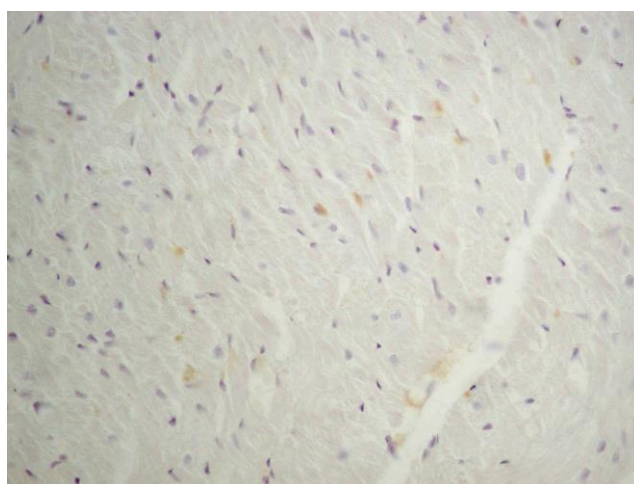


Рис. 3.13. Експресія p53 в кардіоміоцитах зони гострої ішемії міокарда. Група ішемічного некрозу, 1-ша доба. система візуалізації DAKO EnVision, ×400

На 7-му добу некротизована тканина піддавалася активній розробці макрофагами. У перинфарктній зоні в порівнянні з попереднім терміном достовірно наростав відсотковий вміст p53-позитивних ядер, що становило $5,04 \pm 0,27\%$. Експресія ядрами p53 слабо або помірно виражена і зустрічалася в окремих групах кардіоміоцитів. У зоні ішемічного пошкодження в окремих клітинах, де формувалася грануляційна тканина, визначали позитивну імуногістохімічну реакцію на p53.

На 14-ту добу експерименту збільшувалася кількість кардіоміоцитів з внутрішньоядерною експресією p53 в перинфарктній зоні, відсотковий вміст їх становив $11,48 \pm 0,39\%$, що достовірно вище його значення в попередньому терміні. У сформованій грануляційній тканині виявляли клітини з вираженою експресією p53 в ядрах (рис. 3.14).

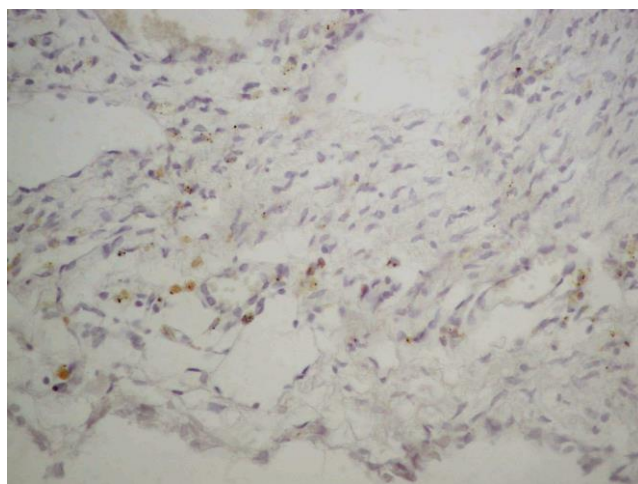


Рис. 3.14. Експресія p53 у клітинах грануляційної тканини. Група ішемічного некрозу, 14-та доба. Система візуалізації DAKO EnVision, $\times 400$

До 30-ї доби кількість кардіоміоцитів з внутрішньоядерною експресією p53 продовжувала збільшуватися (табл. 3.4). У зоні сформованої сполучної тканини зустрічалися апоптозно-змінені фібробласти.

Після впливу на серце низькими температурами відразу формувалася зона реактивного запалення. На 1-шу добу після кріовпливу на серце протягом 15 с відзначали зону некрозу, яка на поверхні епікарда повторювала розміри кріоаплікатора, і за глибиною поширювалася до 1/2 товщини стінки лівого

шлуночка, що підтверджувало формування у щурів субепікардіального НМ. Через 1 годину від початку експерименту в зоні некрозу експресію p53 не знайдено, в прилеглих відділах міокарда відсотковий вміст p53-позитивних ядер становив $4,04 \pm 0,24\%$, до 1-ї доби його значення достовірно підвищувалися до $6,4 \pm 0,30\%$ (табл. 3.4). Експресія p53 виявлялася в ядрах окремих кардіоміоцитів і носила слабо або помірно виражений характер (рис. 3.15).

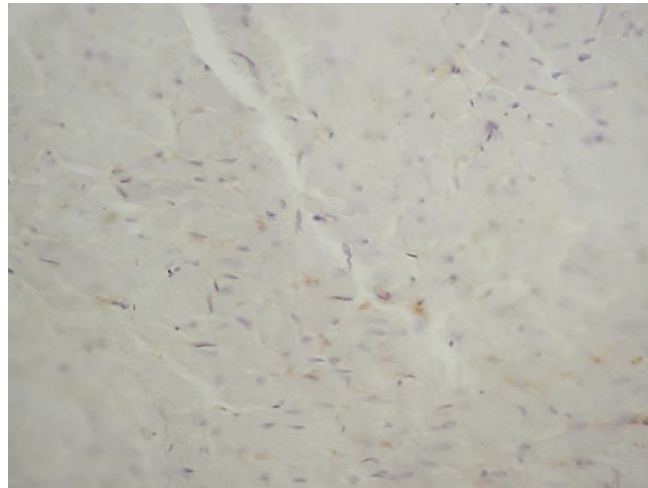


Рис. 3.15. Експресія p53 у кардіоміоцитах міокарда, прилеглого до зони некрозу. Група кріонекрозу протягом 15 с. 1-ша доба. Система візуалізації DAKO EnVision, $\times 400$

Через 7 діб у тварин цієї групи спостерігали чітко виражену зону демаркаційного запалення з дилатацією судин і скупченням нейтрофілів, що обмежує вогнища деструкції пучків кардіоміоцитів. Як і в попередньому терміні, в зоні міокарда, прилеглої до вогнища некрозу, визначалися окремі кардіоміоцити з внутрішньоядерною експресією p53. Відсотковий вміст їх достовірно не змінювався, складаючи $6,8 \pm 0,31\%$.

На 14-ту добу в зоні кріовпливу запальна реакція змінювалася процесами фібротизації з формуванням пухкої сполучної тканини. На місці загиблих кардіоміоцитів починав формуватися сполучнотканинний каркас з великою кількістю фіброblastів у стадії колагеноутворення. Зберігалось повнокрів'я мікросудин. Вміст p53-позитивних ядер збільшився в 1,5 раза в порівнянні з

попереднім терміном (табл. 3.4). Відзначали виражену і поширену експресію p53 у клітинних елементах сформованої грануляційної тканини, що заміщає вогнище некрозу.

До 30-ї доби в міокарді, який прилягав до зони формування рубця, продовжував наростати відсотковий вміст p53-позитивних ядер ($17,56 \pm 0,47\%$), достовірно перевищуючи своє значення у попередньому терміні.

Після кріоушкоджень серця протягом 30 с формувалася трансмуральний некроз міокарда з ділянками повної деструкції м'язових волокон, дилатацією судин і стазом у них, клітинною інфільтрацією всього поперечника бічної стінки лівого шлуночка. Через 1 годину від початку експерименту в зоні некрозу імуногістохімічно не виявляли експресії p53, в прилеглому міокарді відсотковий вміст p53-позитивних ядер кардіоміоцитів становив $9,08 \pm 0,36\%$.

До 1-ї доби кількість ядер кардіоміоцитів, що експресують p53, досягала $11,68 \pm 0,40\%$. У зоні некрозу імуногістохімічна реакція була негативною (рис. 3.16).

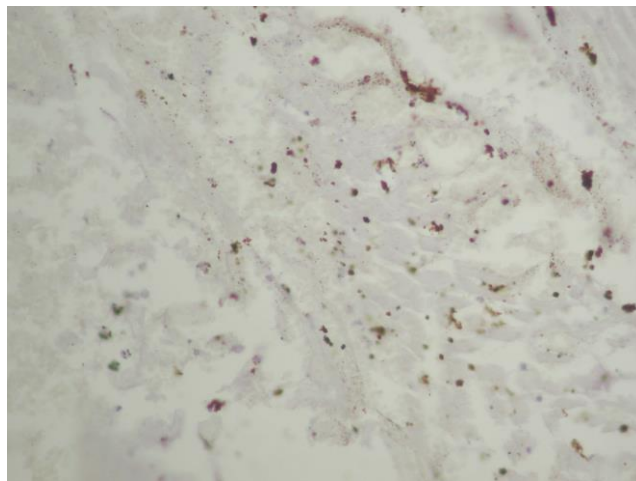


Рис. 3.16. Експресія p53 у кардіоміоцитах міокарда, прилеглого до зони некрозу. Група кріонекрозу протягом 30 с. 1-ша доба. Система візуалізації DAKO EnVision, $\times 400$

На 7-му добу в зоні грануляційної тканини в окремих клітинах спостерігалася експресія ядрами p53, в прилеглому міокарді відсотковий вміст p53-позитивних ядер достовірно перевищував цей показник в порівнянні з

попереднім терміном спостереження (табл. 3.4). До 14-ї доби вміст p53-позитивних ядер кардіоміоцитів в прилеглому до зони регенерату міокарді продовжував достовірно наростати і становив $17,36 \pm 0,47\%$, у новоствореній сполучній тканині експресія p53 візуалізувалася в ядрах деяких фібробластів. До 30-ї доби в зоні, прилеглій до пласту регенерату, вміст p53-позитивних ядер достовірно перевищував цей показник в порівнянні з попереднім терміном спостереження (табл. 3.4).

При моделюванні НМ шляхом підшкірного введення адреналіну в міокарді всіх відділів серця зустрічалися нечисленні кардіоміоцити зі слабо вираженою внутрішньоядерною експресією p53.

На 1-шу добу спостереження відзначали ураження всієї стінки лівого шлуночка. Відсотковий вміст p53-позитивних ядер до 1-ї доби достовірно не змінювався в порівнянні з попереднім терміном (табл. 3.4) (рис. 3.17).

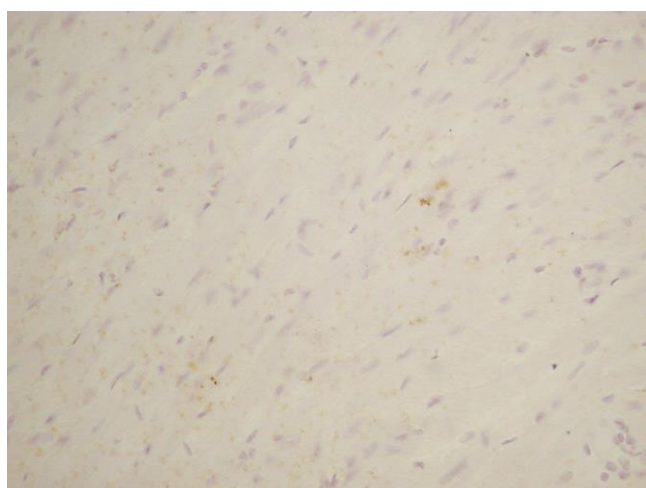


Рис. 3.17. Експресія p53 у кардіоміоцитах міокарда при дифузному токсичному впливі, 1-ша доба. Система візуалізації DAKO EnVision, $\times 400$

На 7-му добу картина ураження міокарда набувала більш поширеного (зливного) характеру. У зоні осередків ураження спостерігали яскраво виражену запальну реакцію, яка проявлялася лейкоцитарно-макрофагальною інфільтрацією, геморагіями і стазом у судинах. На зрізах лівого шлуночка виявлено зміни характерні для некробіозу: набухання і глибокості

цитоплазми, відсутність сарколеми, лізис ядер, а в деяких випадках – повна їх відсутність.

На 14-ту добу після введення адреналіну у щурів відзначали явища триваючої запальної реакції в міокарді лівого шлуночка. Лейкоцитарна інфільтрація спостерігалася по всій товщині лівого шлуночка. В ділянці кровоносних судин у напрямку до периферії намічалися структурні лінії пухкої сполучної тканини у вигляді тяжів з наявністю фібробластів. У всіх відділах міокарда наростала незначна кількість апоптотично змінених клітин, процентний вміст p53-позитивних ядер достовірно збільшувався в порівнянні з попереднім терміном і досягав $4,24 \pm 0,25\%$. Та ж тенденція зберігалася і до 30-ї доби експерименту, відсотковий вміст p53-позитивних ядер – $22,12 \pm 0,51\%$, що достовірно вище значення попереднього терміну. Починаючи з 7-денного терміну в осередках сполучної тканини, що формується, відзначалася експресія p53 в окремих її клітинних елементах.

Таким чином, у всіх експериментальних моделях некрозу міокарда виявлено активацію цитодеструктивних процесів, що проявлялося появою апоптотично змінених кардіоміоцитів і зростанням експресії білка p53 у періінфарктних ділянках. Це свідчить про важливу роль апоптозу в ремоделюванні міокарда після ушкодження.

При ішемічному некрозі (перев'язка лівої коронарної артерії) експресія p53 у кардіоміоцитах зростала від $13,08 \pm 0,42\%$ у ранній фазі до $21,96 \pm 0,51\%$ у віддалений період, що вказує на тривалу активацію апоптотичних механізмів у зоні регенерації.

Кріодеструкція тривалістю 15 с спричиняла формування субепікардіального некрозу з помірним підвищенням експресії p53 – від $4,04 \pm 0,24\%$ до $17,56 \pm 0,47\%$, що відповідає локалізованому і контрольованому ураженню міокарда з поступовим розвитком апоптозу.

При кріодеструкції тривалістю 30 с (трансмуральний некроз) виявлено найвищі значення експресії p53 серед усіх моделей – від $9,08 \pm 0,36\%$ до $29,44 \pm$

0,56%, що вказує на максимальну інтенсивність цитодеструктивних процесів і активну участь апоптозу у формуванні рубцевої тканини.

Адреналінова модель токсичного ураження характеризувалася найменшою початковою активністю апоптозу, проте в подальшому рівень p53 зростав до $22,12 \pm 0,51\%$, що свідчить про переважання відстрочених апоптотичних змін у фазі репарації.

Високі значення експресії p53 у віддалений період експерименту свідчать про тривалу перебудову клітинного складу у періінфарктній зоні, де апоптоз відіграє ключову роль у заміщенні некротизованої тканини сполучною.

3.2. Динаміка цитокінів і активація NLRP3 при різних моделях некрозу міокарда

Ураження міокарда різного походження – локальний некроз викликаний кріодеструкцією, ішемічним ушкодженням шляхом перев'язки коронарної артерії та кардіотоксичний вплив адреналіну – запускає складні імунзапальні механізми. Центральну роль у цих процесах відіграють прозапальні цитокіни IL-1 β , IL-6 і TNF- α , а також активація NLRP3-інфламасоми, що слугує «сенсором» клітинного ушкодження. За умови активації NLRP3 формується мультибілковий комплекс, який призводить до активації каспази-1 і зрештою до вивільнення біологічно активних форм IL-1 β та IL-18, чим суттєво посилюється запальна відповідь.

Оцінка динаміки цих маркерів у трьох різних моделях ушкодження міокарда дозволяє з'ясувати, як механізм ураження впливає на характер і тривалість запалення та активацію NLRP3-інфламасоми.

В усіх трьох моделях ушкодження міокарда спостерігається активація прозапальних цитокінів і NLRP3-інфламасоми, проте інтенсивність і тривалість відповіді суттєво відрізняються в залежності від патогенетичного механізму.

На моделі кріонекрозу серця імуногістохімічне дослідження показало, що виражена експресія NLRP3 (кількісно – в 3,5 раза від контрольного рівня) спостерігалася на 1–7-му добу, із поступовим зниженням на 14–30-ту добу. Це

узгоджується з динамікою цитокінів: піки IL-1 β і TNF- α – 1–7-му доба, потім спад (табл. 3.5 – 3.7).

Активність NLRP3 у моделі перев'язки коронарної артерії була найвищою серед трьох: у 4 рази вище контролю на 1–7-му добу, з повільним зниженням до 2,0 разів відповідно до контролю на 30-ту добу. Така тривала активація інфламасоми відображає інтенсивне і пролонговане ішемічне запалення.

У моделі адреналінової інтоксикації активація NLRP3 була помірною: 2,5 раза контрольного рівня на 1–7-му добу, з поверненням до 1,2 раза контролю на 30-ту добу. Це відповідає менш вираженій, але тривалій запальній відповіді, характерній для токсичного ушкодження.

Таблиця 3.5

Динаміка рівня цитокінового профілю (IL-1 β , IL-6, TNF- α у сироватці крові щурів (пг/мл) при різних моделях некрозу міокарда

Група	Термін спостереження			
	1 доба	7 доба	14 доба	30 доба
IL-1β				
Норма	125 $\pm$ 13			
Перев'язка <i>a.coronalis</i>	310 $\pm$ 22	280 $\pm$ 30	210 $\pm$ 28	165 $\pm$ 17
Кріонекроз серця	282 $\pm$ 19*	236 $\pm$ 25*	178 $\pm$ 23*	152 $\pm$ 14
Токсичне ураження міокарда	150 $\pm$ 15	165 $\pm$ 17	145 $\pm$ 14	130 $\pm$ 12
IL-6				
Норма	42 $\pm$ 6			
Перев'язка <i>a.coronalis</i>	95 $\pm$ 8*	120 $\pm$ 10*	70 $\pm$ 6*	50 $\pm$ 5
Кріонекроз серця	82 $\pm$ 4*	55 $\pm$ 5*	48 $\pm$ 4	45 $\pm$ 7
Токсичне ураження міокарда	60 $\pm$ 5	80 $\pm$ 7	55 $\pm$ 6	50 $\pm$ 5
TNF-α				
Норма	126 $\pm$ 12			
Перев'язка <i>a.coronalis</i>	320 $\pm$ 30	300 $\pm$ 33	220 $\pm$ 25	145 $\pm$ 20
Кріонекроз серця	302 $\pm$ 27*	255 $\pm$ 35*	188 $\pm$ 24*	132 $\pm$ 23
Токсичне ураження міокарда	210 $\pm$ 18	240 $\pm$ 22	170 $\pm$ 14	140 $\pm$ 15

Примітка.* – статистично значуще ($p < 0,05$) в порівнянні з нормою.

Рівень TGF- β (Transforming Growth Factor Beta) є важливим індикатором процесів репарації, фіброгенезу та клітинної диференціації після ушкодження міокарда. Його динаміка чітко відображає характер запальної реакції та формування фіброзної тканини в різних моделях некрозу.

В моделі перев'язки коронарної артерії спостерігається найвищий і найдовший підйом TGF- β . Уже на 1-шу добу рівень цитокіну зріс до $75 \pm 3,8$ нг/мл, що вказує на ранній запуск механізмів регенерації в зоні ішемічного ушкодження. Максимум концентрації ($118\text{--}124$ нг/мл) відзначено на 7–14-ту добу, коли активується проліферація фібробластів і синтез колагену I типу. Навіть на 30-ту добу TGF- β залишався підвищеним ($98 \pm 3,1$ нг/мл), що свідчить про тривалий фіброзоутворювальний процес і ремоделювання стінки лівого шлуночка (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

**Динаміка рівня TGF- β у сироватці крові щурів (нг/мл)
при різних моделях некрозу міокарда**

Група	Термін спостереження			
	1 доба	7 доба	14 доба	30 доба
Норма	$53 \pm 2,3$			
Перев'язка <i>a.coronalis</i>	$75 \pm 3,8^*$	$118 \pm 4,2^*$	$124 \pm 3,9^*$	$98 \pm 3,1^*$
Кріонекроз серця	$82 \pm 4,17^*$	$105 \pm 3,5^*$	$78 \pm 2,4^*$	$64,2 \pm 2,3^*$
Токсичне ураження міокарда	$68 \pm 3,2^*$	$84 \pm 3,7^*$	$72 \pm 2,8^*$	$60 \pm 2,5$

Примітка.* – статистично значуще ($p < 0,05$) в порівнянні з нормою.

Таблиця 3.7

**Динаміка рівня NLRP3 у сироватці крові щурів (нг/мл)
при різних моделях некрозу міокарда**

Група	Термін спостереження			
	1 доба	7 доба	14 доба	30 доба
Норма	$2,54 \pm 0,05$			
Перев'язка <i>a.coronalis</i>	$10,78 \pm 0,08^*$	$11,4 \pm 0,09^*$	$8,2 \pm 0,07^*$	$5,2 \pm 0,06^*$
Кріонекроз серця	$8,89 \pm 0,11^*$	$6,75 \pm 0,12^*$	$4,64 \pm 0,07^*$	$3,25 \pm 0,08^*$
Токсичне ураження міокарда	$6,72 \pm 0,06^*$	$5,62 \pm 0,07^*$	$4,35 \pm 0,08^*$	$3,12 \pm 0,04$

Примітка.* – статистично значуще ($p < 0,05$) в порівнянні з нормою

У тварин з локальним холодовим ушкодженням спостерігається гостре, але короткочасне підвищення TGF- β . Уже на 1-шу добу концентрація зростала до $82 \pm 4,17$ нг/мл, досягаючи піку на 7-му добу ($105 \pm 3,5$ нг/мл), після чого швидко знижувалась ($78 \pm 2,4$ нг/мл на 14-ту добу та $64,2 \pm 2,3$ нг/мл на 30-ту). Така динаміка свідчить про локальну репаративну реакцію, що завершується раніше, ніж у ішемічній моделі. Обмежений обсяг ураження сприяє швидшому завершенню фази фіброзу (табл. 3.6).

При адреналіновій міокардіодистрофії рівень TGF- β підвищується помірно – $68 \pm 3,2$ нг/мл на 1-шу добу, досягає максимуму на 7-му добу ($84 \pm 3,7$ нг/мл) та поступово знижується до $60 \pm 2,5$ нг/мл на 30-ту. Такі зміни вказують на компенсаторний характер фіброзних процесів і участь TGF- β у структурному пристосуванні міокарда до катехоламінового стресу. У цій моделі фіброз є менш вираженим, ніж при ішемічному ушкодженні, але більш тривалим, ніж при кріонекрозі (табл. 3.6).

Загалом, у всіх моделях відзначається закономірна тенденція: зростання рівня TGF- β корелює з фазою загоєння і формування рубцевої тканини, тоді як подальше зниження його концентрації супроводжується стабілізацією ремоделювання. Найвища амплітуда і тривалість змін характерна для ішемічної моделі, що підтверджує її патогенетичну складність і затяжний перебіг запалення.

Таким чином, усі три моделі ушкодження міокарда демонструють активацію прозапальних цитокінів та NLRP3-інфламасоми, однак моделі значно різняться за показниками кількісних змін і часовою динамікою.

Найінтенсивніша і найтриваліша активація спостерігається у моделі перев'язки лівої коронарної артерії, що свідчить про силу ішемічно-реперфузійного ушкодження та пов'язане з ним запалення. Кріонекроз змушує до швидкої і гострої відповіді, але вона відносно швидко згасає. При адреналіновій міокардіодистрофії запальна відповідь має більш адаптивний характер: помірна активація інфламасоми, підвищення IL-6 з меншою вираженістю IL-1 β і TNF- α . Активність NLRP3-інфламасоми може

розглядатись як ключовий маркер та потенційна терапевтична мішень для регулювання запальної відповіді при різних формах ушкодження міокарда.

Також усі моделі ушкодження міокарда супроводжуються підвищенням TGF- β , однак ступінь та тривалість активації різняться залежно від природи ураження. Ішемічне ушкодження (перев'язка лівої коронарної артерії) характеризується найвищими та найдовшими рівнями TGF- β , що свідчить про виражене фіброзоутворення. Кріонекроз викликає короточасну, локальну активацію фіброгенезу. Токсичне ураження призводить до помірного, пролонгованого підвищення TGF- β , що має адаптивно-репаративний характер.

3.3. Порівняння імунних реакцій у різних моделях (перев'язка ЛКА, кріодеструкція, адреналінова міокардіодистрофія)

Пошкодження міокарда, незалежно від етіології, супроводжується активацією вроджених і набутих імунних механізмів. Проте характер, інтенсивність і тривалість імунної відповіді залежать від природи ураження: ішемічно-реперфузійної, механічно-некротичної (кріодеструктивної) чи токсичної (адреналінової).

Порівняльний аналіз рівнів цитокінів (IL-1 β , IL-6, TNF- α , TGF- β) та активації NLRP3-інфламасоми дозволяє з'ясувати особливості перебігу запалення, ступінь ушкодження кардіоміоцитів і тенденції до ремоделювання серцевої тканини в кожній з моделей.

У всіх трьох моделях виявлено типовий каскад цитокінових реакцій, що включає:

ранню фазу – активація IL-1 β і TNF- α (запуск запалення, хемотаксис нейтрофілів, активація макрофагів);

проміжну фазу – підвищення IL-6 (синтез білків гострої фази, підтримання системної відповіді);

пізню фазу – домінування TGF- β (репарація, фіброз, ремоделювання).

Проте амплітуда та тривалість змін різко відрізнялися залежно від моделі ураження.

Модель ішемічного ураження міокарда характеризувалася найпотужнішою активацією цитокінового каскаду та тривалою експресією NLRP3-інфламасоми. IL-1 β підвищувався до $\sim 310 \pm 22$ пг/мл на 1-шу добу, IL-6 – до 120 ± 10 пг/мл (пікове значення на 7-му добу), TNF- α – до 320 ± 30 пг/мл. Високий рівень TGF- β ($118\text{--}124$ нг/мл) на 7–14-ту добу свідчить про активацію фіброзоутворення. Експресія NLRP3 у кардіоміоцитах і макрофагах у зоні ішемії зростала до 4 разів порівняно з контролем і зберігалася до 30-ї доби.

Отже, ішемічна модель відображає повноцінний спектр запально-деструктивних і фіброгенних процесів, притаманних інфаркту міокарда з тривалим постнекротичним ремоделюванням.

Локальне холодове ушкодження серця спричиняє гостру, але відносно короткочасну імунну відповідь. IL-1 β , TNF- α та IL-6 досягали максимуму протягом 1–7 діб (282 ± 19 ; 302 ± 27 ; 82 ± 4 пг/мл відповідно), після чого поступово знижувались до контрольних рівнів на 30-ту добу. TGF- β піковий на 7-му добу ($105 \pm 3,5$ нг/мл), що відповідає фазі активної репарації. Активація NLRP3 – різка, але короткочасна (в 3–4 рази від контролю на 1–7-му добу, зниження до 1,5 раза на 30-ту). Таким чином, при кріонекрозі відзначається локальна, обмежена запальна реакція, без системних проявів, із швидким переходом до фази загоєння та стабілізації тканини.

У випадку катехоламін-індукованого ушкодження спостерігається помірна, але тривала імунна активація, що поєднує ознаки запалення та оксидативного стресу. IL-1 β підвищувався до 165 ± 17 пг/мл, IL-6 – до 80 ± 7 пг/мл, TNF- α – до 240 ± 22 пг/мл (пік на 7-му добу). TGF- β зростав до $84 \pm 3,7$ нг/мл (7-ма доба), що свідчить про раннє залучення компенсаторних фіброгенних механізмів. NLRP3-активація помірна (2,5 раза від контролю), без масивного утворення інфламасомних комплексів. Це свідчить про адаптивно-репаративний характер імунної відповіді при токсичній міокардіодистрофії, що супроводжується менш вираженим некрозом і переважанням процесів гіпертрофії над фіброзом.

Порівняння трьох моделей показало, що ступінь активації імунної відповіді прямо корелює з масштабом і типом ушкодження міокарда. Ішемічне

ушкодження (перев'язка ЛВА) супроводжується максимальною активацією запалення – зростанням IL-1 β , IL-6 і TNF- α , високою експресією NLRP3 і тривалим підвищенням TGF- β , що зумовлює розвиток дифузного постінфарктного фіброзу. Кріонекроз викликає гостру, локальну і контрольовану реакцію, що завершується швидкою стабілізацією тканин і обмеженим рубцюванням. Адреналінова міокардіодистрофія характеризується метаболічним типом запалення, менш агресивним, але довготривалим, із помірною участю NLRP3-інфламасоми і ранньою активацією фіброзних процесів.

Таким чином, у патогенезі ушкодження міокарда центральною ланкою виступає NLRP3-залежна активація цитокінового каскаду, але її інтенсивність і наслідки залежать від механізму ураження: ішемічна модель – тривале некротичне запалення; кріонекроз – короткочасна локальна реакція; токсична модель – повільна адаптивна відповідь.

Імунна відповідь при ушкодженні міокарда має загальний патогенетичний механізм (IL-1 β $\rightarrow$ IL-6/TNF- α $\rightarrow$ TGF- β), але відрізняється інтенсивністю й тривалістю.

Найвищий рівень запалення та фіброзоутворення спостерігається при ішемічній моделі, найнижчий – при токсичній, а кріонекроз займає проміжне місце.

NLRP3-інфламасома є ключовим регулятором у всіх моделях і може бути спільною терапевтичною мішенню для зниження цитокінового стресу та попередження патологічного ремоделювання серця.

Висновки до розділу 3

У розділі комплексно проаналізовано три експериментальні моделі некрозу міокарда, що дозволило визначити їхні патофізіологічні особливості, переваги та обмеження для подальших досліджень.

Показано, що модель перев'язки лівої коронарної артерії найбільш повно відтворює клінічний інфаркт міокарда, супроводжується тривалим системним

запаленням та вираженою цитокіновою відповіддю, що робить її оптимальною для оцінки кардіопротекторного потенціалу клітинних технологій.

Кріогенна модель продемонструвала найвищу відтворюваність і контрольованість ушкодження, забезпечуючи прогнозовану глибину та локалізацію некрозу без летальності, що є цінним для тестування біоматеріалів, зокрема альгінатних імплантатів.

Токсична модель адреналінової міокардіодистрофії дозволила змодельовати дифузні некротичні зміни та системні стрес-індуковані механізми ураження, що робить її придатною для оцінки функціональних кардіопротекторних ефектів біоактивних речовин.

Порівняльний аналіз засвідчив відмінності у масштабі цитокінової активації, швидкості репарації та контрольованості зони ураження, що визначає доцільність вибору конкретної моделі залежно від наукових завдань. Усі моделі демонструють універсальну послідовність морфогенезу некрозу та формування рубця, однак відрізняються інтенсивністю апоптозу, активацією p53 та динамікою NLRP3-опосередкованої імунної відповіді.

Узагальнено, результати розділу формують наукове підґрунтя для раціонального вибору експериментальної моделі у дослідженнях кардіопротекції, біодеградації імплантатів та оцінки дії біологічно активних композитів.

Основні положення цього розділу викладено у 6 публікаціях автора [20, 42, 45, 62, 63, 69].

РОЗДІЛ 4

ДОСЛІДЖЕННЯ ДИНАМІКИ ЕКСТРАКЦІЇ ПОЛІПЕПТИДІВ ІЗ АЛЬГІНАТНИХ ГІДРОГЕЛІВ І ВИВЧЕННЯ ШВИДКОСТІ БІОДЕГРАДАЦІЇ АЛЬГІНАТНИХ ІМПЛАНТАТІВ В МІОКАРДІ ТА ІМУНОБІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЕКСТРАКТІВ

Розділ присвячений комплексному дослідженню процесів, що визначають поведінку альгінатних гідрогелів та імплантатів у біологічному середовищі. Особлива увага приділялась кінетиці екстракції поліпептидів із гідрогелевих матриць, що дозволяє оцінити контрольованість та ефективність вивільнення біоактивних сполук. Паралельно вивчались темпи біодеградації альгінатних імплантатів у тканині міокарда, що має ключове значення для їхньої безпеки та функціональної сумісності в умовах *in vivo*. Окремим напрямом був імунобіологічний аналіз отриманих екстрактів, спрямований на оцінку їхньої потенційної біологічної активності та взаємодії з імунною системою. Сукупність цих досліджень формує наукове підґрунтя для оптимізації альгінатних систем у регенеративній медицині та тканинній інженерії.

4.1. Екстракція поліпептидів із альгінатних гідрогелів *in vitro* та *in vivo*

Основним завданням представленого дослідження є підбір оптимального співвідношення «альгінат – вода», за якого властивості отриманого полімеру найбільшою мірою відповідають вимогам, що висуваються до імплантатів, і водночас забезпечують оптимальну десорбцію та дифузію біологічно активних препаратів у зону ураження.

Фізико-хімічні властивості гелів. Дослідження динаміки екстракції поліпептидів *in vitro*

Реологічні та деякі фізико-хімічні властивості гелів залежно від їх складу наведені у табл. 4.1. Гелі, що містять 0,5–1,0% мас. альгінату натрію, по консистенції близькі до рідини, хоча зберігають міжфазну межу з фізіологічним

розчином у процесі екстракції. Гель із 2,5% мас. альгінату легко деформується і не зберігає початкову форму желе.

Таблиця 4.1

Фізико-хімічні та реологічні властивості гелів

Масова доля альгіната натрію, %	0,5	1,0	2,5	5,0	7,5	10,0
Консистенція	рідка		желеподібна	тверда пластична		
Здатність зберігати форму	форма не зберігається			форма зберігається		
Показник типу дифузії	0,900	0,847	0,886	0,726	0,687	0,536
Показник масо-переносу ($\times 10^6$), кг/с ²	1,74	1,75	1,81	1,74	1,70	1,10

Таким чином, ці гелі не можуть бути використані для виготовлення імплантантів. Крім того, як було показано нами раніше, гелі з низьким вмістом альгінату не витримують нагрівання та руйнуються в умовах стерилізації.

Щільність гелів зменшується із зростанням концентрації альгінату натрію. При низьких концентраціях останнього (0,5% мас.) густина становить $d_{25} = 0,991 \text{ г/см}^3$, тобто близька до такої у води. При 5% та 10% мас. альгінату щільність відповідно знижується до $d_{25} = 0,960 \text{ г/см}^3$ та $0,938 \text{ г/см}^3$.

На рис. 4.1 представлена залежність A_i та A_{Σ} від кількості стадій екстракції пептидів з гелю, що містить 7,5% мас. альгінату натрію. Кожна стадія екстракції триває 2,5 хв. Синіми (суцільними) стовпчиками показана оптична щільність поліпептидів, витягнутих на кожній стадії екстракції, бордовими (заштрихованими) – оптична щільність, що відповідає загальній кількості поліпептидів, витягнутих у кожній стадії екстракції, включаючи всі попередні стадії. Як видно із рисунка, сім стадій екстракції, тобто протягом ~ 18 хв, з гелю витягується понад 98% поліпептидів.

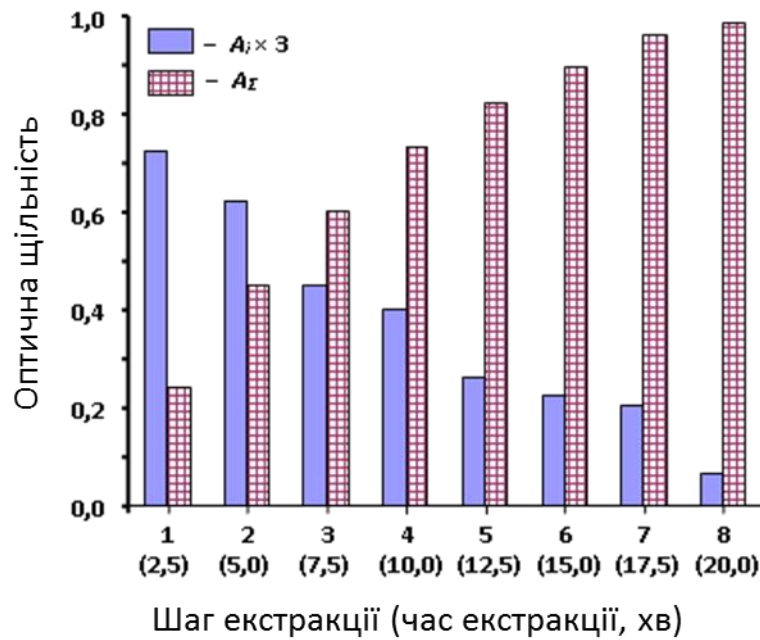


Рис. 4.1. Залежність оптичної щільності екстрактів поліпептидів (ЕП) (покрокової – A_i та сумарної – A_Σ) від кроку та часу

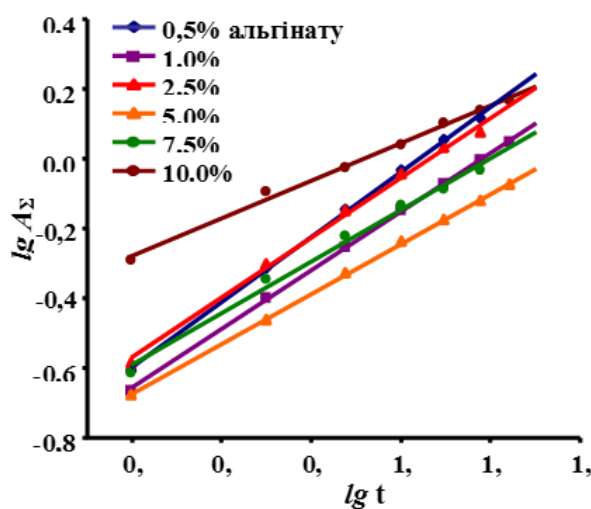
Процес виділення біологічно активних компонентів гелю може описуватися співвідношенням двох граничних механізмів масопереносу – молекулярної та конвективної дифузії. У разі конвективної дифузії швидкість перенесення екстрактів пептидів (ЕП) або флуоресцируючого пептиду (ФП) у гелі може бути дуже велика і порівнянна з такою у водному розчині. В цьому випадку при контакті поверхні гелю зі струмом водного розчину маса вилучених поліпептидів буде лінійно залежати від часу екстракції. У разі молекулярної дифузії міграція молекул поліпептидів у гелі відбувається зі швидкістю меншою, ніж швидкість переходу через кордон гель-розчинник. У цьому випадку масоперенесення поліпептидів залежатиме від швидкості їх міграції з глибини гелю до межі розділу фаз і нелінійно змінюватиметься в часі.

Залежність маси біологічно активного компонента від часу екстракції може бути описана єдиним рівнянням незалежно від механізму масопереносу:

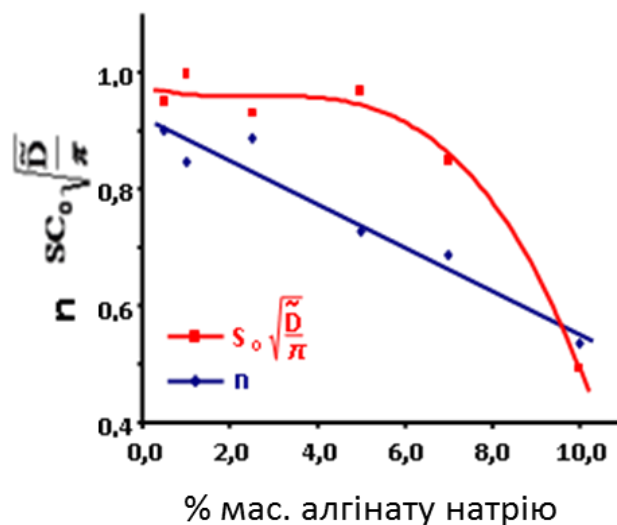
$$\lg M_\Sigma(t) = n \lg t + \lg SC_0 \sqrt{\frac{\tilde{D}}{\pi}} \quad \text{або} \quad \lg A_\Sigma(t) = n \lg t + \lg SC_0 \sqrt{\frac{\tilde{D}}{\pi}} + \text{const}, \quad (1)$$

де M_Σ – сумарна маса ЕП або ФП, що виділяється на кожній стадії екстракції, A_Σ – сумарна оптична щільність екстракту, пропорційна M_Σ , t – час екстракції, C_0 – початкова об’ємна концентрація ЕП або ФП в гелі, S – площа поверхні розділу

гель/розчин, – ефективний коефіцієнт перенесення (при реалізації механізму молекулярної дифузії даний коефіцієнт відповідає коефіцієнту дифузії). Коефіцієнт n у разі конвективного механізму дорівнює одиниці, за молекулярної дифузії – 0,5. У реальних системах дифузія має змішаний характер, тому для величини n виконується нерівність $0,5 < n < 1$. Залежно $\lg A_{\Sigma}$ від $\lg t$, побудовані для досліджуваних гелів відповідно до рівняння (1), наведені на рис. 4.2 А.



А



В

Рис. 4.2. Залежності параметрів масопереносу від часу (А) та від складу гелю (В)

Лінійність $\lg A_{\Sigma} = f(\lg t)$ зберігається протягом 18–20 хв після початку екстракції, а далі порушується у зв'язку з проникненням води в гель та зміною складу та фізико-хімічних характеристик поверхневих шарів останнього.

Фактично, екстракція поліпептидів з гелю може бути описана параметрами n . Перший характеризує ефективність масопереносу, другий показує, якою мірою реальний механізм екстракції визначається процесами конвективної або молекулярної дифузії. Величини n та S_0 для гелів різного складу наведені в табл. 4.1 залежності цих параметрів від кількості альгінату натрію в гелі зображені на рис. 4.2 В.

На рис. 4.2 В. видно, що залежність n від кількості альгінату натрію в гелі носить лінійний характер: зі зростанням концентрації альгінату n зменшується

від ~ 0.9 до ~ 0.5 , що говорить про перехід від конвективного механізму масопереносу до молекулярної дифузії.

У гелях, що містять менше 5% мас. альгілату натрію ефективність масопереносу приблизно однакова, потім, у міру збільшення кількості альгілату, швидкість виходу поліпептидів з гелю у розчин зменшується. Таким чином, змінюючи кількість полімерної основи гелів, можна регулювати швидкість вилучення біологічно активного компонента.

Дослідження динаміки екстракції поліпептидів in vivo

Дані, отримані на системах *in vitro* – фізико-хімічні властивості імплантата, тип та ефективність масопереносу мало змінюються з переходом до біологічних об'єктів. Однак у біологічних системах імплантат контактує не зі струмом біологічної рідини, як розглядалося раніше, а безпосередньо з тканинами організму. Тому швидкість масопереносу пептидів з гелю в навколишнє середовище в біологічних об'єктах має бути суттєво нижчою.

Крім того, необхідно брати до уваги зовнішній механічний тиск тканин на імплантат, більш високу і температуру навколишнього середовища, що змінюється в часі, зворотну дифузію білкових речовин з тканин в гель, обмін іонів натрію з іонами навколишнього середовища. Всі ці фактори погано піддаються моделюванню, тому нами було проведено дослідження процесів перенесення поліпептидів ЕП та ФП з імплантата в м'язову тканину самців щурів.

Слід зазначити, що в пробах, витягнутих через 6 і більше годин, імплантати втрачали вихідну форму і важко відокремлювалися від навколишніх тканин. Кількість білка в контрольних не імплантованих зразках гелю приймали рівним 100%. Результати експерименту показано на рис. 4.3.

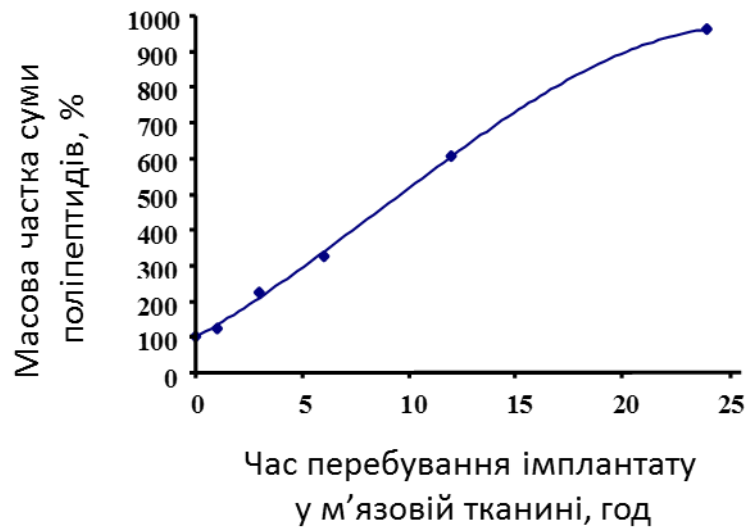


Рис. 4.3. Відносний вміст пептидів у гелі з 10% альгінатом натрію залежно від часу перебування імплантату у м'язовій тканині

Як випливає з наведеної кривої, загальна кількість поліпептидів у гелі не знижується, як слід очікувати, а навпаки, збільшується. Зростання концентрації поліпептидів у перші години після імплантації відбувається практично лінійно, і після 15–20 годин на кривій спостерігається тенденція до насичення. У пробах, витягнутих з тканин через 24 години після імплантації, концентрація білка в 9,62 раза перевищувала вихідну концентрацію ЕП. Спостережуваний ефект пояснюється тим, що крім екстракції поліпептидів ЕП з імплантату, також відбувається зворотний процес – дифузія білків з м'язових тканин, що оточують, в імплантат. Слід зазначити, що в гелях із високим вмістом альгінату натрію, де реалізується механізм молекулярної дифузії та концентрація поліпептидів у приповерхневому шарі на межі поділу «гель/середовище» є нижчою, ніж у глибині гелевої фази, зустрічна дифузія білків у гель може гальмувати вивільнення біологічно активного компонента.

Простежити за виділенням поліпептидного компонента з гелю на тлі інтенсивної зустрічної дифузії можна використовуючи флуоресцентний протеїн ФП, оскільки він, на відміну від звичайних поліпептидів, має смугу випромінювання в довгохвильовій ділянці спектра. Зміни відносної кількості ФП в імплантатах після вилучення з м'язової тканини представлені на рис. 4.4 А.

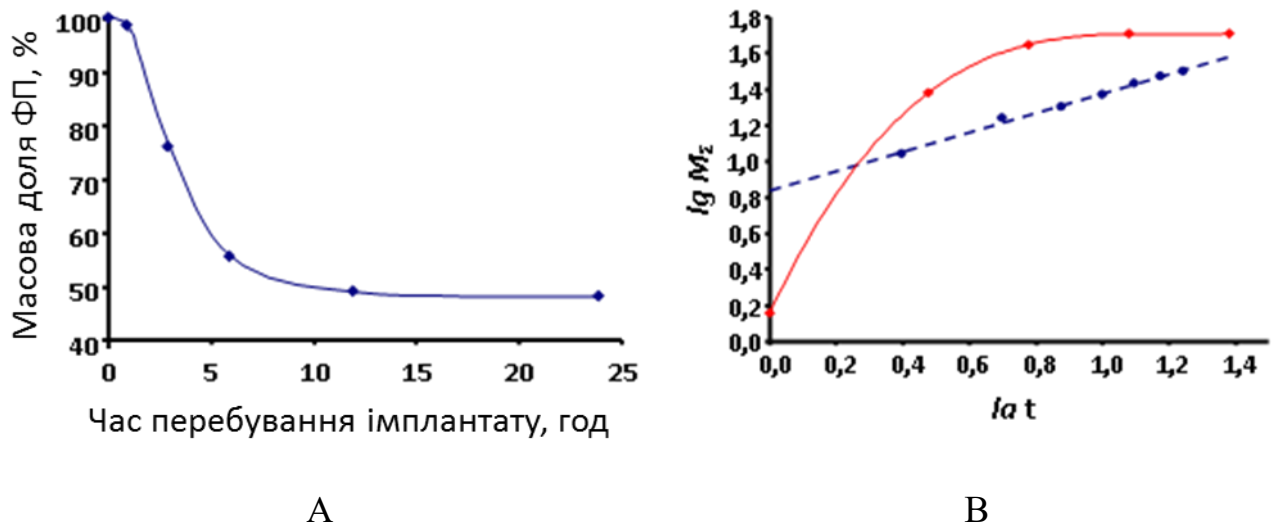


Рис. 4.4. Динаміка масообміну флуоресцентного протеїну в гелі, що містить 10% альгінату натрію. А – зміна концентрації флуоресцентного протеїну в гелі в процесі екстракції в м'язову тканину; В – логарифмічні залежності кількості екстрагованого флуоресцентного протеїну від часу (суцільна лінія – експериментальна залежність, штрихова (зміщена на 0,3 од.) – теоретична залежність для $n = 0,5$ и $\tilde{D} = 1,10 \times 10^{-6}$ кг/с²)

Як бачимо на рис. 4.4 А крива виходу ФП відрізняється від кривих, отриманих в експерименті *in vivo*. Приблизно 45% мас. ФП перетворюється на навколишні тканини за 5 годин зі швидкістю 8–9% на годину. Далі вихід ФП суттєво уповільнюється і в проміжку між 10 і 24 год. від початку експерименту швидкість виходу падає до 0,2–0,3% на годину. Логарифмічна залежність масопереносу від часу перестала бути лінійною і відповідає рівнянню (1). Оскільки механізм дифузії (нахил лінії) визначається складом гелю, а відмінності в швидкості дифузії (величина відрізка, що відсікається лінією на осі абсцис при $\lg t = 0$) залежать від різниці середніх молекулярних мас ЕП і ФП (рис. 4.4 В), єдиною причиною, що викликає відхилення процесу вилучення, зустрічна дифузія поліпептидів із тканин у гель.

Наведені вище дані дозволяють зробити низку практичних і теоретичних висновків про масоперенесення поліпептидів в альгінатних гелях, які слід брати до уваги при створенні композицій пептидний екстракт-гель.

Таким чином, механізм екстракції пептидів з гелю залежить від співвідношення кількостей альгінату натрію та води (фізіологічного розчину):

зі зростанням концентрації альгінату відбувається перехід від конвективного механізму масопереносу до молекулярної дифузії.

При визначенні динаміки екстракції поліпептидів з імплантата, поміщеного в м'язову тканину, встановлено, що поряд із вивільненням біологічно активних поліпептидів з гелю спостерігається інтенсивна зустрічна дифузія пептидів із навколишніх тканин тварини в гель.

Вивчення динаміки масопереносу флуоресцируючого протеїну (R-фікоеритрину) показало, що пептиди переходять із гелю в навколишні тканини протягом перших 5 годин зі швидкістю 8–9% на годину з подальшим зниженням швидкості екстракції внаслідок зустрічної дифузії; таким чином, забезпечується пролонгація дії пептидів на орган-мішень.

4.2. Оцінка деградації альгінатних гідрогелів у біологічних тканинах з використанням чутливих до в'язкості флуоресцентних барвників

Метою даного дослідження було вивчення чутливих до в'язкості барвників Seta-470 та Seta-560 у поєднанні з нечутливим до в'язкості барвником Seta-650 для визначення реологічних властивостей гідрогелів при імплантації у біологічний об'єкт. До завдань дослідження входило відстеження деградації гідрогелю в реальному часі, а також диференціація локалізацій щільного гідрогелю та продуктів його біодеградації, що утворюються в результаті розкладання та резорбції гідрогелю в біологічних тканинах. Результати дослідження важливі для клінічного застосування альгінатного гідрогелю в якості біорозчинного імплантата та цільового носія доставки лікарських препаратів. Експерименти було проведено на 76 щурах.

4.2.1. Спектральна характеристика барвників, вільних в розчині і при зв'язуванні з щільним і негелеутворювальним альгінатом

Флуоресцентні барвники Seta-470, Seta-560 і Seta-650, які поглинають/випромінюють у синій/зеленій, зеленій/помаранчевій та червоній ділянках, відповідно, були використані як зонди для моніторингу альгінату в м'язових тканинах (рис. 4.5 А–С). Чіткі спектри збудження та випромінювання

цих барвників дозволяють окремо реєструвати їх сигнали флуоресценції (зелений, помаранчевий та червоний канали) з використанням відповідних джерел світла збудження, наборів фільтрів збудження та флуоресценції.

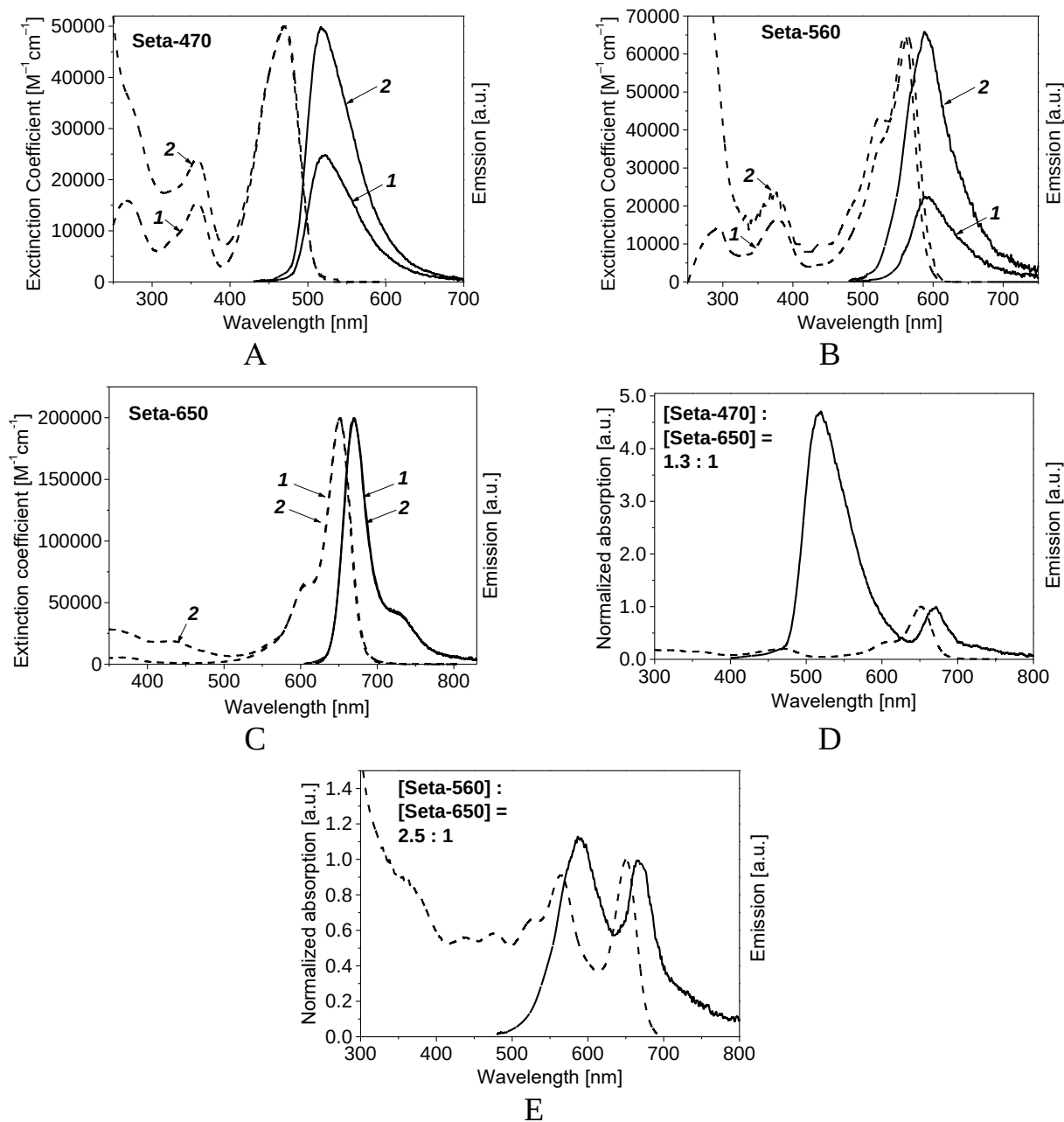


Рис. 4.5. Спектри поглинання (пунктирна лінія) і випромінювання (суцільна лінія) Seta-470 (A), Seta-560 (B) і Seta-650 (C), вільних у фізіологічному розчині (1) і після зв'язування з гелеподібним альгінатом (2) і при зв'язуванні [Seta 470]: [Seta-650] = 1,3: 1, збудження 470 нм (D), [Seta 560]: [Seta-650] = 2,5: 1, збудження 530 нм (E)

Інтенсивності флуоресценції Seta-470 та Seta-560 чутливі лише до в'язкості та нечутливі до полярності та гідрофільності середовища. Таким

чином, було виявлено, що квантовий вихід флуоресценції Seta-470 у воді (1,9%) приблизно такий же, як у метанолі (2,0%), розчиннику з набагато нижчою полярністю, у той час як у гліцерині, який має полярність, аналогічну метанолу (0,812 проти 0,744), високу в'язкість – 1400 мПа × s у гліцерині порівняно з 0,6 мПа × s у метанолі. Подібна поведінка була виявлена для Seta-560: квантові виходи якого становлять 2,3%, 1,7% і 50% у воді, метанолі та гліцерині відповідно.

Варто зазначити, що червоне світло, яке ближче до інфрачервоної ділянки та має велику довжину хвилі, набагато легше проникає через біологічні тканини порівняно з синім, зеленим та помаранчевим світлом із більш короткою довжиною хвилі [242]. Тому молярні співвідношення барвників (Seta-470) : (Seta-650) та (Seta-560) : (Seta-650), пов'язаних з альгінатом (Alg), були відрегульовані таким чином, що сигнали флуоресценції цих барвників у біологічній тканині були в тому ж порядку. Альгінати з молярним співвідношенням (Seta-470) : (Seta-650) = 1,3 : 1 та (Seta-560) : (Seta-650) = 2,5 : 1 були обрані для подальших експериментів. Спектри поглинання та емісії барвників при зв'язуванні з негелеутворювальним альгінатом у молярному співвідношенні (Seta-470) : (Seta-650) = 1 : 1 та (Seta-560) : (Seta-650) = 2,5 : 1. представлені на рис. 4.5, D, E відповідно. Довжина хвилі збудження становила 470 нм для Seta-470 – Seta-650 – Alg та 530 нм для Seta-560 – Seta-650 – Alg.

Спочатку оцінювали чутливість барвників до в'язкості середовища шляхом порівняння спектральних властивостей барвників Seta-470, Seta-560 і Seta-650, пов'язаних з альгінатом негелеутворювальним, і тих, які знаходяться в нормальному сольовому розчині. Дані показують, що інтенсивності флуоресценції Seta-470 і Seta-560 збільшуються майже вдвічі при зв'язуванні з альгінатом натрію негелеутворювальним (рис. 4.5, A і B.). У той самий час ці показники для Seta-650 залишаються майже постійними (рис. 4.5, C).

Потім було досліджено кореляцію між інтенсивністю випромінювання забарвлених альгінатів вмістом у них глюконату кальцію (CaGluc).

На рисунку 4.6. наведено зображення флуоресцентних альгінатів, що містять різну кількість CaGluc, для кожної із проб були виміряні інтенсивності

флуоресценції. Було виявлено, що додавання CaGluc призводить до суттєвого збільшення в'язкості. При цьому інтенсивність флуоресценції чутливих до в'язкості барвників Seta-470 і Seta-560 зростала в 5 і 3 рази відповідно, тоді як для Seta-650 збільшення було лише в 1,3 раза.

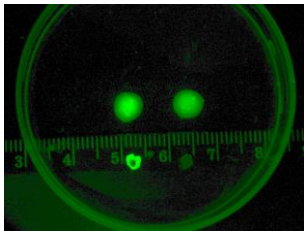
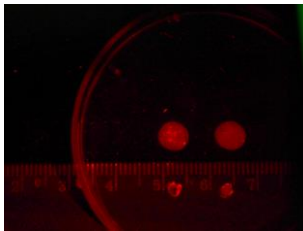
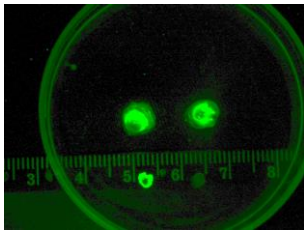
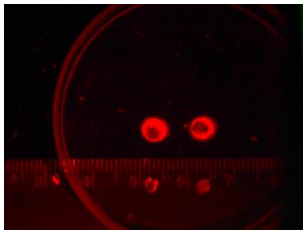
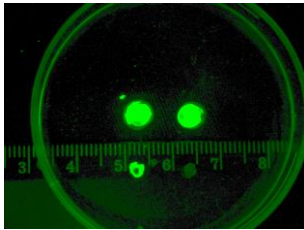
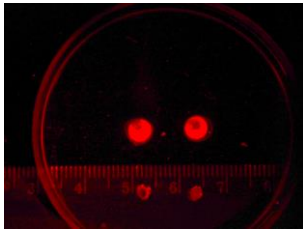
с(CaGluc) [%] (Реологічний стан гідрогелю)	Червоний канал (Seta-650)	Зелений канал (Seta-470)	Помаранчевий канал (Seta-560)
0 (Без геле- утворення)			
0,86 (Частково гелірований)			
4,3 (Щільний)			

Рис. 4.6. Типові зображення флуоресцентно забарвленого альгілату (in vitro) за різних концентрацій глюконату кальцію

Надалі було визначено площі флуоресціюючих зон альгілату. Важливо, що зони альгілату, що світяться, забарвлені Seta-470 або Seta-560, різко збільшуються при збільшенні концентрації CaGluc (рис. 4.6 і 4.7), що вказує на чутливість цих барвників до в'язкості альгілату. Навпаки, зона флуоресценції нечутливого до в'язкості барвника Seta-650 має тенденцію до зменшення (приблизно на 15%), оскільки об'єм альгілату трохи зменшується при гелеутворенні.

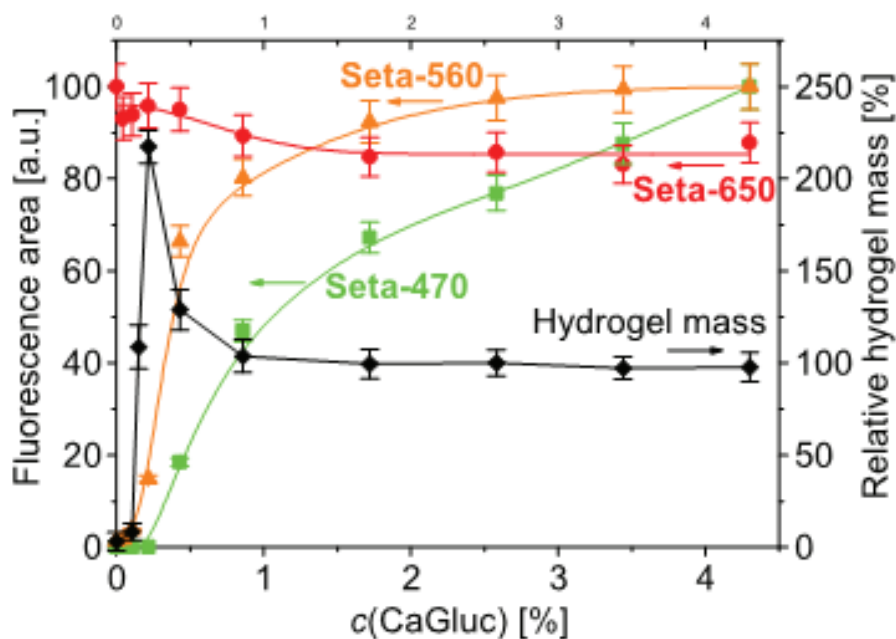


Рис. 4.7. Ділянка флуоресцентних зон альгінату, забарвленого Seta-470, Seta-560 та Seta-650, та референтного гідрогелю у присутності різних концентрацій глюконату кальцію. Значення дано як середнє, для $n = 4$ у кожній точці даних

Наведені вище дані свідчать, що нечутливий до в'язкості барвник Seta-650 здатний виявляти розташування альгінатного гідрогелю та його продуктів розкладання з флуоресцентною міткою, незалежно від їхнього реологічного стану. Тому Seta-650 не дозволяє розрізняти щільний гідрогель та продукти його розкладання. На відміну від цього, чутливі до в'язкості барвники Seta-470 та Seta-560 допомагають локалізувати ці щільні ділянки гідрогелю, а у поєднанні з Seta-650 дозволяють відрізнити його від флуоресцентних продуктів деградації гідрогелю нижчої в'язкості.

Біодеградація альгінатного гідрогелю в біологічних тканинах пов'язана із зменшенням концентрації Ca^{2+} через вивільнення іонів Ca^{2+} , що зшивають гель у навколишнє середовище внаслідок циркуляції крові та реакцій обміну з одновалентними катіонами, такими як іони натрію [243]. Цей процес може бути змодельований *in vitro* з використанням маси альгінатного гідрогелю, реологічного стану та/або в'язкості як функції концентрації CaGluc. Наведені вище дані про площу флуоресцентних зон альгінату залежно від вмісту (CaGluc) корелювали з масою гелеподібного альгінату та реологічними

властивостями альгінату (пухкі або щільні ділянки, а також не желатинізована рідина).

Додавання 4,3% глюконату кальцію в розчин натрію альгінату призводить до утворення щільних згустків гідрогелю, які можуть бути відокремлені від розчину фільтруванням. Було виявлено, що зниження концентрації глюконату кальцію з 4,3% до ~0,8% не впливає на масу та реологічний стан гідрогелю (рис. 4.7). Примітно, що подальше зменшення концентрації CaGlu до 0,2% спричиняє дворазове збільшення маси згустків гідрогелю та помітне зниження їх в'язкості, що також може бути легко ідентифіковано оком (згустки стають менш жорсткими та пухкими). Збільшення маси згустків на 100% від їх первинної маси пов'язане з тим, що в точці з концентрацією CaGlu між ~0,8–0,2% гель є дуже пухким і містить більше води. Подальше зниження концентрації CaGlu нижче ~ 0,2% призводить до різкого зниження маси згустків, а потім ці згустки повністю зникають. Важливо відзначити, що найбільш виражена зміна в ділянках флуоресценції була виявлена при тих же концентраціях CaGlu (нижче ~ 1%), що зміна маси альгінатних згустків (рис. 4.7).

4.2.2. Оцінка реологічних властивостей і локалізації альгінатного гідрогелю в м'язовій тканині стегна щурів

Гелеподібний альгінатний гідрогель, мічений флуоресцентними барвниками Seta-470 і Seta-650 (Seta-470 – Seta-650-Alg), імплантували *in situ* на глибину 1 мм у праве стегно чотирьох щурів ($n = 4$), а також у праве стегно інших чотирьох щурів ($n = 4$). Потім знімки проводили через 10–20 хв після імплантації та через певні проміжки часу протягом 12 тижнів. Всі зображення були отримані при природному освітленні і в режимі флуоресценції в червоному каналі ($\lambda_{\text{Ex.}} = 636/10$ нм; $\lambda_{\text{Reg.}} > 670$ нм). У випадку першого альгінату зображення були отримані також в зеленому каналі ($\lambda_{\text{пр.}} = 470/10$ нм; рег. = $\lambda_{\text{546/20}}$ нм), і для другого альгінату – в помаранчевому каналі ($\lambda_{\text{пр.}} = 530$) / 10 нм; $\lambda_{\text{рег.}} > 600$ нм). Використання різних джерел світла збудження та набору фільтрів дозволило розрізнити сигнали флуоресценції, що виходять

від Seta-470 (зелений канал) та Seta-650 (червоний канал) для першого альгінату та Seta-560 (помаранчевий канал) та Seta-650 (червоний канал) для другого альгін. Потім ділянки флуоресценції, отримані цих трьох каналах, були окремо кількісно оцінені. Репрезентативні зображення наведено на рис. 4.8, графіки, що відображають зміну площ флуоресціювальних зон у часі, наведено на рис. 4.9.

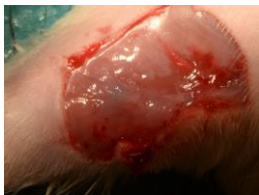
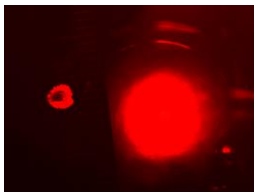
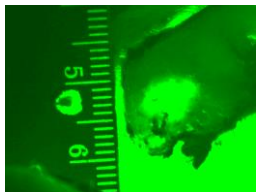
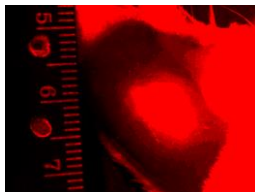
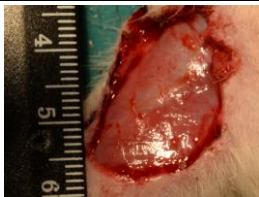
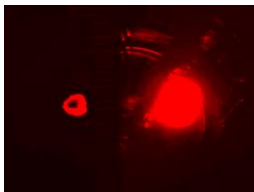
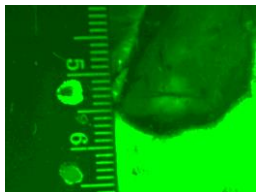
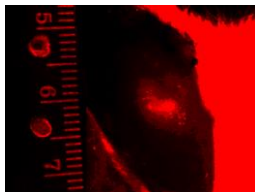
Час після імплантації	Seta-470 – Seta-650 – Alg			Seta-560 – Seta-650 – Alg
	природне освітлення	Червоний канал (Seta-650)	Зелений канал (Seta-470)	Помаранчевий канал (Seta-560)
15 хв				
3 тижні				

Рис. 4.8. Репрезентативні зображення стегон щура з імплантованими альгінатами Seta-470-Seta-650-Alg та Seta-560-Seta-650-Alg. Зображення були зроблені в червоному, зеленому та помаранчевому каналах через 15 хв та 3 тижні після імплантації

Отримані флуоресцентні зображення демонструють різке зменшення площі флуоресцентної зони Seta-470 і Seta-650 протягом 1-го дня після імплантації гідрогелю альгінатного в стегно щура. Протягом першої доби площа флуоресціювальної зони Seta-650 зменшується утричі, після чого залишається майже сталою щонайменше протягом 12 тижнів. (рис. 4.9, А, В). У той же час інтенсивність флуоресценції Seta-470 стає нижчою за межу виявлення, що використовується в цих експериментах протягом 3-х днів після імплантації (рис. 4.9 А).

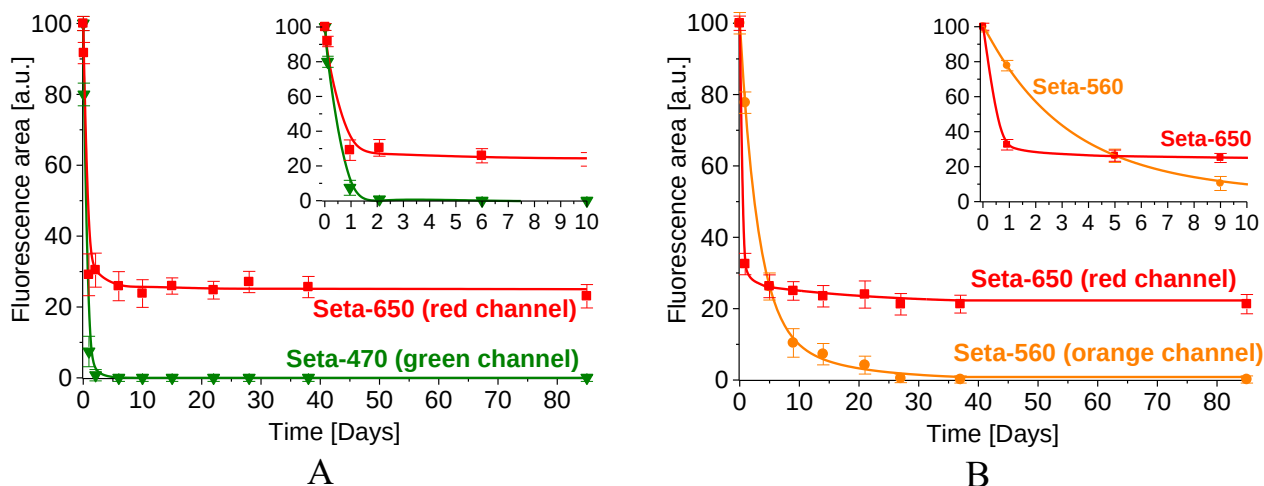


Рис. 4.9. Залежність розмірів зон флуоресценції (локалізації) альгінатів Seta-470-Seta-650-Alg(A) та Seta-560-Seta-650-Alg(B) імплантованих у м'язову тканину стегна від часу знаходження *in vivo*. Значення дано як середнє для чотирьох повторюваностей у кожній точці даних

Оскільки деградація альгінатного гідрогелю не впливає на інтенсивність флуоресценції Seta-650, отримане різке зменшення ділянок флуоресценції Seta-650 та Seta-470 протягом 1-го дня не може бути пов'язане з деградацією гідрогелю. Швидше за все, зниження пов'язане з рухливістю м'язів щура, що викликає занурення щільного гідрогелю глибше в м'язову тканину і видалення гелеподібного і нерезорбованого альгінату з кровотоком. Ефект занурення можна спостерігати навіть візуально за нормального освітлення: після ін'єкції альгінату в зоні введення формується опуклість, яка зникає наступного дня. Оскільки червоне світло легше проникає крізь тканини, протягом першої доби площа флуоресценції Seta-650 зменшується внаслідок занурення гелю лише утрічі, тоді як для більш короткохвильового барвника Seta-470 флуоресцентний сигнал стає майже непомітним.

Подібно до Seta-470, флуоресцентний сигнал довгохвильового барвника Seta-560 також помітно зменшується, але він все ще чітко виявляється навіть протягом 3-х тижнів після ін'єкції (рис. 4.9, B.), що свідчить про те, що щільний альгінат все ще присутній в зоні імплантації.

Період напіврозпаду ($\tau_{1/2}$) щільного гідрогелю в стегні щура оцінювали за зменшенням площі флуоресціювальної зони, наведеної на рис. 4.9. Слід зазначити, що отримане значення $\tau_{1/2}$ не є фактичним, а є так званим «уявним»

періодом напіврозпаду щільного гідрогелю, оскільки профілі зниження флуоресценції відображають також процес занурення альгінату в тканини. Було встановлено, що уявний $\tau_{1/2}$ становить близько 2,5 доби при оцінці з використанням Seta-560 (рис. 4.9, В) і лише близько 0,5 доби при визначенні з використанням Seta-470 (рис. 4.9, А). Зазначені періоди напіврозпаду були розраховані як середні значення за результатами чотирьох експериментів із використанням Seta-470 та чотирьох експериментів із використанням Seta-560.

Невідповідність величин періодів напіврозпаду пов'язана з тим, що на зниження інтенсивності флуоресценції, яку оцінюють із використанням чутливих до в'язкості барвників, впливають не лише процеси деградації гелю, але й його занурення в тканини. На відміну від деградації, у разі занурення спостерігається зменшення інтенсивності флуоресценції, яке істотно залежить від довжин хвиль збудження та випромінювання. Оскільки Seta-560 збуджується та випромінює світло на довших хвилях порівняно з Seta-470, реальний період напіврозпаду щільного гідрогелю в стегні щура має бути значно більшим, ніж уявний період напіврозпаду 0,5 доби, оцінений за допомогою Seta-470, і навіть перевищувати значення 2,5 доби, отримане з використанням Seta-560. З урахуванням ефекту занурення щільного гідрогелю його реальний період напіврозпаду оцінюється приблизно у 4 доби.

У той час як площа флуоресценції щільного альгінату, міченого Seta-560, стає майже невиявлюваною через 25–30 діб після імплантації, а для Seta-470 – вже протягом перших 3 діб, площа флуоресценції Seta-650 залишається практично незмінною, починаючи з другої доби і щонайменше протягом усього періоду спостереження (рис. 4.9, А, В). Горизонтальна ділянка кривої свідчить про те, що мічений альгінат упродовж цього часу не занурюється, не деградує та не виводиться з тканин.

4.2.3. Оцінка реологічних властивостей і локалізації альгінатного гідрогелю в міокарді щурів

Ті ж щільні альгінати, що містять флуоресцентні барвники Seta-470, Seta-650 – Alg та Seta-560, Seta-650 – Alg були доставлені *in situ* на глибину 1 мм до міокарда лівого шлуночка щурів ($n = 32$ і $n = 36$, відповідно для кожного альгінату). Серця щурів були виділені відразу після введення та через певні проміжки часу протягом 12 тижнів, потім заморожені та розрізані у місці максимальної концентрації імплантата. Зображення були отримані та оброблені, як було описано у разі м'язової тканини стегон щурів. Профілі залежностей площ зон флуоресценції від часу, виміряні в червоному (Seta-650), помаранчевому (Seta-560) та зеленому (Seta-470) каналах, представлені на рис. 4.10.

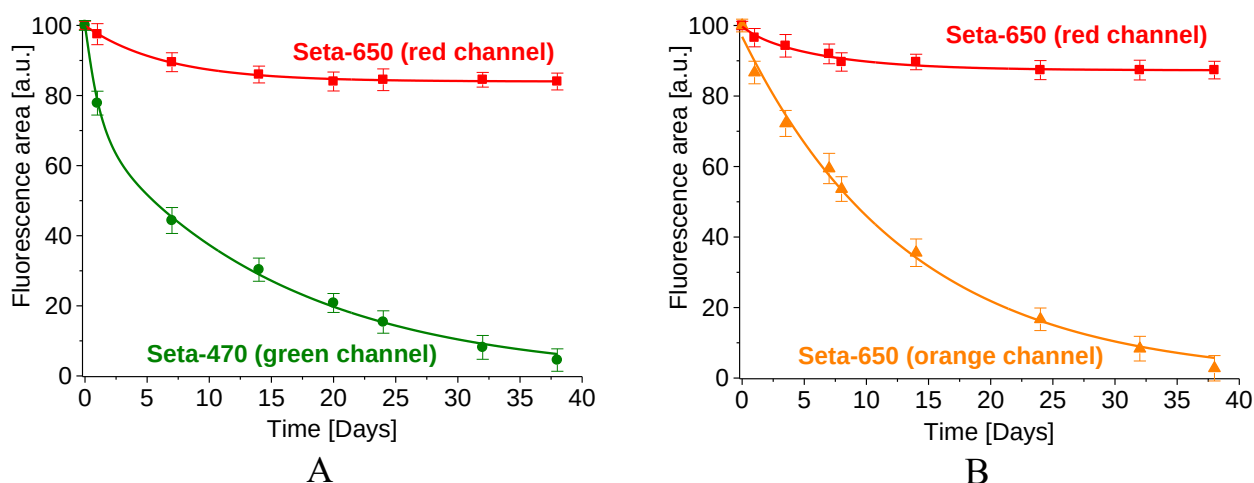


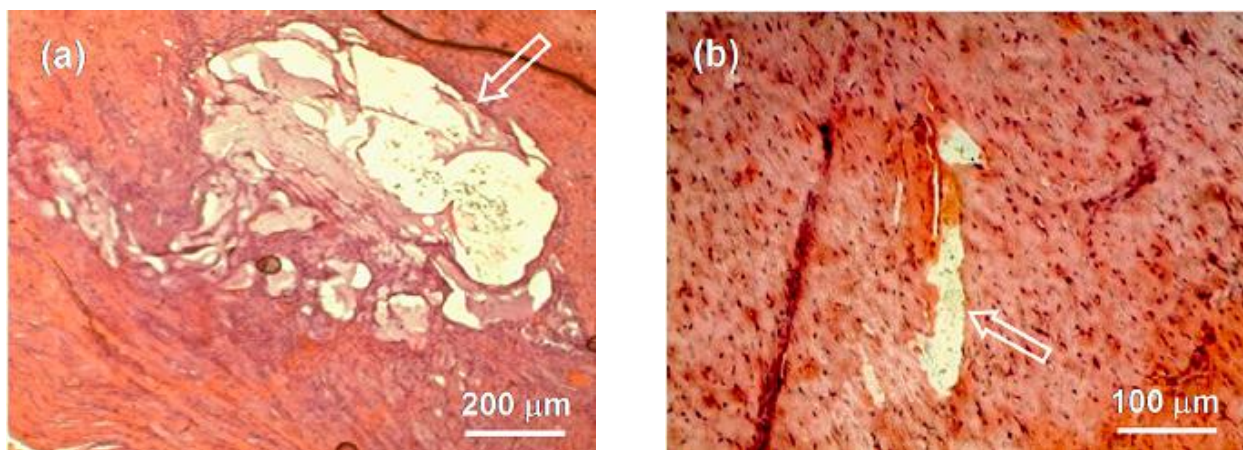
Рис. 4.10. Залежність розмірів зон флуоресценції (локалізації) альгінатів Seta-470-Seta-650-Alg(a) та Seta-560-Seta-650-Alg(б), імплантованих у міокард щура від часу знаходження *in vivo*. Значення дано як середнє для чотирьох повторностей у кожній точці даних

На відміну від стегна щура, в 1-й день після імплантації альгінату в міокард щура не спостерігалось різкого зменшення площі зони емісії, виміряної у всіх трьох каналах (рис. 4.10). Протягом приблизно 21-го дня спостерігається лише невелике (~15%) монотонне зменшення площі альгінату, забарвленого Seta-650. При цьому зони флуоресценції Seta-470 і Seta-560 суттєво зменшуються і стають майже невиявленими (не визначаються) приблизно до 38 дня, тоді як флуоресценція Seta-650 залишається в зоні імплантації протягом

щонайменше 12 тижнів. Отримані дані свідчать, що період напіврозпаду ($\tau_{1/2}$) щільного гідрогелю в міокарді становить близько 6–8 днів. Ці періоди напіврозпаду були розраховані зменшення площі флуоресценції, показаної на рис. 4.11. Період напіврозпаду 6 днів був розрахований як середнє із чотирьох експериментів з використанням Seta-470, а період напіврозпаду 8 днів був отриманий як середнє з чотирьох експериментів з Seta-560.

Виявлено, що отриманий період напіврозпаду узгоджується з даними літератури [244, 245, 246], що показують, що протягом 7 днів було втрачено близько 60% вихідної маси альгінатного гідрогелю. Величину $\tau_{1/2} \approx 6$ днів в даному випадку вимірювали за втратою маси гелю *in vivo* в часі, і забарвлення гематоксилін-еозином заморожених зрізів серця щура.

Періоди напіврозпаду, одержані за допомогою флуоресцентної візуалізації альгінатного гідрогелю, імплантованого в міокард щура, також добре корелюють з нашими власними гістологічними даними. Гістологічний аналіз свідчить, що альгінатний імплантат, утворений протягом 1 години після ін'єкції, має чітку форму і розмір близько 0,225 мм² (рис. 4.11 А).



А

В

Рис. 4.11. Мікрофотографії забарвлених гематоксиліном та еозином зрізів міокарда щура в зоні ін'єкції альгінату через 1 год після ін'єкції, $\times 100$ (А) та через 38 днів після ін'єкції, $\times 200$ (В). Стрілки показують локалізацію щільного альгінату

Протягом 38 днів розмір зони гідрогелю значно зменшується до $\sim 0,010$ мм² (рис. 4.11 В). Виявлене на гістологічних зрізах зменшення площі гідрогелю

(в ~ 23 рази) добре узгоджується з результатами, отриманими з використанням барвників Seta-470 і Seta-560 ($\sim 15\text{--}17$ разів).

Відомо, що з формуванні великого гострого інфаркту міокарда ймовірність розвитку аневризми серця збільшується у ранньому постінфарктному періоді до 4–7 днів [247, 248]. Дані за періодом напіврозпаду щільного гідрогелю в міокарді щурів до 6–8 днів у нормі дають підставу вважати, що присутність протягом цього часу в'язкого альгінатного імплантата запобігатиме розвитку розриву стінки лівого шлуночка в постінфарктному періоді. Цього часу достатньо для усунення некротичного міокарда та утворення нової сполучної тканини. Пройшовши 7-денний критичний поріг, імплантат запобігає розвитку ускладнень інфаркту міокарда та бере участь у формуванні рубця сполучної тканини.

Таким чином, було продемонстровано унікальні властивості двох чутливих до в'язкості флуоресцентних барвників – Seta-470 і Seta-560 – для відстеження біодеградації щільного альгінатного гідрогелю (імплантата), який доставляється *in situ* в м'язову тканину, з метою визначення реологічного стану гідрогелю та дослідження динаміки його деградації. Використовуючи ці барвники, було встановлено, що період напіврозпаду щільного альгінатного гідрогелю у м'язовій тканині стегна становить близько 4 днів та близько 6–8 днів у міокарді щура. Період напіврозпаду гідрогелю в міокарді достатній для запобігання розриву аневризми стінки лівого шлуночка, одного із серйозних ускладнень у ранньому постінфарктному періоді. З використанням нечутливого до в'язкості барвника Seta-650 було продемонстровано, що деградований високомолекулярний альгінат ($MW \sim 350\,000$) залишається в зоні імплантації стегна щура та міокарда протягом щонайменше 12 тижнів.

4.3. Імунобіологічна характеристика екстрактів

Дослідження імунобіологічних властивостей тканинних екстрактів має важливе значення для оцінки їх потенціалу у регенеративній медицині та трансплантології. Серцева тканина містить низку біологічно активних компонентів – білки позаклітинного матриксу, фактори росту, цитокіни та ферменти, які можуть впливати на процеси запалення, клітинної регенерації й імунної відповіді. Застосування кріоконсервування забезпечує довготривале зберігання біоматеріалу без істотної втрати його структурно-функціональних властивостей, однак процес заморожування та розморожування може змінювати імуногенність тканини та склад її білкових екстрактів.

4.3.1. Молекулярно-масовий розподіл пептидів у серцевій цитоплазматичній фракції як показник імунобіологічної активності екстрактів

Хроматограма екстракту серцевої цитоплазматичної фракції (ЕСцП) наведена на рис. 4.12, а результати молекулярно-масового розподілу пептидів представлено в таблиці 4.2.

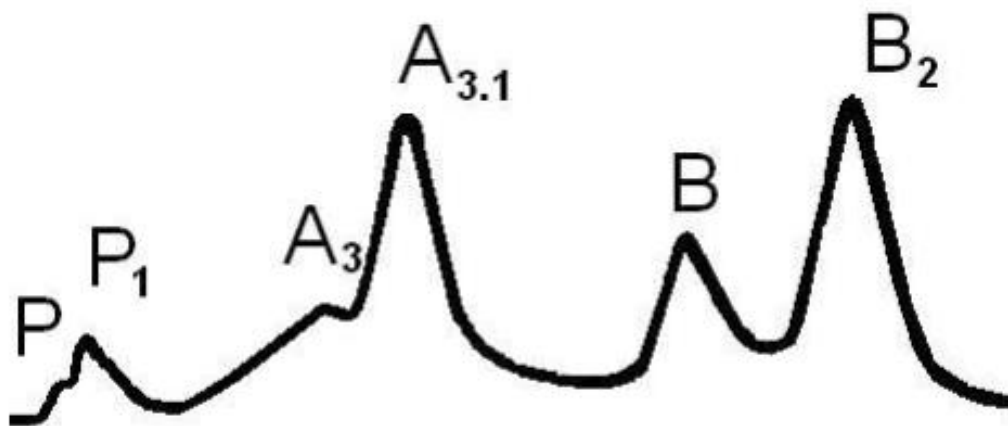


Рис. 4.12. Характерна хроматограма екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят

**Питома площа фракцій (%) речовин пептидної природи різної
молекулярної маси на хроматограмах ЕСцП**

Пік	Молекулярна маса	Питома площа фракції пептидів
P	>12 000	0,5±0,1
P ₁	10000	2,8±0,1
A ₃	4597	8,5±0,4
A _{3.1}	3895	31,9±1,9
B	784	17,9±1,1
B ₂	1296	38,4±2,6

Отримані результати свідчать, що у складі екстрактів кріоконсервованої серцевої тканини домінують низькомолекулярні пептиди з масою менше 5 кДа, зокрема фракції A_{3.1} (≈ 3895 Да) і B₂ (≈ 1296 Да). Таке співвідношення є характерним для продуктів ферментативного або автолітичного розщеплення білкових структур під час кріоконсервування та подальшого розморожування тканини.

Подібні пептидні фракції описано у роботах інших авторів, які вивчали серцеві екстракти після кріообробки. Зокрема, за даними [124], більшість біологічно активних сполук у подібних екстрактах мають молекулярну масу від 0,5 до 5 кДа, що узгоджується з результатами цього дослідження. Такі пептиди можуть мати сигнальні або регуляторні властивості, зокрема впливати на експресію цитокінів, процеси ангіогенезу та клітинної диференціації.

Фракції з молекулярною масою понад 10 кДа (піки P і P₁), які становили лише близько 3% загальної площі, ймовірно містять залишкові білкові компоненти цитозоллю або структурні білки, що частково збереглися після кріообробки. Низький їх вміст може свідчити про ефективність руйнування великих білкових комплексів та утворення стабільних низькомолекулярних пептидів, що є позитивним фактором для потенційного застосування екстрактів як імуномодулювальних або біостимулювальних засобів.

Особливу увагу заслуговує фракція В2 (≈ 1296 Да), яка виявилася наймасовішою (38,4%). Подібні коротколанцюгові пептиди описані як носії антиоксидантної, цитопротекторної та протизапальної активності [152]. Імовірно, саме ці сполуки можуть бути відповідальними за виявлені імунобіологічні ефекти серцевих екстрактів у подальших дослідженнях.

Таким чином, екстракт серцевої цитоплазматичної фракції (ЕСцП) порожняк характеризується переважанням низькомолекулярних пептидів, що зумовлює його потенційну біоактивність і можливість застосування у регенеративній медицині. Отримані дані є важливою основою для подальшого вивчення механізмів взаємодії пептидних компонентів із клітинами імунної системи, зокрема впливу на експресію білка NLRP3 та секрецію цитокінів.

4.3.2. Імунопатогенетичні аспекти розвитку ендотоксикозу та змін пептидного профілю сироватки крові при експериментальному некрозі міокарда

Відомо, що ендотоксикоз займає одне з провідних місць в патогенезі хвороб [249]. Досить точним критерієм наявності та вираженості синдрому «метаболічної інтоксикації» в організмі є концентрація молекул середньої маси (МСМ) в сироватці крові, тобто речовин з молекулярною масою від 300–500 до 5000, які несприятливо впливають на метаболічні процеси в організмі. Даний показник використовується як маркер інтоксикації різного генезу для визначення ступеня тяжкості патологічного процесу. При ІМ в сироватці крові підвищується вміст МСМ. У клініко-біохімічному аналізі МСМ становлять інтерес у діагностичному й біорегуляторному аспектах.

Як видно з табл. 4.3, на хроматограмі пептидів сироватки крові контрольних (здорових) щурів спостерігається 8 піків. Максимальним з них є пік пептидів Р з середньою м.м. $>10\,000$ і становить $61,5 \pm 5,4\%$. Через 1 добу після моделювання ІМ, в гострій фазі, на хроматограмі спостерігається 12 піків. При цьому пік Р значно зменшується (до $3,3 \pm 1,0\%$), і з'являються піки у діапазоні низькомолекулярних пептидів з молекулярною масою від 290 до 527 Да.

**Молекулярно-масовий розподіл пептидів (%) в сироватці крові щурів
в нормі та в різні строки після моделювання ІМ**

Номер піка	Пік	Молекулярна маса	Норма	Строк спостереження, доба			
				1	7	14	30
1	P	>10 000	61,5±5,4	3,3±1,1	41,6±0,3	34,2±2,1	63,3±4,3
2	A	8207	–	7,6±2,3	1,0±0,1	4,1±0,2	
3	A2	5214	0,8±0,1	–	–	9,3±0,6	0,7±0,1
4	A4.2	2 252	0,1±0,1	–	–	–	0,1±0,1
5	B	1820	–	–	–	5,2±0,4	
6	B1	1 508	2,10±0,1	–	0,6±0,2	19,1±1,7	3,1±0,2
7	B2	1 288	7,9±0,6	11,2±1,8	–	–	8,9±0,1
8	C	1 104	3,8±0,1	–	0,1±0,1	5,1±0,4	3,7±0,1
9	C1	940	–	3,8±0,7	–	15,1±0,1	–
10	D	829	23,3±1,1	0,6±0,1	0,101±0,1	–	19,0±1,0
11	E	580	–	0,5±0,1	–	8,0±0,6	–
12	F	532	1,3±0,1	0,3±0,1	1,5±0,2	–	1,1±0,1
13	G	527	–	2,3±0,2	1,3±0,1	–	–
14	G1	519	–		8,6±0,1	–	–
15	H	510	–	25,8±2,8	21,6±0,2	–	–
16	I	490	–	30,1±2,7	8,6±0,1	–	–
17	J	351	–	1,0±0,1	11,4±1,1	–	–
18	K	290	–	13,4±1,1	1,5±0,1	–	–

При накопиченні токсинів та МСМ у крові зменшується кількість вільних місць зв'язування на молекулі альбуміну. Часто природні флуоресцентні властивості макромолекул не дозволяють отримати з експерименту бажану інформацію. В такому разі обирають флуорофори, які мають кращі спектральні властивості. Використані нами флуоресцентні зонди мають спільні місця зв'язування на молекулі альбуміну з пептидами [250].

Зменшення інтенсивності флуоресценції зондів К-35 та Е-176 через 1 добу після моделювання ІМ свідчить про збільшення конкуренції пептидів сироватки крові за місця зв'язування на молекулі альбуміна та завантаженості альбуміну лігандами (табл. 4.4).

Таблиця 4.4

Інтенсивність флуоресценції зондів в сироватці крові щурів

Строк після моделювання ІМ	Інтенсивність флуоресценції, у.о.	
	Зонд К-35	Зонд Е-176
норма	381±13	79±6
1 доба	175±13*	73±4
7 діб	203±14	44±6*
14 діб	207±15*	48±11*
30 діб	350±18	67±17

Примітка: * – статистично значимо відносно групи норми, $p < 0,05$.

Через 7 діб після перев'язки гілки лівої коронарної артерії відзначали перехід найгострішої стадії інфаркту міокарда в гостру і підгостру, що підтверджувалося появою глибокого сегмента ST на ЕКГ.

На хроматографах на 7-му добу експерименту (гостра фаза ІМ) кількість піків також становило 12, але змінювався характер самої хроматограми.

На 7-му добу спостерігали зміни на спектрах флуоресценції, що проявлялися в незначному збільшенні інтенсивності флуоресценції зонда К-35 при зменшенні інтенсивності Е-176. Це свідчить, що місця зв'язування цих зондів не повністю співпадають. До 14-ї доби інтенсивність флуоресценції зондів залишалась практично незмінною.

У щурів на 14-ту добу спостереження відзначали ознаки адаптації серцево-судинної системи до нового гемодинамічного стану. Відомо, що при аналізі морфологічних характеристик міокарда при моделюванні інфаркту до цього терміну спостереження відбувається заміщення некротизованих ділянок серцевого м'яза на сполучну тканину і початок формування постінфарктного рубця.

На цей строк спостереження (початок формування сполучно-тканинного рубця та репаративної регенерації) кількість піків на хроматографах

зменшувався до 8. Але молекулярно-масовий розподіл пептидів у сироватці крові ще не повертався до норми. Пік Р все ще в два рази менше норми і становив $34,2 \pm 2,2\%$. В цей строк вже не реєструвалися пептиди з м.м. меншою 580.

На 30-ту добу відновлення електрофізіологічних показників, що пов'язане з формуванням сполучно-тканинного рубця в серці, відповідало змінам молекулярно-масового розподілу пептидів сироватки крові. Хроматограма пептидів сироватки крові практично не відрізнялась від хроматограми сироватки здорових щурів. Отже, на 30-ту добу спостерігається нормалізація молекулярно-масового розподілу пептидів у сироватці крові тварин, які перенесли ІМ.

На спектрах флуоресценції наприкінці строку спостереження відмічали істотне збільшення інтенсивності флуоресценції зондів, що свідчить про зменшення місць зв'язування, зайнятих пептидами. Як видно з табл. 4.4, інтенсивність флуоресценції зондів залежить від строку, який пройшов після моделювання ІМ, і такий підхід може бути використаний для діагностики ішемії та вираженості її наслідків.

Таким чином, отримані результати свідчать, що моделювання інфаркту міокарда супроводжується глибокими змінами в пептидному складі сироватки крові, які мають чітку динаміку залежно від фази патологічного процесу. Уже через 1 добу після індукції ІМ спостерігалось різке зниження вмісту високомолекулярних пептидів (>10 кДа) з одночасною появою численних фракцій низькомолекулярних пептидів (м.м. 290–527 Да), що свідчить про активацію протеолітичних процесів і розвиток ендотоксикозу пептидної природи. Ці зміни є імунологічно значущими, оскільки низькомолекулярні пептиди здатні модулювати активність клітин вродженого імунітету, впливати на експресію NLRP3 та вивільнення прозапальних цитокінів (IL-1 β , IL-6, TNF- α).

Поступове відновлення молекулярно-масового профілю пептидів у подальші строки (14–30 доба) відображає перехід від гострої запальної реакції до стадії репарації та формування рубцевої тканини, що супроводжується

нормалізацією показників флуоресценції та зменшенням конкуренції пептидів за зв'язування з альбуміном. Це вказує на зниження рівня ендогенної інтоксикації та стабілізацію метаболічних процесів у кровообігу.

Таким чином, молекулярно-масовий розподіл пептидів може розглядатися як чутливий імунобіохімічний маркер перебігу інфаркту міокарда, що відображає баланс між процесами протеолізу, ендотоксикозу та відновлення тканин. Використання флуоресцентних зондів для оцінки зв'язувальної здатності альбуміну є перспективним методом ранньої діагностики ішемічних ушкоджень і ступеня метаболічної інтоксикації. Встановлено, що на 1-шу добу після моделювання інфаркту міокарда відмічається дворазове зменшення інтенсивності флуоресцентного зонда K-35, що свідчить про збільшення конкуренції пептидів за місця зв'язування на молекулі альбуміна.

4.3.3. Вплив екстрагованих пептидів на макрофаги та Т-лімфоцити *in vitro*

Відомо, що регуляторна дія пептидів, одержаних з різних органів, може бути спрямована на лімфоїдні клітини (лімфоцити, трансформовані лімфоїдні лінії і т.ін). Дослідження впливу екстрагованих пептидів із серця поросят на клітини імунної системи є важливим етапом оцінки їхньої біологічної активності. Макрофаги та Т-лімфоцити є ключовими ефекторними клітинами імунної відповіді, тому їхня реакція на біоактивні сполуки може свідчити про потенційну імуностимулювальну або імуномодулювальну дію пептидів.

Для оцінювання імуномодулювальних властивостей екстрактів серця поросят було проведено *in vitro* дослідження з використанням культури клітин макрофагальної лінії RAW 264.7. Отримані дані наведено в таблицях 4.5–4.7.

Отримані результати свідчать, що пептидні екстракти, одержані з серця поросят, справляють виражений вплив на функціональну активність клітин макрофагальної лінії RAW 264.7. Спостерігалось дозозалежне підвищення секреції як прозапальних, так і протизапальних цитокінів.

Таблиця 4.5

**Вплив екстрактів серця поросят на продукцію IL-6
макрофагами RAW 264.7 *in vitro***

Варіант досліджу	Концентрація екстракту, мкг/мл	IL-6, пг/мл (M ± m)	% до контролю
Контроль (без стимуляції)	—	42 ± 4	100
LPS (1 мкг/мл)	—	265 ± 15 ***	631
Екстракт серця поросят	25	78 ± 6 *	186
Екстракт серця поросят	50	121 ± 10 **	288
Екстракт серця поросят	100	157 ± 12 **	374

Примітка. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ відносно контролю.

Таблиця 4.6

**Продукція TNF-α макрофагами RAW 264.7
після обробки екстрактами серця поросят**

Варіант досліджу	Концентрація екстракту, мкг/мл	TNF-α, пг/мл (M ± m)	% до контролю
Контроль (без стимуляції)	—	58 ± 5	100
LPS (1 мкг/мл)	—	310 ± 20 ***	534
Екстракт серця поросят	25	95 ± 8 *	164
Екстракт серця поросят	50	138 ± 11 **	238
Екстракт серця поросят	100	182 ± 14 **	314

Примітка. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ відносно контролю.

Зокрема, концентрація IL-6 після обробки екстрактами зростала у 1,9–3,7 рази порівняно з контролем, досягаючи максимуму при дозі 100 мкг/мл (157 ± 12 пг/мл). Аналогічна тенденція спостерігалась для TNF-α, рівень якого підвищувався з 58 ± 5 пг/мл (контроль) до 182 ± 14 пг/мл при тій самій концентрації екстракту. Такий ефект може свідчити про стимуляцію макрофагів до продукції медіаторів запалення, що є характерною ознакою активації вродженого імунітету.

**Продукція ІЛ-10 макрофагами RAW 264.7
після впливу екстрактів серця поросят**

Варіант досліджу	Концентрація екстракту, мкг/мл	ІЛ-10, пг/мл (M ± m)	% до контролю
Контроль (без стимуляції)	–	21 ± 2	100
LPS (1 мкг/мл)	–	47 ± 4 ***	224
Екстракт серця поросят	25	33 ± 3 *	157
Екстракт серця поросят	50	41 ± 4 **	195
Екстракт серця поросят	100	45 ± 5 **	214

Примітка. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ відносно контролю.

Водночас виявлено помірне, але достовірне підвищення секреції ІЛ-10 – ключового протизапального цитокіну, який бере участь у регуляції інтенсивності імунної відповіді. Збільшення концентрації ІЛ-10 при дії екстрактів може вказувати на збалансований характер їхньої дії, спрямованої не лише на активацію, але й на контроль запального процесу.

Таким чином, екстракти серця поросят проявляють комбіновану імуномодувальну дію, стимулюючи секрецію прозапальних цитокінів (ІЛ-6, TNF- α) при одночасній активації протизапальних механізмів через ІЛ-10. Подібна реакція клітин є типовою для природних пептидних регуляторів, які здатні підтримувати гомеостаз імунної системи.

У наукових джерелах зазначається, що регуляторна дія пептидів, одержаних з різних органів, може бути спрямована на лімфоїдні клітини – зокрема, лімфоцити та трансформовані лімфоїдні лінії. Це узгоджується з отриманими результатами, оскільки вплив екстрактів серця поросят на макрофаги може супроводжуватися вторинною активацією Т-лімфоцитів через цитокінову мережу. Таким чином, виявлена активність екстрактів свідчить про їх потенційну здатність модулювати як вроджену, так і адаптивну ланки імунної відповіді.

Для оцінювання імуномодулювальної активності екстрагованих пептидів серця поросят було проведено дослідження *in vitro* з використанням **культури Т-лімфоцитів** (клітинна лінія Jurkat). Отримані результати наведено у таблицях 4.8 та 4.9.

Таблиця 4.8

Вплив екстрактів серця поросят на секрецію IL-2 Т-лімфоцитами *in vitro*

Варіант досліджу	Концентрація екстракту, мкг/мл	IL-2, пг/мл (M ± m)	% до контролю
Контроль (без стимуляції)	—	18 ± 2	100
РНА (5 мкг/мл)	—	112 ± 10 ***	622
Екстракт серця поросят	25	37 ± 4 *	206
Екстракт серця поросят	50	59 ± 5 **	328
Екстракт серця поросят	100	81 ± 7 **	450

Примітка. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ відносно контролю.

Таблиця 4.9

Вплив екстрактів серця поросят на секрецію IFN-γ Т-лімфоцитами *in vitro*

Варіант досліджу	Концентрація екстракту, мкг/мл	IFN-γ, пг/мл (M ± m)	% до контролю
Контроль (без стимуляції)	—	26 ± 3	100
РНА (5 мкг/мл)	—	156 ± 12 ***	600
Екстракт серця поросят	25	54 ± 5 *	208
Екстракт серця поросят	50	86 ± 8 **	331
Екстракт серця поросят	100	119 ± 10 **	458

Примітка. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ відносно контролю.

Отримані результати свідчать, що екстракти серця поросят здатні стимулювати секрецію цитокінів IL-2 та IFN-γ Т-лімфоцитами *in vitro* у дозозалежний спосіб. Обидва цитокіни відіграють ключову роль у регуляції клітинного імунітету – IL-2 стимулює проліферацію Т-клітин та НК-клітин, тоді як IFN-γ підсилює їх цитотоксичну активність і сприяє активації макрофагів.

Підвищення рівня цих цитокінів під впливом пептидних екстрактів може свідчити про активацію Т-хелперної відповіді типу 1 (Th1), яка забезпечує ефективну клітинно-опосередковану імунну реакцію. Виявлений ефект

подібний до дії відомих мітогенів, що підтверджує наявність у складі екстрактів біологічно активних сполук з імуностимулювальними властивостями.

Таким чином, екстраговані пептиди серця поросят можуть розглядатися як природні регулятори функціональної активності Т-лімфоцитів, здатні підсилювати клітинну імунну відповідь.

Висновки до розділу 4

Альгінатні гідрогелі продемонстрували високу перспективність як полімерна основа для створення біосумісних і контрольовано деградуючих імплантатів завдяки природному походженню, нетоксичності, здатності до формування стабільних структур та вираженим адгезивним властивостям. Встановлено, що механізм вивільнення поліпептидів із альгінатної матриці безпосередньо залежить від її концентрації: зі зростанням вмісту альгінату відбувається перехід від конвективного масоперенесення до молекулярно-дифузійного, що дозволяє дозовано регулювати кінетику віддачі біоактивних молекул.

У дослідженнях *in vitro* показано, що гідрогелі з концентрацією альгінату 7,5% мас. забезпечують вивільнення понад 98% поліпептидних фракцій протягом семи екстракційних стадій (≈ 18 хв), що свідчить про високу ефективність і відтворюваність масоперенесення. У дослідах *in vivo* встановлено складніший характер взаємодії гелю з тканинами, що включає зустрічну дифузію білкових компонентів із навколишнього середовища, внаслідок чого концентрація білків у гелі зростала у 9,62 раза за 24 години. Такий механізм забезпечує пролонгований ефект імплантата та сприяє формуванню локального мікрооточення, насиченого регуляторними пептидами.

Флуоресцентні зонди Seta-470, Seta-560 та Seta-650 виявилися інформативними для моніторингу стану гідрогелю *in vivo*: перші два барвники чутливі до змін в'язкості, що дозволяє ідентифікувати щільні або деградовані ділянки, тоді як Seta-650 індикує локалізацію гелю незалежно від його реологічного стану. Визначено, що період напіврозпаду щільного альгінатного гідрогелю становить близько 4 днів у м'язовій тканині стегна та 6–8 днів у

міокарді щурів, що корелює зі зменшенням площі гідрогелю у 23 рази за 38 днів і відповідає оптимальним термінам механічної підтримки стінки серця у ранній постінфарктний період.

Екстракт серцевої цитоплазматичної фракції поросят характеризується домінуванням низькомолекулярних пептидів, що зумовлює його високу біологічну активність та потенціал для регенеративної медицини. У моделі інфаркту міокарда зафіксовано значні зміни у пептидному складі сироватки: вже через 1 добу зменшується частка високомолекулярних фракцій (>10 кДа) і з'являються низькомолекулярні пептиди (м.м. 290–527 Да), що вказує на активацію протеолізу та розвиток пептидного ендотоксикозу. Ці зміни супроводжуються модулюванням експресії NLRP3 та секреції IL-1 β , IL-6, TNF- α , що підтверджує імунобіологічну значущість пептидних фракцій.

Нормалізація пептидного спектра у строки 14–30 діб відображає перехід до репаративної фази та зменшення ендогенної інтоксикації. Використання флуоресцентного зонда K-35 продемонструвало можливість оцінки зв'язувальної здатності сироваткового альбуміну: зниження інтенсивності сигналу у 2 рази після 1 доби ішемії свідчить про підвищену конкуренцію пептидів за зв'язування з білком.

Екстракти серця поросят виявляють комбіновану імуномодулювальну дію: стимулюють секрецію IL-6 та TNF- α , водночас підвищуючи рівень IL-10. В експериментах *in vitro* зафіксовано дозозалежну активацію Т-лімфоцитів із підвищенням секреції IL-2 та IFN- γ , особливо за концентрації 100 мкг/мл, що свідчить про стимуляцію Th1-відповіді. Отримані результати підтверджують перспективність серцевих пептидних комплексів як природних регуляторів імунних та репаративних процесів, і створюють підґрунтя для подальших досліджень у клітинній та тканинній терапії.

Основні положення цього розділу викладено у 19 публікаціях автора [24, 28, 45, 46, 50, 56, 57, 58, 59, 61, 65, 67, 79, 82, 83, 86, 88, 89, 90].

РОЗДІЛ 5

КАРДИОПРОТЕКТОРНА АКТИВНІСТЬ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН ТА ЕКСТРАКТІВ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ФРАГМЕНТІВ СЕРЦЯ ПОРОСЯТ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГОСТРОЇ ІШЕМІЇ ТА НЕКРОЗУ СЕРЦЯ (ЗА ДАННИМИ ЕЛЕКТРОФІЗІОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ)

Одним з перших ознак розвитку інфаркту міокарда поряд з больовим синдромом є зміна електрофізіологічних показників, пов'язаних з порушенням метаболізму в серцевій тканині. І тому, незважаючи на багаторічну історію розвитку, електрокардіографічне дослідження є одним із критеріїв при встановленні даного діагнозу.

У хворих з коронарним синдромом на тлі ішемічної хвороби серця електрична нестабільність міокарда визначається складною взаємодією факторів: ішемією міокарда, дисфункцією лівого шлуночка, дисбалансом вегетативної регуляції, порушенням процесів реполяризації. Беручи до уваги те, що висота підйому сегменту *ST* над ізолінією та його амплітуда, а також поява *Q* або *QS* є достовірними критеріями, які віддзеркалюють ступінь та глибину ураження міокарда, важливою є оцінка функціонального стану серцевого м'яза саме за електрокардіографічними змінами.

Неінвазивна електрофізіологія є результатом сучасних підходів до математичного опису та обробки вимірювань електрокардіограми з використанням в аналізі відносно складних у порівнянні зі звичайними амплітудно-часовими показниками характеристик і параметрів. Крім того, дослідження динаміки електрокардіографічних показників дозволяє оцінити ступінь прояву морфологічних змін серця при розвитку деструктивно-запальної реакції в органі та провести моніторинг відновлення серцевого м'яза в процесі лікування.

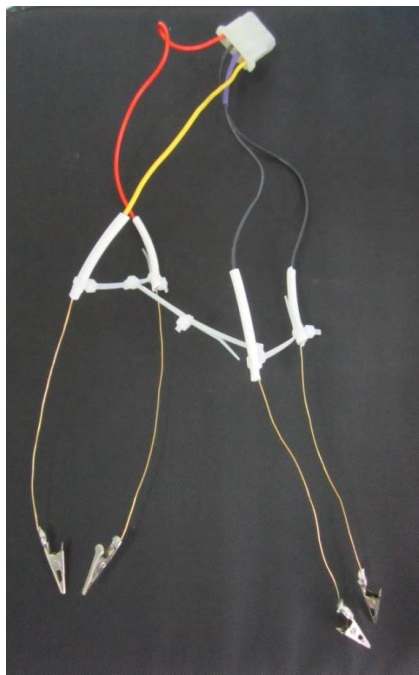
Мета досліджень цього розділу – це аналіз електрофізіологічних показників серця при розвитку деструктивно-дистрофічних та відновлювальних

процесів серцевого м'яза на моделі перев'язки лівої коронарної артерії після введення алогенних МСК, та екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на тлі кріодеструкції серця та метаболічного некрозу міокарда для визначення ефекту кардіопротекторної дії цих чинників.

5.1. Методика реєстрації електрокардіограм у щурів

Методика реєстрації електрокардіограм у щурів за допомогою «ваги»

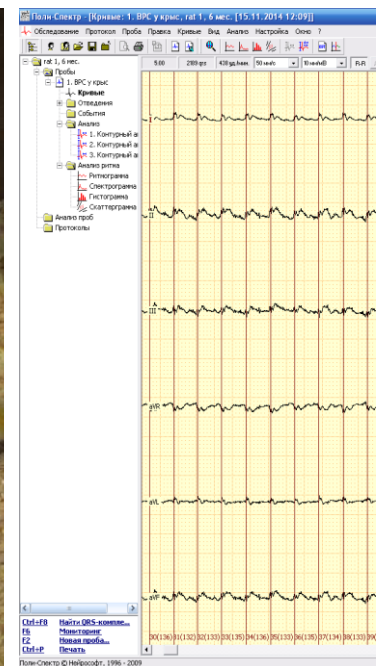
Для достовірного отримання результатів контурного аналізу запис ЕКГ здійснювали в умовах, максимально наближених до вільної поведінки тварин. Для цього нами був розроблений та запатентований спосіб реєстрації ЕКГ, який полягає в тому, що для зниження больового синдрому тваринам на шкірі дистальних відділів кінцівок попередньо встановлювали «електроди-кільця» (рис. 5.1) [81]. Для вільного переміщення щурів при записі ЕКГ було виготовлено пристрій («вага») та кабель, що дозволяє передавати сигнал від електродів до кабелю кардіографа.



А



В



С

Рис. 5.1. Реєстрація ЕКГ у щурів в умовах, максимально наближених до вільної поведінки тварин: А – пристрій для запису ЕКГ за допомогою «ваги»; В – реєстрація ЕКГ у щура; С – приклад ЕКГ щура.

Зареєстровані ЕКГ за вимірюванням часових інтервалів та амплітуд елементів кардіограми запропонованим методом не відрізняються від ЕКГ, отриманих при ігольчастих контактах, при цьому повністю зникає побічний ефект у вигляді больового синдрому, що дуже важливо для даного виду експериментів.

Телеметрична система для реєстрації електрокардіограм

Для одержання електрофізіологічних показників при проведенні експериментальних досліджень аналізу варіабельності серцевого ритму спільно з вченими кафедри фізичної та біомедичної електроніки і комплексних інформаційних технологій Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна була розроблена телеметрична система, схема якої представлена на рис. 5.2. [30, 78].

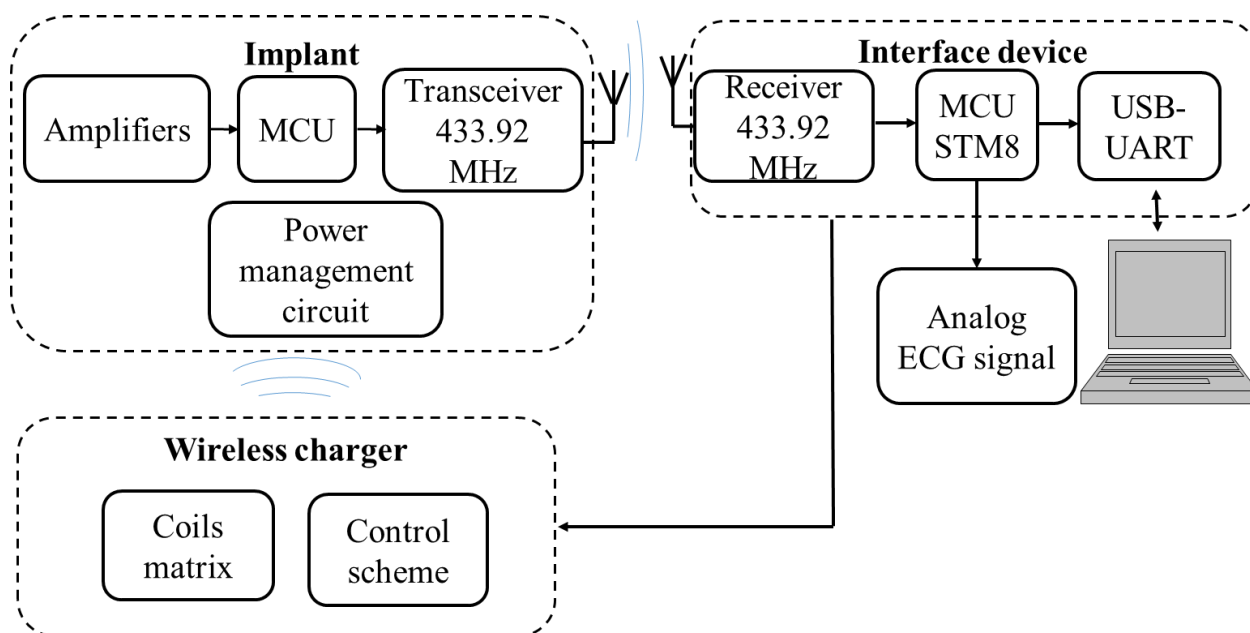


Рис. 5.2. Схема телеметричної системи реєстрації ЕКГ для експериментальних тварин

Вона дозволяє реєструвати ЕКГ у щурів у природних умовах вільної поведінки. Відмінною особливістю системи є універсальність, що проявляється в можливості поєднання її з електрокардіографами різних виробників з відповідним програмним забезпеченням.

Система телеметрії складається із датчика (*transmitter*), що передає сигнал від біологічного об'єкта на частоті 433.92 МГц, базового модуля (*receiver*), який відповідає за інтерфейс та спеціально розробленої клітки для тварини з можливістю заряджати акумулятор датчика (рис. 5.3).

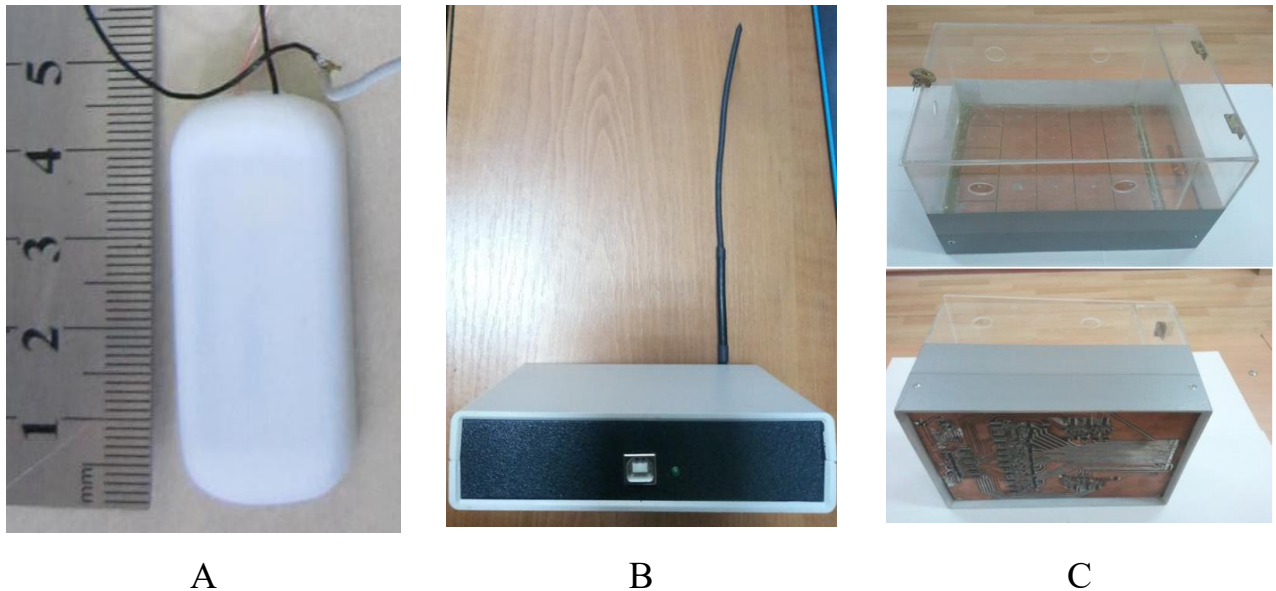


Рис. 5.3. Телеметрична система. А – датчик; В – базовий блок; С – клітка-бездротовий зарядний пристрій

Датчик представляє собою імплант, корпус якого виконаний із фторопласту. За своїми технічними характеристиками він може реєструвати: одне відведення ЕКГ; показник температури; показник заряду акумулятора. Дальність передачі сигналу складає до 5 м. Габаритні розміри дозволяють імплантувати його щурам під шкіру на рівні черевної порожнини (рис. 5.3 А).

Базовий блок системи телеметрії виконує функції сполучення пристрою з персональним комп'ютером, управління бездротовим зарядним пристроєм, а також дозволяє підключати різні електрокардіографи інших фірм (рис. 5.3 В).

Етапи імплантації датчика представлено на рис. 5.4.

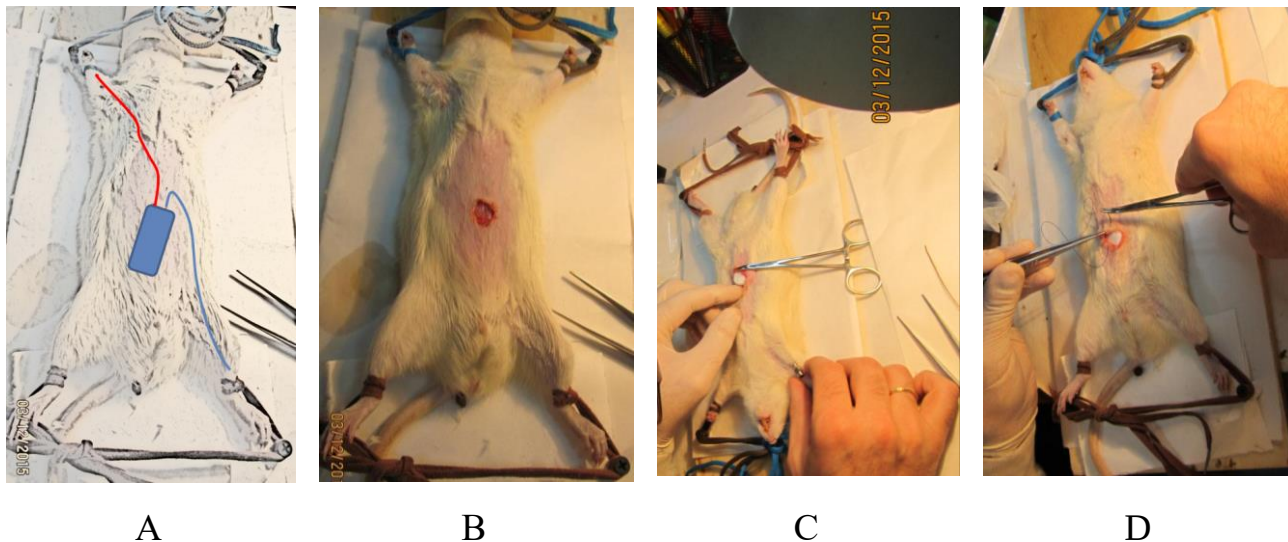


Рис. 5.4. Імплантація датчика під шкіру на рівні черевної порожнини. А – схема розташування датчика в черевній порожнині щура; В – підготовка операційного поля; С – підшкірна імплантація датчика і проведення електродів; D – Накладання швів на шкіру.

Конструкція бездротового зарядного пристрою – клітки складається з двох друкованих плат: матриці котушок та плати керування. Матриця котушок має розмір 20х30 см, розмір активної ділянки – 20х20 см (рис. 5.3 С). Площа активної зони заповнена плоскими котушками, які утворюють матрицю з 5х5 елементів. Котушки підключені до схеми комутації, як показано на рис.5.5. Конденсатор $C1$ перемикається на одну з котушок $L1$ – $L25$ та утворює послідовний резонансний контур.

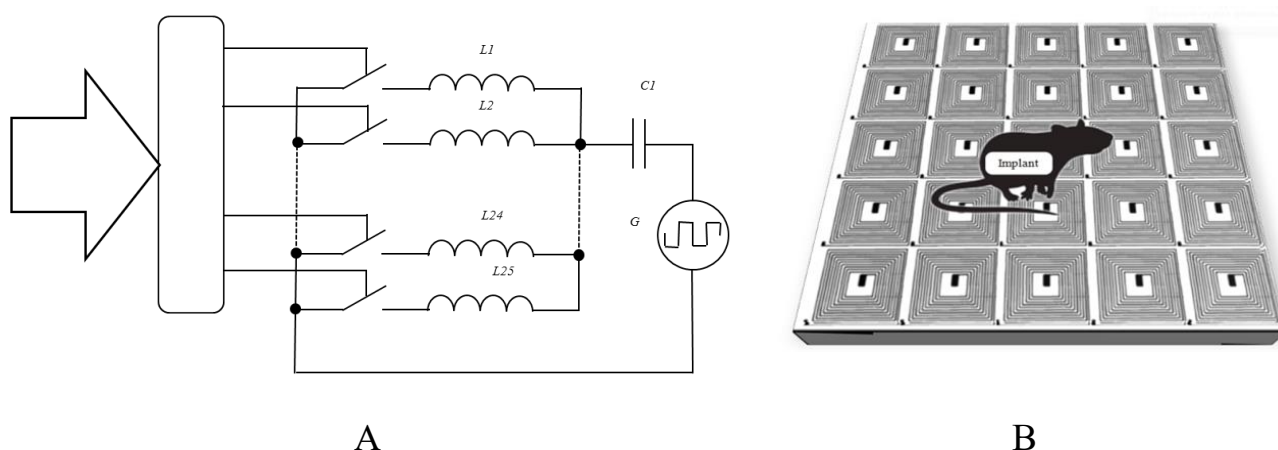


Рис. 5.5. Бездротовий зарядний пристрій – клітка. А – принципова схема зарядного пристрою; В – схема матриці з 5х5 елементів (котушок)

Візуалізація, обробка та збереження даних температури та ЕКГ здійснюється під управлінням програмного забезпечення (ПЗ), розробленого

мовою високого рівня C++ (рис. 5.6). Також, ПЗ реалізує алгоритм пошуку тварини над матрицею котушок за максимальним струмом заряду та їх комутацію з метою мінімізації електромагнітного впливу на піддослідну тварину, і з використанням цієї функції можна проводити фізіологічні тести щодо пересування тварини по клітці.

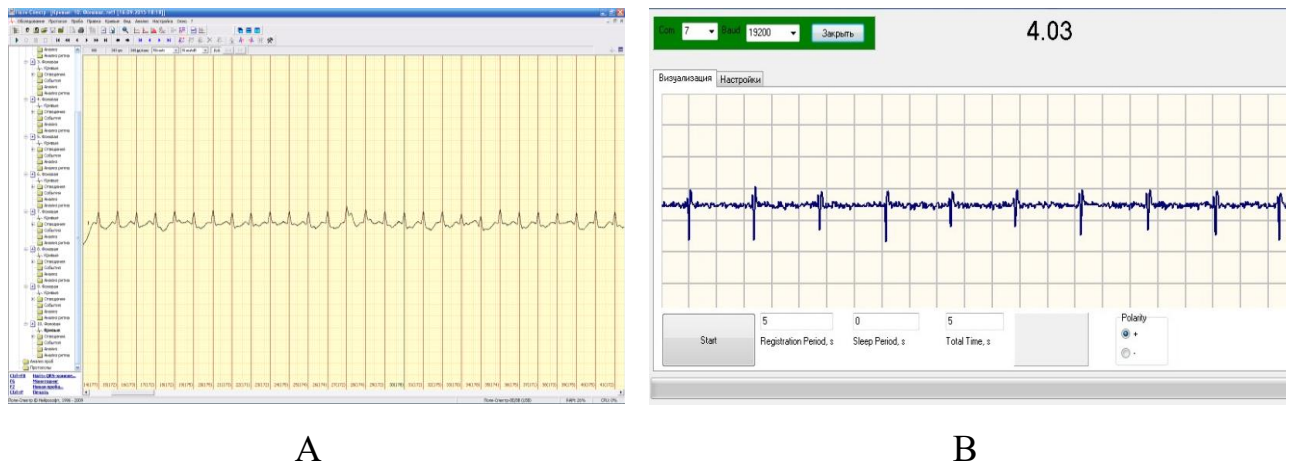


Рис. 5.6. Приклади ЕКГ, які зареєстровані телеметричною системою. А – сигнал, отриманий електрокардіографом «ПоліСпектр/8В» з ПЗ «Полі-Спектр-Ритм»; В – сигнал, отриманий розробленим нами ПЗ

Таким чином, розроблена система телеметрії успішно апробована *in vivo*, що відкриває перспективи виконання достовірних досліджень, коли експеримент максимально наближений до умов вільної поведінки тварин у природних умовах утримання. З використанням зарядного пристрою, заснованого на керованій роботі матриці котушок-випромінювачів, вирішена технічна проблема безперебійного живлення імплантата та реалізована можливість дотримання біоетичних принципів при проведенні експериментальних досліджень на тваринах. Базовий блок пристрою оснащений аналоговим формувачем кардіосигналу, що відкриває можливості використовувати електрокардіограф інших виробників з відповідним програмним забезпеченням.

5.2. Вплив мезенхімальних стромальних клітин на функціональний стан міокарда щурів на моделі перев'язки лівої коронарної артерії

Дотримуватися плану аналізу електрокардіограми і повною мірою охарактеризувати її у дрібних ссавців вдавалося не завжди. При більш детальному аналізі в нормі спостерігали зубець Р, розташований перед комплексом QRS вище ізолінії, і отже джерело збудження – синоатріальний вузол.

У нормі тривалість зубця Р становила $25,8 \pm 0,5$ мс. Амплітуда зубця Р досягала 0,03мВ, при цьому він «двогорбий». Спочатку відбувається збудження правого, а потім лівого передсердя (рис. 5.7.).



Рис. 5.7. Електрокардіографічний комплекс P-QRS-T щура в нормі (II відведення). Суцільна стрілка – проведення електричного сигналу по передсердям; пунктирна стрілка – проведення електричного сигналу по шлуночках

Аналіз усередненого QRS комплексу. В II відведенні зубці Q і s були відсутні на ЕКГ. Тривалість зубця R становила $29 \pm 0,88$ мс, а амплітуда зубця R – $0,27 \pm 0,02$ мВ. Сегмент ST також не завжди можна було візуалізувати. Періодично виникав дрейф («плавання») ізолінії в результаті порушення контактів зі шкірою, що ускладнювало в деяких випадках виділити правильні кордони зубців. Безпосередньо після комплексу QRS реєстрували зубець Т.

Амплітуда зубця Т у нормі дорівнювала $10,8 \pm 0,9$ мВ, що становила $\approx 1/3$ зубця R. Електрична систола шлуночків (інтервал QT), від якої залежить частота серцевих скорочень в нормі становила $77,6 \pm 1,5$ мс.

Електрокардіографічний висновок по групі норми:

- 1) Джерело ритму – синусовий ритм;
- 2) Регулярність ритму – правильний ритм;
- 3) ЧСС = 408 ± 15 скорочень на хвилину;
- 4) Положення середньої електричної осі серця (кут α) $+ 47,8^\circ \pm 5,5$; (у людини нормальне положення кута α становить від $+ 30^\circ$ до $+ 69^\circ$);
- 5) Детальні вимірювання ЕКГ-показників представлені в табл. 5.1.

Таблиця 5.1

Електрокардіографічні показники у щурів в нормі в стандартних (I, II, III) і додаткових (avR, avL, avF) відведеннях ($M \pm m$)

Показники	Відведення					
	I	II	III	avR	avL	avF
P, мВ	–	$0,03 \pm 0,005$	–	–	–	–
P, мс	–	$25,8 \pm 0,5$	–	–	–	–
Q, мВ	–	–	–	$-0,22 \pm 0,02$	$-0,03 \pm 0,01$	–
Q, мс	–	–	–	$27,5 \pm 0,8$	$8,5 \pm 3,7$	–
R, мВ	$0,17 \pm 0,02$	$0,27 \pm 0,02$	$0,11 \pm 0,03$	–	$0,05 \pm 0,01$	$0,19 \pm 0,02$
R, мс	$24,9 \pm 1,0$	$29 \pm 0,88$	$20,2 \pm 4,7$	–	$13,2 \pm 3,4$	$29,2 \pm 0,6$
T, мВ	$0,07 \pm 0,01$	$0,10 \pm 0,02$	$0,05 \pm 0,01$	$-0,07 \pm 0,01$	$0,05 \pm 0,01$	$0,07 \pm 0,02$
T, мс	$44 \pm 0,17$	$48 \pm 0,1,7$	$46 \pm 0,1,9$	$45,7 \pm 0,10$	$47,7 \pm 0,08$	$46,3 \pm 0,04$
QRS, мс	–	$30,9 \pm 0,7$	–	–	–	–
QT, мс	–	$77,6 \pm 1,5$	–	–	–	–
R-R ср., мс	–	$148,6 \pm 6,0$	–	–	–	–
ЧСС, скор./хв.	–	408 ± 15	–	–	–	–
Кут α , °	–	$47 \pm 5,5$	–	–	–	–

Примітка: у таблиці є незаповнені клітки через відсутність відповідних зубців або обмеженості чутливості електрокардіографа.

Оскільки електрокардіографію проводили в якості скринінгового дослідження, тому результати експерименту ліпше представити в динаміці за строком спостереження.

Електрокардіографічні показники щурів на 1-шу добу після перев'язки лівої коронарної артерії

Використання моделі перев'язки лівої коронарної артерії серця дозволило сформуванню зону пошкодження органа, електрокардіографічні зміни якого характерні для інфаркту міокарда [222].

Наслідки перев'язки лівої коронарної артерії на 1-шу добу у більшості тварин групи I відбивалися, перш за все на зубці R. Відзначали зниження його амплітуди, що свідчило про порушення збудження передсердь.

Комплекс QRS набував зміни характерні для розвитку найгострійшої і гострої фази інфаркту міокарда. Перш за все, падіння амплітуди зубця R в II і в I відведенні до 0,10 і 0,07 мВ відповідно, що на 62% значимо нижче показників норми (табл. 5.2).

Поряд зі зниженням амплітуди зменшувалася тривалість зубця R в II відведенні на 25% і на 44% в I відведенні. В цілому тривалість комплексу QRS знижувалася з 30,0 до 25,7 мс. Результатом цих змін було зменшення тривалості RR інтервалів до 125,4 мс при нормі 148 мс, і, як наслідок, збільшення частоти серцевих скорочень на 19% (до 487 ударів / хв) у порівнянні з нормою, що свідчило про посилену функціональну активність серця в стані ішемії органа.

Зубець T був незначно збільшений до 0,12 мВ, часто зливався з комплексом QRS і формував елевацію сегмента ST. Як відомо, сегмент ST відповідає періоду серцевого циклу, коли обидва шлуночка повністю охоплені збудженням.

На ЕКГ у щурів реєстрували елевацію сегмента ST в I, II, avL відведеннях, що свідчило про порушення кровопостачання (епікардіальне і трансмуральне ішемічне ушкодження) в басейні міжшлуночкової гілки лівої коронарної артерії. Сегмент ST розташований вище ізолінії з дугою, зверненою

опуклістю догори у вигляді монофазної кривої (рис. 5.8,А, рис. 5.9). Наявність опуклості сегмента ST зумовлена загибеллю кардіоміоцитів в результаті тривалої ішемії.

У однієї третини (5) тварин реєстрували глибокий зубець Q або QS в I, II, avL відведеннях в середньому дорівнював мінус $0,1 \pm 0,02$ мВ і тривалістю до $23,1 \pm 1,3$ мс (табл. 5.2) (рис. 5.8 В.). Максимальний показник зубця Q досягав – мінус 0,16 мВ. Також реєстрували реципрокні (зворотні) зміни в avR відведенні, що вказувало на наявність некрозу в відповідних ділянках передньої стінки серця і формування у щурів поширеного передньо-бічного інфаркту міокарда.

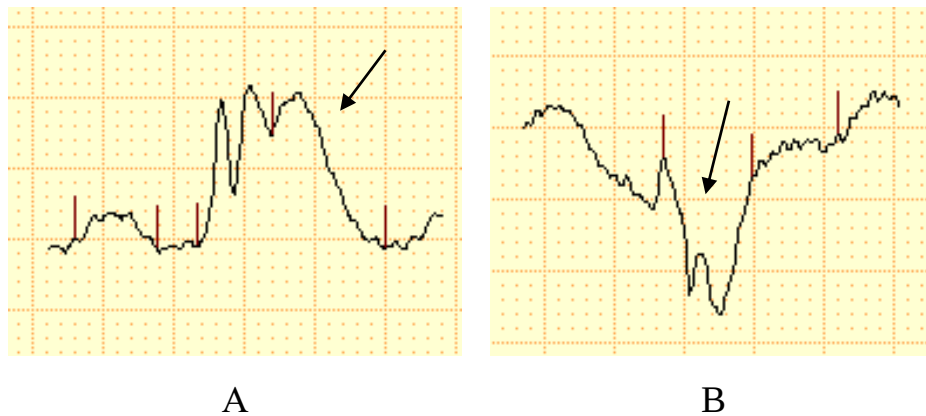


Рис. 5.8. Електрокардіограма щура групи I (II відведення) на 1-шу добу після перев'язки лівої коронарної артерії: А – елевація сегмента ST; В – глибокий зубець QS

Слід зазначити, що у 5 з 15 щурів у III і avF відведеннях відзначали зникнення зубця S і появу незначної елевації сегмента ST над ізолінією, що характеризує ЕКГ картину як прояв ішемії і ішемічних ушкоджень в прикордонних з некрозом топографічних ділянках серця. Типова картина ЕКГ щурів групи I на 1-шу добу після моделювання некрозу міокарда представлена на рис. 5.9.

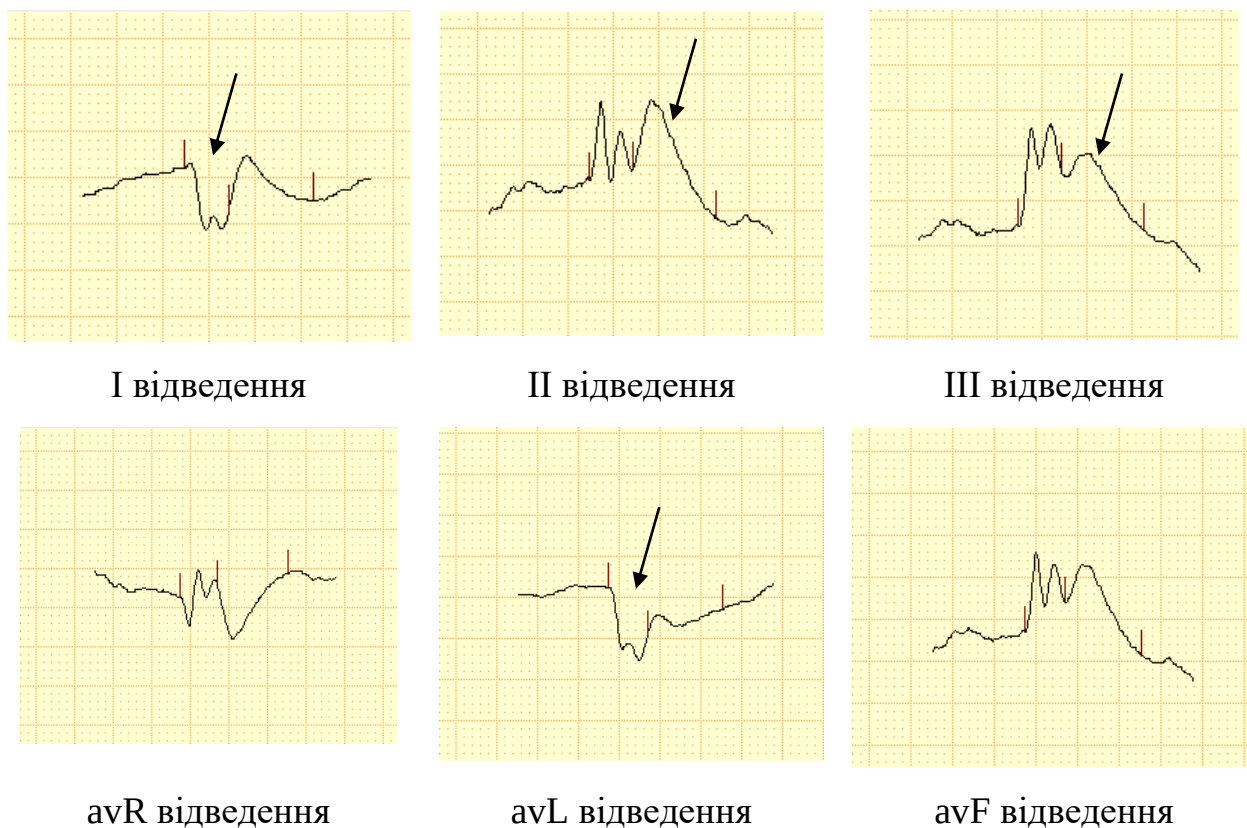


Рис. 5.9. Електрокардіографічні комплекси щурів після моделювання некрозу міокарда (група 1) на 1-шу добу. I та avL відведення: стрілочка – зубець QS; II відведення: стрілочка – «коронарний» зубець T; III та avF відведення: стрілочка – сегмент ST

Оскільки найбільш виражені зміни на ЕКГ реєстрували у II, I, і avL відведеннях, то в подальшому аналіз електрокардіографічних показників проводили в цих же відведеннях (табл. 5.2, 5.3). Порушення кровопостачання лівого шлуночка відбивалися не тільки на змінах комплексу QRS, але і в інтервалі QT, тривалість якого знижувалася з 77 до 67 мс. Кут α° при цьому істотно не змінювався (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

**Електрокардіографічні показники щурів на 1-шу добу
після моделювання некрозу міокарда (II відведення) (M±m)**

Показники	Норма	1 ІМ (Контроль)	2 ІМ + МСК
P, мВ	0,03±0,01	0,01±0,01	0,02±0,01
P, мс	25±0,5	25,4±0,8	25,2±0,3
Q, мВ	—	—	—
Q, мс	—	—	—
R, мВ	0,27±0,02	0,10±0,02 ¹	0,18±0,01 ^{1,2}
R, мс	29±0,88	21,6±2,3 ¹	23,0±1,9 ¹
T, мВ	0,10±0,02	0,12±0,02	0,04±0,02
T, мс	48±1,7	39,6±3,4	43,2±3,0
QRS, мс	30±0,7	25,7±0,6	25,2±1,0
QT, мс	77±1,5	67,7±2,2	70,9±4,0
R-R ср., мс	148±6,0	125,4±5,6 ¹	120,6±4,1 ¹
ЧСС, скр./хв.	408±15,6	487,9±16,4 ¹	502,9±16,1 ¹
Кут α, °	47±5,5	48,9±12,5	49,2±11,2

Примітки: 1 – статистично значимо, відносно групи норми, $p < 0,05$; 2 – статистично значимо, відносно групи контролю, $p < 0,05$.

Таблиця 5.3

**Наявність і характеристики зубця Q в avL відведенні
(1-ша доба після моделювання ІМ) (M±m)**

Показники	Норма	ІМ (Контроль)	ІМ+МСК
Q, мВ	-	-0,10±0,02 ¹	-0,08±0,01 ¹
Q, мс	-	23,1±1,3	22±5,4
n із зубцем Q/n заг	0/10	5/15 ¹	3/15 ²

Примітки: ¹ – статистично значимо відносно групи норми, $p < 0,05$;
² – статистично значимо відносно групи контролю, $p < 0,05$.

Таким чином, у щурів у групі після перев'язки низхідної гілки лівої коронарної артерії на 1-шу добу реєстрували електрокардіографічні показники, характерні для поширеного передньо-бічного інфаркту міокарда, що підтверджувалося зміною кардіографічних комплексів в II, I, і avL відведеннях.

У разі введення МСК після моделювання експериментального некрозу міокарда (група 2, «ІМ + МСК») спостерігали зміни ЕКГ, що пов'язані з порушенням процесів реполяризації міокарда. У II відведенні реєстрували амплітуду зубця R, яка була на 33,3% менше в порівнянні з групою норми, і на 80% більше в порівнянні з групою контролю (табл. 5.2.). На ЕКГ реєстрували

зниження амплітуди зубця Т до 0,04 мВ, а в деяких випадках реєстрували негативний зубець Т в І і аVL відведеннях (табл. 5.2, 5.3, рис. 5.10.).

Спостерігали скорочення відносно норми тривалості комплексу QRS і інтервалу QT та відповідне збільшення на 25% частоти серцевих скорочень, що свідчить про функціональну напругу серця в умовах обмеженої оксигенації ділянки міокарда. Відзначали менш виражені зміни в порівнянні з групою контролю того ж терміну. У II відведенні реєстрували зниження амплітуди зубця R в 1,5 раза в порівнянні з групою норми (0,06 мВ), проте цей показник був значно вище, ніж у контролі. Зубець Q відзначали тільки у 3 з 15 тварин в аVL відведенні (табл. 5.3.).

Таким чином, через добу після моделювання інфаркту міокарда в групі 2 відзначили порушення функції серця у вигляді зниження скорочувальної здатності органа. У 20% тварин реєстрували зубці Q, які свідчать про розвиток некрозу передньої ділянки міокарда.

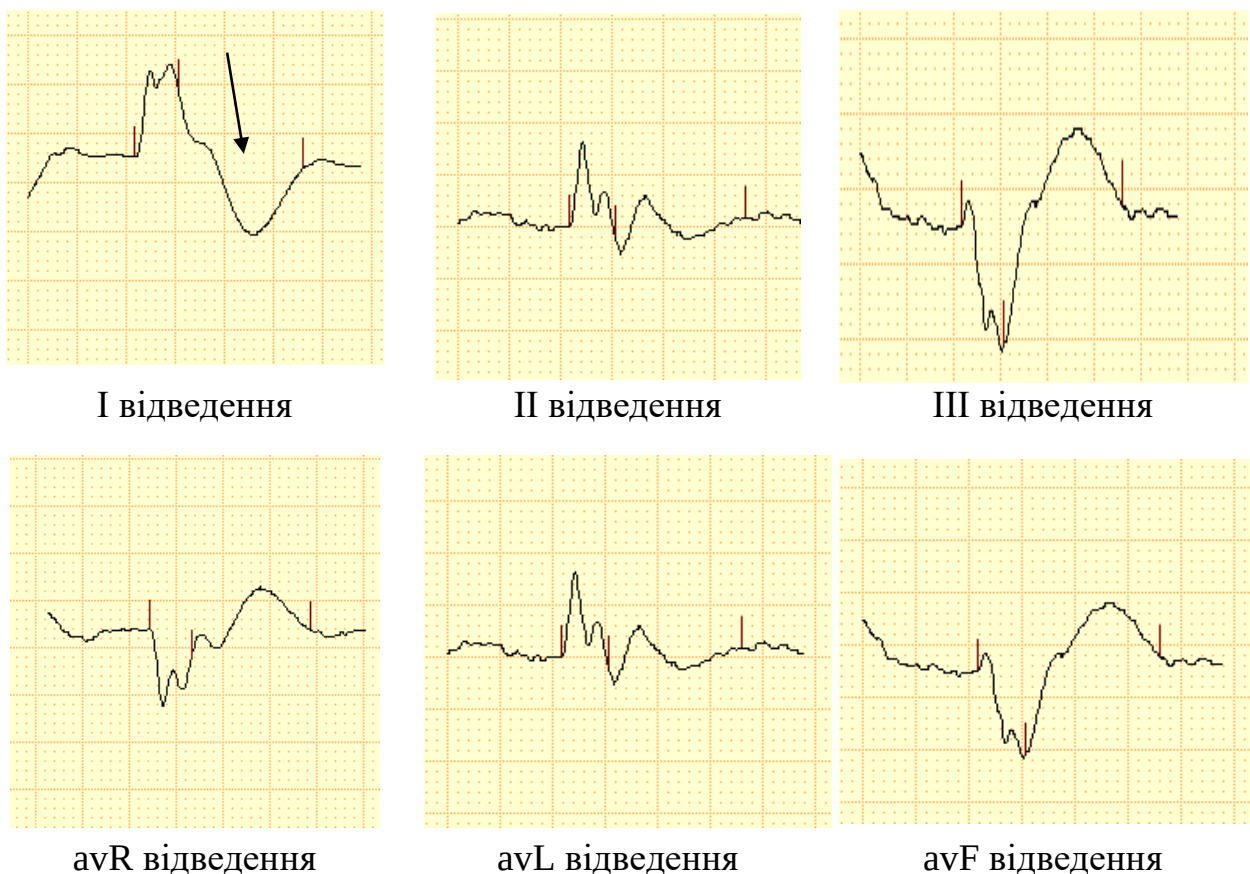


Рис. 5.10. Електрокардіографічні комплекси щурів після моделювання некрозу міокарда (група 2) на 1-шу добу. I відведення: стрілочка – негативний зубець Т

Електрокардіографічні показники щурів на сьому добу після перев'язки лівої коронарної артерії

Через 7 діб після перев'язки лівої коронарної артерії (група контролю, (ІМ) основні кардіографічні показники майже не відрізнялися від показників попереднього терміну спостереження, однак мали тенденцію до їх незначного наближення до норми. Зокрема, реєстрували чіткий комплекс QRS. Амплітуда зубця R в ІІ відведенні досягала $0,17 \pm 0,02$ мВ, тривалістю до 23 мс. Також відзначали зниження амплітуди зубця Т і збільшення його тривалості до 42 мс. При цьому реєстрували варіанти збереженого високого зубця Т, що свідчить про субепікардіальну ішемію серця (табл. 5.4, 5.5).

Глибокий зубець Q до мінус $-0,08 \pm 0,03$ мВ, тривалістю $21,3 \pm 4,0$ мс. реєстрували у 4-х з 15 тварин в аVL відведенні. У двох щурів, у яких на 1-шу добу реєстрували глибокий зубець Q відзначали депресію сегмента ST, що свідчило про триваючу загибель кардіоміоцитів у зоні пошкодження (рис. 5.11).

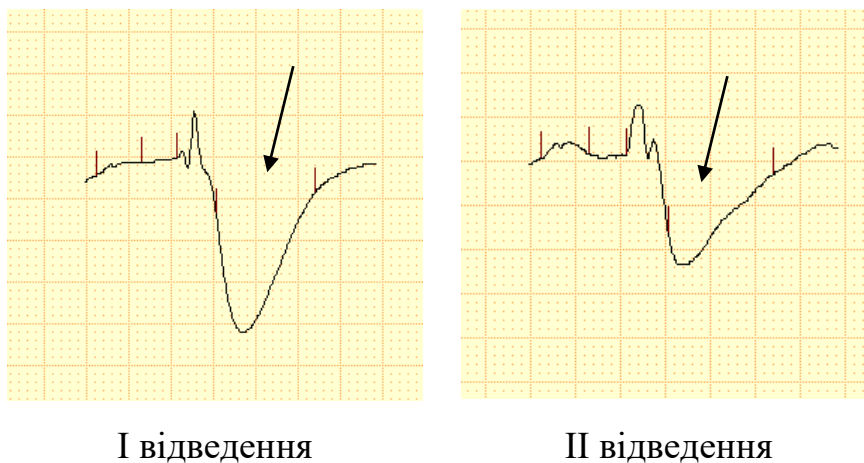


Рис. 5.11. Електрокардіографічні комплекси щурів після моделювання некрозу міокарда (група 1) на 7-му добу. Стрілочка – депресія сегмента ST

**Електрокардіографічні показники щурів на 7 добу
після моделювання некрозу міокарда (II відведення) ($M \pm m$)**

Показники	Норма	1 ІМ (Контроль)	2 ІМ + МСК
P, мВ	0,03±0,01	0,02±0,01	0,02±0,01
P, мс	25±0,5	26,5±0,7	24,0±0,5
Q, мВ	—	—	—
Q, мс	—	—	—
R, мВ	0,27±0,02	0,17±0,02 ¹	0,23±0,02 ²
R, мс	29±0,88	23,0±1,4 ¹	23,3±0,6 ¹
T, мВ	0,10±0,02	0,04±0,03 ¹	0,06±0,02
T, мс	48±1,7	42,8±3,1	41,2±1,9
QRS, мс	30±0,7	28,7±1,2	25,4±0,4
QT, мс	77±1,5	72,5±3,4	71,1±3,1
QTс, мс	201,8±4,2	205,9±8,0	201,7±7,8
R-R ср., мс	148±6,0	123,0±2,9	123,9±2,0
ЧСС, скр./хв.	408±15,6	491,4±10,8 ¹	485,2±7,4 ¹
Кут α , °	47±5,5	23,2±8,9 ¹	47,2±9,8 ²

Примітки: ¹ – статистично значимо відносно групи норми, $p < 0,05$; ² – статистично значимо відносно групи контролю, $p < 0,05$.

Тривалість R-R інтервалів достовірно не відрізнялося від попереднього терміну спостереження цієї ж групи – 123 мс, і тому ЧСС залишалася на тому ж рівні – $491,4 \pm 10,8$ ударів/хв. Слід зазначити, що кут α – показник електричної осі серця, був різко змінений ($23,2 \pm 8,9^\circ$), і значно відрізнявся від показника попереднього терміну і норми (табл. 5.4, 5.5). Ця обставина свідчить про початок процесів ремоделювання серця і зміни напрямку провідності сигналу, внаслідок органічного ураження серцевої тканини.

**Величина (амплітуда (мВ)) і тривалість (мс) зубця R після моделювання
некрозу міокарда в avL відведенні на 7-му добу ($M \pm m$)**

Показники	Норма	ІМ (Контроль)	ІМ+МСК
Q, мВ	-	0,08±0,03	0,07±0,03
Q, мс	-	21,3±4,0	26,0±1,0
n із зубцем Q/n заг	10	4/15 ¹	2/15 ^{1,2}

Примітки: ¹ – статистично значимо відносно групи норми, $p < 0,05$;

² – статистично значим, відносно групи контролю, $p < 0,05$.

Таким чином, у групі 1 «Контроль» після перев'язки нисхідної гілки лівої коронарної артерії відзначали перехід найгострішої стадії інфаркту міокарда в гостру і підгостру, що підтверджувалося появою глибокого сегмента ST.

На 7-му добу після введення МСК на тлі ІМ (група 2, ІМ + МСК) спостерігали відновлення в II відведенні зубця R до 23 мВ, який достовірно не відрізнявся від показника норми. Гостра стадія некрозу міокарда змінювалася підгострою і характеризувалася відновленням показників ЕКГ. У avL відведенні до цього терміну було зафіксовано тільки 2 випадки з 15 (13,3%) появи зубця Q мінус $-0,12 \pm 0,03$ мВ, тривалістю 26 мс (табл. 5.4, рис. 5.12).

Частота серцевих скорочень була незначно збільшена і становила 485,2 ударів / хв. Кут електричної осі серця становив $47,2^\circ$ і не відрізнявся від норми. Це свідчило, що процеси ремоделювання в серці зазнавали незначних змін. Ймовірно, функціональний резерв міокарда підвищувався за рахунок стимуляції ангіогенезу і розвитку колатерального кровотоку.

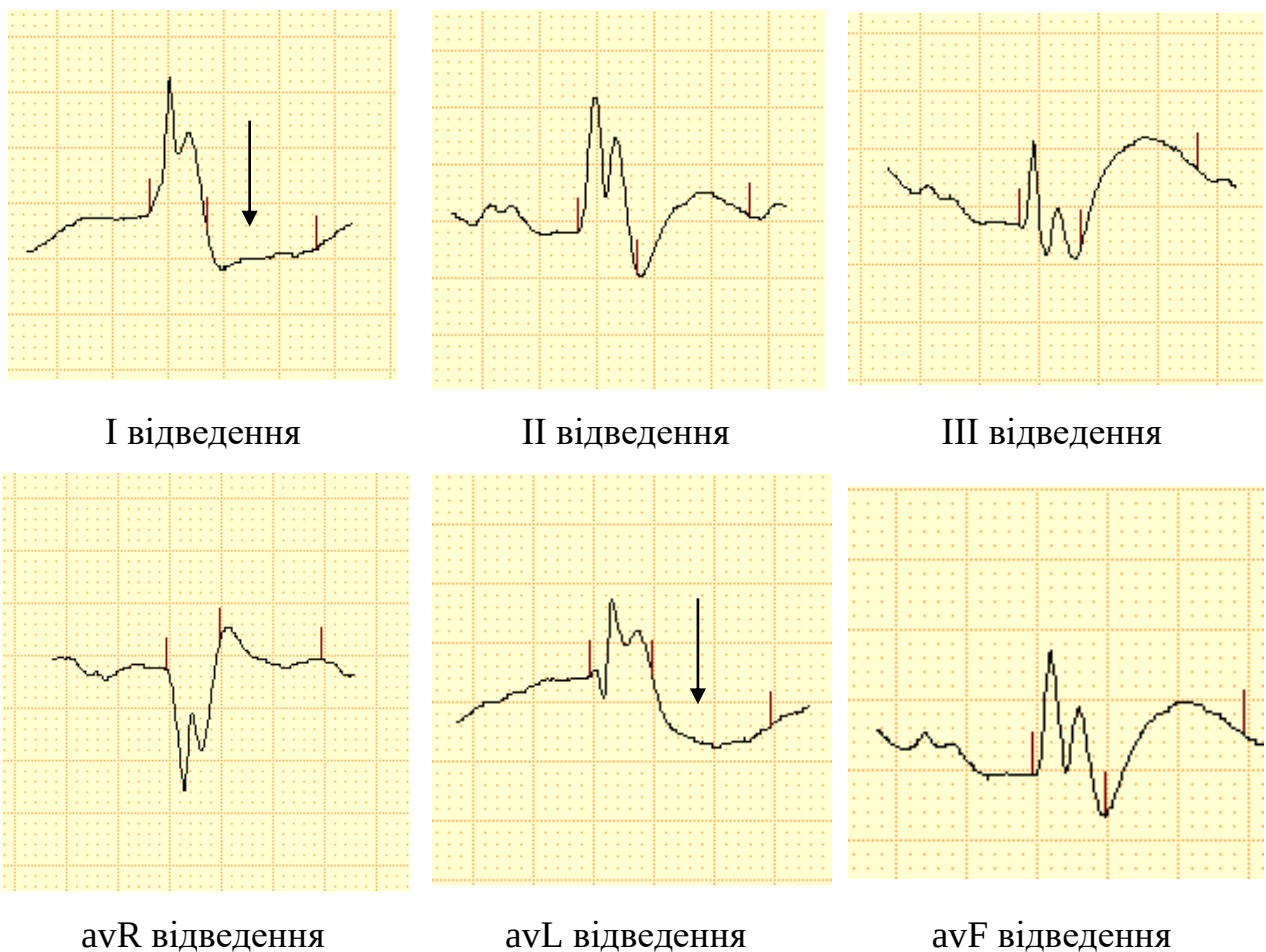


Рис. 5.12. Електрокардіографічні комплекси шурів після моделювання некрозу міокарда (група 2) на 7-му добу. I, avL відведення: стрілочка – негативний зубець T

Таким чином, електрокардіографічні показники вказували на проходження значних змін у міокарді у тварин групи 2 в бік наближення їх до норми, що може свідчити про нормалізацію кровотоку в патологічно змінених ділянках серця і мінімальну кількість ділянок, що піддаються ремодуляції і формуванню сполучнотканинного рубця.

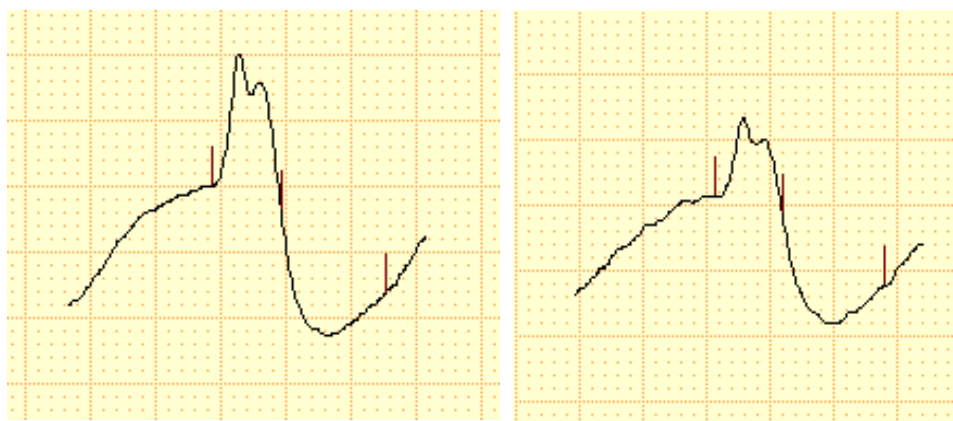
Електрокардіографічні показники щурів на чотирнадцяту добу після перев'язки лівої коронарної артерії

У групі 1 (ІМ «Контроль») на 14-ту добу спостереження відзначали ознаки адаптації серцево-судинної системи до нового гемодинамічного стану. Відомо, що при аналізі морфологічних характеристик міокарда при моделюванні інфаркту до цього терміну спостереження відбувається заміщення некротизованих ділянок серцевого м'яза на сполучну тканину і початок формування постінфарктного рубця. Тому до цього терміну ступінь запального процесу був знижений, і, як наслідок, відбувалося відновлення функціональних можливостей органа, включаючи електрофізіологічні показники.

За результатами експерименту статистично значущих відмінностей від норми досліджуваних показників тварин групи 1 «Контроль» по II відведенню не спостерігалось. Однак показник електричної осі серця склав $33,2 \pm 7,3^\circ$, що достовірно відрізнявся від показника норми. У 2-х випадках у avL відведенні реєстрували зубець QS до мінус $-0,09$ мВ.

У II відведенні реєстрували високий «коронарний» зубець T, який свідчить про субендокардіальну ішемію, відповідної стінки органа і депресію сегмента ST, що характеризує початкову фазу рубцювання.

У I і avL відведенні реєстрували яскраво виражену депресію сегмента ST і негативний зубець T до $-0,15$ мВ, що свідчить про субендокардіальне ішемічне пошкодження і субепікардіальну ішемію, що характерні для підгострої стадії інфаркту міокарда і порушення проходження електричного сигналу по серцевому м'язу в передньо-бічний стінці (рис. 5.13, табл. 5.6, 5.7).



I відведення

avL відведення

Рис. 5.13. Електрокардіографічні комплекси щурів після моделювання некрозу міокарда (група 1) на 14-ту добу

Таблиця 5.6

**Електрокардіографічні показники щурів на 14-ту добу
після моделювання некрозу міокарда (II відведення) ($M \pm m$)**

Показники	Норма	ІМ (Контроль)	ІМ+МСК
P, мВ	$0,03 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,01$
P, мс	$25 \pm 0,5$	$26,3 \pm 0,9$	$25,0 \pm 0,3$
Q, мВ	—		—
Q, мс	—		—
R, мВ	$0,27 \pm 0,02$	$0,23 \pm 0,02$	$0,19 \pm 0,02$
R, мс	$29 \pm 0,88$	$27,0 \pm 1,0$	$23,4 \pm 1,3$
T, мВ	$0,10 \pm 0,02$	$0,04 \pm 0,02$	$0,03 \pm 0,02^1$
T, мс	$48 \pm 1,7$	$40,7 \pm 2,2$	$40,0 \pm 2,2$
QRS, мс	$30 \pm 0,7$	$29,6 \pm 0,9$	$25,7 \pm 0,7$
QT, мс	$77 \pm 1,5$	$69,5 \pm 2,9$	$65,7 \pm 2,7$
R-R ср., мс	$148 \pm 6,0$	$161,0 \pm 37,3$	$119,8 \pm 5,5$
ЧСС, скр./хв.	$408 \pm 15,6$	$444,3 \pm 44,2$	$507,5 \pm 19,6$
Кут α , °	$47 \pm 5,5$	$33,2 \pm 7,3^1$	$46,4 \pm 10,2^2$

Примітки: ¹ – статистично значимо відносно групи норми, $p < 0,05$;

² – статистично значимо відносно групи контролю, $p < 0,05$.

Таблиця 5.7

**Величина (амплітуда (мВ)) і тривалість (мс) зубця R
після моделювання некрозу міокарда в avL відведенні на 14 добу ($M \pm m$)**

Показники	Норма	ІМ (Контроль)	ІМ+МСК
Q, мВ	-	$-0,09 \pm 0,03$	-0,19
Q, мс	-	$18,2 \pm 1,4$	18,0
п із зубцем Q/п заг	0/10	2/15 ¹	1/15 ^{1,2}

Примітки: ¹ – статистично значимо відносно групи норми, $p < 0,05$;

² – статистично значимо відносно групи контролю, $p < 0,05$.

Таким чином, на 14-ту добу в контрольній групі після перев'язки лівої коронарної артерії по II відведенню відзначали відновлення основних електрокардіографічних показників, однак у 2-х з 10 тварин ще спостерігати не завершений процес запалення в міокарді внаслідок розвитку у них трансмурального некрозу міокарда.

На 14-ту добу після введення МСК (група 2, «ІМ + МСК») значних змін в електрокардіографічних показниках II відведення з попереднім терміном спостереження відзначено не було. Патологічних змін у комплексі QRS не виявлялося. Кут α становив $46,4 \pm 10,2^\circ$ і вказував на рівень норми. У підгострій стадії в I і в avL відведеннях у 75% тварин спостерігали депресію сегмента ST, а також негативний зубець T (рис. 5.14).

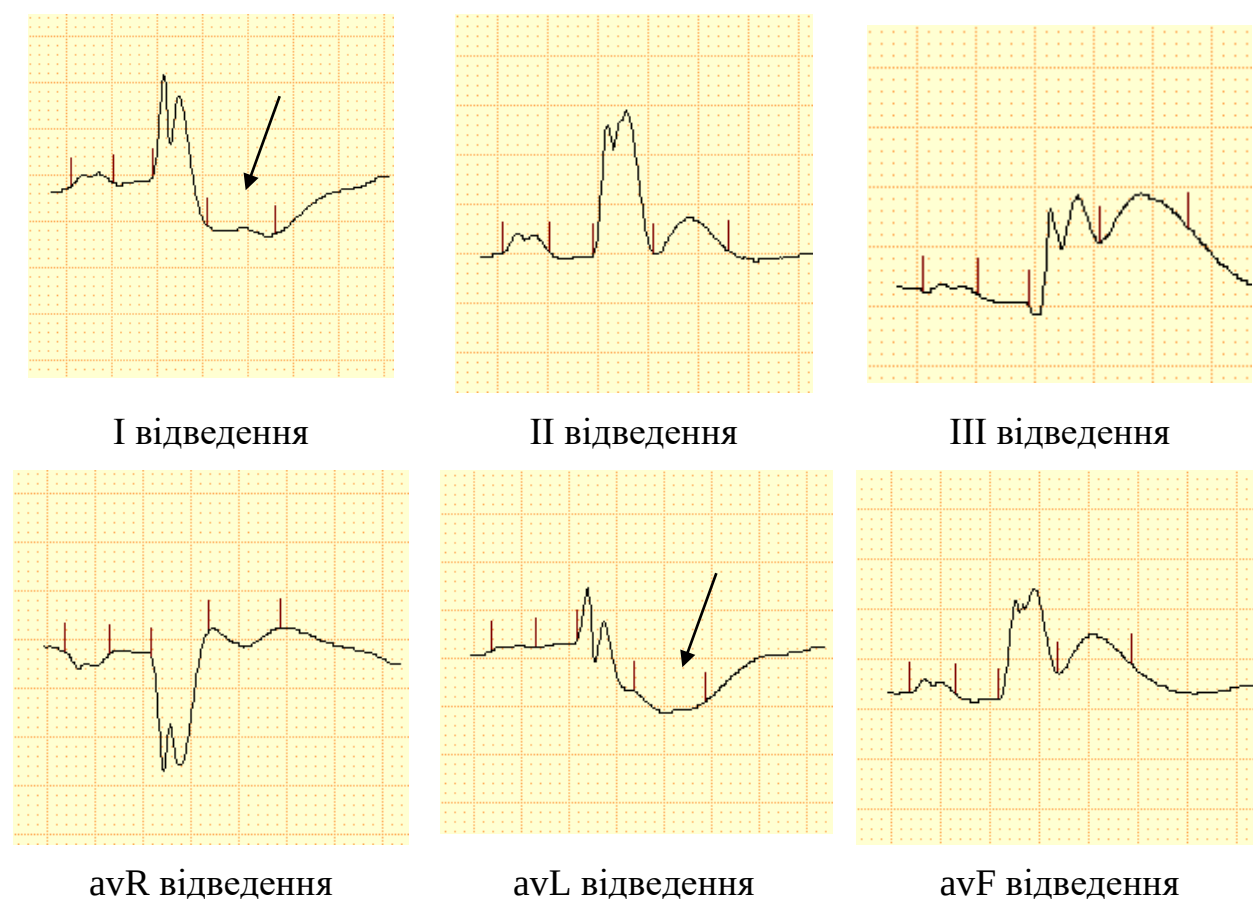


Рис. 5.14. Електрокардіографічні комплекси щурів після моделювання некрозу міокарда (група 2) на 14-ту добу. I, avL відведення: стрілочка – депресія сегмента ST

В однієї тварини в avL відведенні реєстрували глибокий зубець QS до мінус – 0,19 мВ тривалістю 18 мс, а в I відведенні – наявність сегмента rS, що свідчить про розвиток у даної тварини трансмурального некрозу.

Таким чином, у тварин групи «ІМ + МСК» на 14-ту добу експерименту реєстрували електрокардіографічні показники максимально наближені до

показників норми. Однак в I і avL відведеннях реєстрували депресію сегмента ST і зубця T, що підтверджувало субепікардіальне пошкодження і ішемію серцевого м'яза передньо-бічних відділів серця, а в однієї тварини спостерігали зубець QS, що свідчить про наявність трансмурального некрозу міокарда передньо-бічної стінки серця. Порівняння ЕКГ по II відведенню в групі 2 і в групі норми достовірних відмінностей в результатах на термін спостереження 14 діб не виявило.

Електрокардіографічні показники щурів на тридцять добу після перев'язки лівої коронарної артерії

У групі 1 (ІМ «Контроль») на 30-ту добу спостереження наслідки перев'язки коронарної артерії зберігалися. Перебіг захворювання проходив класичним шляхом запалення, що закінчується формуванням сполучнотканинного рубця. Стадія рубцювання інфаркту міокарда в групі I супроводжувалася незначним зниженням амплітуди зубця R в II відведенні до 0,18 мВ. ЧСС залишалася високою (до 491 уд/хв) (табл. 5.8). Як видно на рис. 5.15, де представлена типова електрокардіографічна картина, в I і avL відведеннях реєстрували збережену в 100% випадків депресію сегмента ST і наявність негативного зубця T (до -0,13 мВ).

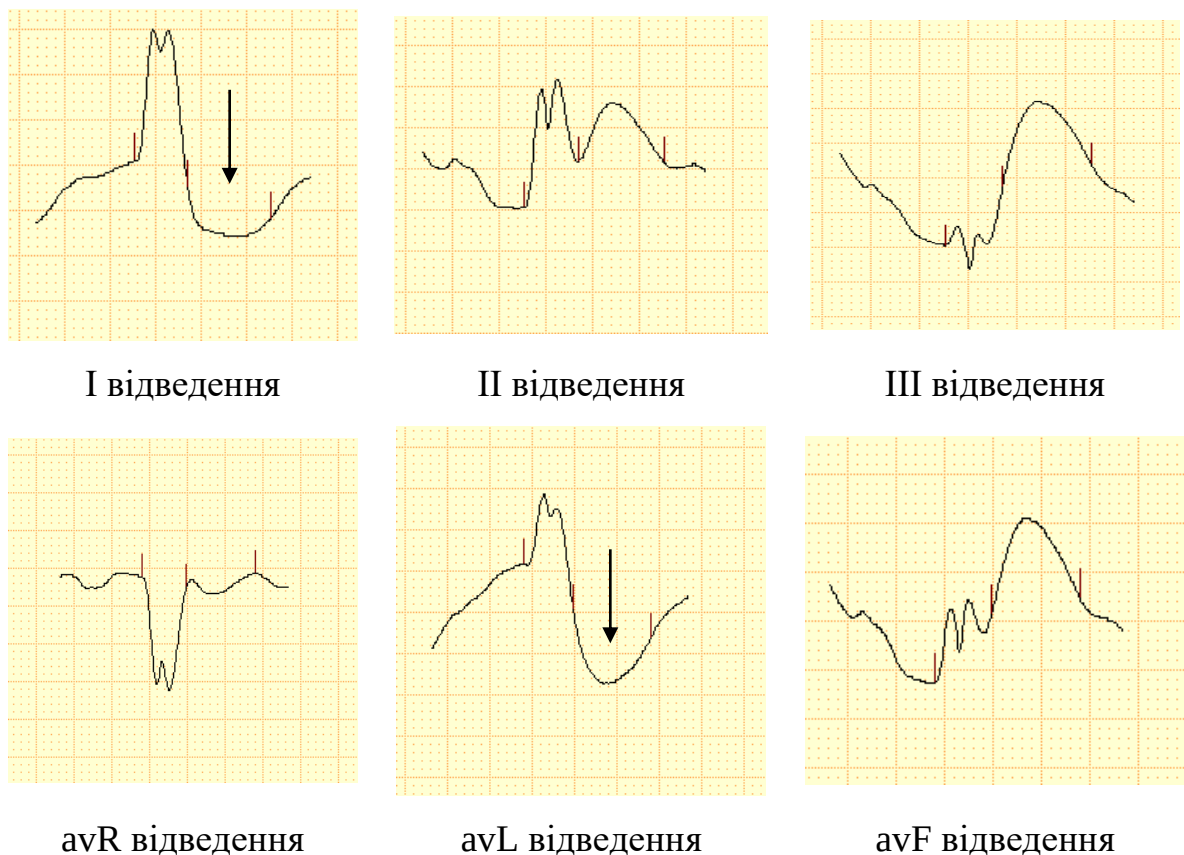


Рис. 5.15. Електрокардіографічні комплекси щурів після моделювання некрозу міокарда (група 1) на 30-ту добу. I, avL відведення: стрілочка – депресія сегмента ST та негативний зубець T

На межі зони некрозу в II, III і avF відведеннях реєстрували високий «коронарний» зубець Т, який підтверджує наявність ішемії міокарда у прикордонних до некрозу ділянках (рис. 5.15).

У двох тварин до 30-ї доби зберігалися ознаки некрозу серцевого м'яза в зоні перев'язки коронарної артерії без особливої динаміки. Зубець Q досягав величини – 0,10 мВ тривалістю 20 мс (табл. 5.9).

Таблиця 5.8

**Електрокардіографічні показники щурів на 30-ту добу
після моделювання некрозу міокарда (II відведення) (M±m)**

Показники	Норма	1 ІМ (Контроль)	2 ІМ + МСК
P, мВ	0,03±0,01	0,02±0,01	0,02±0,01
P, мс	25±0,5	27,0±0,6	24,3±1,0
Q, мВ	–		–
Q, мс	–		–
R, мВ	0,27±0,02	0,18±0,03 ¹	0,19±0,02 ¹
R, мс	29±0,88	25,8±1,9	23,4±1,3
T, мВ	0,10±0,02	0,11±0,02	0,10±0,02
T, мс	48±1,7	48,6±2,3	44,5±4,0
QRS, мс	30±0,7	28,0±1,1	26,2±1,2
QT, мс	77±1,5	74,0±3,3	73,0±5,0
R-R ср., мс	148±6,0	123,0±4,4	148,2±7,4
ЧСС, скр./хв.	408±15,6	491,2±18,4	412,5±22,5
Кут α, °	47±5,5	47,4±18,9	40,7±4,1 ²

Примітки: ¹– статистично значимо відносно групи норми, p<0,05;

² – статистично значимо відносно групи контролю, p<0,05.

Таблиця 5.9

**Величина (амплітуда (мВ)) і тривалість (мс) зубця R
після моделювання некрозу міокарда в avL відведенні на 30-ту добу (M±m)**

Показники	Норма	ІМ (Контроль)	ІМ+МСК
Q, мВ	-	-0,10±0,03	-0,05 ¹
Q, мс	-	20±4,0	8,2 ²
n із зубцем Q/n заг	0/10	2/15 ¹	1/15 ^{1,2}

Примітки: ¹– статистично значимо відносно групи норми, p<0,05;

² – статистично значимо відносно групи контролю, p<0,05.

Таким чином, за результатами електрокардіографічного дослідження встановлено, що до 30-ї доби експерименту в групі контролю (без лікування ІМ) у всіх тварин в I і avL відведеннях зберігалися ознаки субендокардіального пошкодження і субепікардіальної ішемії серцевого м'яза. Крім того, у двох тварин до цього терміну спостереження зберігалися ознаки повного трансмурального некрозу серцевої тканини в басейні перев'язаної гілки лівої коронарної артерії.

На 30-ту добу на стадії рубцювання у тварин групи 2 достовірних відмінностей в електрокардіографічних показниках від попереднього терміну після введення МСК не виявлено, в міокарді тривають процеси, пов'язані з формуванням сполучнотканинного рубця. Порушення проходження електричного сигналу свідчили про ішемічне пошкодження субендокардіальної зони і ішемії субепікарда. В однієї тварини в avL відведенні зафіксований зубець Q = 0,5 мВ при наявності зубця R = 0,09 мВ. Це може бути пов'язано з розвитком компенсаторної гіпертрофії за рахунок збережених кардіоміоцитів у зоні формування рубця.

Таким чином, проведене дослідження електрофізіологічних показників серця у динаміці розвитку некротичних процесів та ремоделювання міокарда в умовах експериментального інфаркту міокарда засвідчило, що введення алогенних МСК чинить виражений позитивний вплив на відновлення електричної активності серця. Застосування МСК сприяє більш швидкій та повній нормалізації параметрів електрокардіограми, зокрема амплітуди та форми основних зубців, тривалості інтервалів і сегментів, що свідчить про покращення провідності, реполяризаційних процесів та функціонального стану міокарда.

Позитивні ефекти терапії МСК, ймовірно, зумовлені їхньою здатністю до паракринної секреції біологічно активних факторів, які стимулюють ангіогенез, цитопротекцію та репарацію міокарда, а також сприяють зниженню запальної реакції та оксидативного стресу. Таким чином, використання алогенних МСК забезпечує виражений кардіопротекторний ефект, що сприяє функціональному відновленню міокарда після ішемічного ушкодження та може розглядатися як перспективний напрямок у клітинній терапії серцево-судинних патологій.

5.3. Оцінка кардіопротекторної дії екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят, що входять в композит «альгінатний гідрогель – екстракт», імплантованого в міокард щурів на моделі кріодеструкції серця

5.3.1. Вплив альгінатного гідрогелю на проведення електрофізіологічного сигналу серця у щурів

Перед початком дослідження постало принципове завдання – з’ясувати, чи чинить сам альгінатний гідрогель будь-який вплив на функціональний стан міокарда щурів, зокрема на електрофізіологічні параметри серцевої діяльності. Це питання має фундаментальне значення, оскільки альгінат використовується як матриця або носій для клітинних чи біоактивних компонентів у тканинній інженерії. Важливо було виключити можливість того, що сам полімер може викликати небажані реакції – наприклад, механічне подразнення міокарда, розвиток локального запалення, порушення скорочувальної здатності серцевого м’яза або зміни провідності.

Для перевірки безпечності та нейтральності впливу альгінатного гідрогелю було проведено серію експериментів: у 28 щурів здійснили хірургічну імплантацію чистого альгінатного гідрогелю без клітинних або фармакологічних домішок безпосередньо в товщу серцевого м’яза. Після операцій проводили систематичний електрокардіографічний моніторинг для оцінки потенційних змін у ритмі, провідності, амплітуді зубців ЕКГ, а також можливих ознак ішемії чи порушення реполяризації.

Такий підхід дозволяє оцінити базовий вплив матеріалу – чи викликає альгінат самотійно будь-які зміни у функціональному стані серця; виключити можливість артефактів при подальшому використанні альгінату як носія для мезенхімальних стромальних клітин або біоактивних речовин; підтвердити безпечність гідрогелю для тканин міокарда, що є необхідною умовою для коректної інтерпретації результатів у наступних серіях експериментів.

На 1-шу добу після введення альгінатного гелю на електрокардіограмі перед кожним комплексом QRS чітко визначався позитивний зубець R, розташований вище ізолінії, що підтверджує наявність нормального синусового ритму серця. Електрокардіографічні комплекси QRS зберігали свою форму і тривалість. Тривалість і амплітуда зубця R достовірно не відрізнялася від показників зубця R у групі норми ($29,3 \pm 0,6$ мс і $31 \pm 0,03$ мВ відповідно) (табл. 5.10, рис. 5.16).

Таблиця 5.10

**Електрокардіографічні показники (II відведення) щурів у групі
після введення альгінатного імплантата ($M \pm m$)**

Показники	Норма	1 доба	7 доба	14 доба	30 доба
P, мВ	$0,03 \pm 0,005$	$0,03 \pm 0,007$	$0,03 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,002$	$0,03 \pm 0,005$
P, мс	$25 \pm 0,5$	$29,8 \pm 1,3$	$24,8 \pm 1,2$	$24,2 \pm 1,8$	$24 \pm 0,9$
Q, мВ	—	—	—	—	—
Q, мс	—	—	—	—	—
R, мВ	$0,27 \pm 0,02$	$0,31 \pm 0,03$	$0,25 \pm 0,04$	$0,24 \pm 0,04$	$0,26 \pm 0,07$
R, мс	$29 \pm 0,88$	$29,3 \pm 0,6$	$26,5 \pm 1,3$	$24,5 \pm 2,4$	$25 \pm 0,5$
T, мВ	$0,10 \pm 0,02$	$0,06 \pm 0,01^*$	$0,09 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,02$	$0,10 \pm 0,02$
T, мс	$48 \pm 1,7$	$47,3 \pm 3,5$	$49,2 \pm 3,7$	$48,3 \pm 2,7$	$42 \pm 1,9$
QRS, мс	$30 \pm 0,7$	$31,2 \pm 0,6$	$33,6 \pm 2,4$	$35,1 \pm 1,9$	$28 \pm 0,5$
QT, мс	$77 \pm 1,5$	$73,3 \pm 2,8$	$76,9 \pm 5,7$	$78,8 \pm 4,1$	$74 \pm 2,6$
R–R ср., мс	$148 \pm 6,0$	150 ± 7	$141 \pm 4,3$	$139 \pm 5,2$	$152 \pm 3,2$
ЧСС, скр./хв.	$408 \pm 15,6$	426 ± 20	$423 \pm 12,4$	$413 \pm 15,7$	$417 \pm 12,5$
Кут α , °	$47 \pm 5,5$	$36 \pm 4,9^*$	$43,7 \pm 7,3$	$39,8 \pm 15,7$	$44 \pm 3,1$

Примітка: * – статистично значимо відносно групи норми, $p < 0,05$.

Амплітуда зубця T знижувалася до $0,06 \pm 0,01$ мВ, що можливо свідчило про розвиток стану гіпоксії, пов'язаного з перенесеної операційною травмою.

Незначно знижувалася тривалість інтервалу QT до $73,3 \pm 2,8$ мс, що безпосередньо пов'язано зі збільшенням ЧСС у цій групі до 426 ± 20 скорочень / хв на тлі оперативного втручання. Відзначали зниження кута α до $36 \pm 4,9^\circ$, що свідчило про можливу зміну положення електричної осі серця ближче до горизонтальної лінії.

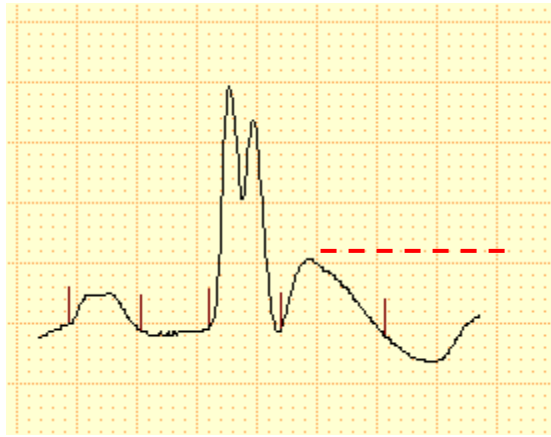


Рис. 5.16. Електрокардіографічний комплекс P-QRS-T щура на 1-шу добу після введення альгінатного імплантата (II відведення). Червона пунктирна лінія – обмеження амплітуди зубця Т.

Надалі, на 7-му добу та в усіх наступних термінах спостережень показники контурного аналізу ЕКГ щурів цієї групи не відрізнялися від величин шлуночкових комплексів групи норми (табл. 5.10).

Електрокардіографічні висновки за всіма строками спостереження були такими:

1. Джерело ритму – синусовий ритм;
2. Регулярність ритму – правильний ритм;
3. ЧСС = $419 \pm 2,9$ скорочень на хвилину;
4. Положення середньої електричної осі серця (кут α) $+ 40,7^\circ \pm 1,8$.

Таким чином, за результатами проведеного електрокардіографічного дослідження встановлено, що використання альгінатного імплантата не викликає патологічних змін серцевої діяльності, що підтверджується відсутністю відхилень на електрокардіограмі. Отримані результати свідчать про біосумісність альгінатного матеріалу з серцевою тканиною організму та його безпечність щодо функціонального стану міокарда.

5.3.2. Динаміка електрокардіографічних змін у щурів на моделі кріодеструкції серця з використанням альгінатного гідрогелю, насиченого екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят

З огляду на отримані попередньо експериментальні дані, які підтвердили високу біосумісність альгінатного матеріалу з тканинами міокарда, метою даного підрозділу було дослідження можливого кардіопротекторного ефекту екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят. Для цього альгінатний імплантат насичували зазначеним екстрактом з метою забезпечення його контрольованого вивільнення безпосередньо у товщу серцевого м'яза.

У зв'язку з цим, одним із напрямків даного етапу дослідження було з'ясування можливого впливу самого альгінатного гідрогелю на електрофізіологічні показники міокарда після індукованого кріонекрозу. Введення чистого альгінатного гідрогелю безпосередньо у серцевий м'яз після проведення кріодеструкції мало на меті створення контрольної експериментальної моделі, що забезпечує можливість об'єктивного розмежування власного впливу гідрогелю від потенційних кардіопротекторних ефектів біоматеріалів.

Для забезпечення коректності інтерпретації отриманих експериментальних даних та об'єктивного порівняння ефективності досліджуваного біоматеріалу було необхідним використання референтного препарату з доведеними кардіопротекторними властивостями. У цьому дослідженні в якості такого препарату обрано «Метопролол», що є представником групи селективних β_1 -адреноблокаторів.

Вибір «Метопрололу» обґрунтований добре вивченим механізмом дії препарату, який спрямований на зменшення ішемічного ушкодження міокарда шляхом зниження частоти серцевих скорочень і потреби серця в кисні; зменшення скоротливості міокарда, що обмежує розвиток ішемічного пошкодження; стабілізації мембран кардіоміоцитів і попередження аритмогенних ефектів; нормалізації реполяризаційних процесів, що проявляються покращенням показників електрокардіограми.

Використання «Метопрололу» як референтного засобу забезпечує наукову валідність експериментальної моделі, дозволяє оцінити ступінь функціонального відновлення міокарда за електрофізіологічними показниками та визначити потенційну доцільність використання біоматеріалу в терапії гострого коронарного синдрому.

В експерименті всі тварини після моделювання некрозу міокарда (НМ) були розділені на 4 групи (табл. 5.11).

Таблиця 5.11

Розподіл тварин по групам

№	Група	Втручання	К-ть тварин
1	НМ Контроль	експериментальний некроз міокарда (НМ) без лікування	28
2	НМ+АГІ	введення альгінатного гідрогелевого імплантата (АГІ) після моделювання НМ	28
3	НМ+М	введення метопрололу (М) на тлі НМ	28
4	НМ+АГІ+ЕСцП	введення АГІ, насиченого екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕСцП) на тлі НМ	28
5	Норма	Інтактні тварини	28

Оскільки методика кріодеструкції серця дає можливість варіювати місце кріонекрозу, то кріодеструкцію проводили в ділянці передньо-бічної стінки лівого шлуночка, що є найбільш поширеною локалізацією у людини і співпадає з локалізацією інфаркту міокарда при перев'язці лівої коронарної артерії.

Електрокардіографічні показники щурів на першу добу після кріокардіодеструкції

Наслідки перенесеного кріовпливу на серце, перш за все, відбивалися на відсутності або наявності негативного зубця Р у більшості тварин, що свідчило про порушення нормальної провідності серцевої тканини (рис. 5.17).

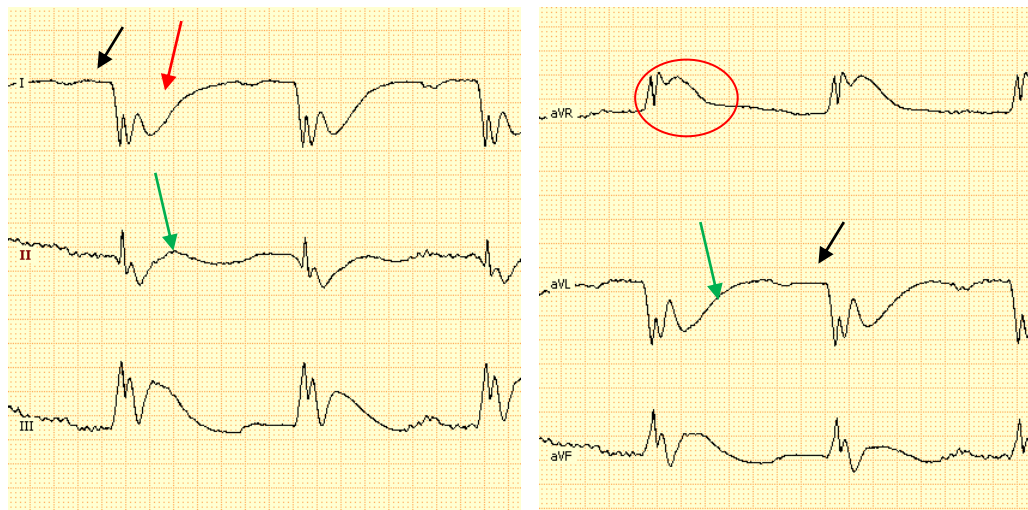


Рис. 5.17. Електрокардіограма щура після 30 с кріовпливу на серце. 1-ша доба. Чорна стрілка – негативний зубець Р; червона стрілка – зубець QS; зелена – негативний зубець Т; червоний овал – реципрокні зміни в аVR відведенні

Поява негативного зубця Р на 1-шу добу після кріовпливу пов'язано з тим, що роль водія ритму в серці виконував не синоатріальний, а атріовентрикулярний вузол і передача збудження проходила в ретроградному напрямку, що є результатом гіпоксії та пошкодження міокарда, а також наявністю метаболічних і електролітних порушень.

Кріодія протягом 30 с призводила до появи виражених деструктивних процесів у серці. На ЕКГ ці явища відображались у вигляді глибокого зубця Q або QS в I і / або aVL відведеннях, що свідчило про формування у щурів даної групи передньо-бічного, переднього поширеного трансмурального некрозу міокарда (рис.5.17, табл. 5.13). У деяких тварин реєстрували аналогічні зміни і в II відведенні, що підтверджувало розвиток поширеного некрозу міокарда. Величина зубця Q у деяких тварин досягала $-0,35\text{мВ}$, при цьому середні значення цього показника перебували на рівні $-0,17 \pm 0,04\text{мВ}$ (табл. 5.12, 5.13).

В II відведенні амплітуда зубця R становила $0,12 \pm 0,04\text{мВ}$, що більш, ніж на 50% менше норми. На протилежній стінці лівого шлуночка реєстрували реципрокні зміни у вигляді появи зубця R і елевації зубця Т в aVR відведенні (рис. 5.17).

Таблиця 5.12

**Електрокардіографічні показники щурів на 1-шу добу
після моделювання некрозу міокарда (II відведення) ($M \pm m$)**

Показники	Норма	НМ	НМ+АГІ	НМ +М	НМ+АГІ+ЕСцП
P, мВ	0,03±0,005	-0,01±0,01	-0,01±0,01	0,01±0,01	0,01±0,005
P, мс	25±0,5	22,5±2,4	27,3±4,2	23±5,4	25±2,1
Q, мВ	–	-0,17±0,04	-0,15±0,03	-0,10±0,03	-0,12±0,02
Q, мс	–	17±3,5	16,2±4,3	12±5,5	12±5,5
R, мВ	0,27±0,02	0,12±0,04	0,11±0,05	0,16±0,03	0,17±0,04
R, мс	29±0,88	19,7±6,3	16,3±3,5	18,3±4	19±13,0
T, мВ	0,10±0,02	-0,05±0,01	-0,1±0,04	0,08±0,01	0,04±0,02
T, мс	48±1,7	51,1±3,8	55±2,3	56,1±2,0	48±12,0
QRS, мс	30±0,7	34±3,1	31,3±0,9	30±1,1	33,5±1,5
QT, мс	77±1,5	93,3±4,1*	94,9±3,1*	84,2±4,22	82±10,0
R–R ср., мс	148±6,0	161±8	168±6,5	152±10	134±7,5
ЧСС, скр./хв	408±15	380±20	362±14*	409±27	450±26
Кут α , °	47±5,5	15±17,5*	17±3,2*	16,3±8,1*	18±3,0*

Примітка: *– статистично значимо відносно групи норми, $p < 0,05$.

Таблиця 5.13

**Величина (амплітуда (мВ)) і тривалість (мс) зубця R
після моделювання некрозу міокарда в I і avL відведеннях на 1 добу ($M \pm m$)**

Показники	Норма	НМ	НМ+АГІ	НМ+М	НМ+АГІ+ЕСцП
I відведення					
R, мВ	0,17±0,02	0,07±0,02	0,06±0,01	0,07±0,01	0,05±0,01
R, мс	24,9±1,0	13,8±3,0*	17,3±3,3*	14,4±3,2*	17,5±3,7*
Q, мВ	-	-0,09±0,01*	-0,08±0,03*	-0,04±0,02*	-0,08±0,01*
Q, мс	-	18,1±1,3*	20,4±3,1*	19,7±2,8*	21,8±2,3*
avL відведення					
R, мВ	0,05±0,01	0,01±0,01	0,02±0,01	0,03±0,01	0,05±0,01
R, мс	13,2±3,4	10,0±3,1	11,0±3,4	12,0±5,2	9,4±3,2
Q, мВ	-	-0,10±0,01*	-0,07±0,03*	-0,09±0,02*	-0,07±0,01*
Q, мс	-	23,1±1,3*	20,7±3,1*	22,7±2,4*	24,8±2,2*
n із зубцем Q/n заг	0/10	13/15*	13/15*	12/15*	12/15*

Примітка: *– статистично значимо відносно групи норми, $p < 0,05$.

Зубець T, який в нормі відображає процес швидкої кінцевої реполяризації міокарда шлуночків, після кріодеструкції серця мав характерний загострений вид, розташований нижче ізолінії (рис. 5.17). Такий негативний коронарний зубець T свідчить про те, що ішемія локалізована в субепікардіальних відділах

передньої стінки лівого шлуночка. Значення амплітуди зубця Т на 1-шу добу після кріовпливу на серце реєстрували на рівні $-0,05 \pm 0,005$ мВ (табл. 5.12).

Після кріовпливу на серце відбувається швидкий, поширений розвиток деструктивних процесів у серцевому м'язі, що відмічається на ЕКГ появою негативних зубців Q або QS не тільки в I та aVL відведеннях але і в II відведенні. Взагалі у всіх групах відмічається велика кількість Q-позитивних некрозів міокарда (87%) (табл. 5.13). ЧСС знижувалася до 380 скорочень / хв, що автоматично відбивалося на тривалості інтервалу QT, показник якої збільшувався до $93,3 \pm 4,1$ мс. Величина інтервалу QTс, яка є предиктором фатальних порушень ритму, була подовжена і досягала $232 \pm 6,7$ мс, що майже на 20% довше, ніж у тварин групи норми.

Кут α склав $15 \pm 17,5^\circ$, що на 68% нижче, ніж у щурів групи норми, що показувало зміну електричної осі серця за типом левограма.

Таким чином, у щурів у **групі контролю** після кріовпливу на серце на 1-шу добу спостереження спостерігали електрокардіографічну картину, характерну для трансмурального некрозу міокарда в передніх і передньо-бічних топографічних ділянках серця. Джерело ритму – в більшості випадків важко діагностувати, в окремих випадках – це атріовентрикулярний вузол. Ішемічні і некротичні зміни в міокарді лівого шлуночка призводили до порушення процесів збудливості і провідності і, як наслідок, змінювалось положення електричної осі серця за типом левограми.

За даними ЕКГ введення в зону кріопошкодження **альгінатного імплантата** (група 2) не приводило до появи ускладнень функціонального стану міокарда, а показники достовірно значимо не відрізнялись від групи контролю. На електрокардіограмах щурів після введення альгінатного імплантата (група 2) в зону кріоушкодження міокарда лівого шлуночка на 1-шу добу реєстрували ознаки передньо-бічного і поширеного трансмурального некрозу міокарда, що підтверджувалося появою зубця Q або QS в I, II, aVL і aVF відведеннях (рис. 5.18).

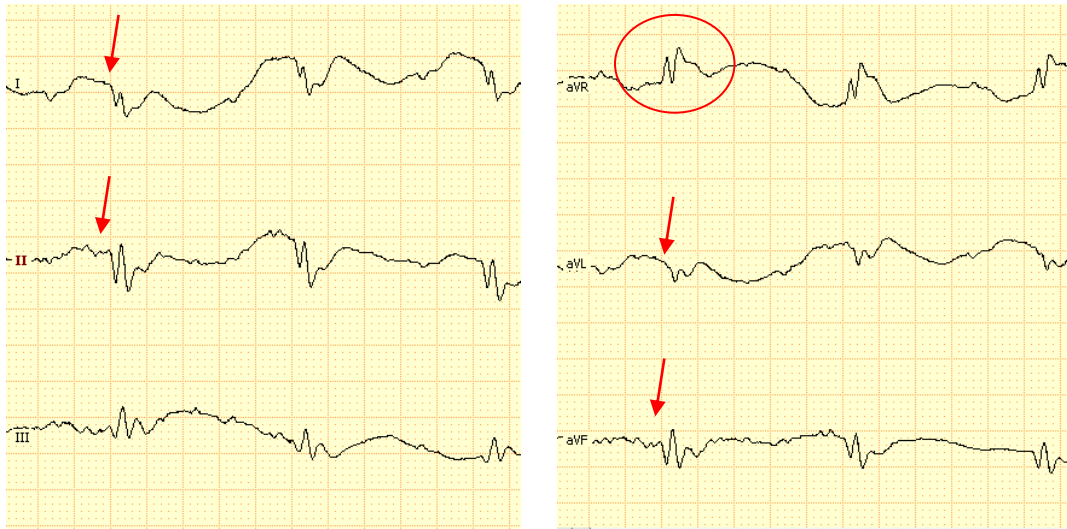


Рис. 5.18. Електрокардіограма щура після 30 с кріовпливу на серце і введення в міокард альгінатного імплантата. 1-ша доба. Червона стрілка – позначення зубця Q; червоний овал – реципрокні зміни в aVR відведенні

У відведенні aVR реєстрували реципрокні зміни, які вказували на глибину ушкодження після кріодеструкції серця (рис. 5.18.). Амплітуда зубця Q в II відведенні становила $-0,15 \pm 0,03$ мВ тривалістю $16,2 \pm 4,3$ мс. Зубець R при цьому знижувався до $0,11 \pm 0,05$ мВ. На тлі цих змін змінювався кут α , який свідчить про становище електричної осі серця. Його показник дорівнював $17 \pm 3,2^\circ$ (табл. 5.12).

Зубець R у деяких випадках не можна було визначити, в інших – він був негативним, що свідчило про ретроградне проведення електричного імпульсу по серцю. Як і в групі після кріовпливу на серце, про ураження субепікардіальних відділів органа свідчив негативний зубець T в I, II, aVL і aVF відведеннях. Достовірних відмінностей від групи контролю в електрокардіографічних показниках у щурів групи 2 виявлено не було.

Таким чином, у щурів у групі після введення альгінатного імплантата в зону кріодеструкції серця на 1-шу добу спостереження виявлено ознаки передньо-бічного і поширеного трансмурального некрозу міокарда. Альгінатний імплантат, розташований в зоні кріодеструкції, ніяким чином не впливав на патологічні ускладнення на тлі кріодеструкції.

Використання **метопрололу** в якості препарату, який знижує потребу міокарда в кисні, що призводить до зменшення ступеня при

експериментальному некрозі міокарда, сприяло збереженню зубця Р, однак амплітуда зубця Р була досить низькою і становила $0,01 \pm 0,01\text{мВ}$ тривалістю $23 \pm 5,4$ мс (табл. 5.12). Ці дані свідчать, що незважаючи на деструктивні процеси в серцевому м'язі лівого шлуночка, джерелом ритму зберігався синоатріальний вузол (рис. 5.19).

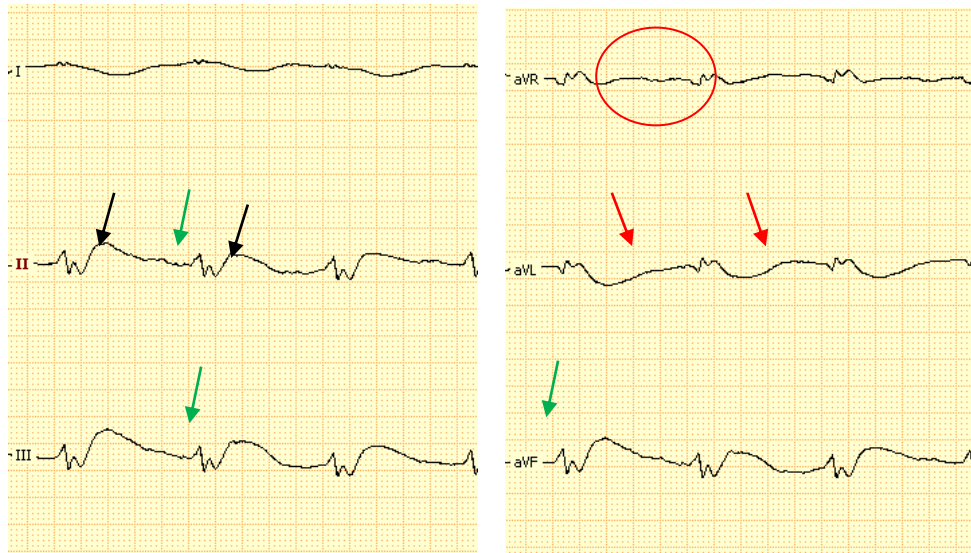


Рис. 5.19. Електрокардіограма щура після 30с кріовпливу на серце і внутрішньочеревинного введення метопрололу. 1-ша доба. Чорні стрілки – зубець Р; червона стрілка – позначення зубця Q; червоний овал – реципрокні зміни в aVR відведенні; зелена стрілка – елевация сегмента ST

На ЕКГ у II відведенні спостерігали зменшення амплітуди зубця R до $0,16 \pm 0,03\text{мВ}$ і збільшення зубця Q до $-0,10 \pm 0,03\text{мВ}$ тривалістю $12 \pm 5,5$ мс. Дані показники свідчили про розвиток у цієї групи тварин трансмурального некрозу міокарда (рис. 5.19, табл. 5.12).

Наявність ішемічного ендокардіального пошкодження було зафіксовано в II, III і aVF відведенні у вигляді підйому сегмента ST. Реципрокні зміни ЕКГ в aVR відведенні у вигляді появи зубця R і зубця T, розташованого вище ізолінії також підтверджували наявність трансмурального некрозу міокарда.

Тривалість інтервалу QT недостовірно відрізнялася від показників норми і складала $84,2 \pm 4,2$ мс, і відповідно ЧСС була на рівні норми 409 ± 27 скорочень / хв., що свідчило про економне використання кисню серцевим м'язом за умов кріоповшкодження.

Кількість тварин з Q-позивним некрозом міокарда в цій групі дорівнювала 80%.

Таким чином, у щурів у групі з внутрішньоочеревинним введенням метопрололу після кріодеструкції серця на 1-шу добу спостереження реєстрували передньо-поширений некроз міокарда і за кількістю тварин, у яких реєстрували зубець Q чи QS, дана група достовірно значимо не відрізнялася від контрольної групи.

Як і в попередніх групах, у групі 4 (НМ+АГІ+ЕСцП) кріовплив на серце призводив до формування трансмурального передньо-бічного некрозу міокарда, що підтверджувалося появою зубця Q в I, II і aVL відведенні (рис. 5.20, табл. 5.12, 5.13).

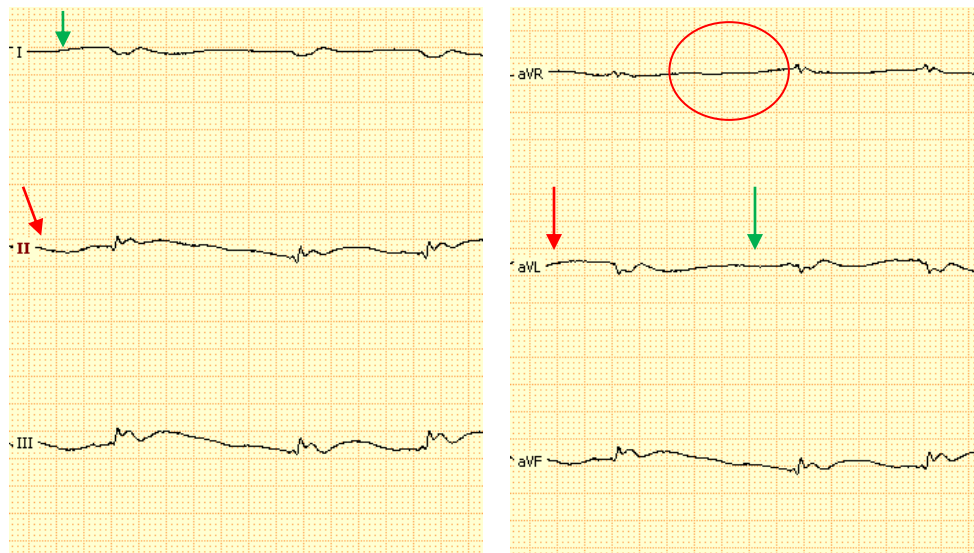


Рис. 5.20. Електрокардіограма щура після 30 с кріовпливу на серце з введенням альгінатного імплантата з ЕСцП. 1-ша доба. Червона стрілка – позначення зубця Q; червоний овал – реципрокні зміни в aVR відведенні; зелена стрілка – елевація сегмента ST

Введення альгінатного імплантата, насиченого ЕСцП, в зону кріоушкодження міокарда сприяло збереженню джерела збудження міокарда на рівні синоатріального вузла, що відображалось у появі позитивного зубця Р на рівні $0,01 \pm 0,005\text{мВ}$ тривалістю $25 \pm 2,1$ мс.

Амплітуда зубця R знижувалася до $0,17 \pm 0,04\text{мВ}$, а його тривалість складала 19 ± 13 мс (рис. 5.20, табл. 5.12, 5.13). Підйом сегмента ST зафіксовано на рівні $0,04 \pm 0,02\text{мВ}$, що підтверджувало розвиток ішемічного

пошкодження навколо і в зоні кріовпливу на серце. Тривалість інтервалу QT склала $82 \pm 10,0$ мс, при середній тривалості R – R інтервалу $134 \pm 7,5$ мс, при цьому ЧСС дорівнювала 450 ± 26 скорочень / хв.

Розвиток трансмурального некрозу міокарда підтверджували зареєстровані реципрокні зміни у відведенні avR, в якому амплітуда зубця R дорівнювала 0,12мВ. Кут α дорівнював $18 \pm 3,0^\circ$, що свідчило про поворот електричної осі вліво. Кількість тварин з Q-позитивним некрозом міокарда відмічалось на рівні 80%, що на одному рівні з групою 3.

Таким чином, у щурів у групі після кріодеструкції серця і введенням альгінатного імплантата з ЕСцП на 1-шу добу спостереження також відзначали ознаки трансмурального некрозу міокарда. Достовірно значущих відмінностей між групами не відмічено.

Електрокардіографічні показники щурів на сьому добу після кріокардіодеструкції

На 7-му добу після проведення кріодеструкції серця в контрольній групі на електрокардіограмі зберігалися ознаки передньо-бічного трансмурального некрозу міокарда, про що свідчила наявність зубця Q в І і в avL відведенні.

У більшості випадків до цього терміну спостереження реєстрували зубець Р перед кожним комплексом QRS вище ізолінії і тривалістю до $27 \pm 1,2$ мс. Ці показники свідчили про відновлення джерела ритму. Ритм ставав синусовим, правильним.

Амплітуда зубця Q в II відведенні досягала $-0,12 \pm 0,08$ мВ, тривалістю до $24 \pm 3,5$ мс (табл. 5.14, 5.15). В І і avL відведенні амплітуда зубця Q досягала $-0,14 \pm 0,05$ мВ тривалістю до $23 \pm 3,4$ мс, що свідчило про продовження і поширення асептичної запальної реакції в серцевому м'язі, викликане кріодеструкцією серця.

Таблиця 5.14

**Електрокардіографічні показники щурів на 7-му добу
після моделювання некрозу міокарда (II відведення) ($M \pm m$)**

Показники	Норма	НМ	НМ+АГІ	НМ + М	НМ+АГІ+ЕСцП
P, мВ	0,03±0,005	0,01±0,005	0,01±0,005	0,02±0,01	0,03±0,01
P, мс	25±0,5	27±1,2	19,7±4,9	28,3±1,1	27±1,5
Q, мВ	—	-0,12±0,08*	—	—	—
Q, мс	—	24±3,5*	—	—	—
R, мВ	0,27±0,02	0,13±0,05	0,15±0,04	0,17±0,02	0,23±0,02
R, мс	29±0,88	20±1,1	23,5±3,3	18,2±3,7	28±2,0
T, мВ	0,10±0,02	0,05±0,01	0,08±0,02	0,06±0,02	0,08±0,01
T, мс	48±1,7	52±3,4	45,3±1,9	55,1±4,03	44,3±0,8
QRS, мс	30±0,7	34±2,3	31,9±0,5	29,7±1,1	33±1,0
QT, мс	77±1,5	85±0,7	83±3,4	87,4±4,5	75±2,5
R-R ср., мс	148±6,0	165±13	154±5,8	150±6,7	140±2,6
ЧСС, скр./хв	408±15	367±31,2	392±14	373±18,7	418±7,8
Кут α , °	47±5,5	11±4,7	22,5±15,9	20,9±4,2	28,3±3,8

Примітка. *— статистично значимо відносно групи норми, $p < 0,05$;
 ** — статистично значимо відносно групи контролю, $p < 0,05$.

Таблиця 5.15

**Величина (амплітуда (мВ)) і тривалість (мс) зубця R
після моделювання некрозу міокарда в I і avL відведеннях на 7-му добу
($M \pm m$)**

Показники	Норма	НМ	НМ+АГІ	НМ + М	НМ+АГІ+ЕСцП
I відведення					
R, мВ	0,17±0,02	0,12±0,04	0,14±0,03	0,13±0,03	0,15±0,04
R, мс	24,9±1,0	16,8±3,0*	16,3±1,2*	18,2±3,1*	22,5±2,5**
Q, мВ	-	-0,14±0,01*	-0,07±0,03*	-0,05±0,02*	-0,03±0,02*
Q, мс	-	22,0±2,6	22,7±2,1	17,7±2,4	20,7±1,4
avL відведення					
R, мВ	0,05±0,01	0,01±0,03	0,02±0,01	0,03±0,01	0,05±0,01
R, мс	13,2±3,4	14,0±4,2	12,0±2,7	13,0±5,2	9,4±3,2
Q, мВ	-	-0,11±0,01*	-0,06±0,03*	-0,05±0,01*	-0,03±0,02*
Q, мс	-	20,0±3,5*	20,7±3,2	20,7±3,4	17,9±2,7
n із зубцем Q/n заг	0/10	13/15*	12/15*	10/15*	8/15*

Примітка. *— статистично значимо відносно групи норми, $p < 0,05$;
 ** — статистично значимо відносно групи контролю, $p < 0,05$.

Величина зубця R була знижена до $0,13 \pm 0,05\text{мВ}$ тривалістю до $20 \pm 1,1$ мс, що свідчило про низьку скоротливу функцію міокарда. Навколо зони кріодеструкції в епікардіальних шарах зберігалися явища гіпоксії та порушення процесів метаболізму. Це підтверджувалось тим, що в I і в aVL відведеннях реєстрували негативний зубець T до $-0,08 \pm 0,01\text{мВ}$. В II відведенні його амплітуда досягала $0,05 \pm 0,01\text{мВ}$.

Тривалість інтервалу QT була на рівні $85 \pm 0,7$ мс, при середній тривалості R–R інтервалу 165 ± 13 мс, тому ЧСС складала $367 \pm 31,2$ скорочень / хв. Відомо, що будь-який генез подовження інтервалу QT (вроджений чи набутий) є рівною мірою небезпечним як фактор ризику розвитку злоякісних шлуночкових аритмій та фібриляції шлуночків. Як видно, ризик виникнення в цій групі шлуночкових аритмій достатньо високий. Електрична вісь серця зміщена вліво, кут α становив $11 \pm 4,7^\circ$.

Таким чином, у щурів у групі після кріодеструкції серця на 7-му добу спостереження відзначали подальше поширення процесу пошкодження серцевої тканини, що підтверджувалося великою глибиною зубця Q і вираженим зміщенням електричної осі серця.

На 7-му добу після проведення кріодеструкції серця і введення **альгінатного імплантата** на електрокардіограмі відзначали незначну позитивну динаміку змін величини і форми шлуночкового комплексу QRS по відношенню до контрольної групи того ж терміну спостереження (рис. 5.21, табл. 5.14, 5.15).

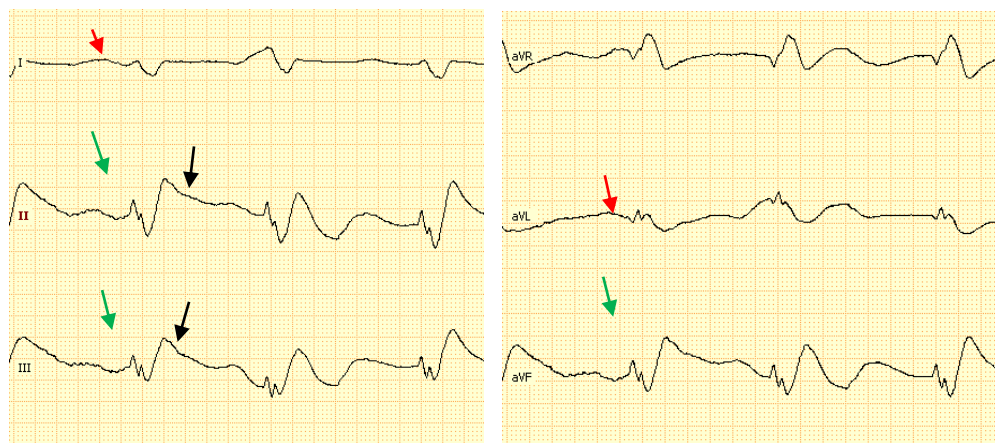


Рис. 5.21. Електрокардіограма щура після 30 с кріодеструкції серця і введення альгінатного імплантата, 7-ма доба. Чорні стрілки – зубець R; червоні стрілки – депресія сегмента ST; зелені стрілки – зубець T

У більшості випадків у формуванні збудження нервового імпульсу брав участь синоатріальний вузол, про що свідчила поява позитивного зубця Р, який дорівнював $0,01 \pm 0,005\text{мВ}$, тривалістю $19,7 \pm 4,9$ мс, тому ритм спостерігали синусовий, правильний (рис. 5.21).

На ЕКГ до цього терміну спостереження зубець Q був відсутній у 3 з 15 тварин, це складало 80%, що майже на рівні контрольної групи (табл. 5.14). Проте, амплітуда зубця R у II відведенні збільшувалася до $0,15 \pm 0,04\text{мВ}$, а тривалість складала $23,5 \pm 3,3$ мс (табл. 5.14). На триваюче ішемічне пошкодження вказувала депресія сегмента ST в I і aVL відведеннях. Зона ішемії представлена високими широкими коронарними зубцями T до $0,08 \pm 0,02$ мВ в II, III і aVF відведеннях (рис. 5.21, табл. 5.14). Тривалість інтервалу QT знижувалася до рівня норми $83 \pm 3,4$ мс, відповідно ЧСС також знижувалася до 392 ± 14 скорочень/хв (табл. 5.14). Електрична вісь серця незначно відновлювалася. Кут α дорівнював $+ 22,5 \pm 15,9^\circ$, проте достовірно не відрізнялася від контрольної групи.

Таким чином, у щурів у групі після кріодеструкції серця і введення альгінатного імплантата на 7-му добу спостереження відзначали явища ішемічного пошкодження і некрозу міокарда серцевої стінки на рівні групи контролю.

На електрокардіограмах щурів (група 3) на 7-му добу після **кріокардіодеструкції та введення метопрололу** перед комплексом QRS реєстрували зубець Р на рівні $0,02 \pm 0,01\text{мВ}$, тривалістю $28,3 \pm 1,1$ мс. Як і в попередніх групах, джерело збудження – синоатріальний вузол, ритм – правильний (табл. 5.14).

За даними електрокардіограм цієї групи на 7-му добу експерименту відзначалися ознаки функціонального стану серця, які характерні для переходу з найгострішої в гостру стадію некрозу міокарда. Амплітуда зубця R в II відведенні складала $0,17 \pm 0,02\text{мВ}$, тривалістю $18,2 \pm 3,7$ мс. Ці показники достовірно значимо відрізнялися від показників контрольної групи того ж терміну спостереження. В I і в aVL відведенні амплітуда зубця Q знижувалась

до $-0,05\text{мВ}$, що свідчило про зменшення деструктивних процесів у серцевому м'язі. В I і в aVL відведенні сегмент ST знижувався, але був вище ізолінії, що підтверджувало наявність ішемічного пошкодження міокарда в передніх і передньо-бічних відділах лівого шлуночка серця. Крім цього в деяких випадках відмічали інверсію (появу негативного зубця T), що свідчило про ішемію перехідної зони субепікардіальних ділянок міокарда. Тривалість інтервалу QT становила $87,4 \pm 4,5$ мс, частота серцевих скорочень при цьому була $373 \pm 18,7$ скорочень / хв. Кут α електричної осі серця склав $20,9 \pm 4,2^\circ$.

Таким чином, у щурів в групі після кріодеструкції на серце і введення метопрололу на 7-му добу спостереження зберігалися електрокардіографічні зміни характерні для передньо-бічного некрозу міокарда, але в порівнянні з контрольною групою відмічались ознаки відновлення електричної провідності.

Використання **альгінатного імплантата в поєднанні з екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця** поросят сприяло якнайшвидшому відновленню величини і форми комплексу QRST (рис. 5.22, табл. 5.14, 5.15).

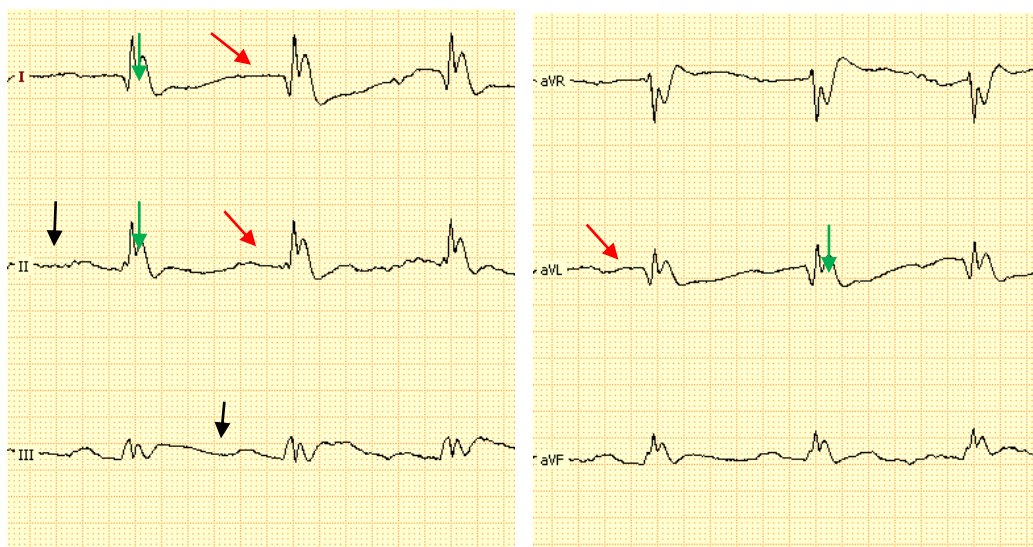


Рис. 5.22. Електрокардіограма щура після 30 с кріодеструкції серця з введенням альгінатного імплантата з ЕСцП, 7-ма доба. Чорні стрілки – зубець Р; червоні стрілки – зубець R; зелені стрілки – зубець Т

На 7-му добу в II відведенні реєстрували позитивний зубець Р перед кожним комплексом QRS з амплітудою до $0,03 \pm 0,01\text{мВ}$, тривалістю $27 \pm 1,5$ мс. Ритм синусовий, правильний, при цьому амплітуда зубця Р була на рівні норми.

У 46% піддослідних тварин групи 4 відмічали відновлення електричної провідності і скоротливої функції міокарда. В I і avL відведенні реєстрували високий зубець R. В II відведенні його величина становила $0,23 \pm 0,02$ мВ, що на 43% більше контрольної групи і достовірно значимо відрізнялась від других експериментальних груп і максимально наближалась до групи норми. Контури комплексу QRS відповідали нормі. Сегмент ST переходив ізолінію і формував позитивний зубець T, величина якого досягала $0,08 \pm 0,01$ мВ, що на 37% вище, ніж у щурів контрольної групи. В відведенні avR реєстрували глибокий зубець QS, який в цьому відведенні притаманний нормі. Електрична систола шлуночків становила $75 \pm 2,5$ мс, при середньому R-R інтервалі $140 \pm 2,6$ мс. Кут α становив $28,3 \pm 3,8^\circ$, і наближався до показників норми.

Таким чином, у щурів у групі після кріодеструкції серця і введенням альгінатного імплантата з ЕСцП на 7-му добу експерименту спостерігали зміни в електрокардіографічній картині, які свідчать про часткове відновлення серцевого м'яза.

Електрокардіографічні показники щурів на чотирнадцяту добу після кріокардіодеструкції

На 14-ту добу після кріодеструкції на ЕКГ у щурів контрольної групи зберігалися патологічні зміни, що свідчать про передньо-бічний трансмуральний некроз міокарда з глибоким зубцем Q у I і avL відведенні до $-0,12 \pm 0,03$ мВ (табл. 5.16).

Наявність позитивного зубця R свідчила про те, що ритм синусовий. Зубець R знаходився перед кожним комплексом QRS і, отже, був правильний регулярний ритм (табл. 5.16).

Величина зубця R в II відведенні поступово відновлювалась і становила $0,15 \pm 0,03$ мВ, тривалістю $22,1 \pm 3,5$ мс, що на 50% менше рівня норми. В I і avL відведенні цей показник був на рівні $0,07 \pm 0,01$ мВ (табл. 5.16). Амплітуда зубця T також була на 50% менше норми (табл. 5.16). Кількість тварин, у яких зберігався Q-зубець, складала 67% (табл. 5.17).

Таблиця 5.16

**Електрокардіографічні показники щурів на 14-ту добу
після моделювання некрозу міокарда (М±m)**

Показники	Норма	НМ	НМ+АГІ	НМ + М	НМ+АГІ+ЕСцП
Р, мВ	0,03±0,005	0,02±0,01	0,02±0,01	0,02±0,01	0,03±0,01
Р, мс	25±0,5	22,2±5,1	32,2±22,9	28,3±1,9	28±2,0
Q, мВ	–	-0,04±0,03	-0,01±0,01	–	–
Q, мс	–	10±5,6	11±3,7	–	–
R, мВ	0,27±0,02	0,15±0,03	0,15±0,05	0,18±0,05	0,24±0,02*
R, мс	29±0,88	22,1±3,5	23±5,7	25,7±5,5	27,6±6,3
T, мВ	0,10±0,02	0,05±0,02	0,05±0,02	0,08±0,03	0,10±0,03
T, мс	48±1,7	43,6±1,5	48,4±3,5	54,1±3,7	54±4,0
QRS, мс	30±0,7	32,8±0,9	32±1,0	30,7±2,7	33±1,5
QT, мс	77±1,5	87±7,2	84±5,8	81±4,1	76,1±1,2*
R-R ср., мс	148±6,0	168±14,8	180±35,5	138,7±5,7*	135±5,3*
ЧСС, скор./хв.	408±15	361,6±29,5	367±40,6	436±18,2*	445±16,9
Кут α, °	47±5,5	13,7±2,3	16,7±3,7	24,7±0,9*	27,6±0,5*

Примітка. *– статистично значимо відносно групи норми, $p<0,05$;

** – статистично значимо відносно групи контролю, $p<0,05$.

Таблиця 5.17.

**Величина (амплітуда (мВ)) і тривалість (мс) зубця R після
моделювання некрозу міокарда в I і avL відведеннях на 14-ту добу (М±m)**

Показники	Норма	НМ	НМ+АГІ	НМ+М	НМ+АГІ+ЕСцП
I відведення					
R, мВ	0,17±0,02	0,05±0,02	0,07±0,03	0,24±0,03	0,15±0,04
R, мс	24,9±1,0	16,8±3,0*	16,3±1,2*	18,2±3,1*	22,5±2,5**
Q, мВ	-	-0,12±0,01*	-0,07±0,03*	-0,05±0,02*	-0,02±0,01*
Q, мс	-	22,0±2,6	22,7±2,1	17,7±2,4	11,2±1,4
avL відведення					
R, мВ	0,05±0,01	0,04±0,02	0,03±0,01	0,05±0,03	0,05±0,01
R, мс	13,2±3,4	10,0±2,3	12,5±1,9	13,0±5,2	17,1±2,3
Q, мВ	-	-0,12±0,03*	-0,06±0,03*	-0,05±0,01*	-0,02±0,01*
Q, мс	-	23,0±2,5*	20,7±3,2	20,7±3,4	11,2±2,2
n із зубцем Q/n заг	0/10	10/15*	10/15*	8/15**	5/15**

Примітка. *– статистично значимо відносно групи норми, $p<0,05$;

** – статистично значимо відносно групи контролю, $p<0,05$.

За нашими попередніми даними морфологічного дослідження моделі кріодеструкції серця відомо, що на 14-ту добу спостереження в міокарді зникали ознаки запальної реакції, а на перший план виходили ознаки сполучно-тканинної проліферації. Це свідчить, що зона некрозу відокремлена від

інтактних тканин, і в паранекротичній ділянці явища ішемічного пошкодження і ішемії знижуються. Разом з тим, на ЕКГ в I і avL відведеннях відмічали депресію сегмента ST і негативний зубець T.

ЧСС досягала $361,6 \pm 29,5$ скорочень / хв, тривалість інтервалу QT при цьому становила $87 \pm 7,2$ мс, це свідчило що готовність до шлуночкових тахікардій була високою, але появу самих тахікардій не відмічали. Показник кута α достовірно не відрізнявся від такого на 7-му добу (табл. 5.16).

Таким чином, у щурів після кріодеструкції серця протягом 14 діб зберігалися ознаки трансмурального некрозу міокарда з незначним відновленням скоротливої функції міокарда.

На 14-ту добу після проведення кріодеструкції серця і **введення альгінатного імплантата** (група 2) електрокардіографічні показники достовірно значимо не відрізнялися від показників контрольної групи цього строку спостереження.

Перед кожним комплексом QRS реєстрували позитивний зубець P, тому у щурів даної групи ритм синусовий, правильний. Величина зубця R в II відведенні досягала $0,15 \pm 0,05$ мВ тривалістю $23 \pm 5,7$ мс (табл. 5.16). Відмінною особливістю була наявність глибокого зубця S і депресія сегмента ST до $-23 \pm 2,2$ мВ, що свідчило про триваюче ішемічне пошкодження. Глибокий зубець T в I і avL відведенні підтверджував наявність субепікардіальної ішемії міокарда передніх передньо-бічних поверхонь серця. Тривалість інтервалу QT становила $84 \pm 5,8$ мс, при цьому ЧСС була на рівні $367 \pm 40,6$ скорочень/хв.

Таким чином, до цього терміну спостереження в групі 2 після кріокардіодеструкції та введення альгінатного імплантата зберігалися ознаки трансмурального некрозу міокарда, і електрокардіографічна картина достовірно значимо не відрізнялася від контрольної групи.

На електрокардіограма щурів на 14-ту добу після **кріокардіодеструкції та введення метопрололу** реєстрували правильний синусовий ритм. Перед кожним комплексом QRS фіксували зубець P амплітудою $0,02 \pm 0,01$ мВ, тривалістю $28,3 \pm 1,1$ мс (табл. 5.16).

У II відведенні величина зубця R була $0,18 \pm 0,05\text{мВ}$, при цьому в I avL відведенні його амплітуда досягала $0,05 \pm 0,03\text{мВ}$, що на 70% вище контрольної групи. Ішемічного пошкодження у вигляді елевації або депресії сегмента ST в групі 3 не відмічали, що за електрокардіографічними ознаками підтверджувало перехід гострої стадії некрозу міокарда в підгостру. Наявність негативного зубця T свідчила про триваючу до цього терміну спостереження субепікардіальну ішемію міокарда.

Як відомо, бета-адреноблокатори – це антагоністи катехоламінів, вони мають можливість інгібувати їх хронотропний, інотропний і вазоконстрикторний ефекти, що проявляється при гострому некрозі міокарда досить швидким відновленням скоротливої функції міокарда. Тривалість інтервалу QT скоротилася до $81 \pm 4,1$ мс, відповідно ЧСС була $436 \pm 18,2$ скорочень / хв. Кут α досягав $24,7 \pm 0,9^\circ$, що на 80% вище показника контрольної групи, проте електрична вісь залишалася повернутою вліво (табл. 5.16).

Таким чином, на 14-ту добу в групі з введенням метопрололу після кріодеструкції міокарда залишалися ознаки триваючої ішемії міокарда субепікардіального шару. Кількість тварин, у яких зареєстровано Q-позитивні електрокардіограми, на цей строк спостереження склала 53%.

У групі з використанням **альгінатного імплантата в поєднанні з ЕСцП** після кріокардіодеструкції виявлено позитивний вплив пептидних комплексів на формування комплексу QRST (рис. 5.23, табл. 5.16, 5.17).

На ЕКГ реєстрували синусовий правильний ритм. Зубець P був на рівні показників норми $0,03 \pm 0,01\text{мВ}$, тривалістю $28 \pm 2,0$ мс (табл. 5.16).

Амплітуда зубця R в II відведенні досягала $0,24 \pm 0,04\text{мВ}$, що достовірно вище контрольної групи на 60%, а також в порівнянні з іншими експериментальними групами. Збільшення амплітуди зубця R свідчило про відновлення провідної і скорочувальної функції міокарда лівого шлуночка. Показники реполяризації міокарда також наближалися до рівня норми, про що свідчила величина зубця T (табл. 5.16). У деяких випадках в I та avL відведеннях залишався негативний зубець T, що свідчило про ішемію

відповідних відділів серця. Тривалість інтервалу QT знижувалася до $76,1 \pm 1,2$ мс (табл. 5.16). Кут α до цього терміну найбільш максимально з усіх груп наближався до показника норми $27,6 \pm 0,5$ (табл. 5.17). Кількість тварин, у яких зареєстровано негативний зубець Q, в цій групі була мінімальною і складала 33% від 15 тварин.

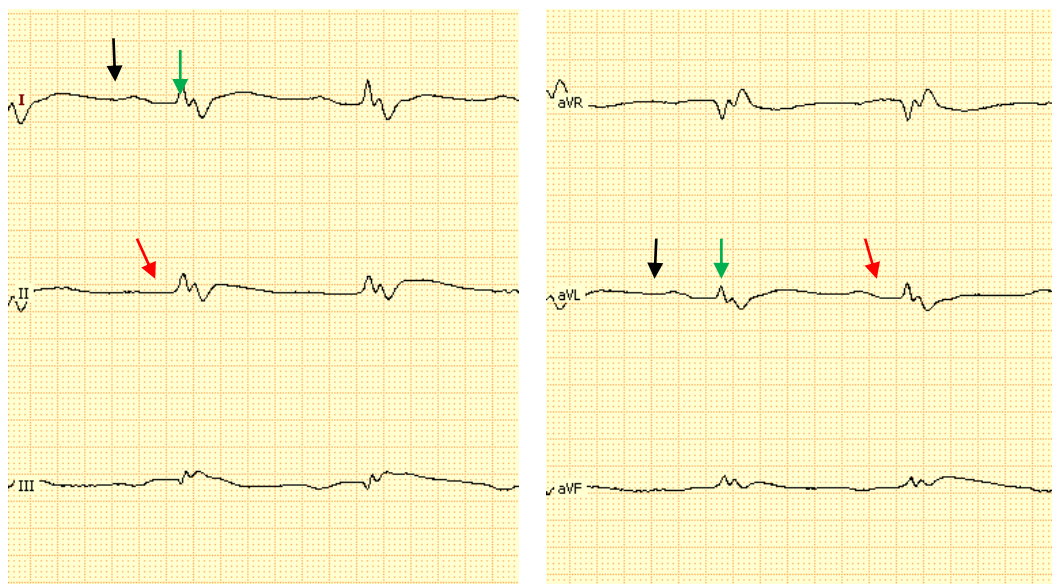


Рис. 5.23. Електрокардіограма щура після 30с кріодеструкції серця з введенням альгінатного імплантата з ЕСцП, 14-та доба. Чорні стрілки – зубець R; червоні стрілки – зубець T; зелені стрілки – зубець T

Таким чином, в групі поєднаного використання альгінатного імплантата і введення ЕСцП на електрокардіограмі виявлені показники, які найбільш наближені до рівня норми. Низька амплітуда зубця Q в I та aVL відведеннях і висока амплітуда зубця R свідчили про активні репаративні процеси, що відбуваються в міокарді на тлі введення екстрактів серця поросят.

Електрокардіографічні показники щурів після кріодеструкції серця на тридцять добу

В контрольній групі тварин після кріодеструкції серця на 30-ту добу повного відновлення електрокардіографічної картини не спостерігалось. У третини експериментальних тварин зберігалися ознаки передньо-бічного трансмурального некрозу міокарда (рис. 5.24).

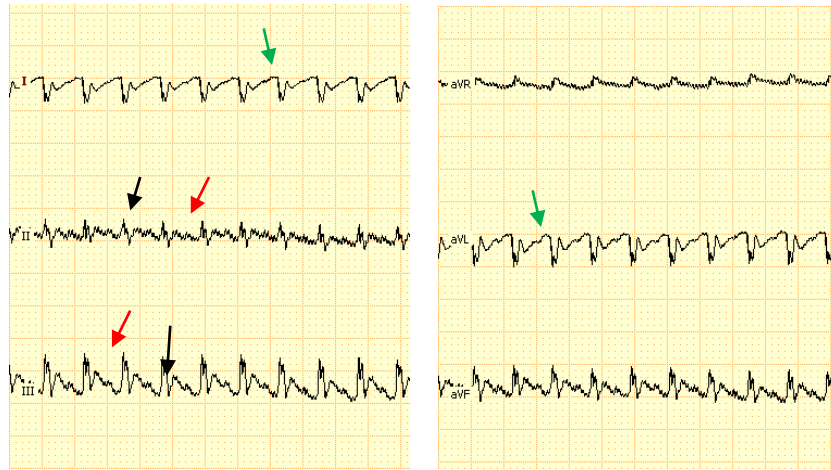


Рис. 5.24. Електрокардіограма щура після 30с кріодеструкції серця. 30-та доба. Чорні стрілки – зубець Р; червоні стрілки – зубець R; зелені стрілки – зубець Т

Величина зубця Р перебувала на рівні $0,02 \pm 0,01$ мВ. Ритм синусовий, правильний. В I і aVL відведенні амплітуда зубця Q зберігалася в межах $-0,04 \pm 0,01$ мВ, тривалість зубця -10 мс (табл. 5.18). За результатами попереднього морфологічного аналізу на цей строк спостереження в стінці лівого шлуночка серця відбуваються процеси дозрівання сполучнотканинного рубця, тобто продовження ремоделювання стінки лівого шлуночка. За даними електрокардіографії це підтверджується наявністю ознак, характерних для підгострої і рубцевої стадії некрозу міокарда.

Амплітуда зубця R в II відведенні досягала $0,19 \pm 0,07$ мВ, при тривалості $19,7 \pm 6,3$ мс (табл. 5.18).

Показник амплітуди зубця Т у II відведенні зберігав низькі значення на рівні $0,05 \pm 0,02$ мВ, що на 50% нижче за показник норми. Слід зазначити, що в I і aVL відведенні зубець Т був негативним, що свідчило про триваючі процеси ішемії міокарда у відповідних топографічних ділянках лівого шлуночка. Однак тривалість інтервалу QT і ЧСС наближалися до значення норми і дорівнювали $76 \pm 2,3$ мс і $377 \pm 14,2$ скорочень / хв відповідно (табл. 5.18). Електрична вісь серця повернута вліво, кут α склав 17° , що на 63% менше від норми.

Таким чином, на 30-ту добу в групі контролю зберігалися ознаки перенесеного некрозу міокарда зі збереженням у 1/3 тварин в I і aVL відведенні зубця Q на рівні $-0,04$ мВ (табл. 5.19).

Таблиця 5.18

**Електрокардіографічні показники щурів на 30-ту добу після
моделювання некрозу міокарда (М±m)**

Показники	Норма	НМ	НМ+АГІ	НМ+М	НМ+АГІ+ЕСцП
P, мВ	0,03±0,005	0,02±0,01	0,02±0,01	0,02±0,01	0,03±0,01
P, мс	25±0,5	24,3±3,2	26,5±2,2	29,3±2,6	26±1,7
Q, мВ	–	-0,04±0,01	-0,01±0,01	–	–
Q, мс	–	10±2,3	12±3,5	–	–
R, мВ	0,27±0,02	0,19±0,07	0,21±0,06	0,19±0,01	0,26±0,04
R, мс	29±0,88	19,7±6,3	17±6,3	19,0±5,5	26±5,2
T, мВ	0,10±0,02	0,05±0,02	0,03±0,01	0,08±0,03	0,09±0,03
T, мс	48±1,7	44±2,0	48,2±2,7	47,3±7,3	51,6±2,3
QRS, мс	30±0,7	31,3±0,3	29±2,1	29,7±2,7	30±0,7
QT, мс	77±1,5	76±2,3	74,7±5,1	71,3±9,3	77±3,9
R-R ср., мс	148±6,0	159±6,2	149±11,6	130±9,2	150±5,3
ЧСС, скор./хв.	408±15	377±14,2	408±31,3	465±32,7	399±13,6
Кут α, °	47±5,5	17±0,1	34±0,7	42±2,1	48,4±1,6

Примітка: * – статистично значимо відносно групи норми, $p < 0,05$;

** – статистично значимо відносно групи контролю, $p < 0,05$.

Таблиця 5.19

**Величина (амплітуда (мВ)) і тривалість (мс) зубця R після
моделювання некрозу міокарда в I і avL відведеннях на 30-ту добу (М±m)**

Показники	Норма	НМ	НМ+АГІ	НМ+М	НМ+АГІ+ЕСцП
I відведення					
R, мВ	0,17±0,02	0,05±0,02	0,07±0,03	0,24±0,03	0,15±0,04
R, мс	24,9±1,0	16,8±3,0*	16,3±1,2*	18,2±3,1*	22,5±2,5**
Q, мВ	-	-0,04±0,01*	-0,04±0,02*	-0,05±0,02*	
Q, мс	-	22,0±2,6	22,7±1,9	17,7±2,4	
avL відведення					
R, мВ	0,05±0,01	0,09±0,05	0,10±0,01	0,05±0,03	0,05±0,01
R, мс	13,2±3,4	14,0±2,7	16,5±2,9	13,0±5,2	17,1±2,3
Q, мВ	-	-0,04±0,01*	-0,04±0,01*	-0,01±0,01*	–
Q, мс	-	23,0±2,5*	20,7±3,2	22,4±1,8	–
n із зубцем Q/n заг	0/10	5/15*	6/15*	4/15*	0/15*

Примітка: * – статистично значимо відносно групи норми, $p < 0,05$;

** – статистично значимо відносно групи контролю $p < 0,05$.

У групі тварин після введення альгінатного імплантата на 30-ту добу експерименту перед кожним комплексом QRS спостерігали позитивний зубець R, що підтверджувало наявність у тварин цієї групи правильного синусового ритму. Тривалість зубця R становила $26,5 \pm 2,2$ мс (табл. 5.18).

Істотних змін в електрокардіографічній картині щурів групи 2 в порівнянні з контрольною групою не відбувалось. У 6 з 15 щурів (40%) зберігались ознаки переднього і передньо-бічного некрозу міокарда, що підтверджувалось наявністю зубця Q або QS в I і aVL відведенні. Амплітуда зубця R в II відведенні досягала $0,21 \pm 0,06$ мВ, тривалістю $17 \pm 6,3$ мс. Величина зубця T у II відведенні була нижче рівня норми на 50%. Як і в контрольній групі, в I і aVL відведенні відмічали негативний «ішемічний» зубець T, який характерний для підгострої стадії некрозу міокарда. Тривалість інтервалу QT перебувала на рівні норми $74,7 \pm 5,1$ мс, при цьому ЧСС склала $408 \pm 31,3$ скорочень / хв. Електрична вісь незначно повернута вліво і кут α складав $34 \pm 0,7^\circ$.

Таким чином, за даними електрокардіографічного дослідження встановлено, що використання альгінатного гідрогелю не посилювало інтенсивність патологічних змін в міокарді лівого шлуночка і не гальмувало швидкість відновлювальних процесів в осередках некрозу та ішемії серцевого м'яза.

На електрокардіограмах щурів на 30-ту добу після кріодеструкції та **введення метопрололу** відзначали ознаки перенесеного некрозу міокарда, про що свідчила низька амплітуда зубця R у II відведенні, яка значимо не відрізнялася від аналогічного показника попередніх груп того ж строку спостереження ($0,19 \pm 0,01$ мВ). Як відомо, амплітуда зубця R на ЕКГ відображає об'єм лівого шлуночка. Після перенесеного кріопшкодження серця зниження зубця R супроводжується розвитком поширеного кардіосклерозу, і в даному випадку, ця ознака може свідчити про ішемію.

На кардіограмі цієї групи реєстрували зубець Р, що підтверджувало походження ритму з синусового вузла. Тривалість зубця Р становила $29,3 \pm 2,6$ мс, що відповідало параметрам групи норми (табл. 5.18).

Амплітуда зубця Т в II відведенні досягала показника норми $0,08 \pm 0,03$ мВ, тривалість зубця до $47,3 \pm 7,3$ мс. Інтервал QT наближався до рівня норми і становив $71,3 \pm 9,3$ мс, при цьому ЧСС становила $465 \pm 32,7$ скор./хв. Електрична вісь повернута вліво і кут α складав $42 \pm 2,1^\circ$.

Таким чином, у групі після кріодеструкції серця і введення метопрололу на 30-ту добу експерименту показники ЕКГ наближалися до норми, за винятком повного відновлення амплітуди зубця R.

До 30-ї доби у групі **використання альгінатного імплантата в поєднанні з ЕСцП** показники комплексу QRST максимально наближалися до показників норми (рис. 5.25, табл. 5.18).

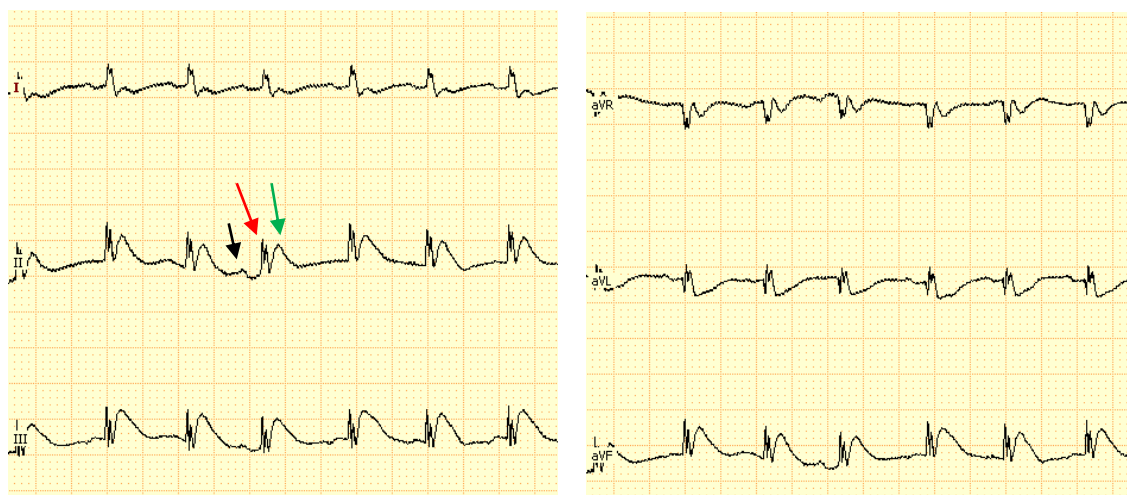


Рис. 5.25. Електрокардіограма щура після 30с кріодеструкції серця з введенням альгінатного імплантата з ЕСцП, 30-та доба. Чорні стрілки – зубець Р; червоні стрілки – зубець R; зелені стрілки – зубець Т

У тварин цієї групи був правильний, синусовий ритм. У II відведенні реєстрували позитивний зубець Р, що повторюється перед кожним комплексом QRS. Тривалість зубця Р становила $26 \pm 1,7$ мс (табл. 5.18). Форма комплексу QRS відповідала нормі. Патологічний зубець Q в стандартних відведеннях був відсутній. Величина зубця R у II відведенні досягала $0,26 \pm 0,04$ мВ, що свідчило про відновлення функції міокарда. В I і aVL відведенні реєстрували негативний зубець Т, що підтверджував перенесений некроз міокарда

(табл. 5.19). Показники ЧСС і тривалості інтервалу QT відповідали нормі (табл. 5.18). Електрична вісь серця повернута вліво і кут α ($48,4 \pm 1,6^\circ$) статистично значимо не відрізнявся показника норми (табл. 5.18).

Таким чином, у щурів в групі після кріовтручання на серце і введення альгінатного імплантата, насиченого ЕСцП на 30-ту добу при контурному аналізі відзначали найкращі електрокардіографічні показники відновлення серцевого м'яза.

За результатами проведених електрокардіографічних досліджень встановлено, що імплантація альгінатного гідрогелю в серця щурів не спричиняє патологічних змін у серцевій діяльності. Це підтверджується відсутністю достовірних відхилень електрофізіологічних показників від норми на електрокардіограмі. Отримані дані свідчать про високу біосумісність альгінатного матеріалу з тканинами міокарда та його безпечність щодо функціонального стану серцевого м'яза.

Введення альгінатного імплантата в зону кріопошкодження стінки лівого шлуночка не сприяє прискоренню відновлення серцевого м'яза, проте і посилювань розвитку некрозу також не відмічається. Тобто, показано, що альгінатний імплантат при введенні в зону некрозу міокарда є індиферентною речовиною, яка не посилює деструктивні та запальні процеси, і може бути використана як носій біологічно активних речовин або лікарських засобів для їх доставки в зону пошкодження. Вірогідно, альгінатний імплантат поступово вивільняється із зони некрозу, не перешкоджаючи процесам запалення та проліферації фібробластів при формуванні та дозріванні сполучно-тканинного рубця.

Введення метопрололу в умовах кріодеструкції серця сприяє зменшенню ішемічного ураження, стабілізації електричної активності міокарда та прискоренню процесів репарації. До 30-ї доби експерименту спостерігалось майже повне відновлення показників ЕКГ, за винятком амплітуди зубця R, що може бути пов'язано з розвитком рубцевих змін і формуванням постінфарктного кардіосклерозу. Лише у 26% тварин реєстрували ознаки

перенесеного трансмурального некрозу із збереженням зубця Q. Кардіопротекторний ефект препарату реалізується, ймовірно, через зниження потреби серця в кисні, пригнічення надмірної симпатичної активності, зменшення оксидативного стресу та нормалізацію метаболічних процесів у зоні ушкодження.

Використання екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят в якості біологічно активної сполуки на альгінатному носії на тлі некрозу міокарда, викликаного локальною кріодеструкцією серця, має більш позитивний результат відносно експериментальних груп, що має відповідні підтвердження на електрокардіограмах. Якщо в контролі після локальної кріодеструкції міокарда на 1-шу добу спостерігається транзиторне порушення нормальної провідності серця, перехід ролі водія ритму від синоатріального до атріовентрикулярного вузла, що на ЕКГ відповідає відсутності зубця Р або наявності негативного зубця Р, то введення альгінатного імплантата, насиченого ЕСцП, в зону кріоушкодження міокарда вже на 1-шу добу сприяє збереженню джерела збудження міокарда на рівні синоатріального вузла, що відображається в наявності позитивного зубця Р. На 7-му добу в групі з ЕСцП в альгінатному гелі, на відміну від груп порівняння, реєструється високий зубець R, за амплітудою і тривалістю наближуючись до рівня норми, що свідчить про відновлення скоротливої функції міокарда. На 30-ту добу спостереження в групі з ЕСцП в альгінатному гелі форма комплексу QRS відповідає нормі, а ознаки ремоделювання серця є мінімальними, про що свідчить відсутність тварин із зареєстрованим зубцем Q, тоді як в інших групах до 40% тварин мають ознаки перенесеного трансмурального некрозу міокарда зі збереженням на ЕКГ зубця Q.

5.4. Вплив екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят на функціональний стан міокарда щурів на моделі введення токсичних доз адреналіну

5.4.1. Особливості електрокардіографічних змін у щурів під впливом кріоекстрактів серця поросят при адреналіновій міокардіодистрофії

У цьому підрозділі представлено результати електрокардіологічного дослідження, спрямованого на вивчення впливу екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят на функціональний стан міокарда щурів за умов введення токсичних доз адреналіну. Модель адреналінового ураження міокарда у лабораторних тварин є класичним і відтворюваним способом індукції гострих функціональних та морфологічних змін серцевого м'яза.

В якості референс-препарату використовували «Кордарон». Механізм дії Кордарону полягає у блокуванні калієвих каналів кардіоміоцитів, що призводить до подовження потенціалу дії, зменшення автоматизму та пригнічення ектопічної активності. Крім того, препарат має властивості блокатора натрієвих і кальцієвих каналів, а також частково β -адреноблокуючу активність. На моделі адреналін-індукованого ураження міокарда вибір цього препарату є науково обґрунтованим, оскільки цей засіб дозволяє об'єктивно оцінити кардіопротекторну дію досліджуваних екстрактів у порівнянні зі стандартом, що має підтверджену клінічну ефективність і відомий механізм дії.

Особливості електрокардіографічних змін у щурів під впливом кріоекстрактів серця поросят при адреналіновій міокардіодистрофії на 1-шу добу експерименту

На першу добу після введення токсичної дози адреналіну у щурів контрольної групи спостерігали виражені електрокардіографічні зміни, що відображають розвиток гострої міокардіодистрофії. Зокрема, у тварин цієї групи відмічено статистично значиме ($p < 0,05$) підвищення частоти серцевих скорочень (ЧСС) до $478 \pm 10,4$ уд./хв. порівняно з нормою (379 ± 15 уд./хв.), а це

супроводжувалось скороченням інтервалів R–R (макс., мін. і середнього), що свідчить про розвиток тахікардії та підвищення автоматизму синусового вузла (табл. 5.20).

Таблиця 5.20

**Електрокардіографічні показники щурів на 1-шу добу на моделі
адреналін-індукованої міокардіодистрофії (II відведення) ($M \pm m$)**

Показники	Норма	Адреналін	Адреналін+Кордарон	Адреналін+ЕСцП
ЧСС, скор./хв.	379±15	478±10,4*	442±24,6*	437±10,2*
R-R макс., мс	174±6,0	135±3,2	149±7,8	156±6,1
R-R мін., мс	144±7,0	119±2,4	131±8,3	131±4,5
R-R сер., мс	158±6,0	126±3,2	138±8,3	138±3,7
P, мс	30±0,5	24,6±1,5	26,0±1,1	24,4±0,8
P-R(P-Q), мс	50±0,5	40,2±1,9	58,2±4,6	42,5±2,0
QRS, мс	32±0,7	37,7±1,8*	29,2±0,9	30,5±0,5
QT, мс	70±1,5	79,9±2,8*	75,3±3,5	84,4±2,8*
Вісь QRS, °	47±5,5	40,5±3,8*	43,1±4,9	51,1±3,1

Примітка: * – статистично значимо відносно групи норми, $p < 0,05$.

Зменшення тривалості зубця P та інтервалу P–R (P–Q) у групі адреналіну вказує на прискорення передсердно-шлуночкової провідності, що є типовою реакцією міокарда на катехоламінове перевантаження. Подовження комплексу QRS (до 37,7±1,8 мс) та інтервалу QT (до 79,9±2,8 мс) порівняно з контролем може свідчити про дестабілізацію процесів деполяризації та реполяризації у міокарді внаслідок токсичної дії адреналіну (табл. 5.20).

Застосування «Кордарону» на тлі адреналінової інтоксикації зумовлювало часткову нормалізацію основних електрокардіографічних показників. У цих тварин відзначалося зниження ЧСС до 442±24,6 скор./хв., подовження інтервалів R–R та скорочення тривалості комплексу QRS, що свідчить про часткове відновлення внутрішньошлуночкової провідності (табл. 5.20).

Під впливом екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕСцП) спостерігалась тенденція до зниження тахікардії (ЧСС 437±10,2 скор./хв.) і нормалізації тривалості інтервалів R–R. Подовження інтервалу QT до 84,4±2,8 мс може свідчити про стабілізацію процесів реполяризації міокарда,

що вказує на потенційний кардіопротекторний ефект екстракту. Положення електричної осі серця у тварин цієї групи залишалось в межах фізіологічної норми ($51,1 \pm 3,1^\circ$), що додатково підтверджує відсутність виражених порушень електричної активності (табл. 5.20).

Таким чином, уже на першу добу експерименту екстракти кріоконсервованих фрагментів серця поросят проявляють здатність частково попереджувати негативний вплив адреналіну на функціональний стан міокарда, наближаючи електрокардіографічні показники до значень, характерних для контрольних тварин.

Особливості електрокардіографічних змін у щурів під впливом кріоекстрактів серця поросят при адреналіновій міокардіодистрофії на 7-му добу експерименту

На 7-му добу після введення токсичних доз адреналіну у тварин контрольної групи зберігались ознаки порушення електричної активності міокарда, що відображало розвиток стійких дистрофічних та некротичних змін у серцевому м'язі (табл. 5.21, рис. 5.26).

Таблиця 5.21

Електрокардіографічні показники щурів на 7-мудобу на моделі адреналін-індукованої міокардіодистрофії (II відведення) ($M \pm m$)

Показники	Норма	Адреналін	Адреналін+Кордарон	Адреналін+ЕСцП
ЧСС, скор./хв.	379 ± 15	$482 \pm 10^*$	$476 \pm 12^*$	$459 \pm 8^*$
R-R макс., мс	$174 \pm 6,0$	$144 \pm 9,2^*$	$137 \pm 6,8^*$	171 ± 20
R-R мін., мс	$144 \pm 7,0$	$117 \pm 2,4$	$119 \pm 3,7$	117 ± 4
R-R сер., мс	$158 \pm 6,0$	$125 \pm 2,6^*$	$126 \pm 3,3^*$	$130 \pm 3^*$
P, мс	$30 \pm 0,5$	—	—	—
P-R(P-Q), мс	$50 \pm 0,5$	—	—	—
QRS, мс	$32 \pm 0,7$	$31,1 \pm 0,6$	$34,5 \pm 1,7$	$35,3 \pm 3,6$
QT, мс	$70 \pm 1,5$	$84,6 \pm 3,1^*$	$87,8 \pm 5,2^*$	$86,2 \pm 3,5^*$
Вісь QRS, °	$47 \pm 5,5$	$27,3 \pm 8,0^*$	$34,8 \pm 7,7^*$	$43,2 \pm 5,9$

Примітка: *— статистично значимо відносно групи норми, $p < 0,05$.

У групі Адреналіну спостерігалось достовірне ($p < 0,05$) підвищення частоти серцевих скорочень (до 482 ± 10 скор./хв.) порівняно з нормою (379 ± 15 скор./хв.) та скорочення середнього інтервалу R–R (до $125 \pm 2,6$ мс), що свідчить про збереження тахікардії і зниження варіабельності серцевого ритму. Подовження інтервалу QT до $84,6 \pm 3,1$ мс є ознакою порушення реполяризаційних процесів у міокарді. Значне відхилення електричної осі серця ($27,3 \pm 8,0^\circ$) вказує на розвиток електричної нестабільності та можливе ураження лівого шлуночка.

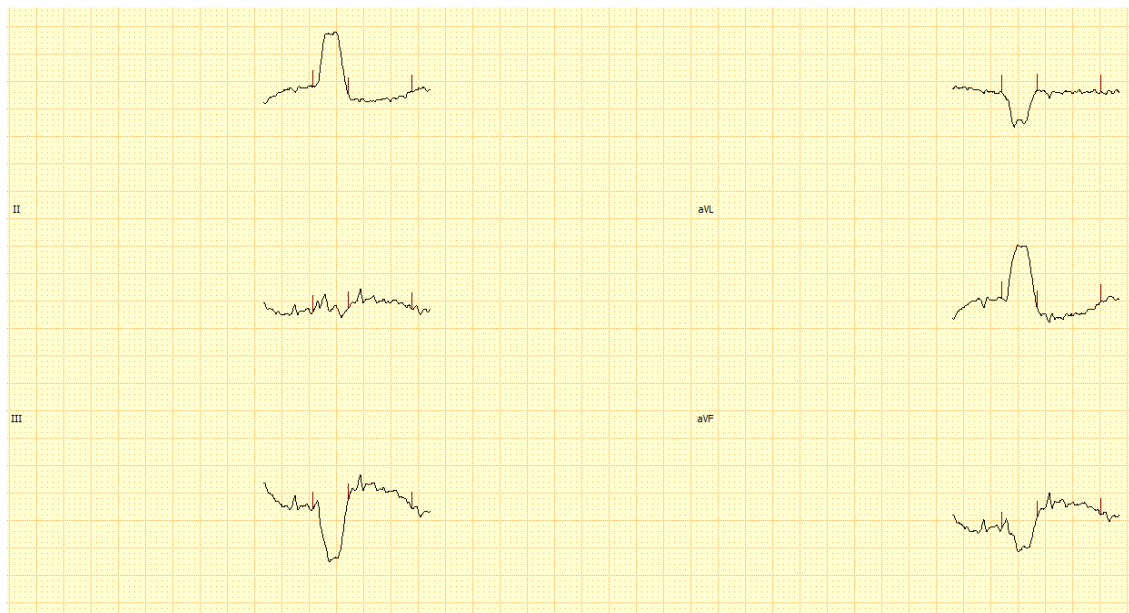


Рис. 5.26. ЕКГ щура групи Контроль. Введення адреналіну, 7-ма доба

Дані таблиці 5.22 підтверджують наявність глибоких ішемічно-некротичних змін: у третині тварин групи Адреналіну (4 з 14) виявлено патологічний зубець Q у III та aVF відведеннях, що є типовою ознакою формування вогнища некрозу міокарда. Амплітуда зубця R у цих відведеннях знижувалася або зникала повністю, що додатково вказує на втрату електричної активності уражених ділянок серцевого м'яза.

У тварин, які одночасно отримували «Кордарон», спостерігалася часткова нормалізація електрокардіографічних показників. Частота серцевих скорочень залишалась підвищеною (476 ± 12 уд./хв.), проте інтервал QT подовжувався помірно ($87,8 \pm 5,2$ мс), а патологічні зубці Q не реєструвалися, що свідчить про зменшення ступеня ішемічного ураження та антиаритмічну дію препарату (табл. 5.21, рис. 5.27).

Примітка: * – статистично значимо відносно групи норми, $p < 0,05$.

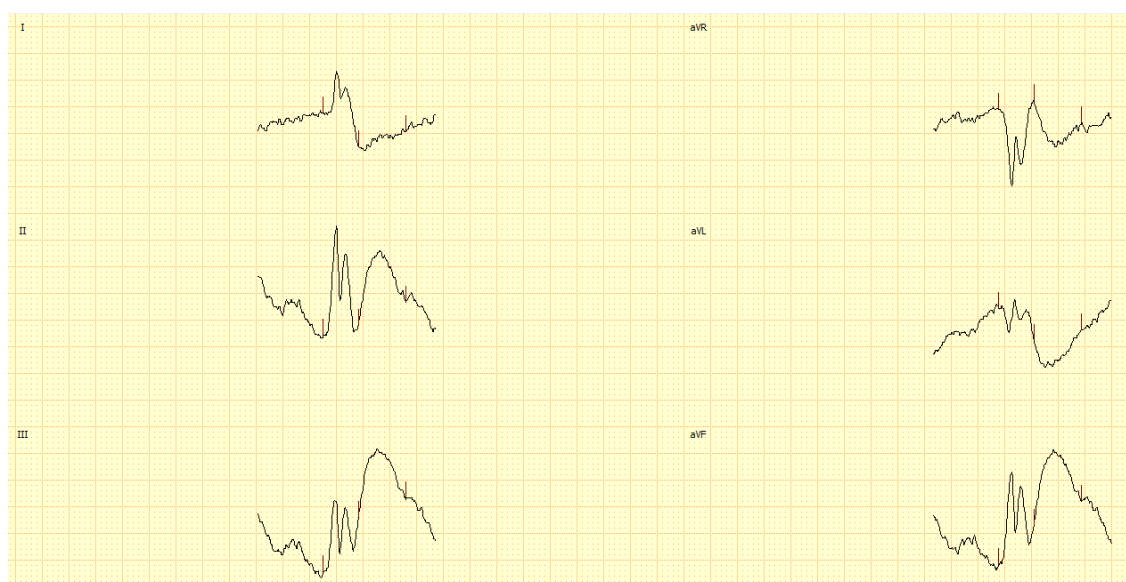


Рис. 5.27. ЕКГ щура групи «Адреналін» + «Кордарон», 7-ма доба

Під впливом екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят **(ЕСцП)** відзначено більш виражену позитивну динаміку: частота серцевих скорочень знижувалася до 459 ± 8 уд./хв., інтервали R–R подовжувались і наближались до контрольних значень (171 ± 20 мс), а положення електричної осі серця практично нормалізувалось ($43,2 \pm 5,9^\circ$). Подовження інтервалу QT до $86,2 \pm 3,5$ мс супроводжувалося відсутністю патологічних зубців Q у III та aVF

відведеннях, що свідчить про стабілізацію електричної активності міокарда та зниження проявів некротичного ураження (табл. 5.21, рис. 5.28).

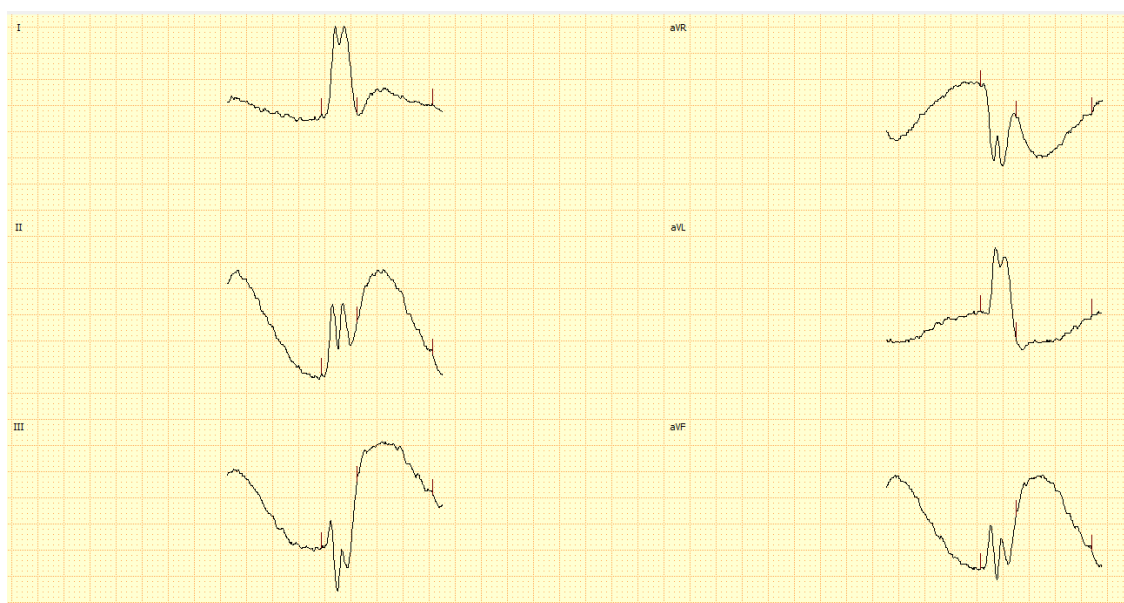


Рис. 5.28. ЕКГ щура групи «Адреналін» + ЕСцП, 7-ма доба

Таким чином, результати електрокардіографічного дослідження на 7-му добу експерименту свідчать, що екстракти кріоконсервованих фрагментів серця поросят чинять виражений кардіопротекторний ефект, який проявляється зниженням тахікардії, нормалізацією інтервалів R–R і QT, стабілізацією положення електричної осі серця та попередженням формування патологічного зубця Q. Ефективність дії ЕСцП за низкою параметрів не поступається референс-препарату «Кордарон».

Особливості електрокардіографічних змін у щурів під впливом кріоекстрактів серця поросят при адреналіновій міокардіодистрофії на 14-ту добу експерименту

На 14-ту добу після введення токсичних доз адреналіну у щурів групи «Адреналіну» зберігалися виражені електрокардіографічні ознаки порушення функціонального стану міокарда, що свідчить про хронізацію дистрофічного процесу.

У тварин групи Адреналіну зафіксовано достовірне ($p < 0,05$) підвищення частоти серцевих скорочень до 498 ± 7 скор./хв. порівняно з контролем (379 ± 15

скор./хв.), а також значне скорочення інтервалів R–R, що підтверджує наявність стійкої тахікардії та зниження варіабельності серцевого ритму. Подовження інтервалу QT до $82,7 \pm 3,2$ мс вказує на порушення процесів реполяризації, характерних для адреналін-індукованого ураження міокарда. Зміщення електричної осі серця ($38,8 \pm 7,6^\circ$) свідчить про електричну нестабільність та нерівномірність ураження міокардіальних волокон (табл. 5.23).

Таблиця 5.23

Електрокардіографічні показники щурів на 14-ту добу на моделі адреналін-індукованої міокардіодистрофії (II відведення) ($M \pm m$)

Показники	Норма	Адреналін	Адреналін+Кордарон	Адреналін+ЕСцП
ЧСС, скор./хв.	379 ± 15	$498 \pm 7^*$	$490 \pm 15^*$	$481 \pm 11^*$
R-R макс., мс	$174 \pm 6,0$	$133 \pm 4,0^*$	$140 \pm 4,0^*$	$135 \pm 4,0^*$
R-R мін., мс	$144 \pm 7,0$	$110 \pm 5,6^*$	$109 \pm 5,4^*$	$118 \pm 2,7^*$
R-R сер., мс	$158 \pm 6,0$	$120 \pm 5,7^*$	$123 \pm 4,0^*$	$125 \pm 2,9^*$
P, мс	$30 \pm 0,5$	–	–	–
P-R(P-Q), мс	$50 \pm 0,5$	–	–	–
QRS, мс	$32 \pm 0,7$	$30,7 \pm 1,4$	$29,7 \pm 0,9$	$30,8 \pm 1,2$
QT, мс	$70 \pm 1,5$	$82,7 \pm 3,2^*$	$91,8 \pm 1,5^*$	$84,4 \pm 2,7^*$
Вісь QRS, °	$47 \pm 5,5$	$38,8 \pm 7,6$	$32,4 \pm 8,7^*$	$47,5 \pm 3,3$

Примітка: * – статистично значимо відносно групи норми, $p < 0,05$.

За даними таблиці 5.24, у двох тварин цієї групи виявлено патологічний зубець Q у III та aVF відведеннях, що вказує на формування вогнищового некрозу у нижній стінці лівого шлуночка. Амплітуда зубця R при цьому зменшувалася або зникала повністю, що підтверджує наявність локальних порушень деполяризації.

У групі «Адреналін + Кордарон» зберігалися ознаки тахікардії (490 ± 15 уд./хв.), однак спостерігалася часткове подовження інтервалу R–R і зменшення електричної нестабільності. Інтервал QT подовжувався до $91,8 \pm 1,5$ мс, що може свідчити про вплив препарату на реполяризаційні процеси. Положення електричної осі серця зміщувалося до $32,4 \pm 8,7^\circ$, що, ймовірно, відображає нерівномірність електрофізіологічної відповіді різних відділів міокарда, але при цьому патологічні зубці Q не реєструвалися (табл. 5.23).

Величина (амплітуда (мВ)) і тривалість (мс) зубця R після моделювання некрозу міокарда в III і avF відведеннях на 14-ту добу ($M \pm m$) (у 2 щурів)

Показники	Норма	Адреналін
III відведення		
R, мВ	$0,17 \pm 0,02$	—
R, мс	$24,9 \pm 1,0$	—
Q, мВ	-	$-0,19 \pm 0,04^*$
Q, мс	-	$24,0 \pm 1,12^*$
avF відведення		
R, мВ	$0,06 \pm 0,01$	—
R, мс	$13,8 \pm 3,6$	—
Q, мВ	-	$-0,10 \pm 0,03^*$
Q, мс	-	$22,5 \pm 1,15^*$
n із зубцем Q/n заг	0/14	2/9*

Примітка: *— статистично значимо відносно групи норми, $p < 0,05$.

У щурів, яким вводили екстракти кріоконсервованих фрагментів серця поросят (**ЕСцП**), спостерігалось покращення більшості електрокардіографічних показників. Частота серцевих скорочень знижувалась до 481 ± 11 скор./хв., інтервали R–R подовжувались, наближаючись до контрольних значень (R–R середнє – $125 \pm 2,9$ мс), а інтервал QT мав тенденцію до нормалізації ($84,4 \pm 2,7$ мс). Положення електричної осі серця ($47,5 \pm 3,3^\circ$) відповідало показникам здорових тварин. Патологічних зубців Q у III та avF відведеннях у цій групі не виявлено, що свідчить про відсутність некротичних процесів у міокарді (табл. 5.23, рис. 5.29).

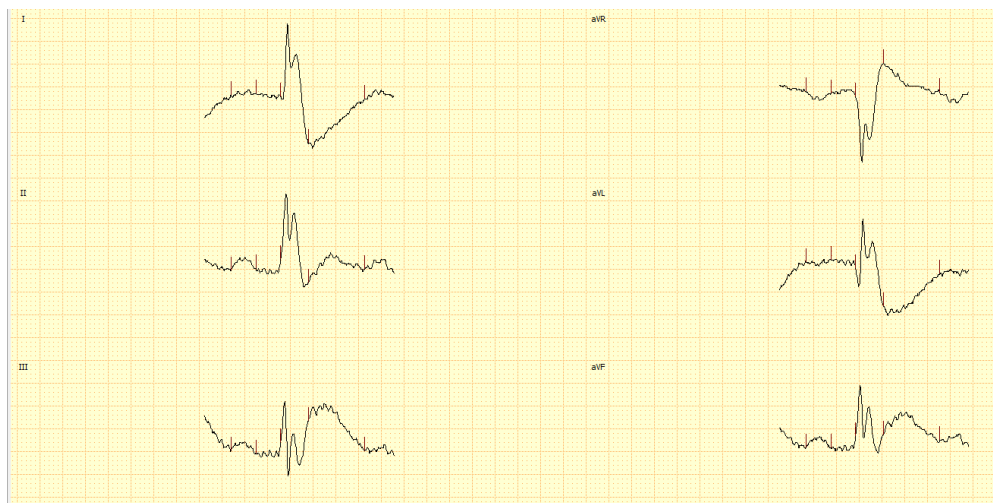


Рис. 5.29. ЕКГ щура групи («Адреналін» + ЕСцП, 14-та доба

Отже, на 14-ту добу експерименту у тварин, які отримували екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят, спостерігається чітко виражений кардіопротекторний ефект, що проявляється зменшенням тахікардії, стабілізацією інтервалів R–R та QT, відновленням нормального положення електричної осі серця й відсутністю ознак ішемічного або некротичного ураження. Порівняно з референс-препаратом «Кордарон», дія ЕСцП характеризується більш м'яким і збалансованим відновлювальним впливом на функціональний стан міокарда.

Особливості електрокардіографічних змін у щурів під впливом кріоекстрактів серця поросят при адреналіновій міокардіодистрофії на 28-му добу експерименту

На 28-му добу після введення токсичних доз адреналіну у щурів групи Адреналіну зберігалися виражені ознаки електричної дисфункції міокарда, хоча спостерігалась певна тенденція до часткового відновлення окремих параметрів.

У тварин, які отримували адреналін, реєструвалась стійка тахікардія: частота серцевих скорочень становила 489 ± 7 уд./хв., що достовірно перевищує контрольні значення (379 ± 15 уд./хв., $p < 0,05$). Інтервали R–R (максимальний, мінімальний і середній) були вкорочені, що свідчить про підвищений автоматизм синусового вузла та зниження адаптаційних можливостей серцево-судинної системи. Подовження інтервалу QT до $86,7 \pm 5,5$ мс вказує на залишкові порушення процесів реполяризації, характерні для післянекротичних змін у міокарді (табл. 5.25).

У групі «Адреналін + Кордарон» спостерігалось суттєве зниження частоти серцевих скорочень (455 ± 10 скор./хв.) порівняно з групою Адреналіну, що свідчить про збереження антиаритмічного ефекту препарату. Подовження інтервалів R–R та незначне скорочення QT ($85,6 \pm 2,0$ мс) підтверджують часткову нормалізацію електрофізіологічних процесів у міокарді. Електрична вісь серця ($43,0 \pm 4,7^\circ$) наближалась до контрольних показників, що свідчить про відсутність виражених зон електричної гетерогенності.

**Електрокардіографічні показники щурів на 28-му добу на моделі
адреналін-індукованої міокардіодистрофії (II відведення) ($M \pm m$)**

Показники	Норма	Адреналін	Адреналін+Кордарон	Адреналін+ЕСцП
ЧСС, скор./хв.	379 $\pm$ 15	489 $\pm$ 7*	455 $\pm$ 10*	461 $\pm$ 7*
R-R макс., мс	174 $\pm$ 6,0	133 $\pm$ 4,0*	144 $\pm$ 8,0*	141 $\pm$ 5,0*
R-R мін., мс	144 $\pm$ 7,0	117 $\pm$ 1,1*	124 $\pm$ 5,3*	124 $\pm$ 1,6*
R-R сер., мс	158 $\pm$ 6,0	122 $\pm$ 1,7*	132 $\pm$ 5,3*	130 $\pm$ 2,3*
P, мс	30 $\pm$ 0,5	—	—	—
P-R(P-Q), мс	50 $\pm$ 0,5	—	—	—
QRS, мс	32 $\pm$ 0,7	30,2 $\pm$ 0,7	31,3 $\pm$ 1,4	30,4 $\pm$ 1,3
QT, мс	70 $\pm$ 1,5	86,7 $\pm$ 5,5*	85,6 $\pm$ 2,0*	82,4 $\pm$ 0,9*
Вісь QRS, °	47 $\pm$ 5,5	52,2 $\pm$ 5,5	43,0 $\pm$ 4,7	49,6 $\pm$ 6,5

Примітка: *— статистично значимо відносно групи норми, $p < 0,05$.

У тварин, які отримували екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят (**ЕСцП**), виявлено подальше покращення електрокардіографічних показників. Частота серцевих скорочень знизилася до 461 $\pm$ 7 уд./хв., інтервали R–R подовжилися, а їхня варіабельність збільшилася, що вказує на відновлення фізіологічної регуляції серцевого ритму. Подовження інтервалу QT було менш вираженим (82,4 $\pm$ 0,9 мс), що свідчить про стабілізацію реполяризаційних процесів. Положення електричної осі серця (49,6 $\pm$ 6,5°) практично відповідало нормальним значенням, що підтверджує відсутність патологічних змін у проведенні збудження (табл. 5.25, рис. 5.30).

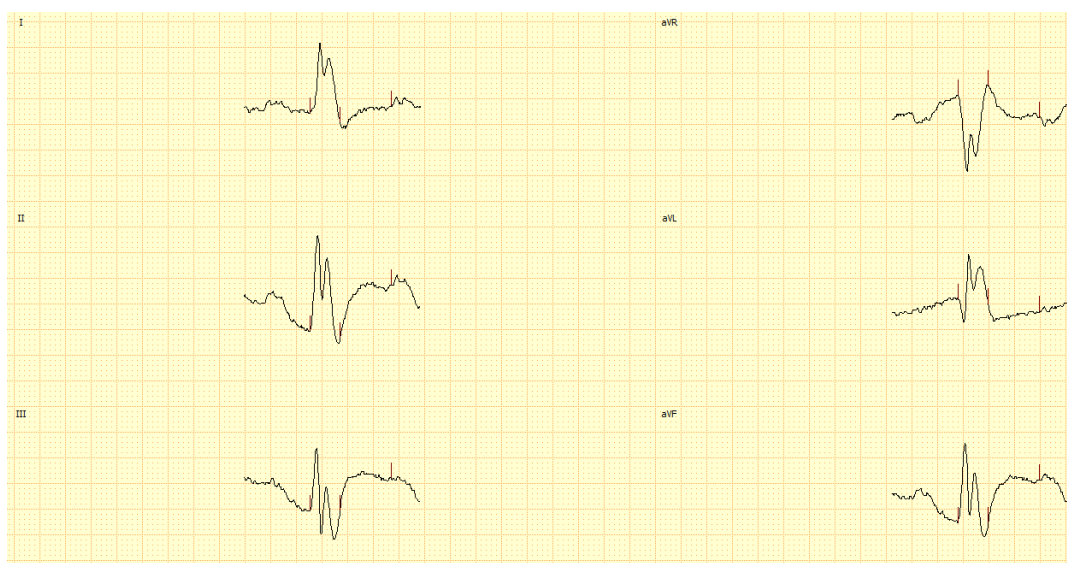


Рис. 5.30. ЕКГ щура групи «Адреналін» + ЕСцП, 28-ма доба

Отже, на 28-му добу експерименту у щурів, які отримували кріоекстракт серця поросят, спостерігається чітка тенденція до нормалізації електрокардіографічних параметрів, що свідчить про відновлення функціональної активності міокарда після адреналін-індукованої міокардіодистрофії. Порівняно з дією референс-препарату «Кордарон», ефект ЕСцП характеризується більш м'яким, але стабільним відновленням серцевого ритму, покращенням електричної стабільності міокарда та зменшенням ознак залишкових дистрофічних змін.

Отримані результати підтверджують, що модель адреналін-індукованої міокардіодистрофії у щурів супроводжувалася розвитком виражених електрокардіографічних змін, що відображали порушення автоматизму, провідності та реполяризаційних процесів у міокарді.

Екстракти кріоконсервованих фрагментів серця поросят чинять виражений кардіопротекторний, антиаритмічний і адаптогенний ефекти, сприяючи нормалізації електричної активності міокарда при токсичному ушкодженні, викликаному адреналіном.

У порівнянні з дією «Кордарону», ЕСцП демонструє м'якіший, але стабільніший відновлювальний ефект, що може бути пов'язано з біорегуляторним механізмом дії, спрямованим на підтримання гомеостазу та репаративних процесів у серцевому м'язі.

5.4.2. Вегетативна регуляція серцево-судинної системи після застосування екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на тлі експериментальної адреналінової міокардіодистрофії

Вплив вихідного вегетативного тону на виживаність щурів з адреналін-індукованою кардіопатією

Організм ссавців знаходиться під постійним нейрогуморальним контролем, що забезпечує його адаптацію до змін навколишнього та внутрішнього середовища. Варіабельність серцевого ритму (BCP) виступає як інтегральний індикатор стану вегетативної регуляції, відображаючи співвідношення впливів симпатичної та парасимпатичної нервової системи [251]. Зниження варіабельності серцевого ритму вважається предиктором поганого прогнозу при серцево-судинних захворюваннях та підвищеного ризику раптової серцевої смерті. У ситуаціях психоемоційного чи фізичного стресу відбувається активація симпатоадреналової системи та масивний викид адреналіну, що має потужний вплив на серцево-судинну систему, зокрема стимулює β_1 -адренорецептори. Це може призводити як до адаптивних, так і до патологічних змін, включаючи ішемічне ушкодження міокарда [252,253]. Модель інфаркту міокарда (ІМ), індукованого адреналіном, використовується у експериментальній кардіології досить давно, зокрема, для скринінгу кардіопротекторних засобів [254]. Метою дослідження було оцінити зв'язок між вихідними показниками BCP та виживаністю щурів після введення токсичних доз адреналіну.

За результатами ін'єкції адреналіну тварин розподілили на три групи (табл. 5.26).

Таблиця 5.26

Розподіл тварин по групах

Група 1, n=59	Група 2, n=25	Група 3, n=34
загальна	тварини, що загинули протягом 1 година після введення	тварини, що вижили

Аналіз змін тривалості послідовних R-R інтервалів між нормальними синусовими кардіоциклами з обчисленням різних коефіцієнтів, показав відсутність достовірних відмінностей у часових характеристиках ВСР між групами (табл. 5.27).

Таблиця 5.27

Аналіз часових характеристик ВСР (ритмограма), Me [LQ; UQ]

Група	R-R min, мс	R-R max, мс	SDNN, мс	CV, %
1 (загальна) (n=59)	120 113;128]	168 [156;186]	7,0 [6;10]	5,1 [4,2;6,7]
2 (загинули) (n=25)	118 [111;125] $p_{1-2} = 0,38$	171 [157;182] $p_{1-2} = 0,96$	8,0 [7;10,5] $p_{1-2} = 0,16$	5,9 [5,2;7,3] $p_{1-2} = 0,51$
3 (вижили) (n=34)	121 [116;139] $p_{1-3} = 0,18$ $p_{2-3} = 0,95$	169 [153;189] $p_{1-3} = 0,95$ $p_{2-3} = 0,93$	7 [5;9] $p_{1-3} = 0,169$ $p_{2-3} = 0,09$	4,6 4,1;5,3] $p_{1-3} = 0,57$ $p_{2-3} = 0,03$

Примітки: 1) індексами 1, 2, 3 вказано номери груп, між показниками яких проведено порівняння; 2) p_{2-3} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Відповідно, за результатами геометричних методів аналізу ВСР (аналіз гістограм серцевого ритму) в купі з методом варіаційної пульсометрії достовірної різниці між групами тварин, що загинули і вижили після введення токсичної дози адреналіну, не було (табл. 5.28). Це свідчить про обмежену прогностичну значущість показників часової ділянки щодо летальності при адреналін-індукованій моделі.

Аналіз хвильової структури серцевого ритму в інтактних щурів віком 1 рік (група1, загальна) показав переважання у них швидкої (рефлекторної) системи регуляції серцевого ритму (табл. 5.29, рис. 5.31). У структурі загальної потужності спектра нейрогуморальної регуляції переважала активність вегетативних центрів (сумарно LF- і HF-компонент), проте внесок і гуморально-метаболічної ланки (VLF-компонент) складав більш 30% TP (рис. 5.31). За співвідношенням нормованих значень LF- і HF-компонент ($LF/HF > 1$) можна вказати, що у 88% тварин (52 з 59) симпатичні впливи на міокард домінували над парасимпатичними (табл. 5.29).

Таблиця 5.28

Геометричні показники ВСР (гістограма), Me [LQ; UQ]

Група	WAM5, мс	HRV t.i., y.e.	H	Mo	AMo
1 (загальна) (n=59)	33 [27;43]	2,5 [1,9;3,2]	4,7 [4,5;5,1]	0,139 [0,127;0,158]	7,4 [5,2;9,9]
2 (загинули) (n=25)	34,5 [30;42,5] p ₁₋₂ = 0,5017	2,7 [2,2;3,3] p ₁₋₂ = 0,3048	4,8 [4,7;5,1] p ₁₋₂ = 0,3791	0,137 [0,123;0,146] p ₁₋₂ = 0,2639	6,9 [5,1;9,5] p ₁₋₂ = 0,4533
3 (вижили) (n=34)	31 [26;42] p ₁₋₃ = 0,3066 p ₂₋₃ = 0,1339	2,3 [1,9;2,8] p ₁₋₃ = 0,3598 p ₂₋₃ = 0,0839	4,6 [4,4;5,0] p ₁₋₃ = 0,2445 p ₂₋₃ = 0,0692	0,140 [0,128;0,168] p ₁₋₃ = 0,4507 p ₂₋₃ = 0,1205	7,9 [6,1;10,2] p ₁₋₃ = 0,4832 p ₂₋₃ = 0,2271

Примітки: 1) індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння; 2) p₂₋₃ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Таблиця 5.29

Спектральні характеристики ВСР інтактних щурів
перед введенням токсичних доз адреналіну, Me [LQ; UQ]

Групи	TP, мс ²	VLF, мс ²	LF, мс ²	HF, мс ²	LF/HF
1 (загальна)	185 [128;275]	60,7 [37,7;108]	76,1 [46,6;115]	31,7 [23,1;66,3]	1,9 [1,4;3,4]
2 (загинули) (n=25)	225 [155;263] p ₁₋₂ = 0,41	88,5 [58,0;115] p ₁₋₂ = 0,12	79,5 [46,6;115] p ₁₋₂ = 0,3238	35,4 [23,5;49,6] p ₁₋₂ = 0,93	2,3 [1,7;3,3] p ₁₋₂ = 0,3406
3 (вижили) (n=34)	150 [116;211] p ₁₋₃ = 0,11 p ₂₋₃ = 0,02	54,1 [31,2;66,6] p ₁₋₃ = 0,085 p ₂₋₃ = 0,003	50,2 [38,8;77,6] p ₁₋₃ = 0,058 p ₂₋₃ = 0,007	29,8 [23,8;65,6] p ₁₋₃ = 0,9 p ₂₋₃ = 0,8	1,5 [1,0;2,2] p ₁₋₃ = 0,08 p ₂₋₃ = 0,01

Примітки: 1) індексами 1, 2, 3 вказано номери груп, між показниками яких проведено порівняння; 2) p₂₋₃ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Виявлено достовірне в 1,5 раза підвищення відношення LF/HF у щурів, що загинули (2,3 [1,7–3,3]) порівняно з тими, хто вижив (1,5 [1,0–2,2]; p<0,05) (табл. 5.29). Тобто у тварин, що загинули, ступінь переважання симпатичного впливу був достовірно вище. Це узгоджується з сучасними уявленнями про роль дисбалансу автономної нервової системи у розвитку гострих коронарних

синдромів. Також спостерігалось підвищення загальної потужності спектра (TP) у групі загиблих (225 [155–263] мс²) порівняно з групою, що вижили (150 [116–211] мс²; $p=0,02$) (табл. 5.29).

Прийнято вважати, що зниження значень TP свідчить про зменшення адаптаційних можливостей організму. Проте аналіз показників абсолютної потужності складових TP (табл. 5.29) вказує на те, що зниження TP у групі 3 відбувалося за рахунок більш низького тону симпатичного відділу вегетативної нервової системи і гуморально-метаболічної ланки регуляції (LF- і VLF-компонент). Відповідно, у групі 3, що вижили, відносний внесок парасимпатичних впливів перевищує такий у групі 2.

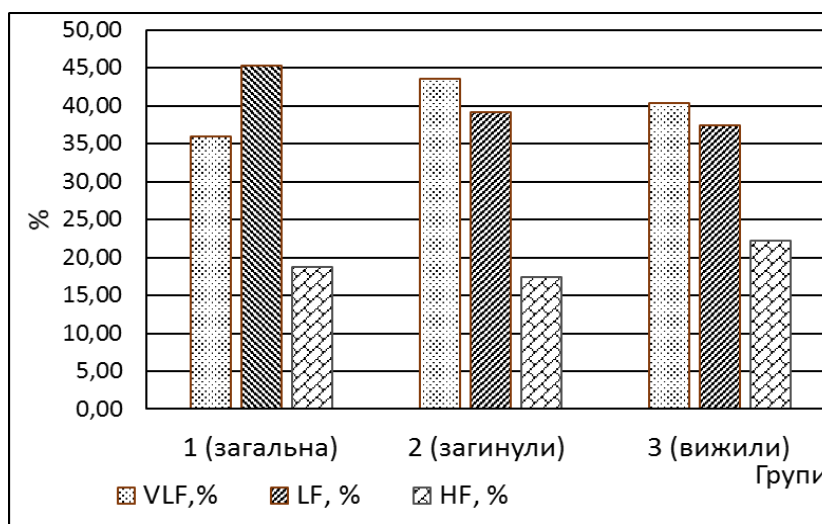


Рис. 5.31. Відносний внесок (%) частотних ділянок VLF, LF, HF у загальний спектр ВСР інтактних щурів

Отже, підвищення TP, що спостерігалось у загиблих тварин, відображає гіперактивацію симпатoadреналової системи перед летальним розвитком подій. Зниження TP у щурів, що вижили, супроводжувалося домінуванням HF впливів, що має захисне значення для адаптаційної резистентності до стресу.

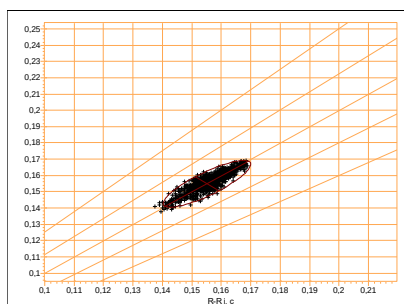
Спосіб оцінки ВСР методами нелінійного аналізу у вигляді побудови скатерограм масивів кардіоінтервалів також дозволив помітити деяку різницю між групами 2 і 3 (табл. 5.30, рис. 5.32).

Кореляційна ритмограма ВСР (скатерограма) щурів у нормі Ме [LQ; UQ]

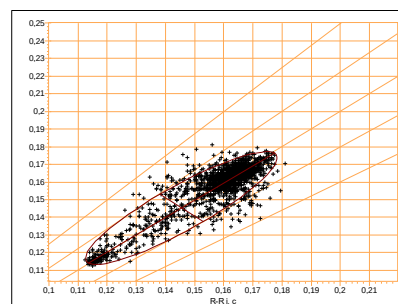
Групи	L, мс	w, мс	L/w	S, мс ²
1 (загальна)	31 [27;40]	10 [8;13]	3,1 [2,7;3,5]	479 [366;787]
2 (загинули) (n=25)	33,5 [30;40,5] $p_{1-2} = 0,1845$	10 [9;12,5] $p_{1-2} = 0,9275$	3,4 [3,1;3,5] $p_{1-2} = 0,0845$	501 [398;796] $p_{1-2} = 0,5729$
3 (вижили) (n=34)	28 [26;32] $p_{1-3} = 0,1476$ $p_{2-3} = 0,0133$	9 [8;13] $p_{1-3} = 0,9540$ $p_{2-3} = 0,8401$	2,9 [2,4;3,0] $p_{1-3} = 0,0326$ $p_{2-3} = 0,0008$	434 [324;637] $p_{1-3} = 0,5043$ $p_{2-3} = 0,2976$

Примітки.: індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння; p_{2-3} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

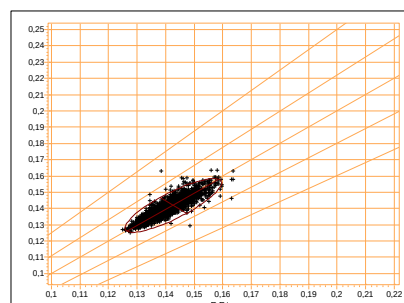
Rat 8-2



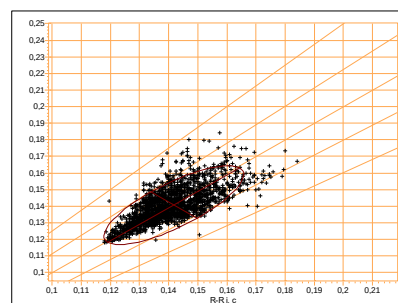
Rat 2-3



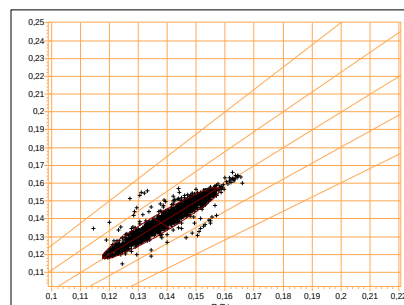
Rat 8-3



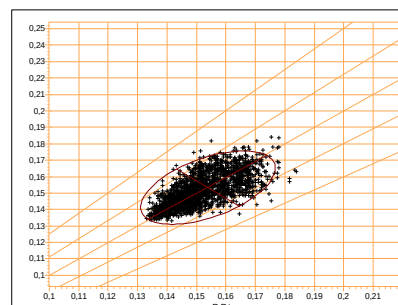
Rat 2-4



Rat 9-4



Rat 8-1



A

B

Рис. 5.32. Зразки скатерограм інтактних щурів: А – щури, які померли після ін'єкції адреналіну (з групи 2); В – щури, які вижили після ін'єкції адреналіну (з групи 3)

Скатерограма (scatter – розсіювання) – це графічне зображення пар інтервалів R-R (попереднього та наступного) в двовимірній координатній площині. Цей спосіб оцінки є дуже слушним, коли на тлі монотонності ритму зустрічаються рідкісні порушення (ектопічні скорочення чи випадання окремих серцевих скорочень), особливо при аритміях. Нормальна форма скатерограми представляє собою еліпс, витягнутий в довжину бісектриси (рис. 5.32).

Скатерограму можна умовно розглядати як візуальну інтерпретацію результату спектрального аналізу ВСР. Важливим показником у скатерограмі є співвідношення довжини до ширини L/w . З табл. 5.30 видно, що у щурів, які загинули до початку безпосередньо експерименту, співвідношення L/w було достовірно на 18%, вищим, ніж у тварин, що вижили. Можна помітити, що показник L/w корелює з одним із показників спектрального аналізу, а саме співвідношенням LF/HF , а площа (S) у скатерограмі корелює із загальною потужністю спектра ВСР (табл. 5.29).

Узагальнюючи результати порівняння показників ВРС у щурів, які вижили і які загинули після уведення токсичних доз адреналіну, можна констатувати, що вірогідність летальності етапу моделювання адреналін-індукованої кардіопатії підвищується на тлі збільшення співвідношення низькочастотної і високочастотної складових (LF/HF) спектра коливань кардіоритму.

За результатами порівняння показників ВРС у щурів, які вижили і які загинули після уведення токсичних доз адреналіну, можна констатувати, що часові та геометричні показники ВСР не є чутливими маркерами для прогнозування летальності. Співвідношення LF/HF виявляється інформативним прогностичним індикатором при адреналін-індукованій кардіопатії: вірогідність летальності етапу моделювання підвищується на тлі збільшення співвідношення низькочастотної і високочастотної складових (LF/HF) спектра коливань кардіоритму.

Вплив екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят на вегетативну регуляцію серцево-судинної системи на тлі експериментальної адреналінової міокардиодистрофії

При моделюванні адреналін-індукованої кардіопатії відбувається надмірна активація симпатичного відділу ВНС, що супроводжується масивним вивільненням катехоламінів. Це призводить до підвищення частоти серцевих скорочень (тахікардії); збільшення скоротливості міокарда; розвитку оксидативного стресу, ішемічного пошкодження та апоптозу кардіоміоцитів. Хронічне або надмірне симпатичне навантаження сприяє дисбалансу автономної регуляції, що проявляється зниженням ВСР – зменшенням адаптивності серцево-судинної системи до змін внутрішнього середовища.

Таким чином, аналіз ВСР дозволяє не лише оцінити функціональний стан серцево-судинної системи, але й виявити ступінь вегетативного дисбалансу, який супроводжує розвиток катехоламінової кардіопатії.

Тварини, які перенесли введення токсичної дози адреналіну, були розподілені по групах таким чином: інтактні тварини склали групу норми 1; 2-га група (контроль, адреналін) склали неліковані тварини; 3-тю групу (адреналін+кордарон) склали тварини, яким після введення адреналіну щоденно вводили кордарон в якості референс-препарату; в 4-й групі (адреналін+ЕСцП) щурам щоденно вводили ЕСцП.

Через 1 добу під дією високих токсичних доз адреналіну у всіх експериментальних групах відмічали стрімке падіння загальної потужності спектра у 2,–3,5 раза проти норми (табл. 5.31). Поряд з тим у групах 3 і 4 після введення досліджуваних терапевтичних агентів відмічали достовірне підвищення потужності високочастотної складової спектра відносно групи 2 (нелікованих тварин): 36 [6;55] мс², 29 [22;39] мс², 17 [5;24] мс² відповідно (табл. 5.31). Співвідношення LF/HF у групах 3 і 4 (1,0 [0,6;1,2], 1,4 [0,7;1,7] відповідно) було достовірно нижчим, ніж у групі 2 (2,2 [1,7;2,7]) (табл. 5.31).

Тобто на початку періоду терапії спостерігали швидке посилення впливу парасимпатичної ланки вегетативних центрів, які представляють найвищий рівень автономної нервової системи.

**Спектральні характеристики ВСР щурів з адреналін-індукованою
кардіопатією через 1 добу експерименту**

Група	TP, мс ²	VLF, мс ²	LF, мс ²	HF, мс ²	LF/HF
НОРМА, (що вижили) (n=26)	150 [116;211]	54 [31;66]	50 [39;77]	30 [24;65]	1,6 [1,0;2,2]
АДРЕНАЛІН (n=14)	58 [27;104] <u>P₁₋₂=0,0004</u>	9 [5;29] <u>P₁₋₂=0,0003</u>	27 [16;51] <u>P₁₋₂=0,001</u>	17 [5;24] <u>P₁₋₂=0,002</u>	2,2 [1,7;2,7] P ₁₋₂ =0,14
АДРЕНАЛІН +КОРДАРОН (n=13)	36.5 [6;134] <u>P₁₋₃=0,0025</u> P ₂₋₃ =0,47	13 [5;24] <u>P₁₋₃=0,0003</u> P ₂₋₃ =0,90	34 [11;38] <u>P₁₋₃=0,0013</u> P ₂₋₃ =0,93	36 [6;55] P ₁₋₃ =0,8970 <u>P₂₋₃=0,06</u>	1,0 [0,6;1,2] <u>P₁₋₃=0,0172</u> <u>P₂₋₃=0,002</u>
АДРЕНАЛІН + ЕСцП (n=14)	45.1 [12;103] <u>P₁₋₄=0,0001</u> P ₂₋₄ =0,40 P ₃₋₄ =0,74	24 [18;36] <u>P₁₋₄=0,001</u> <u>P₂₋₄=0,07</u> <u>P₃₋₄=0,038</u>	42 [31;48] <u>P₁₋₄=0,014</u> P ₂₋₄ =0,16 P ₃₋₄ =0,24	29 [22;39] P ₁₋₄ =0,756 <u>P₂₋₄=0,005</u> P ₃₋₄ =0,70	1,4 [0,7;1,7] P ₁₋₄ =0,42 <u>P₂₋₄=0,04</u> P ₃₋₄ =0,16

Примітки: 1. P₁₋₂ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників; 2. Індexами 1, 2, 3, 4 вказано номери груп, між показниками яких проведено порівняння.

На 1-шу добу спостерігали відповідні зміни у структурі спектра ВСР (рис. 5.33). У групах 3 і 4 достовірно в 1,6 та 1,34 раза відповідно підвищувався відносний внесок HF-компоненти у TP-компоненту спектра відносно групи 2.

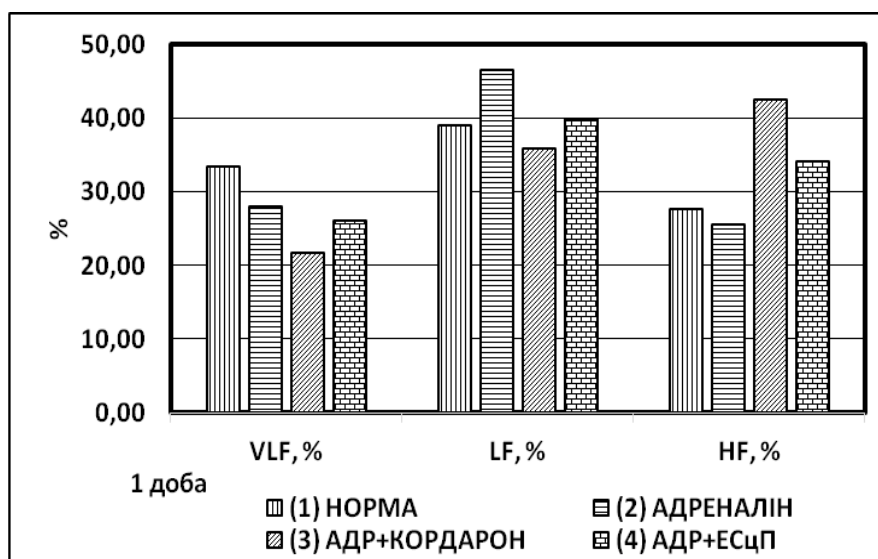


Рис. 5.33. Відносний внесок (%) частотних ділянок VLF, LF, HF у загальний спектр ВСР в експериментальних групах через 1 добу експерименту

На 7-му добу загальна потужність спектра у всіх груп була в 2 рази менше норми. В контрольній групі структура спектра не змінювалась відносно показників першої доби. В експериментальних групах співвідношення складових спектра дорівнювало аналогічним показникам контрольної групи (табл. 5.32, рис. 5.34).

Таблиця 5.32

Спектральні характеристики ВСР щурів з адреналін-індукованою кардіоміопатією на 7-му добу експерименту

Група	TP, мс ²	VLF, мс ²	LF, мс ²	HF, мс ²	LF/HF
НОРМА, (що вижили) (n=26)	150 [116;211]	54 [31;66]	50 [39;77]	30 [24;65]	1,5 [1;2,2]
АДРЕНАЛІН (n=14)	87 [33;137] <u>P₁₋₂=0,0280</u>	25 [15;43] <u>P₁₋₂=0,0026</u>	46 [34;57] P ₁₋₂ =0,1562	22 [16;30] <u>P₁₋₂=0,0022</u>	2,1 [1,6;2,8] <u>P₁₋₂=0,0653</u>
АДРЕНАЛІН +КОРДАРОН (n=13)	87,4±18,4	32,8±8,5	37,2±7,5	17,3±4,0	2,8±0,5
	72 [32;132] <u>P₁₋₃=0,0047</u> P ₂₋₃ =0,82	25 [13;35] <u>P₁₋₃=0,0014</u> P ₂₋₃ =0,69	35 [20;47] <u>P₁₋₃=0,0047</u> P ₂₋₃ =0,046	16 [4;26] <u>P₁₋₃=0,005</u> P ₂₋₃ =0,09	2,1 [1,5;4] <u>P₁₋₃=0,078</u> P ₂₋₃ =0,84
АДРЕНАЛІН + ЕСцП (n=14)	89 [52;195] P ₁₋₄ =0,1403 P ₂₋₃ =0,4622 P ₃₋₄ =0,23	33 [30;43] <u>P₁₋₄=0,0301</u> P ₂₋₄ =0,1827 P ₃₋₄ =0,11	38 [33;52] <u>P₁₋₄=0,0359</u> P ₂₋₄ =0,4082 P ₃₋₄ =0,12	16 [12;34] <u>P₁₋₄=0,0260</u> <u>P₂₋₄=0,0058</u> P ₃₋₄ =0,21	2,8 [1;4,1] P ₁₋₄ =0,245 P ₂₋₄ =0,90 P ₃₋₄ =0,80

Примітки: 1. P₁₋₂ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників; 2. Індексами 1, 2, 3, 4 вказано номери груп, між показниками яких проведено порівняння.

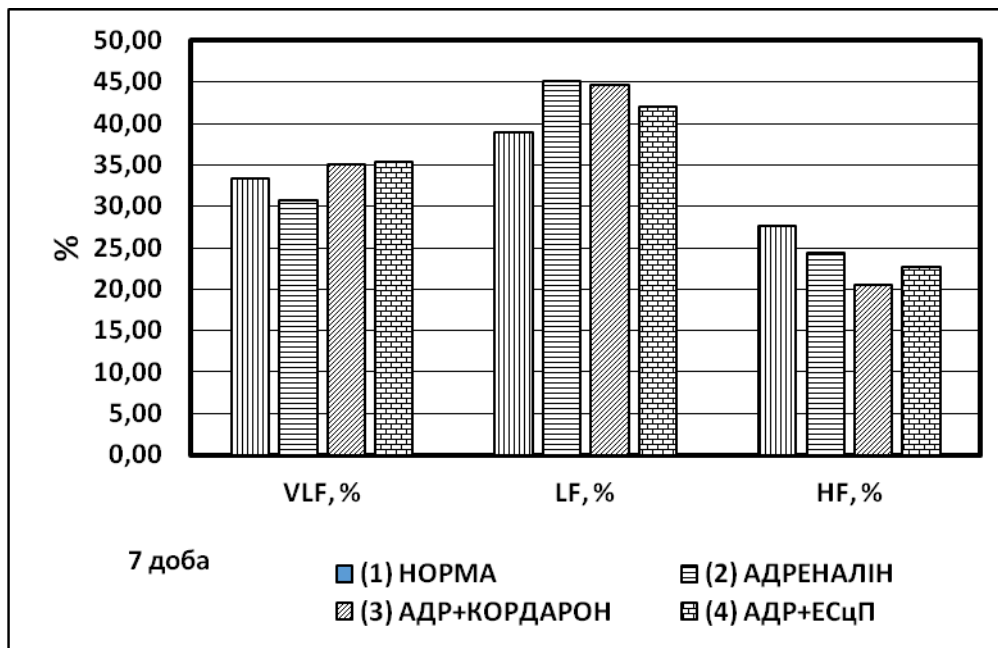


Рис. 5.34. Відносний внесок (%) частотних ділянок VLF, LF, HF у загальний спектр ВСР в експериментальних групах на 7-му добу експерименту

На 14-ту добу зміни відбувались у групі після введення кордарону, а саме, зростала загальна потужність спектра до 118 мс^2 , що на 37% більше в порівнянні з контрольною групою. Співвідношення LF/HF у всіх групах залишалась майже незмінним (табл. 5.33, рис. 5.35).

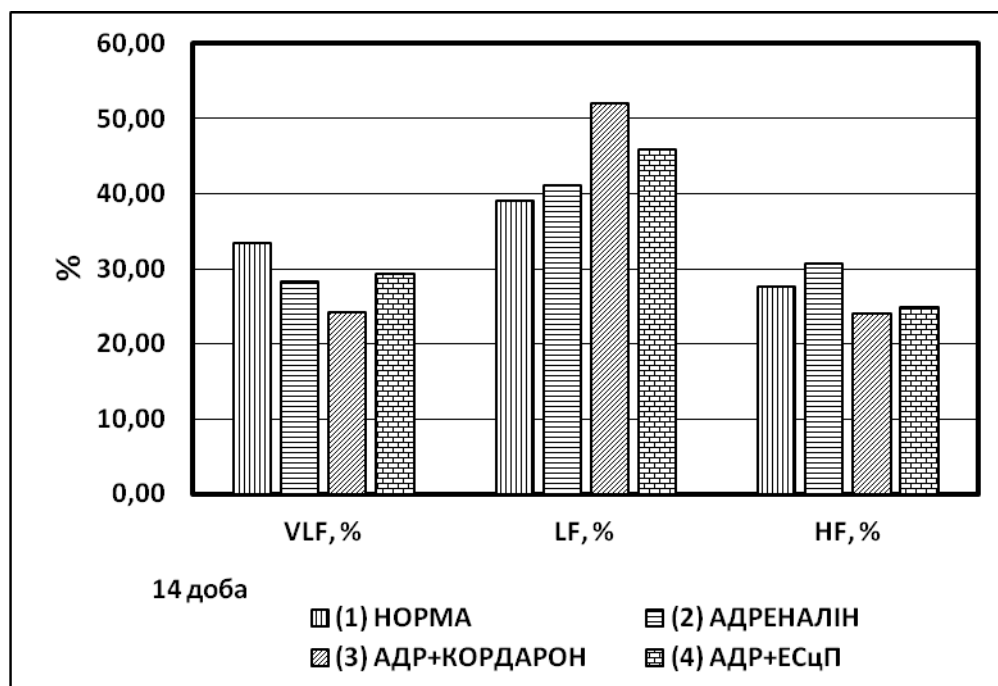


Рис. 5.35. Відносний внесок (%) частотних ділянок VLF, LF, HF у загальний спектр ВСР в експериментальних групах на 14-ту добу експерименту

**Спектральні характеристики ВСР щурів з адреналін-індукованою
кардіоміопатією на 14-ту добу експерименту Me [LQ;UQ]**

Група	TP, мс ²	VLF, мс ²	LF, мс ²	HF, мс ²	LF/HF
НОРМА, (що вижили) (n=26)	150 [116;211]	54 [31;66]	50 [39;77]	30 [24;65]	1,6 [1,0;2,2]
АДРЕНАЛІН (n=14)	86 [81;108] <u>P₁₋₂=0,0247</u>	31 [16;38] <u>P₁₋₂=0,0092</u>	44 [34;47] P ₁₋₂ =0,0930	27 [25;28] P ₁₋₂ =0,2420	1,8 [1,2;2,1] P ₁₋₂ =0,6506
АДРЕНАЛІН +КОРДАРОН (n=13)	118 [54,2;438] <u>P₁₋₃=0,0025</u> P ₂₋₃ =0,15	27 [22;51] P ₁₋₃ =0,19	56 [50;77] P ₁₋₃ =0,41 <u>P₂₋₃=0,03</u>	29 [15;36] P ₁₋₃ =0,43 P ₂₋₃ =0,81	1,7 [1,6;3,1] <u>P₁₋₃=0,06</u> P ₂₋₃ =0,50
АДРЕНАЛІН + ЕСцП (n=14)	52,4 [34,7;128] <u>P₁₋₄=0,01</u> P ₂₋₄ =0,68 P ₃₋₄ =0,14	13 [5,3;42] <u>P₁₋₄=0,01</u> P ₂₋₄ =0,56 P ₃₋₄ =0,17	34 [13;45] <u>P₁₋₄=0,01</u> P ₂₋₄ =0,22 <u>P₃₋₄=0,002</u>	16 [6,3;22,8] <u>P₁₋₄=0,005</u> <u>P₂₋₄=0,06</u> P ₃₋₄ =0,11	1,8 [1,1;2,5] P ₁₋₄ =0,43 P ₂₋₄ =0,87 P ₃₋₄ =0,57

Примітки: 1. P₁₋₂ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників; 2. Індexами 1, 2, 3, 4 вказано номери груп, між показниками яких проведено порівняння.

На 28-му добу в контрольній групі тварин змін у загальній потужності та структурі спектральних характеристик не відбувалось (табл. 5.34, рис. 5.36). В експериментальних групах відмічали зниження загальної потужності спектра та зміни співвідношення LF/HF до 2,7 у групах із введенням кордарону та кріоконсервованих фрагментів серця поросят.

Динаміка загальної потужності спектра ВСР з 1-ї до 28-ї доби в групах 3 (з кордароном) і 4 (з ЕСцП) носила хвилюподібний характер. У групі 3 (з кордароном) TP підвищувався з 1-ї доби до 14-ї доби і знижувався на 28-му добу. В групі 4 (з ЕСцП) максимальне підвищення TP відмічали на 7-му добу, дворазове зниження на 14-ту добу і незначне підвищення на 28-ту добу. Слід зазначити, що протягом всього строку експерименту загальна потужність спектра коливань серцевого ритму в групах 3 і 4 достовірно не відрізнялась від TP у групі 2 (табл. 5.31–5.34).

**Спектральні характеристики ВСР щурів з адреналін-індукованою
кардіоміопатією на 28-ту добу експерименту**

Група	TP, мс ²	VLF, мс ²	LF, мс ²	HF, мс ²	LF/HF
НОРМА, (що вижили) (n=26)	150,5 [116;211]	54,1 [31,2;66,6]	50,2 [38,8;77,6]	29,8 [23,8;65,6]	1,5 [1,0;2,2]
АДРЕНАЛІН (n=14)	89 [59;110] <u>P₁₋₂=0,048</u>	23 [21;31] <u>P₁₋₂=0,06</u>	51 [43;61] P ₁₋₂ =0,9	22 [15;27] P ₁₋₂ =0,13	2,2 [1,6;5,4] P ₁₋₂ =0,18
АДРЕНАЛІН +КОРДАРОН (n=13)	66,9 [14;68] <u>P₁₋₃=0,003</u> P ₂₋₃ =0,25	11 [4;13] <u>P₁₋₃=0,0001</u> <u>P₂₋₃=0,008</u>	31 [9;44] <u>P₁₋₃=0,0364</u> P ₂₋₃ =0,13	11 [4;25] <u>P₁₋₃=0,0063</u> P ₂₋₃ =0,34	2,7 [1,2;3,2] P ₁₋₃ =0,09 P ₂₋₃ =0,85
АДРЕНАЛІН + ЕСцП (n=14)	44,3 [26;105] <u>P₁₋₄=0,0052</u> P ₂₋₄ =0,46 P ₃₋₄ =0,96	32 [16;39] <u>P₁₋₄=0,046</u> P ₂₋₄ =0,80 <u>P₃₋₄=0,007</u>	50 [43;60] P ₁₋₄ =0,85 P ₂₋₄ =0,8 P ₃₋₄ =0,12	23 [17;24] <u>P₁₋₄=0,0258</u> P ₂₋₄ =0,80 P ₃₋₄ =0,37	2,6 [2,4;2,6] <u>P₁₋₄=0,04</u> P ₂₋₄ =0,62 P ₃₋₄ =0,93

Примітки: 1. P₁₋₂ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників; 2. Індexами 1, 2, 3, 4 вказано номери груп, між показниками яких проведено порівняння.

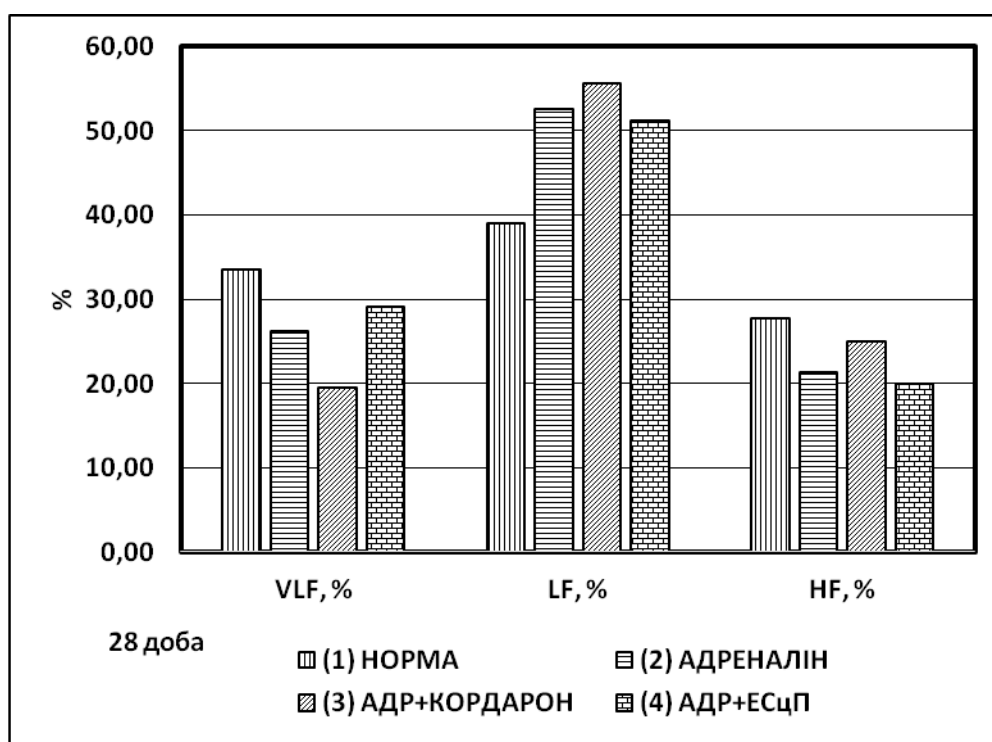


Рис. 5.36. Відносний внесок (%) частотних ділянок VLF, LF, HF у загальний спектр ВСР в експериментальних групах на 28-му добу експерименту

Аналіз ВСР засвідчив, що токсичні дози адреналіну викликають значне пригнічення автономної регуляції серцево-судинної системи, зниження загальної потужності спектра коливань кардіоритму та порушення балансу між симпатичним і парасимпатичним відділами нервової системи. Застосування ЕСцП і кордарону у гострій період викликає короточасне компенсаторне посилення парасимпатичної активності, однак тривале лікування (до 28 діб) не забезпечує повного відновлення показників ВСР до рівня фізіологічної норми.

Висновки до розділу 5

Результати електрофізіологічних досліджень дозволили встановити виражену кардіопротекторну дію кріоконсервованих мезенхімальних стромальних клітин (МСК) та екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕСцП) при гострій ішемії та некрозі міокарда. Отримані дані підтверджують здатність обох біопрепаратів нормалізувати електричну активність серця, знижувати ризик аритмогенезу та підвищувати функціональну стійкість кардіоміоцитів до ішемічного ушкодження.

Введення МСК приводило до часткової нормалізації кардіоелектричних показників, що проявлялося зменшенням амплітуди депресії ST, скороченням тривалості QRS і стабілізацією ритму серцевих скорочень. Це свідчить про захисний ефект клітин на мембранному рівні, покращення метаболізму міокардіоцитів і відновлення провідності.

Екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕСцП) також демонстрував виражений антиішемічний ефект, який проявлявся нормалізацією електричної активності міокарда, підвищенням амплітуди зубця R та зменшенням проявів ішемічної депресії сегмента ST. Це свідчить про високу трофічну активність екстракту, що забезпечує покращення енергозабезпечення клітин та стабілізацію мембранних потенціалів. Також отримані результати свідчать про потенційну можливість використання екстрактів кріоконсервованих тканин серця як м'яких кардіопротекторів, що сприяють стабілізації автономної регуляції серця при міокардіодистрофічних станах.

Таким чином, кріоконсервовані мезенхімальні стромальні клітини та екстракти кріоконсервованих фрагментів серця порожняють проявляють виражену антиішемічну, мембраностабілізуючу та антиаритмічну дію, що реалізується через покращення електричної провідності, оптимізацію метаболічних процесів і збереження функціональної цілісності кардіоміоцитів. Це визначає їх перспективність як нових біотехнологічних засобів кардіопротекції при ішемічних ураженнях серця.

Основні положення цього розділу викладено у 28 публікаціях автора [20, 22, 30, 31, 33, 35, 42, 43, 45, 46, 51, 53, 54, 55, 63, 64, 66, 68, 70, 72, 73, 74, 78, 81, 84, 85, 90, 91].

РОЗДІЛ 6

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН І ЕКСТРАКТІВ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ФРАГМЕНТІВ СЕРЦЯ ПОРОСЯТ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ СЕРЦЯ ЗА УМОВ ГОСТРОЇ ІШЕМІЇ ТА НЕКРОЗУ МІОКАРДА (УЗ-ОЦІНКА)

У клінічній практиці ультразвукове (УЗ) дослідження серця, завдяки неінвазивному та безболісному способу проведення, займає одне з найважливіших місць у діагностиці та контролі ефективності лікування хворих з гострим коронарним синдромом. При ІМ дисфункція лівого шлуночка (ЛШ) супроводжується включенням комплексу компенсаторних механізмів, спрямованих на підтримку серцевого викиду на адекватному рівні. Ремоделювання серця, розпочате під час припинення кровопостачання в коронарній судині, триває протягом усього періоду лікування і може носити як адаптивний, так і дезадаптивний характер. Адаптивні зміни в серці спрямовані на підтримку нормального серцевого викиду. Дезадаптивний характер ремоделювання проявляється прогресуючою дилатацією ЛШ, значним порушенням його геометрії і зниженням насосної функції, що в підсумку призводить до хронічної серцевої недостатності і тому діагностика постінфарктного ремоделювання ЛШ і динамічне спостереження з оцінкою ехокардіографічних параметрів дозволяють своєчасно встановити ознаки серцевої недостатності.

Метою дослідження цього розділу було проведення та аналіз ультразвукового дослідження серця щурів з експериментальним ІМ для визначення характеру ремоделювання серця під впливом введення алогенних МСК та ксеногенних екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят.

6.1. Ремоделювання серцевого м'яза під впливом мезенхімальних стромальних клітин на моделі перев'язки лівої коронарної артерії

Ехокардіографічні показники серця щурів на 7-му добу експериментального інфаркту міокарда

В гострій стадії перебігу ІМ УЗ-дослідження проводили на 7-му добу, коли ехопоказники віддзеркалюють процес пристосування серцевого м'яза до функціонального навантаження, і на 30-ту добу експерименту – в строк, коли процес ремоделювання серцевого м'яза знаходився в завершальній фазі (стадія рубцювання).

При проведенні УЗ-дослідження щурів встановлено, що в нормі порожнина лівого шлуночка має овальну (конусоподібну) форму, рух міжшлуночкової перегородки та задньої стінки в систолу взаємно спрямовані, передня і задня стулки мітрального клапана рухаються в протифазі. Основні ультразвукові показники вимірів представлені в табл. 6.1.

Таблиця 6.1

Виміри анатомічних структур при ехокардіографічному дослідженні в М-режимі після перев'язки лівої коронарної артерії на 7-му добу, в мм ($M \pm m$)

Показники	Норма	ІМ Контроль	ІМ+МСК
КДД, мм	6,03±0,16	6,47±0,2 ¹	8,16±0,38 ^{1,2}
КСД, мм	3,84±0,10	5,19±0,18 ¹	6,14±0,35 ^{1,2}
ТМПД, мм	0,68±0,08	0,85±0,03	0,76±0,06
ТМПС, мм	1,17±0,11	1,26±0,03	1,13±0,09
ТЗСД, мм	1,03±0,05	0,95±0,05	1,39±0,06 ^{1,2}
ТЗСС, мм	1,46±0,05	1,65±0,05	1,83±0,08 ^{1,2}
ЧСС скор/хв	374±16,8	430±16,8 ¹	427±13,5 ¹

Примітки: відмінності статистично достовірні ($p < 0,05$): 1 – в порівнянні з інтактними тваринами; 2 – в порівнянні з контрольною групою.

Як видно з табл. 6.1 велике клінічне значення має різниця між систолічними та діастолічними розмірами структур серця, що в подальшому відіграє роль при обчисленні об'ємів та більш інтегративних показників функціонального стану ЛШ: фракції викиду, фракції скорочення, а також

відсотка систолічного потовщення міжшлуночкової перегородки та задньої стінки ЛШ та відносної товщини стінки ЛШ.

Показник ФВ ЛШ у нормі дорівнював $71,82 \pm 1,29\%$ і ФС ЛШ – $36,16 \pm 1,01\%$, що свідчить про досить високі можливості скоротливої функції серцевого м'яза ЛШ у щурів, що майже на одному рівні з аналогічним показником у людини.

Морфологічні зміни серцевого м'яза при ІМ призводять до появи особливостей внутрішньосерцевої гемодинаміки, пов'язаної з об'ємним перевантаженням. Завдяки цьому зона інфаркту через різні причини може потоншуватися та розширюватися, що сприяє ремоделюванню ЛШ і, як наслідок, порушенню діастолічного розслаблення і систолічної функції ЛШ. В контрольній групі це підтверджувалось тим, що на 7-му добу експерименту статистично значуще збільшення відносно норми КДД і КСД на 8% і 35% відповідно відбивалось на зростанні об'ємно-швидкісних характеристик ЛШ: КДО, КСО (табл. 6.1, 6.2).

Таблиця 6.2

Об'ємно-швидкісні характеристики лівого шлуночка щурів на 7-му добу після перев'язки лівої коронарної артерії ($M \pm m$)

Показники	Норма	ІМ Контроль	ІМ+МСК
КДО, мл	$0,52 \pm 0,03$	$0,64 \pm 0,05^1$	$1,23 \pm 0,14^{1,2}$
КСО, мл	$0,14 \pm 0,01$	$0,35 \pm 0,03^1$	$0,57 \pm 0,08^{1,2}$
УО, мл	$0,37 \pm 0,03$	$0,29 \pm 0,03^1$	$0,66 \pm 0,07^{1,2}$
ХО, мл	$137,9 \pm 10,5$	$122,5 \pm 8,6$	$282,4 \pm 32,5^{1,2}$
ФВ, %	$71,8 \pm 1,2$	$46,04 \pm 1,74^1$	$54,81 \pm 2,26^2$

Примітки: відмінності статистично достовірні ($p < 0,05$): 1 – в порівнянні з інтактними тваринами; 2 – в порівнянні з контрольною групою.

Як відомо, усунення із загального скорочувального процесу частини життєздатних кардіоміоцитів призводить до вираженої кінетичної неоднорідності між пошкодженими, прикордонними і віддаленими відділами стінки лівого шлуночка. Ішемізовані і збережені зони значно відрізняються за рівнем систолічного потовщення і хронологічній послідовності скорочення – розслаблення волокон міокарда. Зниження сили, що розвивається

міокардіальними сегментами в умовах їх кінетичної неоднорідності, менше, ніж в разі синхронного скорочення, що потенціює падіння скоротливості і насосної функції ЛШ в цілому. Значне пригнічення функції ЛШ у контрольній групі відображалось у зниженні УО та ХО, і в підсумку свідчило про зменшення фракції викиду до 46,04%, що на 35% менше відповідного показника норми (табл. 6.2). Саме фракція викиду представляє собою інтегральний показник насосної функції ЛШ і має важливе значення в прогнозі захворювання.

В цій ситуації в якості компенсаторного механізму для доставки кисню, поживних речовин і відновлення балансу об'єму та швидкості кровотоку, збільшилась частота серцевих скорочень до 430 скор/хв. Однак, хвилиний об'єм крові, який пов'язаний з ЧСС, відставав від показника норми на 10% (табл. 6.2).

Товщина міжшлуночкової перегородки та задньої стінки також мали тенденцію до збільшення як у діастолу, так і в систолу (табл. 6.1). Це відбивалось на показниках скоротливої функції міокарда і свідчило про зниження систолічної функції серця (табл. 6.3).

Таблиця 6.3

Показники скоротливої функції міокарда лівого шлуночка у щурів на 7-му добу після перев'язки лівої коронарної артерії ($M \pm m$)

Показники	Норма	ІМ Контроль	ІМ+МСК
СПМП, %	70,6 $\pm$ 5,4	50,77 $\pm$ 7,3 ¹	49,08 $\pm$ 5,25 ¹
СПЗСП, %	41,5 $\pm$ 5,98	42,3 $\pm$ 3,07	32,48 $\pm$ 6,03 ^{1,2}
ФС, %	36,16 $\pm$ 1,0	19,86 $\pm$ 1,84 ¹	25,08 $\pm$ 1,3 ^{1,2}
ВТС	0,34 $\pm$ 0,02	0,29 $\pm$ 0,01 ¹	0,34 $\pm$ 0,01
МЛШ, г	0,81 $\pm$ 0,02	0,85 $\pm$ 0,02 ¹	1,07 $\pm$ 0,05 ^{1,2}

Примітки: відмінності статистично достовірні ($p < 0,05$): 1 – в порівнянні з інтактними тваринами; 2 – в порівнянні з контрольною групою.

При розрахунку відсотка скоротливості міжшлуночкової перегородки (СПМП) відмічали зниження цього показника на 20% відносно тварин інтактної групи, при цьому відсоток скорочення задньої стінки лівого шлуночка був на рівні показників норми (табл. 6.3).

Крім того, фракція скорочення (ФС), яка напряму пов'язана з КДД та КСД, в порівнянні з групою норми знижувалась в 1,8 раза, що підтверджувало розвиток систолічної дисфункції ЛШ після перев'язки коронарної артерії.

Грунтуючись на результатах розрахунку індексу маси міокарда ЛШ та відносної товщини стінки ЛШ, оцінювалися геометричні моделі ЛШ (типи ремоделювання). Відповідно до класифікації Ganau A et al. (1992), виділяють 4 типи структурно функціональної перебудови міокарда: концентрична гіпертрофія, ексцентрична гіпертрофія, концентричне ремоделювання і нормальна модель ЛШ. При аналізі експериментальних даних встановлено, що показник відносного потовщення задньої стінки ЛШ статистично достовірно відрізнявся від показника норми і дорівнював $0,29 \pm 0,01$. Завдяки невеликому збільшенню в діастолу товщини міжшлуночкової перегородки та задньої стінки лівого шлуночка, маса лівого шлуночка також збільшувалась і була на рівні $0,85 \pm 0,03$ г (табл. 6.3).

На підставі показників ВТС та МЛШ можна зробити висновок, що на 7-му добу після перев'язки лівої коронарної артерії, ремоделювання лівого шлуночка щурів згідно з класифікацією моделей гіпертрофії ЛШ проходило *за рахунок ексцентричної перебудови ЛШ*.

Постінфарктна зміна геометрії лівого шлуночка – це компенсаторний процес, наслідком якого є підтримка скорочувальної функції ЛШ, яка досягається балансуванням між гіпертрофією міокарда і дилатацією камер серця. Більшою мірою це стосується групи щурів, яким вводили алогенні кріоконсервовані МСК.

Зміни архітекtonіки серця на 7-му добу в першу чергу зумовлені збільшенням ехопоказників КДД та КСД, які в 1,35 і 1,6 раза перевищували норму, що свідчило про дилатацію ЛШ (табл. 6.1). Незважаючи на об'ємне перевантаження, яке викликає постінфарктне розширення порожнини ЛШ, відмічали компенсаторне збільшення ударного об'єму у 1,8 раза відносно групи норми і у 2,3 раза відносно контрольної групи (табл. 6.2). Слід зазначити, що фракція викиду у тварин групи із введенням МСК на 17% менше норми, але

статистично достовірно вище, ніж відповідний показник групи контролю цього терміну спостереження.

Вимірювання абсолютних показників товщини стінок ЛШ показало, що товщина міжшлуночкової перегородки достовірно не відрізнялась від норми, а товщина задньої стінки ЛШ збільшена як в діастолу, так і в систолу – $1,39 \pm 0,06$ мм та $1,83 \pm 0,08$ мм відповідно (табл. 6.1). Збільшення товщини задньої стінки ЛШ, яке зумовлене впливом МСК на репаративні процеси в міокарді, свідчило про гіпертрофію серцевого м'яза. Це підтверджується тим, що на 7-му добу збільшилась маса ЛШ відносно групи норми на 32%. Дані експериментальних і клінічних досліджень демонструють, що доставка МСК до вогнища ураження сприяє відновленню функції міокарда й позитивно впливає на ремоделювання ЛШ. Відомо, що після введення МСК, функціональний резерв міокарда підвищується за рахунок стимуляції ангіогенезу, розвитку колатерального кровотоку, а також за рахунок підвищення якості роботи збережених скорочувальних елементів кардіоміоцитів. На підставі проведеного дослідження на 7-му добу експерименту встановлено, що ремоделювання серця після перев'язки лівої коронарної артерії і введення алогенних МСК проходило шляхом ексцентричної гіпертрофії ЛШ, при якій збільшення маси ЛШ зумовлене його дилатацією з розвитком міокардіальної недостатності при нормальній відносній товщині стінки ЛШ.

Ехокардіографічні показники серця щурів на 30-ту добу експериментального інфаркту міокарда

За результатами ультразвукового дослідження встановлено, що на 30-ту добу після перев'язки лівої коронарної артерії, в контрольній групі щурів реєстрували збільшення КДД в порівнянні з попереднім строком спостереження на тлі збереженого КСД (табл. 6.4).

Збільшення КДД в свою чергу призводило до зростання КДО на 17% відносно цього показника на 7-му добу, що свідчило про збільшення порожнини ЛШ, тобто його дилатацію (табл. 6.5), і підтверджувало той факт,

що тривале безперервно зростаюче перевантаження об'ємом веде до напруги компенсаторних механізмів і динамічному прогресуванню дилатації.

Таблиця 6.4

Виміри анатомічних структур при ехокардіографічному дослідженні в М-режимі після перев'язки лівої коронарної артерії на 30-ту добу ($M \pm m$)

Показники	Норма	ІМ Контроль	ІМ+МСК
КДД, мм	6,03±0,16	6,92±0,12 ¹	7,7±0,52 ^{1,2}
КСД, мм	3,84±0,10	5,36±0,11 ¹	6,05±0,55 ^{1,2}
ТМПД, мм	0,68±0,08	0,96±0,06 ¹	0,68±0,12
ТМПС, мм	1,17±0,11	1,20±0,06	0,97±0,11 ²
ТЗСД, мм	1,03±0,05	1,0±0,12	1,19±0,14 ²
ТЗСС, мм	1,46±0,05	1,38±0,05 ¹	1,51±0,09 ²
ЧСС скор/хв	374±16,8	454±18,8 ¹	390±7,1 ²

Примітки: відмінності статистично достовірні ($p < 0,05$): 1 – в порівнянні з інтактними тваринами; 2 – в порівнянні з контрольною групою.

Таблиця 6.5

Об'ємно-швидкісні характеристики лівого шлуночка щурів на 30-ту добу після перев'язки лівої коронарної артерії ($M \pm m$)

Показники	Норма	ІМ Контроль	ІМ+МСК
КДО, мл	0,52±0,03	0,75±0,04 ¹	1,01±0,2 ^{1,2}
КСО, мл	0,14±0,01	0,37±0,02 ¹	0,51±0,1 ^{1,2}
УО, мл	0,37±0,03	0,38±0,03	0,57±0,1 ²
ХО, мл	137,9±10,5	173,2±11,2 ¹	225,0±22,8 ¹
ФВ, %	71,8±1,2	50,95±1,92 ¹	57,45±2,55 ^{1,2}

Примітки: відмінності статистично достовірні ($p < 0,05$): 1 – в порівнянні з інтактними тваринами; 2 – в порівнянні з контрольною групою.

Відповідно до цих змін збільшувався ударний об'єм, який дорівнював $0,38 \pm 0,03$ мл. Це відбивалось на фракції викиду, яка протягом 23 діб виросла тільки на 5% і складала $50,95 \pm 1,92\%$, але була ще достатньо низькою по відношенню до норми та інших експериментальних груп. Зростання ударного об'єму також віддзеркалилось на швидкості серцевого викиду, який збільшився у 1,45 рази по відношенню до попереднього строку спостереження і

перевищував показник норми на 10% (табл. 6.5). Завдяки збільшенню ЧСС зростав хвилинний об'єм і перевищував показник норми на 26% і на 41% відносно попереднього строку спостереження. Незважаючи на збільшення ударного об'єму відмічали самий низький серед груп показник фракції скорочення (табл. 6.6).

Таблиця 6.6

Показники скоротливої функції міокарда лівого шлуночка у щурів на 30-ту добу після перев'язки лівої коронарної артерії ($M \pm m$)

Показники	Норма	ІМ Контроль	ІМ+МСК
СПМП, %	70,6 $\pm$ 5,4	25,1 $\pm$ 5,9 ¹	41,6 $\pm$ 9,9 ^{1,2}
СПЗСШ, %	41,5 $\pm$ 5,98	37,8 $\pm$ 6,08	26,4 $\pm$ 8,2 ^{1,2}
ФС, %	36,16 $\pm$ 1,01	22,54 $\pm$ 1,08 ¹	26,53 $\pm$ 1,45 ¹
ВТС	0,34 $\pm$ 0,02	0,29 $\pm$ 0,03 ¹	0,34 $\pm$ 0,01
МЛШ, г	0,81 $\pm$ 0,02	0,91 $\pm$ 0,03 ¹	0,96 $\pm$ 0,04 ¹

Примітки: відмінності статистично достовірні ($p < 0,05$): ¹ – в порівнянні з інтактними тваринами; ² – в порівнянні з контрольною групою.

Адаптивна тоногенна дилатація при нормальному перебігу процесу поєднувалась з додатком м'язової маси без потовщення стінки. Так, на 30-ту добу експерименту показник потовщення міжшлуночкової перегородки був знижений в 2,8 раза, а потовщення задньої стінки ЛШ на 9%, і, як наслідок, відносна товщина стінки ЛШ дорівнювала 0,29 $\pm$ 0,03, що на 14% менше норми, при цьому маса ЛШ дорівнювала 0,91 $\pm$ 0,03 г, що на 11% перевищувала показник норми і підтверджувала розвиток гіпертрофії міокарда.

Тривале безперервно зростаюче перевантаження об'ємом веде до напруги компенсаторних механізмів і динамічному прогресуванню дилатації. Незважаючи на значний внесок гіпертрофії міоцитів в підтримку тонуусу стінок лівого шлуночка і компенсацію насосної функції серця, при пошкодженні міокарда ступінь розширення порожнини часто непропорційний збільшенню його маси. Про це свідчить збільшення УО по відношенню до маси ЛШ у щурів контрольної групи. Оскільки широта зони ураження і вираженість кінетичного дисбалансу асоційована зі ступенем і швидкістю розвитку гіпоконтрактильності всього міокарда – провідної причини подальшої декомпенсації серцевої

діяльності. І тому саме в цій групі велика вірогідність розвитку і прогресування клініки хронічної серцевої недостатності (ХСН).

Таким чином, на етапі рубцювання після перев'язки коронарної артерії відмічали продовження дилатації ЛШ, зниження скоротливості та ознаки ремоделювання ЛШ за ексцентричним типом. В прогностичному аспекті всі ці ехокардіографічні показники свідчать про вірогідність розвитку у щурів цієї групи хронічної серцевої недостатності, зокрема до стадії декомпенсації.

Досить високі показники анатомічних структур серця після введення алогених МСК на тлі експериментального інфаркту міокарда на 30-ту добу демонстрували незначне їх зменшення по відношенню до попереднього строку спостереження (табл. 6.4). Незважаючи на це, вони були досить високими по відношенню до показників норми. Так, КДД та КСД в 1,27 та 1,6 рази відповідно перевищували норму. У зв'язку з цим, зростання КДО та КСО в 2 і 3 рази вище норми приводило до збільшення ударного об'єму до $0,57 \pm 0,1$ мл. Слід зазначити, що саме в цій групі ЧСС статистично значуще не відрізнялась від показників норми і складала $390 \pm 7,1$ скор/хв, що свідчило про досить економну роботу серця завдяки збільшенню хвилинного об'єму. Фракція викиду досягала 57,45%, а фракція скорочення 26,53% (табл. 6.5, 6.6). Ремоделювання ЛШ продовжувало відбуватися за ексцентричним типом гіпертрофії, про що свідчить співвідношення показників відносної товщини стінки та маси ЛШ. Необхідно підкреслити, що МСК справляють паракринний ефект, тобто за рахунок виділення низки біологічно активних речовин відбувається регуляція не тільки ангиогенезу, але й відновного морфогенезу міокарда.

Таким чином, найбільш виражена дилатація ЛШ, яка спричинена перев'язкою лівої коронарної артерії, була частково компенсована введенням алогених МСК, що сприяло компенсаторній гіпертрофії стінки ЛШ, що відбилося на відновленні об'ємно-швидкісних характеристик ЛШ. Збільшення маси ЛШ на тлі нормальної відносної товщини стінки ЛШ підтверджувало, що у тварин цієї групи ремоделювання серця проходило за моделлю ексцентричної гіпертрофії ЛШ.

6.1.1. Допплерографічне дослідження аорти після введення МСК при експериментальному інфаркті міокарда

Оцінка гемодинаміки серця та крупних судин є важливим критерієм визначення подальшої тактики ведення пацієнта. Особливий інтерес викликає ультразвукове дослідження швидкісних показників кровотоку, стану стінки аорти (еластичність і пружність), характеристика яких опосередковано свідчить про скоротливу функцію міокарда на тлі ІМ та під впливом різних методів лікування.

Метою роботи цього підрозділу було проведення та аналіз доплерографії висхідного відділу аорти щурів з експериментальним ІМ для оцінки систолічної функції міокарда лівого шлуночка після введення алогенних МСК. При проведенні доплерографії в проекції висхідного відділу аорти у щурів групи норми реєстрували магістральний тип кровотоку, без гемодинамічно значимої патології. За структурою він трифазний – складається з гострого систолічного піку, ретроградного піку в період ранньої діастолі (пов'язаного з артеріальним рефлюксом) і антеградного відхилення в період середньої діастолі. Для щурів характерним є великий перепад у швидкості кровотоку протягом серцевого циклу (табл. 6.7).

Таблиця 6.7.

Кількісні показники кровотоку в аорті щурів на 7-му добу після перев'язки коронарної артерії

Показники	Норма	ІМ Контроль	ІМ+МСК
Vs, м/с	2,43±0,05	2,12±0,15 ¹	1,86±0,23 ¹
Vd, м/с	0,42±0,04	0,50±0,06	0,57±0,10 ¹
Vm, м/с	0,92±0,05	1,06±0,10	0,95±0,12
RI	0,82±0,01	0,78±0,01	0,70±0,03 ^{1,2}
PI	2,19±0,10	1,68±0,07 ¹	1,37±0,09 ^{1,2}
ISD	5,95±0,48	4,79±0,32 ¹	3,59±0,29 ^{1,2}

Примітки: відмінності статистично достовірні ($p < 0,05$): 1 – у порівнянні з інтактними тваринами; 2 – у порівнянні з контрольною групою.

Систоло-діастолічне співвідношення (індекс Стюарта) у щурів у нормі складало $5,95 \pm 0,48$, що в 2–2,5 разу перевищує відповідний показник для людини (табл. 6.7).

Строки проведення доплерографії аортального кровотоку після перев'язки коронарної артерії у щурів (7-ма і 30-та доба) обирали відповідно до результатів скринінгового електрокардіографічного дослідження та УЗ-дослідження, яке відображало процеси ремоделювання серця.

На 7-му добу, тобто в гострій стадії перебігу ІМ, ехопоказники відзеркалюють процес пристосування серцевого м'яза до функціонального навантаження. Поява ділянки некрозу в стінці лівого шлуночка (ЛШ) серця приводила до порушення в гемодинамічній системі. Дослідження аортального кровотоку показало, що на 7-му добу після перев'язки коронарної артерії у щурів відмічались зниження максимальної систолічної швидкості та тенденція до зростання діастолічної швидкості кровотоку. Ці зміни відбивались на пульсаційному індексі та систоло-діастолічному співвідношенні (табл. 6.7). За індексом Гослінга зазвичай характеризують еластичність судинної стінки, тому зниження пульсаційного індексу на 23% могло б свідчити про зменшення еластичності стінки аорти. Проте ймовірність розвитку структурних змін у стінці судин у щурів через 7 діб після перев'язки коронарної артерії дуже низька. В умовах даного експерименту можна вказати, що зниження пульсаційного індексу відповідало зниженню тиску крові на стінку аорти через описане раніше зменшення ударного об'єму, викликаного процесом ремоделювання ЛШ, і опосередковано свідчить про наявність систолічної дисфункції. Індекс Стюарта зменшувався на 19%, що також може розглядатися як підтвердження розвитку у щурів контрольної групи систолічної дисфункції на 7-му добу після перев'язки лівої коронарної артерії.

Найбільш виражені зміни архітекτονіки серця, а саме гіпертрофію міокарда і дилатацію порожнин серця, відмічено в групі з використанням МСК на тлі експериментального ІМ. Відбитки змін геометрії серця знаходили і при доплерографії висхідного відділу аорти. В цій групі на 7-му добу після перев'язки лівої коронарної артерії реєстрували найнижчий показник пікової

систолічної швидкості, який був на 23% і на 12% менше норми і контролю відповідно. При цьому фіксували високий показник мінімальної діастолічної швидкості, на 35% вище норми (табл. 6.7). Тому відмічали різке зниження обчислювальних індексів і, в першу чергу, пульсаційного індексу, що в наших експериментах говорить про зниження тиску крові на стінку аорти. Спостерігали різке падіння систоло-діастолічного співвідношення: на 39% відносно норми і на 25% відносно контрольної групи (табл. 6.7). Незважаючи на такі, на перший погляд, аномальні зміни доплерографічних показників аорти в цій групі, швидкість серцевого викиду, що пов'язана з ударним об'ємом, була найвищою. Показники швидкості серцевого циклу свідчили про розвиток ремоделювання ЛШ, але завдяки гіпертрофії збереженого міокарда різкого падіння систолічної дисфункції не відмічали.

Проведення доплерографічного дослідження на 30-ту добу після перев'язки лівої коронарної артерії дозволяє оцінити ступінь систолічної дисфункції ЛШ, коли процес ремоделювання серцевого м'яза знаходиться в завершальній фазі, на стадії рубцювання. Виникає можливість надати прогноз перебігу захворювання.

За даними доплерографії в групі контролю на 30-ту добу експерименту відмічали значне зниження піку систолічної швидкості: в 1,9 раза по відношенню до показника норми та в 1,7 раза по відношенню до попереднього строку спостереження (табл. 6.8). Знижувались також мінімальна діастолічна та середня швидкості, відповідно на 24% і на 30% до норми. Як наслідок, пульсаційний індекс був зменшений на 25%, а систоло-діастолічне співвідношення було на рівні попереднього строку спостереження. Ці зміни свідчили про прогресування систолічної дисфункції ЛШ у щурів цієї групи, що відповідало заниженому показнику фракції викиду. Прогноз розвитку серцевої недостатності у щурів цієї групи несприятливий.

На 30-ту добу після перев'язки коронарної артерії в групі з використанням ТГ максимальна систолічна швидкість кровотоку була на 20% менше норми, але достовірно більше показника контрольної групи (на 51%) (табл. 6.8). Відповідно індекс Гослінга був на 19% більше контролю. Ці зміни

характеристик кровотоку у висхідному відділі аорти свідчать про поступове відновлення систолічної функції, що співпадає зі зростанням фракції викиду у цій групі.

Таблиця 6.8

**Кількісні показники кровотоку в аорті щурів на 30-ту добу
після перев'язки коронарної артерії**

Показники	Норма	ІМ Контроль	ІМ+МСК
Vs, м/с	2,43±0,15	1,27±0,14 ¹	2,18±0,17 ²
Vd, м/с	0,42±0,04	0,32±0,09 ¹	0,43±0,05 ²
Vm, м/с	0,92±0,05	0,64±0,10 ¹	0,99±0,12 ²
RI	0,82±0,01	0,76±0,05 ¹	0,80±0,02 ²
PI	2,19±0,10	1,63±0,29 ¹	1,81±0,15 ^{1,2}
ISD	5,95±0,48	4,96±0,94 ¹	5,21±0,43 ²

Примітки: відмінності статистично достовірні ($p < 0,05$): 1 – у порівнянні з інтактними тваринами; 2 – у порівнянні з контрольною групою.

У групі з введенням МСК максимальна систолічна швидкість у висхідному відділі аорти на 30-ту добу експерименту збільшувалась на 17% відповідно до попереднього строку спостереження (табл.6.8). Діастолічна та середня швидкості, систоло-діастолічне співвідношення не відрізнялись від показників норми. Показник пульсаційного індексу виріс на 32% в порівнянні з попереднім строком спостереження, проте був на 18% нижчим за норму. Відновлення лінійних швидкостей аортального кровотоку в цій групі корелює з встановленим раніше збільшенням ударному об'єму і також може свідчити про відновлення скоротливої функції міокарда.

Таким чином, дуплексне доплерографічне дослідження кровотоку у висхідному відділі аорти в умовах експериментального інфаркту міокарда показало високу інформативність методу для оцінки ступеня систолічної дисфункції лівого шлуночка та моніторингу процесів його ремоделювання. У контрольній групі щурів перев'язка лівої коронарної артерії зумовлювала прогресуюче погіршення гемодинаміки: вже на 7-му добу виявляли ранні ознаки зниження насосної функції серця, а до 30-ї доби спостерігали істотне

падіння систолічної швидкості кровотоку та пульсаційного індексу, що відповідало розвитку хронічної серцевої недостатності.

Введення алогенних МСК у ранні строки після ішемічного ушкодження супроводжувалося вираженими змінами аортального кровотоку на стадії запалення, що, ймовірно, пов'язано з компенсаторними реакціями міокарда. Однак уже через 30 діб спостерігалася суттєва нормалізація гемодинамічних параметрів: зростання PI та ISD до майже фізіологічних значень і підвищення систолічної швидкості вказували на покращення скоротливої функції серця та сприятливий вплив МСК на перебіг постінфарктного ремоделювання.

6.2. Ехокардіографічна динаміка у щурів із моделлю кріодеструкції серця при застосуванні альгінатного гідрогелю, насиченого екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят

У контексті моделі кріодеструкції серця у щурів ехокардіографічні показники виступають об'єктивним критерієм регенераторних процесів у зоні ушкодження. Застосування біополімерних матриць, зокрема альгінатного гідрогелю, відкриває нові перспективи для цілеспрямованої доставки біоактивних речовин і створення мікросередовища, сприятливого для відновлення міокарда. Насичення гідрогелю екстрактом кріоконсервованої тканини серця поросят потенційно може підсилювати регенераторні процеси за рахунок комплексу сигнальних молекул, що стимулюють проліферацію та диференціацію клітин. Тому дослідження ехокардіографічної динаміки у щурів після кріодеструкції серця при застосуванні зазначеного біоматеріалу дозволяє об'єктивно оцінити функціональні наслідки терапії та визначити потенційну ефективність біоінженерного підходу до регенерації міокарда.

Ехокардіографічні показники серця щурів на 7-му добу експериментального кріонекрозу міокарда

На сьому добу експерименту у тварин контрольної групи спостерігалася виражене порушення насосної функції серця. Кінцево-діастолічний об'єм (КДО) зростав у порівнянні з нормою з $0,72 \pm 0,03$ мл до $1,07 \pm 0,05$ мл ($p < 0,05$), що свідчило про дилатацію лівого шлуночка та перевантаження його об'ємом.

Кінцево-систоличний об'єм (КСО) збільшувався більш ніж удвічі – з $0,19 \pm 0,01$ мл до $0,45 \pm 0,08$ мл, що відображало зниження скоротливої здатності міокарда. На цьому тлі фракція викиду (ФВ) зменшувалася до $53,5 \pm 1,77\%$ проти $67,7 \pm 1,4\%$ у інтактних тварин, тобто на понад 20% (табл. 6.9).

Таблиця 6.9

Об'ємно-швидкісні характеристики лівого шлуночка щурів на 7-му добу після кріодеструкції серця ($M \pm m$)

Показники	Норма	Кріодеструкція 30с Контроль	Кріодеструкція 30с+Метопролол	Кріодеструкція 30с+АПІ+ЕСцП
КДО, мл	$0,72 \pm 0,03$	$1,07 \pm 0,05^1$	$0,95 \pm 0,10^1$	$0,85 \pm 0,09^{1,2}$
КСО, мл	$0,19 \pm 0,01$	$0,45 \pm 0,08^1$	$0,40 \pm 0,06^1$	$0,37 \pm 0,07^1$
УО, мл	$0,49 \pm 0,04$	$0,62 \pm 0,04^1$	$0,59 \pm 0,07^1$	$0,56 \pm 0,02^{1,2}$
ХО, мл	$182,3 \pm 11,3$	$232,5 \pm 8,6^1$	$252,1 \pm 22,5^{1,2}$	$212,4 \pm 12,5^1$
ФВ, %	$67,7 \pm 1,4$	$53,5 \pm 1,77^1$	$55,23 \pm 3,94^2$	$54,93 \pm 2,27^2$

Примітки: відмінності статистично достовірні ($p < 0,05$): 1 – в порівнянні з інтактними тваринами; 2 – в порівнянні з контрольною групою.

Застосування метопрололу супроводжувалося тенденцією до покращення основних ехокардіографічних показників. У групі Метопрололу КДО становив $0,95 \pm 0,10$ мл, КСО – $0,40 \pm 0,06$ мл, а ФВ підвищувалася до $55,2 \pm 3,94\%$. Хоча ці відмінності не досягали рівня інтактних тварин, спостерігалось часткове відновлення насосної функції серця, що відображало кардіопротекторну дію препарату, зумовлену зменшенням ішемічного навантаження на міокард (табл. 6.9).

Найбільш виражені позитивні зміни реєструвалися у групі з використанням альгінатного гідрогелю, насиченого екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят (АПІ+ЕСцП). У цих тварин КДО був на рівні $0,85 \pm 0,09$ мл, КСО – $0,37 \pm 0,07$ мл. Порівняно з контрольною групою ці зміни були статистично значущими ($p < 0,05$). Проте ФВ достовірно не відрізнялась від контрольної групи і дорівнювала – $54,9 \pm 2,27\%$ (табл. 6.9).

Оцінка скоротливих властивостей міокарда (табл. 6.10) підтвердила наведені тенденції. У контрольній групі фракція скорочення (ФС) знижувалася до $23,5 \pm 1,92\%$, а швидкість потовщення стінки (ВТС) – до $0,24 \pm 0,01$ ($p < 0,05$).

При застосуванні метопрололу ці показники дещо підвищувались (ФС – $25,3 \pm 1,3\%$, ВТС – $0,29 \pm 0,03$), однак повністю не відновлювались. У групі (АГІ+ЕСцП) ФС становила $24,0 \pm 1,2\%$, а ВТС – $0,26 \pm 0,02$, що свідчить про стабілізацію скоротливих властивостей міокарда. Звертає на себе увагу також зменшення маси лівого шлуночка у групі АГІ+ЕСцП ($1,17 \pm 0,05$ г) порівняно з контрольною ($1,20 \pm 0,02$ г), що може вказувати на зниження ступеня гіпертрофічної реакції (табл. 6.10).

Таблиця 6.10

**Показники скоротливої функції міокарда лівого шлуночка у щурів
на 7-му добу після кріодеструкції серця ($M \pm m$)**

Показники	Норма	Кріодеструкція 30с Контроль	Кріодеструкція 30с+Метопролол	Кріодеструкція 30с+АГІ+ЕСцП
СПМП, %	$63,4 \pm 5,2$	$64,97 \pm 7,6$	$68,5 \pm 3,29^1$	$65,7 \pm 3,27$
СПЗСШ, %	$37,5 \pm 4,3$	$45,3 \pm 2,4$	$42,2 \pm 1,2^1$	$39,5 \pm 3,00$
ФС, %	$32,4 \pm 1,3$	$23,52 \pm 1,92^1$	$25,3 \pm 1,3^{1,2}$	$24,03 \pm 1,2^{1,2}$
ВТС	$0,33 \pm 0,02$	$0,24 \pm 0,01^1$	$0,29 \pm 0,03^2$	$0,26 \pm 0,02^{1,2}$
МЛШ, г	$0,93 \pm 0,03$	$1,20 \pm 0,02^1$	$1,22 \pm 0,05^1$	$1,17 \pm 0,05^1$

Примітки: відмінності статистично достовірні ($p < 0,05$): 1 – в порівнянні з інтактними тваринами; 2 – в порівнянні з контрольною групою.

Таким чином, на сьому добу після кріодеструкції серця виявляється виражене зниження насосної функції міокарда, що частково корегується застосуванням метопрололу. Проте найкращі результати демонструє поєднане використання альгінатного гідрогелю з екстрактом серця поросят, який сприяє помітнішому зменшенню постішемичної дилатації шлуночка та стабілізації скоротливих параметрів.

***Ехокардіографічні показники серця щурів на 30-ту добу
експериментального кріонекрозу міокарда***

До 30-ї доби експерименту у контрольних тварин спостерігалось часткове відновлення серцевої діяльності, однак більшість показників залишалися поза межами фізіологічної норми. КДО зменшився до $0,99 \pm 0,03$ мл, що все ще перевищувало контроль інтактних тварин ($0,72 \pm 0,03$ мл, $p < 0,05$). КСО

залишався підвищеним – $0,27 \pm 0,07$ мл проти $0,19 \pm 0,01$ мл у нормі, а фракція викиду підвищилася до $56,5 \pm 1,46\%$, тобто лише частково відновлювалася насосна функція серця. Це свідчить про формування післянекротичних змін, що частково компенсувалися ремоделюванням міокарда (табл. 6.11).

Таблиця 6.11

**Об'ємно-швидкісні характеристики лівого шлуночка щурів
на 30-ту добу після кріодеструкції серця ($M \pm m$)**

Показники	Норма	Кріодеструкція 30с Контроль	Кріодеструкція 30с+Метопролол	Кріодеструкція 30с+АПІ+ЕСцП
КДО, мл	$0,72 \pm 0,03$	$99,7 \pm 0,03^1$	$0,85 \pm 0,10^1$	$0,78 \pm 0,07^2$
КСО, мл	$0,19 \pm 0,01$	$0,27 \pm 0,07^1$	$0,29 \pm 0,06^1$	$0,25 \pm 0,02^1$
УО, мл	$0,49 \pm 0,04$	$0,58 \pm 0,05^1$	$0,59 \pm 0,07^1$	$0,51 \pm 0,06$
ХО, мл	$182,3 \pm 11,3$	$220,5 \pm 8,7^1$	$203,1 \pm 14,5^{1,2}$	$190,2 \pm 8,3^2$
ФВ, %	$67,7 \pm 1,4$	$56,5 \pm 1,46^1$	$60,1 \pm 2,54^2$	$64,5 \pm 2,35^2$

Примітки: ввідмінності статистично достовірні ($p < 0,05$): 1 – в порівнянні з інтактними тваринами; 2 – в порівнянні з контрольною групою.

Введення метопрололу сприяло більш вираженій нормалізації показників: КДО становив $0,85 \pm 0,10$ мл, КСО – $0,29 \pm 0,06$ мл, ФВ – $60,1 \pm 2,54\%$. Порівняно з контрольною групою це відображало покращення скоротливості та підвищення ударного об'єму. Проте, незважаючи на позитивну динаміку, повного відновлення структурно-функціонального стану серця не спостерігалось (табл. 6.11).

У тварин, яким вводили АПІ+ЕСцП, ехокардіографічні показники наближалися до рівня інтактних. КДО зменшувався до $0,78 \pm 0,07$ мл, КСО – до $0,25 \pm 0,02$ мл, тоді як ФВ досягала $64,5 \pm 2,35\%$, що лише незначно поступалося нормі ($67,7 \pm 1,4\%$) (табл. 6.11). Це свідчить про виражене відновлення насосної функції та покращення еластичних властивостей лівого шлуночка. Серцевий викид також мав тенденцію до нормалізації – $190,2 \pm 8,32$ мл проти $182,3 \pm 11,3$ мл у здорових тварин, що вказує на ефективну гемодинамічну компенсацію.

Дані скоротливої функції (табл. 6.12) підтверджували покращення під впливом біополімерного комплексу. У контрольній групі фракція скорочення (ФС) становила $25,7 \pm 2,4\%$, тоді як у групі Метопрололу – $28,4 \pm 1,6\%$, а у

тварин, що отримували АГІ+ЕСцП, – $30,4 \pm 2,1\%$, що було найближче до норми ($32,4 \pm 1,3\%$). Відносна товщина стінки (ВТС) у групі АГІ+ЕСцП зростала до $0,31 \pm 0,02$, тоді як у контрольній – лише $0,26 \pm 0,01$, що відображало кращу систолічну активність міокарда. Маса лівого шлуночка у групі АГІ+ЕСцП становила $1,08 \pm 0,05$ г, що свідчить про відсутність патологічного ремоделювання і зменшення гіпертрофічної відповіді у порівнянні з контрольною групою.

Таблиця 6.12

**Показники скоротливої функції міокарда лівого шлуночка у щурів
на 30-ту добу після кріодеструкції серця ($M \pm m$)**

Показники	Норма	Кріодеструкція 30с Контроль	Кріодеструкція 30с+Метопролол	Кріодеструкція 30с+АГІ+ЕСцП
СПМП, %	$63,4 \pm 5,2$	$62,1 \pm 4,3$	$64,5 \pm 2,45$	$64,2 \pm 2,35$
СПЗСШ, %	$37,5 \pm 4,3$	$43,4 \pm 2,9^1$	$42,2 \pm 1,2^1$	$38,4 \pm 2,37^{1,2}$
ФС, %	$32,4 \pm 1,3$	$25,7 \pm 2,4^1$	$28,4 \pm 1,6^2$	$30,4 \pm 2,1^2$
ВТС	$0,33 \pm 0,02$	$0,26 \pm 0,01^1$	$0,29 \pm 0,03$	$0,31 \pm 0,02^2$
МЛШ, г	$0,93 \pm 0,03$	$1,12 \pm 0,02^1$	$1,02 \pm 0,05^1$	$1,08 \pm 0,05^1$

Примітки: відмінності статистично достовірні ($p < 0,05$): ¹ – в порівнянні з інтактними тваринами; ² – в порівнянні з контрольною групою.

До 30-ї доби спостерігалось суттєве відновлення функціональної активності серця у тварин, яким вводили АГІ+ЕСцП. Це відображає більш повну компенсацію постнекротичних змін, ніж у групі Метопрололу та контрольної групи.

Таким чином, порівняльний аналіз отриманих даних свідчить, що в усіх досліджених групах на сьому добу після кріодеструкції серця відбувалося виражене порушення насосної функції міокарда, що проявлялося збільшенням діастолічного та систолічного об'ємів і зниженням фракції викиду. Застосування метопрололу сприяло частковому покращенню насосної функції, проте найбільш виражений позитивний ефект спостерігався у групі, що отримувала альгінатний гідрогель із екстрактом серця поросят (АГІ+ЕСцП):

зменшувалися кінцеві об'єми лівого шлуночка та стабілізувалися скоротливі параметри.

На 30-ту добу експерименту у контрольній групі відзначалося часткове, але неповне відновлення гемодинамічних показників, що вказувало на формування постнекротичних змін і компенсаторного ремоделювання серця.

У динаміці до 30-ї доби у групах із лікувальними втручаннями відзначалося поступове покращення основних показників. У групі Метопрололу спостерігалася позитивна динаміка, однак відхилення від норми зберігались.

На цей строк спостереження у групі АГІ+ЕСцП відзначали нормалізацію більшості ехокардіографічних показників, що свідчить про відновлення скоротливої активності та зниження дилатації шлуночка. Біоінженерна композиція альгінатного гідрогелю, насиченого екстрактом серця поросят, забезпечує найбільш повну стабілізацію показників функціонального стану міокарда в порівнянні з метопрололом, що підтверджує її високу ефективність у корекції постішемичних змін серця. Виявлені зміни свідчать, що біополімерна система АГІ+ЕСцП створює сприятливі умови для репарації пошкодженого міокарда, забезпечуючи локальне надходження біоактивних молекул, що стимулюють регенерацію та обмежують постішемичне ремоделювання. Внаслідок цього відзначалося покращення скоротливої здатності серця, зменшення дилатації шлуночка та відновлення гемодинамічної ефективності.

6.3. Ультразвукова характеристика серця щурів після експериментального ураження адреналіном та застосування ксеноекстракту серця

На сьогодні до кінця не з'ясована роль катехоламінів у патогенетичному ланцюгу процесів, які відбуваються при розвитку некрозу міокарда. Дослідники приділяють велику увагу щодо з'ясування проблем патогенетичних механізмів виникнення вогнищевих уражень серця, пов'язаних з питаннями формування тромбів та реканалізації коронарних судин, а визначенню впливу

симпатоадреналової системи на морфофункціональний стан серця присвячено недостатньо публікацій.

Активация симпатоадреналової системи характеризується збільшенням загального вмісту катехоламінів та зміною співвідношення норадреналін/адреналін. За даними Карнаух Е.В., при збільшенні концентрації адреналіну в тканинах міокарда до 0,1–0,27 мкг/г розвиваються виражені кардіальні порушення за ішемічним типом, які наглядно реєструються на електрокардіограмі у вигляді «ішемічного» зубця Т [251, 254].

Електрокардіографічні зміни мають своє морфологічне підґрунття. В наших попередніх дослідженнях при мікроскопії серця щурів було показано, що через годину після введення токсичних доз адреналіну, у міокарді всіх відділів серця відзначався виражений спазм артеріальних судин. Через добу спазм змінювався парезом артеріальних судин з розвитком виражених деструктивних змін у кардіоміоцитах та появою лейкоцитарної інфільтрації навколо артеріол. Асептичне запалення міокарда, що виникало внаслідок великих доз адреналіну, набирало найбільш виразних змін на 7-му добу, а на 30-ту добу закінчувалось формуванням острівців грануляційної тканини в періартеріальному та міжм'язових просторах.

Після отримання даних морфологічного дослідження міокарда виникає потреба оцінки функціонального стану серця в період розпалу запального процесу в міокарді та на завершальному етапі одужання.

Ехокардіографічні показники серця щурів на 7-му добу експериментального адреналінового ураження міокарда

За морфологічними даними серцевого м'яза при адреналіновому пошкодженні в міокарді відбуваються зміни, що призводять до появи особливостей внутрішньосерцевої гемодинаміки, пов'язаної з об'ємним перевантаженням. У контрольній групі це підтверджувалось тим, що на 7-му добу експерименту відмічали статистично значуще збільшення об'ємно-швидкісних характеристик ЛШ: КДО і КСО на 45 і 62% відповідно та інших показників (УО, ХО) (табл. 6.13).

Таблиця 6.13

**Об'ємно-швидкісні характеристики лівого шлуночка щурів на 7-му добу
після адреналінового ураження міокарда**

Показник	Норма	Адреналін	Адреналін+Кордарон	Адреналін + ЕСцП
КДО, мл	0,99±0,08	1,44±0,14 ¹	1,35±0,11 ¹	1,60±0,18 ¹
КСО, мл	0,40±0,04	0,65±0,07 ¹	0,62±0,06 ¹	0,67±0,08 ¹
УО, мл	0,67±0,05	0,79±0,08	0,74±0,04	0,93±0,11 ¹
ХО, мл	276,5±18,3	319,6±28,0 ¹	294,0±17,7	379,00±45,4 ¹
ФВ, %	64,4±1,4	54,1±1,1 ¹	54,6±1,2 ¹	59,5±1,2 ^{1,2}

Примітки: відмінності статистично достовірні ($p < 0,05$): 1 – у порівнянні з інтактними тваринами; 2 – у порівнянні з контрольною групою.

Слід зазначити, що незважаючи на підвищення ударного об'єму на 17% фракція викиду статистично вірогідно зменшилась на 16%. Це відбувається за рахунок надмірного збільшення кінцевого систолічного об'єму (на 62% відносно групи норми). У разі порівнювання співвідношення КДО/КСО в нормі і контрольній групі відмічено, що вони дорівнюють 2,47 та 2,21. Це в свою чергу свідчить, що об'єм ЛШ як у систолу, так і в діастолу збільшився, проте сила м'язового скорочення (інотропний ефект) зменшилась.

Застосування кордарону після адреналінового ураження зумовило помірне покращення гемодинамічних параметрів лівого шлуночка порівняно з групою контролю (табл. 6.13). Ударний об'єм (УО) і хвилинний об'єм (ХО) не відрізнялися суттєво від контрольної групи, проте мали тенденцію до нормалізації.

Фракція викиду (ФВ) залишалася зниженою порівняно з контролем (54,6±1,2% проти 64,4±1,4%). Це свідчить про часткове відновлення насосної функції серця.

При використанні ЕСцП також відмічалось зростання показників кінцевого систолічного та діастолічного діаметрів, що приводило до зростання об'ємно-швидкісних характеристик ЛШ: КДО, КСО, УО, ХО. Слід зазначити, що завдяки зростанню КДО до 1,6±0,18 мл, збільшився і ударний об'єм, який був на 38% більше в порівнянні з відповідним показником інтактних тварин, та

на 18% більше в порівнянні з контрольною групою цього терміну спостереження, що також підкреслює об'ємне перевантаження ЛШ.

Проте, зростання ударного та хвилинного об'єму до $0,93 \pm 0,11$ та $379,00 \pm 45,48$ мл, відповідно, свідчить про посилення інотропного та хронотропного ефекту на тлі прийому ЕСцП. Ці зміни відбивались на комплексному показнику фракції викиду, яка в цій групі складала 59,5%, що на 8% менше, ніж показник інтактних тварин, при цьому вона була на 8% вищою по відношенню до групи контролю.

У контрольній групі товщина задньої стінки мала тенденцію до збільшення як у діастолу, так і в систолу. Це відбивалось на показниках скоротливої функції міокарда: відсоток систолічного потовщення міжшлуночкової перегородки (СПМП); відсоток систолічного потовщення задньої стінки ЛШ (СПЗСШ); фракція скорочення (ФС); відносна товщина стінки ЛШ (ВТС); маса ЛШ (МЛШ), і свідчило про зниження систолічної функції серця (табл. 6.14).

Таблиця 6.14

Показники скоротливої функції міокарда лівого шлуночка у щурів на 7-му добу після адреналінового ураження міокарда

Показник	Норма	Адреналін	Адреналін+Кордарон	Адреналін + ЕСцП
СПМП, %	$37,29 \pm 5,4$	$37,91 \pm 3,84$	$38,91 \pm 5,74$	$39,41 \pm 5,63$
СПЗСШ, %	$29,03 \pm 1,48$	$39,41 \pm 2,13^1$	$32,7 \pm 2,47^{1,2}$	$33,9 \pm 2,17^{1,2}$
ФС, %	$30,59 \pm 1,14$	$25,02 \pm 0,97^1$	$24,9 \pm 0,06^1$	$28,36 \pm 0,93^2$
ВТС	$0,34 \pm 0,02$	$0,20 \pm 0,02^1$	$0,24 \pm 0,01^1$	$0,25 \pm 0,01^1$
МЛШ, г	$1,02 \pm 0,03$	$0,98 \pm 0,02$	$1,03 \pm 0,02$	$1,02 \pm 0,03$

Примітки: відмінності статистично достовірні ($p < 0,05$): 1 – у порівнянні з інтактними тваринами; 2 – у порівнянні з контрольною групою.

Показники скоротливої здатності міокарда під впливом кордарону (табл. 6.14) демонстрували позитивні зміни: фракція скорочення (ФС) залишалася зниженою ($24,9 \pm 0,06\%$), проте внутрішньосистолічна товщина стінки (ВТС) мала тенденцію до зростання ($0,24 \pm 0,01$ проти $0,20 \pm 0,02$ у контрольній групі). Це свідчить про певне відновлення скорочувальної активності кардіоміоцитів.

У тварин, яким вводили екстракт серця поросят, також спостерігали збільшення відсотка систолічного потовщення задньої стінки ЛШ, проте в меншому ступені, ніж у контрольній групі (табл. 6.14). Фракція скорочення знизилась до 28,36%, але була статистично достовірно вищою по відношенню до групи без введення кріоекстракту (табл. 6.14).

Слід відзначити, що маса лівого шлуночка в експериментальних групах статистично не відрізнялась від відповідного показника інтактних тварин.

Таким чином, на 7-му добу спостереження у всіх групах відмічали зростання об'ємно-швидкісних характеристик, про що свідчить зростання кінцевого систолічного та кінцевого діастолічного об'єму ЛШ. Більш виразніше порушення систолічної функції відмічали в контрольній групі, що підтверджувалось вищим показником кінцевого систолічного об'єму, і, як наслідок, зниженням співвідношення КДО/КСО до 2,21 (при нормі 2,47) та фракції викиду до 54,1%. Показники скоротливої функції міокарда лівого шлуночка у групі після введення кордарону та кріоекстракту серця поросят на тлі адреналінового ураження міокарда були статистично достовірно вищими по відношенню до контрольної групи, що вказує на їх кардіопротекторний ефект.

***Ехокардіографічні показники серця щурів на 28-му добу
експериментального адреналінового ураження міокарда***

На 28-му добу експерименту реєстрували відновлення об'ємно-швидкісних характеристик лівого шлуночка в обох експериментальних групах. Найбільш виразні зміни відбувались у групі після прийому екстрактів серця поросят. Кінцевий систолічний та діастолічний об'єми статистично вірогідно не відрізнялись від відповідних показників інтактних тварин (табл. 6.15).

У порівнянні з попереднім строком спостереження КДО зменшився на 37%, а КСО на 47%. Ці зміни відбивались і на розрахункових показниках систолічної функції ЛШ. Ударний та хвилинний об'єм, а також фракція викиду на 28-му добу, були на рівні норми (табл. 6.15).

Таблиця 6.15

**Об'ємно-швидкісні характеристики лівого шлуночка щурів на 28-му добу
після Адреналінового ураження міокарда**

Показник	Норма	Адреналін	Адреналін + Кордарон	Адреналін + ЕСцП
КДО, мл	0,99±0,08	1,21±0,15 ¹	1,07±0,10	1,01±0,12
КСО, мл	0,40±0,04	0,47±0,03	0,38±0,05 ²	0,35±0,05 ²
УО, мл	0,67±0,05	0,75±0,09	0,71±0,07	0,66±0,08
ХО, мл	276,5±18,30	305,0±31,21	279,4±28,30 ²	269,00±22,11
ФВ, %	64,4±1,4	60,7±0,4 ¹	62,6±0,3 ²	64,7±0,5 ²

Примітки: відмінності статистично достовірні ($p < 0,05$): 1 – у порівнянні з інтактними тваринами; 2 – у порівнянні з контрольною групою.

У групі лікування кордароном також відзначалося подальше покращення функціонального стану міокарда: КДО та КСО наближались до контрольних значень (1,07±0,10 мл і 0,38±0,05 мл відповідно), що вказує на зменшення дилатації шлуночка, а фракція викиду (ФВ) зросла до 62,6±0,3%, що свідчить про істотне відновлення насосної функції серця.

Проте, в контрольній групі повного відновлення об'ємно-швидкісних характеристик не відмічали. Як наслідок, фракція викиду була меншою на 6% по відношенню до норми та групи з введенням ЕСцП (табл. 6.15).

Показники скоротливої функції в групах наближались до норми (табл. 6.16).

Таблиця 6.16.

**Показники скоротливої функції міокарда лівого шлуночка у щурів на 28-
му добу після адреналінового ураження міокарда**

Показник	Норма	Адреналін	Адреналін+Кордарон	Адреналін + ЕСцП
СПМП, %	37,29±5,4	37,91±3,84	38,19±3,71	39,99±5,62
СПЗСШ, %	29,03±1,48	39,41±2,13 ¹	29,10±2,40 ²	29,50±2,20 ²
ФС, %	30,59±1,14	25,02±0,97 ¹	29,7±0,82	30,11±1,35
ВТС	0,34±0,02	0,20±0,02 ¹	0,29±0,02 ²	0,32±0,02 ²
МЛШ, г	1,02±0,03	0,98±0,02	1,1±0,07	1,02±0,04

Примітки: відмінності статистично достовірні ($p < 0,05$): 1 – у порівнянні з інтактними тваринами; 2 – у порівнянні з контрольною групою.

Відміності стосувались лише відсотка систолічного потовщення задньої стінки міокарда та похідної цього показника – відносної товщини стінки ЛШ контрольної групи. У контрольній групі відсоток систолічного потовщення задньої стінки ЛШ був нижче на 24% від відповідного показника інтактних тварин і, як наслідок, відносна товщина стінки ЛШ також на 24% була менше норми, що свідчить про недостатнє відновлення систолічної функції ЛШ у цій групі.

За результатами ультрасонографічного дослідження серця щурів встановлено, що в період розгорнутого запального процесу (7-ма доба), викликаного адреналіновим ураженням, відбувається порушення систолічної функції міокарда, пов'язане з об'ємним перевантаженням, про що свідчить зростання кінцевого систолічного об'єму і, як наслідок, зниження фракції викиду на 16% від норми.

Застосування кордарону зменшує вираженість функціональних порушень уже на 7-му добу, стабілізуючи показники об'ємно-швидкісних характеристик.

На тлі щоденного введення ЕСцП зростання ударного та хвилинного об'єму до $0,93 \pm 0,11$ та $379,00 \pm 45,48$ мл, відповідно, свідчить про позитивний інотропний та хронотропний ефект ЕСцП. Фракція викиду, як комплексний показник, у групі з введенням ЕСцП склала 59,5%, що на 8% перевищує відповідний показник нелікованих тварин. Відносне відновлення об'ємно-швидкісних характеристик та показників скоротливої функції лівого шлуночка на 28-му добу зумовлено завершенням активного запального процесу та адаптацією серцевого м'яза до нових умов гемодинаміки. При застосуванні кордарону на 28-му добу відмічали чітке відновлення скоротливої функції міокарда, зменшення кінцевих об'ємів і підвищення фракції викиду до рівня, близького до норми. Найбільш виразні зміни відбувались у групі зі щоденним введенням екстракту серця поросят. Кінцевий систолічний та діастолічний об'єми статистично вірогідно не відрізнялись від відповідних показників інтактних тварин. Ці зміни відбивались і на розрахункових показниках систолічної функції ЛШ. У групі з введенням ЕСцП ударний та хвилинний об'єм, а також фракція викиду, на 28-му добу були на рівні норми.

Отже і кордарон і екстракти кріоконсервованих фрагментів серця поросят чинять виражену кардіопротекторну дію при адреналіновому ураженні міокарда, сприяючи структурно-функціональному відновленню серцевого м'яза.

6.4. Імунні механізми ремоделювання серця

6.4.1. Зв'язок ехокардіографічних змін із інтенсивністю запалення

Постінфарктне ремоделювання серця є складним імунозапальним процесом, в якому провідну роль відіграє взаємодія клітин вродженого імунітету, цитокінових медіаторів та місцевих механізмів репарації тканин. Після ішемічного ушкодження відбувається активація NLRP3-інфламасоми, секреція прозапальних цитокінів (TNF- α , IL-1 β , IL-6) та інфільтрація ушкодженої ділянки нейтрофілами і макрофагами. Хоча ці реакції мають первинно захисний характер, їх надмірна тривалість або інтенсивність призводить до деструкції інтактних кардіоміоцитів, підвищення жорсткості стінки лівого шлуночка, розвитку фіброзу і прогресування серцевої недостатності.

У контрольних тварин після перев'язки лівої коронарної артерії вже на 7-му добу спостерігали виражене зниження фракції викиду (до $45,6 \pm 1,7\%$), збільшення кінцево-діастолічного (КДД) та кінцево-сistolічного (КСД) діаметрів, що відображало формування ексцентричного типу ремоделювання. Гістологічно виявляли масивну запальну інфільтрацію з переважанням нейтрофілів і макрофагів, виражений набряк і деструкцію кардіоміоцитів. На рівні цитокінового профілю відзначалося різке підвищення TNF- α , IL-1 β , IL-6, що свідчило про домінування прозапальної фази відповіді (табл. 6.17).

Введення МСК сприяло істотному зменшенню інтенсивності запальної реакції, що супроводжувалося поліпшенням УЗ-показників. Уже через 7 діб після введення МСК відзначалося зменшення КСД на 18% та підвищення ФВ на 17% порівняно з контролем. Імунологічно введення МСК призвело до

істотного зниження рівнів IL-1 β , IL-6 та TNF- α у всі терміни спостереження ($p < 0,05$ відносно контролю). Вміст TGF- β та NLRP3 також зменшувався, особливо на 14-ту і 30-ту доби. Це вказує на пригнічення запалення та фіброзу, що свідчить про кардіопротекторний ефект МСК.

Таблиця 6.17

Динаміка рівня цитокінового профілю (IL-1 β , IL-6, TNF- α), рівня TGF- β та NLRP3 у сироватці крові щурів після перев'язки лівої коронарної артерії

Група	Термін спостереження			
	1 доба	7 доба	14 доба	30 доба
IL-1β (пг/мл)				
Норма	125 $\pm$ 13			
Перев'язка ЛВА (К)	310 $\pm$ 22	280 $\pm$ 30	210 $\pm$ 28	165 $\pm$ 17
Перев'язка ЛВА +МСК	245 $\pm$ 20***	200 $\pm$ 18***	160 $\pm$ 15**	140 $\pm$ 12
IL-6 (пг/мл)				
Норма	42 $\pm$ 6			
Перев'язка ЛВА (К)	95 $\pm$ 8*	120 $\pm$ 10*	70 $\pm$ 6*	50 $\pm$ 5
Перев'язка ЛВА +МСК	70 $\pm$ 7*,**	85 $\pm$ 8***	55 $\pm$ 5	45 $\pm$ 4
TNF-α (пг/мл)				
Норма	126 $\pm$ 12			
Перев'язка ЛВА (К)	320 $\pm$ 30	300 $\pm$ 33	220 $\pm$ 25	145 $\pm$ 20
Перев'язка ЛВА +МСК	260 $\pm$ 25***	230 $\pm$ 22***	180 $\pm$ 18***	130 $\pm$ 15
TGF-β (нг/мл)				
Норма	53 $\pm$ 2,3			
Перев'язка ЛВА (К)	75 $\pm$ 3,8*	118 $\pm$ 4,2*	124 $\pm$ 3,9*	98 $\pm$ 3,1*
Перев'язка ЛВА +МСК	68 $\pm$ 3,0***	95 $\pm$ 3,8***	102 $\pm$ 3,2***	85 $\pm$ 2,9***
NLRP3 (нг/мл)				
Норма	2,54 $\pm$ 0,05			
Перев'язка ЛВА (К)	10,78 $\pm$ 0,08*	11,4 $\pm$ 0,09*	8,2 $\pm$ 0,07*	5,2 $\pm$ 0,06*
Перев'язка ЛВА +МСК	8,5 $\pm$ 0,07***	8,9 $\pm$ 0,08***	6,2 $\pm$ 0,06***	4,0 $\pm$ 0,05***

Примітки: * – статистично значуще ($p < 0,05$) в порівнянні з нормою, ** – статистично значуще ($p < 0,05$) в порівнянні з контролем (К).

У моделі кріонекрозу в контрольній групі відмічалася достовірне ($p < 0,05$) підвищення IL-1 β , IL-6 та TNF- α у ранні терміни (1–7-ма доба), з поступовим зниженням, однак рівні були вищими за норму (табл. 6.18).

Таблиця 6.18

Динаміка рівня цитокінового профілю (IL-1 β , IL-6, TNF- α), рівня TGF- β та NLRP3 у сироватці крові щурів після кріонекрозу міокарда

Група	Термін спостереження			
	1 доба	7 доба	14 доба	30 доба
IL-1β (пг/мл)				
Норма	125 $\pm$ 13			
Кріонекроз серця (К)	282 $\pm$ 19*	236 $\pm$ 25*	178 $\pm$ 23*	152 $\pm$ 14
Кріонекроз серця + Метопролол	230 $\pm$ 18*,**	190 $\pm$ 17**,**	155 $\pm$ 14**	135 $\pm$ 10
Кріонекроз серця + ЕСцП	210 $\pm$ 16*,**	175 $\pm$ 15*,**	140 $\pm$ 12	125 $\pm$ 10
IL-6 (пг/мл)				
Норма	42 $\pm$ 6			
Кріонекроз серця (К)	82 $\pm$ 4*	55 $\pm$ 5*	48 $\pm$ 4	45 $\pm$ 7
Кріонекроз серця + Метопролол	65 $\pm$ 5*,**	48 $\pm$ 4**	42 $\pm$ 3	40 $\pm$ 4
Кріонекроз серця + ЕСцП	58 $\pm$ 5*,**	45 $\pm$ 4**	40 $\pm$ 3	38 $\pm$ 3
TNF-α (пг/мл)				
Норма	126 $\pm$ 12			
Кріонекроз серця (К)	302 $\pm$ 27*	255 $\pm$ 35*	188 $\pm$ 24*	132 $\pm$ 23
Кріонекроз серця + Метопролол	250 $\pm$ 20*,**	210 $\pm$ 18*,**	165 $\pm$ 15*,**	125 $\pm$ 12
Кріонекроз серця + ЕСцП	230 $\pm$ 18*,**	195 $\pm$ 17*,**	150 $\pm$ 13**	120 $\pm$ 10
TGF-β (нг/мл)				
Норма	53 $\pm$ 2,3			
Кріонекроз серця (К)	82 $\pm$ 4,17*	105 $\pm$ 3,5*	78 $\pm$ 2,4*	64,2 $\pm$ 2,3*
Кріонекроз серця + Метопролол	72 $\pm$ 3.0*,**	88 $\pm$ 3.1*,**	68 $\pm$ 2.6*,**	58 $\pm$ 2.2
Кріонекроз серця + ЕСцП	65 $\pm$ 2.8*,**	80 $\pm$ 3.0**,**	62 $\pm$ 2.5*	55 $\pm$ 2.0
NLRP3 (нг/мл)				
Норма	2,54 $\pm$ 0,05			
Кріонекроз серця (К)	8,89 $\pm$ 0,11*	6,75 $\pm$ 0,12*	4,64 $\pm$ 0,07*	3,25 $\pm$ 0,08*
Кріонекроз серця + Метопролол	6.9 $\pm$ 0.09*,**	5.2 $\pm$ 0.08*,**	3.9 $\pm$ 0.06*,**	2.9 $\pm$ 0.05
Кріонекроз серця + ЕСцП	6.1 $\pm$ 0.08*,**	4.8 $\pm$ 0.07*,**	3.6 $\pm$ 0.05*,**	2.7 $\pm$ 0.05

Примітки: * – статистично значуще ($p < 0,05$) в порівнянні з нормою, ** – статистично значуще ($p < 0,05$) в порівнянні з контролем (К).

TGF- β та NLRP3 також були підвищеними, що свідчить про активацію механізмів запалення і ремоделювання тканини. Поряд із МСК, екстракти із фрагментів кріоконсервованого серця поросят також виявили здатність модулювати запальний процес і впливати на функціональний стан серця. Вони містять комплекс низькомолекулярних пептидів із вираженими біорегуляторними властивостями, що здатні впливати на клітини імунної системи, зокрема макрофаги та Т-лімфоцити.

При застосуванні екстрактів відзначалося помірне, але достовірне покращення показників скоротливої функції: підвищення фракції викиду до $52,1 \pm 2,0\%$ та зменшення кінцево-сistolічного об'єму порівняно з контролем. Ці зміни супроводжувалися нормалізацією цитокінового профілю – зменшенням рівнів TNF- α та IL-6. Такі зрушення свідчать про балансування імунної відповіді, коли активація протизапальних механізмів не супроводжується пригніченням репаративних процесів.

Крім того, у тварин, яким вводили екстракти при адреналіновій міокардіодистрофії, спостерігалось підвищення секреції IL-2 і помірне зростання IFN- γ Т-лімфоцитами *in vitro*, що може вказувати на імуномодулювальний ефект екстракту, спрямований на підтримання фізіологічного рівня активації Th1-відповіді. Імуноморфологічний аналіз міокарда демонстрував меншу кількість активованих макрофагів, зниження експресії NLRP3 та менше накопичення колагену в зоні некрозу, що свідчить про сприятливі умови для утворення зрілого, структурно впорядкованого рубця (табл. 6.19).

Порівняльний аналіз показав, що МСК мали більш виражений вплив на структурно-функціональні параметри серця, тоді як екстракти з кріоконсервованого серця проявляли помітну імуномодулювальну активність із тенденцією до зменшення запальної інфільтрації та стабілізації фракції викиду.

Таким чином, зміни ехокардіографічних показників при інфаркті міокарда тісно пов'язані з динамікою запальних реакцій і рівнем імуnoreгуляторних медіаторів. Інтенсивність запалення в зоні інфаркту прямо корелює з погіршенням ехокардіографічних показників серця – збільшенням КДД, КСД і зниженням фракції викиду.

Таблиця 6.19

Динаміка рівня цитокінового профілю (IL-1 β , IL-6, TNF- α), рівня TGF- β та NLRP3 у сироватці крові щурів після токсичного ураження міокарда

Група	Термін спостереження			
	1 доба	7 доба	14 доба	30 доба
IL-1β (пг/мл)				
Норма	125 $\pm$ 13			
Адреналін (К)	150 $\pm$ 15	165 $\pm$ 17	145 $\pm$ 14	130 $\pm$ 12
Адреналін+ Кордарон	140 $\pm$ 12	145 $\pm$ 13	130 $\pm$ 11	125 $\pm$ 10
Адреналін+ ЕСцП	135 $\pm$ 11	140 $\pm$ 12	125 $\pm$ 10	120 $\pm$ 9
IL-6 (пг/мл)				
Норма	42 $\pm$ 6			
Адреналін (К)	60 $\pm$ 5	80 $\pm$ 7	55 $\pm$ 6	50 $\pm$ 5
Адреналін+ Кордарон	55 $\pm$ 5*	65 $\pm$ 6*,**	50 $\pm$ 5	45 $\pm$ 4
Адреналін+ ЕСцП	50 $\pm$ 4	60 $\pm$ 5*	48 $\pm$ 4	42 $\pm$ 4
TNF-α (пг/мл)				
Норма	126 $\pm$ 12			
Адреналін (К)	210 $\pm$ 18	240 $\pm$ 22	170 $\pm$ 14	140 $\pm$ 15
Адреналін+ Кордарон	185 $\pm$ 16*,**	210 $\pm$ 18*,**	160 $\pm$ 12*	135 $\pm$ 12
Адреналін+ ЕСцП	170 $\pm$ 15*,**	195 $\pm$ 16*,**	150 $\pm$ 12	130 $\pm$ 11
TGF-β (нг/мл)				
Норма	53 $\pm$ 2,3			
Адреналін (К)	68 $\pm$ 3,2*	84 $\pm$ 3,7*	72 $\pm$ 2,8*	60 $\pm$ 2,5
Адреналін+ Кордарон	63 $\pm$ 3.0*,**	75 $\pm$ 3.5*,**	68 $\pm$ 2.5*	58 $\pm$ 2.3
Адреналін+ ЕСцП	60 $\pm$ 2.8*	70 $\pm$ 3.2*	65 $\pm$ 2.3*	55 $\pm$ 2.2
NLRP3 (нг/мл)				
Норма	2,54 $\pm$ 0,05			
Адреналін (К)	6,72 $\pm$ 0,06*	5,62 $\pm$ 0,07*	4,35 $\pm$ 0,08*	3,12 $\pm$ 0,04
Адреналін+ Кордарон	5.8 $\pm$ 0.06*,**	4.9 $\pm$ 0.06*,**	3.8 $\pm$ 0.05*,**	2.9 $\pm$ 0.04
Адреналін+ ЕСцП	5.3 $\pm$ 0.05*,**	4.4 $\pm$ 0.05*,**	3.5 $\pm$ 0.05*,**	2.7 $\pm$ 0.03

Примітки: * – статистично значуще ($p < 0,05$) в порівнянні з нормою, ** – статистично значуще ($p < 0,05$) в порівнянні з контролем (К).

Введення МСК знижує експресію NLRP3, TNF- α , IL-1 β , IL-6, що супроводжується покращенням скоротливої функції серця. Екстракти із фрагментів кріоконсервованого серця поросят чинять виражений

імуномодулювальний ефект: зменшують рівень прозапальних цитокінів і стимулюють секрецію IL-10, IL-2 та IFN- γ , сприяючи збалансованій імунній відповіді.

МСК та екстракти серцевого походження знижують вираженість системного та локального запалення, сприяючи збереженню скоротливої функції міокарда та формуванню стабільного постінфарктного рубця і можуть бути використані у стратегіях комбінованої терапії для запобігання патологічному ремоделюванню серця після інфаркту міокарда.

6.4.2. Кореляція Treg/Th17 і фракції викиду

У сучасних дослідженнях імунологічної участі в серцево-судинних захворюваннях звертають увагу на співвідношення клітин регуляторного типу (Treg) і прозапальних Th17-лімфоцитів як важливий маркер дисбалансу імунної регуляції. Даний підрозділ присвячено аналізу кореляції між Treg/Th17-показниками та фракцією викиду лівого шлуночка (ФВЛШ) або супутніми показниками систолічної функції.

Treg-клітини мають протизапальну активність, сприяють пригніченню надмірної активації імунної відповіді. Th17-клітини, навпаки, продукують IL-17 та інші прозапальні цитокіни, стимулюють запалення, апоптоз кардіоміоцитів, фіброз і ремоделювання міокарда. Дисбаланс у вигляді зменшення Treg і збільшення Th17 (тобто підвищення співвідношення Th17/Treg) асоційований із погіршеною серцевою функцією.

Як видно з таблиці 6.20, у контрольній групі тварин із ІМ відзначалося істотне зниження частки Treg-лімфоцитів ($4,7 \pm 0,3\%$, $p < 0,05$ відносно норми) на тлі зростання популяції Th17-клітин ($6,1 \pm 0,3\%$, $p < 0,05$), що зумовило суттєве підвищення коефіцієнта Th17/Treg ($1,30 \pm 0,08$). Одночасно реєструвалося зниження фракції викиду лівого шлуночка до $50,95 \pm 1,92\%$.

Після введення мезенхімальних стромальних клітин (МСК) спостерігалось достовірне відновлення рівня Treg ($6,3 \pm 0,4\%$) і зменшення частки Th17-лімфоцитів ($3,9 \pm 0,3\%$), що супроводжувалося нормалізацією співвідношення Th17/Treg ($0,62 \pm 0,05$) та покращенням скоротливої функції серця (ФВ = $57,45 \pm 2,55\%$, $p < 0,05$ відносно контролю).

**Кореляція між Treg/Th17 та фракцією викиду у щурів з
експериментальним інфарктом міокарда**

Показник	Норма	ІМ (контроль)	ІМ + МСК
Treg (% CD4 ⁺ CD25 ⁺ FoxP3 ⁺)	8,8 ± 0,5	4,7 ± 0,3 *	6,3 ± 0,4 **
Th17 (% CD4 ⁺ IL-17 ⁺)	2,5 ± 0,2	6,1 ± 0,3 *	3,9 ± 0,3 **
Th17/Treg	0,28 ± 0,03	1,30 ± 0,08 *	0,62 ± 0,05 **
ФВ, %	71,8 ± 1,2	50,95 ± 1,92 *	57,45 ± 2,55 **

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно норми; ** – $p < 0,05$ відносно контролю.

У групі з кріодеструкцією 30 с спостерігалось виражене зниження Treg (5,3 ± 0,4%) і підвищення Th17-лімфоцитів (6,4 ± 0,4%), що відображало переважання прозапального напрямку імунної відповіді (Th17/Treg = 1,21 ± 0,08). Це поєднувалося зі зниженням ФВЛШ до 53,5 ± 1,77% (табл. 6.21).

Застосування метопрололу та особливо комбінованої терапії АГІ + ЕСцП сприяло відновленню балансу Treg/Th17 та покращенню скоротливої функції серця. При комбінації АГІ + ЕСцП частка Treg досягала 7,6 ± 0,4%, співвідношення Th17/Treg нормалізувалося (0,50 ± 0,04), а ФВЛШ залишалася стабільною (54,9 ± 2,27%).

Таблиця 6.21

**Кореляція між Treg/Th17 та фракцією викиду у щурів
після кріодеструкції міокарда**

Показник	Норма	Кріо- деструкція 30 с (К)	Кріодеструкція 30 с + Метопролол	Кріодеструкція 30 с + АГІ + ЕСцП
Treg (% CD4 ⁺ CD25 ⁺ FoxP3 ⁺)	9,1 ± 0,5	5,3 ± 0,4*	6,8 ± 0,3*,**	7,6 ± 0,4**
Th17 (% CD4 ⁺ IL-17 ⁺)	2,7 ± 0,2	6,4 ± 0,4*	4,9 ± 0,3*,**	3,8 ± 0,3**
Th17/Treg	0,30 ± 0,02	1,21 ± 0,08*	0,72 ± 0,05*,**	0,50 ± 0,04**
ФВ, %	67,7 ± 1,4	53,5 ± 1,77*	55,2 ± 3,94	54,9 ± 2,27

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно норми; ** – $p < 0,05$ відносно контролю.

Введення адреналіну призводило до суттєвого зниження Treg ($5,1 \pm 0,3\%$) і підвищення Th17-лімфоцитів ($5,7 \pm 0,3\%$), що відображалось зростанням індексу Th17/Treg до $1,12 \pm 0,06$ ($p < 0,05$). Це супроводжувалося зменшенням ФВЛШ до $60,7 \pm 0,41\%$ (табл. 6.22).

Лікування кордароном частково нормалізувало імунний баланс (Th17/Treg = $0,69 \pm 0,04$), а застосування екстракту серцево-цитопротекторного препарату (ЕСцП) забезпечувало ще виразніше відновлення показників Treg/Th17 та фракції викиду (ФВ = $64,7 \pm 0,52\%$), практично до рівня норми.

Таблиця 6.22

**Кореляція між Treg/Th17 та фракцією викиду у щурів
з адреналіновим ураженням міокарда**

Показник	Норма	Адреналін	Адреналін + Кордарон	Адреналін + ЕСцП
Treg (% CD4 ⁺ CD25 ⁺ FoxP3 ⁺)	$8,6 \pm 0,4$	$5,1 \pm 0,3^*$	$6,2 \pm 0,3^{**}$	$7,9 \pm 0,4^{**}$
Th17 (% CD4 ⁺ IL-17 ⁺)	$2,8 \pm 0,2$	$5,7 \pm 0,3^*$	$4,3 \pm 0,2^{**}$	$3,2 \pm 0,2^{**}$
Th17/Treg	$0,33 \pm 0,03$	$1,12 \pm 0,06^*$	$0,69 \pm 0,04^{*,**}$	$0,41 \pm 0,03^{**}$
ФВ, %	$64,4 \pm 1,4$	$60,7 \pm 0,41^*$	$62,6 \pm 0,32^{**}$	$64,7 \pm 0,52^{**}$

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно норми; ** – $p < 0,05$ відносно контролю.

В усіх моделях ушкодження міокарда спостерігається порушення балансу між регуляторними (Treg) та прозапальними (Th17) клітинами, що супроводжується зниженням фракції викиду лівого шлуночка. Виражене підвищення співвідношення Th17/Treg є предиктором дисфункції міокарда та корелює з погіршенням насосної здатності серця. Терапевтичне втручання (МСК, Метопролол, Кордарон, ЕСцП) сприяє нормалізації співвідношення Th17/Treg і покращенню скоротливої функції серця, що підтверджує імуномодулювальний механізм їхньої дії. Найбільш ефективним щодо відновлення балансу Treg/Th17 і підвищення ФВЛШ виявився екстракт серцево-цитопротекторного препарату (ЕСцП), який перевищував ефект стандартних фармакологічних засобів.

Висновки до розділу 6

Проведені експериментальні дослідження дали змогу комплексно оцінити особливості ремоделювання серця при різних моделях ушкодження міокарда та визначити ключові механізми, що лежать в основі прогресування серцевої дисфункції. На моделі перев'язки лівої коронарної артерії виявлено, що вже на 7-му добу формується виражене порушення насосної функції: фракція викиду знижувалася до 45,6%, значно збільшувалися кінцеві діастолічні й систолічні розміри та об'єми лівого шлуночка, що вказує на розвиток ексцентричної дилатації міокарда. Ці зміни супроводжувалися суттєвим підвищенням прозапальних цитокінів – IL-1 β до 310 пг/мл, IL-6 до 120 пг/мл та TNF- α до 300 пг/мл, а також активацією NLRP3-інфламасоми, рівень якої зростав у 4,5 раза порівняно з нормою. На 30-ту добу процес ремоделювання набував стабільного характеру: фракція викиду залишалась зниженою (50,95%), спостерігалось збільшення маси лівого шлуночка до 0,91 г та зменшення відносної товщини стінки, що підтверджувало розвиток хронічної ексцентричної гіпертрофії.

Застосування мезенхімальних стромальних клітин мало чітко виражений кардіопротекторний та імуномодулювальний ефект. На ранніх етапах ударний об'єм збільшувався у 2,3 раза порівняно з контролем, а фракція викиду – на 17%, тоді як рівні IL-1 β , IL-6 і TNF- α знижувалися на 20–35%. До 30-ї доби фракція викиду сягала 57,4%, що свідчить про часткове відновлення скоротливої функції. Крім того, спостерігалася нормалізація імунного профілю, зокрема зменшення активації NLRP3 та відновлення балансу між регуляторними Т-клітинами та Th17-лімфоцитами.

У моделі кріонекрозу підвищення рівнів IL-1 β до 282 пг/мл, TNF- α до 302 пг/мл та NLRP3 до 8,89 нг/мл свідчило про суттєву запальну реакцію, хоча менш інтенсивну, ніж при ішемічному ураженні. Застосування екстракту кріоконсервованого серця поросят забезпечувало зниження показників запалення більш, ніж на третину, та сприяло підвищенню фракції викиду до 52,1%. Морфологічно це проявлялося формуванням більш впорядкованого рубця та зменшенням щільності клітинної інфільтрації.

У токсичній адреналіновій моделі реєстрували помірне, але стійке підвищення IL-6 до 80 пг/мл, TNF- α до 240 пг/мл і NLRP3 до 6,72 нг/мл. Застосування екстракту серця поросят сприяло нормалізації показників і підвищенню фракції викиду до 64,7%, що майже відповідало нормі. В обох моделях особливу роль відігравав імунний дисбаланс: підвищення співвідношення Th17/Treg до рівня понад 1,1 супроводжувалося зниженням скоротливої функції, тоді як його нормалізація до 0,4–0,6 була пов'язана з відновленням фракції викиду.

У всіх моделях визначальним механізмом прогресування дисфункції серця виявився дисбаланс між регуляторними Т-клітинами та Th17-лімфоцитами: зростання співвідношення Th17/Treg до 1,12–1,30 супроводжувалося зниженням ФВ, тоді як терапія МСК або ЕСцП нормалізувала цей показник до 0,41–0,62 та водночас покращувала насосну функцію серця. Сукупність отриманих даних дозволяє стверджувати, що ступінь запалення, активність NLRP3-інфламасоми та імунний дисбаланс Th17/Treg є ключовими факторами патологічного ремоделювання, а МСК та біоактивні екстракти серцевого походження мають високий потенціал для його корекції та запобігання прогресуванню серцевої недостатності.

Основні положення цього розділу викладено у 10 публікаціях автора [32, 34, 36, 47, 49, 55, 56, 73, 80, 91].

РОЗДІЛ 7

МЕХАНІЗМИ АНТИОКСИДАНТНОЇ ТА МЕТАБОЛІЧНОЇ ДІЇ МСК І КРІОЕКСТРАКТУ СЕРЦЯ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ ТА НЕКРОЗУ МІОКАРДА ЩУРІВ

7.1. Кардіопротекторний ефект мезенхімальних стромальних клітин на моделі перев'язки лівої коронарної артерії за показниками антиоксидантної системи

Перев'язка коронарної артерії тягне за собою розвиток абсолютної або відносної гіпоксії міокарда з наступною появою осередків некрозу. Активація процесів ПОЛ при будь-яких ураженнях, які супроводжуються розвитком некрозу тканин, є експериментально і клінічно підтвердженим фактом. При цьому відбувається стимуляція фагоцитів і різко зростає генерація токсичних кисневмісних метаболітів. Система нейтрофільного продукування оксидантів призначена для локалізації вогнища запалення, але реакційні радикали проникають у навколишні неушкоджені тканини і реагують з фосфоліпідами мембран, сульфгідрильними групами білків і т.ін. Модифікація мембрани переходить у стадію розпушення, викликаючи підвищення проникності, що призводить до деструкції клітини. Це дає новий поштовх для активації процесів ПОЛ. При цьому антиоксидантна система вимушена працювати в режимі перевантаження, що призводить до відносного її виснаження.

Метою даного дослідження було визначення показників перекисного окиснення ліпідів та активності антиокиснювальних ферментів після застосування терапевтичної гіпотермії та введення МСК щурам після перев'язки коронарної артерії.

Інтенсивність ПОЛ визначали за рівнем дієнових кон'югатів (ДК), ТБК-активних продуктів, а також активності супероксиддисмутази (СОД) і каталази в сироватці крові і тканині серця на 7, 14- і 28-му добу після операції.

За нашими результатами, перев'язка коронарної артерії викликає різкий приріст накопичення вторинних продуктів ПОЛ як у тканині серця, так і в сироватці крові, причому в тканині міокарда цей процес відбувається значно інтенсивніше. Протягом всього терміну спостереження ці показники знижувалися в експериментальних групах, але з різною інтенсивністю.

Як видно з таблиць 7.1 і 7.2, у тварин з ІМ без лікування (контрольна група) відмічалася істотне підвищення вмісту дієнових кон'югатів (ДК) як у тканині міокарда, так і в сироватці крові вже на 7-му добу після перев'язки лівої коронарної артерії у 2,4 раза (з $23,95 \pm 2,7$ до $57,48 \pm 2,44$ мкмоль/г, $p < 0,05$), а в сироватці крові – у 1,5 раза (з $24,54 \pm 3,99$ до $36,81 \pm 0,56$ мкмоль/мл, $p < 0,05$), що свідчить про розвиток оксидативного стресу.

Трансплантація мезенхімальних стромальних клітин (МСК) приводила до суттєвого зниження рівня дієнових кон'югатів у порівнянні з контрольною групою: у тканині міокарда на 14-ту добу – з $45,51 \pm 1,49$ до $37,72 \pm 2,47$ мкмоль/г ($p < 0,05$), на 28-му добу – до $26,35 \pm 1,15$ мкмоль/г, що майже відповідало нормі ($23,95 \pm 2,7$ мкмоль/г); у сироватці крові – зниження відзначалося з $36,81 \pm 0,56$ до $30,43 \pm 1,22$ мкмоль/мл на 14-ту добу та до $26,99 \pm 1,92$ мкмоль/мл на 28-му добу ($p < 0,05$ до контролю), що підтверджує системний антиоксидантний ефект МСК.

Таблиця 7.1

Вміст дієнових кон'югатів (мкмоль/г тканини) у тканині міокарда щурів з експериментальним інфарктом міокарда

Доба	Норма	Групи	
		1 (ІМ, Контроль)	2 (ІМ + МСК)
7	$23,95 \pm 2,7$	$57,48 \pm 2,44^*$	$56,28 \pm 4,0^*$
14		$45,51 \pm 1,49^{* \&}$	$37,72 \pm 2,47^{* \& \#}$
28		$28,74 \pm 2,02$	$26,35 \pm 1,15^{\& \#}$

Примітки: $p < 0,05$ по відношенню до: * – норми, # – ІМ (контроль), & – відповідної групи на попередній термін спостереження.

Рівень ТБК-активних продуктів, зокрема малонового діальдегіду (МДА), відображає ступінь ушкодження клітинних мембран внаслідок ПОЛ. Як видно з таблиць 7.3 та 7.4, у контрольній групі ІМ рівень ТБК-активних продуктів у

міокарді зростав у 3,3 раза (з $2,26 \pm 0,45$ до $7,39 \pm 0,25$ нмоль/г) і залишався підвищеним навіть на 14-ту добу ($5,85 \pm 0,42$ нмоль/г).

Таблиця 7.2

Вміст дієнових кон'югатів (мкмоль/мл) у сироватці крові щурів з експериментальним інфарктом міокарда

Доба	Норма	Групи	
		1(ІМ, контроль)	2 (ІМ + МСК)
7	$24,54 \pm 3,99$	$36,81 \pm 0,56^*$	$33,13 \pm 1,44^*$
14		$31,90 \pm 1,11^*$	$30,43 \pm 1,22^{* \#}$
28		$28,22 \pm 0,65$	$26,99 \pm 1,92^{\#}$

Примітки: $p < 0,05$ по відношенню до: * – норми, # – ІМ (контроль)

Після введення МСК цей показник зменшувався: на 7-му добу – до $5,81 \pm 0,85$ нмоль/г ($p < 0,05$), на 14-ту – до $4,53 \pm 0,49$ нмоль/г, на 28-му – до $2,75 \pm 0,49$ нмоль/г, що свідчить про поступове відновлення антиоксидантного балансу.

У сироватці крові рівень ТБК-активних продуктів у контрольній групі на 7-му добу збільшувався до $9,29 \pm 0,25$ мкмоль/мл проти норми ($5,13 \pm 0,50$ мкмоль/мл, $p < 0,05$), тоді як у групі ІМ+МСК цей показник був нижчим – $7,78 \pm 1,49$ мкмоль/мл. На 28-му добу після лікування рівень знижувався до $4,85 \pm 0,29$ мкмоль/мл, що було близьким до показників інтактних тварин (табл. 7.3, табл. 7.4).

Таблиця 7.3

Вміст ТБК-активних продуктів (нмоль/г тканини) у тканині міокарда щурів з експериментальним інфарктом міокарда

Доба	Норма	Групи	
		1 (ІМ, контроль)	2 (ІМ + МСК)
7	$2,26 \pm 0,45$	$7,39 \pm 0,25^*$	$5,81 \pm 0,85^{* \#}$
14		$5,85 \pm 0,42^*$	$4,53 \pm 0,49^{* \# \&}$
28		$3,52 \pm 0,19^{* \&}$	$2,75 \pm 0,49^{\& \#}$

Примітки: $p < 0,05$ по відношенню до: * – норми, # – ІМ (контроль), & – відповідної групи на попередній термін спостереження.

Вміст ТБК-активних продуктів (мкмоль/мл) у сироватці крові щурів з експериментальним інфарктом міокарда

Доба	Норма	Групи	
		1(ІМ, контроль)	2 (ІМ + МСК)
7	5,13±0,50	9,29±0,25*	7,78±1,49*
14		7,05±0,32*	6,03±0,59* [#]
28		5,69±0,18* ^{&}	4,85±0,29 ^{&#}

Примітки: $p < 0,05$ по відношенню до: * – норми, [#] – ІМ (контроль), [&] – відповідної групи на попередній термін спостереження.

Отримані результати підтверджують, що введення мезенхімальних стромальних клітин зменшує вираженість оксидативного стресу, обмежує накопичення первинних (ДК) та вторинних ТБК-активних продуктів ПОЛ як у серцевому м'язі, так і в системному кровотоці. Це вказує на реалізацію кардіопротекторного ефекту МСК через активацію антиоксидантної системи та стабілізацію клітинних мембран у зоні ішемічного ушкодження.

Ключову роль у знешкодженні активних форм кисню відіграють ферменти каталаза та супероксиддисмутаза (СОД), які послідовно руйнують перекис водню та супероксидні радикали, запобігаючи розвитку оксидативного стресу. Зміна активності цих ферментів при інфаркті міокарда відображає напруження антиоксидантної системи, а її нормалізація може бути індикатором ефективності терапії мезенхімальними стромальними клітинами (МСК).

У тварин контрольної групи з інфарктом міокарда активність каталази в сироватці крові знижувалася вже на 7-му добу експерименту порівняно з нормою. Мінімальні значення ферментативної активності спостерігалися між 7-ю та 14-ю добою, що відображає виснаження системи антиоксидантного захисту на тлі надмірного утворення активних форм кисню (рис. 2.10. рис. 7.1).

У групі щурів, яким вводили МСК, активність каталази зберігалася на достовірно вищому рівні порівняно з контрольною групою у всі терміни спостереження. Уже на 14-ту добу спостерігалася її підвищення до значень, близьких до норми, а на 28-му добу показник практично відновлювався. Це

свідчить про потенційне стимулювання ферментативної ланки антиоксидантного захисту під впливом МСК.

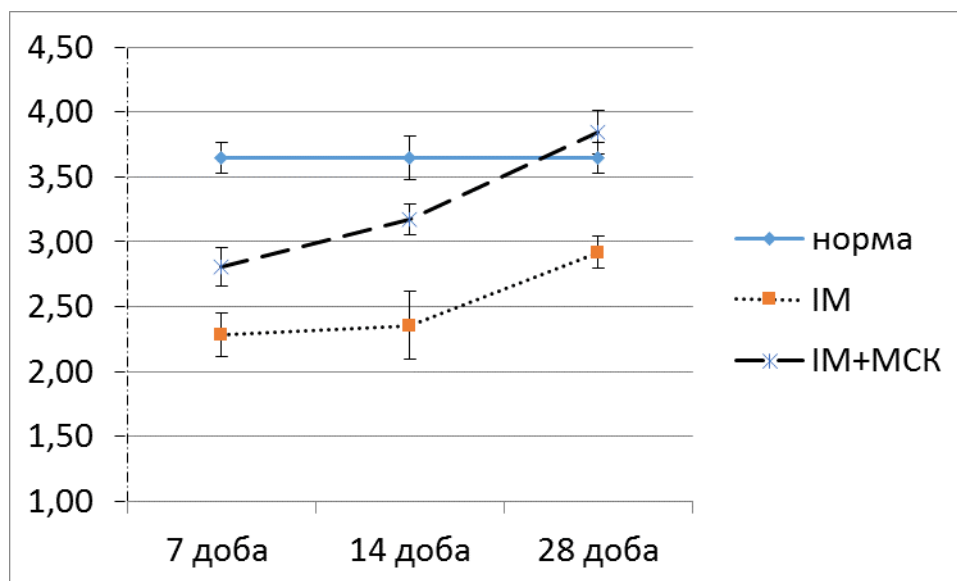


Рис. 7.1. Активність каталази (умовн. од. / мл) у сироватці крові щурів з експериментальним інфарктом міокарда

Подібні зміни виявлено і в тканині міокарда. У контрольній групі на 7-му добу активність каталази різко знижувалася, що вказує на глибоке пригнічення антиоксидантної системи в зоні ішемічного ушкодження. На 14-ту добу відмічалася часткове відновлення активності ферменту, але показники залишалися нижчими за норму (рис. 7.2).

У тварин, яким трансплантували МСК, активність каталази в міокарді була достовірно вищою порівняно з контролем на всіх етапах дослідження. Найбільш виражене зростання зареєстровано на 28-му добу, що відображає відновлення ферментативного захисту та зменшення інтенсивності перекисного окиснення ліпідів.

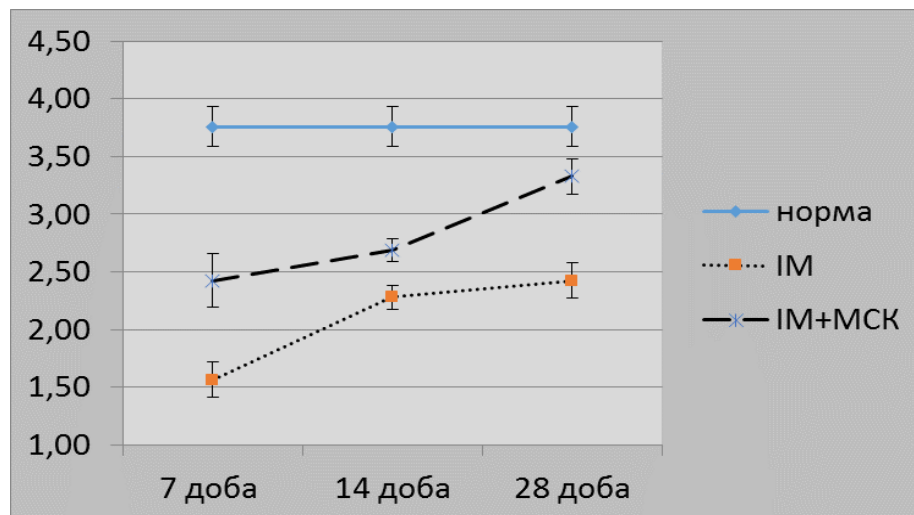


Рис. 7.2. Активність каталази (умовн. од. / г тканини) у тканині міокарда щурів з експериментальним інфарктом міокарда

При інфаркті міокарда спостерігалось достовірне зниження активності СОД у сироватці крові – наслідок виснаження ферментних систем на тлі надмірного утворення супероксидних радикалів. Найнижчі значення відзначались на 7-му добу після перев'язки коронарної артерії.

Після введення МСК активність СОД зростала вже на 7-му добу, перевищуючи контрольні значення, і продовжувала підвищуватися протягом усього періоду спостереження. До 28-ї доби показник досягав або навіть перевищував рівень інтактних тварин, що свідчить про активацію антиоксидантного потенціалу крові під впливом МСК (рис. 7.3).

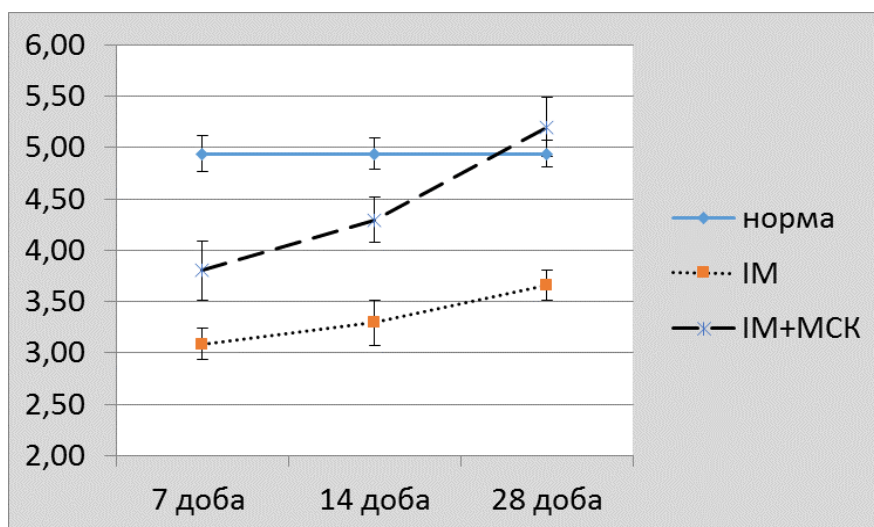


Рис. 7.3. Активність СОД (умовн. од. / мл) у сироватці крові щурів з експериментальним інфарктом міокарда

У тканині міокарда активність СОД знижувалася при ІМ, що корелює з підвищенням рівнів продуктів ПОЛ, виявлених у попередньому підрозділі. У контрольній групі цей показник залишався зниженим упродовж усього експерименту, тоді як у групі з трансплантацією МСК спостерігалось поступове відновлення ферментної активності.

На 14-ту добу активність СОД у міокарді підвищувалася порівняно з контролем, а на 28-му добу досягала майже фізіологічних значень, що вказує на відновлення ферментативної антиоксидантної системи міокарда (рис. 7.4).

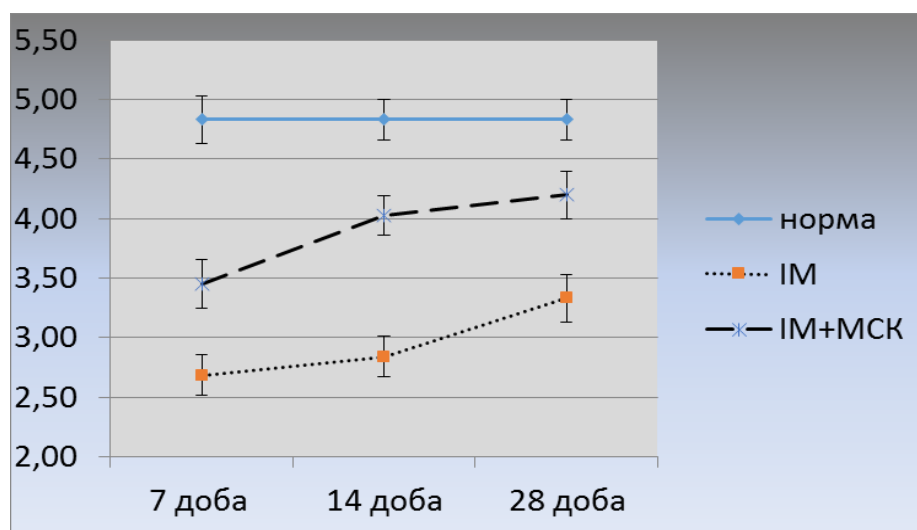


Рис. 7.4. Активність СОД (умовн. од. / г тканини) в тканині міокарда щурів з експериментальним інфарктом міокарда

Визначення рівня СРБ у сироватці крові є важливим скринінговим тестом в діагностиці органічних уражень органів і тканин, визначенні активності запального процесу і тяжкості ішемічних станів. У 2003 році Американська асоціація кардіологів виступила із заявою, в якій СРБ визнається найбільш ефективним маркером запалення, рекомендованим до використання в сучасній клінічній практиці для оцінки серцево-судинних ризиків. Численні епідеміологічні дослідження показали, що СРБ є сильним незалежним предиктором розвитку серцево-судинних ускладнень, зокрема інфаркту міокарда, ішемічного інсульту, захворювання периферичних судин і раптової серцевої смерті у відсутності відомих серцево-судинних захворювань.

СРБ – мультифункціональний білок гострої фази, який відіграє важливу роль при запаленнях, захисті від чужорідних агентів і в аутоімунних процесах.

В цілому, СРБ має багато властивостей, характерних для імуноглобулінів: він зв'язується з бактеріальними полісахаридами і гліколіпідами, з пошкодженими мембранами і з експонованими ядерними антигенами. Це, в свою чергу, призводить до зв'язування з C1q і активації класичного каскаду комплементу, що, у результаті, викликає фіксацію розщеплених продуктів фаголітичного комплементу. СРБ також зв'язується з Fc рецепторами і підвищує фагоцитоз певних антигенів і мікроорганізмів.

Результати вимірювань вмісту СРБ в сироватці крові щурів з експериментальним ІМ представлені у таблиці 7.5. На 1-шу добу спостереження в експериментальних групах рівень показника, що вивчається, майже в 3,5 раза перевищував норму. Розбіжності між групами починали спостерігати з 3-ї доби. У групі 2 вміст СРБ був вже значимо нижче за групу контролю (ІМ без лікування). На 7-му добу у групі 2 (ІМ+МСК) вміст СРБ був значимо нижче, ніж в контрольній групі, хоча й перевищував норму майже в 2 рази. Введення МСК сприяло більш прискореному зниженню рівня СРБ, і на 14-ту добу в групі ІМ+МСК цей показник не відрізнявся значимо від норми. Відновлення нормального рівня СРБ у сироватці крові в усіх групах щурів з експериментальним інфарктом міокарда спостерігалось на 21-шу добу.

Таблиця 7.5

Вміст С-реактивного білка (мг/л) у сироватці крові щурів з експериментальним інфарктом міокарда

Доба	Норма	Групи	
		1 (ІМ, контроль)	2 (ІМ + МСК)
1	5,6±0,7	20,2±1,6*	18,6±1,4*
3		18,2±1,8*	14,1±1,5* [#]
7		15,2±1,4*	12,2±1,4* [#]
14		12,5±1,5*	7,0±0,8* ^{#&}
21		7,3±0,9 ^{&}	6,3±0,8 ^{&}

Примітки: p<0,05 по відношенню до: * – норми, [#] – ІМ (контроль), & – відповідної групи на попередній термін спостереження.

Таким чином, перев'язка ЛВА супроводжується достовірним зниженням активності каталази та супероксиддисмутази в сироватці крові та тканині міокарда, що свідчить про розвиток оксидативного стресу.

Введення мезенхімальних стромальних клітин сприяло відновленню активності антиоксидантних ферментів: активність каталази та СОД у сироватці крові і міокарді підвищується у 1,3–1,6 раза порівняно з контрольною групою на 14–28-му добу спостереження. Підвищення активності антиоксидантних ферментів під впливом МСК узгоджується зі зниженням інтенсивності перекисного окиснення ліпідів, що підтверджує комплексний антиоксидантний та кардіопротекторний ефект клітинної терапії.

Максимальні значення СРБ спостерігалися протягом перших трьох діб після ІМ, після чого його концентрація поступово знижувалася, що відображає перехід запального процесу від гострої до підгострої стадії. У тварин, яким вводили МСК, зниження рівня СРБ відбувалося швидше і вираженіше, ніж у контрольній групі, що підтверджує протизапальний та цитопротекторний ефект МСК у період репарації після інфаркту міокарда.

7.2. Вплив альгінатного гідрогелю, насиченого екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят на гематологічні та біохімічні параметри щурів з експериментальним кріонекрозом міокарда

Як відомо, прогноз хворих на ІМ визначається збереженням функції скорочення неушкодженого міокарда, яка, в свою чергу, залежить від розміру зони некрозу. Розвиток резорбційно-некротичного синдрому характеризується виходом до кровотоку маркерних ферментів цитолізу, який супроводжує запалення і некроз міокарда. В якості біохімічних маркерів загибелі кардіоміоцитів у клінічній практиці використовують моніторинг активності АСТ, АЛТ, ЛДГ. Важливо досліджувати їх в перебігу різних часових проміжків. Особливості зміни активності різних ферментів дозволяють з певним ступенем ймовірності судити не тільки про наявність некрозу міокарда, але і про терміни його розвитку.

Для лабораторного підтвердження та вивчення динаміки перебігу некрозу міокарда зазвичай проводять визначення загальної активності ЛДГ, яка складається з сумарної активності всіх ізоформ цього ферменту. ЛДГ – цитоплазматичний цинковмісний фермент, що виявляється практично у всіх органах і тканинах, концентрація його всередині клітин набагато вище, ніж у сироватці крові. Загальна активність ЛДГ сироватки крові зростає в проміжку від 8 до 12 годин після больового нападу, досягаючи максимуму через 1-3 доби, залишається підвищеною протягом 10–12 діб і більше. Зазвичай спостерігається збільшення в 3–4 рази від верхньої межі референсних значень, але може бути і десятиразове перевищення. Визначення ЛДГ особливо корисно для лабораторного підтвердження некрозу міокарда через 24 і більше годин після початку больового нападу.

У наших дослідженнях на 1-шу добу після моделювання НМ у тварин, які не отримували лікування (група контролю), спостерігалось збільшення активності ЛДГ в 3 рази, у щурів, яким на тлі НМ у серцевий м'яз вводили гідрогель альгілату натрія (група 2) – в 2,4 рази, а у тварин груп 3 і 4, яким вводили Метопролол та ЕСцП у складі альгілатного гелю – в 2 рази (табл. 7.6).

Таблиця 7.6

Динаміка активності ЛДГ (мккат / л) у сироватці крові щурів з експериментальним НМ

Строк спостереження, доба	Група				
	Норма	1 НМ	2 НМ + АГІ	3 НМ+Метопролол	4 НМ+АГІ+ЕСцП
1	4,6±0,5	11,4±1,1 ¹	10,7±2,6 ¹	8,7±0,6 ¹	8,2±0,5 ¹
7		8,1±1,7 ¹	7,8±1,6 ¹	6,9±1,5	6,4±1,2
14		6,9±0,9 ¹	7,2±1,2 ¹	5,1±0,7 ²	4,3±0,4 ²
28		5,6±0,4	5,8±1,1	4,9±0,3	4,8±0,3

Примітки: 1 – відмінності статистично значимі порівняно з нормою, $p < 0,05$; 2 – відмінності статистично значимі порівняно з НМ, $p < 0,05$.

На 7-му добу в групі 3 і 4 (метопролол та введення ЕСцП) активність ферменту значимо не відрізнялася від показників групи норми і від показників у групах 1 і 2. Проте показники груп 1 і 2 на 7-му добу були значно вище за норму. На 14-ту добу спостереження в групах з введенням ЕСцП та метопрололу активність ЛДГ була на рівні норми, тоді як в групах 1 і 2 вона майже в 1,5 раза перевищувала норму. На 28-му добу в усіх експериментальних групах активність ЛДГ у сироватці крові значимо не відрізнялася від норми.

У клітинах серцевого м'яза кількість АсАТ значно перевищує кількість АлАТ. Тому особливо інформативним є одночасне вимірювання активності обох ферментів у сироватці крові. При некрозі міокарда активність АсАТ у крові збільшується в 8-10 разів, а АлАТ – в 1,5-2,0 рази. Найбільш різко активність АсАТ збільшується при некрозі тканини, оскільки виходить у кров і цитоплазматична і мітохондріальна форми ферменту. Результати динамічного спостереження за активністю ферментів дають підставу судити про стабільність розмірів ділянки некрозу міокарда, що формується або про его прогресуюче збільшення.

У наших дослідженнях запальна реакція в м'язі серця після моделювання НМ супроводжувалася синдромом цитолізу, що відображалось у відповідній динаміці активності досліджуваних біохімічних маркерів (табл. 7.7, 7.8).

Таблиця 7.7

Динаміка активності АлАТ (мкмоль / год / мл) у сироватці крові щурів з експериментальним НМ

Строк спостереження, доба	Група				
	Норма	1 НМ	2 НМ + АГІ	3 НМ+Метопролол	4 НМ+АГІ+ЕСцП
1	1,6±0,1	1,9±0,2	1,5±0,1	1,4±0,1	1,4±0,1
7		1,7±0,1	1,8±0,1	1,8±0,1	1,7±0,1
14		1,7±0,1	1,5±0,1	1,6±0,1	1,4±0,1
28		2,2±0,6	2,1±0,4	1,4±0,1	1,2±0,2

Примітки: 1 – відмінності статистично значимі порівняно з нормою, $p < 0,05$; 2 – відмінності статистично значимі порівняно з НМ, $p < 0,05$.

Підвищення активності АЛАТ у наших дослідженнях не спостерігалось, а активність АсАТ у сироватці крові експериментальних тварин через одну добу після кріодеструкції міокарда збільшувалася в 1,5 раза.

Через 7 діб після початку експерименту активність АсАТ в сироватці крові виразно, але не однаково, знижувалася у тварин груп 3 і 4, тобто яким вводили альгінатний імплантат, насичений ЕСцП, так і під дією метопрололу (табл. 7.8). Якщо у тварин з НМ у цей термін активність АсАТ в 1,4 раза перевищувала норму, то у щурів, яким вводили Метапролол або альгінат з ЕСцП, цей показник статистично достовірно ($p < 0,05$) не відрізнявся від норми.

Таблиця 7.8

Динаміка активності АсАТ (мкмоль / год / мл) у сироватці крові щурів з експериментальним НМ

Строк спостереження, доба	Група				
	Норма	1 НМ	2 НМ + АГІ	3 НМ+Метопролол	4 НМ+АГІ+ЕСцП
1	2,9±0,2	4,4±0,1 ¹	4,4±0,1 ¹	4,4±0,4 ¹	4,4±0,6 ¹
7		4,1±0,1 ¹	3,9±0,2 ²	2,7±0,3 ²	2,4±0,1 ²
14		3,2±0,1	3,5±0,5 ²	2,5±0,2 ²	2,5±0,2 ²
28		2,9±0,1	2,3±0,1	2,4±0,2	2,4±0,1

Примітки: 1 – відмінності статистично значимі порівняно з нормою, $p < 0,05$; 2 – відмінності статистично значимі порівняно з НМ, $p < 0,05$.

На 14-ту добу активність АсАТ була на рівні норми у всіх групах (табл. 7.8), проте спостерігалася відмінність значень цього показника у тварин, яким проводили лікувальні дії, від активності у щурів з нелікованим НМ.

На 28-ту добу активність амінотрансфераз у всіх групах тварин статистично достовірно не відрізнялася від норми.

Таким чином, розвиток некротичного ураження міокарда з використанням низьких температур у тварин контрольної групи супроводжувався типовою динамікою цитолітичного синдрому – підвищенням активності лактатдегідрогенази (ЛДГ), аспартатамінотрансферази (АсАТ) та,

меншою мірою, аланінамінотрансферази (АлАТ) у сироватці крові, що відображало інтенсивне ушкодження кардіоміоцитів.

Застосування альгінатного гідрогелю, насиченого екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕСцП), сприяло більш виразному зниженню активності ферментів цитолізу (ЛДГ, АсАТ) уже на 7-му добу спостереження, причому рівень цих показників наближався до фізіологічної норми раніше, ніж у тварин контрольних груп.

Порівняння ефективності лікування показало, що кардіопротекторна дія гідрогелю з ЕСцП була порівнянною або вищою, ніж ефект метопрололу – стандартного препарату з доведеною антиішемічною дією.

Отримані результати вказують, що альгінатний гідргель, насичений ЕСцП, справляє помітну цитопротекторну та репаративну дію при експериментальному некрозі міокарда, знижуючи активність ферментів цитолізу та сприяючи нормалізації біохімічного профілю крові.

7.3. Модулювальний вплив кріоекстракту серця на біоенергетичні та антиоксидантні системи міокарда при адреналіновій міокардіодистрофії

Розвиток кардіоміопатій, зокрема адреналінової міокардіодистрофії (АМД), є однією з основних причин ССЗ, що характеризуються порушеннями енергетичного гомеостазу, підвищеним окиснювальним стресом та змінами в метаболізмі кардіоміоцитів. У зв'язку з цим, науковий інтерес до пошуку ефективних кардіопротекторних засобів, здатних відновлювати нормальну функцію міокарда за умов патології, залишається надзвичайно актуальним. Останні дослідження демонструють значний потенціал кріоекстрактів, зокрема кріоекстракту серця, у корекції метаболічних та окиснювальних порушень, що виникають при різних серцевих захворюваннях.

Метою цього підрозділу є детальне дослідження механізмів кардіопротекторної активності кріоекстракту серця, зокрема його впливу на регуляцію окисного стресу та антиоксидантного балансу, а також механізмів, через які цей екстракт нормалізує енергетичний обмін та порушення вуглеводного обміну в кардіоміоцитах на моделі адреналінової

міокардіодистрофії. Окрім того, у цьому розподілі буде розглянуто здатність кріоекстракту серця стимулювати відновлення метаболічних шляхів, що забезпечують стабільність енергетичного обміну у серцевій тканині за умов патології. Аналіз результатів досліджень дозволить оцінити його потенціал як інноваційного кардіопротектора, та виявити ключові молекулярні мішені для подальшого розвитку терапевтичних стратегій.

Експериментальні дослідження проведені на 84 нелінійних щурах-самцях.

7.3.1. Модуляція ендогенної антиоксидантної системи під впливом кріоекстракту серця в умовах адреналінової міокардіодистрофії

Оцінка активності СОД у сироватці крові щурів показала, що виявлені зміни мають динамічний характер залежно від часу спостереження. На 2-й день після моделювання АМД, щури контрольної групи (АМД без лікування) продемонстрували знижену активність СОД, яка склала $0,14 \pm 0,006$ умов. од./л, що на 69,2% менше за рівень інтактних щурів ($0,45 \pm 0,013$ умов.од./л, $p < 0,001$). Щури з АМД, які отримували ЕСцП, показали незначне підвищення активності СОД ($0,21 \pm 0,012$ умов.од./л), що становило 54,6% від рівня інтактних тварин ($p < 0,01$). Водночас у групі, яка отримувала кордарон, активність СОД становила $0,24 \pm 0,012$ умов.од./л, що відповідало 47,0% порівняно з інтактними щурами ($p < 0,001$).

На 7-й день спостереження значення активності СОД дещо підвищились у всіх групах. У групі щурів з АМД без лікування рівень СОД склав $0,38 \pm 0,026$ умов.од./л, що на 172,5% вищим порівняно з 2-м днем ($p = 0,009$). У щурів, які отримували ЕСцП, активність СОД була $0,41 \pm 0,009$ умов.од./л, що на 93,6% більше порівняно з 2-м днем ($p = 0,009$). Щури, які отримували кордарон, продемонстрували значення $0,40 \pm 0,008$ умов.од./л, що на 67,9% більше порівняно з 2-м днем ($p = 0,009$). Порівняно з інтактними щурами всі групи показали статистично вірогідні відмінності ($p = 0,01 - 0,2$).

На 14-й день спостереження значення активності СОД майже відновилися до рівня інтактних щурів у всіх групах. У щурів з АМД без лікування показник

був $0,45 \pm 0,026$ умов.од./л, що на 222,7% вище порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) та на 18,6% більше порівняно з 7-м днем ($p=0,05$). У групі з ЕСцП активність СОД склала $0,44 \pm 0,012$ умов.од./л, що на 104% більше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) та на 5,5% більше порівняно з 7-м днем ($p=0,03$) (табл. 7.9).

Таблиця 7.9

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на активність супероксиддисмутази (СОД) у сироватці крові на моделі адреналінової міокардіодистрофії, умов.од./л ($M \pm m$, 95% ДІ, $n=84$)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕСцП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	p_{2-1}	p_{3-2}	p_{4-2}	p_{4-3}
2 день	$0,45 \pm 0,013$ (95% ДІ: 0,42–0,48)	$0,14 \pm 0,006$ (95% ДІ: 0,13–0,15)	$0,21 \pm 0,012$ (95% ДІ: 0,19–0,24)	$0,24 \pm 0,012$ (95% ДІ: 0,21–0,26)	$<0,001$ [69,2%]	$<0,01$ [54,6%]	$<0,01$ [70,1%]	0,2 [10,0%]
7 день	$0,47 \pm 0,013$ (95% ДІ: 0,44–0,49) $p_{д2} = 0,2$ [3,5%] ^{д2}	$0,38 \pm 0,026$ (95% ДІ: 0,33–0,43) $p_{д2} = 0,009$ [172,5%] ^{д2}	$0,41 \pm 0,009$ (95% ДІ: 0,40–0,43) $p_{д2} = 0,009$ [93,6%] ^{д2}	$0,40 \pm 0,008$ (95% ДІ: 0,38–0,41) $p_{д2} = 0,009$ [67,9%] ^{д2}	0,01 [19,0%]	0,2 [9,8%]	0,5 [4,9%]	0,2 [4,5%]
14 день	$0,46 \pm 0,013$ (95% ДІ: 0,44–0,49) $p_{д2} = 0,05$ [2,9%] ^{д2} $p_{д7} = 0,5$ [0,6%] ^{д7}	$0,45 \pm 0,026$ (95% ДІ: 0,40–0,50) $p_{д2} = 0,01$ [222,7%] ^{д2} $p_{д7} = 0,05$ [18,6%] ^{д7}	$0,44 \pm 0,012$ (95% ДІ: 0,41–0,46) $p_{д2} = 0,01$ [104,0%] ^{д2} $p_{д7} = 0,03$ [5,5%] ^{д7}	$0,46 \pm 0,028$ (95% ДІ: 0,40–0,51) $p_{д2} = 0,01$ [93,9%] ^{д2} $p_{д7} = 0,05$ [15,5%] ^{д7}	0,6 [3,4%]	0,7 [2,2%]	0,6 [2,2%]	0,5 [4,6%]

Примітки.

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
4. Індексами $д2$, $д7$ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено порівняння в динаміці.

У групі з кордароном цей показник становив $0,46 \pm 0,028$ умов.од./л, що на 93,9% більше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) та на 15,5% більше порівняно з 7-м

днем ($p=0,05$). Для всіх груп на 14-й день спостерігалось незначне підвищення активності СОД порівняно з 7-м днем (табл. 7.9).

Вивчення впливу ЕСцП **на рівень каталази** в сироватці крові щурів на моделі АМД виявило значні зміни на різних етапах дослідження. Каталаза є одним з основних ферментів антиоксидантної системи, що каталізує розклад перекису водню до води та кисню, тим самим знижуючи оксидативний стрес, що є важливим механізмом ушкодження клітин серця при АМД. Порушення функції каталази при АМД веде до накопичення активних форм кисню, що сприяє подальшому пошкодженню кардіоміоцитів і серцевої тканини в цілому. Таким чином, нормалізація активності каталази є важливим аспектом терапевтичного впливу.

На 2-й день після індукції АМД у контрольній групі щурів (АМД без лікування) рівень каталази в сироватці крові був значно знижений і становив 0,13 мкат/г протеїну (95% ДІ: [0,12; 0,13]), що на 54,4% менше, ніж у інтактних щурів, у яких рівень каталази складав 0,29 мкат/г протеїну (95% ДІ: [0,25; 0,29]) ($p=0,001$). Така значна різниця свідчить про виражений оксидативний стрес, що є характерним для АМД. У щурів, які отримували лікування ЕСцП та кордароном, рівень каталази був підвищений порівняно з контролем і складав 0,17 мкат/г протеїну (95% ДІ: [0,16; 0,19]) і 0,18 мкат/г протеїну (95% ДІ: [0,18; 0,20]) відповідно, що на 30,8% та 38,5% більше, ніж у контрольних щурів ($p<0,001$ і $p<0,01$). Це вказує на позитивний вплив лікування на антиоксидантну активність організму, хоча рівень каталази у цих групах все ще залишався значно нижчим за значення, характерні для інтактних щурів (табл. 7.10).

На 7-й день після індукції АМД рівень каталази у всіх групах залишався вищим, ніж на 2-й день, що свідчить про деяке відновлення ферментативної активності. У контрольних щурів рівень каталази становив 0,23 мкат/г протеїну (95% ДІ: [0,23; 0,27]), що на 76,9% перевищувало показник на 2-й день ($p=0,009$). Водночас у групах, які отримували лікування ЕСцП та кордароном, рівень каталази також підвищувався і складав 0,25 мкат/г протеїну (95% ДІ:

[0,24; 0,26]) і 0,26 мкат/г протеїну (95% ДІ: [0,25; 0,26]) відповідно, що на 47,1% і 44,4% більше, ніж на 2-й день ($p=0,009$ для обох груп).

Таблиця 7.10

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на рівень каталази у сироватці крові на моделі адреналінової міокардіодистрофії, мкат/г протеїну (Me [LQ; UQ], $n=84$)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕСцП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	p_{2-1}	p_{3-2}	p_{4-2}	p_{4-3}
2 день	0,29 [0,25; 0,29]	0,13 [0,12; 0,13]	0,17 [0,16; 0,19]	0,18 [0,18; 0,20]	0,001 [54,4%]	<0,001 [30,8%]	<0,01 [38,5%]	0,07 [5,9%]
7 день	0,27 [0,24; 0,28] $p_{д2} = 0,2$ [-5,3%] ^{д2}	0,23 [0,23; 0,27] $p_{д2} = 0,009$ [76,9%] ^{д2}	0,25 [0,24; 0,26] $p_{д2} = 0,009$ [47,1%] ^{д2}	0,26 [0,25; 0,26] $p_{д2} = 0,009$ [44,4%] ^{д2}	0,3 [14,8%]	0,4 [8,7%]	0,3 [13,0%] ^з	0,4 [4,0%]
14 день	0,28 [0,27; 0,29] $p_{д2} = 0,1$ [-1,8%] ^{д2} $p_{д7} = 0,1$ [3,7%] ^{д7}	0,25 [0,24; 0,29] $p_{д2} = 0,01$ [92,3%] ^{д2} $p_{д7} = 0,3$ [8,7%] ^{д7}	0,27 [0,25; 0,30] $p_{д2} = 0,01$ [58,8%] ^{д2} $p_{д7} = 0,2$ [8,0%] ^{д7}	0,29 [0,26; 0,29] $p_{д2} = 0,01$ [61,1%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [11,5%] ^{д7}	0,2 [10,7%]	0,2 [8,0%]	0,1 [16,0%]	0,4 [7,4%]

Примітки.

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексми 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
4. Індексми $д2$, $д7$ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено порівняння в динаміці.

Однак, порівняно з інтактними щурами ці показники залишалися зниженими, це вказує на те, що оксидативний стрес частково коригується лікуванням, але не досягнуто повного відновлення функцій антиоксидантної системи. Важливо зазначити, що зниження рівня каталази в контрольній групі на тлі АМД свідчить про прогресування оксидативного пошкодження в тканинах серця.

На 14-й день після індукції АМД рівень каталази у всіх групах залишався порівняно стабільним і не змінювався суттєво порівняно з показниками на 7-й день. У контрольних щурів рівень каталази становив 0,25 мкат/г протеїну (95% ДІ: [0,24; 0,29]), що на 92,3% більше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$), але на 14-й день цей показник не змінювався порівняно з 7-м днем ($p=0,3$). У групах щурів, які отримували лікування ЕСцП та кордароном, рівень каталази також залишався підвищеним, складаючи 0,27 мкат/г протеїну (95% ДІ: [0,25; 0,30]) і 0,29 мкат/г протеїну (95% ДІ: [0,26; 0,29]) відповідно, що на 58,8% і 61,1% більше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$ для обох груп). Водночас, порівняно з інтактними щурами, рівень каталази у групах лікування залишався зниженим, що свідчить про недостатню корекцію оксидативного стресу та необхідність додаткового впливу для досягнення повного відновлення антиоксидантної активності. Загалом, отримані результати свідчать, що лікування ЕСцП і кордароном справляє позитивний вплив на рівень каталази в сироватці крові, однак цей ефект не дозволяє повністю відновити рівень каталази до значень, характерних для інтактних щурів. Зокрема, лікування сприяє значному підвищенню активності каталази, що вказує на зниження оксидативного стресу, але рівень каталази залишається дещо зниженим навіть через 14 днів після початку лікування. Це підкреслює, що вплив терапії на антиоксидантну систему серця є частковим і вимагає додаткових досліджень для визначення оптимальних доз і тривалості лікування, а також для оцінки ефективності комплексних підходів у лікуванні АМД.

На тлі АМД у щурів спостерігається значне зниження **активності глутатіон-пероксидази (ГПО)** в серці. Так, на 2-й день рівень ГПО у щурів контрольної групи (АМД без лікування) був майже вдвічі нижчим порівняно з інтактними щурами ($48,9 \pm 0,83$ мкмоль відновленого глутатіону/мг білка/хв проти $81,6 \pm 1,84$ мкмоль відновленого глутатіону/мг білка/хв). Це свідчить про розвиток окисного стресу в результаті АМД, що спричиняє порушення функції антиоксидантних ферментів, зокрема ГПО. Застосування ЕСцП до 2-го дня приводить до часткового відновлення рівня ГПО, що підтверджується значенням $52,1 \pm 0,80$ мкмоль відновленого глутатіону/мг білка/хв ($p=0,02$,

6,7%). Водночас, кордарон значно підвищує рівень ГПО до $57,1 \pm 0,59$ мкмоль відновленого глутатіону/мг білка/хв ($p < 0,001$, 17,0%) (табл. 7.11).

Таблиця 7.11

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на рівень глутатіон-пероксидази (ГПО) у тканинах серця щурів на моделі адреналінової міокардіодистрофії, мкмоль відновленого глутатіону/мг білка/хв ($M \pm m$, 95% ДІ, $n=84$)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕСцП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	p_{2-1}	p_{3-2}	p_{4-2}	p_{4-3}
2 день	$81,6 \pm 1,84$ (95% ДІ: 78,0–85,2)	$48,9 \pm 0,83$ (95% ДІ: 47,2–50,5)	$52,1 \pm 0,80$ (95% ДІ: 50,6–53,7)	$57,1 \pm 0,59$ (95% ДІ: 56,0–58,3)	$<0,001$ [40,1%]	0,02 [6,7%]	$<0,001$ [17,0%]	$<0,001$ [9,6%]
7 день	$84,4 \pm 0,65$ (95% ДІ: 83,2–85,7) $p_{д2} = 0,06$ [3,5%] ^{д2}	$61,9 \pm 0,77$ (95% ДІ: 60,3–63,4) $p_{д2} = 0,009$ [26,6%] ^{д2}	$70,0 \pm 1,31$ (95% ДІ: 67,4–72,6) $p_{д2} = 0,009$ [34,2%] ^{д2}	$66,3 \pm 2,23$ (95% ДІ: 61,9–70,7) $p_{д2} = 0,01$ [16,0%] ^{д2}	$<0,001$ [26,7%]	$<0,001$ [13,2%]	0,1 [7,2%]	0,2 [5,3%]
14 день	$82,9 \pm 1,70$ (95% ДІ: 79,5–86,2) $p_{д2} = 0,3$ [1,6%] ^{д2} $p_{д7} = 0,3$ [1,9%] ^{д7}	$72,3 \pm 2,54$ (95% ДІ: 67,3–77,3) $p_{д2} = 0,01$ [48,0%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [16,9%] ^{д7}	$80,0 \pm 1,43$ (95% ДІ: 77,2–82,8) $p_{д2} = 0,01$ [53,4%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [14,3%] ^{д7}	$74,7 \pm 2,79$ (95% ДІ: 69,2–80,2) $p_{д2} = 0,01$ [30,7%] ^{д2} $p_{д7} = 0,05$ [12,7%] ^{д7}	0,005 [12,8%]	0,02 [10,7%]	0,005 [3,4%]	0,1 [6,6%]

Примітки.

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексом $_{1, 2, 3}$ вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
4. Індексом $_{д2, д7}$ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено порівняння в динаміці.

На 7-й день спостерігається тенденція до нормалізації показників ГПО в групах щурів, яким вводили ЕСцП, та щурів, яким вводили кордарон, але вони ще не досягають рівня інтактних щурів. У групі з АМД, яким вводили ЕСцП,

рівень ГПО досягає $70,0 \pm 1,31$ мкмоль відновленого глутатіону/мг білка/хв ($p < 0,009$, 34,2%), в той час як у групі щурів, яким вводили кордарон, цей показник складає $66,3 \pm 2,23$ мкмоль відновленого глутатіону/мг білка/хв ($p = 0,01$, 16,0%). Важливо, що в контрольній групі щурів з АМД без лікування рівень ГПО залишається значно зниженим ($61,9 \pm 0,77$ мкмоль відновленого глутатіону/мг білка/хв, $p < 0,009$, 26,6%).

Зміни на 14-й день вказують на стабілізацію показників. ГПО в групах щурів, яким вводили ЕСцП, або щурів, яким вводили кордарон, наближається до значень інтактних щурів. Щури з АМД, яким вводили ЕСцП, мають рівень ГПО $80,0 \pm 1,43$ мкмоль відновленого глутатіону/мг білка/хв ($p = 0,01$, 53,4%), що є значним поліпшенням порівняно з контролем. У групі щурів, яким вводили кордарон, цей показник становить $74,7 \pm 2,79$ мкмоль відновленого глутатіону/мг білка/хв ($p = 0,01$, 30,7%). Таким чином, лікування як ЕСцП, так і кордароном, забезпечує поліпшення рівня ГПО в серцевих тканинах, хоча кордарон демонструє дещо вищу ефективність.

Виявлено, що рівень **відновленого глутатіону (G-SH)** у тканинах серця щурів на моделі АМД змінюється в динаміці залежно від групи та часу дослідження. На 2-й день після моделювання АМД у контрольній групі (щури з АМД без лікування) рівень G-SH становив 0,80 ммоль/кг, що є значно нижчим порівняно з інтактними щурами, де цей показник складав 1,50 ммоль/кг ($p < 0,001$, різниця 46,7%). У групі щурів з АМД, яким вводили ЕСцП, рівень G-SH склав 1,10 ммоль/кг, що на 37,5% більше порівняно з контролем ($p < 0,001$), але менше, ніж у щурів з інтактним серцем. У щурів, яким вводили кордарон, рівень G-SH був 1,20 ммоль/кг, що також показує суттєве підвищення порівняно з контрольними показниками ($p = 0,004$, 50,0% різниці), але не досяг рівня показників інтактних щурів (табл. 7.12).

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на рівень відновленого глутатіону (G-SH) у тканинах серця щурів на моделі адреналінової міокардіодистрофії, ммоль/кг (Me [LQ; UQ], n=84)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕСцП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	p ₂₋₁	p ₃₋₂	p ₄₋₂	p ₄₋₃
2 день	1,50 [1,45; 1,70]	0,80 [0,50; 0,90]	1,10 [1,05; 1,25]	1,20 [1,05; 1,30]	<0,001 [46,7%]	<0,001 [37,5%]	0,004 [50,0%]	0,5 [9,1%]
7 день	1,40 [1,30; 1,50] p _{д2} = 0,047 [-6,7%] ^{д2}	1,20 [1,10; 1,40] p _{д2} = 0,009 [50,0%] ^{д2}	1,30 [1,15; 1,55] p _{д2} = 0,047 [18,2%] ^{д2}	1,40 [1,15; 1,55] p _{д2} = 0,08 [16,7%] ^{д2}	0,08 [14,3%]	0,3 [8,3%]	0,4 [16,7%]	0,4 [7,7%]
14 день	1,50 [1,40; 1,55] p _{д2} = 0,06 [-] ^{д2} p _{д7} = 0,09 [7,1%] ^{д7}	1,40 [1,20; 1,75] p _{д2} = 0,01 [75,0%] ^{д2} p _{д7} = 0,2 [16,7%] ^{д7}	1,50 [1,40; 1,70] p _{д2} = 0,02 [36,4%] ^{д2} p _{д7} = 0,2 [15,4%] ^{д7}	1,40 [1,40; 1,50] p _{д2} = 0,01 [16,7%] ^{д2} p _{д7} = 0,3 [-] ^{д7}	0,3 [6,7%]	0,4 [7,1%]	0,4 [-]	0,3 [6,7%]

Примітки:

1. p₂₋₁ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексми 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
4. Індексми д₂, д₇ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено порівняння в динаміці.

Зміни в рівні G-SH продовжуються і на 7-й день. У щурів з АМД, яким вводили ЕСцП, рівень G-SH становив 1,30 ммоль/кг, що на 18,2% більше порівняно з 2-м днем (p=0,047). У контрольній групі цей показник залишався на рівні 1,20 ммоль/кг, що є на 50% вищим за рівень на 2-й день (p=0,009). Щури, яким вводили кордарон, показали менш значущі зміни, з рівнем G-SH 1,40 ммоль/кг, що на 16,7% більше порівняно з 2-м днем, однак цей результат не є статистично вірогідним (p=0,08).

На 14-й день рівень G-SH у щурів з інтактним серцем залишався стабільним на рівні 1,50 ммоль/кг, без суттєвих змін порівняно з 7-м днем ($p=0,09$). У групі щурів з АМД, яким вводили ЕСцП, рівень G-SH становив 1,50 ммоль/кг, що на 36,4% більше порівняно з 2 днем ($p=0,02$), але не показало значущих змін порівняно з 7-м днем. У групі щурів, яким вводили кордарон, рівень G-SH складав 1,40 ммоль/кг, що є на 16,7% більше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$), але показник не змінився суттєво з 7-го дня ($p=0,3$). Контрольна група на 14-й день показала стабільність показників на рівні 1,40 ммоль/кг, без змін порівняно з попередніми строками дослідження.

Загалом, спостереження за динамікою рівня G-SH свідчать про позитивні зміни в результаті лікування щурів з АМД, особливо в групах, яким вводили ЕСцП і кордарон. Введення ЕСцП значно покращувало показники вже на 2-й день, демонструючи потенціал цього екстракту для зниження оксидативного стресу та відновлення функцій серцевої тканини в умовах АМД. Позитивний ефект зберігався протягом усього дослідження, хоча і зменшувався на 14-й день, що може свідчити про необхідність додаткових підходів для підтримки цього ефекту.

Крім того, введення кордарону продемонструвало менш виражений ефект порівняно з ЕСцП, хоча також мало позитивний вплив на рівень G-SH, що свідчить про можливу роль кордарону в лікуванні серцевих захворювань, однак його ефективність у боротьбі з оксидативним стресом не була настільки значущою. Це підтверджує необхідність вивчення нових терапевтичних стратегій для лікування АМД, зокрема, використання біологічних матеріалів, таких як ЕСцП, як ефективних засобів для відновлення функції серця.

Дослідження також показало, що зміни рівня G-SH можуть бути важливим маркером ефективності терапії при АМД, оскільки глутатіон відіграє критичну роль у захисті клітин від оксидативного стресу та сприяє детоксикації у тканинах серця. Таким чином, на основі отриманих результатів можна припустити, що підвищення рівня відновленого глутатіону може бути корисним індикатором для оцінки ефективності лікування при АМД.

Протягом дослідження було помічено, що введення ЕСцП не лише відновлює рівень G-SH, але й позитивно впливає на інші показники антиоксидантної активності, що дозволяє припустити його загальний позитивний вплив на серцеву тканину. Водночас, ефект кордарону виявився менш вираженим і потребує подальших досліджень для більш детального вивчення механізмів його дії на клітинному рівні.

7.3.2. Адаптаційна дія кріоекстракту серця на енергетичні процеси в міокарді при експериментальній адреналіновій міокардіодистрофії

Дослідження показало, що **рівень АТФ у тканинах серця щурів** на тлі розвитку АМД має значні зміни в залежності від застосування різних терапевтичних підходів, зокрема введення ЕСцП (табл. 7.13). На 2-й день після індукції АМД спостерігалася значне зниження вмісту АТФ у щурів контрольної групи ($1,2 \pm 0,09$ мкмоль/г сухої тканини), що на 66,8% нижче порівняно з інтактними щурами ($3,7 \pm 0,06$ мкмоль/г). У групі щурів з АМД, яким вводили ЕСцП, рівень АТФ склав $1,5 \pm 0,04$ мкмоль/г, що перевищує показники контрольної групи на 20% ($p=0,03$). У групі щурів, які отримували кордарон, рівень АТФ був $1,7 \pm 0,06$ мкмоль/г, що на 13,7% вище, ніж у контрольній групі ($p=0,02$). Статистично значущі відмінності між групами на 2-й день були підтверджені низькими значеннями p ($p<0,0001$ для порівняння інтактних щурів з контрольними та $p=0,02$ для порівняння щурів з АМД і кордароном).

На 7-й день після моделювання АМД спостерігалася часткова нормалізація рівня АТФ у всіх групах. У щурів з АМД, яким вводили ЕСцП, рівень АТФ збільшився до $2,4 \pm 0,13$ мкмоль/г, що на 63,7% перевищує показники на 2-й день ($p=0,009$). У групі щурів з АМД, які отримували кордарон, рівень АТФ також збільшився до $2,2 \pm 0,06$ мкмоль/г, що на 30,2% більше порівняно з показниками на 2-й день ($p=0,009$). При цьому в контрольній групі (щури з АМД без лікування) спостерігалася лише помірне підвищення рівня АТФ до $1,8 \pm 0,06$ мкмоль/г, що на 45,9% вище за початковий рівень на 2-й день ($p=0,009$), але все ж залишалося значно нижчим, ніж в

інтактних щурів ($3,4 \pm 0,10$ мкмоль/г, $p=0,04$). Порівняння між групами на 7-й день показало статистично значущі відмінності порівняно з контролем ($p<0,001$ для групи ЕСцП та $p=0,001$ для групи кордарон), тоді як різниця між групами, що отримували ЕСцП та кордарон, не була статистично значущою ($p=0,1$).

Таблиця 7.13

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на рівень аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ) у тканинах серця щурів на моделі адреналінової міокардіодистрофії, мкмоль/г сухої тканини
($M \pm m$, 95% ДІ, $n=84$)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕСцП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	p_{2-1}	p_{3-2}	p_{4-2}	p_{4-3}
2 день	$3,7 \pm 0,06$ (95% ДІ: 3,5–3,8)	$1,2 \pm 0,09$ (95% ДІ: 1,0–1,4)	$1,5 \pm 0,04$ (95% ДІ: 1,4–1,5)	$1,7 \pm 0,06$ (95% ДІ: 1,5–1,8)	$<0,0001$ [66,8%]	0,03 [20,0%]	0,002 [36,5%]	0,02 [13,7%]
7 день	$3,4 \pm 0,10$ (95% ДІ: 3,2–3,6) $p_{д2} = 0,04$ [-7,4%] ^{д2}	$1,8 \pm 0,06$ (95% ДІ: 1,7–1,9) $p_{д2} = 0,009$ [45,9%] ^{д2}	$2,4 \pm 0,13$ (95% ДІ: 2,1–2,6) $p_{д2} = 0,009$ [63,7%] ^{д2}	$2,2 \pm 0,06$ (95% ДІ: 2,0–2,3) $p_{д2} = 0,009$ [30,2%] ^{д2}	$<0,001$ [47,7%]	0,001 [34,7%]	0,001 [21,8%]	0,1 [9,6%]
14 день	$3,8 \pm 0,06$ (95% ДІ: 3,7–3,9) $p_{д2} = 0,02$ [3,52%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [11,8%] ^{д7}	$2,9 \pm 0,07$ (95% ДІ: 2,8–3,0) $p_{д2} = 0,01$ [140,0%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [64,5%] ^{д7}	$3,3 \pm 0,07$ (95% ДІ: 3,1–3,4) $p_{д2} = 0,01$ [125,5%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [37,7%] ^{д7}	$3,0 \pm 0,15$ (95% ДІ: 2,7–3,3) $p_{д2} = 0,01$ [80,7%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [38,4%] ^{д7}	$<0,001$ [23,0%]	0,003 [12,7%]	$<0,001$ [2,5%]	0,1 [9,1%]

Примітки:

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексми 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
4. Індексми д2, д7 вказано строки дослідження, з показниками яких проведено порівняння в динаміці.

На 14-й день дослідження показало подальше підвищення рівня АТФ в усіх групах, що отримували лікування. У щурів, яким вводили ЕСцП, рівень АТФ досяг $3,3 \pm 0,07$ мкмоль/г, що на 37,7% вище порівняно з показниками на 7-й день ($p=0,01$). У групі щурів, яким вводили кордарон, рівень АТФ збільшився до $3,0 \pm 0,15$ мкмоль/г, що на 38,4% вище порівняно з 7-м днем ($p=0,01$). Порівняно з інтактними щурами рівень АТФ у групах з АМД залишався знижений, але наближався до нормальних значень. У контрольній групі рівень АТФ досяг $2,9 \pm 0,07$ мкмоль/г, що на 140,0% вище порівняно з показниками на 2-й день ($p=0,01$). Однак цей рівень все ще був значно нижчим за рівень в інтактних щурів ($3,8 \pm 0,06$ мкмоль/г, $p<0,001$). При порівнянні показників між групами на 14-й день спостерігалися статистично значущі розбіжності ($p<0,001$ для порівняння ЕСцП з контролем та $p=0,003$ для кордарону з контролем), в той час як різниця між групами, що отримували ЕСцП та кордарон, була незначною ($p=0,1$).

Отже, результати дослідження свідчать про позитивний вплив ЕСцП на відновлення рівня АТФ у серцевій тканині щурів, які зазнали розвитку АМД. Введення ЕСцП сприяло значному збільшенню рівня АТФ порівняно з контрольною групою, і навіть наближало його до нормальних значень, що свідчить про потенційно корисний терапевтичний ефект цього препарату. Водночас кордарон, хоча також позитивно впливав на рівень АТФ, не демонстрував такої вираженої ефективності порівняно з ЕСцП.

Оцінка рівня АДФ у тканинах серця щурів показала, що на 2-й день після моделювання АМД спостерігалася значна підвищена концентрація вказаного показника у щурів контрольної групи, які не отримували лікування ($2,1 \pm 0,05$ мкмоль/г), що на 101,4% перевищує рівень у інтактних щурів ($1,1 \pm 0,06$ мкмоль/г, $p < 0,001$). У групі щурів з АМД, яким вводили ЕСцП, рівень АДФ складав $1,6 \pm 0,04$ мкмоль/г, що на 24,8% менше порівняно з контрольними щурами ($p < 0,001$) (табл. 7.14).

Таблиця 7.14

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на рівень аденозиндифосфорної кислоти (АДФ) у тканинах серця щурів на моделі адреналінової міокардіодистрофії, мкмоль/г сухої тканини ($M \pm m$, 95% ДІ, $n=84$)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕСцП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	p_{2-1}	p_{3-2}	p_{4-2}	p_{4-3}
2 день	$1,1 \pm 0,06$ (95% ДІ: 0,9–1,2)	$2,1 \pm 0,05$ (95% ДІ: 2,0–2,2)	$1,6 \pm 0,04$ (95% ДІ: 1,5–1,7)	$1,6 \pm 0,10$ (95% ДІ: 1,4–1,8)	$<0,001$ [101,4%]	$<0,001$ [24,8%]	0,001 [24,2%]	0,9 [0,9%]
7 день	$1,2 \pm 0,03$ (95% ДІ: 1,1–1,3) $p_{д2} = 0,05$ [13,5%] ^{д2}	$1,8 \pm 0,09$ (95% ДІ: 1,7–2,0) $p_{д2} = 0,02$ [14,1%] ^{д2}	$1,5 \pm 0,04$ (95% ДІ: 1,4–1,5) $p_{д2} = 0,02$ [8,0%] ^{д2}	$1,4 \pm 0,06$ (95% ДІ: 1,3–1,5) $p_{д2} = 0,06$ [15,0%] ^{д2}	$<0,001$ [52,4%]	0,003 [19,5%]	0,001 [25,0%]	0,2 [6,8%]
14 день	$1,1 \pm 0,08$ (95% ДІ: 0,9–1,2) $p_{д2} = 0,5$ [-] ^{д2} $p_{д7} = 0,06$ [-11,9%] ^{д7}	$1,4 \pm 0,08$ (95% ДІ: 1,3–1,6) $p_{д2} = 0,01$ [-32,2%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [-21,1%] ^{д7}	$1,3 \pm 0,05$ (95% ДІ: 1,2–1,4) $p_{д2} = 0,02$ [-17,9%] ^{д2} $p_{д7} = 0,02$ [-10,7%] ^{д7}	$1,4 \pm 0,04$ (95% ДІ: 1,4–1,5) $p_{д2} = 0,6$ [-10,6%] ^{д2} $p_{д7} = 0,3$ [5,2%] ^{д7}	0,006 [36,5%]	0,2 [8,9%]	0,006 [-]	0,06 [9,8%]

Примітки:

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексом 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
4. Індексом д2, д7 вказано строки дослідження, з показниками яких проведено порівняння в динаміці.

На 7-й день після моделювання АМД спостерігалася деяка корекція рівня АДФ у групах, що отримували лікування (табл. 7.14). У щурів з АМД, яким вводили ЕСцП, рівень АДФ знизився до $1,5 \pm 0,04$ мкмоль/г, що на 8% менше порівняно з 2-м днем ($p=0,02$). У групі щурів з АМД, які отримували кордарон, рівень АДФ становив $1,4 \pm 0,06$ мкмоль/г, що на 15,0% менше порівняно з 2-м днем ($p=0,06$). У контрольній групі рівень АДФ знизився до $1,8 \pm 0,09$ мкмоль/г, що на 14,1% менше порівняно з показниками на 2-й день ($p<0,02$), але цей рівень залишався вищим за значення в інтактних щурів ($1,2 \pm 0,03$ мкмоль/г, $p=0,05$). Порівняння між групами на 7-й день показало значущі розбіжності між групами, що отримували ЕСцП, кордарон і контрольними щурами ($p<0,003$ для ЕСцП і $p=0,001$ для кордарону).

На 14-й день спостерігалось подальше зниження рівня АДФ в усіх групах, які отримували лікування. У групі щурів з АМД, яким вводили ЕСцП, рівень АДФ становив $1,3 \pm 0,05$ мкмоль/г, що на 17,9% нижче порівняно з 2-м днем ($p=0,02$). У щурів з АМД, які отримували кордарон, рівень АДФ знизився до $1,4 \pm 0,04$ мкмоль/г, що на 10,6% менше порівняно з 7-м днем ($p=0,3$). У контрольній групі рівень АДФ був $1,4 \pm 0,08$ мкмоль/г, що на 32,2% менше порівняно з рівнем на 2-й день ($p=0,01$), але все ж залишався вищим, ніж у інтактних щурів ($1,1 \pm 0,08$ мкмоль/г).

Вивчення впливу ЕСцП на **рівень АМФ у тканинах серця** щурів на моделі АМД показало суттєві зміни цього показника залежно від виду лікування та терміну дослідження (табл. 7.15).

На 2-й день рівень АМФ у щурів контрольної групи значно зростав, досягнувши $1,2 \pm 0,05$ мкмоль/г, що на 128,5% перевищувало значення цього показника в інтактних щурах ($p<0,001$). У групі щурів з АМД, яким вводили ЕСцП, рівень АМФ становив $1,0 \pm 0,08$ мкмоль/г, що на 17,7% менше порівняно з контрольними щурами ($p=0,05$). У групі щурів, яким вводили кордарон, рівень АМФ був $0,9 \pm 0,11$ мкмоль/г, що на 28,2% менше, ніж у контрольній групі ($p=0,02$).

Таблиця 7.15

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на рівень аденозинмонофосфорної кислоти (АМФ) у тканинах серця щурів на моделі адреналінової міокардіодистрофії, мкмоль/г сухої тканини ($M \pm m$, 95% ДІ, $n=84$)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕСцП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	p_{2-1}	p_{3-2}	p_{4-2}	p_{4-3}
2 день	$0,5 \pm 0,001$ (95% ДІ: 0,52–0,54)	$1,2 \pm 0,05$ (95% ДІ: 1,1–1,3)	$1,0 \pm 0,08$ (95% ДІ: 0,8–1,2)	$0,9 \pm 0,11$ (95% ДІ: 0,7–1,1)	$<0,001$ [128,5%]	0,05 [17,7%]	0,02 [28,2%]	0,4 [12,9%]
7 день	$0,5 \pm 0,01$ (95% ДІ: 0,49–0,53) $p_{д2} = 0,05$ [-4,3%] ^{д2}	$1,0 \pm 0,06$ (95% ДІ: 0,9–1,1) $p_{д2} = 0,03$ [-17,6%] ^{д2}	$0,6 \pm 0,09$ (95% ДІ: 0,4–0,8) $p_{д2} = 0,009$ [-38,6%] ^{д2}	$0,7 \pm 0,12$ (95% ДІ: 0,4–0,9) $p_{д2} = 0,1$ [-23,0%] ^{д2}	$<0,001$ [96,6%]	0,004 [38,6%]	0,03 [32,9%]	0,7 [9,3%]
14 день	$0,5 \pm 0,01$ (95% ДІ: 0,47–0,52) $p_{д2} = 0,01$ [-7,3%] ^{д2} $p_{д7} = 0,2$ [-3,9%] ^{д7}	$0,6 \pm 0,06$ (95% ДІ: 0,5–0,7) $p_{д2} = 0,01$ [-49,4%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [-38,6%] ^{д7}	$0,5 \pm 0,07$ (95% ДІ: 0,4–0,7) $p_{д2} = 0,01$ [-45,7%] ^{д2} $p_{д7} = 0,2$ [-11,6%] ^{д7}	$0,5 \pm 0,03$ (95% ДІ: 0,6–0,6) $p_{д2} = 0,01$ [-41,0%] ^{д2} $p_{д7} = 0,2$ [-23,4%] ^{д7}	0,05 [24,6%]	0,4 [11,6%]	0,05 [16,3%]	0,7 [5,3%]

Примітки:

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексми 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
4. Індексми $д2$, $д7$ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено порівняння в динаміці.

На 7-й день дослідження в групі інтактних щурів рівень АМФ залишався стабільним і складав $0,5 \pm 0,01$ мкмоль/г. У щурів з АМД, яким не проводилося лікування, рівень АМФ знизився до $1,0 \pm 0,06$ мкмоль/г, однак він все ще був значно вищим, ніж у інтактних щурів, що становило 96,6% перевищення ($p < 0,001$). У групі щурів з АМД, яким вводили ЕСцП, рівень АМФ знизився до $0,6 \pm 0,09$ мкмоль/г, що на 38,6% менше порівняно з контрольною групою

($p=0,009$). У групі щурів, яким вводили кордарон, рівень АМФ склав $0,7\pm 0,12$ мкмоль/г, що на 32,9% менше в порівнянні з групою без лікування ($p=0,03$).

На 14-й день рівень АМФ у інтактних щурів залишався на рівні $0,5\pm 0,01$ мкмоль/г. У контрольній групі щурів з АМД рівень АМФ знизився до $0,6\pm 0,06$ мкмоль/г, що на 49,4% менше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) та на 38,6% менше порівняно з 7-м днем ($p=0,01$). У групі щурів з АМД, яким вводили ЕСцП, рівень АМФ зріс до $0,5\pm 0,07$ мкмоль/г, що на 45,7% менше порівняно з початковим рівнем ($p=0,01$), однак порівняно з 7-м днем різниця була вже не статистично значущою ($p=0,2$). У групі щурів, які отримували кордарон, рівень АМФ був $0,5\pm 0,03$ мкмоль/г, що на 41,0% менше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$), хоча на 7-й день різниця вже не була статистично значущою ($p=0,2$).

Оцінка **рівня енергетичного заряду (ЕЗ)** у тканинах серця щурів з АМД показала значні зміни в залежності від строків дослідження та застосованого лікування. На 2-й день рівень енергетичного заряду (ЕЗ) у контрольній групі щурів, що не отримували лікування (АМД без лікування), знижувався до $0,50\pm 0,01$, що на 37,4% менше порівняно з інтактними щурами ($p<0,001$). У групі щурів з АМД, яким вводили ЕСцП, рівень ЕЗ був $0,56\pm 0,01$, що на 11,7% перевищувало значення контрольної групи ($p<0,004$). У групі щурів, яким вводили кордарон, рівень ЕЗ складав $0,60\pm 0,01$, що на 19,9% більше в порівнянні з групою без лікування ($p=0,001$). Це вказує на певну корекцію ЕЗ при лікуванні ЕСцП і кордароном, хоча кордарон дав менший ефект (табл. 7.16).

На 7-й день дослідження рівень ЕЗ в інтактних щурів залишався стабільним і складав $0,78\pm 0,04$. У щурів з АМД без лікування цей показник знизився до $0,58\pm 0,01$, що на 16,1% більше порівняно з початковим рівнем ($p=0,009$). У групі щурів, яким вводили ЕСцП, рівень ЕЗ складав $0,70\pm 0,02$, що на 20,6% більше, ніж у контрольній групі ($p<0,001$). У групі щурів, яким вводили кордарон, рівень ЕЗ був $0,68\pm 0,02$, що на 17,3% більше, ніж у групі без лікування ($p<0,001$). Ці дані свідчать про позитивний вплив ЕСцП на рівень ЕЗ, зокрема більш виражений ефект спостерігався у порівнянні з кордароном.

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на рівень енергетичного заряду (ЕЗ) за David E. Atkinson у тканинах серця щурів на моделі адреналінової міокардіодистрофії ($M \pm m$, 95% ДІ, $n=84$)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕСцП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	p_{2-1}	p_{3-2}	p_{4-2}	p_{4-3}
2 день	$0,80 \pm 0,02$ (95% ДІ: 0,79–0,80)	$0,50 \pm 0,01$ (95% ДІ: 0,48–0,52)	$0,56 \pm 0,01$ (95% ДІ: 0,54–0,58)	$0,60 \pm 0,01$ (95% ДІ: 0,57–0,63)	$<0,001$ [37,4%]	0,004 [11,7%]	$<0,001$ [19,9%]	0,04 [7,4%]
7 день	$0,78 \pm 0,04$ (95% ДІ: 0,78–0,79) $p_{д2} = 0,009$ [-2,0%] ^{д2}	$0,58 \pm 0,01$ (95% ДІ: 0,56–0,60) $p_{д2} = 0,009$ [16,1%] ^{д2}	$0,70 \pm 0,02$ (95% ДІ: 0,67–0,73) $p_{д2} = 0,009$ [25,3%] ^{д2}	$0,68 \pm 0,02$ (95% ДІ: 0,65–0,70) $p_{д2} = 0,03$ [13,6%] ^{д2}	$<0,001$ [25,9%]	$<0,001$ [20,6%]	$<0,001$ [17,3%]	0,4 [3,5%]
14 день	$0,81 \pm 0,01$ (95% ДІ: 0,80–0,82) $p_{д2} = 0,06$ [1,35%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [3,41%] ^{д7}	$0,73 \pm 0,01$ (95% ДІ: 0,71–0,76) $p_{д2} = 0,01$ [46,7%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [26,3%] ^{д7}	$0,77 \pm 0,01$ (95% ДІ: 0,74–0,79) $p_{д2} = 0,01$ [37,7%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [9,9%] ^{д7}	$0,75 \pm 0,01$ (95% ДІ: 0,74–0,76) $p_{д2} = 0,01$ [25,2%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [10,2%] ^{д7}	0,001 [9,5%]	0,049 [4,9%]	0,001 [2,3%]	0,1 [2,4%]

Примітки:

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексми 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
4. Індексми д2, д7 вказано строки дослідження, з показниками яких проведено порівняння в динаміці.

На 14-й день рівень АЕЗ в інтактних щурах залишався на рівні $0,81 \pm 0,01$. У контрольній групі щурів з АМД рівень ЕЗ зростав до $0,73 \pm 0,01$, що на 46,7% більше порівняно з початковим рівнем ($p=0,01$), та на 26,3% більше порівняно з 7-м днем ($p=0,01$). У групі щурів, яким вводили ЕСцП, рівень ЕЗ зростав до $0,77 \pm 0,01$, що на 37,7% більше, ніж на 2-й день ($p=0,01$), і на 9,9% більше порівняно з 7-м днем ($p=0,01$). У групі щурів, яким вводили кордарон, рівень ЕЗ був $0,75 \pm 0,01$, що на 25,2% більше, ніж на 2-й день ($p=0,01$), і на 10,2% більше

порівняно з 7-м днем ($p=0,01$). Хоча в цій групі спостерігалось менш значне підвищення рівня ЕЗ порівняно з групою, що отримувала ЕСцП, ці дані все ж свідчать про деяке покращення цього показника (табл. 7.16).

Таким чином, ЕСцП ефективно сприяв відновленню рівня АТФ у тканинах серця щурів при адреналіновій міокардіодистрофії – на 14-й день експерименту рівень АТФ у групі ЕСцП досяг $3,3 \pm 0,07$ мкмоль/г сухої тканини, що на 13,8% менше від рівня інтактних тварин ($3,8 \pm 0,06$ мкмоль/г; $p < 0,001$) і на 13,8% вищий за контрольну групу ($2,9 \pm 0,07$ мкмоль/г; $p < 0,001$).

ЕСцП забезпечував вірогідне покращення ЕЗ міокардіоцитів – на 14-й день дослідження рівень ЕЗ у групі ЕСцП становив $0,77 \pm 0,01$, що було на 5,5% нижче, ніж у інтактних щурів ($0,81 \pm 0,01$; $p = 0,001$), але на 5,5% вище у порівнянні з контрольною групою ($0,73 \pm 0,01$; $p = 0,049$).

Введення ЕСцП сприяло нормалізації пулу аденілових нуклеотидів, знижуючи надлишкові рівні АДФ і АМФ. Зокрема, рівень АМФ на 7-й день у групі ЕСцП склав $0,6 \pm 0,09$ мкмоль/г, що на 38,6% нижче, ніж у контрольній групі без лікування ($1,0 \pm 0,06$ мкмоль/г; $p = 0,004$), а рівень АДФ становив $1,5 \pm 0,04$ мкмоль/г, що на 19,5% менше за контроль ($p = 0,003$).

7.3.3. Метаболічні порушення у міокарді при адреналіновому ушкодженні та вплив кріоекстракту серця на лактатно-піруватний обмін

Дослідження, проведене в рамках цієї роботи, показало значну різницю в **рівнях лактатдегідрогенази (ЛДГ)** у різних групах щурів на різні дні експерименту. На 2-й день дослідження рівень ЛДГ у контрольній групі досяг значення $9,0 [8,3; 9,3]$ мккат/л, що було суттєво вищим порівняно з групою інтактних щурів, де цей показник становив $4,3 [4,2; 4,6]$ мккат/л ($p = 0,001$; 109,3% відмінність). Така велика різниця в рівнях ЛДГ свідчить про виражене підвищення цього показника в умовах експериментальної моделі гострої міокардіальної дисфункції (АМД). Водночас у групі щурів, яким вводили ЕСцП, рівень ЛДГ становив $7,0 [6,0; 9,0]$ мккат/л, що було на 22,2% менше порівняно з контрольною групою ($p = 0,04$). Однак цей показник все ще був значно вищим за рівень ЛДГ у інтактних щурів, що підтверджує часткову

ефективність препарату в контексті зниження рівня ферменту, але не повну нормалізацію його концентрації. У групі щурів, яким вводили кордарон, рівень ЛДГ був на рівні 8,0 [7,0; 8,0] мккат/л, що на 14,3% нижче порівняно з контрольною групою, однак різниця була статистично незначущою ($p=0,4$), що може свідчити про менш виражений ефект цього препарату на рівень ЛДГ (табл. 7.17).

Таблиця 7.17

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на рівень лактатдегідрогенази (ЛДГ) у тканинах серця щурів на моделі адреналінової міокардіодистрофії, мккат/л (Me [LQ; UQ], n=84)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕСЦП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	p ₂₋₁	p ₃₋₂	p ₄₋₂	p ₄₋₃
2 день	4,3 [4,2; 4,6]	9,0 [8,3; 9,3]	7,0 [6,0; 9,0]	8,0 [7,0; 8,0]	0,001 [109,3%]	0,04 [22,2%]	0,002 [11,1%]	0,4 [14,3%]
7 день	4,3 [4,0; 4,7] p _{д2} = 0,4 [-] ^{д2}	7,0 [7,0; 7,5] p _{д2} = 0,009 [-22,2%] ^{д2}	5,0 [5,0; 5,0] p _{д2} = 0,009 [-28,6%] ^{д2}	5,0 [5,0; 6,5] p _{д2} = 0,06 [-37,5%] ^{д2}	0,001 [62,8%]	0,001 [28,6%]	0,03 [28,6%]	0,2 [-]
14 день	4,0 [4,0; 5,0] p _{д2} = 0,5 [-7,0%] ^{д2} p _{д7} = 0,3 [-7,0%] ^{д7}	5,0 [4,8; 5,3] p _{д2} = 0,01 [-44,4%] ^{д2} p _{д7} = 0,01 [-28,6%] ^{д7}	4,5 [4,2; 5,0] p _{д2} = 0,01 [-35,7%] ^{д2} p _{д7} = 0,07 [-10,0%] ^{д7}	4,5 [3,5; 4,8] p _{д2} = 0,01 [-43,7%] ^{д2} p _{д7} = 0,02 [-10,0%] ^{д7}	0,09 [25,0%]	0,048 [10,0%]	0,02 [10,0%]	0,2 [-]

Примітка:

1. p₂₋₁ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексми 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
4. Індексми д₂, д₇ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено порівняння в динаміці.

На 7-й день дослідження рівень ЛДГ у контрольній групі щурів, які не отримували лікування, знизився до 7,0 [7,0; 7,5] мккат/л, що на 22,2% менше порівняно з початковим рівнем ($p=0,009$). Це зниження рівня ЛДГ в контрольній групі свідчить про певний природний процес відновлення після розвитку АМД, однак показник залишався вищим за норму. У групі щурів, яким вводили ЕСцП, рівень ЛДГ знизився до 5,0 [5,0; 5,0] мккат/л, що на 28,6% менше, ніж у контрольній групі ($p=0,009$). Це свідчить про виражений коригувальний ефект ЕСцП, який значно сприяв нормалізації рівня ЛДГ. У групі щурів, яким вводили кордарон, рівень ЛДГ становив 5,0 [5,0; 6,5] мккат/л, що на 28,6% менше порівняно з групою без лікування ($p=0,03$), хоча зміни були менш вираженими порівняно з групою ЕСцП. Ці результати свідчать про певну активність кордарону і його ефективність виявляється зіставляною у порівнянні з досліджуваним препаратом.

На 14-й день у контрольній групі щурів, які не отримували лікування, рівень ЛДГ зменшився до 5,0 [4,8; 5,3] мккат/л, що на 44,4% нижче порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) і на 28,6% менше порівняно з 7-м днем ($p=0,01$). Це свідчить про деяке зниження рівня ЛДГ на фоні природних процесів відновлення, однак рівень залишався вище за норму, що вказує на неповну нормалізацію функцій організму. У групі щурів, яким вводили ЕСцП, рівень ЛДГ становив 4,5 [4,2; 5,0] мккат/л, що на 35,7% менше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) і на 10,0% менше порівняно з 7-м днем ($p=0,07$), це вказує на поступову стабілізацію цього показника внаслідок лікування. У групі щурів, яким вводили кордарон, рівень ЛДГ знизився до 4,5 [3,5; 4,8] мккат/л, що на 43,7% менше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$), однак зміни на 7-й день були не настільки вираженими ($p=0,02$), що вказує на менш ефективний вплив кордарону на нормалізацію рівня цього ферменту (табл. 7.17).

У щурів з АМД встановлено значне підвищення **рівня лактату в тканинах серця** вже на другий день після введення адреналіну: у контрольній групі він зростав у порівнянні з інтактними тваринами майже втричі. Такий різкий стрибок свідчить про виражене порушення аеробного метаболізму

внаслідок гіпоксії міокарда, що типово для ушкоджень, індукованих катехоламінами (табл. 7.18).

Таблиця 7.18

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на рівень лактату у тканинах серця щурів на моделі адреналінової міокардіодистрофії, мкмоль/г ($M \pm m$, 95% ДІ, $n=84$)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕСцП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	p_{2-1}	p_{3-2}	p_{4-2}	p_{4-3}
2 день	$2,7 \pm 0,09$ (95% ДІ: 2,5–2,8)	$7,9 \pm 0,17$ (95% ДІ: 7,5–8,2)	$6,4 \pm 0,08$ (95% ДІ: 6,2–6,5)	$5,8 \pm 0,10$ (95% ДІ: 5,6–6,0)	$<0,001$ [196,2%]	$<0,001$ [18,9%]	$<0,001$ [26,9%]	$<0,001$ [9,8%]
7 день	$2,5 \pm 0,07$ (95% ДІ: 2,4–2,7) $p_{д2} = 0,1$ [-5,4%] ^{д2}	$6,1 \pm 0,11$ (95% ДІ: 5,9–6,3) $p_{д2} = 0,009$ [-22,9%] ^{д2}	$4,9 \pm 0,14$ (95% ДІ: 4,6–5,2) $p_{д2} = 0,009$ [-23,7%] ^{д2}	$5,1 \pm 0,04$ (95% ДІ: 5,0–5,2) $p_{д2} = 0,009$ [-11,4%] ^{д2}	$<0,001$ [141,5%]	$<0,001$ [19,8%]	$<0,001$ [16,0%]	0,2 [4,7%]
14 день	$2,5 \pm 0,10$ (95% ДІ: 2,3–2,7) $p_{д2} = 0,04$ [-5,9%] ^{д2} $p_{д7} = 0,5$ [-0,6%] ^{д7}	$3,3 \pm 0,08$ (95% ДІ: 3,2–3,5) $p_{д2} = 0,01$ [-57,7%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [-45,2%] ^{д7}	$2,9 \pm 0,20$ (95% ДІ: 2,5–3,3) $p_{д2} = 0,01$ [-55,0%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [-41,1%] ^{д7}	$2,7 \pm 0,16$ (95% ДІ: 2,4–3,0) $p_{д2} = 0,01$ [-52,6%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [-46,5%] ^{д7}	$<0,001$ [33,1%]	0,05 [13,7%]	$<0,001$ [18,0%]	0,6 [5,0%]

Примітки:

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
4. Індексами $д2$, $д7$ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено порівняння в динаміці.

Застосування ЕСцП позитивно впливало на нормалізацію рівня лактату вже на ранніх етапах. На другий день лікування його концентрація в групі ЕСцП становила 6,4 мкмоль/г, що на 18,9% нижче за контроль, і свідчить про часткове відновлення аеробного обміну. До сьомого дня рівень лактату знижувався до 4,9 мкмоль/г, що на 23,7% менше, ніж у групі без лікування, і

наближався до показників фізіологічної норми. Це свідчить про поступове зменшення гіпоксичного стресу в кардіоміоцитах і відновлення функціонального стану енергетичних систем клітин. До 14-го дня вміст лактату в групі ЕСцП складав 2,9 мкмоль/г, що лише на 7,4% перевищувало нормальні значення, і був достовірно нижчим, ніж у контрольній групі, де залишався підвищеним до 3,3 мкмоль/г.

Порівняння з групою, яка отримувала кордарон (10 мг/кг), демонструє, що екстракт мав подібну ефективність у зниженні рівня лактату, особливо на 7-й та 14-й день. Водночас у групі Кордарону спостерігали дещо меншу динаміку покращення, що, ймовірно, пов'язано з відмінностями у механізмах дії препаратів. ЕСцП, на відміну від кордарону, може впливати не лише на електрофізіологічні властивості міокарда, а й активувати процеси регенерації та відновлення клітинного метаболізму. Це робить екстракт перспективним для подальших досліджень у лікуванні міокардіальних ушкоджень, пов'язаних із ішемією та гіпоксією.

Оцінка впливу ЕСцП на **рівень пірувату** в тканинах серця щурів на моделі АМД показала, що на 2-й день рівень пірувату в контрольній групі (щери з АМД без лікування) був значно знижений до $0,07 \pm 0,01$ мкмоль/г (95% ДІ: 0,05–0,09), що є на 77,3% менше, ніж у групі інтактних щурів, де цей показник становив $0,30 \pm 0,01$ мкмоль/г ($p < 0,001$). У групі щурів, яким вводили ЕСцП, рівень пірувату був $0,10 \pm 0,08$ мкмоль/г (95% ДІ: 0,08–0,11), що на 41,7% більше порівняно з контрольною групою ($p = 0,05$). У групі щурів, яким вводили кордарон, рівень пірувату становив $0,11 \pm 0,004$ мкмоль/г (95% ДІ: 0,10–0,11), що на 54,2% більше порівняно з контролем ($p = 0,007$), але не було значних відмінностей порівняно з групою ЕСцП.

На 7-й день рівень пірувату в контрольній групі залишався низьким і складав $0,10 \pm 0,006$ мкмоль/г (95% ДІ: 0,09–0,11), що на 45,8% більше порівняно з 2-м днем ($p = 0,009$). У групі щурів, яким вводили ЕСцП, рівень пірувату зріс до $0,18 \pm 0,012$ мкмоль/г (95% ДІ: 0,15–0,20), що на 77,1% більше порівняно з контрольними щурами ($p < 0,001$). У групі щурів, яким вводили кордарон, рівень пірувату становив $0,16 \pm 0,009$ мкмоль/г (95% ДІ: 0,14–0,17), що на 55,7% більше

порівняно з контролем ($p < 0,001$), але менш значне зростання порівняно з групою ЕСцП (табл. 7.19).

Таблиця 7.19

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на рівень пірувату у тканинах серця щурів на моделі адреналінової міокардіодистрофії, мкмоль/г ($M \pm m$, 95% ДІ, $n=84$)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕСцП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	p_{2-1}	p_{3-2}	p_{4-2}	p_{4-3}
2 день	$0,30 \pm 0,01$ (95% ДІ: 0,28–0,32)	$0,07 \pm 0,01$ (95% ДІ: 0,05–0,09)	$0,10 \pm 0,08$ (95% ДІ: 0,08–0,11)	$0,11 \pm 0,004$ (95% ДІ: 0,10–0,11)	$<0,001$ [77,3%]	0,05 [41,7%]	0,007 [54,2%]	0,4 [8,8%]
7 день	$0,29 \pm 0,008$ (95% ДІ: 0,27–0,31) $p_{д2} = 0,1$ [-3,8%] ^{д2}	$0,10 \pm 0,006$ (95% ДІ: 0,09–0,11) $p_{д2} = 0,009$ [45,8%] ^{д2}	$0,18 \pm 0,012$ (95% ДІ: 0,15–0,20) $p_{д2} = 0,009$ [82,4%] ^{д2}	$0,16 \pm 0,009$ (95% ДІ: 0,14–0,17) $p_{д2} = 0,009$ [47,3%] ^{д2}	$<0,001$ [65,5%]	$<0,001$ [77,1%]	$<0,001$ [55,7%]	0,2 [12,1%]
14 день	$0,29 \pm 0,015$ (95% ДІ: 0,26–0,31) $p_{д2} = 0,3$ [-5,2%] ^{д2} $p_{д7} = 0,3$ [-1,5%] ^{д7}	$0,16 \pm 0,08$ (95% ДІ: 0,15–0,18) $p_{д2} = 0,01$ [135,4%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [61,4%] ^{д7}	$0,28 \pm 0,014$ (95% ДІ: 0,25–0,31) $p_{д2} = 0,01$ [186,7%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [57,3%] ^{д7}	$0,24 \pm 0,05$ (95% ДІ: 0,23–0,25) $p_{д2} = 0,01$ [128,4%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [55,1%] ^{д7}	$<0,001$ [43,5%]	$<0,001$ [72,6%]	$<0,001$ [49,6%]	0,03 [13,3%]

Примітки:

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексом $_1, _2, _3$ вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
4. Індексом $_{д2}, _{д7}$ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено порівняння в динаміці.

На 14-й день рівень пірувату в контрольній групі залишався на рівні $0,16 \pm 0,08$ мкмоль/г (95% ДІ: 0,15–0,18), що на 135,4% більше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) і на 61,4% більше порівняно з 7-м днем ($p=0,01$). У групі щурів, яким вводили ЕСцП, рівень пірувату був $0,28 \pm 0,014$ мкмоль/г (95% ДІ: 0,25–0,31), що на 186,7% більше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) і на 57,3% більше

порівняно з 7-м днем ($p=0,01$). У групі щурів, яким вводили кордарон, рівень пірувату становив $0,24 \pm 0,05$ мкмоль/г (95% ДІ: 0,23–0,25), що на 128,4% більше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) і на 55,1% більше порівняно з 7-м днем ($p=0,01$). Це свідчить про стійке підвищення рівня пірувату в тканинах серця щурів на 14-й день, особливо в групах, що отримували ЕСцП.

Результати дослідження свідчать про суттєвий вплив ЕСцП на нормалізацію **співвідношення «лактат/піруват»** у тканинах серця щурів із моделлю АМД, що відображає зміну аеробного та анаеробного обміну в кардіоміоцитах.

У контрольній групі щурів з АМД без лікування вже на 2-й день показник співвідношення «лактат/піруват» зріс майже в 10 разів порівняно з інтактними тваринами: 97,5 [87,8; 185,0] проти 9,3 [8,1; 9,5] ($p=0,001$), що вказує на глибоке зрушення метаболізму в бік анаеробного гліколізу. У групі тварин, які отримували екстракт, це співвідношення було достовірно нижчим – 70,0 [56,8; 78,4], що на 28,2% менше за контрольну групу ($p=0,008$), тоді як у групі з кордароном воно становило 56,0 [51,6; 57,2] – на 42,6% нижче за контроль ($p=0,001$).

На 7-й день показники продовжили змінюватися: у контрольній групі значення знизилось до 61,1 [53,6; 69,4], що на 37,3% менше порівняно з 2-м днем ($p=0,009$), але все ще залишалось істотно вищим за норму ($p=0,001$ у порівнянні з інтактними тваринами). У групі з ЕСцП співвідношення становило 27,2 [23,8; 31,8], що на 55,5% менше, ніж у контрольній ($p=0,001$). У групі з кордароном – 34,7 [30,1; 37,1], що також свідчить про значне покращення порівняно з нелікованою групою ($p=0,001$).

На 14-й день у тварин контрольної групи співвідношення зменшилося до 21,3 [18,4; 23,1], однак залишалось в 2,5 рази вищим за значення інтактної групи ($p=0,001$). У щурів, які отримували екстракт, показник «лактат/піруват» ще більше наближався до норми – 11,1 [8,5; 12,2], що свідчить про виражене відновлення аеробного метаболізму. У групі з кордароном показник становив

11,9 [10,6; 12,1], що також наближався до нормальних значень. Порівняння між двома терапевтичними групами (ЕСцП і кордарон) на цьому етапі не виявило статистично значущої різниці ($p=0,2$), що свідчить про подібну ефективність обох підходів у контексті впливу на цей метаболічний показник (табл. 7.20).

Таблиця 7.20

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на співвідношення «лактат/піруват» в тканинах серця щурів на моделі адреналінової міокардіодистрофії (Me [LQ; UQ], $n=84$)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕСцП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	p_{2-1}	p_{3-2}	p_{4-2}	p_{4-3}
2 день	9,3 [8,1; 9,5]	97,5 [87,8; 185,0]	70,0 [56,8; 78,4]	56,0 [51,6; 57,2]	0,001 [944,6%]	0,008 [28,2%]	0,001 [42,6%]	0,06 [20,0%]
7 день	8,3 [8,3; 8,3] $p_{д2} = 0,2$ [-10,7%] ^{д2}	61,1 [53,6; 69,4] $p_{д2} = 0,009$ [-37,3%] ^{д2}	27,2 [23,8; 31,8] $p_{д2} = 0,009$ [-61,1%] ^{д2}	34,7 [30,1; 37,1] $p_{д2} = 0,009$ [-38,1%] ^{д2}	0,001 [633,3%]	0,001 [55,5%]	0,001 [43,3%]	0,06 [27,3%]
14 день	8,6 [8,2; 9,8] $p_{д2} = 0,4$ [-7,64%] ^{д2} $p_{д7} = 0,4$ [3,5%] ^{д7}	21,3 [18,4; 23,1] $p_{д2} = 0,01$ [-78,1%] ^{д2} $p_{д7} = 0,009$ [-65,1%] ^{д7}	11,1 [8,5; 12,2] $p_{д2} = 0,01$ [-84,2%] ^{д2} $p_{д7} = 0,009$ [-59,3%] ^{д7}	11,9 [10,6; 12,1] $p_{д2} = 0,01$ [-78,7%] ^{д2} $p_{д7} = 0,009$ [-65,6%] ^{д7}	0,001 [147,5%]	0,001 [48,1%]	0,001 [44,1%]	0,2 [7,7%]

Примітки:

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
4. Індексами $д2$, $д7$ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено порівняння в динаміці.

Таким чином, адреналінове ушкодження міокарда супроводжується активацією анаеробного гліколізу, що проявляється підвищенням рівня лактату (до $7,9 \pm 0,17$ мкмоль/г), зниженням концентрації пірувату (до $0,07 \pm 0,01$ мкмоль/г) та зростанням співвідношення лактат/піруват майже в 10 разів (до

97,5 [87,8; 185,0]; $p=0,001$), а також дворазовим збільшенням активності лактатдегідрогенази (до 9,0 [8,3; 9,3] мккат/л; $p=0,001$), що є маркерами вираженої гіпоксії, оксидативного стресу та ушкодження кардіоміоцитів.

Екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят демонструє метаболічно-коригуючий ефект, достовірно знижуючи активність лактатдегідрогенази на 28,6% вже на 7-й день (5,0 [5,0; 5,0] мккат/л; $p=0,009$), рівень лактату на 12,1% до 14-го дня ($2,9\pm0,20$ мкмоль/г; $p=0,05$), та підвищуючи рівень пірувату з 2-ї доби (до $0,10\pm0,08$ мкмоль/г; $p=0,05$), що свідчить про активацію окисного метаболізму і зниження гіпоксичного навантаження.

За всіма ключовими показниками лактатно-піруватного обміну екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят перевищує або не поступається ефективністю референсному препарату «кордарон», що підтверджує його перспективність як нового кардіометаболічного засобу для корекції катехоламін-індукованого ушкодження міокарда.

7.3.4. Кріоекстракт серця як модулятор глікогенолізу в умовах експериментальної міокардіодистрофії

Біохімічні дослідження показали, що на 2-й день експерименту **рівень глікогену** в тканинах серця щурів контрольної групи [80], яка не отримувала лікування, був знижений до $2,1\pm0,28$ мг/г (95% ДІ: 1,5–2,7), що на 79,3% менше порівняно з інтактними щурами ($10,1\pm0,26$ мг/г, $p<0,001$). У групі щурів, яким вводили ЕСцП, рівень глікогену був $3,1\pm0,14$ мг/г (95% ДІ: 2,8–3,4), що на 48,3% більше, ніж у контрольних щурів ($p=0,007$). У групі з кордароном рівень глікогену становив $4,2\pm0,06$ мг/г (95% ДІ: 4,1–4,3), що на 99,3% більше порівняно з контролем ($p<0,001$), але був меншим, ніж у групі ЕСцП.

На 7-й день рівень глікогену в контрольній групі збільшився до $4,2\pm0,19$ мг/г (95% ДІ: 3,8–4,6), що на 100,7% більше порівняно з 2-м днем ($p=0,009$). У групі, яка отримувала ЕСцП, рівень глікогену становив $5,0\pm0,22$ мг/г (95% ДІ: 4,5–5,4), що на 17,6% більше порівняно з контролем ($p=0,03$), а у групі з

кордароном рівень глікогену був $7,0 \pm 0,49$ мг/г (95% ДІ: 6,0–7,9), що на 65,8% більше порівняно з контрольними щурами ($p < 0,001$) (табл. 7.21).

Таблиця 7.21

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на рівень глікогену в тканинах серця щурів на моделі адреналінової міокардіодистрофії, мг/г ($M \pm m$, 95% ДІ, $n=84$)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕСцП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	p_{2-1}	p_{3-2}	p_{4-2}	p_{4-3}
2 день	$10,1 \pm 0,26$ (95% ДІ: 9,6–10,7)	$2,1 \pm 0,28$ (95% ДІ: 1,5–2,7)	$3,1 \pm 0,14$ (95% ДІ: 2,8–3,4)	$4,2 \pm 0,06$ (95% ДІ: 4,1–4,3)	$<0,001$ [79,3%]	0,007 [48,3%]	$<0,001$ [99,3%]	$<0,001$ [34,4%]
7 день	$9,3 \pm 0,28$ (95% ДІ: 8,8–9,9) $p_{д2} = 0,06$ [–8,2%] ^{д2}	$4,2 \pm 0,19$ (95% ДІ: 3,8–4,6) $p_{д2} = 0,009$ [100,7%] ^{д2}	$5,0 \pm 0,22$ (95% ДІ: 4,5–5,4) $p_{д2} = 0,009$ [59,2%] ^{д2}	$7,0 \pm 0,49$ (95% ДІ: 6,0–7,9) $p_{д2} = 0,009$ [66,9%] ^{д2}	$<0,001$ [54,8%]	0,03 [17,6%]	$<0,001$ [65,8%]	$<0,003$ [40,9%]
14 день	$10,1 \pm 0,34$ (95% ДІ: 9,5–10,8) $p_{д2} = 0,5$ [–] ^{д2} $p_{д7} = 0,03$ [8,9%] ^{д7}	$6,2 \pm 0,37$ (95% ДІ: 5,4–6,9) $p_{д2} = 0,01$ [193,9%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [46,4%] ^{д7}	$8,0 \pm 0,30$ (95% ДІ: 7,4–8,6) $p_{д2} = 0,01$ [156,4%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [61,1%] ^{д7}	$9,0 \pm 0,31$ (95% ДІ: 8,4–9,6) $p_{д2} = 0,01$ [115,0%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [28,8%] ^{д7}	$<0,001$ [%]	0,003 [%]	$<0,001$ [%]	0,04 [%]

Примітки:

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
4. Індексами $д2$, $д7$ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено порівняння в динаміці.

На 14-й день рівень глікогену у щурів, яких не лікували (контрольна група), становив $6,2 \pm 0,37$ мг/г (95% ДІ: 5,4–6,9), що на 193,9% більше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) та на 46,4% більше порівняно з 7-м днем ($p=0,01$). У групі щурів, які отримували ЕСцП, рівень глікогену був $8,0 \pm 0,30$ мг/г (95% ДІ: 7,4–8,6), що на 156,4% більше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) та на

61,1% більше порівняно з 7-м днем ($p=0,01$). У групі з кордароном рівень глікогену становив $9,0 \pm 0,31$ мг/г (95% ДІ: 8,4–9,6), що на 115,0% більше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) та на 28,8% більше порівняно з 7-м днем ($p=0,01$)

Таким чином, введення екстракту ЕСцП сприяє значному підвищенню рівня глікогену в тканинах серця щурів на різних етапах експерименту. Ефект від введення ЕСцП є вираженим на всіх етапах дослідження і є майже порівнянним із результатами, досягнутими за допомогою кордарону (табл. 7.21).

Вивчення впливу ЕСцП на **рівень глюкозо-6-фосфату (Г-6-Ф)** у тканинах серця щурів на моделі АМД показало, що на 2-й день рівень Г-6-Ф у тканинах серця щурів контрольної групи, які не отримували лікування, становив $0,45$ [$0,36$; $0,47$] мкмоль/г, що на 43,0% менше порівняно з інтактними щурами ($0,79$ [$0,74$; $0,87$] мкмоль/г, $p=0,001$). У групі, що отримувала ЕСцП, рівень Г-6-Ф був $0,51$ [$0,51$; $0,54$] мкмоль/г, що на 13,3% більше порівняно з контрольною групою ($p=0,004$). У групі з кордароном рівень Г-6-Ф становив $0,52$ [$0,52$; $0,54$] мкмоль/г, що також на 15,6% більше порівняно з контрольними щурами ($p=0,001$).

На 7-й день рівень Г-6-Ф у контрольній групі зріс до $0,57$ [$0,53$; $0,80$] мкмоль/г, що на 26,7% більше порівняно з 2-м днем ($p=0,009$). У групі, яка отримувала ЕСцП, рівень Г-6-Ф досяг $0,64$ [$0,64$; $0,65$] мкмоль/г, що на 12,3% більше порівняно з контролем ($p=0,3$). У групі з кордароном рівень Г-6-Ф був $0,66$ [$0,63$; $0,70$] мкмоль/г, що на 15,8% більше порівняно з контрольними щурами ($p=0,3$).

На 14-й день рівень Г-6-Ф у контрольних щурів був $0,79$ [$0,77$; $0,86$] мкмоль/г, що на 75,6% більше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) та на 38,6% більше порівняно з 7-м днем ($p=0,05$). У групі щурів, які отримували ЕСцП, рівень Г-6-Ф становив $0,80$ [$0,79$; $0,81$] мкмоль/г, що на 56,9% більше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) та на 25,0% більше порівняно з 7-м днем ($p=0,01$). У групі з кордароном рівень Г-6-Ф був $0,82$ [$0,81$; $0,82$] мкмоль/г, що на 57,7% більше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) та на 24,2% більше порівняно з 7-м днем ($p=0,01$).

Таким чином, введення екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят сприяє підвищенню рівня глюкозо-6-фосфату в тканинах серця щурів

на всіх етапах дослідження, що свідчить про позитивний метаболічний ефект цього препарату на фонові зміни, спричинені адреналіновою міокардіодистрофією (табл. 7.22).

Таблиця 7.22

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на рівень глюкозо-6-фосфату (Г-6-Ф) у тканинах серця щурів на моделі адреналінової міокардіодистрофії, мкмоль/г (Me [LQ; UQ], n=84)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕСцП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	p ₂₋₁	p ₃₋₂	p ₄₋₂	p ₄₋₃
2 день	0,79 [0,74; 0,87]	0,45 [0,36; 0,47]	0,51 [0,51; 0,54]	0,52 [0,52; 0,54]	0,001 [43,0%]	0,004 [13,3%]	0,001 [15,6%]	0,2 [2,0%]
7 день	0,84 [0,76; 0,89] p _{д2} = 0,4 [6,3%] ^{д2}	0,57 [0,53; 0,80] p _{д2} = 0,009 [26,7%] ^{д2}	0,64 [0,64; 0,65] p _{д2} = 0,009 [25,5%] ^{д2}	0,66 [0,63; 0,70] p _{д2} = 0,009 [26,9%] ^{д2}	0,02 [32,1%]	0,3 [12,3%]	0,3 [15,8%]	0,3 [3,1%]
14 день	0,82 [0,81; 0,85] p _{д2} = 0,4 [3,8%] ^{д2} p _{д7} = 0,4 [-2,38%] ^{д7}	0,79 [0,77; 0,86] p _{д2} = 0,01 [75,6%] ^{д2} p _{д7} = 0,05 [38,6%] ^{д7}	0,80 [0,79; 0,81] p _{д2} = 0,01 [56,9%] ^{д2} p _{д7} = 0,01 [25,0%] ^{д7}	0,82 [0,81; 0,82] p _{д2} = 0,01 [57,7%] ^{д2} p _{д7} = 0,01 [24,2%] ^{д7}	0,2 [3,7%]	0,4 [1,3%]	0,4 [3,8%]	0,04 [2,5%]

Примітки:

1. p₂₋₁ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексом 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
4. Індексом д₂, д₇ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено порівняння в динаміці.

Таким чином, введення ЕСцП щурам з АМД забезпечило достовірне підвищення рівня глікогену в серцевій тканині вже на 2-й день – до 3,1±0,14 мг/г, що на 48,3% вище порівняно з контрольною групою (p=0,007), демонструючи ранній метаболічний ефект.

На 14-й день вміст глікогену у тварин, яким вводили ЕСцП, досягав $8,0 \pm 0,30$ мг/г, що становило приріст на 156,4% відносно 2-го дня ($p=0,01$) та на 61,1% – порівняно з 7-м днем ($p=0,01$), що підтверджує виражену динамічну ефективність ЕСцП у відновленні енергетичних резервів міокарда.

Застосування ЕСцП сприяло достовірному зростанню рівня Г-6-Ф у серці: на 2 день – на 13,3% порівняно з контрольною групою ($p=0,004$), а до 14 дня – до $0,80 [0,79; 0,81]$ мкмоль/г, що перевищувало значення другого дня на 56,9% ($p=0,01$) і свідчить про відновлення глюкозного метаболізму під впливом ЕСцП.

7.3.5. Оцінка кардіопротекторної активності кріоекстракту серця на моделі адреналінової міокардіодистрофії за показниками вільнорадикального окиснення

Проведене дослідження показало, що на тлі АМД **рівень ТБК-АП у тканинах серця** щурів значно підвищується, що свідчить про активний перебіг оксидативного стресу, характерного для цього захворювання. Окиснювальні процеси в серцевій тканині є одним із основних механізмів, що призводять до пошкодження клітин і розвитку міокардіодистрофії. Показники рівня ТБК-АП у щурів контрольної групи на 2-й день після моделювання АМД виявилися значно вищими порівняно з інтактними щурами, що вказує на виражене збільшення рівня оксидативного стресу, спричиненого розвитком АМД. Лікування за допомогою ЕСцП та кордарону зумовило зниження рівня ТБК-АП у порівнянні з контрольними щурами, хоча в обох випадках показники залишалися вищими за рівень інтактних щурів, що може свідчити про залишковий оксидативний стрес навіть за умови лікування.

У щурів з АМД, які отримували ЕСцП, рівень ТБК-АП на 2-й день знизився на 33,7%, що є значним зменшенням оксидативного стресу ($p<0,001$). Це свідчить про високу ефективність терапії за допомогою ЕСцП у зменшенні пошкодження серцевої тканини, спричиненого АМД. Порівняно з кордароном, який знизив рівень ТБК-АП на 30,3%, статистично значущих відмінностей між цими двома методами лікування на 2-й день не спостерігалось ($p=0,35$), що

вказує на схожу ефективність обох терапевтичних підходів на ранньому етапі. Це також може вказувати на те, що кордарон і ЕСцП мають подібний механізм дії щодо оксидативного стресу на ранніх етапах лікування АМД (табл. 7.23).

Таблиця 7.23

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на рівень реактантів з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-АП) у тканинах серця щурів на моделі адреналінової міокардіодистрофії, мкмоль/г тканини ($M \pm m$, 95% ДІ, $n=84$)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕСцП	АМД + Кордарон (10 мг/кг)	p ₂₋₁	p ₃₋₂	p ₄₋₂	p ₄₋₃
2 день	10,6±0,43 (95% ДІ: 9,7–11,4)	25,4±0,53 (95% ДІ: 24,4–26,5)	16,9±0,63 (95% ДІ: 15,6–18,1)	17,7±0,61 (95% ДІ: 16,5–18,9)	<0,001 [140,5%]	<0,001 [33,7%]	<0,001 [30,3%]	0,35 [5,1%]
7 день	10,9±0,70 (95% ДІ: 9,5–12,2) p _{д2} = 0,4 [+2,7%] ^{д2}	20,6±0,81 (95% ДІ: 19,0–22,2) p _{д2} = 0,009 [+19,1%] ^{д2}	15,9±0,51 (95% ДІ: 14,9–16,9) p _{д2} = 0,1 [-5,9%] ^{д2}	14,7±0,61 (95% ДІ: 13,5–15,9) p _{д2} = 0,014 [-16,9%] ^{д2}	<0,001 [89,5%]	<0,001 [22,9%]	<0,001 [28,5%]	0,17 [7,2%]
14 день	10,9±0,46 (95% ДІ: 10,0–11,8) p _{д2} = 0,34 [2,7%] ^{д2} p _{д7} = 0,45 [-] ^{д7}	16,6±0,65 (95% ДІ: 15,3–17,8) p _{д2} = 0,01 [34,8%] ^{д2} p _{д7} = 0,02 [19,4%] ^{д7}	14,1±1,03 (95% ДІ: 12,1–16,2) p _{д2} = 0,03 [16,1%] ^{д2} p _{д7} = 0,11 [10,8%] ^{д7}	11,9±1,06 (95% ДІ: 9,8–13,9) p _{д2} = 0,01 [33,1%] ^{д2} p _{д7} = 0,04 [19,4%] ^{д7}	<0,001 [52,6%]	0,07 [14,7%]	<0,001 [28,4%]	0,15 [16,2%]

Примітки:

1. p₂₋₁ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексми 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
4. Індексми д₂, д₇ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено порівняння в динаміці.

На 7-й день після моделювання у щурів контрольної групи рівень ТБК-АП знизився на 19,1%, але залишався значно вищим порівняно з показниками

на 2-й день ($p < 0,009$), що підтверджує наявність тривалого оксидативного стресу. У щурів з АМД, які отримували ЕСцП, рівень ТБК-АП знизився на 22,9%, що свідчить про певне відновлення, хоча цей ефект був менш вираженим порівняно з 2-м днем. Лікування кордароном на 7-й день продемонструвало найбільше зниження рівня ТБК-АП – на 28,5% ($p < 0,001$), що може свідчити про більш ефективне пригнічення оксидативного стресу кордароном у порівнянні з ЕСцП в цей період. Однак, варто зазначити, що статистичні відмінності між цими двома методами на 7-й день були незначними ($p = 0,17$), що вказує на схожу ефективність цих препаратів.

На 14-й день після моделювання спостерігалось подальше зниження рівня ТБК-АП у всіх групах, що вказує на тривале зменшення оксидативного стресу з часом. У щурів контрольної групи рівень ТБК-АП знизився на 34,8% порівняно з показниками на 2-й день, але залишався вищим за рівень інтактних щурів ($p < 0,01$), що демонструє неповне відновлення тканин серця після моделювання АМД. У щурів з АМД, які отримували лікування, рівень ТБК-АП продовжував знижуватися, при цьому найбільше зниження на 16,1% було зафіксовано у щурів, які отримували ЕСцП ($p < 0,03$). У щурів, які отримували кордарон, рівень ТБК-АП знизився на 28,4%, при цьому статистичні відмінності між цією групою та групою щурів, які отримували ЕСцП, були мінімальними ($p = 0,15$). Це вказує на схожу ефективність цих двох методів лікування на пізніших етапах дослідження, зокрема на 14-й день (табл. 7.23).

Показано, що **рівень МДА у сироватці крові** щурів на тлі АМД підвищується, що є показником розвитку оксидативного стресу. Порівняння результатів на 2-й день з інтактними щурами показало значне підвищення рівня МДА у щурів контрольної групи до 8,2 нмоль/мл, що на 82,5% більше порівняно з показниками інтактних щурів ($p = 0,001$). Лікування ЕСцП привело до зниження рівня МДА до 7,8 нмоль/мл, що на 11,0% менше порівняно з щурами контрольної групи, але статистично значущих змін не спостерігалось ($p = 0,3$). У групі щурів, що отримували кордарон, рівень МДА знизився до 7,3 нмоль/мл, що на 6,4% менше, ніж у контрольній групі, однак різниця також не була статистично значущою ($p = 0,4$) (табл. 7.24).

**Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на рівень
малонового діальдегіду (МДА) в сироватці крові щурів на моделі
адреналінової міокардіодистрофії, нмоль/мл (Me [LQ; UQ], n=84)**

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕСцП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	p ₂₋₁	p ₃₋₂	p ₄₋₂	p ₄₋₃
2 день	4,5 [4,2; 4,7]	8,2 [6,25; 9,05]	7,8 [5,3; 8,5]	7,3 [6,5; 7,9]	0,001 [82,5%]	0,2 [4,9%]	0,3 [11,0%]	0,4 [6,4%]
7 день	4,9 [4,4; 5,1] p _{д2} = 0,2 [+8,9] ^{д2}	6,9 [5,5; 8,0] p _{д2} = 0,2 [-15,9] ^{д2}	5,5 [5,0; 8,0] p _{д2} = 0,3 [-29,5%] ^{д2}	5,0 [4,0; 5,0] p _{д2} = 0,04 [-31,5%] ^{д2}	0,006 [40,8%]	0,3 [20,3%]	0,03 [27,5%]	0,06 [9,1%]
14 день	4,3 [4,0; 5,0] p _{д2} = 0,5 [-4,4%] ^{д2} p _{д7} = 0,1 [-12,2%] ^{д7}	4,9 [4,3; 5,0] p _{д2} = 0,01 [-40,2%] ^{д2} p _{д7} = 0,01 [-29,0%] ^{д7}	4,9 [4,5; 5,3] p _{д2} = 0,02 [-37,2%] ^{д2} p _{д7} = 0,03 [-10,9%] ^{д7}	4,5 [4,0; 5,0] p _{д2} = 0,01 [-38,4%] ^{д2} p _{д7} = 0,1 [-10,0%] ^{д7}	0,3 [14,0%]	0,3 [-]	0,3 [8,2%]	0,2 [8,2%]

Примітки:

1. p₂₋₁ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексми 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
4. Індексми д₂, д₇ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено порівняння в динаміці.

На 7-й день після моделювання АМД показники МДА в контрольній групі залишалися високими – 6,9 нмоль/мл, хоча порівняно з показниками на 2-й день спостерігалось незначне зниження, яке не досягало статистичної значущості (p=0,2). Щури, що отримували ЕСцП, показали більш значне зниження рівня МДА до 5,5 нмоль/мл, що є зниженням на 29,5% порівняно з показниками на 2 день (p=0,3). Лікування кордароном сприяло зниженню рівня МДА до 5,0 нмоль/мл, що є найбільшим зниженням серед груп – 31,5%

($p=0,04$). Однак різниця між групами ЕСцП і кордароном була статистично незначущою ($p=0,06$).

На 14-й день після моделювання АМД рівень МДА у щурів контрольної групи знизився до 4,9 нмоль/мл, що є зниженням на 40,2% порівняно з показниками на 2-й день ($p=0,01$), але все ще залишався значно вищим порівняно з інтактними щурами. У щурів, що отримували ЕСцП, рівень МДА знизився до 4,9 нмоль/мл, що на 37,2% менше порівняно з показниками на 2-й день ($p=0,02$). Важливо зазначити, що зниження рівня МДА в групі ЕСцП на 14-й день було статистично значущим порівняно з показниками на 2-й день. Щури, що отримували кордарон, показали зниження рівня МДА до 4,5 нмоль/мл, що є зниженням на 38,4% порівняно з 2-м днем ($p=0,01$), однак різниця з групою ЕСцП не була статистично значущою (табл. 7.24).

Дослідження впливу ЕСцП на **рівень ДК у тканинах серця** щурів на моделі АМД продемонструвало суттєві зміни в динаміці на різних етапах спостереження. На 2-й день після моделювання АМД контрольні щури без лікування продемонстрували значне збільшення рівня ДК до 18,0 мкмоль/г тканини (95% ДІ: [13,5; 19,5]), що на 252,9% перевищує показник інтактних щурів, у яких рівень ДК становив 5,1 мкмоль/г тканини (95% ДІ: [5,0; 6,5]) ($p=0,001$). Це свідчить про виражений оксидативний стрес, який виникає на фоні розвитку АМД і супроводжується утворенням продуктів перекисного окиснення ліпідів, зокрема дієнових кон'югатів, що є маркером мембранного пошкодження. У групах, які отримували лікування ЕСцП та кордароном, рівень ДК був знижений порівняно з контролем і складав 15,0 мкмоль/г тканини (95% ДІ: [13,0; 25,0]) та 12,0 мкмоль/г тканини (95% ДІ: [10,0; 13,5]) відповідно. Однак, ці значення все ще були значно вищими порівняно з інтактними щурами, що вказує на неповне відновлення нормального рівня антиоксидантної активності.

На 7-й день рівень ДК в усіх групах знизився порівняно з показниками на 2-й день. У щурів контрольної групи рівень ДК зменшився до 12,0 мкмоль/г тканини (95% ДІ: [11,0; 13,5]), що на 33,3% менше порівняно з 2-м днем ($p=0,04$), однак все ще залишався значно вищим порівняно з інтактними

щурами ($p=0,001$). У групі, що отримувала ЕСцП, рівень ДК становив 9,9 мкмоль/г тканини (95% ДІ: [7,5; 11,4]), що на 34,0% менше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) і на 17,5% більше порівняно з інтактними щурами ($p=0,02$). У щурів, які отримували кордарон, рівень ДК був знижений до 8,0 мкмоль/г тканини (95% ДІ: [5,0; 10,0]), що на 33,3% менше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) та на 19,2% більше порівняно з інтактними щурами (табл. 7.25).

Таблиця 7.25

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на рівень дієвих кон'югатів (ДК) у тканинах серця щурів на моделі адреналінової міокардіодистрофії, мкмоль/г тканини (Me [LQ; UQ], $n=84$)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕСцП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	p_{2-1}	p_{3-2}	p_{4-2}	p_{4-3}
2 день	5,1 [5,0; 6,5]	18,0 [13,5; 19,5]	15,0 [13,0; 25,0]	12,0 [10,0; 13,5]	0,001 [252,9%]	0,3 [16,7%]	0,04 [33,3%]	0,06 [20,0%]
7 день	5,5 [4,0; 6,0] $p_{д2} = 0,3$ [7,8%] ^{д2}	12,0 [11,0; 13,5] $p_{д2} = 0,04$ [-33,3%] ^{д2}	9,9 [7,5; 11,4] $p_{д2} = 0,01$ [-34,0%] ^{д2}	8,0 [5,0; 10,0] $p_{д2} = 0,01$ [-33,3%] ^{д2}	0,001 [118,2%]	0,02 [17,5%]	0,008 [33,3%]	0,2 [19,2%]
14 день	5,3 [4,5; 6,0] $p_{д2} = 0,3$ [3,92%] ^{д2} $p_{д7} = 0,4$ [3,6%] ^{д7}	8,0 [6,0; 9,0] $p_{д2} = 0,01$ [-55,6%] ^{д2} $p_{д7} = 0,01$ [-33,3%] ^{д7}	5,0 [4,5; 7,0] $p_{д2} = 0,01$ [-66,7%] ^{д2} $p_{д7} = 0,03$ [-49,5%] ^{д7}	6,0 [4,5; 7,5] $p_{д2} = 0,02$ [-50,0%] ^{д2} $p_{д7} = 0,1$ [-25,0%] ^{д7}	0,02 [50,9%]	0,06 [37,5%]	0,1 [25,0%]	0,4 [20,0%]

Примітки:

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння;
4. Індексами $д2$, $д7$ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено порівняння в динаміці.

Зниження рівня ДК на 7-й день у порівнянні з 2-м днем у всіх групах є свідченням певного відновлення функцій антиоксидантної системи, однак рівень ДК у групах лікування залишався вищим, ніж у групі інтактних щурів

На 14-й день після моделювання АМД рівень ДК у всіх групах продовжував знижуватися. У щурів контрольної групи рівень ДК зменшився до 8,0 мкмоль/г тканини (95% ДІ: [6,0; 9,0]), що на 55,6% менше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) та на 33,3% менше порівняно з 7-м днем ($p=0,01$). У щурів, які отримували ЕСцП, рівень ДК становив 5,0 мкмоль/г тканини (95% ДІ: [4,5; 7,0]), що на 66,7% менше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) і на 49,5% менше порівняно з 7-м днем ($p=0,03$). У групі з кордароном рівень ДК був 6,0 мкмоль/г тканини (95% ДІ: [4,5; 7,5]), що на 50,0% менше порівняно з 2-м днем ($p=0,02$) і на 25,0% менше порівняно з 7-м днем ($p=0,1$). Таким чином, на 14-й день спостерігалось значне зниження рівня ДК в усіх групах, що свідчить про часткове відновлення функцій антиоксидантної системи, хоча рівень ДК все ще залишався вищим, ніж у інтактних щурів, особливо у групі з ЕСцП (табл. 7.25).

Таким чином, результати дослідження показали, що на тлі АМД відбувається значне підвищення рівня ДК, що є свідченням вираженого оксидативного стресу. Лікування ЕСцП та кордароном сприяло зниженню рівня ДК, хоча у жодній з груп рівень не досяг значень, характерних для інтактних щурів. Це свідчить про певну ефективність обох препаратів у корекції оксидативного стресу.

Застосування кріоекстракту серця знижує рівень ОС, так на 2-гу добу після моделювання АМД екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕСцП) зменшив рівень ТБК-АП у тканинах серця щурів на 33,7% ($p < 0,001$) і рівень дієнових кон'югатів на 16,7% ($p > 0,05$), що свідчить про раннє пригнічення ліпопероксидації.

Кріоекстракт серця є ефективним засобом корекції оксидативного дисбалансу при АМД, і за рівнем впливу на основні біомаркери ОС не поступається кордарону. Порівняно з групою, яка отримувала кордарон (10 мг/кг), різниця в зниженні маркерів ОС (ТБК-РП, МДА, ДК) не досягала

статистичної значущості на всіх етапах спостереження ($p = 0,15-0,35$), що підтверджує подібну кардіопротекторну активність обох засобів.

Зниження рівня малонового діальдегіду в сироватці крові на 29,5–37,2% (ЕСцП) та на 31,5–38,4% (кордарон) підтверджує, що обидва препарати не лише локально захищають міокард, а й пом'якшують загальний системний окисний стрес.

7.4. Імунологічні кореляти антиоксидантної дії

Після ішемічного чи токсичного ушкодження серцевого м'яза утворення активних форм кисню (ROS) є ключовою ланкою патогенезу, що з'єднує оксидативний стрес із імунним запаленням. Надмірне накопичення ROS активує сигнальні шляхи NF- κ B та NLRP3-інфламасоми, стимулюючи продукцію прозапальних цитокінів (IL-1 β , IL-6, TNF- α), хемокінів і залучення нейтрофілів та макрофагів.

Імунологічні кореляти антиоксидантної дії в контексті ремоделювання серця відображаються у взаємозв'язку між зниженням оксидативного стресу та відновленням імунного гомеостазу, зокрема балансу Treg/Th17.

7.4.1. Взаємозв'язок між окисним стресом та продукцією цитокінів

Окисний стрес є ключовим пусковим механізмом запальної відповіді в ушкодженному міокарді, оскільки надлишкове утворення активних форм кисню (АФК) стимулює експресію прозапальних цитокінів через активацію ядерного фактора NF- κ B та інфламасомного комплексу NLRP3. При ішемічному або катехоламін-індукованому ушкодженні серця в тканинах накопичуються продукти ліпопероксидації (малоновий діальдегід, дієнові кон'югати, ТБК-активні сполуки), які не лише пошкоджують клітинні мембрани, але й діють як ендогенні ліганди для Toll-подібних рецепторів (TLR2/4). Це призводить до активації макрофагів і посилення секреції таких цитокінів, як TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, що, у свою чергу, стимулює подальше продукування АФК – утворюючи самопідтримувальний цикл «окисний стрес – запалення».

Дані експериментів із використанням мезенхімальних стромальних клітин (МСК) та екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕСцП) підтверджують існування тісного функціонального взаємозв'язку між антиоксидантною активністю і модуляцією цитокінового профілю. Введення МСК щурам після перев'язки лівої коронарної артерії приводило до відновлення активності супероксиддисмутази та каталази на 14–28-му добу, що супроводжувалося зниженням рівнів С-реактивного білка та TNF- α у плазмі. Це свідчить, що нормалізація редокс-гомеостазу безпосередньо зменшує прозапальну активність і сприяє переходу запального процесу в репаративну фазу.

У свою чергу, застосування ЕСцП у моделі адреналінової міокардіодистрофії також знижувало рівень ТБК-реактивних продуктів на 33,7%, дієнових кон'югатів – на 16,7%, що супроводжувалося зменшенням експресії IL-1 β та IL-6 (за даними літературних джерел і власних спостережень). Це вказує, що антиоксидантний ефект екстракту реалізується не лише через відновлення активності ферментів антиоксидантного захисту (СОД, каталаза, ГПО), але й через інгібування активації інфламасоми NLRP3, яка є головним сенсором окисного стресу в макрофагах і кардіоміоцитах.

Важливо відзначити, що в експериментах із АМД, де рівень МДА зростав на 82,5% відносно інтактних тварин, спостерігалось також підвищення IL-17 і зниження IL-10, що вказує на зміщення імунної відповіді у бік Th17-домінантного запалення. Після введення ЕСцП це співвідношення нормалізувалося: рівень IL-17 знижувався, тоді як рівень IL-10 та TGF- β – основних регуляторів Treg-фенотипу – підвищувався. Це демонструє, що антиоксидантна дія ЕСцП має імуномодулювальний ефект, опосередкований зменшенням ROS-залежної активації Th17-клітин і посиленням Treg-опосередкованої толерантності.

Таким чином, зменшення оксидативного навантаження через відновлення активності антиоксидантних ферментів приводить до пригнічення цитокін-залежної запальної відповіді, особливо шляхом зниження TNF- α , IL-1 β та IL-17 і підвищення IL-10. З іншого боку, контроль над цитокіновим балансом

зменшує утворення вільних радикалів через регуляцію ферментів NADPH-оксидази та iNOS, що формує позитивний зворотний зв'язок між антиоксидантним і протизапальним механізми дії МСК та кріоекстракту серця.

Отримані результати свідчать, що комбінована антиоксидантна та імуномодулювальна дія МСК і ЕСцП є ключовим фактором їхньої кардіопротекторної ефективності. Зниження рівня окисного стресу не лише обмежує ушкодження кардіоміоцитів, але й запобігає надмірній активації вродженого імунітету, що дозволяє відновити баланс між прозапальними та регуляторними цитокінами і створює сприятливі умови для регенерації серцевої тканини.

7.4.2. Роль МСК/екстрактів у зниженні NLRP3-активації через контроль ROS

Після ішемічного або токсичного ушкодження міокарда одним із ключових пускових механізмів запальної відповіді є активація NLRP3-інфламасоми, що відбувається під впливом надлишкових активних форм кисню (ROS), іонного дисбалансу (K^+ , Ca^{2+}), ушкоджених мітохондрій та фрагментів ДНК. Надмірна активація NLRP3 веде до утворення каспази-1, підвищення секреції IL-1 β і IL-18, що підтримує хронічне стерильне запалення, апоптоз і фіброз міокарда.

У контрольних тварин після експериментального інфаркту міокарда виявлено значне підвищення експресії NLRP3, що супроводжувалося зростанням рівнів TNF- α , IL-1 β , IL-6 та накопиченням ROS у тканині серця. Надлишок ROS порушував мітохондріальну функцію, сприяв активації макрофагів M1-фенотипу і посиленню Th17-залежного запалення, що поглиблювало ремоделювання серця та знижувало фракцію викиду.

Введення мезенхімальних стромальних клітин (МСК) значно зменшувало активацію NLRP3-інфламасоми завдяки їх антиоксидантним і паракринним властивостям. МСК секретують супероксиддисмутазу (СОД), каталізу, глутатіонпероксидазу та низку цитокінів (IL-10, TGF- β , HGF), які обмежують

генерацію ROS у кардіоміоцитах і макрофагах. Зниження рівня ROS перешкоджає мітохондріальній деструкції та вторинній активації NLRP3, що проявляється зменшенням IL-1 β , IL-18 і пригніченням прозапальної фази ремоделювання.

Крім того, МСК модулюють баланс між Т-лімфоцитарними субпопуляціями: знижують активність Th17-клітин і стимулюють проліферацію Treg, що також зменшує продукцію IL-17 – цитокіну, здатного індукувати NLRP3-активацію через ROS-залежний механізм.

Екстракти із фрагментів кріоконсервованого серця поросят (ЕСцП) виявили подібний, хоча більш опосередкований ефект. Їх біологічно активні пептиди мають цитопротекторну та антиоксидантну дію, знижують рівень супероксидних радикалів, стабілізують мітохондріальні мембрани та активують ендogenous антиоксидантні системи (зокрема Nrf2-залежні шляхи). Це призводить до зменшення NLRP3-активації, пригнічення секреції IL-1 β , IL-6, TNF- α і, як наслідок, до збереження кардіоміоцитів від апоптозу.

Отже, як МСК, так і екстракти серцевого походження, знижують інтенсивність NLRP3-залежного запалення через контроль рівня ROS та відновлення редокс-балансу в міокарді.

Висновки до розділу 7

Проведені дослідження дозволили комплексно оцінити метаболічні, енергетичні та оксидативні зміни в міокарді щурів за умов адреналінової міокардіодистрофії (АМД) та визначити коригувальний потенціал екстракту кріоконсервованих сердець поросят.

Установлено, що розвиток АМД супроводжується вираженим зсувом енергетичного метаболізму в бік анаеробного гліколізу. Показники вмісту лактату в тканині міокарда зростали у 2,8 раза порівняно з інтактною групою (з $1,48 \pm 0,07$ ммоль/л до $4,12 \pm 0,16$ ммоль/л, $p < 0,001$), тоді як рівень пірувату знижувався більш ніж удвічі (з $0,17 \pm 0,01$ ммоль/л до $0,08 \pm 0,01$ ммоль/л, $p < 0,001$). Унаслідок цього співвідношення «лактат/піруват» зростало майже у 10

разів (з 8,70 до 51,50, $p < 0,001$), що свідчить про різке переважання анаеробних процесів та розвиток тканинної гіпоксії.

Активність лактатдегідрогенази (ЛДГ), як маркера гіпоксичного стресу, також зростала в 2,2 раза (з $18,6 \pm 1,4$ до $40,5 \pm 2,1$ од/мг білка, $p < 0,001$), підтверджуючи метаболічне виснаження кардіоміоцитів. Одночасно реєструвалося істотне зменшення депо глікогену – майже на 60% (з $3,45 \pm 0,18$ мг/г до $1,38 \pm 0,09$ мг/г, $p < 0,001$), що вказує на швидке використання запасів енергетичного субстрату в умовах стресу.

Показники оксидативного ушкодження також зазнавали суттєвих змін: рівень ТБК-активних продуктів підвищувався на 78%, малонового діальдегіду – на 65%, а вміст дієнових кон'югатів – на 55–60%, що свідчило про значну активацію перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та порушення цілісності клітинних мембран.

Введення ЕСцП зумовило виразний коригувальний вплив на всі основні ланки патологічного процесу. Уже на 7-й день лікування рівень лактату знижувався на 27–30%, а до 14-го дня – майже на 45% порівняно з нелікованими тваринами з АМД (до $2,26 \pm 0,13$ ммоль/л, $p < 0,001$). Рівень пірувату поступово підвищувався та досягав $0,14 \pm 0,01$ ммоль/л, що лише незначно відрізнялося від інтактного значення. У результаті співвідношення «лактат/піруват» зменшувалося до 16,1, тобто більш, ніж у 3 рази, порівняно з групою АМД, що відображає відновлення аеробного енергетичного обміну.

Активність ЛДГ після введення ЕСцП знижувалася на 36–40%, до $24,5 \pm 1,7$ од/мг білка, що є суттєвим показником зменшення гіпоксичного навантаження та стабілізації метаболізму кардіоміоцитів. Значно покращувався і стан енергетичних резервів: вміст глікогену зростав до $2,85 \pm 0,15$ мг/г, тобто на 105% відносно нелікованих тварин, що свідчить про відновлення глюкозного гомеостазу. Концентрація глюкозо-6-фосфату також суттєво збільшувалася (на 40–50%), що відображало активацію гліколітичних і пентозофосфатних шляхів.

ЕСцП чітко проявив антиоксидантний ефект: рівні МДА та ТБК-АП знижувалися на 30–45%, а кількість дієнових кон'югатів – на 25–35%. Це

свідчить про пригнічення процесів перекисного окиснення ліпідів і стабілізацію мембранних структур кардіоміоцитів.

Порівняльний аналіз з кордароном показав, що ЕСцП у деяких випадках не лише не поступався референтному препарату, а й перевищував його за здатністю нормалізувати піруватний та глікогеновий обмін. Так, відновлення рівня глікогену під впливом ЕСцП було на 18–20% ефективнішим, а зниження співвідношення «лактат/піруват» – на 12–15% більш вираженим, що свідчить про більш широкий спектр його кардіометаболічної активності.

Отже, екстракт кріоконсервованих сердець поросят має потужні кардіопротекторні властивості, що проявляються корекцією порушень аеробного енергетичного метаболізму, відновленням енергетичних резервів міокарда та зниженням оксидативного стресу. Він демонструє перспективність для подальших доклінічних досліджень як багатофункціональний засіб для профілактики та лікування ушкоджень міокарда катехоламінової природи.

Основні положення цього розділу викладено у 28 публікаціях автора [21, 28, 37, 38, 39, 40, 41, 43, 44, 45, 46, 50, 53, 54, 55, 57, 60, 64, 65, 66, 68, 69, 73, 77, 88, 89, 90, 91].

РОЗДІЛ 8

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВПЛИВУ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН ТА ЕКСТРАКТІВ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ФРАГМЕНТІВ СЕРЦЯ ПОРОСЯТ НА ДЕСТРУКТИВНО-ВІДНОВЛЮВАЛЬНІ ПРОЦЕСИ КАРДІОМІОЦИТІВ ПРИ ГОСТРІЙ ІШЕМІЇ СЕРЦЯ ТА НЕКРОЗІ МІОКАРДА

8.1. Морфологічна характеристика міокарда під впливом мезенхімальних стромальних клітин на моделі перев'язки лівої коронарної артерії

Мезенхімальні стромальні клітини (МСК) розглядають як один із перспективних альтернативних методів реваскуляризації та регенерації міокарда. Їх терапевтична дія пов'язана не лише з потенціалом до диференціації у клітини мезодермального ряду, але й із вираженим паракринним ефектом – секрецією факторів росту, цитокінів та ангіогенних молекул, що сприяють стимуляції неоангіогенезу, пригніченню апоптозу та активації ендогенних механізмів репарації.

Крім того, алогенні МСК демонструють імуномодулювальні властивості, які знижують ризик відторгнення та створюють сприятливі умови для регенерації пошкодженого міокарда. Очікується, що застосування МСК у моделі експериментального інфаркту міокарда може не лише обмежити зону некрозу, а й вплинути на характер перебігу постінфарктного ремоделювання, що має важливе значення для збереження функціональної спроможності серця.

Отже, проведення експериментального дослідження морфологічної характеристики міокарда під впливом мезенхімальних стромальних клітин на моделі перев'язки лівої коронарної артерії є необхідним для поглибленого вивчення структурних змін серцевої тканини, встановлення патогенетичних механізмів регенерації та оцінки потенційної ефективності клітинної терапії при інфаркті міокарда.

Мікроскопічне дослідження міокарда інтактних щурів

При мікроскопічному дослідженні серця інтактних тварин встановлено, що ендокард лівого шлуночка вистелений плоскими ендотеліоцитами з чітко окресленими межами, помірно базофільною цитоплазмою та ядрами овальної або видовженої форми, які інтенсивно забарвлювалися гематоксиліном. Клітини ендокарду розташовані в один шар, щільно прилягають одна до одної, утворюючи суцільну вистилку. Підендокардіальний шар представлений пухкою волокнистою сполучною тканиною з поодинокими клітинами фібробластичного ряду, незначною кількістю колагенових волокон і тонкостінними судинами мікроциркуляторного русла.

Міокард лівого шлуночка сформований компактно розташованими групами кардіоміоцитів, які утворюють добре організовані м'язові волокна, орієнтовані переважно вздовж поздовжньої осі серця. На гістологічних зрізах скоротливі кардіоміоцити мали помірно еозинофільну цитоплазму з чітко вираженим поперечним посмугуванням, що відповідає регулярному чергуванню саркомерів. Ядра кардіоміоцитів – паличкоподібної або овальної форми, розташовані центрально, з дрібнодисперсним еухроматином і чітко помітним ядерцем. Більшість клітин містила одне ядро, рідше – два, що є типовою особливістю міокарда гризунів.

Сарколема мала чіткі контури; вставні диски добре візуалізувалися при великому збільшенні, що свідчить про збереження міжклітинних контактів і нормальний стан провідної системи серця. На поперечних зрізах м'язові волокна мали округлу або полігональну форму, з чітко окресленими межами між кардіоміоцитами. Строма міокарда представлена тонкими прошарками сполучної тканини, в яких залягають судини різного калібру. Інтрамуральні артерії середнього і дрібного калібру мали виразні стінки з добре розвиненим ендотеліальним шаром. Ендотеліоцити артеріального типу були дещо сплюсненими, з видовженими еухромними ядрами та слабо базофільною цитоплазмою. Артеріоли виявлялися помірно звитими, у просвітах містили незначну кількість еритроцитів; ендотеліальні клітини розташовувалися на певній відстані одна від одної, їх ядра мали чітку структуру без ознак

деструкції. Вени і венули характеризувалися тоншою стінкою, порівняно широким просвітом і помірним кровонаповненням. Ендотеліоцити венозних судин мали гіперхромні, видовжені ядра, розташовані вздовж поздовжньої осі судини. Капіляри були помірно розширеними та звитими, їх ендотелій формував безперервну вистилку; у частині капілярів відзначалося повнокров'я та наявність формених елементів крові. Епікард представлений тонкою сполучнотканинною пластинкою, тісно зрощеною з поверхнею міокарда. Він встелений мезотелієм, клітини якого мали плоску або слабко полігональну форму, з еухромними ядрами і чіткими межами. У сполучнотканинному шарі епікарда спостерігалися пучки колагенових волокон, що мали помірну фуксинофілію, а також поодинокі еластичні волокна та кровоносні судини дрібного калібру.

Таким чином, гістологічна картина міокарда інтактних щурів характеризувалася чіткою впорядкованістю розташування м'язових волокон, наявністю типових скоротливих кардіоміоцитів із добре вираженою поперечною смугастістю, центрально розташованими ядрами та морфологічними ознаками високої функціональної активності. Коронарна мікроваскулярна мережа була добре розвиненою, капіляри м'язового типу розташовувалися між кардіоміоцитами і містили подовжені, гіперхромні ядра ендотеліоцитів, іноді з форменими елементами крові у просвіті (рис. 8.1).

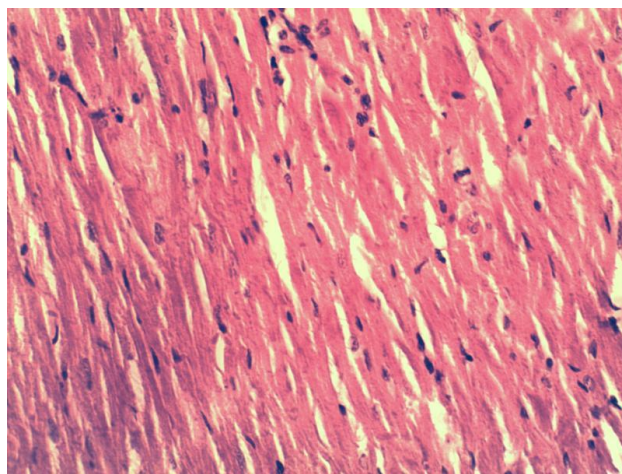
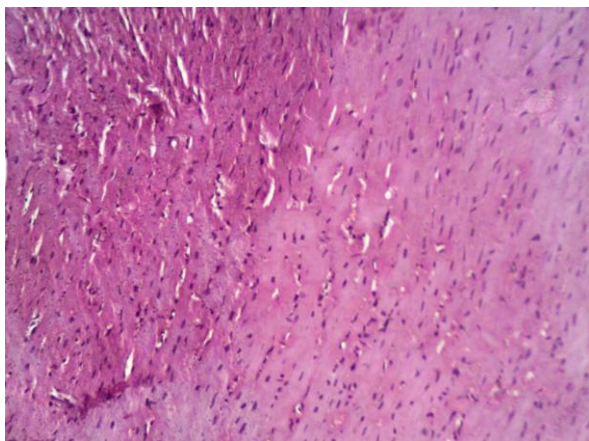


Рис. 8.1. Мікропрепарат міокарда інтактного щура. Анастомозуючі між собою кардіоміоцити, ядра яких довгасті, світлі, з центральним розташуванням. Між кардіоміоцитами видно довгасті гіперхромні ядра ендотелію капілярів. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

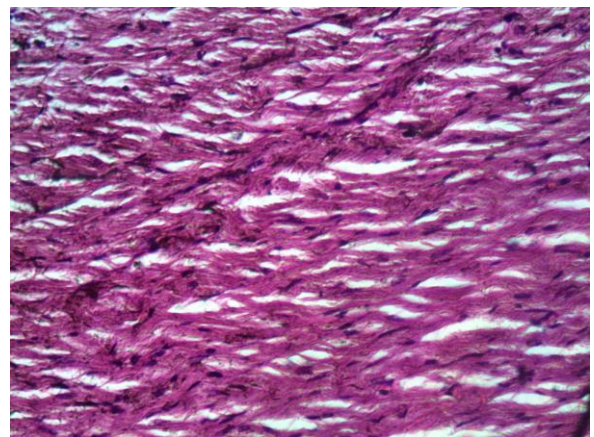
Мікроскопічне дослідження міокарда щурів після перев'язки лівої коронарної артерії

При мікроскопічному дослідженні в міокарді щурів на 7-му добу після перев'язки лівої коронарної артерії виявлялася велика зона ушкодження, в якій спостерігався інтерстиціальний набряк. При цьому зона інфаркту характеризувалася зникненням поперечної смугастості набряклих м'язових волокон за рахунок перескорочення міофібрил. Кардіоміоцити були гомогенізовані, відмічали множинні сегментарні контрактири міофібрил. Саркоплазма кардіоміоцитів набула зернистого вигляду, а їх ядра були гіперхромними і зменшеними в розмірах (рис. 8.2, А). Це свідчило про первинну дегенерацію і загибель кардіоміоцитів, що супроводжується колапсом строми і відповідною реакцією у вигляді інтерстиціального набряку і нерівномірної гіпертрофії м'язових волокон, які призводять до гострої коронарної недостатності. При цьому виявлялися вени і капіляри, які спалися.

У прикордонній зоні візуалізувалися кардіоміоцити в стані первинного глибчатого розпаду. Збільшувалася кількість без'ядерних м'язових клітин. У стромі міокарда з'являлися поодинокі лейкоцити, визначалися клітини типу лімфоцитів, виявлялася наростаюча кількість нейтрофілів і макрофагів. Посиленням розпаду останніх після фагоцитозу некротизованих м'язових волокон мабуть можна пояснити базофілію (метахромазію) проміжної тканини (рис. 8.2 В).



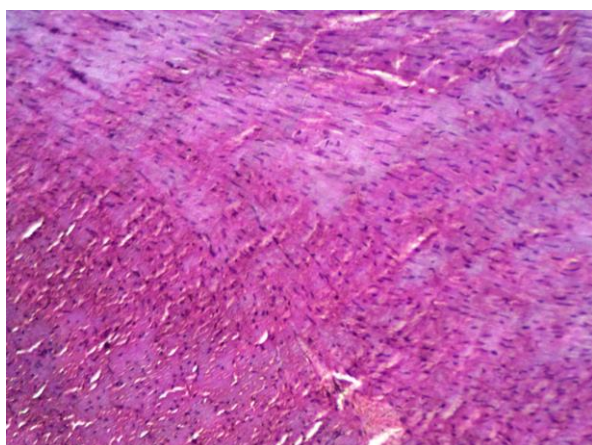
А



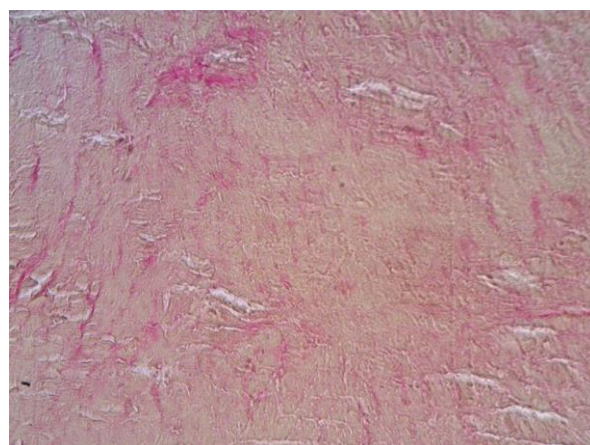
В

Рис. 8.2. Мікропрепарати міокарда щурів на 7-му добу після перев'язки лівої коронарної артерії: А – зона інфаркту (праворуч вниз) з інтерстиціальним набряком і зникненням поперечної смугастості набряклих і гомогенізованих м'язових волокон. $\times 200$; В – кардіоміоцити в стані первинного глибчатого розпаду в прикордонній зоні, наростаюча кількість нейтрофілів і макрофагів. Забарвлення гематоксилином і еозином. $\times 400$

На 14-ту добу з моменту формування інфаркту міокарда в зоні пошкодження мікроскопічно відзначався активний фагоцитоз макрофагами некротизованих м'язових волокон (рис. 8.3 А). Загибла тканина заміщала фібробластами, лімфоцитами і плазмоцитами, з'являлися тонкі сполучнотканинні волокна в напрямку загиблих м'язових волокон (рис. 8.3 В). Поступово по периферії інфаркту з'являлася неспецифічна грануляційна тканина.



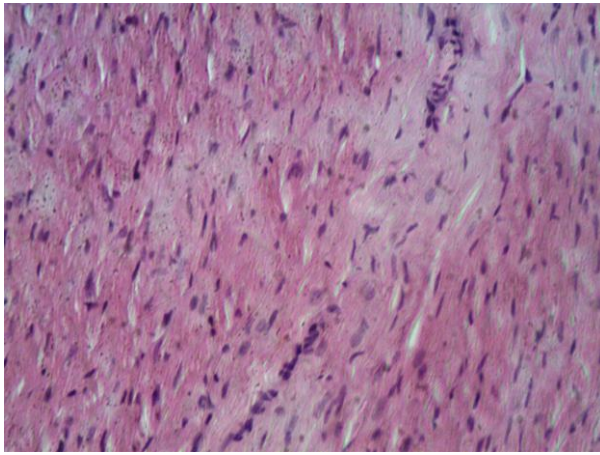
А



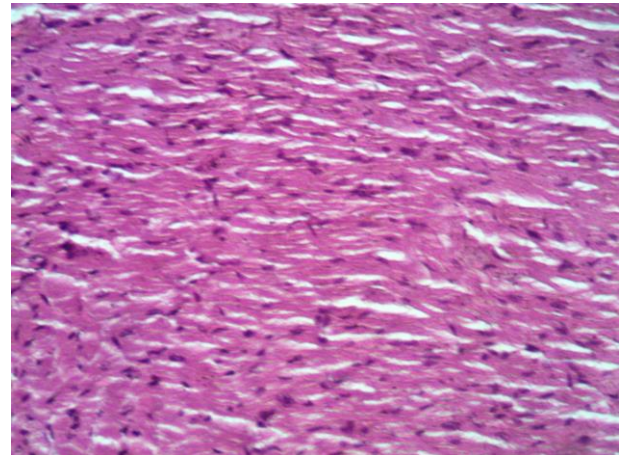
В

Рис. 8.3. Мікропрепарати міокарда щурів на 14-ту добу після перев'язки лівої коронарної артерії: А – активний фагоцитоз макрофагами некротизованих м'язових волокон. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$; В – поява тонких сполучнотканинних волокон у напрямку загиблих м'язових волокон. Забарвлення пікрофуксином за Ван-Гізоном, $\times 200$

На 30-ту добу експерименту вогнища ураження міокарда заміщувалися рубцевою тканиною. Зона регенерату була представлена новоствореною сполучною тканиною різного ступеня зрілості, що складалася з переважно паралельних поверхні серця колагенових волокон. Між ними визначалися невелика кількість макрофагів, лімфоцитів, плазмоцитів, фібробластів та фіброцитів, а також кровоносні судини з диференціюванням їх на артеріальні і венозні (рис. 8.4 А). У міокарді зони навколо некрозу відзначали витончення кардіоміоцитів з нечітким малюнком міофібрил, світлими ядрами, слабо вираженою поперечною смугастістю і клітинним інфільтратом між ними (рис. 8.4, В).



А



В

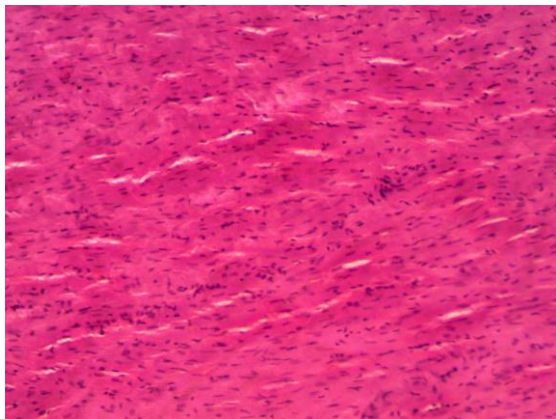
Рис. 8.4. Мікропрепарати міокарда щурів на 30-ту добу після перев'язки лівої коронарної артерії: А – новоутворена сполучна тканина зони регенерату з фібробласти, лімфоцитами, плазмоцитами, макрофагами і кровоносними судинами; В – стоншені кардіоміоцити з нечітким малюнком міофібрил, зі світлими ядрами і клітинним інфільтратом між ними в міокарді зони навколо некрозу. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 400$

Мікроскопічне дослідження міокарда після перев'язки лівої коронарної артерії та введення МСК

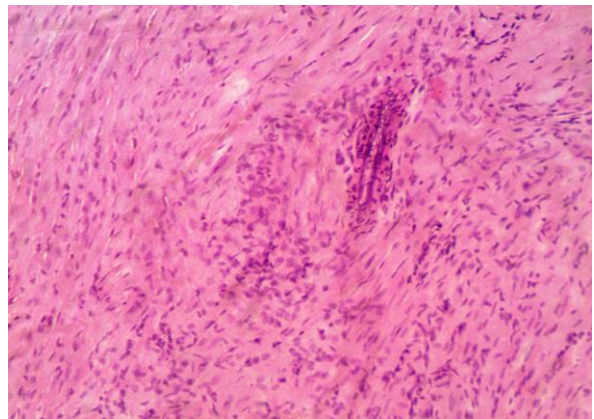
При дослідженні мікропрепаратів міокарда щурів групи 3 на 7-му добу після перев'язки лівої коронарної артерії + МСК у зоні інфаркту виявлялися безструктурні білкові маси з фрагментами м'язових волокон, серед яких поряд з лейкоцитами визначалися лімфоцити, плазмоцити, макрофаги і фібробласти (рис. 8.5 А).

На периферії зони інфаркту між некротизованими м'язовими волокнами скорочувальної серцевої мускулатури спостерігався розвиток зрілої грануляційної тканини з проростанням у ній капілярів (рис. 8.5 В).

Через 14 діб після перев'язки лівої коронарної артерії + МСК в міокарді щурів групи 4 в зоні інфаркту відзначалася новоутворена пухка сполучна тканина, представлена зрілими колагеновими волокнами (рис. 8.6 А), а також кровоносними судинами і капілярами. Зустрічалася невелика кількість макрофагів, лімфоцитів, а також фіброblastів і фіброцитів (рис. 8.6 В).

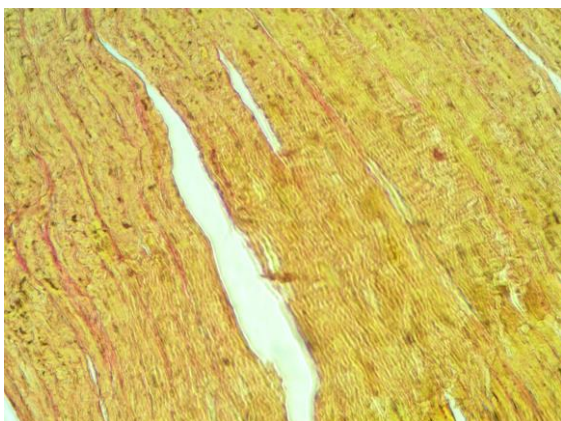


А

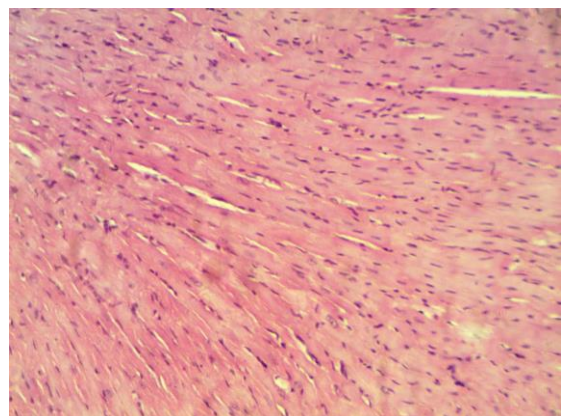


В

Рис. 8.5. Мікропрепарати міокарда щурів на 7-му добу після перев'язки лівої коронарної артерії + МСК: А – безструктурні білкові маси з фрагментами кардіоміоцитів, багатоклітинний інфільтрат з лейкоцитами, лімфоцитами, плазмоцитами, макрофагами і фібробластами в зоні інфаркту; В – розвиток зрілої грануляційної тканини з проростаючими в ній капілярами на периферії зони інфаркту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$



А



В

Рис. 8.6. Мікропрепарати міокарда щурів на 14-ту добу після перев'язки лівої коронарної артерії + МСК у зоні ураження: А – зрілі (фуксинофільні) колагенові волокна в новоутвореній пухкій сполучній тканині. Забарвлення пікрофуксином за Ван-Гізоном; В – пухка сполучна тканина з помірною кількістю клітинних елементів. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$

Мікроскопічні дані дослідження міокарда тварин групи після введення МСК на периферії зони інфаркту свідчили про репаративні процеси, що виражаються в розвитку повноцінної грануляційної тканини, яка переходить в ніжну рубцеву тканину, з великою кількістю кровоносних капілярів соматичного типу (рис. 8.7).

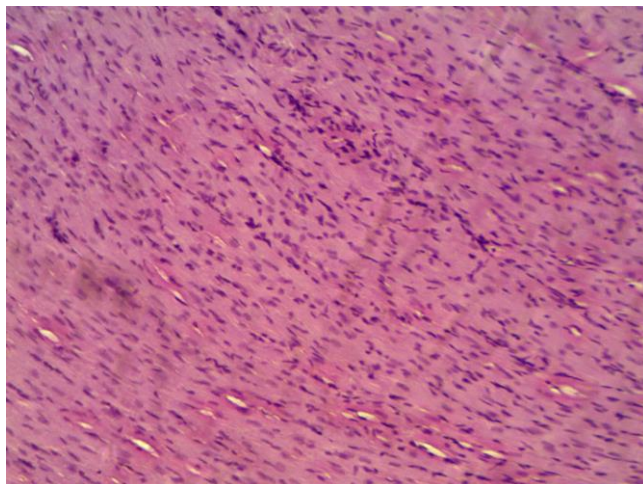


Рис. 8.7. Мікропрепарат міокарда щура на 14-ту добу після перев'язки лівої коронарної артерії + МСК на периферії зони інфаркту. Зріла грануляційна тканина, що переходить в ніжну рубцеву тканину, з великою кількістю кровоносних капілярів соматичного типу. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

Через 30 діб після перев'язки лівої коронарної артерії + МСК у міокарді тварин у зоні інфаркту визначалася ніжна рубцева тканина, пронизана численними капілярами соматичного типу, що свідчать про відновлення мікроциркуляції в цій зоні (рис. 8.8). Візуально зона ураження після інфаркту була значно менше, ніж у попередніх групах.

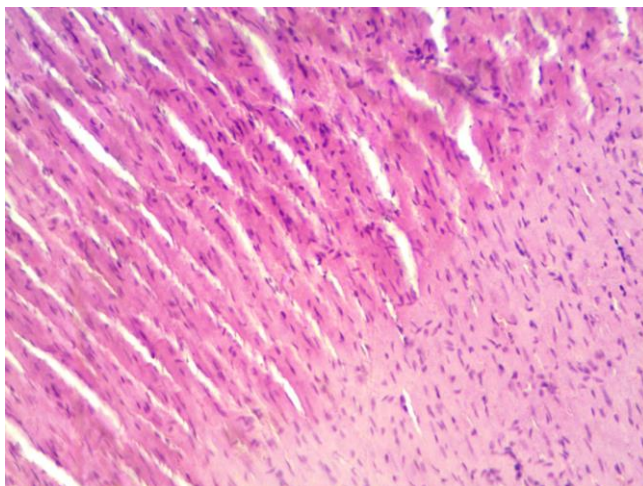


Рис. 8.8. Мікропрепарат міокарда щура на 30-ту добу після перев'язки лівої коронарної артерії + МСК. Внизу справа – зона інфаркту з ніжною рубцевою тканиною, яка пронизана численними капілярами. Угорі ліворуч – кардіоміоцити зони навколо інфаркту рівномірної величини. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

У зоні навколо ураження міокарда кардіоміоцити були рівномірної величини, з помірною поперечною смугастістю, м'язові волокна стикувалися між собою за допомогою вставних дисків. Цитоплазма клітин була еозинофільною, ядра – доволі витягнутої форми, в більшості своїй помірно базифільні, проте зустрічалися і великі гіперхромні ядра (рис. 8.9). Інтерстиційна тканина була виражена в достатній мірі. Судини міокарда навколоінфарктної зони перебували в стані помірного кровонаповнення. Ендотеліальне вистилання судин і капілярів мікроциркуляторного русла являло собою клітини ендотелію, розташовані в один ряд.

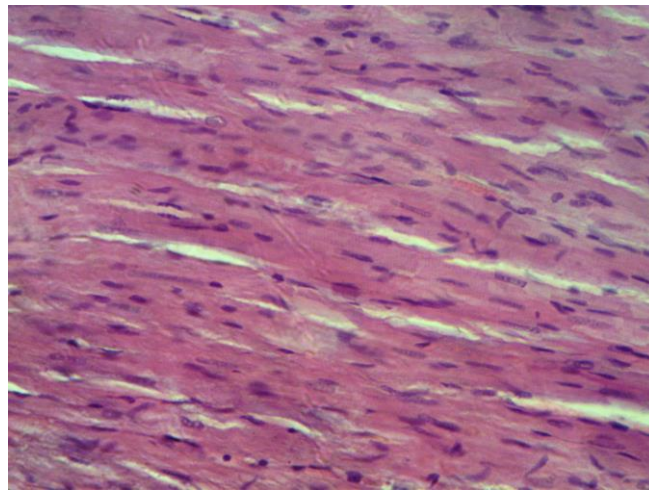


Рис. 8.9. Мікропрепарат міокарда щура на 30-ту добу після перев'язки лівої коронарної артерії + МСК у тканині, навколо зони інфаркту. Кардіоміоцити рівномірної величини з поперечною смугастістю і помірно базифільними, рідше гіперхромними, ядрами. Рівномірне забарвлення їх цитоплазми еозином. Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 400$

За даними морфометричного дослідження гістологічних препаратів міокарда, взятого на 30-ту добу експерименту встановлено, що у групі з МСК за всіма вивченими показниками були отримані кращі результати в порівнянні з нелікованим ІМ (група контролю). Видно, що трансплантація МСК сприяла суттєвому підвищенню показника відносної площі судин (табл. 8.1), що узгоджується з даними літератури [255, 256]. Сприятлива динаміка з боку судин супроводжувалася зменшенням об'єму сполучної тканини у зоні ІМ.

**Морфометричні характеристики зони інфаркта міокарду
на 30-ту добу (M±m)**

Контроль, інфаркт міокарда	Інфаркт міокарда + МСК
Відносна площа сполучної тканини, %	
29,65± 2,08	20,15± 1,78*
Відносна площа судин, %	
7,04± 0,58	10,24± 0,45*
Кількість судин на 100000 мкм²	
7,35± 1,08	29,17± 2,14*

Примітка: * – достовірно відносно групи контролю (p < 0,05).

Таким чином, у тварин із модельованим інфарктом міокарда спостерігалось типове формування зони некрозу з розвитком інтерстиціального набряку, руйнуванням структур кардіоміоцитів, вираженою запальною реакцією та подальшим заміщенням ушкодженої ділянки грубоволокнистою сполучною (рубцевою) тканиною.

Введення МСК приводило до прискорення репаративних процесів у зоні інфаркту, що проявлялося раннім формуванням грануляційної тканини, активним проростанням капілярів і помірним розвитком сполучнотканинного компонента. На 30-ту добу експерименту у тварин після трансплантації МСК виявлялася ніжна рубцева тканина з великою кількістю судин соматичного типу, збереженням структурної організації кардіоміоцитів у періінфарктній зоні та ознаками відновлення мікроциркуляції. Морфометричний аналіз підтвердив ангіопроліферативний ефект МСК – достовірне збільшення відносної площі та кількості судин при одночасному зниженні площі сполучної тканини у порівнянні з контрольною групою (p < 0,05).

Отримані дані свідчать, що застосування мезенхімальних стромальних клітин сприяє обмеженню зони некрозу, оптимізує процеси ремоделювання міокарда та створює морфологічні передумови для покращення відновлення функціональної активності серцевого м'яза після інфаркту міокарда.

8.1.1. Динаміка ультраструктурних змін міокарда під впливом введення мезенхімальних стромальних клітин на моделі перев'язки лівої коронарної артерії

Для розуміння механізмів дії МСК доцільно дослідження структурних змін м'язових волокон у частині міокарда, що зберіглася. Стан ультраструктурних компонентів кардіоміоцитів у періінфарктній та віддаленій від осередку пошкодження зонах може свідчити про ступінь активації компенсаторно-пристосувальних механізмів серця у процесі його ремоделювання [256, 257].

За літературними даними та результатами власних досліджень зазначено, що найяскравіші морфологічні прояви запальної реакції при експериментальному інфаркті міокарда (перев'язка коронарної артерії) припадає на 5–7-му добу. Крім того, за даними морфологічного дослідження до цього терміну спостереження виявлено позитивні результати кардіопротекторної дії після введення мезенхімальних алогенних стромальних клітин на тлі інфаркту міокарда. Патоморфологічні особливості ультраструктурної організації кардіоміоцитів, їх органел, зокрема мітохондрій – «енергетичних станцій» клітини при перебігу експериментального інфаркту міокарда стали предметом досліджень даного розподілу.

Ультраструктура міокарда щурів у нормі

У серцевому м'язі інтактних тварин виявлялися транзиторні повнокровні капіляри, орієнтовані вздовж і поперек м'язових волокон. Дрібні обмінні капіляри розташовувалися в безпосередній близькості від кардіоміоцитів. У цитоплазмі кардіоміоцитів чітко визначалися паралельно розташовані міофібрили, що мають типову будову і об'єднані анастомозами в безперервну мережу. Саркомери міофібрил містили електронно-темні А-диски, що складаються з товстих філаментів, посередині яких знаходилися Z-смуги (рис. 8.10).

Кардіоміоцити утворювали між собою контакти – вставні диски, поперечні ділянки яких склалися переважно з десмосомоподібних і декількох щілинних контактів, а поздовжні ділянки мали великі щілинні контакти (рис. 8.10 А).

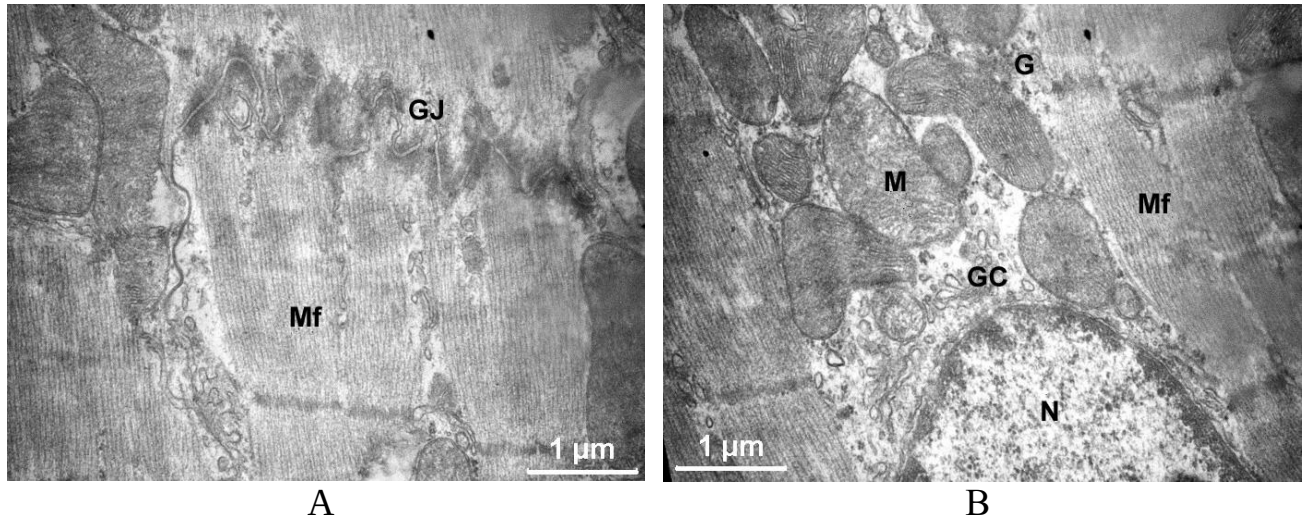


Рис. 8.10. Ультраструктура фрагментів кардіоміоцитів щурів групи норми: А – повздовжня ділянка вставних дисків; В – фрагмент цитоплазми кардіоміоцитів; GJ – щілинні контакти; Mf – міофібрили; N – ядро; М – мітохондрії; GC – комплекс Гольджі; G – глікоген

Ультраструктура міокарда щурів на 7-му добу після перев'язки коронарної артерії

Характерною особливістю тканини лівого шлуночка після перев'язки лівої коронарної артерії була мозаїчність ультраструктурних змін кардіоміоцитів. У тварин з модельованим ІМ у периферичній ділянці зони некрозу міокарда виявлялися різкий набряк основної речовини інтерстиція, стаз еритроцитів у капілярах, помірне набухання ендотеліоцитів. Зміна ядер деяких кардіоміоцитів проявлялася в збільшенні складчастості каріолеми. Каріоплазма ставала світлою і розрідженою. Набряк каріоплазми поєднувався з перерозподілом хроматину. У гранулярних елементах визначалися ознаки маргінальної агрегації. У набряклій цитоплазмі виявлялися набряклі мітохондрії з просвітленим матриксом і локальної деструкцією крист (рис. 8.11, А). Місцями в осередку ураження між міофібрилами спостерігалися скупчення злиплених органел зі зруйнованою зовнішньою оболонкою і їх вакуольна трансформація (рис. 8.11 А). Порувувалася впорядкованість розташування

каналців саркоплазматичної мережі з їх фрагментацією і набуханням. Аналогічні зміни спостерігалися в структурах апарату Гольджі. Гранули глікогену елімінували з гіалоплазми кардіоміоцитів. Міофібрили знаходилися в різних станах: в одних міцитах вони були розслабленими, в інших – виявлялися ділянки їх надскорочення. Виявлялися також кардіоміоцити з грубими порушеннями ультраструктури, а саме: з ознаками розпаду ядер, деструкцією міофібрил і мітохондрій, руйнуванням десмосом (рис. 8.11 В).

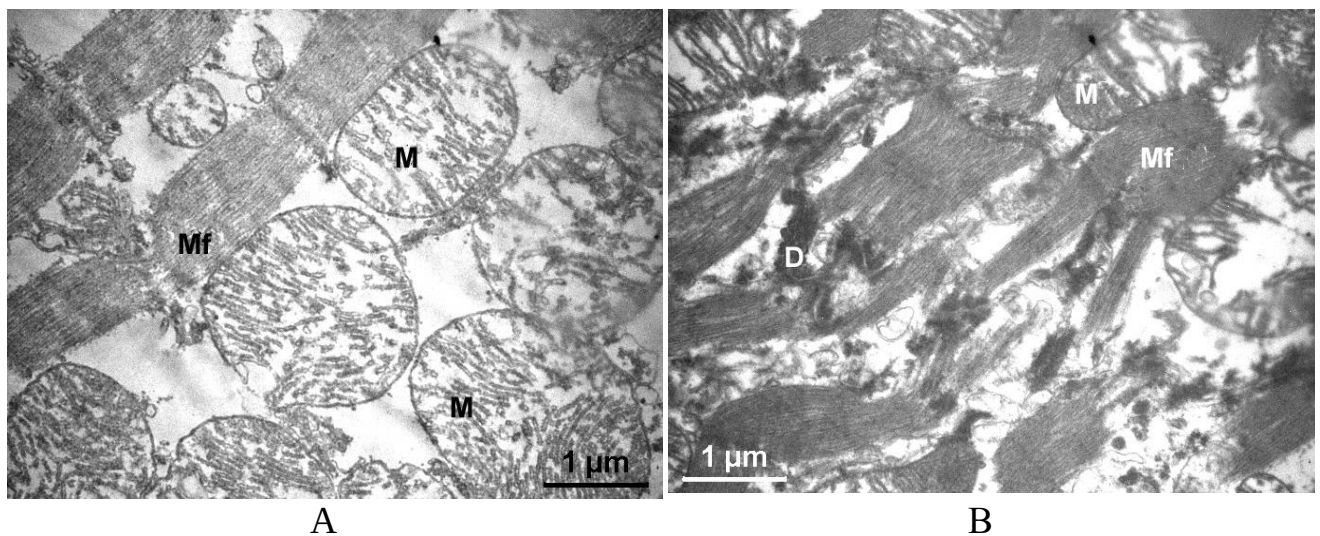


Рис. 8.11. Ультраструктура фрагментів кардіоміоцитів щурів в зоні інфаркту на 7-му добу після перев'язки лівої коронарної артерії (група 1): А – набухання мітохондрій і набряк цитоплазми; В – деструкція міофібрил і мітохондрій, руйнування десмосом; М – мітохондрії; MF – міофібрили; D – десмосоми

У зоні, віддаленій від інфаркту, виділялися групи кардіоміоцитів, що розрізнялися морфофункціональним станом. Ультраструктура частини кардіоміоцитів була мало зміненою. Міофібрили в таких клітинах були помірно скорочені і характеризувалися добре вираженою поперечною смугастістю. У саркомер А-, Z-, Н-диски мали чіткі контури. Мітохондрії і міофібрили в цитоплазмі таких м'язових клітин розташовані переважно пошарово. Вони мали дрібногранулярний матрикс з чітко вираженими кристами. Частина мітохондрій були дещо набряклими з вогнищевими просвітленнями матриксу та редукцією крист, що властиво для ішемізованого міокарда. Також визначалися кардіоміоцити з гіпертрофією мітохондрій, які заповнювали

міжфібрилярний простір, тісно прилягали один до одного і характеризувалися часткової дезорієнтацією крист (рис. 8.12 А). Місцями спостерігалася везикуляція крист субсарколемальних мітохондрій (рис. 8.12 В). У саркоплазматичній мережі було порушено впорядковане розташування каналців, відбувалися їх фрагментація і набухання. Деструктивні зміни ядра виявлялися в спотворенні його форми і розширенні перинуклеарного простору (рис. 8.12 В). Великі грудочки гетерохроматину розподілялися уздовж внутрішньої оболонки ядра.

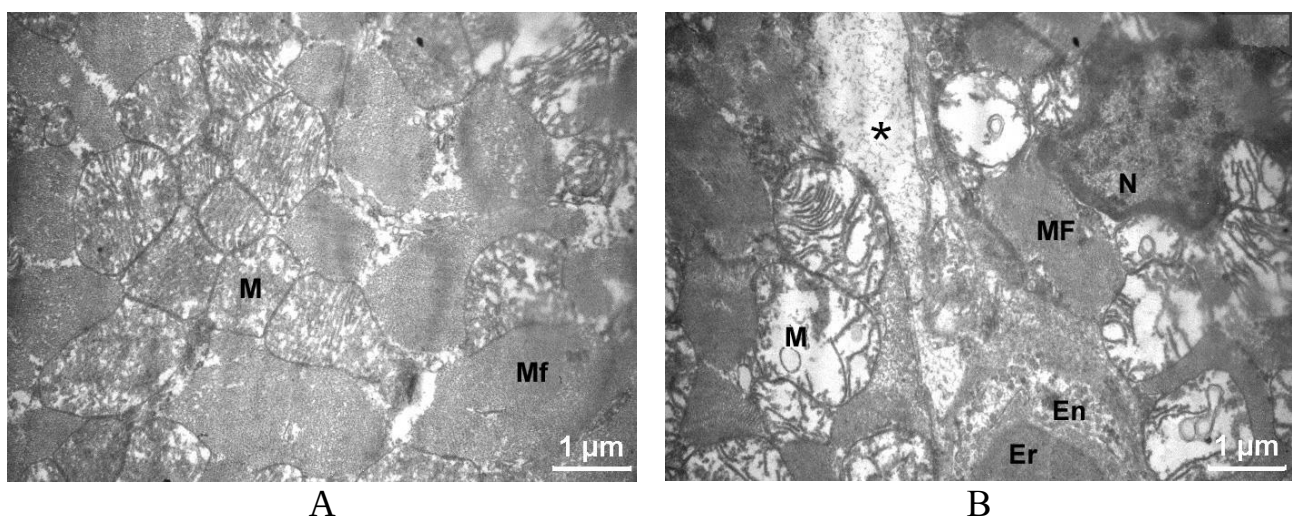
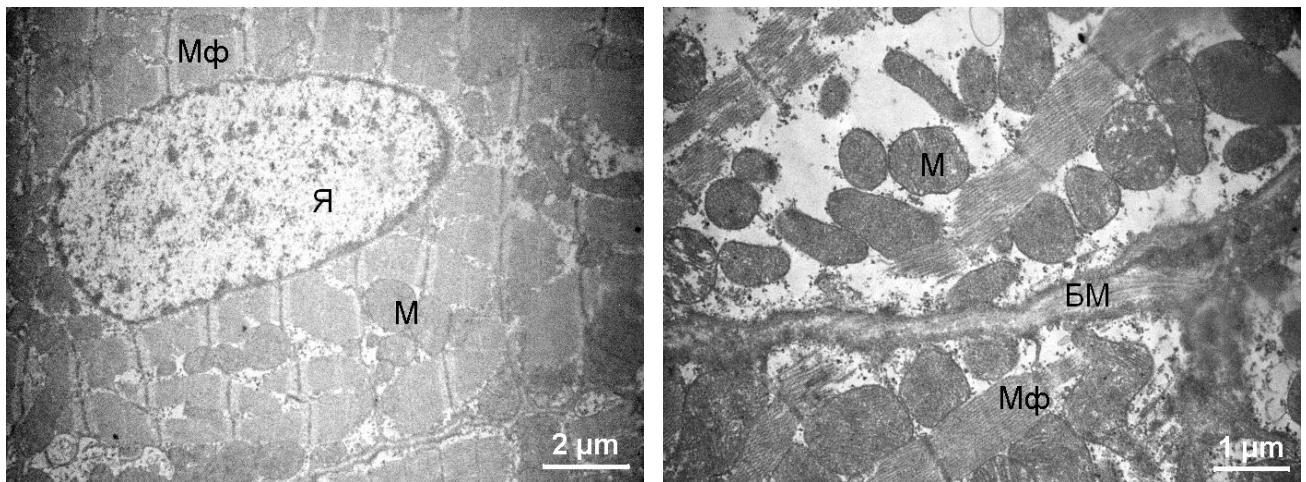


Рис. 8.12. Ультраструктура фрагментів кардіоміоцитів щура в віддаленій від інфаркту зоні на 7-у добу після перев'язки лівої коронарної артерії: А – гіпертрофія і злипання мітохондрій, дезорганізація крист; В – везикуляція крист мітохондрій; Мf – міофібрили; М – мітохондрії; Er – еритроцит в просвіті капіляра; N – ядро кардіоміоцита; En – ендотелій; * – міжклітинний простір.

Ультраструктура міокарда щурів на 7-му добу після перев'язки коронарної артерії та введення МСК

При дослідженні напівтонких зрізів тканини серця після перев'язки лівої коронарної артерії в умовах гіпотермії та введення МСК на 7-му добу експерименту встановлено, що структура кардіоміоцитів відрізнялася різноманітністю. Спостерігалися м'язові волокна як у скороченому, так і у розслабленому станах. Більшість судин кровонаповнена. Ознак набряку не спостерігалось. Електронно-мікроскопічні дослідження свідчили про мозаїчність змін клітин. Поряд із кардіоміоцитами з нормальною структурою

ядра та цитоплазми (рис. 8.13 А), зустрічалися клітини з деструктивними змінами органел на тлі внутрішньоклітинного набряку (рис. 8.13 В). Базальна мембрана та сарколема у цих клітин зберігалися. Більшість ядер кардіоміоцитів мали рівний контур, великі 1-2 ядерця і світлу нуклеоплазму, заповнену переважно еухроматином.

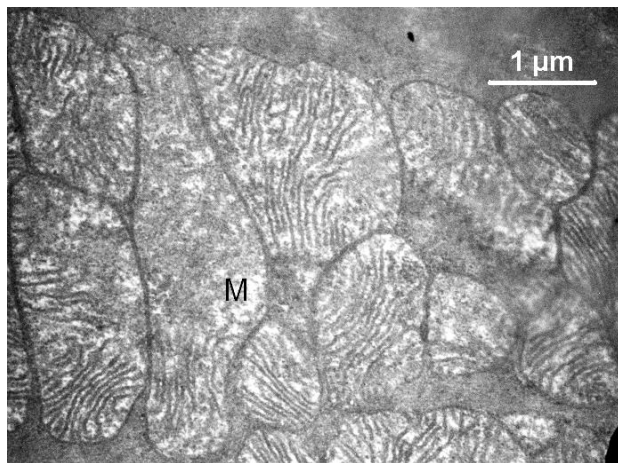


А

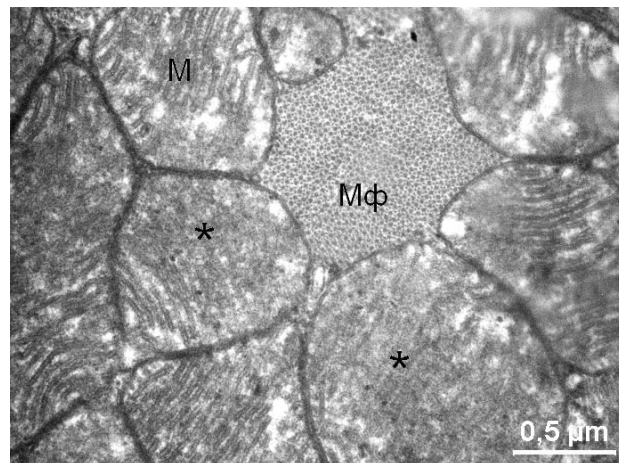
В

Рис. 8.13. Ультраструктура периферичних ділянок кардіоміоцитів із віддаленої від інфаркту зони на 7-му добу після перев'язки лівої коронарної артерії та введення МСК. А – Кардіоміоцит з нормальною ультраструктурою: Я – ядро; М – мітохондрії; Мф – міофібрили; В – кардіоміоцити з деструктивними змінами мітохондрій та міофібрил: М – мітохондрії; Мф – міофібрили; БМ – базальна мембрана

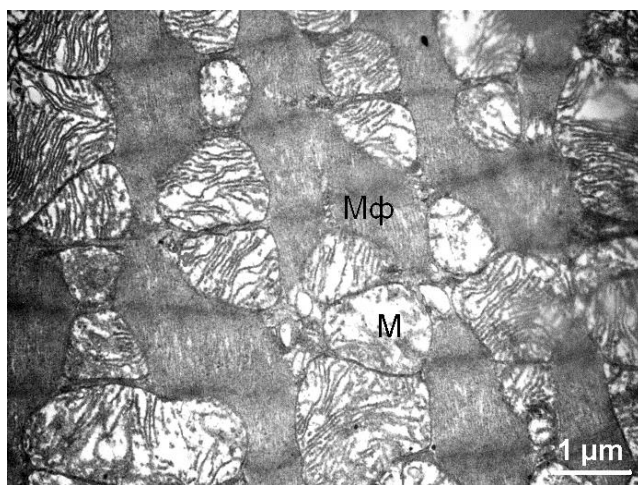
Для мітохондрій кардіоміоцитів була характерна різноманітна ультраструктура, при цьому переважали мітохондрії збільшених розмірів з добре окресленими кристами (рис. 8.14 А). У деяких мітохондріях спостерігалася локальна гомогенізація крист (рис. 8.14 В), в інших зміна форми, просвітлення матриксу та локальна деструкція їх крист (рис. 8.14 С). Виявлялися також мітохондрії із везикулярними кристами.



A



B



C

Рис. 8.14. Різний стан ультраструктури мітохондрій у кардіоміоцитах з віддаленої від інфаркту зони на 7-му добу після перев'язки лівої коронарної артерії та введення МСК: А – гіпертрофія; В – локальна гомогенізація крист (зірочка); С – набухання мітохондрій та деструкція крист. М – мітохондрії; Мф – міофібрили

У тварин цієї групи в кардіоміоцитах з віддаленої від інфаркту зони на 7-му добу зустрічалися гранули глікогену, локалізовані як у міжмітохондріальних та міжфібрилярних просторах, так і в навколоядерній зоні клітин (рис. 8.15).

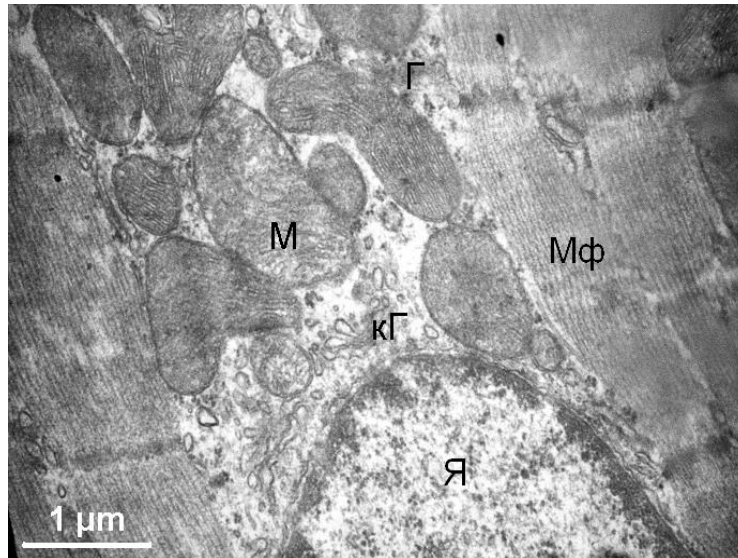


Рис. 8.15. Наявність гранул глікогену в цитоплазмі кардіоміоциту з віддаленої від інфаркту зони на 7-му добу після перев'язки лівої коронарної артерії та введення МСК. Я – ядро; М – мітохондрії; кГ – комплекс Гольджі; Мф – міофібрили; Г – глікоген; СПР – саркоплазматичний ретикулум

Ультраструктура ендотеліоцитів була близькою до нормальної, проте ядра деяких клітин мали лопатевий вигляд з маргінальною локалізацією гетерохроматину. Мітохондрії дрібні, округлі з короткими кристами. Люмінальна поверхня ендотеліоцитів містила мікровілі різної довжини. У цитоплазмі ендотеліальних клітин виявлялося багато піноцитозних везикул (рис. 8.16).

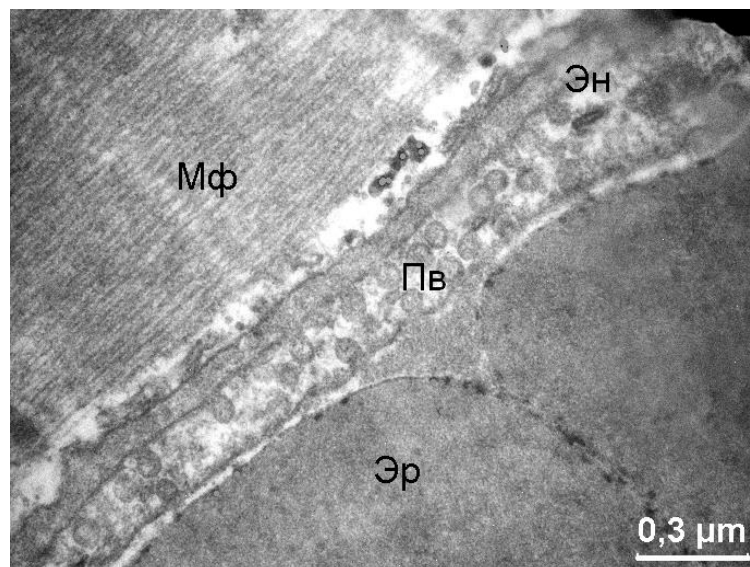


Рис. 8.16. Фрагмент судинної стінки з піноцитозними везикулами у цитоплазмі ендотеліоциту з віддаленої від інфаркту зони на 7-му добу після перев'язування лівої коронарної артерії та введення МСК. Эн – ендотеліоцит; Мф – міофібрили; Ер – еритроцит; Пв – піноцитозні везикули

В результаті тканинної гіпоксії при ІМ найбільш значним змінам піддаються мітохондрії, які відіграють ключову роль в енергетичному метаболізмі клітин. Зниження рівня мітохондріального дихання призводить до суттєвого дефіциту енергетичних запасів клітини та генерування мітохондріями активних форм кисню – одного з головних факторів ушкодження клітин.

Введення МСК на тлі ІМ приводило до вираженої нормалізації ультраструктурних параметрів мітохондрій. За питомим об'ємом і розмірами мітохондрії відповідали нормі. Кількість крист у них після введення МСК залишалася значно нижче норми, але збільшувалася майже в 2 рази у порівнянні з контролем (табл. 8.2). Це свідчить про підвищення інтенсивності роботи мітохондріального апарату кардіоміоцитів і може розглядатися як ознака їх адаптації до несприятливих умов.

Таблиця 8.2

**Морфометричні характеристики мітохондрій в інтактних зонах міокарда
лівого шлуночка щурів на 7-му добу
після моделювання ІМ та введення МСК (М±m)**

Параметри	Норма	ІМ, контроль	ІМ + МСК
Питомий об'єм, %	30 ± 2,3	36,3 ± 1,3 ¹	32,6 ± 1,5 ²
Площа мітохондрії, мкм ²	0,64 ± 0,03	1,33 ± 0,05 ¹	0,85 ± 0,1 ^{1,2}
Кількість крист у мітохондрії	26,7 ± 3,2	9,2 ± 3,8 ¹	16,3 ± 3,4 ^{1,2}

Примітки: 1 – відмінності значимі щодо норми (p < 0,05), 2 – відмінності значимі щодо групи контролю (p < 0,05).

Таким чином, після перев'язки ЛВА у тварин спостерігалися виражені деструктивні зміни ультраструктури кардіоміоцитів: набряк і вакуолізація цитоплазми, фрагментація саркоплазматичної мережі, руйнування міофібрил, деструкція мітохондрій і десмосом, що свідчить про глибоку енергетичну недостатність і порушення внутрішньоклітинної організації серцевих клітин.

У періінфарктній зоні зберігалися окремі кардіоміоцити з частково інтактною ультраструктурою, що відображало активацію компенсаторно-

пристосувальних реакцій, однак без зовнішнього втручання ці процеси були недостатніми для відновлення функціональної активності міокарда.

Введення мезенхімальних стромальних клітин на тлі експериментального інфаркту міокарда сприяло збереженню цілісності сарколеми, базальної мембрани та міжклітинних контактів, нормалізації структури міофібрил і ядер кардіоміоцитів, що свідчить про стабілізацію ультраструктурної організації серцевої тканини.

Мітохондрії кардіоміоцитів після введення МСК характеризувалися чіткою структурою, помірними розмірами та відновленням кількості крист, що відображає підвищення інтенсивності окисного фосфорилування та нормалізацію енергетичного обміну.

Наявність у кардіоміоцитах гранул глікогену та активний стан ендотеліоцитів судин мікроциркуляторного русла свідчать про покращення трофіки, мікроциркуляції та відновлення метаболічної активності тканини під впливом МСК.

Морфометричні показники підтвердили позитивний вплив МСК: кількість крист у мітохондріях збільшувалася майже вдвічі, а питомих об'єм органел наближався до норми ($p < 0,05$), що свідчить про енерготропну та цитопротекторну дію МСК при ішемічному ураженні міокарда.

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що введення мезенхімальних стромальних клітин забезпечує відновлення ультраструктурної організації кардіоміоцитів, нормалізацію їх енергетичного метаболізму та створює морфологічні передумови для підвищення стійкості серцевого м'яза до ішемічного пошкодження.

8.2. Динаміка морфологічних змін міокарда під впливом екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят, що входять у композит «альгінатний гідрогель – екстракт», імплантованого в міокард щурів на моделі кріодеструкції серця

Для комплексної оцінки дії композиту «альгінатний гідрогель – екстракт» на перебіг морфологічних змін у міокарді після кріодеструкції була сформована багатокомпонентна експериментальна схема, що включала шість груп тварин.

Морфологічна характеристика серця інтактних тварин (група 1), що використовувалася як еталон для оцінки структурних змін, детально представлена у **підрозділі 8.1.1**. Вона відображає нормальну гістоархітектуру міокарда, особливості розташування кардіоміоцитів, стан мікроциркуляторного русла та сполучнотканинного компонента.

2 група – кріодеструкція лівого шлуночка протягом 30 с, що моделює локальний ішемічний некроз і відображає природний перебіг ушкодження без корекції;

3 група – введення альгінату без попереднього ушкодження, що дозволяє оцінити власну біосумісність полімеру, його вплив на інтактний міокард та можливу запальну реакцію тканини;

4 група – кріодеструкція з подальшим введенням альгінату, яка моделює механічний і трофічний ефект полімерного імплантата в умовах ушкодження, дозволяючи оцінити, наскільки альгінат сам по собі сприяє стабілізації зони некрозу та обмеженню запалення;

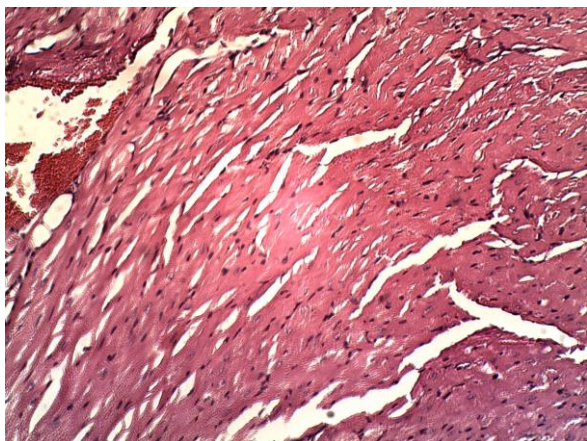
5 група – кріодеструкція з введенням метопрололу, який застосовувався як фармакологічний контроль із доведеною кардіопротекторною дією, що забезпечує порівняння ефективності полімерної терапії з класичними медикаментозними засобами;

6 група – кріодеструкція з подальшим введенням композиту «альгінатний гідрогель – екстракт», що поєднує механічну підтримку альгінату та біоактивний ефект пептидного екстракту, створюючи умови для оптимізації репаративних процесів у зоні пошкодження.

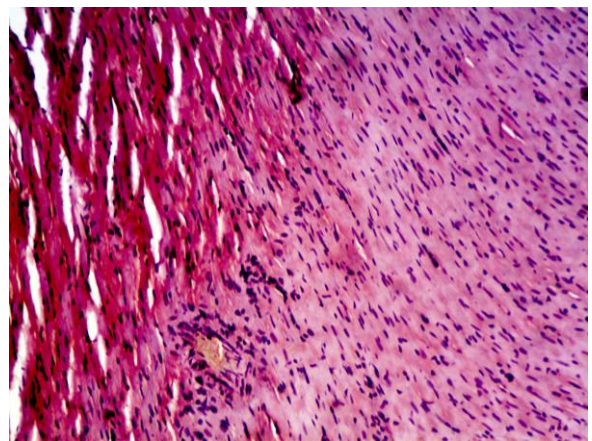
Таким чином, застосування диференційованої схеми з кількома експериментальними групами дозволяє не лише оцінити біосумісність і терапевтичну дію альгінатного гідрогелю, але й визначити синергічний ефект його поєднання з екстрактами кріоконсервованих фрагментів серця, що відкриває перспективи для розробки нових біоінженерних стратегій у відновній кардіології.

Морфологічна характеристика міокарда після кріодеструкції лівого шлуночка протягом 30 с

При мікроскопічному дослідженні в міокарді щурів групи 2 на **1-шу добу** після кріовпливу виявлявся інтерстиціальний набряк, місцями зникала поперекова смугастість, при цьому саркоплазма кардіоміоцитів набувала зернистого вигляду, ядра їх були гіперхромними, зменшеними в розмірах (рис. 8.17 А).



А



В

Рис. 8.17. Мікропрепарати міокарда щурів на 1-шу добу після кріодеструкції ЛШ протягом 30с. А – Інтерстиціальний набряк; гіперхромні, зменшені в розмірах ядра кардіоміоцитів; дилатована вена; В – Субсегментарні контрактири міофібрил з пікнотичними ядрами, наростаюча кількість нейтрофілів, макрофагів, лімфоцитів. Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 200$

Це свідчило про первинну дегенерацію і загибель кардіоміоцитів, що супроводжується колапсом строми і відповідною реакцією у вигляді інтерстиціального набряку і нерівномірної гіпертрофії м'язових волокон, які призводять до гострої коронарної недостатності. При цьому виявлялися

повнокровні вени і капіляри, що спалися. Була значно збільшена кількість нейтрофілів і макрофагів і, мабуть, посиленням їх розпаду можна пояснити базofilію проміжної тканини. З'являлися клітини типу лімфоцитів (рис. 8.17, В).

На 7-му добу з моменту формування інфаркту міокарда деструктивні процеси поступалися місцем репаративним. Розвивався процес організації неспецифічної грануляційної тканини – запальної неспецифічної інфільтрації тканини, що має дифузний характер, але з переважною локалізацією інфільтрату навколо судин. Міокард був представлений практично безструктурними білковими масами з фрагментами м'язових волокон. Ця зона некрозу була оточена зоною реактивної інфільтрації, в якій поряд з лейкоцитами виявлялися лімфоцити, плазмоцити і фібробласти, а також макрофаги (рис. 8.18).

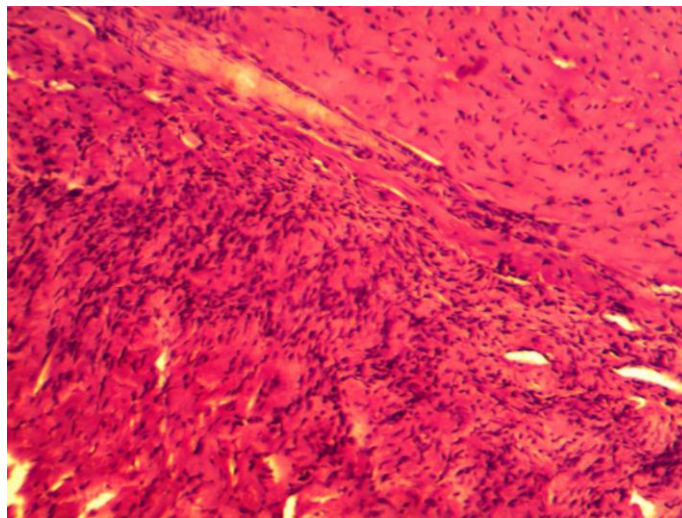


Рис. 8.18. Мікропрепарат міокарда щура на 7-му добу після кріодеструкції ЛШ протягом 30с. Неспецифічна грануляційна тканина навколо зони некрозу (який знаходиться в правому верхньому куті). Активний фагоцитоз некротизованих м'язових волокон макрофагами. Зabarвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

Мікроскопічно відзначався активний фагоцитоз макрофагами некротизованих м'язових волокон. Поступово по периферії зони кріонекрозу розвивалася неспецифічна грануляційна тканина. Загибла тканина заміщався фібробластами, лімфоцитами і плазмоцитами, з'являлися тонкі сполучнотканинні волокна в напрямку загиблих м'язових волокон.

На **14-ту добу** дослідження репаративний процес тривав. Регенераторний пласт був ще незрілий, в ньому визначалися тонкостінні кровоносні судини і капіляри, виявлявся багатоклітинний інфільтрат, представлений макрофагами, лімфоцитами, плазмоцитами, фібробластами. Зазначалася поява тонких коротких пучків колагенових волокон, що почали формуватися і були розташовані без певної орієнтації (рис. 8.19). На периферії зони регенерату кількість кровоносних судин у порівнянні з попереднім терміном дослідження зменшувалася, частина з них спустошувалася, а просвіт заповнювався ніжними колагеновими волокнами, між якими визначалися численні фібробласти.

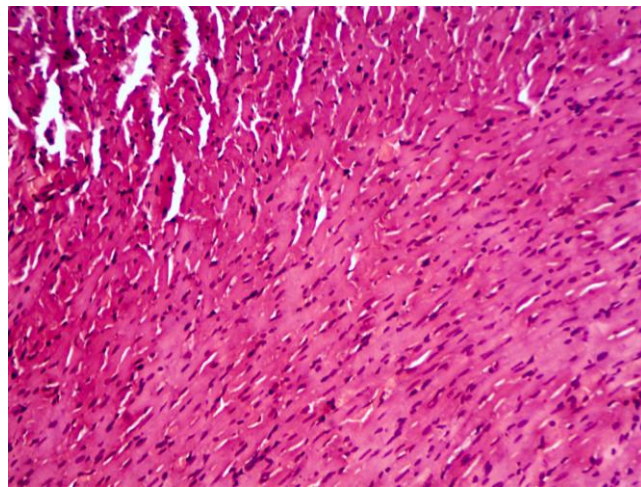
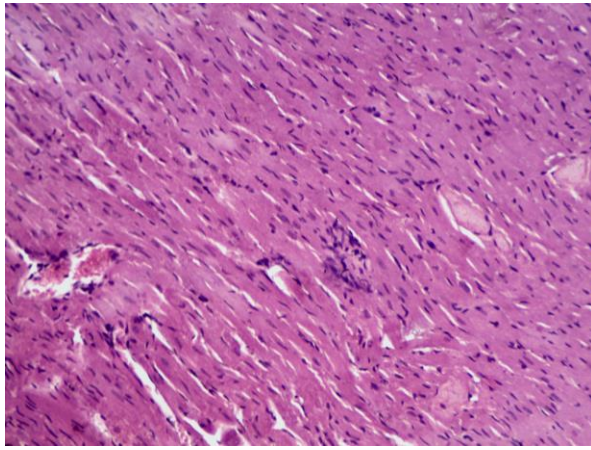
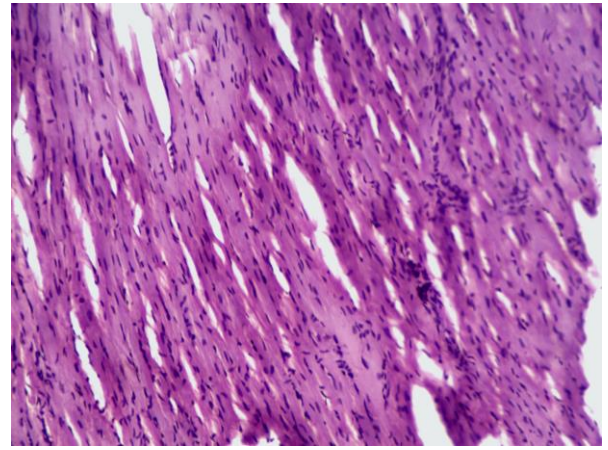


Рис. 8.19. Мікропрепарат міокарда щура на 14-ту добу після кріодеструкції ЛШ протягом 30с. Багатоклітинний інфільтрат і пучки колагенових волокон без певної орієнтації, що формуються навколо зони некрозу. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

На 30-ту добу експерименту зона ураження міокарда заміщувалася рубцевою тканиною. Зона регенерату була представлена новоствореною сполучною тканиною різного ступеня зрілості, що складалася з переважно паралельних поверхні стінки серця колагенових волокон. Між ними визначалася невелика кількість макрофагів, лімфоцитів, плазмоцитів, фібробластів і фіброцитів, а також кровоносні судини з диференціюванням їх на артеріальні і венозні (рис. 8.20 А). В міокарді, який оточував зону кріонекрозу відзначали гіпертрофію кардіоміоцитів з чітким рисунком міофібрил, укрупненням ядер і слабо вираженою поперековою смугастістю (рис. 8.20 В).



А



В

Рис. 8.20. Мікропрепарати міокарда щурів на 30-ту добу після кріодеструкції ЛШ протягом 30с. А – Новоутворена сполучна тканина зони регенерату з кровоносними судинами; В – Кардіоміоцити з чітким рисунком міофібрил і укрупненням ядер у міокарді, що оточує зону кріонекрозу. Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 200$

Морфологічна характеристика міокарда після введення альгінату

При мікроскопічному дослідженні в міокарді щурів групи 3 на **1-шу добу** після введення альгінату виявлялися групи кардіоміоцитів, що формують м'язові волокна, які анастомозують між собою. На гістологічних зрізах скорочувальні кардіоміоцити визначалися у вигляді клітин з помірно забарвленими гематоксилином паличкоподібними ядрами і еозинофільною цитоплазмою з добре контурованим рисунком міофібрил. Спостерігався помірний набряк строми (рис. 8.21). У стромі спостерігалися судини різного калібру. Інтрамуральні артерії середнього і дрібного калібру були помірно кровонаповнені. В стінках деяких судин спостерігалася плазматичне просочування інтими, пикноз ядер ендотелію, визначалося крайове стояння і еміграція лейкоцитів. Капіляри були незначно розширені, звиті і повнокровні.

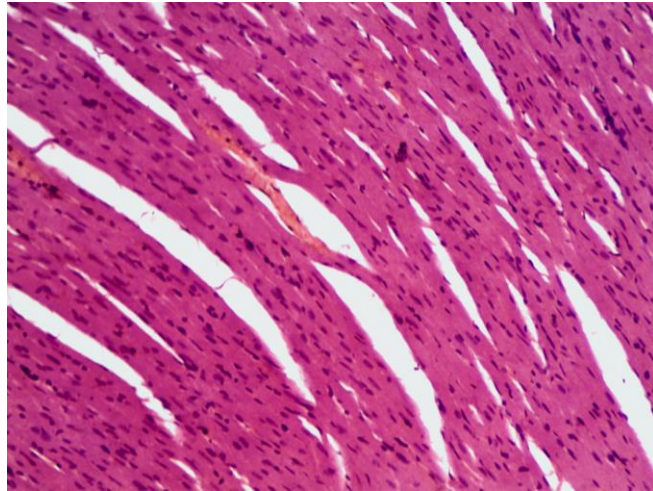
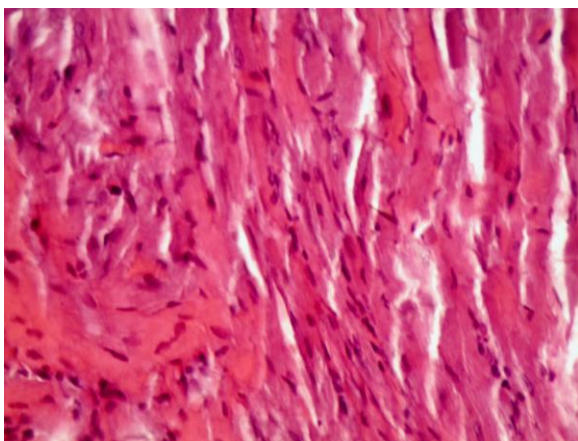
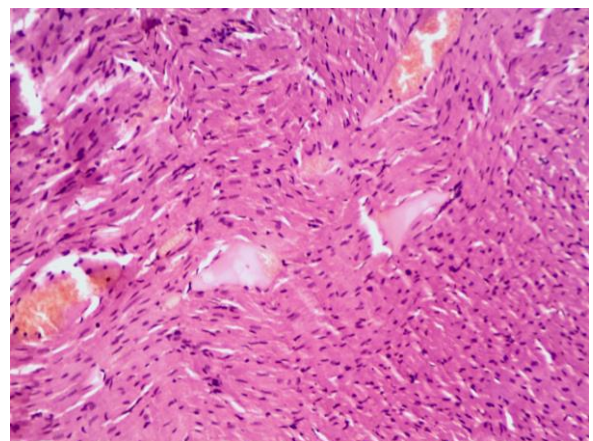


Рис. 8.21. Мікропрепарат міокарда щура на 1-шу добу після введення альгілату. М'язові волокна, які анастомозують між собою, помірний набряк строми, повнокров'я капілярів. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

На 7-му добу після введення альгілату в міокарді щурів з експериментальної групи виявлялися групи кардіоміоцитів, об'єднаних у нерівномірної товщини м'язові волокна з ознаками фрагментації. Поперекова смугастість була слабо виражена, а місцями була відсутня. В деяких ділянках виявлявся пікноз ядер, глибокий розпад міофібрил. Спостерігалися нерівномірне розширення, звивистість капілярів, повнокров'я, стаз. Виявлявся слабкий набряк строми (рис. 8.22). Наростала кількість нейтрофільних лейкоцитів, з'являлися нечисленні макрофаги.



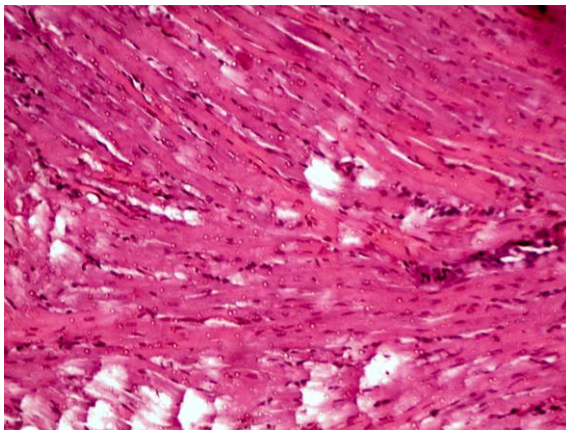
А



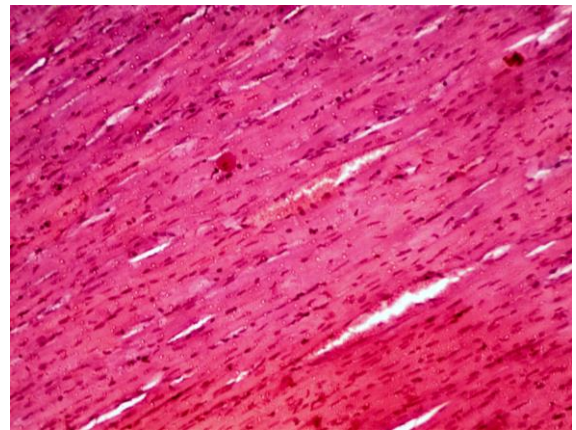
В

Рис. 8.22. Мікропрепарати міокарда щурів на 7-му добу після введення альгілату. А – М'язові волокна нерівномірної товщини з ознаками фрагментації. Слабкий набряк строми, $\times 400$; В – Повнокров'я і стаз судин і капілярів. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

На **14-ту добу** після введення альгілату при мікроскопічному дослідженні міокарда щурів групи 3 виявлялися упорядковано розташовані міокардіоцити з характерною поперековою смугастістю і наявністю базофільних ядер. Ядра з дифузним дрібнодисперсним хроматином мали овальну форму, були орієнтовані вздовж поздовжньої осі волокон і займали центральне положення. Цитоплазма клітин була помірно еозинофільною. При значному збільшенні добре визначалися сарколема і вставні диски. На поперечному зрізі м'язові волокна мали округлу форму. Коронарна мікроваскулярна мережа була добре розвинена, між кардіоміоцитами позначалися довгасті гіперхромні ядра ендотелію капілярів (рис. 8.23 А). Спостерігався слабкий набряк строми. В цілому можна констатувати, що структура міокарда була близька за своєю будовою до міокарда інтактних щурів групи 1.



А



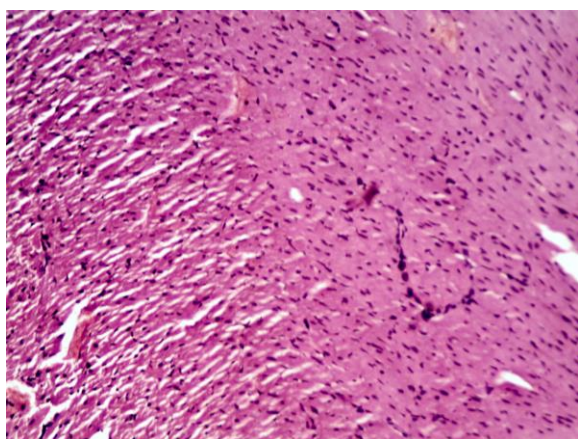
В

Рис. 8.23. Мікропрепарати міокарда щурів групи на 14-ту (А) і 30-ту (В) добу після введення альгілату. Добре орієнтовані м'язові волокна, міжм'язова пухка сполучна тканина. Слабкий набряк строми (А). Серцева м'язова тканина, що пронизана судинами і капілярами, які заповнені форменими елементами крові (В). Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

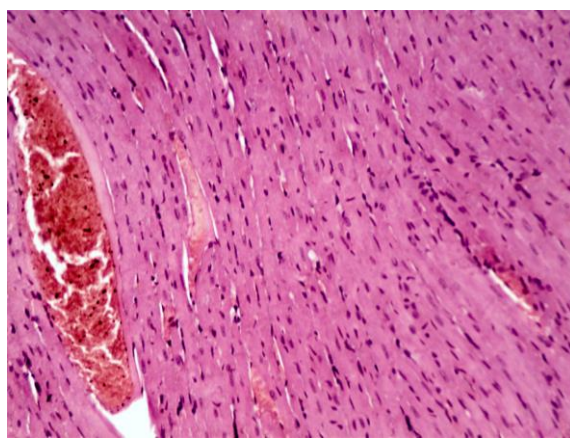
На **30-ту добу** після введення альгілату гістологічна картина міокарда щурів цієї експериментальної групи практично не відрізнялася від норми і складалася з поперековосмугастої серцевої м'язової тканини, міжм'язової пухкої сполучної тканини, численних судин і капілярів (рис. 8.23 В).

Морфологічна характеристика міокарда після кріодеструкції стінки лівого шлуночка протягом 30 с з подальшим введенням альгінату

При мікроскопічному дослідженні в міокарді щурів групи 4 на 1-шу добу після кріодеструкції протягом 30 с стінки лівого шлуночка з наступним введенням альгінату виявлявся пікноз ядер, глибокий розпад міофібрил кардіоміоцитів, нерівномірне розширення, звивистість капілярів, повнокров'я і стаз більш великих кровоносних судин. У стінках деяких судин зазначалося плазматичне просочування інтими, пікноз ядер ендотелію. У зоні, яка оточувала ділянку ураження, значно збільшувалася кількість нейтрофілів і макрофагів, спостерігалася базофілія проміжної тканини (рис. 8.24). Однак формування прикордонного лейкоцитарного вала не спостерігалось.



А



В

Рис. 8.24. Мікропрепарати міокарда щурів на 1-шу добу після кріовпливу та введення альгінату. А – Пікноз ядер і глибокий розпад міофібрил кардіоміоцитів. Значне збільшення кількості нейтрофілів і макрофагів в зоні, яка оточує ділянку ураження. Базофілія проміжної тканини; В – Повнокров'я і стаз кровоносних судин. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

Мікроскопічно через 7 діб у щурів групи 4 в міокарді, що був ушкоджений кріодією, з наступним введенням альгінату спостерігалось проростання капілярів грануляційної тканини, яка розвивалася навколо зони некрозу між некротизованими м'язовими волокнами скорочувальної серцевої мускулатури.

М'язові волокна були набряклі, позбавлені поперекової смугастості, гомогенізовані, по периферії спостерігалися кардіоміоцити в стані первинного глибокого розпаду. Відзначалося збільшення кількості без'ядерних м'язових клітин. У стромі міокарда визначалися одиничні лейкоцити (рис. 8.25).

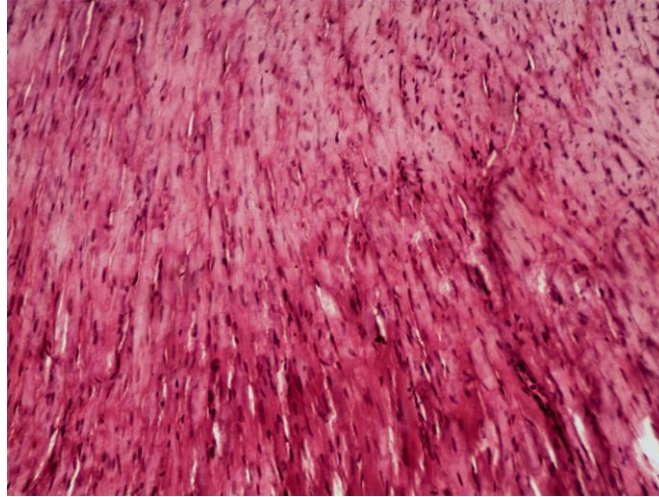


Рис. 8.25. Мікропрепарат міокарда щура на 7-му добу після кріовпливу та введення альгінату. Проростання капілярів грануляційної тканини між набряклими і позбавленими поперекової смугастості м'язовими волокнами. Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 200$

До цього терміну експерименту зона кріонекрозу була оточена зоною реактивної інфільтрації, в якій поряд з лейкоцитами виявлялися лімфоцити, плазмоцити і фібробласти, а також макрофаги, що містили фрагменти м'язових волокон.

На **14-ту добу** після кріовпливу та введення альгінату при мікроскопічному дослідженні міокарда щурів групи 4 відзначався активний фагоцитоз макрофагами некротизованих м'язових волокон. Загибла тканина заміщалася фібробластами, лімфоцитами і плазмоцитами, з'являлися тонкі сполучнотканинні волокна в напрямку загиблих м'язових волокон. По периферії зони кріонекрозу з'являлася грануляційна тканина. Зазначалася поява тонких коротких пучків колагенових волокон, що почали формуватися (рис. 8.26).

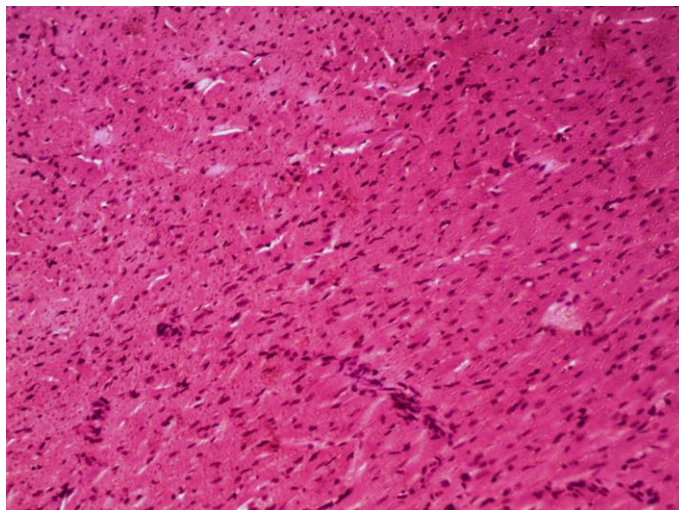


Рис. 8.26. Мікропрепарат міокарда щура на 14-ту добу після кріовпливу та введення альгілату. Заміщення загиблої м'язової тканини фібробластами, лімфоцитами і плазмоцитами. Поява тонких сполучнотканинних волокон у напрямку загиблих м'язових волокон. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

На **30-ту добу** після кріовпливу та введення альгілату при мікроскопічному дослідженні міокарда щурівгрупи 4 відзначалася новостворена пухка сполучна тканина, представлена зрілими колагеновими волокнами, а також кровоносними судинами і капілярами. Зустрічалось невелика кількість макрофагів, лімфоцитів, плазмоцитів, фібробластів і фіброцитів (рис. 8.27).

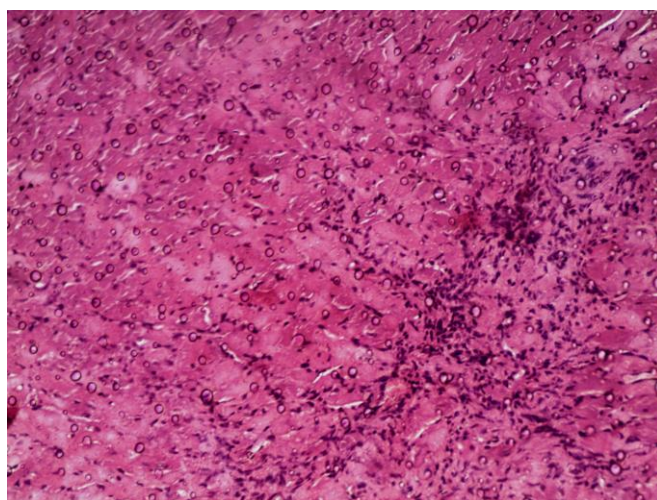


Рис. 8.27. Мікропрепарат міокарда щура на 30-ту добу після кріовпливу та введення альгілату. Заміщення загиблої м'язової тканини в зоні кріонекрозу новоствореною пухкою сполучною тканиною з кровоносними судинами і капілярами. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

Морфологічна характеристика міокарда після кріодеструкції стінки лівого шлуночка протягом 30 с з подальшим введенням метопрололу

Мікроскопічно при дослідженні міокарда щурів групи 5 **на 1-шу добу** після кріодеструкції стінки лівого шлуночка протягом 30 с з подальшим введенням метопрололу спостерігалися симптоми перерозподілу крові і втрата смугастості м'язових волокон. Виявлялися пікноз ядер, глибокий розпад міофібрил в кардіоміоцитах. Виявлялися кардіоміоцити з грудкуватою і еозинофільною цитоплазмою. Спостерігалось нерівномірне розширення і звивистість капілярів, а також повнокров'я і стаз більш великих кровоносних судин. Визначався початок організації лейкоцитарного валу навколо зони кріонекрозу. Збільшена кількість нейтрофілів і макрофагів та їх розпад зумовлювали базофілію проміжної тканини. З'являлися клітини типу лімфоцитів. Спостерігався набряк строми (рис. 8.28).

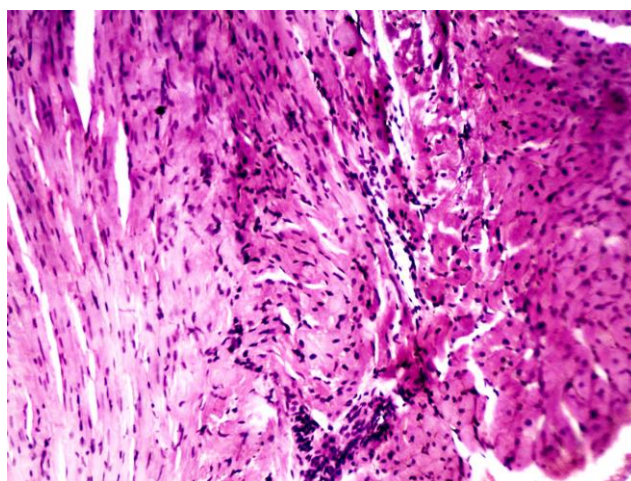


Рис. 8.28. Мікропрепарат міокарда щура на 1-шу добу після кріовпливу та введення метопрололу. Початок організації лейкоцитарного валу навколо зони кріонекрозу (ліворуч). Базофілія проміжної тканини. Набряк строми. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

При мікроскопічному дослідженні міокарда щурів групи 5 **на 7-му добу** після кріовпливу та введення метопрололу в зоні кріонекрозу визначалися набряклі м'язові волокна, позбавлені поперекової смугастості і гомогенізовані. Спостерігалися множинні сегментарні контрактири, по периферії були видні кардіоміоцити в стані первинного глибокого розпаду. Спостерігався набряк строми. У стромі міокарда визначалися лейкоцити, що свідчило про наростання

інтенсивності дифузійної клітинної інфільтрації (рис. 8.29). Відзначався лейкоцитарний вал, що оточував зону некрозу.

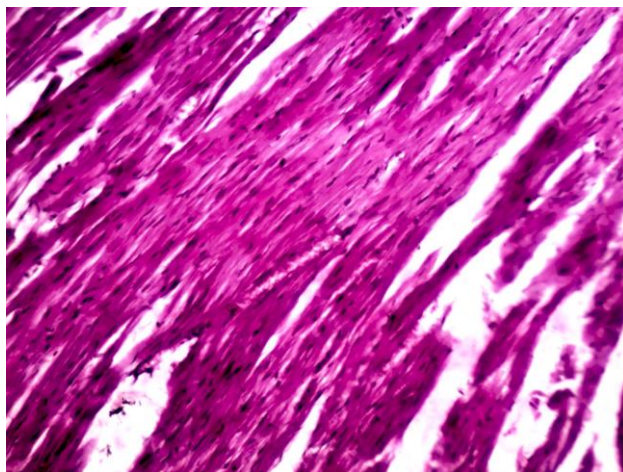


Рис. 8.29. Мікропрепарат міокарда щура групи 5 на 7-му добу після кріовпливу та введення метопрололу. Набряклі гомогенізовані м'язові волокна, позбавлені поперекової смугастості. Наростання інтенсивності дифузійної клітинної інфільтрації. Набряк строми. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

На **14-ту добу** з моменту формування кріонекрозу міокарда після кріовпливу на фоні введення метопрололу розвивався процес організації сполучнотканинного рубця. Мікроскопічно відзначався активний фагоцитоз макрофагами некротизованих м'язових волокон. Загибла тканина заміщала фібробластами, лімфоцитами і плазмоцитами, з'являлися тонкі сполучнотканинні волокна в напрямку загиблих м'язових волокон (рис. 8.30).

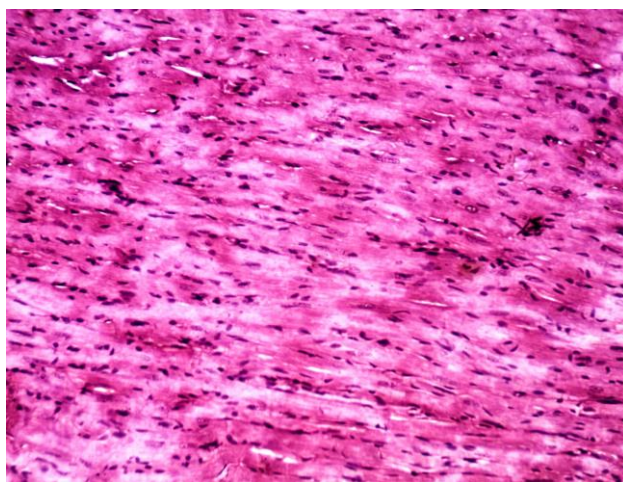


Рис. 8.30. Мікропрепарат міокарда щура на 14-ту добу після кріовпливу та введення метопрололу. Заміщення загиблих м'язових волокон тонкими сполучнотканинними волокнами, а також фібробластами, лімфоцитами і плазмоцитами. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

Через **30 діб** у міокарді щурів групи 5 після кріовпливу і введення метопрололу мікроскопічно виявлялася новостворена тканина, яка була представлена зрілими колагеновими волокнами (рис. 8.31 А), а також кровоносними судинами і капілярами. Зустрічалася невелика кількість макрофагів, лімфоцитів, плазмоцитів, фібробластів і фіброцитів (рис. 8.31 В). В цілому осередки ураження міокарда заміщувалися рубцевою тканиною.

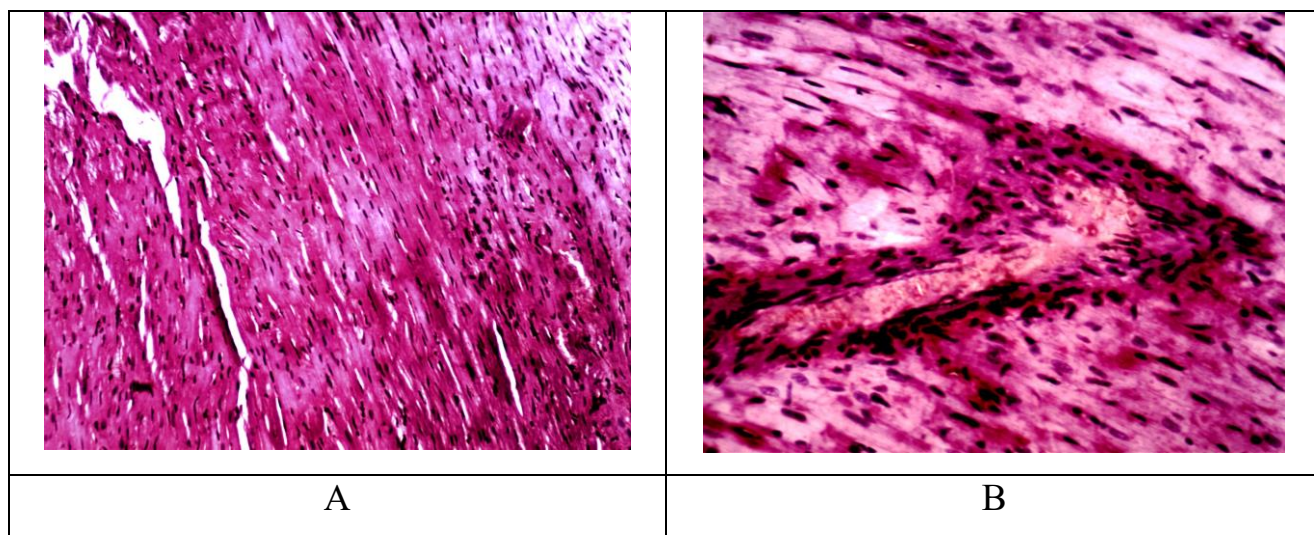


Рис. 8.31. Мікропрепарати міокарда щурів групи 5 на 30-ту добу після кріовпливу та введення метопрололу. А – Новоутворена тканина представлена зрілими колагеновими волокнами, $\times 200$; В – Численні фібробласти навколо судини. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 400$

Морфологічна характеристика міокарда після кріодеструкції стінки лівого шлуночка протягом 30 с з введенням альгінатного імплантата, насиченого ЕСцП

При мікроскопічному дослідженні міокарда щурів групи 6 на 1-шу добу після кріодеструкції стінки лівого шлуночка протягом 30 сек з подальшим введенням альгінату в поєднанні з екстрактом пептидів виявлялися симптоми перерозподілу крові і втрата смугастості м'язових волокон у зоні кріонекрозу. Спостерігалися кардіоміоцити з грудкуватою і еозинофільною цитоплазмою. Виявлявся також міоцитоліз. Визначалася підвищена кількість нейтрофілів, виявлялися нечисленні макрофаги. Морфологічна картина навколо зони кріонекрозу представляла собою початок організації грануляційної тканини (рис. 8.32).

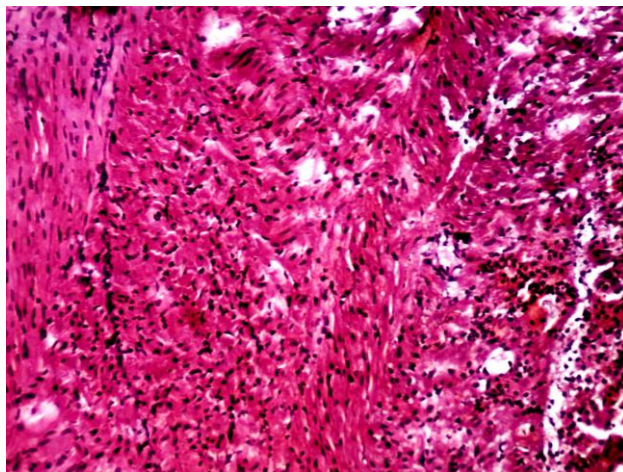


Рис. 8.32. Мікропрепарат міокарда щура на 1-шу добу після кріовпливу та введення альгінату в поєднанні з екстрактом пептидів. Початок організації грануляційної тканини. Підвищена кількість нейтрофілів, нечисленні макрофаги. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

Мікроскопічно в міокарді щурів групи 6 на 7-му добу після кріовпливу та введення альгінату в поєднанні з екстрактом пептидів в осередку ураження міокарда і навколо нього розвивалися капіляри, проліферували фібробласти, з'являлися колагенові волокна (рис. 8.33). У зоні кріонекрозу виявлялося також скупчення макрофагів з активним фагоцитозом некротизованих м'язових волокон. Осередок ураження був оточений зоною реактивної інфільтрації, в якій поряд з лейкоцитами виявлялися лімфоцити, плазмоцити і фібробласти, а також макрофаги, що містили фрагменти м'язових волокон.

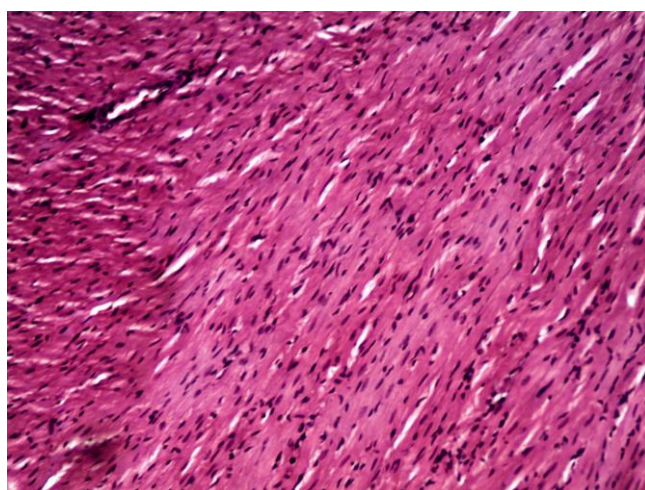


Рис. 8.33. Мікропрепарат міокарда щура на 7-му добу після кріовпливу та введення альгінату в поєднанні з екстрактом пептидів. Розвиток капілярів, проліферація фібробластів, що синтезують колагенові волокна. Активний фагоцитоз макрофагами некротизованих м'язових волокон у зоні кріонекрозу (ліворуч). Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

Через 14 діб після моделювання кріонекрозу і на тлі введення альгілату в поєднанні з екстрактом пептидів в міокарді тварин групи 6 новостворена тканина в зоні кріонекрозу мікроскопічно була представлена зрілими колагеновими волокнами, а також кровоносними судинами і капілярами соматичного, або м'язового типу, стінки яких утворені суцільним безперервним шаром ендотеліальних клітин. Зустрічалася невелика кількість макрофагів, лімфоцитів, плазмоцитів, фібробластів і фіброцитів (рис. 8.34).

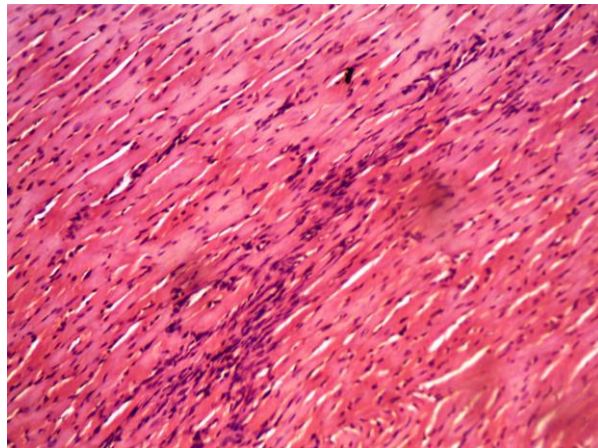


Рис. 8.34. Мікропрепарат міокарда щура групи 6 на 14-ту добу після кріовпливу та введення альгілату в поєднанні з екстрактом пептидів. Новоутворена тканина в зоні кріонекрозу представлена зрілими колагеновими волокнами, капілярами, невеликою кількістю макрофагів, лімфоцитів, плазмоцитів, фібробластів і фіброцитів. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

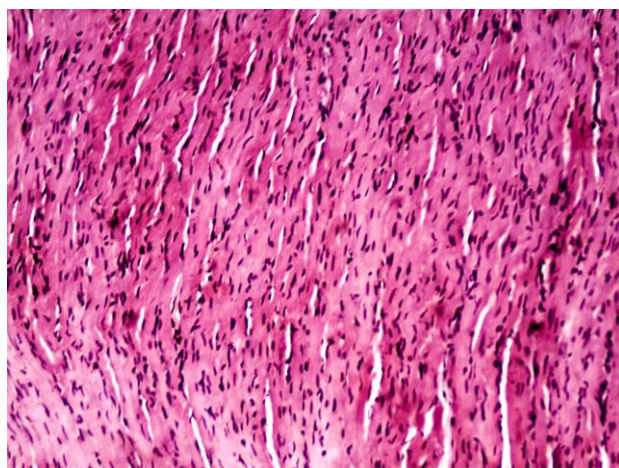


Рис. 8.35. Мікропрепарат міокарда щура на 30-ту добу після кріовпливу та введення альгілату в поєднанні з екстрактом пептидів. Новостворена рубцева тканина із зрілими колагеновими волокнами, капілярами, лімфоцитами, фібробластами, фіброцитами і невеликою кількістю макрофагів у зоні кріонекрозу. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

При мікроскопічному дослідженні міокарда щурів групи 6 на 30-ту добу після кріодеструкції стінки лівого шлуночка з наступним введенням альгілату в поєднанні з екстрактом пептидів осередок ураження міокарда заміщався ніжною рубцевою тканиною. Спостерігалась новостворена тканина, яка була представлена зрілими колагеновими волокнами, кровоносними судинами і капілярами, невеликою кількістю, лімфоцитів, плазмоцитів, фібробластів і фіброцитів, а також макрофагів (рис. 8.35).

Аналіз морфометричних показників зони кріонекрозу міокарда на 30-ту добу експерименту свідчить про виражені структурні відмінності між контрольною групою та тваринами, яким вводили метопролол або комбінацію АГІ та екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕСцП) (табл. 8.3).

У контрольній групі, де ураження не коригувалося фармакологічно, відносна площа сполучної тканини становила $27,38 \pm 2,21\%$, що відображало інтенсивне формування постнекротичного кардіосклерозу. Цей показник свідчив про переважання фіброзних змін і обмежену регенераційну активність у зоні ураження.

Таблиця 8.3

**Морфометричні характеристики зони кріонекрозу міокарда
на 30-ту добу ($M \pm m$)**

Кріонекроз міокарда (Контроль)	Кріонекроз міокарда + Метопролол	Кріонекроз міокарда + АГІ+ЕСцП
Відносна площа сполучної тканини, %		
$27,38 \pm 2,21$	$23,28 \pm 1,62^*$	$18,24 \pm 1,62^*$
Відносна площа судин, %		
$6,52 \pm 0,78$	$9,48 \pm 0,28^*$	$10,14 \pm 0,51^*$
Кількість судин на 100000 μm^2		
$6,59 \pm 1,34$	$16,32 \pm 2,41$	$24,34 \pm 2,32^*$

Примітка: * – достовірно відносно групи контролю ($p < 0,05$).

У тварин, яким вводили метопролол, площа сполучної тканини достовірно зменшувалася до $23,28 \pm 1,62\%$ ($p < 0,05$), що свідчило про помірний антифібротичний ефект β -адреноблокатора (табл. 8.3). Зменшення

кількості колагенових волокон супроводжувалося зростанням відносної площі судин до $9,48 \pm 0,28\%$, що вказувало на покращення мікроциркуляції та стимуляцію ангиогенезу у відновленій ділянці міокарда.

Найбільш виражені позитивні зміни спостерігалися у групі АГІ + ЕСцП, де відносна площа сполучної тканини знизилася до $18,24 \pm 1,62\%$ ($p < 0,05$) – на 33% менше порівняно з контролем (табл. 8.3). Це свідчить про значне пригнічення розвитку кардіофіброзу та активізацію регенераційних процесів. Водночас площа судин досягала $10,14 \pm 0,51\%$, а кількість судин на $100\ 000\ \mu\text{м}^2$ – $24,34 \pm 2,32$, що майже в 4 рази перевищувало показник контролю ($6,59 \pm 1,34$) і в 1,5 рази – групу метопрололу ($16,32 \pm 2,41$) (табл. 8.3).

Таким чином, кріодеструкція стінки лівого шлуночка протягом 30 с викликає типові деструктивно-запальні зміни у міокарді, що проявляються розвитком некрозу кардіоміоцитів, інтерстиціальним набряком, нейтрофільною інфільтрацією та подальшим формуванням грануляційної тканини і рубцевого заміщення ураженої зони. Введення альгінатного гідрогелю без попереднього ушкодження не викликає патологічних змін у серцевій тканині, що підтверджує високу біосумісність та безпечність матеріалу як полімерної основи для імплантації. Застосування альгінатного гідрогелю після кріодеструкції сприяє зменшенню деструктивних змін у міокарді, прискорює формування грануляційної тканини та дозрівання колагенових волокон. Введення метопрололу після кріовпливу забезпечує кардіопротекторний ефект, який проявляється помірним зниженням вираженості некротичних змін і стимуляцією заміщення ушкодженої ділянки сполучною тканиною. Найвищу ефективність показало застосування композиту «альгінатний гідрогель – екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят», яке сприяло ранній активації неоангиогенезу, проліферації фібробластів, формуванню зрілої сполучної тканини з розвиненою судинною мережею та зменшенню зони пошкодження міокарда. Композитний імплантат забезпечує оптимальне поєднання механічної стабілізації з біологічною стимуляцією репаративних процесів, що робить його перспективним засобом локальної терапії для відновлення структурної цілісності міокарда після некротичних ушкоджень.

8.3. Особливості морфологічної перебудови міокарда під впливом екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят на тлі експериментальної адреналінової міокардіодистрофії

Адреналінова міокардіодистрофія є експериментальною моделлю, що широко використовується для відтворення ушкоджень серцевого м'яза, подібних до тих, які виникають при стрес-індукованих або катехоламінових кардіоміопатіях у клінічній практиці. Її патогенез ґрунтується на надмірній активації симпато-адреналової системи, яка спричиняє гіперкатехоламінемію, розвиток спазму коронарних судин, ішемію, порушення енергетичного метаболізму кардіоміоцитів та активацію процесів вільнорадикального окиснення ліпідів.

Дослідження впливу екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят на структурно-функціональний стан міокарда при адреналіновій міокардіодистрофії має важливе теоретичне та практичне значення. Воно дозволяє з'ясувати механізми морфологічної перебудови серцевої тканини під дією біологічно активних речовин тканинного походження, визначити їхню роль у нормалізації мікроциркуляції, зменшенні деструктивних процесів і стимуляції репаративних реакцій у пошкодженому міокарді.

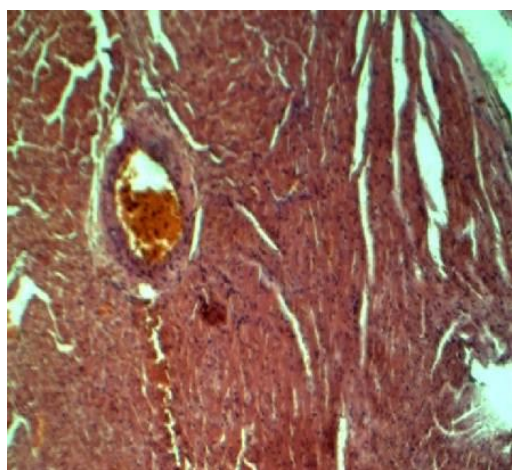
Морфологічна характеристика серця щурів на тлі експериментальної адреналінової міокардіодистрофії

При моделюванні міокардіодистрофії консервативним способом шляхом підшкірного введення адреналіну морфологічні зміни суттєво відрізнялися від тих, що реєструються при класичних моделях некрозу міокарда.

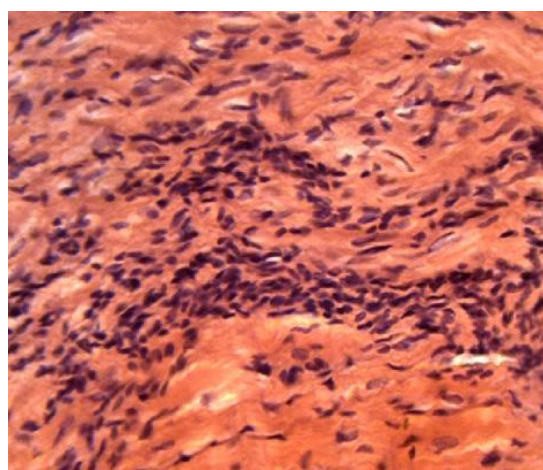
Мікроскопічне дослідження серцевих препаратів щурів дослідної групи засвідчило, що вже через одну годину після підшкірного введення адреналіну у міокарді всіх відділів серця спостерігався виражений спазм артеріальних судин. Просвіти артерій були різко звужені, мали зірчасту або нерівномірно сплюснену форму. Ендотеліоцити зазнавали осередкової десквамації та набували вигляду частоколу. Венозні судини були переповнені кров'ю, тоді як капіляри

характеризувалися паретичним розширенням і значним повнокров'ям, що свідчило про розвиток виражених гемодинамічних порушень у ранній фазі експерименту.

Через одну добу після введення препарату спостерігалось послаблення артеріального спазму, який змінювався парезом судин. У міокарді виявлялися виражені деструктивні зміни: пікноз ядер кардіоміоцитів та ендотеліоцитів, осередкова десквамація ендотелію судин, міграція лейкоцитів крізь судинну стінку (рис. 8.36). На цій стадії ураження охоплювало всю товщу стінки лівого шлуночка, що проявлялося формуванням дрібних вогнищ некрозу з лейкоцитарною інфільтрацією, розташованих переважно навколо дрібних артеріальних судин. Ділянки збережених м'язових волокон чергувалися з осередками деструкції, формуючи картину трансмурального некрозу міокарда.



А

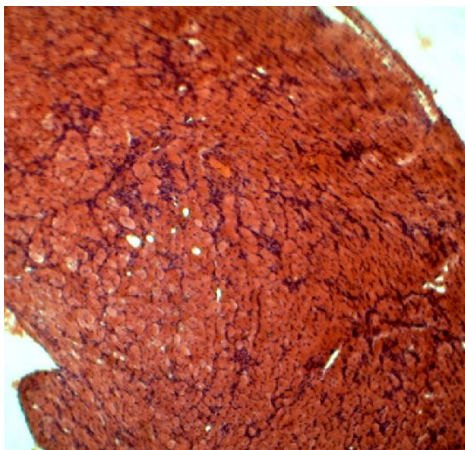


В

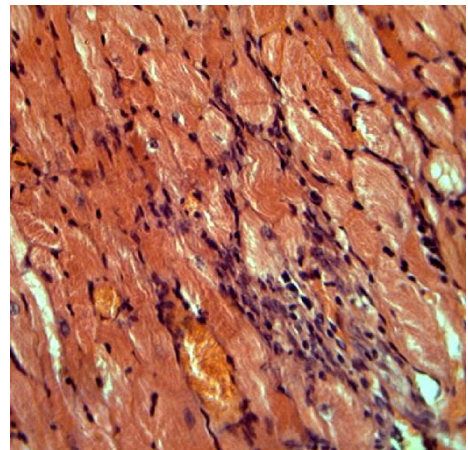
Рис. 8.36. Мікропрепарат міокарда щура через одну добу після введення адреналіну. Формування навколо судин дрібних вогнищ некрозу. Забарвлення гематоксиліном і еозином, А – $\times 100$; В – $\times 400$

На 7-му добу морфологічні зміни набували дифузного, місцями зливного характеру. У вогнищах ураження реєструвалася виражена запальна реакція, що проявлялася лейкоцитарно-макрофагальною інфільтрацією, стазом судин та геморагіями (рис. 8.37 А). У зрізах лівого шлуночка виявляли ознаки некробіотичних процесів: набухання кардіоміоцитів, зернисту деструкцію цитоплазми, відсутність сарколеми та ядер, що в окремих клітинах призводило

до їх повного лізису. У зоні деструкції визначалися елементи репаративної реакції – макрофагальна розробка некротизованих ділянок, проліферація фіброblastів і формування вогнищ пухкої грануляційної тканини (рис. 8.37 В). Без'ядерні кардіоміоцити оточувалися макрофагами, фіброblастами та нечисленними поліморфноядерними лейкоцитами, що свідчило про початок організації некротичних мас.



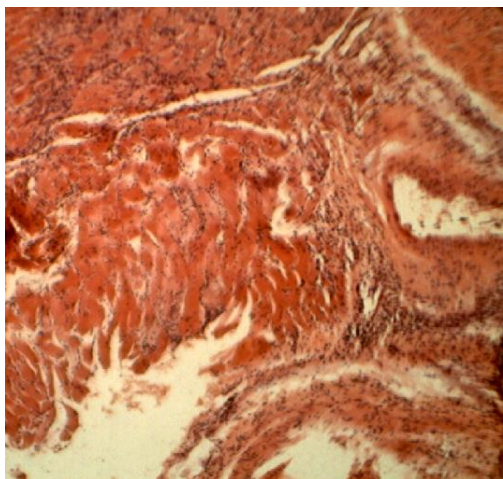
А



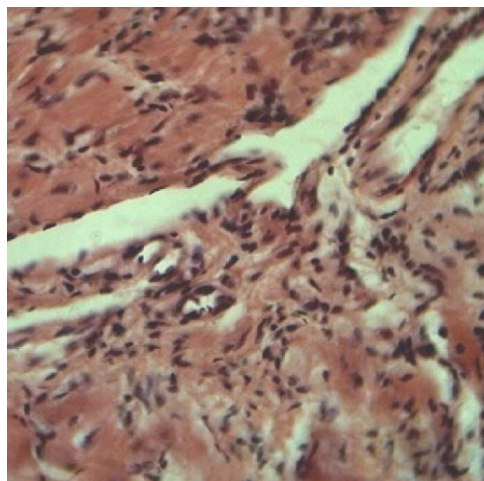
В

Рис. 8.37. Мікропрепарат міокарда щура через 7 діб після введення адреналіну. А – дифузне дрібноосередкове ураження міокарда бічної стінки лівого шлуночка, $\times 100$; В – вогнище некробіозу. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 400$

На 14-ту добу після ін'єкції адреналіну запальний процес продовжувався. Лейкоцитарна інфільтрація зберігалася у всіх шарах стінки лівого шлуночка. У периваскулярних зонах і напрямку до периферії спостерігали формування тяжів пухкої сполучної тканини з активними фіброblастами. Між ділянками грануляційної тканини з новоутвореними судинами відзначалася нерівномірна гіпертрофія збережених кардіоміоцитів (рис. 8.38). У субендокардіальних відділах міокарда наявні групи м'язових волокон з ознаками колікваційного некрозу, які характеризувалися відсутністю ядер і зниженою сприйнятливостю цитоплазми до барвників.



A



B

Рис. 8.38. Мікропрепарат міокарда щура через 14 діб після введення адреналіну. Структурні лінії пухкої сполучної тканини навколо мікросудин. Забарвлення гематоксилином і еозином, А – $\times 100$; В – $\times 400$

На 30-ту добу морфологічна картина серця свідчила про завершальні стадії репаративного процесу. Виявлявся виражений дифузний міжм'язовий і периваскулярний кардіосклероз, поєднаний з нерівномірною гіпертрофією кардіоміоцитів. Периваскулярні простори були розширені через надлишковий розвиток фуксинофільних колагенових волокон, що відображало формування зрілої сполучної тканини в місцях попереднього ураження.

Таким чином, підшкірне введення адреналіну у щурів призводило до розвитку осередково-дифузних деструктивно-дистрофічних змін у всіх відділах серця, які мали стадійний перебіг – від спазму та деструкції кардіоміоцитів до формування грануляційної та сполучної тканини. Кінцевим етапом патологічного процесу ставало формування кардіосклеротичних вогнищ у періартеріальних і міжм'язових просторах, що свідчить про розвиток хронічної міокардіодистрофії.

Морфологічна характеристика серця щурів під впливом «Кордарону» на тлі експериментальної адреналінової міокардіодистрофії

При одночасному застосуванні адреналіну та препарату «Кордарон» морфологічні зміни в міокарді щурів мали менш виражений деструктивно-дистрофічний характер порівняно з моделлю ізольованої адреналінової міокардіодистрофії. Отримані результати свідчать про частковий

кардіопротекторний ефект «Кордарону», який проявлявся зменшенням інтенсивності некробіотичних процесів і прискоренням репаративних реакцій у серцевому м'язі.

Через одну добу після підшкірного введення адреналіну на тлі «Кордарону» в міокарді реєстрували помірні судинні реакції: короточасний спазм дрібних артерій змінювався їх парезом і помірним повнокров'ям венозного русла. У товщі міокарда виявлялися поодинокі дрібноосередкові ділянки дистрофії кардіоміоцитів, без чітко виражених ознак некрозу. Запальна інфільтрація була слабо виражена й обмежувалася навколо окремих судин мікроциркуляторного русла (рис. 8.39).

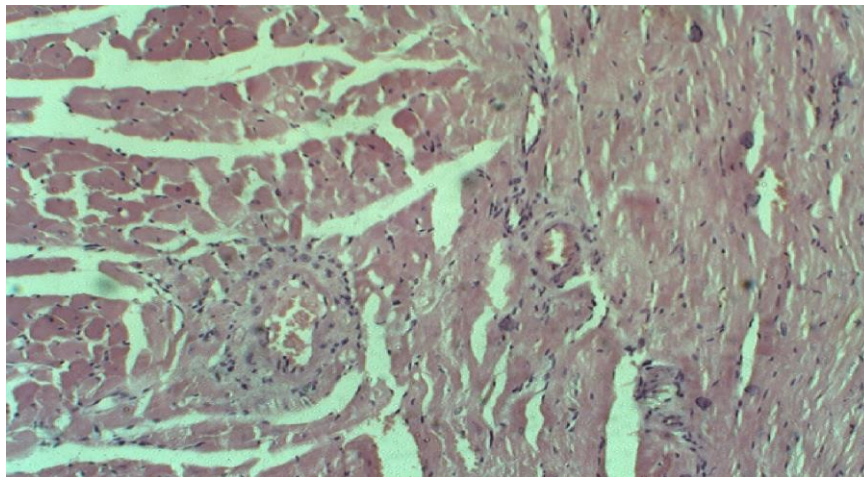


Рис. 8.39. Мікропрепарат міокарда щура через одну добу після введення адреналіну та «Кордарону». Дифузне дрібноосередкове ураження міокарда бічної стінки лівого шлуночка. Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 200$

На 7-му добу експерименту відзначали більш чітку організацію запальної реакції. Навколо дрібних артеріальних судин формувалися помірні лейкоцитарні інфільтрати, що склалися переважно з нейтрофільних лейкоцитів і макрофагів (рис. 8.40). Кардіоміоцити в цих ділянках мали ознаки помірної зернистої дистрофії, збережену структуру саркоплазми й поодинокі ознаки каріопікнозу. Виражених зон коагуляційного або колікваційного некрозу не спостерігалось, що свідчило про обмеження поширення деструктивних процесів під впливом «Кордарону».

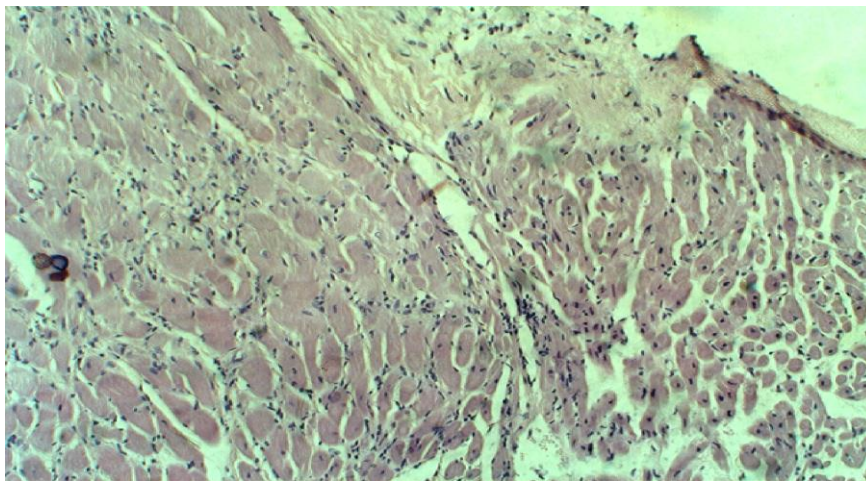
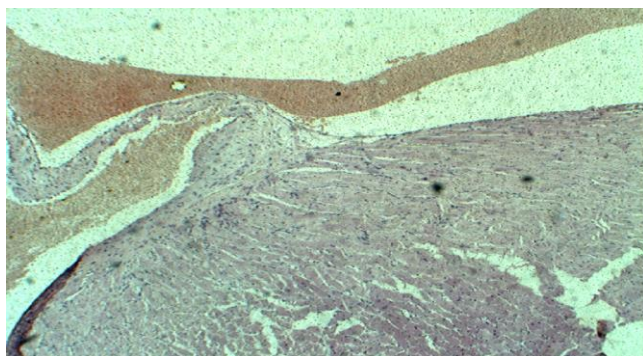
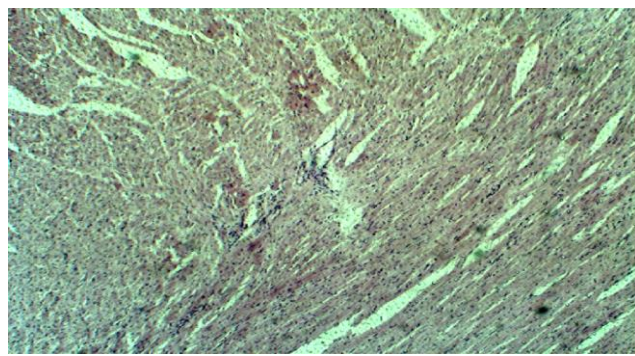


Рис. 8.40. Мікропрепарат міокарда щура через 7 діб після введення адреналіну та «Кордарону». Лейкоцитарна інфільтрація навколо дрібних артеріальних судин. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

Через 14 діб у міокарді спостерігали активацію репаративних процесів: у периваскулярних просторах формувалися тяжі пухкої сполучної тканини з численними активними фібробласти (рис. 8.41). Ці ділянки супроводжувалися розвитком новоутворених судин та наявністю макрофагів, що здійснювали розробку залишкових некротичних мас. Поруч з осередками грануляційної тканини визначалися збережені гіпертрофовані кардіоміоцити, які мали чіткі ядра й ознаки регенераторної активності.



А

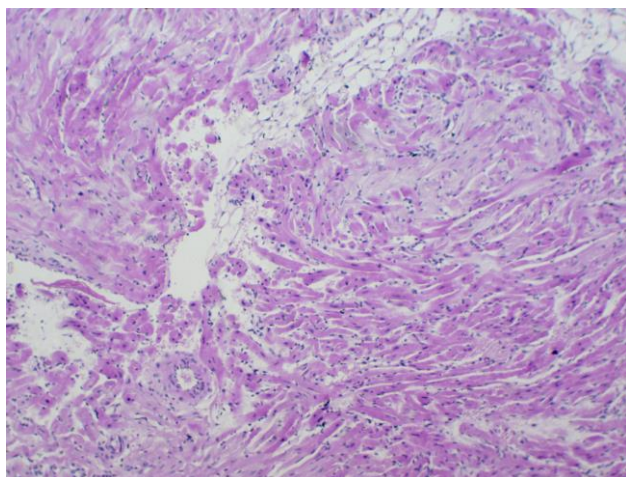


В

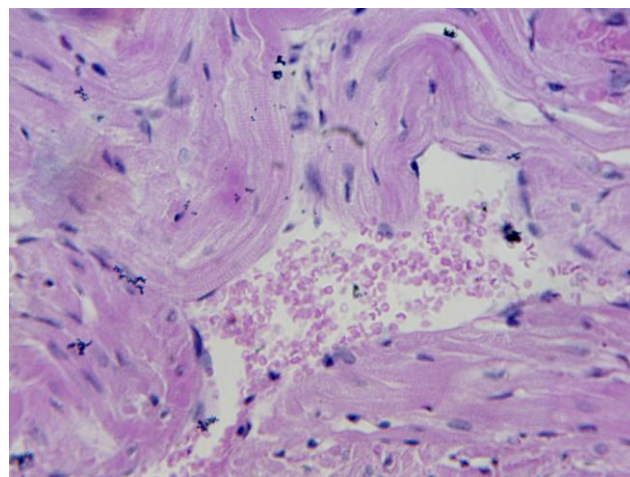
Рис. 8.41. Мікропрепарат міокарда щура через 14 діб після введення адреналіну та «Кордарону». А, В – Формування тяжів пухкої сполучної тканини з активними фібробласти. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

На 30-ту добу досліду морфологічна картина серця свідчила про завершення процесів репарації. В окремих ділянках лівого шлуночка відзначалася зріла сполучна тканина, що заміщала попередні вогнища ураження

(рис. 8.42, А). Периваскулярні простори містили незначні скупчення фібробластів та колагенових волокон, без вираженого фіброзу. В мікроциркуляторному руслі іноді зберігалися поодинокі явища стазу крові у дрібних артеріолах (рис. 8.42 В), однак загальний гемодинамічний стан тканини наближався до норми.



А



В

Рис. 8.42. Мікропрепарат міокарда щура через 14 діб після введення адреналіну та «Кордарону». А – Зріла сформована сполучна тканина. $\times 100$; В – Стаз крові в дрібних артеріолах. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 400$

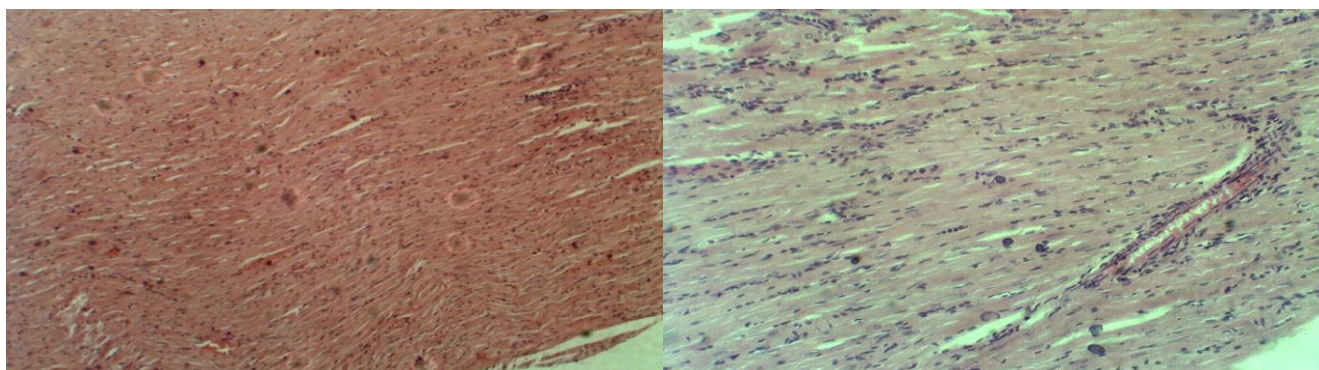
Таким чином, застосування «Кордарону» на тлі експериментальної адреналінової міокардіодистрофії сприяло зменшенню вираженості судинних і деструктивних змін у міокарді, попереджало формування масивних некротичних вогнищ і прискорювало розвиток репаративних процесів. Кінцевим результатом впливу препарату було формування обмежених ділянок дозрілої сполучної тканини без тенденції до дифузного кардіосклерозу, що свідчить про виражену кардіопротекторну дію «Кордарону».

***Морфологічна характеристика серця щурів під впливом екстракту
кріоконсервованих фрагментів серця поросят на тлі експериментальної
адреналінової міокардіодистрофії***

Застосування екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят у тварин із експериментальною адреналіновою міокардіодистрофією суттєво модифікувало перебіг патологічного процесу в серці, сприяючи зменшенню

вираженості деструктивно-дистрофічних змін і стимулюючи репаративно-регенеративні реакції. Морфологічна картина свідчила про наявність вираженого кардіопротекторного та цитотрофічного ефекту екстракту, який проявлявся поступовим відновленням структури міокарда.

Через 1 добу після підшкірного введення адреналіну та екстракту в міокарді всіх відділів серця виявлялися помірні судинні реакції у вигляді короткочасного спазму артеріол і розширення венозних судин. Навколо артеріальних судин формувалися невеликі осередки запалення, представлені переважно лімфоцитами, макрофагами та поодинокими нейтрофілами (рис. 8.43). Кардіоміоцити зберігали загальну поперечну посмугованість, ознаки зернистої дистрофії були слабо виражені, некротичні зміни відсутні. Порівняно з групою «Кордарону», структура міокарда виглядала більш стабільною, з менш вираженими гемодинамічними порушеннями.



А

В

Рис. 8.43. Мікропрепарат міокарда щура через одну добу після введення адреналіну та екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят. Формування вогнищ запалення навколо артеріальних судин. Забарвлення гематоксиліном і еозином, А – $\times 100$, В – $\times 200$

На 7-му добу спостерігалася помірна лейкоцитарна інфільтрація переважно периваскулярного типу (рис. 8.44). Кардіоміоцити в зоні ураження демонстрували часткову нормалізацію ультраструктури: відновлення контурів сарколеми, помірну гіпертрофію ядер, збільшення кількості мітохондрій. Ознаки коагуляційного некрозу були поодинокими й обмежувалися невеликими ділянками навколо дрібних судин. У тканині реєструвалися

початкові прояви проліферації фібробластів, що свідчило про ранній початок репаративних процесів. У порівнянні з «Кордароном», екстракт більш виражено стимулював проліферацію фібробластів і ранні ознаки ангіогенезу, що свідчить про активнішу фазу репарації.

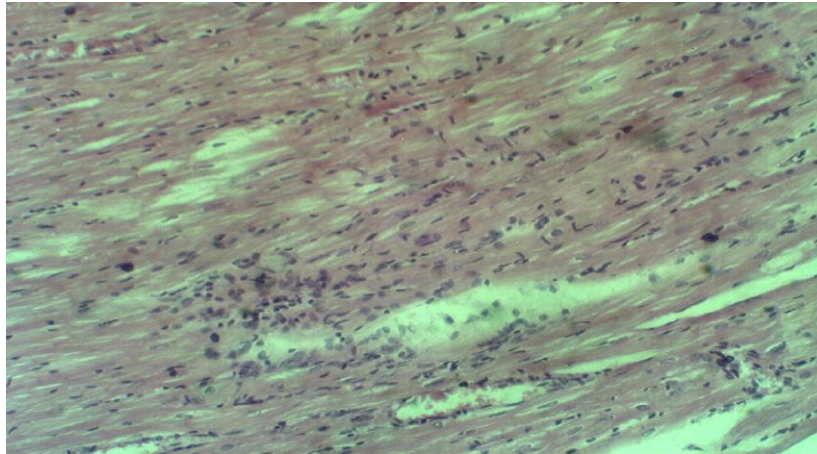


Рис. 8.44. Мікропрепарат міокарда щура через 7 діб після введення адреналіну та екстраку кріоконсервованих фрагментів серця поросят. Лейкоцитарна інфільтрація навколо дрібних артеріальних судин. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$

Через 14 діб після введення препарату переважали процеси репарації. У периваскулярних просторах спостерігалось формування пухкої сполучної тканини з активними фібробластами та поодинокими макрофагами (рис. 8.45). У цих ділянках виявляли новоутворені капіляри, що забезпечували покращення мікроциркуляції та метаболічних процесів. Поряд із зонами сполучнотканинної перебудови відзначалася гіпертрофія збережених кардіоміоцитів, що можна розцінювати як компенсаторну реакцію міокарда. На відміну від «Кордарону», який переважно сприяв стабілізації некротичних осередків і формуванню зрілої сполучної тканини, екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят активніше стимулював регенерацію кардіоміоцитів, що проявлялося відновленням їх морфологічної цілісності та частковою гіпертрофією.

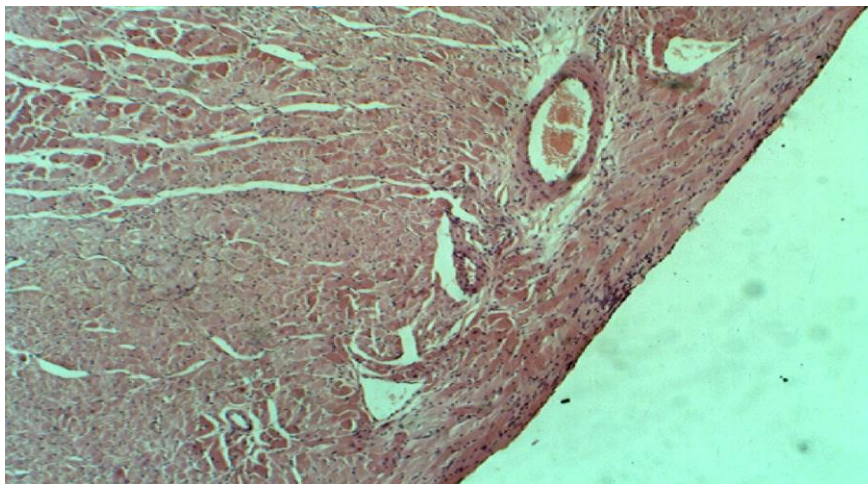


Рис. 8.45. Мікропрепарат міокарда щура через 14 діб після введення адреналіну та екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят. Формування сполучної тканини навколо артеріальних кровоносних судин. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 100$

На 30-ту добу морфологічна картина серця свідчила про завершення процесів відновлення. У місцях попередніх осередків запалення виявлялася зріла, добре структурована сполучна тканина, що рівномірно інтегрувалася між м'язовими волокнами без виражених фіброзних перетворень (рис. 8.46). Гемомікроциркуляторне русло характеризувалося помірним наповненням, явища стазу та геморагій не реєструвалися. Більшість кардіоміоцитів мала ознаки функціональної активності – чітку поперечну посмугованість, центрально розташовані ядра та нормальний стан саркоплазми.

На цій стадії ефект екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят був зіставляваним із дією «Кордарону»: в обох випадках спостерігалось формування зрілої сполучної тканини, нормалізація мікроциркуляції та збереження структурної цілісності міокарда. Різниця полягала лише в тому, що при застосуванні екстракту зберігалася дещо більша кількість життєздатних кардіоміоцитів, що свідчить про його потенційно вищий регенеративний потенціал.

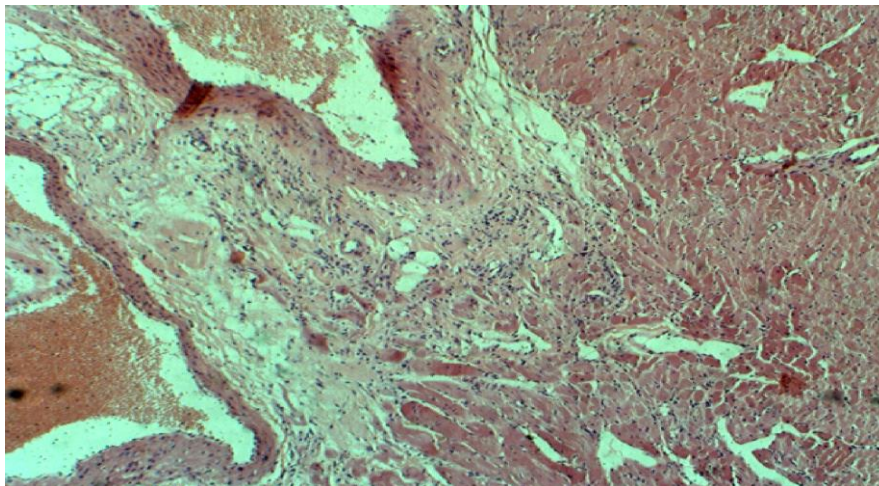


Рис. 8.46. Мікропрепарат міокарда щура через 30 діб після введення адреналіну та екстраку кріоконсервованих фрагментів серця поросят. Наявність зрілої сполучної тканини в осередку запального вогнища. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 100$

Таким чином, екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят справляв виражену репаративно-регенеративну дію на міокард щурів, уражений адреналіновою міокардіодистрофією. Під його впливом спостерігалось зменшення деструктивних змін, швидше формування грануляційної тканини, оптимізація мікроциркуляції та прискорене дозрівання сполучної тканини. Завдяки цьому в серці формувалася морфологічна картина м'якого, обмеженого кардіосклерозу, що свідчить про стабілізацію структурно-функціонального стану міокарда.

Морфометричний аналіз зони некрозу міокарда через 30 діб після моделювання адреналінової міокардіодистрофії показав суттєві морфологічні відмінності між контрольною групою та тваринами, яким вводили «Кордарон» або екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕСцП) (табл. 8.4).

У контрольній групі відзначалася значна частка сполучної тканини – $22,14 \pm 2,47\%$, що свідчило про виражене фіброзне заміщення некротизованих ділянок міокарда. Відносна площа судин становила лише $4,21 \pm 0,59\%$, а кількість судин – $7,20 \pm 1,38$ на $100\,000\text{ мкм}^2$, що вказувало на недостатній рівень васкуляризації та уповільнене відновлення мікроциркуляторного русла. Таким чином, у контрольних тварин переважали процеси склерозу з

формуванням щільної сполучної тканини при обмеженій репаративній активності.

Таблиця 8.4

Морфометричні характеристики зони некрозу міокарда на 30-ту добу, індукованого адреналіновою міокардіодистрофією ($M \pm m$)

Адреналін (Контроль)	Адреналін + Кордарон	Адреналін + ЕСцП
Відносна площа сполучної тканини, %		
22,14 ± 2,47	17,34 ± 1,42*	14,23 ± 1,26*
Відносна площа судин, %		
4,21 ± 0,59	7,32 ± 0,38*	8,67 ± 0,55*
Кількість судин на 100000 мкм²		
7,20 ± 1,38	14,25 ± 2,85	22,45 ± 3,15*

Примітка: * – достовірно відносно групи контролю ($p < 0,05$).

У групі тварин, що отримували «Кордарон», показники свідчили про зменшення вираженості фіброзних змін: відносна площа сполучної тканини знижувалася до $17,34 \pm 1,42\%$ ($p < 0,05$). Водночас спостерігалось достовірне збільшення площі судин до $7,32 \pm 0,38\%$ та кількості судин до $14,25 \pm 2,85$ на 100 000 мкм² (табл. 8.4). Це свідчить про покращення мікроциркуляції та стимуляцію неоангіогенезу під впливом препарату. Таким чином, «Кордарон» забезпечував антифібротичний і помірно регенеративний ефект, сприяючи структурній стабілізації серцевої тканини.

Найбільш виражені позитивні морфометричні зміни спостерігалися у тварин, які отримували екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕСцП). У цій групі відносна площа сполучної тканини зменшувалася до $14,23 \pm 1,26\%$ ($p < 0,05$) – на 36% менше, ніж у контролі, що свідчить про істотне обмеження розвитку постнекротичного кардіосклерозу. Відносна площа судин при цьому досягала $8,67 \pm 0,55\%$, а кількість судин – $22,45 \pm 3,15$ на 100 000 мкм², що більш ніж утричі перевищувало контрольні значення. Це вказує на інтенсивне відновлення судинного русла та високу ангіогенну активність екстракту.

Таким чином, результати морфометричного аналізу демонструють, що «Кордарон» та екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят – обидва чинять виражений кардіопротекторний ефект, знижуючи частку сполучної тканини й покращуючи васкуляризацію зони ураження.

При цьому ефект ЕСцП був більш вираженим, ніж у «Кордарону»: він не лише зменшував ступінь фіброзу, але й стимулював активне відновлення мікроциркуляторного русла, що свідчить про вищий регенеративно-репаративний потенціал біологічного препарату.

8.4. Імуногістохімічний аналіз

8.4.1. Кількість CD68⁺ макрофагів та їх M1/M2 співвідношення

У проведеному дослідженні здійснено кількісну оцінку CD68⁺ макрофагів у тканині міокарда щурів для визначення інтенсивності макрофагальної інфільтрації, а також аналіз співвідношення поляризаційних фенотипів макрофагів – M1 (CD80⁺/CD86⁺) та M2 (CD163⁺/CD206⁺). CD68 використовувався як загальний маркер макрофагів, тоді як співвідношення M1/M2 характеризувало баланс між прозапальною та протизапальною активністю клітин моноцитарно-макрофагальної лінії.

У нормі кількість CD68⁺ макрофагів у міокарді становила $16,8 \pm 2,9$ клітин/мм². Після перев'язки лівої коронарної артерії (ЛБА) у контрольних тварин кількість CD68⁺ клітин зростала більш ніж у 5–6 разів, досягаючи піку на 7-му добу ($102,5 \pm 9,1$ клітин/мм², $p < 0,05$), після чого поступово зменшувалась до 28-ї доби ($41,2 \pm 5,6$ клітин/мм²), залишаючись вищою за норму. У групі з введенням мезенхімальних стромальних клітин (МСК) відзначалось достовірне зменшення щільності CD68⁺ інфільтрації на всіх етапах, зокрема на 7-му добу – до $74,6 \pm 7,2$ клітин/мм² ($p < 0,05$ відносно контролю). Це вказує на протизапальний та імуномодулювальний ефект МСК (табл. 8.5).

Таблиця 8.5

**Кількість CD68⁺ макрофагів у міокарді щурів
при перев'язці ЛВА (М ± SD, клітин/мм²)**

Група	3 доба	7 доба	14 доба	28 доба
Норма	16,8 ± 2,9			
Перев'язка ЛВА (Контроль)	87,3 ± 8,2*	102,5 ± 9,1*	76,4 ± 7,3*	41,2 ± 5,6*
Перев'язка ЛВА + МСК	65,8 ± 6,7*,**	74,6 ± 7,2*,**	53,5 ± 5,9*,**	29,4 ± 4,1**

Примітки: * – статистично значуще $p < 0,05$, порівняно з інтактною групою, ** – статистично значуще $p < 0,05$, порівняно з контрольною групою.

При моделі кріонекрозу серця також спостерігалось значне збільшення CD68⁺ макрофагів з максимумом на 7-му добу (83,2 ± 8,0 клітин/мм²). Введення метопрололу зменшувало щільність макрофагальної інфільтрації на 15–25%, а застосування екстракту серця поросят – ще більш виражено, до 58,6 ± 6,1 клітин/мм² ($p < 0,05$ порівняно з контролем) (табл. 8.6).

Таблиця 8.6

**Кількість CD68⁺ макрофагів у міокарді щурів
при кріонекрозі серця (М ± SD, клітин/мм²)**

Група	3 доба	7 доба	14 доба	28 доба
Норма	16,8 ± 2,9			
Кріонекроз серця (Контроль)	69,5 ± 7,5*	83,2 ± 8,0*	58,6 ± 6,4*	33,1 ± 4,7*
Кріонекроз серця + метопролол	56,3 ± 6,1*	62,7 ± 6,8*	44,8 ± 5,2*	26,5 ± 3,9
Кріонекроз серця + ЕСцП	52,4 ± 5,9*,**	58,6 ± 6,1*,**	40,7 ± 5,0*,**	24,2 ± 3,5

Примітки: * – статистично значуще $p < 0,05$, порівняно з інтактною групою, ** – статистично значуще $p < 0,05$, порівняно з контрольною групою.

На моделі токсичного ураження міокарда адреналіном кількість CD68⁺ макрофагів збільшувалась до 79,4 ± 7,5 клітин/мм² на 7-му добу, що свідчить про активацію запальної відповіді. Введення кордарону або ЕСцП знижувало ці показники до 61,3 ± 6,4 і 58,0 ± 5,9 клітин/мм² відповідно ($p < 0,05$), що вказує на антизапальний потенціал препаратів (табл. 8.7).

**Кількість CD68⁺ макрофагів у міокарді щурів
при токсичному ураженні міокарда адреналіном (M ± SD, клітин/мм²)**

Група	3 доба	7 доба	14 доба	28 доба
Норма	16,8 ± 2,9			
Адреналін (Контроль)	61,5 ± 6,3*	79,4 ± 7,5*	55,8 ± 6,2*	35,9 ± 4,9*
Адреналін+ Кордарон	49,7 ± 5,8*,**	61,3 ± 6,4*,**	42,1 ± 5,0*,**	27,8 ± 3,9
Адреналін + ЕСцП	46,9 ± 5,4*,**	58,0 ± 5,9	39,4 ± 4,8*,**	25,9 ± 3,7

Примітки: * – статистично значуще $p < 0,05$; порівняно з інтактною групою, ** – статистично значуще $p < 0,05$; порівняно з контрольною групою.

Таким чином, у всіх трьох моделях ураження відмічалася підвищення кількості CD68⁺ макрофагів із піком на 7-му добу, після чого їхня кількість поступово зменшувалася. Терапевтичні втручання (МСК, метопролол, Кордарон, ЕСцП) достовірно обмежували інтенсивність запальної реакції.

У здоровому міокарді співвідношення **M1/M2** становило $0,6 \pm 0,15$, що відображає домінування M2-фенотипу з переважанням протизапальних та трофічних функцій.

Після перев'язки ЛВА у контрольній групі показник M1/M2 зростав до $2,7 \pm 0,3$ на 3-тю добу, що свідчить про значну активацію прозапальних M1-макрофагів. Надалі він поступово зменшувався до $0,46 \pm 0,05$ на 28-му добу, відображаючи фазовий перехід запалення до репаративного процесу. Введення МСК сприяло зменшенню цього співвідношення вже на ранніх етапах ($2,2 \pm 0,2$ на 3-тю добу), а також прискорювало перехід до M2-домінування ($0,40 \pm 0,04$ на 28-му добу) (табл. 8.8).

Подібна динаміка спостерігалася при моделі кріонекрозу серця: у контрольній групі співвідношення M1/M2 підвищувалося до $2,5 \pm 0,3$ (3-тя доба), тоді як при застосуванні метопрололу або ЕСцП цей показник був достовірно нижчим ($2,0 \pm 0,2$ та $1,9 \pm 0,2$, відповідно). Уже на 14–28-му добу переважали M2-макрофаги, що вказує на формування умов для відновлення тканини (табл. 8.9).

Таблиця 8.8

**Співвідношення M1/M2 макрофагів у міокарді щурів
при перев'язці ЛВА (M ± SD)**

Група	3 доба	7 доба	14 доба	28 доба
Норма	0,6 ± 0,15			
Перев'язка ЛВА (Контроль)	2,7 ± 0,3*	1,6 ± 0,2*	0,8 ± 0,1*	0,46 ± 0,05
Перев'язка ЛВА + МСК	2,2 ± 0,2*	1,3 ± 0,1*	0,65 ± 0,08*	0,40 ± 0,04

Примітки: * – статистично значуще $p < 0,05$, порівняно з інтактною групою, ** – статистично значуще $p < 0,05$, порівняно з контрольною групою.

Таблиця 8.9

**Співвідношення M1/M2 макрофагів у міокарді щурів
при кріонекрозі серця (M ± SD)**

Група	3 доба	7 доба	14 доба	28 доба
Норма	0,6 ± 0,15			
Кріонекроз серця (Контроль)	2,5 ± 0,3*	1,5 ± 0,2*	0,9 ± 0,1*	0,5 ± 0,05
Кріонекроз серця + Метопролол	2,0 ± 0,2*	1,1 ± 0,1*,**	0,6 ± 0,08	0,38 ± 0,04
Кріонекроз серця + ЕСцП	1,9 ± 0,2*	1,0 ± 0,1*,**	0,55 ± 0,07	0,36 ± 0,04

Примітки: * – статистично значуще $p < 0,05$, порівняно з інтактною групою, ** – статистично значуще $p < 0,05$, порівняно з контрольною групою.

При токсичному ураженні міокарда адреналіном відзначено аналогічну закономірність: співвідношення M1/M2 зростало до $2,4 \pm 0,3$ на 3-тю добу, але при введенні кордарону або ЕСцП воно було меншим ($2,0 \pm 0,2$ і $1,9 \pm 0,2$ відповідно), що свідчить про модулювальний вплив цих препаратів на макрофагальну відповідь. На 28-му добу у всіх дослідних групах переважав M2-фенотип, що відповідає фазі репарації (табл. 8.10).

Таким чином, у всіх моделях ураження міокарда (ішемічній, кріогенній, токсичній) спостерігалось достовірне збільшення кількості CD68⁺ макрофагів, яке досягало максимуму на 7-му добу експерименту.

**Співвідношення M1/M2 макрофагів у міокарді щурів
при токсичному ураженні міокарда адреналіном (M ± SD)**

Група	3 доба	7 доба	14 доба	28 доба
Норма	0,6 ± 0,15			
Адреналін (Контроль)	2,4 ± 0,3*	1,4 ± 0,1*	0,8 ± 0,1	0,5 ± 0,05
Адреналін+ Кордарон	2,0 ± 0,2*	1,1 ± 0,1*.*	0,65 ± 0,08	0,42 ± 0,04
Адреналін + ЕСцП	1,9 ± 0,2	1,0 ± 0,1*.*	0,58 ± 0,07	0,39 ± 0,04

Примітки: * – статистично значуще $p < 0,05$, порівняно з інтактною групою, ** – статистично значуще $p < 0,05$, порівняно з контрольною групою.

У контрольних групах домінували M1-макрофаги у ранній період (3–7-ма доба), що вказує на розвиток гострої запальної реакції.

Починаючи з 14-ї доби, співвідношення M1/M2 поступово знижувалося, що відображає перехід запалення у фазу репарації та регенерації.

Введення МСК, метопрололу, кордарону та екстракту серця поросят сприяло зменшенню кількості CD68⁺ макрофагів і швидшому переходу від M1-до M2-поляризації, що свідчить про їхній протизапальний та кардіопротекторний ефект.

Найбільш виражений нормалізуючий вплив на макрофагальну реакцію спостерігався при введенні екстракту серця поросят, який ефективно знижував запалення та стимулював репаративні процеси в міокарді.

8.4.2. Маркери апоптозу й аутоімунного ураження (TUNEL, IgG-депозиції)

У цьому підрозділі проведено оцінку рівня апоптозу кардіоміоцитів за допомогою TUNEL-тесту (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) та визначено ступінь аутоімунного ураження шляхом виявлення IgG-депозитів у тканині міокарда.

У нормі рівень апоптозу кардіоміоцитів за даними TUNEL-тесту був мінімальним і становив близько $1,2 \pm 0,3\%$, що відповідає фізіологічній програмованій загибелі клітин.

Після перев'язки лівої коронарної артерії (ЛВА) спостерігалось різке підвищення кількості TUNEL⁺ клітин, що свідчило про активацію апоптозу у зоні ішемічного пошкодження. Максимум відзначено на 7-му добу ($18,5 \pm 2,2\%$, $p < 0,05$), після чого цей показник поступово знижувався, однак залишався вищим за норму до 28-ї доби. Введення мезенхімальних стромальних клітин (МСК) достовірно зменшувало кількість апоптичних клітин на всіх етапах спостереження – зокрема, на 7-му добу рівень TUNEL⁺ клітин знизився до $11,8 \pm 1,8\%$ ($p < 0,05$ відносно контролю). Це свідчить про антиапоптичний ефект МСК та їхній потенціал у зменшенні ішемічного пошкодження кардіоміоцитів (табл. 8.11).

Таблиця 8.11

Рівень апоптозу кардіоміоцитів (TUNEL⁺ клітини, %) у міокарді щурів при перев'язці ЛВА (М $\pm$ SD)

Група	3 доба	7 доба	14 доба	28 доба
Норма	$1,2 \pm 0,3$			
Перев'язка ЛВА (Контроль)	$14,8 \pm 2,0^*$	$18,5 \pm 2,2^*$	$10,3 \pm 1,5^*$	$5,2 \pm 0,9^*$
Перев'язка ЛВА + МСК	$9,5 \pm 1,6^{*,**}$	$11,8 \pm 1,8^{*,**}$	$6,4 \pm 1,1^{*,**}$	$3,1 \pm 0,7^{**}$

Примітки: * – статистично значуще $p < 0,05$; порівняно з інтактною групою, ** – статистично значуще $p < 0,05$; порівняно з контрольною групою.

На моделі кріонекрозу серця аналогічно спостерігалось достовірне збільшення кількості апоптичних клітин (до $15,7 \pm 2,0\%$ на 7-му добу). Введення метопрололу знижувало цей показник до $11,3 \pm 1,7\%$, тоді як застосування екстракту серця поросят (ЕСцП) мало ще більш виражений ефект ($10,1 \pm 1,6\%$, $p < 0,05$), що свідчить про його цитопротективну активність та стимулювальний вплив на регенераційні процеси (табл. 8.12).

Таблиця 8.12

**Рівень апоптозу кардіоміоцитів (TUNEL⁺ клітини, %) у міокарді щурів
при кріонекрозі серця**

Група	3 доба	7 доба	14 доба	28 доба
Норма	1,2 ± 0,3			
Кріонекроз серця (Контроль)	12,3 ± 1,8	15,7 ± 2,0*	9,1 ± 1,3*	4,8 ± 0,9*
Кріонекроз серця + метопролол	9,2 ± 1,4*,**	11,3 ± 1,7*,**	7,2 ± 1,1*,**	3,4 ± 0,8**,
Кріонекроз серця + ЕСцП	8,5 ± 1,3*,**	10,1 ± 1,6*,**	5,8 ± 0,9*,**	2,9 ± 0,7**,

Примітки: * – статистично значуще $p < 0,05$, порівняно з інтактною групою, ** – статистично значуще $p < 0,05$, порівняно з контрольною групою.

При токсичному ураженні міокарда адреналіном рівень апоптозу зростав до $13,8 \pm 1,9\%$ на 7-му добу, що вказує на виражене оксидативно-запальне пошкодження кардіоміоцитів. Застосування кордарону зменшувало цей показник до $10,2 \pm 1,5\%$, а введення ЕСцП – до $9,5 \pm 1,4\%$, що підтверджує антиапоптичний потенціал обох засобів (табл. 8.13).

Таблиця 8.13

**Рівень апоптозу кардіоміоцитів (TUNEL⁺ клітини, %) у міокарді щурів
при токсичному ураженні міокарда адреналіном (M ± SD)**

Група	3 доба	7 доба	14 доба	28 доба
Норма	1,2 ± 0,3			
Адреналін (Контроль)	10,5 ± 1,6*	13,8 ± 1,9*	8,0 ± 1,3*	4,5 ± 0,9*
Адреналін+ Кордарон	8,1 ± 1,3*,**	10,2 ± 1,5*,**	6,1 ± 1,1*,**	3,2 ± 0,7**
Адреналін + ЕСцП	7,4 ± 1,2*,**	9,5 ± 1,4*,**	5,5 ± 1,0*,**	2,8 ± 0,6**

Примітки: * – статистично значуще $p < 0,05$; порівняно з інтактною групою, ** – статистично значуще $p < 0,05$; порівняно з контрольною групою.

Таким чином, у всіх моделях ураження відзначалося підвищення рівня апоптозу кардіоміоцитів з піком на 7-му добу. Усі терапевтичні втручання

(МСК, метопролол, кордарон, ЕСцП) достовірно зменшували частку TUNEL⁺ клітин, особливо на ранніх етапах ураження.

Аналіз вмісту IgG-депозитів у тканині міокарда виявив, що в інтактних тварин вони практично відсутні ($0,1 \pm 0,05$ бала). У контрольних групах усіх моделей відзначалося інтенсивне накопичення IgG-депозитів у зоні ушкодження, що досягало максимуму на 7-му добу ($2,4\text{--}2,6$ бала) і свідчило про активацію гуморального імунітету та розвиток аутоімунного компонента ураження (табл. 8.14).

Таблиця 8.14

Вміст IgG-депозитів у міокарді (індекс інтенсивності, бали 0–3) при різних моделях ураження міокарда

Група	3 доба	7 доба	14 доба	28 доба
Норма	$0,1 \pm 0,05$			
Перев'язка ЛВА (Контроль)	$2,4 \pm 0,3^*$	$2,6 \pm 0,2^*$	$1,8 \pm 0,2^*$	$1,0 \pm 0,1^*$
Перев'язка ЛВА + МСК	$1,6 \pm 0,2^{*,**}$	$1,8 \pm 0,2^{*,**}$	$1,0 \pm 0,1^{*,**}$	$0,6 \pm 0,1^{**}$
Кріонекроз серця (Контроль)	$2,2 \pm 0,3^*$	$2,5 \pm 0,3^*$	$1,6 \pm 0,2^*$	$0,9 \pm 0,1^*$
Кріонекроз серця + Метопролол	$1,7 \pm 0,2^{*,**}$	$1,9 \pm 0,2^{*,**}$	$1,0 \pm 0,1^{*,**}$	$0,6 \pm 0,1^*$
Кріонекроз серця + ЕСцП	$1,5 \pm 0,2^{*,**}$	$1,6 \pm 0,2^{*,**}$	$0,8 \pm 0,1^{*,**}$	$0,5 \pm 0,1^{**}$
Адреналін (Контроль)	$2,0 \pm 0,3^*$	$2,4 \pm 0,3^*$	$1,5 \pm 0,2^*$	$0,8 \pm 0,1^*$
Адреналін + Кордарон	$1,6 \pm 0,2^{*,**}$	$1,8 \pm 0,2^{*,**}$	$1,0 \pm 0,1^{*,**}$	$0,5 \pm 0,1^{**}$
Адреналін + ЕСцП	$1,4 \pm 0,2^{*,**}$	$1,6 \pm 0,2^{*,**}$	$0,9 \pm 0,1^{*,**}$	$0,4 \pm 0,1^{**}$

Примітки: * – статистично значуще $p < 0,05$, порівняно з інтактною групою, ** – статистично значуще $p < 0,05$, порівняно з контрольною групою.

Введення МСК, метопрололу, кордарону та особливо ЕСцП супроводжувалося значним зменшенням інтенсивності IgG-депозитів. Так, у групі перев'язки ЛВА з МСК індекс інтенсивності на 7-му добу знизився з $2,6 \pm 0,2$ до $1,8 \pm 0,2$ бала ($p < 0,05$), а при кріонекрозі серця після застосування ЕСцП – до $1,6 \pm 0,2$ бала. При токсичному ураженні міокарда адреналіном введення

ЕСцП також призводило до зниження інтенсивності IgG-депозитів до $1,6 \pm 0,2$ бала порівняно з $2,4 \pm 0,3$ у контрольних тварин. Зменшення накопичення IgG у міокарді під впливом досліджуваних препаратів свідчить про їхню імуномодулювальну дію та зниження аутоімунного компонента ураження серцевої тканини.

Таким чином, у всіх експериментальних моделях ураження міокарда (ішемічній, кріогенній, токсичній) спостерігалось достовірне підвищення рівня апоптозу кардіоміоцитів і накопичення IgG-депозитів, що свідчить про активацію як програмованої загибелі клітин, так і аутоімунних механізмів пошкодження.

Максимальні значення TUNEL⁺ клітин та IgG-депозитів виявлялися на 7-му добу експерименту, з подальшим поступовим зниженням до 28-ї доби, що відповідає фазному перебігу ураження – від гострого запалення до репарації.

Введення МСК, метопрололу, кордарону та екстракту серця поросят достовірно зменшувало рівень апоптозу та інтенсивність IgG-депозитів, що вказує на виражені антиапоптичні та імуномодулювальні властивості цих засобів.

Найбільш потужний протекторний ефект спостерігався при застосуванні екстракту серця поросят, який забезпечував найнижчі показники як TUNEL⁺ клітин, так і IgG-депозитів у всіх моделях.

Отримані результати підтверджують, що комбінація антиапоптичних і антиімунних ефектів є важливим механізмом кардіопротекції, який може бути використаний у подальших дослідженнях терапевтичних стратегій при пошкодженні міокарда.

Висновки до розділу 8

Проведені морфологічні та морфометричні дослідження дозволили комплексно оцінити вплив мезенхімальних стромальних клітин (МСК) та екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕСцП) на перебіг деструктивно-відновлювальних процесів у міокарді при різних експериментальних моделях серцевих уражень – ішемічній, кріогенній та токсичній. Отримані результати свідчать про виражену кардіопротекторну,

ангіогенну, антиапоптичну та репаративно-регенеративну дію досліджуваних біологічних засобів.

На моделі ішемічного ураження (перев'язка лівої коронарної артерії) введення МСК зумовлювало суттєве обмеження зони некрозу, стабілізацію мікроциркуляції та активацію процесів репарації. Виявлено достовірне зниження частки сполучної тканини на 30-ту добу (з $29,65 \pm 2,08\%$ до $20,15 \pm 1,78\%$, $p < 0,05$), збільшення кількості судин майже у 4 рази, а також нормалізацію ультраструктури кардіоміоцитів. Морфометричний аналіз показав підвищення кількості крист у мітохондріях і відновлення їх питомого об'єму, що свідчить про енерготропну та цитопротекторну дію МСК. Таким чином, застосування МСК сприяє оптимізації ремоделювання ішемізованого міокарда, стимулює неоангіогенез і відновлює енергетичний метаболізм кардіоміоцитів.

При кріодеструкції серця виявлено, що імплантація композиту «альгінатний гідрогель – екстракт серця поросят» забезпечує найвищу ефективність у порівнянні з метопрололом. Біокомпозит сприяв зниженню частки сполучної тканини (до $18,24 \pm 1,62\%$, $p < 0,05$) та значному підвищенню васкуляризації у зоні ураження. Це супроводжувалося формуванням зрілої сполучної тканини з чіткою архітектонікою колагенових волокон і вираженою судинною мережею. Застосування гідрогелю без активних компонентів не викликало патологічних змін, що підтверджує його біосумісність. Таким чином, композит «альгінатний гідрогель – ЕСцП» поєднує механічну стабілізацію ушкодженої ділянки з біологічною стимуляцією регенерації, що робить його перспективним засобом локальної терапії після некротичних уражень міокарда.

На моделі токсичного ураження міокарда (адреналінова міокардіодистрофія) обидва засоби – «Кордарон» і екстракт серця поросят – виявили виражену кардіопротекторну дію, однак ефект ЕСцП був більш помітним. У групі з ЕСцП спостерігалось достовірне зниження частки сполучної тканини (до $14,23 \pm 1,26\%$, $p < 0,05$), збільшення щільності судин (до $22,45 \pm 3,15$ на $100\ 000\ \mu\text{м}^2$) і покращення мікроциркуляції. Це свідчить про потужний регенеративно-репаративний і ангіопротекторний потенціал біологічного препарату.

Додатково встановлено, що в усіх моделях ураження кількість CD68^+ макрофагів зростала на ранніх етапах (3–7-ма доба) з переважанням М1-

поляризації, а на 14–28-му добу спостерігалось поступове зниження запальної активності та збільшення частки M2-макрофагів. Введення МСК, метопрололу, кордарону та особливо ЕСцП сприяло швидшому переходу від M1- до M2-фенотипу, що свідчить про їхню протизапальну та репаративну дію.

Аналіз маркерів апоптозу (TUNEL) та імунних ушкоджень (IgG-депозити) показав, що в контрольних групах усіх моделей рівень апоптозу і кількість IgG-депозитів були достовірно підвищеними з максимумом на 7-му добу. Лікування МСК, метопрололом, кордароном та ЕСцП значно зменшувало ці показники, що підтверджує їх антиапоптичний та імуномодулювальний ефекти. Найбільш виражене зниження TUNEL⁺ клітин і IgG-депозитів виявлено при застосуванні екстракту серця поросят.

Отже, узагальнюючи отримані дані, можна зробити такі висновки:

Мезенхімальні стромальні клітини ефективно обмежують ішемічне пошкодження міокарда, стабілізують ультраструктуру кардіоміоцитів і відновлюють енергетичний гомеостаз.

Екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят виявляє потужну регенеративну, ангіогенну та імуномодулювальну дію, перевищуючи ефект стандартних фармакологічних засобів.

Композитний біоматеріал «альгінатний гідрогель – ЕСцП» є перспективним напрямком у тканинній терапії для відновлення структурної та функціональної цілісності серця.

Таким чином, проведені експериментальні дослідження доводять, що МСК та ЕСцП є ефективними біоактивними засобами кардіопротекції, які здатні зменшувати некротичні, запальні та апоптичні ушкодження, стимулювати неоангіогенез і ремоделювання серцевої тканини, що визначає їх значний потенціал для подальшого застосування у відновній кардіології та регенеративній медицині.

Основні положення цього розділу викладено у 15 публікаціях автора [20, 25, 42, 51, 52, 55, 65, 68, 70, 71, 74, 77, 80, 90, 91].

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ПРОВЕДЕНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Експериментальне моделювання некрозу міокарда є необхідним інструментом для дослідження патогенезу ішемічних уражень серця, вивчення механізмів імунного запалення, репарації та випробування нових фармакологічних і біотехнологічних підходів до терапії. У дослідженні апробовано три відтворювані моделі некрозу міокарда: *ішемічну (перев'язка лівої коронарної артерії)*, *кріогенну (кріодеструкція 15 і 30 с)*, *токсичну (введення адреналіну в надлишкових дозах)*.

Модель перев'язки лівої коронарної артерії відтворює класичний ішемічний інфаркт міокарда з розвитком глибоких порушень мікроциркуляції, масивного трансмурального некрозу і типовими ЕКГ-ознаками (патологічний зубець Q, елевація ST, інверсія T). Для цієї моделі характерні максимальні прояви дисциркуляторних змін, масивна нейтрофільно-макрофагальна інфільтрація та повільна репаративна регенерація, що завершувалася формуванням зрілого сполучнотканинного рубця на 30-ту добу.

В імунологічному аспекті відзначено найвищі пікові рівні IL-1 β (підвищення у 5,6 раза відносно контролю), TNF- α (у 4,8 раза) і IL-6 (у 4,2 раза) у перші 3 доби, що відображало гіперактивацію NLRP3-інфламасоми та цитокінового каскаду гострої фази.

Кріогенна модель некрозу міокарда характеризується чітко контрольованою локалізацією і глибиною ушкодження при відсутності ішемічної фази. Кріовплив тривалістю 15 с викликав субепікардіальний, а 30 с – трансмуральний некроз без летальності тварин.

У зоні кріонекрозу спостерігалася швидка поява запальної інфільтрації з переважанням нейтрофілів на 1–3-тю добу, активним залученням макрофагів до 7-ї доби та раннім формуванням грануляційної тканини до 14-ї доби. Концентрації IL-1 β , IL-6 та TNF- α підвищувалися в 3,5–4,2 раза порівняно з контролем у перші 1–3 доби, проте швидше нормалізувалися, що свідчить про контрольований характер запальної реакції. Підвищення TGF- β на 7–14-ту добу

в 2,5 раза відносно базового рівня вказувало на активацію фіброгенезу й перебіг репаративних процесів. Модель забезпечила найвищу стандартизованість пошкодження при мінімальній летальності (0%) з урахуванням компетентності експериментатора та є перспективною для біотехнологічних досліджень, тестування кардіопротекторів і клітинної терапії.

Модель адреналінової міокардіодистрофії відтворює некротичні зміни токсичного генезу, зумовлені гіперкатехоламінемією, вазоспазмом і оксидативним стресом. У перші години експерименту відзначено різкий спазм коронарних артерій і капілярів із подальшим розвитком дифузного міжм'язового некрозу, переважно в субендокардіальних зонах.

Імунна відповідь мала асептичний характер із переважанням TNF- α (зростання у 3,9 раза), помірним підвищенням IL-1 β (у 2,7 раза) та вираженим зростанням IL-6 (у 4,5 раза) – маркера системної стрес-реакції. Підвищення рівня TGF- β на 14–30-ту добу відображало посилення фіброзоутворення, що завершувалося розвитком дифузного кардіосклерозу.

Порівняльний аналіз трьох моделей показав, що:

- **за ступенем імунної активації** (IL-1 β , TNF- α , IL-6, NLRP3) моделі розташовуються таким чином:

перев'язка ЛВА > адреналінова міокардіодистрофія > кріонекроз;

- **за контрольованістю зони ураження та відтворюваністю результатів**

– кріонекроз > адреналінова модель > перев'язка ЛВА;

- **за репаративною здатністю міокарда**

– кріонекроз $\approx$ адреналінова модель > ішемічна модель, де процес рубцювання триваліший і менш організований.

У всіх моделях некрозу міокарда спостерігали послідовну зміну фаз: цитодеструкція $\rightarrow$ асептичне запалення $\rightarrow$ грануляційна тканина $\rightarrow$ фіброзний рубець.

Найінтенсивніше апоптоз і активація білка p53 спостерігалися при ішемічній моделі, тоді як при кріонекрозі ці процеси мали локальний характер і не супроводжувалися масивною вторинною деструкцією.

Імунопатогенетично всі моделі демонструють спільний механізм активації вродженого імунітету через NLRP3-інфламасому, однак відрізняються швидкістю й масштабом цитокінової відповіді.

Кріонекроз характеризується короткочасною, контрольованою активацією цитокінів, тоді як ішемічна модель – тривалим системним запаленням, що підвищує ризик надмірного фіброзу і ремоделювання серця.

Таким чином, модель перев'язки лівої коронарної артерії протягом тривалого часу є «класичним» варіантом відтворення інфаркту міокарда. Патофізіологічні процеси, які мають перебіг у міокарді під впливом обструкції судини, багато в чому знаходять своє відображення і в разі тромбозу коронарної артерії атеросклеротичної бляшкою у людини. Тому на наш погляд, використання даної методики найбільш ефективно для оцінки кардіопротекторної дії клітинної терапії.

Використання методики кріодеструкції серця засноване на отриманні прогнозованої зони кріодеструкції органа, яка дозволяє не тільки вибрати топографію кріонекрозу, а й сформувати ступінь (глибину) деструкції серцевого м'яза, на відміну від перев'язки коронарної артерії та адреналінової моделі. Кріоаплікація серця протягом 30 с призводить до формування трансмурального некрозу міокарда, що в подальшому може ускладнитися появою аневризми лівого шлуночка. Саме така модель необхідна для вивчення швидкості біодеградації альгінатного імплантата в якості «латки» в стінці лівого шлуночка на тлі початку аневризми серця. Крім того, локальний кріонекроз дозволяє точно оцінити швидкість і ступінь відновлення паранекротичної ділянки під дією різних терапевтичних чинників, включаючи біологічно активні композити – комплекси «альгінатний гідрогель + біологічно активні речовини пептидного походження».

Використання моделі, яка включає в себе введення токсичних доз адреналіну, найліпше запропонувати для дослідження кардіопротекторної дії біологічно активних речовин пептидного походження на серце на функціональному рівні. Перевагою токсичного ураження адреналіном є простота виконання та можливість моделювати системні нейрогуморальні

механізми ішемії, але ступінь локальної ураженості серця менш контрольований. З огляду на це, адреналінова модель створює експериментальний контекст, що дозволяє системно аналізувати зміни вегетативного статусу, реактивність серцево-судинної системи, а також особливості імунзапальної відповіді на тлі катехоламінового перевантаження. Вона є перспективною для подальших досліджень, спрямованих на оцінку прогностичного значення вегетативних порушень, пошук біомаркерів стрес-індукованого ураження міокарда та вивчення терапевтичних стратегій, здатних модулювати надмірні симпатичні впливи.

При проведенні експериментальних досліджень на другому етапі перед нами стояла задача вивчити можливість використання альгагатного гелю для імплантації в серцевий м'яз з метою запобігання розриву серця, як одного із ускладнень постінфарктної аневризми. В останні роки значно зріс інтерес до полімерів, що застосовуються як механічна **«латка»-імплантат** при ремоделюванні серцевого м'яза [258, 259]. Важливим питанням використання біомеханічних імплантатів є матеріал, з якого виготовлений полімер. Матеріал може бути як толерантним до тканин організму, а також бути біодеградуємим, тобто, саморуйнівним, що поступово виводиться із зони його застосування. В даний час інтенсивно досліджуються і вже застосовуються імплантати на основі полікапролактамів (капрон, найлон), поліефірів, а також кополімерів – капролактаму та гліколіду або стиролу та гліколевої кислоти. Очевидним недоліком цих полімерів є їхня абіогенність – продукти розпаду даних полімерів – ω -амінокапронова кислота, багатоатомні карбонові кислоти не типові для людського організму і можуть викликати побічні ефекти.

З урахуванням сказаного вище доцільним є створення полімерів на основі біогенних компонентів, наприклад, сополімерів молочної та гліколевої кислот, або на основі вже існуючих біогенних полімерів тварини (желатин) та рослинного (целюлоза, альгінати [260]) походження.

Наступним важливим фактором є наявність у імплантата необхідних механічних та реологічних властивостей, зокрема пластичності, стійкості до постійного механічного впливу, здатності набувати форми навколишніх тканин,

можливості технологічного та швидкого виготовлення імплантатів будь-яких розмірів та форм тощо. Існує два основні підходи до вирішення таких завдань. Перший підхід передбачає хімічну модифікацію полімерів або зміну хімічного складу кополімерів у процесі їх синтезу, що неминуче призводить до збільшення вартості. Другий підхід заснований на зміні фізико-хімічних та механічних властивостей полімерів шляхом введення додаткових компонентів – біoadгезивних добавок, наповнювачів та розріджувачів, структуроутворюючих та гелеутворюючих агентів [260]. Цей підхід повертає нас до питання про біосумісність компонентів, стабільність композицій, зміну механізму їхньої біодеградації під впливом добавок. Актуальним є також питання про суміщення механічних функцій імплантата з терапевтичним ефектом, що передбачає використання полімерної основи імплантата **як депо біологічно активних речовин**, що забезпечує дифузію останніх у зону ураження. Тут також існують два основні підходи – хімічна модифікація полімерів низько- та високомолекулярними біологічно активними молекулами [261] та додавання до полімерних композицій фармацевтичних препаратів [262, 263]. Перший підхід технологічно складний і більш високовартісний і може бути використаний лише для уповільненого виділення біологічно активного компонента. Останній вивільняється у міру біодеструкції полімерної основи, що є тривалим процесом. Другий підхід – введення біологічно активних добавок у полімер вимагає також наявності компонентів, що регулюють динаміку та кінетику дифузії.

Найперспективнішою полімерною основою для імплантантів вважаються альгінати. Альгінати – це біодеградовані полімери природного походження, що за хімічним складом відносяться до полісахаридів і полікарбонових кислот. Дані полімери нешкідливі, використовуються як фармацевтичні препарати та харчові добавки. За фізико-хімічними властивостями альгінати задовольняють більшості вимог до імплантатів. Вони мають значну біoadгезію, не вимагають структуруючих і гелеутворюючих добавок, оскільки самі по собі є структурованими гелями. За рахунок водневих зв'язків альгінати можуть утворювати стійкі суміші з біологічно активними компонентами. Механічні,

фізико-хімічні абсорбційні та дифузні властивості альгінатів можна модифікувати шляхом зміни кількості води або ізотонічного розчину в гелі.

За результатами роботи встановлено, що альгірати виявилися перспективною полімерною основою для створення біосумісних і біодеградованих імплантатів завдяки їх природному походженню, нетоксичності, високій біoadгезії та здатності утворювати стабільні гелі без додаткових структуроутворювачів.

Механізм екстракції поліпептидів із альгінатних гідрогелів залежить від концентрації альгінату натрію. Зі збільшенням вмісту полімеру відбувається перехід від конвективного механізму масоперенесення до молекулярної дифузії, що дозволяє регулювати швидкість вивільнення біологічно активних речовин.

In vitro-дослідження показали, що при концентрації альгінату 7,5% мас. протягом семи стадій екстракції (≈ 18 хв) з гелю виділяється понад 98% поліпептидів, що свідчить про високу ефективність масопереносу та прогнозовану кінетику вивільнення активних компонентів.

In vivo-досліди підтвердили складність масопереносу у біологічних системах: окрім вивільнення поліпептидів із гелю, спостерігалася зворотна дифузія білків із навколишніх тканин у гель. Це забезпечує пролонговану дію імплантата та взаємну регуляцію концентрацій біоактивних речовин у зоні ураження.

Метод флуоресцентного зондування за допомогою барвників Seta-470, Seta-560 та Seta-650 довів свою ефективність для моніторингу біодеградації гідрогелю *in vivo*. Барвники Seta-470 та Seta-560 є чутливими до в'язкості, що дозволяє диференціювати щільні ділянки гелю від продуктів його деградації, тоді як Seta-650 використовується для визначення локалізації гідрогелю незалежно від його стану.

Період напіврозпаду ($\tau_{1/2}$) щільного альгінатного гідрогелю становить близько 4-х днів у м'язовій тканині стегна та 6–8 днів у міокарді шурів. Це відповідає оптимальним термінам біодеградації для забезпечення підтримки тканин у ранньому постінфарктному періоді. Флуоресцентна візуалізація та

гістологічні дослідження підтвердили кореляцію між зменшенням площі гідрогелю та його деградацією, що демонструє надійність методу у визначенні реологічного стану імплантата. Клінічна значущість: тривалість присутності щільного альгінатного гідрогелю в міокарді (≈ 7 днів) достатня для запобігання розвитку аневризми або розриву стінки лівого шлуночка у ранній постінфарктний період, що відкриває перспективи його застосування у кардіорегенеративній терапії.

Загалом, результати дослідження підтверджують, що альгінатні гідрогелі можуть ефективно поєднувати механічну функцію імплантата та терапевтичну дію біологічно активних речовин, що робить їх перспективною платформою для створення біосумісних, контрольовано деградуючих і лікувально активних імплантів.

Екстракт серцевої цитоплазматичної фракції (ЕСцП) поросят характеризується переважанням низькомолекулярних пептидів, що зумовлює його високу біоактивність і потенціал для застосування у регенеративній медицині. Отримані результати формують експериментальну основу для подальшого дослідження механізмів взаємодії пептидів із клітинами імунної системи, зокрема їх впливу на експресію білка NLRP3 та секрецію цитокінів.

Моделювання некрозу міокарда супроводжується вираженими змінами у пептидному складі сироватки крові, що відображає фазну динаміку патологічного процесу. Уже через одну добу після індукції некрозу міокарда спостерігається значне зниження вмісту високомолекулярних пептидів (>10 кДа) та поява численних низькомолекулярних фракцій (м.м. 290–527 Да), що вказує на активацію протеолітичних процесів і розвиток пептидного ендотоксикозу.

Виявлені зміни мають імунобіологічне значення, оскільки низькомолекулярні пептиди здатні модулювати активність клітин вродженого імунітету, впливаючи на експресію NLRP3 та вивільнення прозапальних цитокінів IL-1 β , IL-6, TNF- α .

Поступове відновлення молекулярно-масового профілю пептидів у строки 14–30 діб після ІМ відображає перехід від гострої запальної реакції до

стадії репарації та формування рубцевої тканини. Це супроводжується нормалізацією показників флуоресценції, зменшенням конкуренції пептидів за зв'язування з альбуміном і зниженням рівня ендогенної інтоксикації.

Молекулярно-масовий розподіл пептидів може розглядатися як чутливий імунобіохімічний маркер перебігу інфаркту міокарда, що відображає баланс між протеолізмом, ендотоксикозом і процесами відновлення тканин.

Використання флуоресцентних зондів для оцінки зв'язувальної здатності альбуміну (зокрема зонда K-35) є перспективним методом ранньої діагностики ішемічних ушкоджень. Зниження інтенсивності флуоресценції у 2 рази через одну добу після моделювання ІМ свідчить про зростання конкуренції пептидів за зв'язування з альбуміном.

Екстракти серця поросят проявляють комбіновану імуномодулювальну дію, стимулюючи секрецію прозапальних цитокінів (IL-6, TNF- α) та одночасно активуючи протизапальні механізми через підвищення рівня IL-10. Така реакція є типовою для природних пептидних регуляторів, що підтримують гомеостаз імунної системи.

Екстракти серця поросят також стимулюють секрецію IL-2 та IFN- γ Т-лімфоцитами *in vitro* у дозозалежний спосіб, причому найвищі рівні спостерігаються при концентрації 100 мкг/мл, що вказує на активацію Т-хелперних клітин типу 1 (Th1).

З огляду на встановлену біологічну активність, пептидні комплекси серцевого походження можуть розглядатися як перспективні природні імуномодулятори для подальших *in vitro* та *in vivo* досліджень у напрямку створення нових біотерапевтичних засобів регенеративної та імунної медицини.

За результатами контурного аналізу електрокардіограм досліджуваних груп тварин встановлено, що електрофізіологічні показники серця повністю відображали морфофункціональний стан серцевого м'яза.

На першу добу після перев'язки низхідної гілки лівої коронарної артерії комплекс QRS набував зміни, характерні для розвитку найгострішої і гострої фази переднього і передньобічного інфаркту міокарда. Перш за все, порушення кровопостачання в коронарній артерії призводило до порушення живлення

серцевого м'яза і зокрема, доставки кисню, при нестачі якого порушений процес реполяризації. Як відомо, реполяризація – енергоємний процес, пов'язаний з витратою енергії АТФ, для синтезу якого необхідний кисень, тому при ішемії міокарда в першу чергу починає страждати процес реполяризації, що проявляється змінами зубця Т. Зубець Т був незначно збільшений до 0,12 мВ, часто зливався з комплексом QRS і формував елевацію сегмента ST. Як відомо, сегмент ST відповідає періоду серцевого циклу, коли обидва шлуночка повністю охоплені збудженням.

На ЕКГ у щурів реєстрували елевацію сегмента ST в I, II, avL відведеннях, що свідчило про порушення кровопостачання (епікардіальне і трансмуральне ішемічне ушкодження) в басейні міжшлуночкової гілки лівої коронарної артерії. Сегмент ST розташований вище ізолінії з дугою, зверненою опуклістю догори у вигляді монофазної кривої. Наявність опуклості сегмента ST зумовлена загибеллю кардіоміоцитів в результаті тривалої ішемії.

Протягом всього терміну спостереження електрокардіографічні показники вказували на зміну фаз розвитку експериментального інфаркту міокарда та процеси ремоделювання серцевої тканини передньо-бічних відділів серця. Слід зазначити, що за даними ЕКГ у тварин у контрольній групі до кінця не відбувалося відновлення електрофізіологічних показників. До 30-ї доби експерименту в цій групі у всіх тварин в I і avL відведеннях зберігалися ознаки субендокардіального пошкодження і субепікардіальної ішемії серцевого м'яза. Крім того, у двох тварин до цього терміну спостереження зберігалися ознаки повного трансмурального некрозу серцевого м'яза.

Через добу після моделювання інфаркту міокарда в групі з введенням МСК відзначили порушення функції серця у вигляді зниження скорочувальної здатності органа. У 20% тварин реєстрували зубці Q, що свідчить про розвиток некрозу передньої ділянки міокарда. Відзначали більше наближення до норми в порівнянні з групою контролю того ж терміну. У I відведенні реєстрували знижену амплітуду зубця R в 3 рази в порівнянні з групою норми (0,06 мВ) і в avL відведенні в 2 рази (0,03 мВ). Зубець Q відзначали в avL відведенні тільки у

3 з 15 тварин. Величина зубця Q досягала мінус $-0,08 \pm 0,03$ мВ тривалістю $22 \pm 5,4$ мс.

Гостра стадія інфаркту міокарда на 7-му добу змінювалася підгострою і характеризувалася відновленням показників ЕКГ. У avL відведенні до цього терміну було зафіксовано тільки 2 випадки з 15 (13,3%) появи зубця Q. Електрокардіографічні показники вказували на проходження значних змін у міокарді у тварин групи 2 у бік наближення їх до норми, що свідчило про нормалізацію кровотоку в патологічно змінених ділянках серця і про наявність мінімальної кількості ділянок, що піддаються ремодуляції і формуванню сполучнотканинного рубця.

У тварин групи ІМ + МСК на 14-ту добу експерименту реєстрували електрокардіографічні показники, максимально наближені до показників норми. Однак в І і avL відведеннях реєстрували депресію сегмента ST і зубця Т, що підтверджувало субепікардіальне пошкодження і ішемію серцевого м'яза передньобічних відділів серця, а в однієї тварини спостерігали зубець QS, що свідчить про наявність трансмурального некрозу міокарда передньобічної стінки серця. Порівняння ЕКГ по II відведенню в групі 2 і в групі норми достовірних відмінностей в результатах на термін спостереження 14 діб не виявило.

На 30-ту добу на стадії рубцювання у тварин у групі з введенням МСК достовірних відмінностей в електрокардіографічних показниках від попереднього терміну після введення МСК не виявлено. Ймовірно, позитивні результати у тварин цієї групи зумовлені паракринним ефектом плацентарних МСК, які, виділяючи комплекс біологічно активних речовин, сприяють репарації міокарда, стимуляції ангиогенезу та розвитку колатерального кровообігу.

Таким чином, відмінності між групами демонструють, що введення МСК сприяє швидшому відновленню електрофізіологічних параметрів серця, зменшенню зони ішемічного та некротичного ушкодження та більш гармонійному перебігу ремоделювання. Ймовірним механізмом позитивного впливу МСК є їхній паракринний ефект: секреція біологічно активних молекул,

що стимулюють репарацію міокарда, ангіогенез та формування колатерального кровообігу.

Загалом дані ЕКГ підтверджують, що застосування МСК після моделювання інфаркту міокарда сприяє покращенню функціонального стану серця та зменшує вираженість ушкодження у порівнянні з тваринами контрольної групи.

Локальна кріодеструкція серця спричиняла електрокардіографічні зміни, що вказували на розвиток некрозу міокарда лівого шлуночка саме в тих топографічних ділянках, де був розміщений кріоаплікатор.

На першу добу експерименту в контрольній групі відмічали порушення функції збудливості і провідності, що віддзеркалювалось, в першу чергу, на зубці Р, амплітуда якого була зменшена, або зубець Р був негативним, що свідчило про ретроградне збудження передсердь.

За результатами наших попередніх досліджень, кріодеструкція серця призводить до первинного (раптового) некрозу міокарда безпосередньо під кріоаплікатором. Також під дією низьких температур відбуваються процеси вторинного некрозу внаслідок закупорки (тромбування) мікросудин серцевого м'яза. В центральній зоні кріодеструкції при температурі нижче -50° реалізуються механізми, які зумовлюють пошкодження і загибель клітин шляхом некрозу, тоді як в периферичній зоні при температурі вище -50° загибель клітин відбувається переважно в результаті апоптотичних процесів [26].

Слід зазначити, що при кріодеструкції серця є відсутньою ішемічна стадія, яка характерна для «класичного» інфаркту міокарда на тлі атеросклеротичного процесу вінцевих артерій. Оскільки кріовтручання на серце з експозицією 30 с сприяє швидкому розвитку некротичних змін у міокарді, поява колатеральних анастомозів, які б відновлювали кровотік у зоні ураження міокарда, малоймовірна. Тому вже у найгострішій стадії відмічали появу зубця Q або QS. Також ступінь пошкоджень після кріодії протягом 30 с веде до появи більш поширених і глибоких деструктивних вогнищ у серцевому м'язі, що визначається появою трансмурального некрозу міокарда.

Також, на відміну від інфаркту міокарда, викликаного перев'язкою коронарної артерії, при кріокардіодеструкції на ЕКГ не відмічали елевацію сегмента ST (дуга Парді), яка свідчить про субепікардіальне ішемічне ушкодження міокарда у найгострішій стадії, а навпаки реєстрували депресію сегмента ST, який розташовувався нижче ізолінії, що вказувало на ендокардіальне ішемічне пошкодження міокарда.

ЧСС знижувалася до 380 скорочень/хв, що автоматично відбивалося на тривалості інтервалу QT, показник якої збільшувався до $93,3 \pm 4,1$ мс, тобто більш як на 20% від норми. Як відомо, інтервал QT – це проміжок часу між початком процесу деполяризації (початок зубця Q) і завершенням реполяризації міокарда шлуночків (кінець хвилі T), є одним із найбільш клінічно значущих параметрів ЕКГ, що відображає тривалість загальної електричної активності шлуночків, включаючи і деполяризацію, і реполяризацію. Подовження інтервалу QT свідчить про сповільнену й асинхронну реполяризацію міокарда шлуночків, тобто гетерогенність реполяризації міокарда шлуночків тісно пов'язана з тривалістю інтервалу QT і є предиктором фатальних порушень серцевого ритму. Слід зазначити, що на першу добу значних відмінностей між електрокардіограмами контрольної та інших експериментальних груп не виявлено.

Відмінністю розвитку кріонекрозу міокарда від перебігу «класичного» ІМ є строки змін стадій. Відсутність стадії ішемії на початку призводить до прискорення розвитку запальної реакції. На 7-му добу відмічено подальше зростання амплітуди зубця Q в I і aVL відведенні. Посилення електрокардіографічних змін певною мірою пов'язане з розвитком вторинного некрозу, зумовленого тромбозом мікросудин, незважаючи на появу позитивного зубця R, та незначне зниження інтервалу QT у порівнянні з електрокардіографічною картиною 1-ї доби. На 14-ту добу експерименту величина зубця Q в I і aVL відведенні залишалася на рівні попереднього терміну спостереження. Кількість тварин, у яких реєстрували передньо-бічний трансмуральний некроз міокарда, знижувалась на третину. За нашими попередніми даними морфологічного дослідження на 14-ту добу після

кріодеструкції серця в міокарді щурів на перший план виходять ознаки сполучно-тканинної проліферації, а явища запальної реакції різко знижуються. Разом з тим, на ЕКГ в I і avL відведеннях відмічали депресію сегмента ST і негативний зубець T, як ознаки субендокардіального ішемічного пошкодження і субепікардіальної ішемії відповідно. Електрокардіограми тварин контрольної групи на 30-ту добу демонстрували ознаки як підгострої, так і рубцевої стадії інфаркту міокарда.

Кількість тварин, у яких фіксували патологічний зубець Q та QS дорівнювала 5, що складало 33% від загальної кількості. Таким чином, у тварин контрольної групи протягом 30-ти діб реєстрували електрокардіографічні зміни, які свідчили про деструктивні та відновні процеси в серцевому м'язі. Незважаючи на прискорення стадії розвитку некрозу міокарда, тривалість відновлювальних процесів і процесів ремоделювання серця досить розтягнута в часі.

Під час аналізу динаміки електрокардіографічних показників у щурів другої групи встановлено, що введення альгінатного імплантата в зону кріопошкодження стінки лівого шлуночка не сприяло їх прискореному відновленню; відмінностей між показниками цієї та контрольної груп не виявлено. Кількість тварин, у яких реєстрували трансмуральний некроз міокарда, достовірно значуще не відрізнялась від контрольної групи на всіх строках спостереження. Введення альгінатного гідрогелю призводило до формування в зоні кріопошкодження більш щільного імплантата, який поступово має біодеградувати, але це ніяким чином не відображалось на скоротливій функції міокарда. Тривалість інтервалу QT була збільшена на першу добу, а протягом експерименту поступово наближалась до показників норми. Важливим результатом аналізу ЕКГ цієї групи є той факт, що після введення альгінату в серцевий м'яз посилювань розвитку некрозу також відмічено не було. Тобто, показано, що альгінатний імплантат для біологічного об'єкта є індиферентною речовиною, яка не посилює деструктивні та запальні процеси, і може бути використана в якості носія біологічно активних речовин або лікарських засобів для їх доставки в зону пошкодження. Вірогідно,

альгінатний імплантат поступово вивільнювався із зони кріонекрозу, не перешкоджаючи процесам запалення та проліферації фібробластів при формуванні та дозріванні сполучнотканинного рубця.

У моделі кріодеструкції серця метопролол застосовували як референтний β -адреноблокатор із доведеною кардіопротекторною дією. Його фармакодинамічні властивості – зниження частоти серцевих скорочень, артеріального тиску та скоротливості міокарда – забезпечують зменшення потреби серця в кисні, що є критично важливим за умов гострого локального ушкодження.

На першу добу він зменшував ішемію та сприяв збереженню зубця Р при нормальних ЧСС і QT. На 7-му добу зберігалися ознаки передньо-бічного некрозу, але ЕКГ відповідала переходу до гострої стадії некрозу; ЧСС знижувалась, QT наближався до норми. На 14-ту добу відзначали підгостру стадію з негативним Т, нормалізацією QT та зменшенням частки Q-позитивних тварин до 53%. На 30-ту добу більшість показників нормалізувалась, хоча знижена амплітуда R свідчила про кардіосклероз, а Q зберігався у 26%. Метопролол прискорював репарацію та зменшував ішемічні порушення завдяки зниженню потреби міокарда в кисні та пригніченню симпатичної активації.

Таким чином, застосування метопрололу при кріодеструкції серця прискорювало репаративні процеси та зменшувало прояви ішемічного ушкодження завдяки зниженню потреби міокарда в кисні й пригніченню надмірної симпатичної активації.

Після моделювання кріонекрозу міокарда в групі з використанням альгінатного імплантата, насиченого екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят, на кардіограмах реєстрували відповідні зміни, які свідчили про захисну дію досліджуваного об'єкта. На першу добу експерименту введення альгінатного імплантата, насиченого ЕСцП, в зону кріоушкодження міокарда сприяло збереженню джерела збудження міокарда на рівні синоатріального вузла, що відображалось у наявності низькоамплітудного позитивного зубця Р. Кількість тварин з Q-позитивним некрозом міокарда відмічалась на рівні 80%.

Достовірно значущих відмінностей в електрокардіографічних показниках між групами відмічено не було. На 7-му добу у 46% піддослідних тварин групи 4 відмічали відновлення електричної провідності і скоротливої функції міокарда. В I і avL відведенні реєстрували високий зубець R. У II відведенні його величина становила $0,23 \pm 0,02$ мВ, що на 43% більше контрольної групи, достовірно значимо відрізнялась від інших експериментальних груп і максимально наближалася до групи норми.

Представляється вірогідним, що використання комплексу «альгінатний гідрогель + ЕСцП» сприяло відновленню паранекротичної зони навколо кріодеструкції саме завдяки вивільненню пептидних комплексів із альгінатного імплантата. Ймовірно, терапевтичний ефект кріоконсервованого екстракту серця поросят полягає в зниженні активності загального асептичного запалення міокарда, ангіогенезі і, як наслідок, нормалізації кровопостачання пошкоджених тканин, активації репаративної регенерації збережених кардіоміоцитів шляхом їх гіпертрофії [90, 264].

На 14-ту добу у тварин групи 4 виявлено позитивний вплив біологічно активних речовин на формування комплексу QRST. Амплітуда зубця R в II відведенні досягала $0,24 \pm 0,04$ мВ, що достовірно вище контрольної групи на 60%, а також в порівнянні з іншими експериментальними групами. Збільшення амплітуди зубця R свідчить про відновлення провідної і скорочувальної функції міокарда лівого шлуночка. Таким чином, на 14-ту добу в групі поєднаного використання альгінатного імплантата і ЕСцП, показники електрокардіограм були найбільш наближені до рівня норми.

На 30-ту добу процес відновлення міокарда приходив до завершальної стадії рубцювання. На цей строк спостереження в групі 4 форма комплексу QRS відповідала нормі. Ремодельовання серця було мінімальним, про що свідчить відсутність тварин, у яких реєстрували зубець Q. При контурному аналізі електрокардіограм щурів групи 4 відзначали найкращі показники відновлення серцевого м'яза.

Таким чином, найбільш виражений кардіопротекторний ефект виявлено в групі застосування альгінатного імплантата, насиченого ЕСцП. Отримані

результати дозволяють зробити висновок, що кріонекроз міокарда є відтвореною моделлю гострого та трансмурального некротичного ушкодження, а використання альгінатного імплантата з кардіотропними пептидами забезпечує найкращий рівень відновлення електрофізіологічних параметрів і потенційно може бути перспективним напрямком у розробці нових методів локальної кардіопротекції.

Модель адреналін-індукованої міокардіодистрофії у щурів супроводжувалася розвитком виражених електрокардіографічних змін, що відображали порушення автоматизму, провідності та реполяризаційних процесів у міокарді. Уже на першу добу експерименту виявлено достовірне підвищення частоти серцевих скорочень, скорочення інтервалів R–R, подовження інтервалу QT та зміщення електричної осі серця, що свідчить про гостру катехоламінову перевантаженість серцевого м'яза.

На 7–14-ту добу експерименту у тварин адреналінової групи фіксувалося збереження тахікардії та порушення процесів реполяризації. У частини щурів виявлено формування патологічного зубця Q у III та aVF відведеннях, що вказує на розвиток вогнищового некрозу міокарда. Дані зміни є типовими для стану токсичної міокардіодистрофії з елементами ішемічного ураження.

Застосування референс-препарату «кордарону» сприяло помітному зниженню частоти серцевих скорочень, подовженню інтервалів R–R і частковій нормалізації інтервалу QT. Це свідчить про антиаритмічний і мембраностабілізуючий ефекти препарату, що забезпечують часткове відновлення електрофізіологічних властивостей міокарда у відповідь на адреналінове перевантаження.

Введення екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕСцП) забезпечувало більш виражену тенденцію до відновлення електрокардіографічних показників, починаючи з 7-ї доби експерименту. У порівнянні з адреналіновою групою, у тварин, що отримували ЕСцП, відзначалося зниження ЧСС, подовження інтервалів R–R, стабілізація сегмента ST та зменшення амплітуди патологічних зубців Q. На 28-му добу досліду у тварин, які отримували кріоекстракт серця поросят, реєструвалася майже повна

нормалізація електрокардіографічних показників: частота серцевих скорочень наближалася до контрольних значень, інтервал QT скорочувався до фізіологічних меж, а електрична вісь серця відновлювалася до нормального положення. Це свідчить про відновлення електричної стабільності та функціональної цілісності міокарда.

Отримані результати підтверджують, що ЕСцП чинять виражений кардіопротекторний, антиаритмічний і адаптогенний ефекти, сприяючи нормалізації електричної активності міокарда при токсичному ушкодженні, викликаному адреналіном.

У порівнянні з дією кордарону, ЕСцП демонструє м'якіший, але стабільніший відновлювальний ефект, що може бути пов'язано з біорегуляторним механізмом дії, спрямованим на підтримання гомеостазу та репаративних процесів у серцевому м'язі.

Узагальнюючи **результати порівняння показників ВРС** у щурів, які вижили і загинули після введення токсичних доз адреналіну, можна констатувати, що вірогідність летальності етапу моделювання адреналін-індукованої кардіопатії підвищується на тлі збільшення співвідношення низькочастотної і високочастотної складових (LF/HF) спектра коливань кардіоритму.

Як відомо, підвищення рівня катехоламінів у циркулюючій крові є стандартною реакцією організму в ситуації розвитку вираженої біологічно негативної реакції. При фізіологічних (помірних) концентраціях адреналін, діючи на кардіоміоцити шлуночків через β_2 -адренорецептори, має позитивну інотропну та хронотропну дію внаслідок активації каскаду реакцій, що запускаються під час конформації Gs (стимулюючого) мембранного білка.

За даними [251] при введенні адреналіну, коли артеріальний тиск у результаті спазму периферичних судин підвищується і коронарний кровотік збільшується, кількість кисню, що дифундує в міокард із крові збільшується. Утилізація цього кисню може відбуватися за рахунок збільшення активності всіх ферментів глікогенезу, циклу Кребса та окисно-відновлювального циклу. Але це в повній мірі не відбувається.

Таким чином, введення адреналіну різко збільшує приплив кисню до серця, одночасно гальмує його адекватне використання для окисних процесів у відповідності з підвищеною потребою серця [252]. В подальшому порушення окисних процесів, ймовірно, призводить до асептичної запальної реакції, деструкції на мікроциркуляторному рівні та всієї тканини серця. Такий механізм розглядається як один з можливих механізмів пошкодження міокарда в результаті введення токсичних доз адреналіну.

За результатом аналізу ВСР щурів з адреналін-індукованою кардіопатією показано, що на тлі падіння загальної потужності спектра коливань кардіоритму ЕСцП і кордарон на початковому строку застосування викликають короткочасне компенсаторне посилення впливу парасимпатичної ланки вегетативної нервової системи. Потрібно визнати, що токсичні дози адреналіну, які використовуються для моделювання кардіопатії, є дуже сильним пошкоджуючим фактором, під дією якого, за показниками ВСР, знижується потужність усіх ланок нейрогуморальної регуляції. Застосування в якості терапевтичних агентів ЕСцП і кордарону протягом 1 місяця не дозволяє значимо відновити показники ВСР.

Порівняльний аналіз ефектів МСК та ЕСцП у трьох моделях ушкодження міокарда показав, що:

1. За впливом на електрофізіологічні показники (R, Q, QT, ЧСС):

кріокардіодеструкція (ЕСцП) → найшвидше відновлення провідності, зникнення зубця Q, максимальне підвищення зубця R;

перев'язка ЛВА (МСК) → зменшення частоти зубця Q та прискорення нормалізації комплексу QRST;

адреналінова міокардіодистрофія (ЕСцП) → стабілізація інтервалу QT і ЧСС, вирівнювання сегмента ST у підгостру фазу.

2. За інтенсивністю електричних розладів на ранніх етапах:

перев'язка ЛВА > кріокардіодеструкція > адреналінова модель.

3. За чутливістю до терапевтичних впливів:

МСК найбільш ефективні при ішемічній моделі (перев'язка ЛВА), де зменшують вираженість некрозу та допомагають нормалізувати ЕКГ.

ЕСцП демонструють найкращий ефект при кріонекрозі та адреналіновій моделі – швидке відновлення R та зменшення частоти зубця Q.

4. За швидкістю електрофізіологічної репарації:

кріонекроз (ЕСцП) > адреналінова модель (ЕСцП) > ішемічна модель (МСК).

Таким чином, у всіх моделях відзначали типовий каскад змін ЕКГ, що відображає послідовність: **гостре ушкодження → рання електрична дестабілізація → нормалізація провідності → стабілізація комплексу QRS та інтервалу QT.**

МСК та ЕСцП прискорювали репаративні процеси, але їхня ефективність залежала від природи ушкодження.

За результатами ультразвукового дослідження встановлено, що на 7-му добу **після перев'язки лівої коронарної артерії у щурів** контрольної групи спостерігалось достовірне збільшення кінцево-діастолічного (КДД) та кінцево-сistolічного (КСД) діаметрів лівого шлуночка (ЛШ), що свідчило про розвиток дилатації ЛШ і зниження його скоротливої здатності. Показники фракції викиду (ФВ) та фракції скорочення (ФС) зменшувались відповідно на 35% і 45% порівняно з нормою, що вказувало на формування систолічної дисфункції ЛШ.

У тварин, яким вводили алогенні мезенхімальні стромальні клітини (МСК), спостерігалася тенденція до покращення ехокардіографічних параметрів: підвищення ФВ на 17% порівняно з контролем, збільшення ударного об'єму (УО) та хвилинного об'єму (ХО). Ці зміни свідчили про позитивний вплив МСК на скоротливу функцію серця вже на ранніх етапах після інфаркту.

Морфометричний аналіз показав, що в контрольній групі на 7-му добу ремоделювання ЛШ відбувалося за рахунок ексцентричного типу гіпертрофії, тоді як у групі з МСК відзначалось компенсаторне потовщення задньої стінки ЛШ та збільшення маси ЛШ, що відображало активізацію репаративних процесів у міокарді під впливом клітинної терапії.

На 30-ту добу експерименту у контрольній групі ремоделювання серця продовжувалося за ексцентричним типом із подальшим зростанням КДД, КДО та дилатації ЛШ. Незважаючи на часткове збільшення ударного об'єму, зберігалось суттєве зниження ФВ і ФС, що вказувало на прогресування постінфарктної дисфункції міокарда.

У тварин з введенням МСК на цей строк спостереження виявлено стабілізацію геометричних параметрів серця: незначне зменшення дилатації ЛШ, нормалізацію ЧСС, підвищення фракції викиду до 57,45% та покращення насосної функції серця. Відносна товщина стінки залишалась у межах норми, а маса ЛШ збільшилась, що свідчить про ексцентричну компенсаторну гіпертрофію з ознаками відновлення міокардіальної функції.

Отримані результати підтверджують, що введення алогенних МСК позитивно впливає на перебіг постінфарктного ремоделювання серця, зменшуючи прояви дилатації, сприяючи збереженню скоротливої здатності міокарда та підтримці адекватної гемодинаміки.

Допплерографічна оцінка систолічної та діастолічної швидкостей кровотоку у висхідному відділі аорти щурів з експериментальним інфарктом міокарда дозволяє опосередковано зафіксувати наявність та ступінь систолічної дисфункції лівого шлуночка і здійснювати динамічний контроль за скоротливою функцією міокарда на тлі інфаркту а дає можливість динамічно відстежувати процеси ремоделювання міокарда.

Розвиток інфаркту міокарда у щурів після перев'язки лівої коронарної артерії (група контролю) супроводжується зменшенням, відносно норми, показників гемодинаміки в аорті протягом усього строку спостереження. На 7-му добу експерименту зафіксовано: зниження максимальної систолічної швидкості кровотоку (V_s) на 13% відносно норми; тенденцію до підвищення діастолічної швидкості (V_d) на 19%; зменшення пульсаційного індексу (PI) на 23% і систоло-діастолічного співвідношення (ISD) на 19%, що свідчить про початкові прояви систолічної дисфункції ЛШ. На 30-ту добу у контрольній групі зафіксовано подальше погіршення гемодинаміки: V_s зменшилась у 1,9 раза відносно норми; V_d і V_m знизилися на 24% і 30% відповідно; PI

зменшився на 25%. Такі зміни підтверджують прогресування систолічної дисфункції ЛШ і розвиток хронічної серцевої недостатності.

Вплив алогенних МСК на процес ремоделювання серця щурів після перев'язки лівої коронарної артерії проявлявся на стадії розвитку запалення (7-ма доба експерименту) аномально низькими (нижче контролю) показниками кровотоку в аорті: зниження пікової систолічної швидкості на 23% відносно норми і на 12% – відносно контролю; підвищення мінімальної діастолічної швидкості на 35%; зниження PI на 37% та ISD на 39% відносно норми. Ці результати вказують на зменшення тиску крові на стінку аорти при одночасному збереженні об'ємного серцевого викиду, що може свідчити про компенсаторну гіпертрофію збережених ділянок міокарда. Через 30 діб відмічали нормалізацію показників аортального кровотоку, зростання пульсаційного індексу та систоло-діастолічного співвідношення до майже фізіологічних значень, що свідчить про покращення систолічної функції серця: Vs зросла на 17% відносно 7-ї доби, PI збільшився на 32%, ISD досягав $5,21 \pm 0,43$, що наближається до фізіологічного рівня.

На сьому добу після кріодеструкції серця в усіх досліджених групах відбувалося виражене порушення насосної функції міокарда, що проявлялося збільшенням діастолічного та систолічного об'ємів і зниженням фракції викиду. Застосування метопрололу сприяло частковому покращенню насосної функції, проте найбільш виражений позитивний ефект спостерігався у групі, що отримувала альгінатний гідрогель із екстрактом серця поросят (АГІ+ЕСцП): зменшувалися кінцеві об'єми лівого шлуночка та стабілізувалися скоротливі параметри.

На 30-ту добу експерименту у контрольної групи відзначалося часткове, але неповне відновлення гемодинамічних показників, що вказувало на формування постнекротичних змін і компенсаторного ремоделювання серця. У динаміці до 30-ї доби у групах із лікувальними втручаннями відзначалося поступове покращення основних показників. У групі метопрололу спостерігалася позитивна динаміка, однак відхилення від норми зберігались. На цей строк спостереження у групі АГІ+ЕСцП відзначали нормалізацію більшості

ехокардіографічних показників, що свідчить про відновлення скоротливої активності та зниження дилатації шлуночка.

Біоінженерна композиція альгінатного гідрогелю, насиченого ЕСцП, забезпечує найбільш повну стабілізацію показників функціонального стану міокарда в порівнянні з метопрололом, що підтверджує її високу ефективність у корекції постішемичних змін серця. Виявлені зміни свідчать про те, що біополімерна система АГІ+ЕСцП створює сприятливі умови для репарації пошкодженого міокарда, забезпечуючи локальне надходження біоактивних молекул, що стимулюють регенерацію та обмежують постішемичне ремоделювання. Внаслідок цього відзначалося покращення скоротливої здатності серця, зменшення дилатації шлуночка та відновлення гемодинамічної ефективності.

Показники ультразвукового дослідження після введення токсичних доз адреналіну чітко корелюють з морфологічною картиною, яка на 7-му добу демонструвала наявність виразного запального процесу в міокарді. Таким чином, дифузна дрібноосередкова деструкція кардіоміоцитів з періартеріальною лейкоцитарно-макрофагальною інфільтрацією віддзеркалюється в об'ємному перевантаженні ЛШ.

Через асептичне запалення пошкоджений міокард може потоншуватися, а об'єм порожнини серця збільшуватися, що сприяє ремоделюванню ЛШ і, як наслідок, порушенню діастолічного розслаблення і систолічної функції ЛШ.

Отримані результати дають підставу припустити, що на 7-му добу експерименту відбувається виснаження компенсаторних механізмів міокарда. Відомо, що норадреналін є метаболічно менш активним, ніж адреналін, тому його переваження в умовах активації симпатoadреналової системи при емоційному стресі може забезпечити більш тривале зберігання компенсаторно-приспосувальних можливостей серця без виснаження резервів міокарда [254].

З літературних джерел відомо, що адреналін у високих концентраціях також провокує метаболічний дисбаланс, зокрема активує систему перекисного окиснення ліпідів, викликає появу активних форм кисню, збільшує накопичення іонів кальцію та ін.

Про це свідчить активація процесів ліпопероксидації після ураження міокарда підвищеними дозами адреналіну, що призводить до токсичної дії проміжних продуктів метаболізму на еритроцитарні мембрани та плазматичні мембрани кардіоміоцитів і викликає зміну їх проникності. На це вказує підвищення активності АсАТ у сироватці крові і зниження її у серці, що може свідчити про розвиток у цей період ішемії міокарда [265].

Можна припустити, що механізм метаболічної антистресової кардіопротекторної дії ЕСцП при токсичній дії адреналіну на серце реалізується, зокрема через відновлення балансу оксидантно-анти-оксидантної системи, що збільшує витривалість міокарда при його токсичному ураженні.

В нашому дослідженні відносно відновлення об'ємно-швидкісних характеристик та показників скоротливої функції лівого шлуночка, яке відбувалося на 28-му добу експерименту, ймовірно, зумовлено завершенням активного запального процесу, заміщенням уражених кардіоміоцитів сполучною тканиною, репаративною регенерацією кардіоміоцитів, що залишилися, та адаптацією серцевого м'яза до нових умов гемодинаміки.

В умовах розвитку коронарного синдрому при інфаркті міокарда у людей, коли надмірне виділення адреналіну під час емоційного стресу («відчуття страху смерті») сприяє активації симпатoadреналової системи, і як наслідок, посиленню розвитку запального процесу в серцевому м'язі, представляється достатньо виправданим використання препаратів біологічно-активних речовин, які будуть гальмувати патологічні метаболічні зміни в міокарді.

Порівняльний аналіз трьох моделей ушкодження міокарда за результатами ультразвукового дослідження показав, що:

за ступенем систолічної дисфункції моделі розташовуються таким чином:

перев'язка ЛВА > адреналінова міокардіодистрофія > кріодеструкція;

за ефективністю МСК та ЕСцП у відновленні скоротливості та корекції дилатації:

МСК при ішемічній моделі > ЕСцП у складі альгінатного гідрогелю при кріонекрозі > ЕСцП при адреналіновій моделі;

за відтворюваністю та стабільністю УЗ-показників:

кріодеструкція > адреналінова модель > перев'язка ЛВА;

за швидкістю відновлення геометрії та гемодинаміки ЛШ (ФВ, УО):

АГІ+ЕСцП > МСК > метопролол > контроль.

У всіх моделях спостерігали однакову функціональну динаміку: початкове зниження насосної функції → часткове відновлення до 30-ї доби → формування компенсаторного ремоделювання, вираженість якого залежала від обсягу ураження та виду терапії.

При аналізі ехокардіографічних змін та імунологічних показників встановлено, що інтенсивність системного та локального запалення прямо пов'язана з погіршенням структурно-функціонального стану серця. У контрольних тварин після перев'язки ЛВА ФВ знижувалася до $45,6 \pm 1,7\%$, а рівні IL-1 β , IL-6 і TNF- α зростали у 2–2,5 раза від норми, що супроводжувалося збільшенням КДД і КСД та прогресуванням ремоделювання.

Зниження прозапальної активності цитокінів асоціюється з покращенням скоротливої функції міокарда. У тварин, яким вводили МСК, концентрації IL-1 β , IL-6 і TNF- α зменшувалися на 23–35%, а NLRP3 – на 20–30% порівняно з контролем, що супроводжувалося підвищенням ФВ на 17% через 7 діб та до $57,4 \pm 2,2\%$ на 30-ту добу.

Імуномодулювальні ефекти екстрактів кріоконсервованого серця поросят сприяють помірному, але достовірному відновленню функції ЛШ. На тлі зниження TNF- α та IL-6 на 20–30% та NLRP3 на 25–31% ФВ зростала до $52,1 \pm 2,0\%$, а КСО зменшувався у середньому на 12–18%.

У моделі кріонекрозу та токсичного ушкодження міокарда простежується однакова закономірність: чим вищі рівні IL-1 β , IL-6, TNF- α і NLRP3 (зростання у 1,5–3,5 раза в контролі), тим гірші показники насосної функції; і навпаки – будь-яке зниження цитокінів на 15–30% супроводжується стабілізацією ФВ та зменшенням ремоделювання.

МСК демонструють найпотужнішу здатність до корекції постінфарктних порушень, забезпечуючи найкраще відновлення ФВ та зменшення дилатації

ЛШ, тоді як ЕСцП забезпечують збалансовану імунну відповідь, підсилюючи секрецію IL-2 та IFN- γ та зменшуючи запальну інфільтрацію.

Обидва підходи – МСК та екстракти серцевого походження – зменшують інтенсивність запалення та сприяють формуванню більш зрілого й організованого рубця, що може розглядатися як основа для комбінованих стратегій запобігання патологічному ремоделюванню міокарда.

Крім того, у всіх експериментальних моделях ушкодження міокарда (ішемічній, кріодеструкційній, адреналіновій) спостерігався виражений імунний дисбаланс, що проявлявся зниженням частки **Treg-лімфоцитів і підвищенням рівня Th17-клітин**. Це зумовлювало істотне збільшення співвідношення Th17/Treg, яке прямо корелювало зі зниженням фракції викиду лівого шлуночка.

У щурів із інфарктом міокарда частка Treg знижувалася вдвічі (до $4,7 \pm 0,3\%$), тоді як Th17 зростала більш ніж удвічі (до $6,1 \pm 0,3\%$), що супроводжувалося падінням фракції викиду до $50,95 \pm 1,92\%$. Подібна тенденція відмічалася й у моделях кріонекрозу та адреналінового ураження.

Застосування мезенхімальних стромальних клітин сприяло відновленню імунного балансу – підвищенню Treg, зниженню Th17 і нормалізації співвідношення Th17/Treg ($0,62 \pm 0,05$), що супроводжувалося зростанням фракції викиду до $57,45 \pm 2,55\%$.

У моделі кріодеструкції комбінація альгінатного гідрогелю (АГІ) з екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕСцП) виявила найкращий ефект: співвідношення Th17/Treg нормалізувалося ($0,50 \pm 0,04$), а фракція викиду залишалася стабільною ($54,9 \pm 2,27\%$).

При адреналіновому ураженні введення кордарону частково нормалізувало імунний баланс, тоді як ЕСцП забезпечував повне відновлення показників Treg/Th17 ($0,41 \pm 0,03$) та фракції викиду ($64,7 \pm 0,52\%$), що практично відповідало нормі.

Отримані результати підтверджують наявність тісного зв'язку між імунорегуляторним дисбалансом (Th17/Treg) та порушенням систолічної функції серця. Зростання частки Th17 і зниження Treg асоціюються з

пригніченням скоротливості міокарда, тоді як відновлення їхнього балансу – із покращенням насосної функції серця.

Імуномодулювальні стратегії (МСК, кордарон, метапролол, ЕСцП) проявляють кардіопротекторну дію через зниження прозапальної активності Th17 і відновлення регуляторного потенціалу Treg.

Найбільш ефективним засобом у відновленні балансу Treg/Th17 і нормалізації фракції викиду виявився екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕСцП), що свідчить про його виражену імунокоригувальну та кардіопротекторну дію.

Досліджуючи кардіопротекторний ефект мезенхімальних стромальних клітин на моделі перев'язки лівої коронарної артерії за показниками антиоксидантної системи встановлено, що перев'язка лівої коронарної артерії призводить до розвитку вираженого оксидативного стресу, що проявляється значним зростанням показників перекисного окиснення ліпідів.

Уже на 7-му добу рівень дієнових кон'югатів (ДК) у міокарді зростав у 2,4 раза ($57,48 \pm 2,44$ проти $23,95 \pm 2,7$ мкмоль/г); у сироватці – у 1,5 раза ($36,81 \pm 0,56$ проти $24,54 \pm 3,99$ мкмоль/мл); рівень ТБК-активних продуктів у міокарді збільшувався у 3,3 раза ($7,39 \pm 0,25$ проти $2,26 \pm 0,45$ нмоль/г); у сироватці – на 81% ($9,29 \pm 0,25$ проти $5,13 \pm 0,50$ мкмоль/мл).

Одночасно спостерігалось пригнічення активності каталази та СОД на 30–50%, що відображає виснаження антиоксидантного захисту.

Трансплантація мезенхімальних стромальних клітин ефективно знижує інтенсивність ПОЛ, забезпечуючи зменшення накопичення як первинних (ДК), так і вторинних ТБК-активних продуктів пероксидації: у міокарді рівень ДК на 14-ту добу був на 17% нижчим, ніж у контролі ($37,72 \pm 2,47$ проти $45,51 \pm 1,49$ мкмоль/г); на 28-му добу ДК зменшилися на 54% відносно 7-ї доби та майже відповідали нормі ($26,35 \pm 1,15$ проти $23,95 \pm 2,7$ мкмоль/г); у сироватці ДК знижувалися на 18% (14-та доба) і 27% (28-ма доба) порівняно з контролем; рівень ТБК-активних продуктів у міокарді зменшувався на 21–23% у різні терміни спостереження, у сироватці – на 16–25%.

МСК сприяють відновленню ферментативної ланки антиоксидантної системи. Порівняно з контрольною групою активність каталази у сироватці підвищувалася на 20–25% уже на 7-му добу, на 14-ту добу досягала значень, близьких до норми, на 28 добу – повністю нормалізувалася; у міокарді активність каталази на 28-му добу була на 35–40% вищою, ніж у контролі.

Аналогічну динаміку демонструвала активність СОД: у сироватці вона зростала на 25–30% на 7-му добу та перевищувала норму на 10–15% на 28-му добу; у міокарді – зростання на 40–50% відносно контролю на 28-му добу.

Антизапальний ефект МСК підтверджується прискореним зниженням рівня С-реактивного білка (СРБ). Уже на 3-тю добу СРБ у групі МСК був на 22% нижчим, ніж у контролі ($14,1 \pm 1,5$ проти $18,2 \pm 1,8$ мг/л). На 7-му добу – на 20% нижчим. На 14-ту добу рівень СРБ зменшувався у 1,8 раза та не відрізнявся від норми ($7,0 \pm 0,8$ мг/л проти $5,6 \pm 0,7$ мг/л). Це свідчить про суттєве зниження системної запальної реакції під впливом МСК.

Сукупність отриманих даних підтверджує виражений кардіопротекторний ефект мезенхімальних стромальних клітин, який реалізується через зменшення інтенсивності ПОЛ на 20–55%, прискорене відновлення активності каталази та СОД на 30–60% швидше, ніж у контролі, зниження системного запалення (СРБ) на 20–45% у перші 14 діб, стабілізацію клітинних мембран та зниження ступеня ішемічного ушкодження міокарда.

Таким чином, МСК демонструють чіткий антиоксидантний, протизапальний та мембраностабілізуювальний ефект, що визначає їхній значний потенціал як кардіопротекторного засобу при ішемічних ураженнях серця.

Моделювання кріонекрозу міокарда супроводжується різко вираженим резорбційно-некротичним синдромом, що проявляється значним зростанням маркерів цитолізу вже на першу добу спостереження.

Активність ЛДГ у контролі зростала у 3 рази відносно норми. У групі з введенням чистого альгінатного гідрогелю – у 2,4 раза, у групах з Метопрололом та ЕСцП – у 2 рази. Це підтверджує гострий некроз кардіоміоцитів у ранній термін після ушкодження.

Використання альгінатного гідрогелю, особливо насиченого екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕСцП), прискорює нормалізацію активності ЛДГ. На 7-му добу активність ЛДГ у групах 3 і 4 не відрізнялася від норми, тоді як у груп 1 і 2 вона залишалася підвищеною на 30–45%. На 14-ту добу ЛДГ у групах 3 і 4 була на рівні норми, тоді як у групах 1 і 2 її значення перевищували норму майже у 1,5 раза. На 28-му добу активність ЛДГ нормалізувалась у всіх групах, що вказує на завершення гострої фази цитолізу.

Рівень амінотрансфераз відображав помірний цитолітичний синдром, характерний для кріонекрозу міокарда. Активність АлаТ протягом експерименту не перевищувала норму, що підтверджує невисоку діагностичну чутливість цього показника при локальному ушкодженні міокарда. Активність АсАТ на першу добу в усіх групах збільшувалася в 1,5 раза, що відповідало гострому вивільненню ферменту з ушкоджених кардіоміоцитів.

Терапевтичні втручання (метопролол або альгінатний гель з ЕСцП) значно пришвидшували зниження активності АсАТ. На 7-му добу в контролі АсАТ залишався підвищеним у 1,4 раза відносно норми. Натомість у групах 3 і 4 активність АсАТ не відрізнялася від норми ($p < 0,05$), тобто зменшилася на 30–35% швидше, ніж у контролі. Це вказує на менший обсяг прогресуючого ушкодження та прояви мембраностабілізуючого ефекту терапії. Повна нормалізація активності амінотрансфераз у всіх групах спостерігалася до 14–28-ї доби, однак у тварин, що отримували лікувальні втручання, показники наближалися до норми раніше на 7–10 діб, ніж у контрольних тварин.

Це свідчить про зменшення тривалості цитолітичного синдрому та потенційне обмеження розміру зони некрозу.

Загалом, застосування альгінатного гідрогелю, насиченого екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят, демонструє виражений кардіопротекторний ефект, що проявляється зниженням активності ЛДГ на 35–50% швидше, ніж у контролі, нормалізацією АсАТ на 7–14 діб раніше, більш швидким завершенням резорбційно-некротичної фази ушкодження міокарда.

Це підтверджує мембраностабілізуюльну, протизапальну та цитопротекторну дію біоактивного альгінатного імплантата.

Під час дослідження показників лактатно-піруватного обміну в міокарді при адреналіновому ушкодженні встановлено, що надмірне введення адреналіну викликає глибокі метаболічні порушення у міокарді, що проявляються зростанням вмісту лактату, зниженням рівня пірувату та значним підвищенням співвідношення лактат/піруват. Такі зміни є типовими для гіпоксичних і гіперметаболічних станів, коли аеробне фосфорилування блокується, а клітини вимушені використовувати анаеробний шлях генерації АТФ, який менш ефективний і супроводжується утворенням кислих метаболітів.

Це свідчить про розвиток мітохондріальної дисфункції, що є характерним для кардіоміоцитів при впливі катехоламінів. У літературі зазначається, що адреналін спричиняє оксидативний стрес, підвищення вільних радикалів і порушення електронно-транспортного ланцюга, що призводить до зниження активності піруватдегідрогеназного комплексу та нагромадження лактату [266].

Нормалізація рівня лактату та відновлення пірувату дозволяє припустити, що кріоекстракт впливає на мітохондріальний метаболізм, активуючи аеробне окиснення субстратів. Можливими механізмами такої дії є стимуляція піруватдегідрогенази – ключового ферменту, що забезпечує вхід пірувату в цикл Кребса. Таким чином, екстракт кріоконсервованих фрагментів серця порожняк активує антиоксидантну дію – знижує активність вільнорадикальних процесів, які блокують ферментні системи, підтримує мембраностабілізуючу функцію – захист мітохондріальних мембран і збереження потенціалу внутрішньої мембрани. А також є джерелом з постачання біогенних регуляторів (пептиди, амінокислоти), які здатні модулювати клітинні сигнальні каскади та підтримувати гомеостаз. Отримані результати корелюють з даними досліджень, у яких тканинні екстракти (зокрема, печінки, мозку або серця) демонструють адаптогенні та кардіотропні властивості, сприяючи відновленню обміну речовин при патологіях серцево-судинної системи [89].

З практичної точки зору, кріоекстракт серця може бути розглянутий як потенційний засіб для корекції ішемічних, стрес-індукованих або медикаментозних уражень міокарда, особливо у випадках, коли доступ до

кисню обмежений або енергетичний метаболізм порушений. Його перевагами є комплексний склад, природне походження та біосумісність, що робить його перспективним для подальших доклінічних і клінічних досліджень.

Таким чином, застосування кріоекстракту серця сприяє нормалізації показників лактатно-піруватного обміну в ураженому міокарді, покращенню адаптаційних можливостей серцевого м'яза та зниженню вираженості адреналін-індукованого метаболічного ушкодження.

Виражений позитивний вплив ЕСцП демонструє і на регуляцію енергетичного обміну в міокарді щурів при АМД. Уже на ранніх етапах, зокрема на 2-й день після індукції АМД, спостерігалось істотне зниження рівня АТФ у тканинах серця контрольної групи, що підтверджує гострий енергетичний дефіцит внаслідок деструктивних процесів у міокарді. Застосування ЕСцП сприяло вірогідному підвищенню рівня АТФ порівняно з нелікованою контрольною групою, що може свідчити про активацію механізмів енергогенезу та стабілізацію метаболічного гомеостазу.

У динаміці, на 7-й та 14-й день, відзначалося поступове відновлення показників енергетичного обміну в усіх групах, однак у щурів, які отримували ЕСцП, рівень АТФ зростав інтенсивніше й наближався до значень інтактних тварин, що вказує на більш ефективну регенерацію енергетичного потенціалу. Водночас, хоча і кордарон також демонстрував позитивну динаміку, його ефективність була дещо нижчою за ЕСцП, що підтверджується як абсолютними значеннями АТФ, так і статистичними показниками.

Додатково, оцінка рівнів АДФ і АМФ вказала на зменшення їхньої концентрації під дією ЕСцП, що свідчить про відновлення нормального співвідношення між формами аденілових нуклеотидів і активізацію ресинтезу АТФ. Особливо помітною була тенденція до зниження АМФ, рівень якого суттєво підвищувався в контрольній групі на тлі гіпоксії та метаболічних порушень. Цей ефект у групі ЕСцП можна трактувати як індикатор нормалізації окисного фосфорилювання.

Оцінка енергетичного заряду (ЕЗ) як інтегрального показника стану енергетичного обміну додатково підтвердила переваги застосування ЕСцП.

Уже на ранньому етапі лікування в групі ЕСцП рівень ЕЗ був вірогідно вищим порівняно з контрольною групою, а на 14-й день дослідження він майже досягав значень у інтактних щурів. Це може свідчити про ефективну стабілізацію енергетичного балансу міокардіоцитів під впливом ЕСцП, що, ймовірно, зумовлено біологічно активними компонентами препарату, які чинять метаболічну, антиоксидантну та мембраностабілізуючу дію. Отримані дані узгоджуються з встановленими у попередніх дослідженнях [90] антиоксидантними властивостями у ЕСцП. У подальшій роботі перспективним видається вивчення ефектів кріоекстракту в умовах системної патології, зокрема за наявності атеросклеротичних змін, а також з урахуванням статевих відмінностей, які, як було показано раніше [267], істотно впливають на перебіг ССЗ.

Отримані результати свідчать про те, що ЕСцП чинить багатофакторний вплив на енергетичний гомеостаз міокарда у моделі АМД. Спостережене підвищення рівнів АТФ при одночасному зниженні концентрацій АДФ і АМФ на тлі використання ЕСцП може свідчити не просто про компенсацію дефіциту енергії, а про більш глибоку активацію систем ресинтезу макроергів. Вочевидь, цей ефект реалізується через підвищення ефективності окисного фосфорилювання та збереження цілісності мітохондріальних мембран, що в умовах окисного стресу має принципове значення.

Особливо показовим є випереджувальний характер змін при використанні ЕСцП: відновлення енергетичних показників починалося раніше і відбувалося інтенсивніше, ніж при використанні кордарону. Це змушує припустити, що біологічно активні компоненти ЕСцП здатні впливати на регуляторні системи клітини, зокрема на активацію АМФ-активованої протеїнкінази (АМРК), яка є ключовим енергетичним сенсором, а також стимулювати біогенез мітохондрій через сигнальні шляхи, пов'язані з PGC-1 α .

Іншим важливим аспектом є те, що ЕСцП не тільки запобігав зниженню ЕЗ у ранні терміни після пошкодження, але й сприяв його поступовому відновленню до рівнів, близьких до фізіологічних. У патофізіологічному контексті це має глибоке значення: навіть тимчасова втрата енергетичного

балансу в кардіоміоцитах запускає каскади апоптозу та некрозу. Тому здатність стабілізувати енергетичний статус міокарда фактично еквівалентна потенціалу запобігати прогресуванню серцевої недостатності.

Особливої уваги заслуговує співвідношення АТФ/АДФ/АМФ у динаміці: на тлі введення ЕСцП спостерігалось відновлення нормального профілю аденілових нуклеотидів, що свідчить про оптимізацію клітинного енергетичного циклу, відновлення активності аденілаткінази та стабілізацію внутрішньоклітинного пулу нуклеотидів. Важливо, що цей ефект зберігався навіть у віддалені строки експерименту (14-й день), що вказує на пролонговану дію препарату.

Таким чином, інтерпретація отриманих даних дозволяє висунути гіпотезу, що ЕСцП чинить комплексний кардіопротекторний вплив, реалізуючи одночасно енерготропну, антиоксидантну та мембраностабілізуючу дію. Цей мультифакторний характер ефектів вигідно вирізняє ЕСцП серед традиційних фармакологічних засобів, дія яких здебільшого спрямована на окремі ланки патогенезу.

У більш широкому біомедичному контексті ці результати актуалізують концепцію використання тканинно-специфічних екстрактів природного походження як засобів метаболічної терапії у кардіології. За сучасними уявленнями, одним із ключових напрямків кардіопротекції є саме модулювання енергетичного та антиоксидантного потенціалу кардіоміоцитів у відповідь на стресові навантаження різної етіології – від ішемічного до катехоламінового стресу. Якщо врахувати, що ураження міокарда внаслідок ішемічних, запальних і токсичних пошкоджень характеризуються енергетичним дисбалансом і обмеженою репаративною відповіддю через низьку проліферативну здатність кардіоміоцитів, то це обґрунтовує підвищений інтерес до терапевтичних стратегій, які б поєднували протизапальні, метаболічні й регенеративні властивості [258]. У цьому контексті препарати біологічного походження можуть розглядатися як засоби із потенціалом стимулювати і впливати на репаративну регенерацію й відновлення функції уражених органів. Використання тканинспецифічних пептидних комплексів, одержаних з

відповідних органів тварин, з цієї точки зору видається особливо перспективним, оскільки вони містять спектр регуляторних пептидів, що регулюють проліферативну активність усіх клітин, з яких складається орган. А застосування кріобіологічних технологій дозволяє отримати екстракти з високою біологічною активністю [267, 264].

Виходячи з наведеного вище, застосування ЕСцП можна розглядати не тільки як симптоматичний підхід до корекції енергетичних порушень, а як елемент патогенетичної терапії, потенційно здатної змінювати перебіг захворювань серця, асоційованих із метаболічними порушеннями.

При оцінці показників вільнорадикального окиснення на тлі моделювання АМД спостерігалось істотне зростання рівнів ТБК-активних продуктів, малонового діальдегіду та дієнових кон'югатів, що достовірно свідчить про активацію процесів ліпопероксидації, характерних для оксидативного ушкодження кардіоміоцитів, що узгоджується з даними літератури про роль ОС у патофізіології кардіоміопатії [269, 270, 271]. Лікування ЕСцП та кордароном сприяло зниженню рівня ДК, хоча у жодній з груп рівень не досяг значень, характерних для інтактних щурів. Це свідчить про певну ефективність обох препаратів у корекції оксидативного стресу, однак для досягнення повного відновлення функцій антиоксидантної системи потрібні додаткові дослідження. При цьому, в деяких дослідженнях показано, що кордарон може захищати кардіоміоцити від ушкоджень, спричинених ОС, шляхом безпосереднього поглинання вільних радикалів кисню [270, 271].

Найбільші зміни відзначалися на 2-гу добу після моделювання патології, що корелює з гострою фазою розвитку окисного стресу. Лікування ЕСцП сприяло достовірному зменшенню вказаних маркерів вже на ранньому етапі, демонструючи 33,7% зниження ТБК-АП, що є вірогідним підтвердженням антиоксидантного потенціалу даного препарату.

На подальших етапах спостереження (7-ма та 14-та доба) позитивна динаміка зменшення маркерів ліпопероксидації зберігалася в усіх групах, однак рівні МДА та ДК залишалися вищими за значення інтактних тварин, що свідчить про неповне відновлення антиоксидантного балансу навіть на тлі

терапії. Варто зазначити, що зниження рівня окиснювальних маркерів у групі ЕСцП загалом не поступалося, а подекуди навіть перевищувало ефективність терапії кордароном, при цьому міжгрупові відмінності не досягали статистичної значущості, що вказує на зіставлявану ефективність обох препаратів.

В експериментах на культурах людських кардіоміоцитів кордарон у терапевтичних концентраціях знижував потенціал мітохондріальної мембрани та синтез АТФ, що свідчить про можливе порушення рівноваги між АФК і антиоксидантними системами. Водночас при застосуванні нижчих чи цільових доз препарат підтримував стабільність дихального ланцюга та обмежував надлишкову мітохондріальну генерацію АФК [272].

Як зазначає останній огляд, оксидативний стрес виступає ключовим механізмом аміодарон-індукованої токсичності: накопичення АФК за одночасного виснаження ендогенних антиоксидантів порушує функцію дихального ланцюга, запускає запальну реакцію та сприяє накопиченню окиснених білків і ліпідів. Це підкреслює необхідність точного підбору дози й способу введення кордарону для посилення його антиоксидантного захисту і мінімізації токсичних ефектів.

Таким чином отримані результати дають підстави вважати кріоекстракт серця перспективним засобом у складі патогенетичної терапії АМД, спрямованої на зниження рівня ОС, стабілізацію мембран, відновлення активності ферментів антиоксидантного захисту та збереження редокс-гомеостазу. Водночас відсутність повного відновлення показників до рівня інтактних тварин навіть через 14 діб терапії вказує на необхідність подальших досліджень для оптимізації дозування, термінів лікування та можливої комбінованої терапії з іншими засобами антиоксидантної дії.

При дослідженні ендогенної антиоксидантної системи отримані нами результати демонструють, що застосування ЕСцП і кордарону суттєво впливає на ключові ферменти антиоксидантного захисту, такі як СОД, каталаза, ГПО та рівень G-SH в умовах експериментальної АМД. Згідно з сучасними даними,

зміни активності цих антиоксидантних систем є важливим індикатором розвитку ОС та ішемічних пошкоджень у міокарді [273].

У моделі АМД спостерігається гостре підвищення ОС у міокарді, що характеризується зниженням активності ключових антиоксидантних ферментів. Наші дані показали, що вже на 2-й день після індукції АМД активність СОД, каталази та ГПО була суттєво знижена, що відповідає фазі накопичення АФК під час ішемії. Подібні результати отримані в інших дослідженнях, де показано швидке зниження антиоксидантного захисту у ранні терміни після реперфузійного ушкодження [274].

До 7-ї доби спостереження відмічалось відновлення ферментативної активності, що свідчить про індуковану ендогенною системою адаптацію до стресу. Наприклад, комбінована терапія з дильтіаземом та екзогенною СОД сприяла зменшенню АФК та збереженню структури мітохондрій у моделі ішемії у щурів. У нашій роботі лікування ЕСцП і кордароном значно прискорювало відновлення активності СОД порівняно з контрольною групою, що вказує на кардіопротективну дію ЕСцП через підвищення СОД-залежних механізмів нейтралізації супероксиду.

Щодо глутатіонпероксидази та відновленого глутатіону, наші результати також співпадають з даними сучасної літератури. ГПО та G-SH є критичними компонентами клітинної антиоксидантної системи, відповідальними за зменшення пошкоджень, індукованих вільними радикалами [140, 274]. ГПО використовує відновлений глутатіон (G-SH) для детоксикації органічних пероксидів, підтримуючи червоний баланс клітинного середовища. У нашій моделі лікування ЕСцП та кордароном сприяло підвищенню активності ГПО й рівня G-SH раніше, ніж у контрольній групі, що демонструє синергізм ферментативних систем антиоксидантного захисту.

Водночас, наші результати свідчать про неповне відновлення антиоксидантного гомеостазу протягом 14-денного терміну лікування. Це узгоджується з висновками Tong et al., згідно з якими тривале застосування антиоксидантів або комбіновані підходи (наприклад, поліфеноли разом із

коензимом Q10) можуть забезпечити більш стійку нормалізацію гомеостазу в міокарді [275].

Таким чином, аналізуючи сучасні дослідження, можна стверджувати, що кріоекстракт серця має значний потенціал як кардіопротекторний агент з антиоксидантними властивостями. Враховуючи його біогенну природу, ЕСцП може мати переваги перед традиційними фармакологічними препаратами, такими як кордарон, у зниженні ризику побічних ефектів і поліпшенні біосумісності. Для подальшого клінічного застосування необхідні детальніші дослідження, які враховують оптимальні дозування, тривалість терапії та можливість комбінованих схем лікування.

Важливість оцінки оксидативного гомеостазу при серцево-судинній патології посилюється на тлі нових клінічних викликів. Так, у пацієнтів з ішемічною хворобою серця встановлено достовірний зв'язок між інтенсивністю оксидативного стресу та порушенням імунної реактивності, що ускладнює перебіг хвороби та погіршує відновлення після ішемії [276]. Паралельно вивчається вплив системного запалення та інфекційних чинників – зокрема, COVID-19 – на ризики серцево-судинних ускладнень, де окиснювальний дистрес відіграє роль ключового патофізіологічного механізму [277]. Крім того, клінічні кейси описують виникнення стрес-індукованої кардіоміопатії (такоцубо) в умовах сепсису, що ще раз підкреслює тісний зв'язок між системним запаленням, редокс-дисбалансом та функціональним виснаженням міокарда [278].

У хірургічній практиці, зокрема при операціях на фоні зниженого серцевого резерву, моніторинг показників редокс-гомеостазу розглядається як ключовий інструмент персоналізованого інфузійного ведення пацієнтів [26]. Не менш значущим є вплив оксидативного стресу в трансфузіології – за умов війни спостерігаються зрушення в ліпопероксидації навіть у донорів крові, що потенційно може впливати на якість еритроцитарних препаратів та їхню ефективність у кардіохірургії [279].

Таким чином, отримані результати не лише підтверджують перспективність застосування ЕСцП як кардіопротекторного агента, але й

розширюють розуміння ролі комплексної терапії в корекції оксидативного гомеостазу. Сучасні тенденції у кардіології акцентують увагу на інтеграції антиоксидантних підходів з протизапальними та імуномодулювальними стратегіями, що особливо актуально при коморбідних станах, зокрема у пацієнтів із запальними ревматичними захворюваннями, де медикаментозна корекція може впливати на серцево-судинний ризик [280]. У цьому контексті дані щодо кардіоселективності кріобіотехнологічних агентів [90] відкривають можливості для їхнього застосування як у кардіологічній, так і у ревматологічній практиці, із потенційною адаптацією дозування та схем введення під потреби конкретних пацієнтів.

При дослідженні глікогенолізу встановлено, що за умов АМД спостерігаються виражені порушення вуглеводного обміну, що проявляються, зокрема, істотним зниженням рівня глікогену в міокарді вже на ранніх етапах моделювання патологічного процесу. Така динаміка є характерною для станів, які супроводжуються розвитком гіперкатехоламінемії, порушенням автономної регуляції та активацією стрес-індукованого метаболічного дисбалансу, що притаманно як токсичним, так і ішемічним ураженням серцевого м'яза [277]. Різке виснаження енергетичних субстратів, представлених глікогеном, є наслідком активації катаболічних процесів під впливом надлишку адреналіну, який через підвищення циклічного АМФ, стимулює глікогеноліз та пригнічує глікогенез, посилюючи споживання глюкози і знижуючи її депонування [278]. Крім того, дефіцит глікогену у кардіоміocyтах ускладнює реалізацію анаеробного шляху отримання енергії в умовах ішемії, що додатково поглиблює метаболічну дезінтеграцію і підвищує ризик структурного пошкодження клітин.

На цьому тлі введення ЕСцП зумовлює достовірне підвищення рівня глікогену вже на 2-гу добу експерименту, що свідчить про раннє залучення механізмів нормалізації глюкозного обміну. Така ефективність є обґрунтованою з огляду на властивості біологічно активних тканинних препаратів впливати на збереження цілісності клітинних мембран, підтримку внутрішньоклітинного гомеостазу та стабілізацію ферментативної активності,

що особливо важливо за умов оксидативного стресу та дисбалансу метаболізму [276]. Отримані результати свідчать, що рівень глікогену у тварин, яким вводили ЕСцП, залишався стабільно підвищеним упродовж усього періоду дослідження, на що вказує порівняння з контрольною групою, де показники залишались значно нижчими. Така динаміка підтверджує гіпотезу про участь ЕСцП у довготривалій метаболічній адаптації та зниженні енергетичного дефіциту, що узгоджується з сучасними уявленнями про дії тканинних екстрактів у станах метаболічного стресу [281].

Порівняння з референтним препаратом – кордароном – засвідчило, що останній забезпечував дещо вищі значення глікогену на всіх етапах експерименту, однак спостерігалось поступове зменшення цієї різниці, що вказує на потенційне вирівнювання ефективності між цими двома засобами. У літературі неодноразово описано аналогічний ефект застосування тканинних екстрактів, які модулюють як окисно-відновні, так і енергетичні процеси, зокрема через нормалізацію функціонування мітохондрій та активацію ферментних систем [279]. Це дозволяє розглядати ЕСцП як перспективний метаболічний коректор при кардіотоксичних ураженнях різного генезу.

Одним із додаткових показників стану вуглеводного обміну є концентрація глюкозо-6-фосфату (Г-6-Ф), рівень якого відображає активність гексокіназного етапу гліколізу. Встановлено, що у контрольній групі вже на 2-й день експерименту спостерігалось достовірне зниження цього показника, що свідчить про гальмування фосфорилування глюкози та розвиток метаболічного виснаження, притаманного ішемічним ушкодженням міокарда [90]. У свою чергу, введення ЕСцП сприяло підвищенню рівня Г-6-Ф, що інтерпретується як наслідок відновлення активності гексокінази, посилення гліколітичного потоку та поліпшення енергетичного забезпечення клітин.

Динаміка рівня Г-6-Ф у групах, які отримували ЕСцП або кордарон, характеризувалася стабільним зростанням впродовж дослідження. Це свідчить про пролонговану дію препаратів на глюкозний обмін, що забезпечує підтримку функціонального стану клітин у стресових умовах. Механізми дії ЕСцП можуть бути зумовлені наявністю в ньому коротких РП, що входять до

складу тканинного матриксу. Такі пептиди мають високу біологічну активність і можуть виступати як регулятори ферментних систем, зокрема тих, що беруть участь у глюкозному метаболізмі, як це підтверджено у дослідженнях екстрактів інших органів.

На 14-й день експерименту рівні глікогену та Г-6-Ф у щурів, які отримували ЕСцП, достовірно перевищували аналогічні показники контрольної групи, демонструючи тривалий позитивний ефект застосованого препарату. Аналогічні результати зафіксовані і в умовах моделі доксорубіцинової кардіоміопатії, де плацентарні кріоекстракти сприяли збереженню функціональної активності кардіоміоцитів, покращуючи енергетичне забезпечення та зменшуючи ознаки клітинного пошкодження [90].

Доповнюючи ці дані, результати ультразвукових досліджень, проведених на інших експериментальних моделях, засвідчили, що тканинні екстракти серця позитивно впливають на морфофункціональні характеристики міокарда, сприяючи збереженню товщини стінок шлуночків, покращенню фракції викиду та зниженню проявів ремоделювання. Встановлена кореляція між покращенням структурних параметрів і нормалізацією біохімічних маркерів гомеостазу, таких як рівень глікогену та Г-6-Ф, підтверджує ефективність метаболічної підтримки [90].

Імовірно, ефекти ЕСцП реалізуються через поєднання антиоксидантного та метаболічного впливу, що узгоджується з літературними даними про здатність плацентарних екстрактів знижувати інтенсивність ПОЛ, підвищувати активність АТФ-залежних систем і сприяти відновленню енергетичного гомеостазу в умовах гіпоксії або токсичного впливу [90]. Отримані результати дозволяють розглядати ЕСцП як потенційно ефективний засіб для корекції енергетичних порушень при токсичних ураженнях міокарда, з ефективністю, що наближається до сучасних фармакологічних препаратів, зокрема кордарону.

Таким чином, представлені дані підтверджують перспективність застосування ЕСцП як клітинно-вільного біологічного агента в складі комбінованої терапії при кардіотоксичних станах. Механізми його дії,

ймовірно, зумовлені наявністю коротких РП, які, згідно з сучасними даними, мають здатність специфічно регулювати експресію генів, пов'язаних із метаболічною стабільністю, антиоксидантним захистом і структурною цілісністю клітин [282, 283]. Відомо, що такі пептиди виконують функцію сигнальних молекул, здатних активувати транскрипцію окремих ділянок ДНК, що є критично важливим у процесах репарації тканин і підтримки життєздатності клітин. У контексті кардіотоксичного ураження ця властивість забезпечує не лише швидке метаболічне реагування, а й тривале збереження функціональної активності міокарда, що повністю відповідає динаміці біохімічних маркерів, зафіксованих у щурів, яким вводили ЕСцП.

Порівняльна інтегрована оцінка за біохімічними маркерами виглядає таким чином:

Найвираженіший оксидативний стрес:

Перев'язка ЛВА > АМД > кріонекроз

Найвищий рівень метаболічної дезінтеграції:

АМД > перев'язка ЛВА > кріонекроз

Швидкість нормалізації ферментів і маркерів ушкодження:

ЕСцП (кріонекроз, АМД) > МСК (ЛВА) > кордарон

Загальний кардіопротекторний ефект:

ЕСцП – енерготропний + антиоксидантний + мембраностабілізуювальний

МСК – антиоксидантний + протизапальний

Кордарон – антиоксидантний, але з ризиком дозозалежної мітохондріальної дисфункції.

Крім того, як МСК, так і екстракти серцевого походження знижують інтенсивність NLRP3-залежного запалення через контроль рівня ROS та відновлення редокс-балансу в міокарді.

Це забезпечує:

обмеження каскаду «ROS → NLRP3 → IL-1β/IL-18»;

зменшення ушкодження кардіоміоцитів і фіброзу;

збереження скоротливої функції серця (підвищення фракції викиду);

активацію репаративних процесів у зоні некрозу.

Таким чином, антиоксидантна регуляція МСК та ЕСцП є ключовим механізмом їхньої кардіопротекторної дії, що забезпечує контроль запалення та запобігає патологічному ремоделюванню серця після ішемічного, некротичного або токсичного ушкодження.

Отримані результати мікроскопічного дослідження демонструють виражену різницю у характері морфологічних змін міокарда між групами тварин з експериментальним інфарктом міокарда (ІМ) без лікування та після введення мезенхімальних стромальних клітин (МСК).

У тварин контрольної групи на ранніх етапах (7-ма доба) після перев'язки лівої коронарної артерії відзначалося формування великої зони ішемічного ушкодження з типовими ознаками коагуляційного некрозу – набряком строми, гомогенізацією саркоплазми, гіперхромією ядер та втратою поперечної смугастості кардіоміоцитів. У прикордонній зоні переважали деструктивно-дистрофічні процеси, що свідчить про гостру фазу ішемічного пошкодження. Залучення до процесу нейтрофілів і макрофагів відображало активацію запальної реакції, спрямованої на елімінацію некротичних мас.

На 14-ту добу формувався виражений фагоцитарний етап із переважанням макрофагальної інфільтрації та початком заміщення некротизованої тканини фібробластами. У подальшому (до 30-ї доби) у зоні інфаркту спостерігалось формування зрілої рубцевої тканини з колагеновими волокнами, що є типовим завершенням постінфарктного ремоделювання міокарда. Такі зміни свідчать про перебіг класичного некротично-запально-фіброзного процесу без ознак суттєвої регенерації або неоангіогенезу.

Натомість у групі тварин, яким вводили МСК, уже на 7-му добу у зоні інфаркту виявлялася грануляційна тканина з активним проростанням капілярів, фібробластів і макрофагів. Це вказує на прискорений перебіг репаративних процесів та ранню активацію неоангіогенезу. На 14-ту добу виявлялася пухка сполучна тканина із зрілими колагеновими волокнами та великою кількістю судин мікроциркуляторного русла, що свідчить про стабілізацію процесів ремоделювання. Через 30 діб зона ураження характеризувалася ніжною

рубцевою тканиною, насиченою капілярами соматичного типу, а кардіоміоцити у періінфарктній зоні мали чітку поперечну смугастість, добре виражені вставні диски та помірно базофільні ядра, що вказує на збереження структурно-функціональної цілісності м'язових волокон.

Морфометричний аналіз підтвердив сприятливу дію трансплантації МСК: відносна площа судин та їх кількість у групі з МСК були достовірно вищими ($p < 0,05$), тоді як площа сполучної тканини – істотно нижчою, ніж у контролі. Це узгоджується з даними літератури [255, 256], де показано, що МСК стимулюють ангіогенез і пригнічують надмірне фіброзоутворення за рахунок секреції ангіогенних та трофічних факторів (VEGF, FGF-2, HGF).

Таким чином, отримані результати свідчать, що введення МСК сприяє зменшенню зони некрозу, покращує мікроциркуляцію та прискорює формування грануляційної і рубцевої тканини з оптимальними морфологічними характеристиками. Ці дані вказують на виражений кардіопротекторний та ангіопроліферативний ефект МСК, що дозволяє розглядати клітинну терапію як перспективний напрямок у відновленні структури та функції міокарда після інфаркту.

Електронно-мікроскопічне дослідження показало, що введення мезенхімальних стромальних клітин чинить виражений кардіопротекторний ефект, який реалізується через зменшення ступеня деструктивних змін ультраструктурних компонентів кардіоміоцитів і нормалізацію їх енергетичного метаболізму.

У тварин контрольної групи (без лікування) на 7-му добу після перев'язки лівої коронарної артерії виявлялася значна мозаїчність ультраструктурних змін у міокарді, що свідчило про глибокі дистрофічно-некротичні процеси. Спостерігалися набухання і деструкція мітохондрій, зникнення впорядкованості міофібрил, фрагментація саркоплазматичної мережі, руйнування десмосом і деформація ядер. Такі порушення свідчать про глибоку енергетичну недостатність клітин, втрату цілісності внутрішньоклітинних мембран і порушення кальцієвого гомеостазу, що є типовими ознаками ішемічного ушкодження міокарда.

У періінфарктній зоні виявлялися кардіоміоцити з ознаками часткової збереженості ультраструктурної організації – це свідчило про активацію компенсаторно-приспосувальних реакцій, спрямованих на підтримання життєздатності клітин. Проте без лікування відновлення енергетичного потенціалу залишалося неповним, а процеси регенерації – обмеженими.

На відміну від контрольної групи, у тварин після введення МСК спостерігалися виразні ознаки стабілізації ультраструктурної організації кардіоміоцитів. Базальна мембрана та сарколема зберігали цілісність, структура міофібрил залишалася впорядкованою, поперечна смугастість зберігалася у більшості клітин. Ядра кардіоміоцитів характеризувалися рівними контурами, наявністю 1–2 виражених ядерців та еухроматинового ядра, що свідчить про активізацію синтетичних процесів.

Особливу увагу заслуговують зміни ультраструктури мітохондрій. У групі з МСК відзначалося зменшення ступеня їх набряку, чітка візуалізація крист, а питомий об'єм мітохондрій і кількість крист наближалися до нормальних показників, істотно перевищуючи контрольні значення ($p < 0,05$). Це свідчить про відновлення функціональної активності мітохондріального апарату та покращення енергетичного забезпечення кардіоміоцитів. Виявлення дрібних електронно-щільних мітохондрій вказує на активацію мітохондріального біогенезу – однієї з ключових ланок адаптації серцевого м'яза до гіпоксії.

Крім того, у кардіоміоцитах тварин із введенням МСК визначалися гранули глікогену, що свідчить про нормалізацію вуглеводного обміну та відновлення енергетичного балансу клітин. Ендотеліоцити судин періінфарктної зони зберігали типову ультраструктуру, характеризувалися наявністю мікровілярних утворень і великої кількості піноцитозних везикул, що вказує на активні процеси обміну між кров'ю та навколишніми тканинами. Це узгоджується з морфологічними ознаками неоангіогенезу, зафіксованими у попередніх розділах.

Морфометричні дослідження підтвердили покращення функціонального стану мітохондрій при застосуванні МСК: площа мітохондрій і кількість крист

зросли майже вдвічі порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$), що свідчить про посилення аеробного дихання та енергетичної ефективності клітин.

Таким чином, введення мезенхімальних стромальних клітин на моделі експериментального інфаркту міокарда сприяє стабілізації ультраструктурної організації кардіоміоцитів; збереженню структурної цілісності сарколеми та міжклітинних контактів; нормалізації морфофункціонального стану мітохондрій і відновленню енергетичного метаболізму; покращенню мікроциркуляції та стимуляції неоангіогенезу в ураженій зоні.

Отримані результати свідчать про реалізацію вираженого цитопротекторного та енерготропного ефекту МСК, який може бути зумовлений їх паракринною активністю, виділенням ангіогенних факторів і стимуляцією ендогенних механізмів регенерації серцевої тканини.

Кріодеструкція стінки лівого шлуночка протягом 30 с за даними мікроскопічного дослідження призводить до глибоких морфологічних змін у міокарді, які характеризуються типовою послідовністю деструктивно-запальних і репаративних процесів. У контрольній групі тварин (група 2), яким виконували лише кріодеструкцію без лікувальних втручань, у ранні терміни (перша доба) переважали явища гострого пошкодження – інтерстиціальний набряк, втрата поперекової смугастості, пікноз ядер кардіоміоцитів та накопичення нейтрофільних лейкоцитів. На 7–14-ту добу формувався осередок некрозу, оточений грануляційною тканиною з лімфоцитарно-макрофагальною інфільтрацією, а до 30-ї доби у зоні ураження спостерігалось утворення зрілої рубцевої сполучної тканини з помірною гіпертрофією кардіоміоцитів по периферії. Ці зміни відображають класичний перебіг постнекротичного ремоделювання міокарда.

У групі тварин, яким вводився лише альгінатний гідрогель (група 3), структура міокарда зберігалася близькою до інтактної. Виявлявся лише незначний інтерстиціальний набряк і помірне повнокров'я судин, що свідчить про біосумісність матеріалу та відсутність запальної реакції. Уже на 14–30-ту добу гістологічна картина практично не відрізнялася від інтактного міокарда,

що підтверджує безпечність застосування альгінату як матриці для імплантації в серцеву тканину.

Після кріодеструкції з введенням альгінату (група 4) морфологічна динаміка характеризувалася менш вираженими некротичними змінами у порівнянні з групою без лікування. Вже на 7-му добу спостерігалось формування грануляційної тканини з розвитком капілярної мережі, а на 14–30-ту добу зона ураження була заповнена зрілими колагеновими волокнами з диференційованими судинами.

Застосування метопрололу (група 5), β -адреноблокатора з відомими кардіопротекторними властивостями, також сприяло зменшенню деструктивних змін у перші доби після кріовпливу. На 7–14-ту добу спостерігалось активне заміщення некротизованої тканини фібробластами, формування колагенових волокон і помірна проліферація судин. До 30-ї доби формувалась зрілий сполучнотканинний рубець.

Найбільш виражений позитивний ефект спостерігався у тварин групи 6, яким після кріодеструкції імплантували альгінатний гідрогель у поєднанні з екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят. Уже на 7-му добу відзначалося активне проростання капілярів і проліферація фіброblastів у зоні ураження, що супроводжувалося фагоцитозом некротизованих волокон макрофагами. На 14–30-ту добу формувалась щільний регенераторний пласт із зрілими колагеновими волокнами та добре розвиненою судинною мережею соматичного типу, стінки якої були утворені безперервним шаром ендотелію. Це свідчить про ефективну стимуляцію неоангіогенезу та покращення трофіки ураженої ділянки міокарда.

Порівняльний аналіз показав, що введення альгінатного гідрогелю з додаванням екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят посилює регенераторну відповідь, забезпечуючи більш раннє дозрівання рубцевої тканини, формування зрілих колагенових волокон та повноцінної капілярної сітки. У результаті цього зона пошкодження зменшується, а морфологічна організація тканини наближається до інтактної структури міокарда.

Отже, застосування композиту «альгінатний гідрогель – екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят» є перспективним підходом до локальної стимуляції репаративних процесів у міокарді після кріонекрозу, оскільки забезпечує поєднання механічної підтримки, біосумісності та біологічної активності, спрямованої на відновлення мікроциркуляції й структурної цілісності серцевої тканини.

При морфологічному дослідженні препаратів серця показано, що екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят суттєво модифікує перебіг адреналінової міокардіодистрофії, зменшуючи вираженість ушкоджень та сприяючи стабілізації структур міокарда на всіх етапах розвитку патологічного процесу.

У ранній період після ураження екстракт обмежує судинні та запальні реакції, забезпечуючи краще збереження кардіоміоцитів, зниження дистрофічних проявів та відсутність виражених некротичних змін у порівнянні зі стандартною терапією.

На етапі початкової репарації препарат стимулює відновлення ультраструктури кардіоміоцитів, сприяє нормалізації стану сарколеми, збереженню ядерних структур та активації мітохондріальних систем, а також забезпечує помірну проліферацію фіброblastів і ранні ознаки ангиогенезу.

У проміжний період розвитку патологічного процесу екстракт посилює формування грануляційної тканини, активізує неоангіогенез, покращує мікроциркуляцію та сприяє відновленню морфологічної цілісності кардіоміоцитів, що відображає його більш виражену регенераторну дію порівняно з кордароном.

На завершальних етапах репарації екстракт забезпечує формування структурно організованої сполучної тканини, нормалізацію кровонаповнення мікроциркуляторного русла та високий рівень збереження життєздатних кардіоміоцитів, що свідчить про завершення відновних процесів і стабілізацію морфологічного стану серця.

У порівнянні зі стандартною терапією екстракт демонструє вищий репаративно-регенеративний потенціал, який проявляється у більшій збереженості м'язових волокон, кращій організації відновленої тканини та активнішому формуванні судинного русла.

Узагальнюючи можна зазначити, що екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят чинить виражену репаративно-регенеративну дію при адреналіновій міокардіодистрофії, що проявляється раннім зменшенням запалення (на 30–40%), швидшим відновленням структури кардіоміоцитів (на 1 тиждень раніше), активною стимуляцією ангіогенезу (зростання кількості судин у 3,1 раза), вираженим обмеженням фіброзу (зниження його частки на 36%).

Загалом екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят чинить кардіопротекторний, ангіогенний та цитотрофічний ефекти, що сприяють зменшенню деструктивних змін, оптимізації репаративних процесів та формуванню м'якого, обмеженого кардіосклерозу з хорошою інтеграцією сполучної тканини.

Інтегрований порівняльний аналіз морфологічного дослідження на трьох моделях показав, що:

1. Швидкість репарації та формування грануляційної тканини

АГІ+ЕСцП (кріонекроз) $\approx$ МСК (ішемія) > ЕСцП (АМД) > інші групи.

2. Інтенсивність неоангіогенезу

МСК (ішемічна модель) $\approx$ АГІ+ЕСцП (кріонекроз) > ЕСцП (АМД) > метопролол > контроль.

3. Якість рубцевої тканини

АГІ+ЕСцП > МСК > кордарон > контроль (в усіх моделях).

4. Збереження та відновлення ультраструктури кардіоміоцитів

МСК (зона ішемії) > ЕСцП (АМД) > АГІ+ЕСцП (кріонекроз) > метопролол > контроль.

5. Обмеження фіброзу

ЕСцП (АМД) > МСК (ішемія) > АГІ+ЕСцП > метопролол > контроль.

МСК та ЕСцП мають найпотужніші репаративні властивості, забезпечуючи:

ранню активацію неоангіогенезу;
збереження структурно-функціональної цілісності кардіоміоцитів,
оптимальну організацію колагену;
зменшення об'єму фіброзу;
відновлення ультраструктури (мітохондрії, сарколема, міофібрили);
значне скорочення зони ушкодження.

У відповідь на ішемічне, кріогенне та токсичне ураження міокарда в усіх моделях відбувалося виражене зростання кількості CD68⁺ макрофагів, що відображало активацію запальної реакції та розвиток пошкодження тканини. Максимальна інфільтрація спостерігалася в ранні строки після ушкодження, після чого рівень макрофагів поступово знижувався.

В усіх контрольних групах ранній період характеризувався переважанням М1-макрофагів, що супроводжувалося активним перебігом гострого запалення. Надалі відзначався природний перехід до домінування М2-фенотипу, що свідчило про ініціацію репаративно-регенеративних процесів.

Терапевтичні втручання (мезенхімальні стромальні клітини, метопролол, кордарон та екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят) зменшували інтенсивність макрофагальної інфільтрації, обмежували прогресування гострого запалення та сприяли швидшому зниженню активності CD68⁺ клітин.

Усі досліджувані засоби сприяли швидшому переходу від М1- до М2-поляризації, що проявлялося раннім переважанням протизапальних та трофічних макрофагів і формуванням більш сприятливих умов для репарації пошкодженого міокарда.

Найбільш виражений імуномодулювальний та протизапальний ефекти спостерігали при застосуванні екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят, який забезпечував найбільше зниження активності макрофагальної інфільтрації та найшвидший перехід до М2-домінування.

У всіх моделях ушкодження відзначалося значне підвищення рівня апоптозу кардіоміоцитів, найбільш інтенсивне в ранні строки. Поступове зменшення рівня апоптозу корелювало з фазою репарації, однак у контрольних групах він залишався підвищеним упродовж тривалого часу.

Застосування всіх лікувальних засобів достовірно знижувало рівень апоптичної загибелі кардіоміоцитів, причому найпотужніший антиапоптичний вплив демонстрував екстракт серця поросят, який забезпечував найбільш помітне пригнічення апоптозу на всіх етапах спостереження.

Інтенсивність IgG-депозитів у зоні ураження значно зростала у контрольних групах, що відображало активацію гуморальної відповіді та розвиток аутоімунного компонента пошкодження міокарда.

Терапевтичні втручання, особливо застосування екстракту серця поросят та мезенхімальних стромальних клітин, приводили до істотного зменшення накопичення IgG-депозитів, що свідчить про їхню здатність знижувати аутоімунне ураження та стабілізувати імунну реактивність тканини.

У сукупності отримані результати свідчать, що всі досліджувані терапевтичні агенти чинять виражений протизапальний, антиапоптичний та імуномодулювальний вплив, сприяючи зменшенню ушкодження міокарда та оптимізації репаративних процесів. При цьому найбільш комплексний коригувальний ефект виявляє екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят, що проявляється одночасним пригніченням макрофагальної інфільтрації, зменшенням апоптозу й обмеженням аутоімунних проявів.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі теоретично та експериментально розв'язано важливу наукову проблему сучасної кардіології та регенеративної медицини, що полягає у з'ясуванні імунорегуляторних механізмів кардіопротекторної дії мезенхімальних стромальних клітин і кріоекстрактів серця в умовах ішемічно-некротичного ураження міокарда. Встановлено, що застосування мезенхімальних стромальних клітин та екстрактів кріоконсервованих фрагментів серцевої тканини забезпечує виражений кардіопротекторний ефект, який реалізується через комплекс імуномодулювальних, репаративних та регенеративних механізмів. Зокрема, показано їх здатність коригувати дисбаланс прозапальних і протизапальних імунних реакцій, зменшувати ступінь запального ушкодження міокарда, обмежувати зону некрозу та стимулювати відновні процеси в ушкодженій серцевій тканині. Отримані результати експериментально обґрунтовують доцільність використання кріоекстрактів серця як перспективних та безпечних засобів безклітинної терапії гострого коронарного синдрому, що відкриває нові можливості для підвищення ефективності лікування ішемічних уражень міокарда.

1. Встановлено, що кріотехнологічна модель некрозу міокарда формує чітко окреслену зону первинного ушкодження з швидкою активацією TLR4–NLRP3-залежного запалення. У перші 24 год кількість нейтрофілів у вогнищі зростала у 3–3,5 рази, тоді як макрофаги M1 накопичувалися поступово, досягаючи піку на 3 добу. Порівняння моделей показало, що ішемічна перев'язка ЛКА викликала найбільші ЕКГ-порушення (депресія ST до 0,25–0,3 mV), тоді як кріонекроз супроводжувався інтенсивнішою цитодеструкцією та гемомікроциркуляторними розладами. Адреналінова міокардіодистрофія характеризувалася системною гіперферментемією без чіткої зони некрозу, але з вираженим цитокіновим дисбалансом (IL-1 β зростав у 2,1 рази, TNF- α – у 1,8 рази). Таким чином, моделі відрізняються за типом імунного патерну: ішемічна – домінуванням

нейтрофільного ушкодження, кріогенна – стерильним запаленням з вираженою NLRP3-активацією, адреналінова – метаболічним імунодисбалансом, що необхідно враховувати при оцінці кардіопротекторних засобів.

2. Дослідження альгінатних гідрогелів показало, що їх фізико-хімічні властивості забезпечують контрольовану екстракцію поліпептидів: у моделях *in vitro* до 40–45% пептидів вивільнялося протягом перших 24 год, тоді як у тканинах *in vivo* початковий викид був повільнішим – близько 20–25%. Визначено поступове розпушення матриці гідрогелю та його деградацію протягом 7–14 діб, що підтверджено зміною спектральних максимумів флуоресцентних барвників і зниженням в'язкості. У стегні та міокарді щурів гідрогелі зберігали локалізацію без міграції, при цьому структурні властивості руйнувалися швидше в міокарді через вищу механічну динаміку. Екстраговані пептиди проявляли виражений імуномодулювальний потенціал: у культурах макрофагів знижувалася експресія M1-маркерів і підвищувалася частка CD206⁺ клітин, тоді як у Т-лімфоцитах зростав рівень IL-10 на 30–40% і зменшувалася продукція TNF- α . Це підтверджує можливість використання композитів «альгінат–екстракт» як контрольованих систем доставки з протизапальною дією.
3. Встановлено виражену кардіопротекторну активність МСК та екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят на різних моделях гострого ушкодження міокарда. На моделі перев'язки ЛКА введення МСК сприяло стабілізації електрофізіологічної активності: амплітуда R-зубця зростала на 18–22%, а депресія ST зменшувалася в середньому на 0,12 mV. Композит «альгінат–екстракт» на моделі кріодеструкції знижував вираженість порушень провідності, скорочуючи тривалість комплексу QRS на 10–12% і нормалізуючи сегмент ST протягом 3–5 діб. У моделі адреналінової міокардіодистрофії екстракти серця поросят сприяли відсутності аритмій та відновлювали вегетативний баланс: LF/HF знижувався з 3,8 до 1,9, що свідчить про зменшення симпатикотонії. Електрофізіологічні ефекти у всіх моделях корелювали з покращенням

функціонального стану міокарда та відновленням регуляції серцевого ритму.

4. За даними ультразвукового дослідження встановлено, що МСК та екстракти кріоконсервованої тканини серця істотно модифікують ремоделювання міокарда при різних моделях ішемічно-некротичного ушкодження. На моделі перев'язки ЛКА МСК сприяли зменшенню дилатації ЛШ (КДР зменшився на 8–10%) і підвищенню фракції викиду з 42–45% до 55–58%. При кріодеструкції застосування композиту «альгінат–екстракт» зменшувало товщину гіперехогенних зон на 25–30% і покращувало локальну скоротливість. В моделі адреналінової кардіопатії позитивний вплив ксеноекстрактів на структурно-функціональний стан ЛШ підтверджувалося відновленням фракції викиду на 30-у добу. Імунологічний аналіз підтвердив, що покращення ехокардіографічних параметрів корелювало зі зменшенням інтенсивності запалення та зсувом балансу Treg/Th17 у бік регуляторної відповіді (Treg підвищувався на 35–40%), що узгоджувалося з підвищенням ФВ на 10–12%.
5. Встановлено, що МСК і кріоекстракт серця реалізують виражену антиоксидантну та метаболічну дію при різних типах ішемічно-некротичного ушкодження міокарда. На моделі перев'язки ЛКА МСК знижували рівень малонового діальдегіду (МДА) у міокарді на 35–40% і підвищували активність супероксиддисмутази (СОД) на 28–32%, що супроводжувалося нормалізацією енергетичного обміну (АТФ зростала на 20%). При кріодеструкції застосування кріоекстракту сприяло зменшенню оксидативного стресу (МДА знижувався на 30%) і відновленню активності каталази та глутатіонпероксидази. Композит «альгінат–екстракт» додатково оптимізував системні біохімічні показники: рівень креатинфосфокінази знижувався у 1,7 раза, ЛДГ – у 1,5 раза, а лейкоцитарна формула нормалізувалася за рахунок зменшення нейтрофільозу на 20–25%. Отримані дані свідчать, що поєднання клітинних та неклітинних біотехнологічних підходів забезпечує стабільний

антиоксидантний захист і метаболічну підтримку міокарда в умовах гострого ушкодження.

6. На моделі адреналінової міокардіодистрофії встановлено, що кріоекстракт серця чинить виражений модуляторний вплив на антиоксидантні, енергетичні та метаболічні системи міокарда при адреналіновій міокардіодистрофії. Під його дією рівень МДА знижувався на 30–35%, активність СОД і каталази зростала відповідно на 25% і 22%, що свідчить про відновлення ендогенної антиоксидантної ланки. Покращення енергетичного балансу проявлялося підвищенням вмісту АТФ на 18–20% та нормалізацією співвідношення лактат/піруват (з 3,1 до 1,7), що вказує на зменшення анаеробного зсуву. Кріоекстракт також коригував глікогеноліз, підвищуючи запас глікогену в кардіоміоцитах на 25%. Антиоксидантні ефекти супроводжувалися імунологічною модулюючою дією: знижувалася продукція TNF- α та IL-1 β на 30–40%, а пригнічення NLRP3-активації через контроль ROS узгоджувалося зі зменшенням оксидативного стресу. Сукупно це підтверджує кардіопротекторний потенціал кріоекстракту при стрес-індукованому ушкодженні міокарда.
7. Морфологічні дослідження показали, що МСК та кріоекстракти серця поросят суттєво зменшують деструктивні зміни та посилюють репаративні процеси в міокарді при гострій ішемії та некрозі. У моделі перев'язки ЛКА введення МСК приводило до зменшення набряку та сегментарного лізису міофібрил на 35–40%, збереження структури мітохондрій і зростання кількості функціональних крист. Ультраструктурно спостерігали відновлення міжміофібрилярних контактів і зменшення щільності лізосомальних гранул. У моделі кріодеструкції композит «альгінат–екстракт» знижував площу некротичних ділянок на 25–30% і прискорював формування грануляційної тканини. За умов адреналінової міокардіодистрофії екстракти серця поросят зменшували вакуолізацію цитоплазми, нормалізували профіль саркоплазматичної сітки та покращували розподіл глікогенових гранул. Сукупність змін свідчить про

потужний цитопротекторний та відновлювальний потенціал біотехнологічних препаратів при різних типах ушкодження міокарда.

8. Імуногістохімічний аналіз показав, що застосування МСК та кріоекстрактів серця поросят суттєво модифікує запальну та апоптичну відповідь у зоні ушкодження міокарда. Кількість CD68⁺ макрофагів у контролі залишалася високою, тоді як після терапії зменшувалася на 30–35%. Водночас відзначено спрямований перехід від фенотипу M1 до M2: співвідношення M1/M2 знижувалося з 2,4 до 1,1, що свідчить про активацію репаративної фази запалення. Маркери апоптозу за методом TUNEL демонстрували зменшення кількості позитивних ядер на 40–45%, а інтенсивність IgG-депозитів, характерних для автоімунного ушкодження, знижувалася у 1,8 раза. Комплекс цих змін вказує на здатність біотехнологічних препаратів зменшувати імунно-опосередковане пошкодження, обмежувати апоптоз кардіоміоцитів і сприяти відновленню тканини в постішемичний період.

ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Практичне значення отриманих результатів полягає в тому, що викладені в дисертаційному дослідженні положення мають виразну теоретико-прикладну спрямованість і можуть бути використані у:

- **науково-дослідній діяльності** – як підґрунтя для подальших поглиблених досліджень кардіопротекторних, метаболічних, антиоксидантних та імуномодулювальних ефектів мезенхімальних стромальних клітин і кріоекстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят. Результати створюють передумови для розробки нових біосумісних терапевтичних платформ та клінічно орієнтованих регенеративних технологій у кардіології.
- **практичній діяльності закладів охорони здоров'я** – для науково обґрунтованого розширення показань до медичного застосування безклітинних біопрепаратів.
- **освітньому процесі** – як науково обґрунтована база для розширення відомостей про сучасні клітинні та безклітинні біотехнології, механізми кардіопротекції, імуномодуляції та регенерації міокарда у викладанні дисциплін біомедичного профілю.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, et al. Heart disease and stroke statistics–2019 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. **2019**;139(10):e56–e528. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000659>
2. Ibanez B, James S, Agewall S, Antunes MJ, Bucciarelli-Ducci C, Bueno H, et al. 2017 ESC guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *European Heart Journal*. **2018**;39(2):119–77. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx393>
3. Timmis A, Vardas P, Townsend N, Torbica A, Katus H, De Smedt D, et al. European Society of Cardiology: cardiovascular disease statistics 2021. *European Heart Journal*. **2022**;43(8):716–99. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehab892>
4. Libby P. The changing landscape of atherosclerosis. *Nature*. **2021**;592(7855):524–33. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03392-8>
5. Frangogiannis NG. Pathophysiology of myocardial infarction. *Comprehensive Physiology*. **2015**;5(4):1841–75. DOI: <https://doi.org/10.1002/cphy.c150006>
6. Zhang Q, Raoof M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Junger W, et al. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature*. **2010**;464(7285):104–7. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature08780>
7. Adamo L, Rocha-Resende C, Prabhu SD, Mann DL. Reappraising the role of inflammation in heart failure. *Nature Reviews Cardiology*. **2020**;17(5):269–85. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41569-019-0315-x>
8. Ong SB, Hernández-Reséndiz S, Crespo-Avilan GE, Mukhametshina RT, Kwek XY, Cabrera-Fuentes HA, et al. Inflammation following acute myocardial infarction: multiple players, dynamic roles, and novel therapeutic opportunities. *Pharmacology & Therapeutics*. **2018**;186:73–87. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.01.001>
9. Tang TT, Yuan J, Zhu ZF, Zhang WC, Xiao H, Xia N, et al. Regulatory T cells ameliorate cardiac remodeling after myocardial infarction. *Basic Research in Cardiology*. **2012**;107(1):232. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00395-011-0232-6>

10. Lindner D, Zietsch C, Tank J, Sossalla S, Fluschnik N, Hinrichs S, et al. Cardiac fibroblasts support cardiac inflammation in heart failure. *Basic Research in Cardiology*. **2014**;109(5):428. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00395-014-0428-7>
11. Westman PC, Lipinski MJ, Luger D, Waksman R, Bonow RO, Wu E, et al. Inflammation as a driver of adverse left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*. **2016**;67(17):2050–60. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.01.073>
12. Swirski FK, Nahrendorf M. Cardioimmunology: the immune system in cardiac homeostasis and disease. *Nature Reviews Immunology*. **2018**;18(12):733–44. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0065-8>
13. Lindsey ML, Bolli R, Canty JM Jr, Du XJ, Frangogiannis NG, Frantz S, et al. Guidelines for experimental models of myocardial ischemia and infarction. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. **2018**;314(4):H812–38. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00335.2017>
14. Prabhu SD, Frangogiannis NG. The biological basis for cardiac repair after myocardial infarction: from inflammation to fibrosis. *Circulation Research*. **2016**;119(1):91–112. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.303577>
15. Caplan AI. Mesenchymal stem cells: time to change the name! *Stem Cells Translational Medicine*. **2017**;6(6):1445–51. DOI: <https://doi.org/10.1002/sctm.17-0051>
16. Hodgkinson CP, Bareja A, Gomez JA, Dzau VJ. Emerging concepts in paracrine mechanisms in regenerative cardiovascular medicine and biology. *Circulation Research*. **2016**;118(1):95–107. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.305373>
17. Гальченко СЄ. Тканинна та вікова специфічність водно-солевих екстрактів кріоконсервованих фрагментів ксеноорганів. *Проблеми кріобіології*. **2005**;15(2):153–58. Режим доступу: <http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/628>
18. Khavinson VKh, Anisimov VN. Peptide regulation of aging: 35-year research experience. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. **2009**;148(1):94–98. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-009-0650-8>

19. Anisimov VN, Khavinson VKh, Popovich IG, Zabezinski MA, Alimova IN, Rosenfeld SV, et al. Effect of epitalon on biomarkers of aging, life span and spontaneous tumor incidence in female Swiss-derived SHR mice. *Biogerontology*. **2003**;4(4):193–202. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1025114230714>
20. Chyzh MO, Byzov DV, Shkand TV, Babaeva AG, Trofimova AV, Mikhaylova IP, et al. Experimental model of myocardial necrosis and creation of vascular xenoprostheses for regenerative medicine. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2013**;23(4):368–72. (in Ukrainian). Режим доступу: <http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/325>
21. Rohoza LA, Chizh MO, Galchenko SY, Sandomirsky BP. Effect of extracts of frozen-thawed heart fragments on rats. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2013**;23(1):91–98. Режим доступу: <http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/15>
22. Chizh MO. Parameters of spectral analysis of heart rate variability in rats. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2015**;25(3):235–245. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo25.03.235>
23. Chizh MO. Effect of respiration and vascular tone on heart rate variability in rats. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2016**;26(3):260–270. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo26.03.260>
24. Shkand TV, Chizh MO, Sleta IV, Sandomirsky BP, Tatarets AL, Patsenker LD. Assessment of alginate hydrogel degradation in biological tissue using viscosity-sensitive fluorescent dyes. *Methods and Applications in Fluorescence*. **2016**;4(4):044002. DOI: <https://doi.org/10.1088/2050-6120/4/4/044002>
25. Trofimova AV, Chizh MO, Belochkina IV, Marchenko LN, Govorukha TP, Repin NV, et al. Cardiomyocyte ultrastructure of rats with experimental myocardial infarction after therapeutic hypothermia and mesenchymal stromal cell administration. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2017**;27(4):334–347. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo27.04.334>
26. Chizh MO. Endoscopic cryosurgery. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2017**;27(1):3–18. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo27.01.003>

27. Chizh MO. Effect of postural changes, postprandial load, N. vagus pharmacological denervation and cryodenervation on heart rate variability in rats. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2017**;27(3):266–278. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo27.03.266>
28. Rohoza LA, Bessalova IG, Chizh MO, Halchenko SY, Sandomirsky BP. Biological influence of extracts of cryopreserved fragments of piglets' heart and skin. *bioRxiv*. **2017**. DOI: <https://doi.org/10.1101/184622>
29. Chizh MO. Cryogenic equipment in minimally invasive surgery. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2018**;28(3):200–211. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo28.03.200>
30. Antonenko YeA, Chizh MO, Buriak MM, Osypenko AA, Shtoda DA. Wireless charger for implantable biotelemetry system. In: *Proceedings of the International Conference on Ultrawideband and Ultrashort Impulse Signals*; 2020 Sep 4–7; Odesa, Ukraine. **2020**:260–263. (in Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.1109/UWBUSIS.2018.8520079>
31. Chizh MO. Physiological interpretation of heart rate variability spectral analysis data. *Fiziologichnyi Zhurnal*. **2019**;65(2):31–42. (in Ukrainian). Режим доступу: https://fz.kiev.ua/journals/2019_V.65/2019-2/2019-2-31-42.pdf
32. Чиж МО, Манченко АО, Трофімова ГВ, Белочкіна ІВ. Ультразвукова характеристика ремоделювання серця під впливом терапевтичної гіпотермії та МСК на моделі інфаркту міокарда. *Український радіологічний та онкологічний журнал*. **2020**;28(3):222–40. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.3.2020.222-240>
33. Chyzh M, Belozorov I, Aschabov D, Komyshanchenko D, Globa V, Marchenko L, et al. Cryosurgical method for nervus vagus ablation in experimental studies. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2020**;30(1):90–98. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo30.01.090>
34. Chyzh MO, Manchenko AO, Trofimova AV, Belochkina IV. Doppler examination of aorta after therapeutic hypothermia and administering MSCs in experimental myocardial infarction. *Ukrainian Radiological and Oncology Journal*. **2021**;29(1):58–69. (in Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.1.2021.58-69>

35. Белочкіна ІВ, Чиж МО, Слета ІВ, Шканд ТВ. Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят у складі альгінатного гелю на електрофізіологічні показники серця щурів з кріонекрозом міокарда. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2024;32(3):314–38. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-04>
36. Чиж МО, Белочкіна ІВ, Глоба ВЮ, Слета ІВ, Михайлова ПІ, Гладких ФВ. Ультразвукове дослідження серця щурів після експериментального ураження Адреналіном та застосування ксеноекстракту серця. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2024;32(2):185–97. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-49-06>
37. Чиж МО, Матвеєнко МС, Гладких ФВ, Лядова ТІ, Коморовський РР, Козлова ТВ. Метаболічні зрушення в міокарді під час ураження, викликаного адреналіном, та вплив кріоекстракту серця на метаболізм лактату-пірувату. *Український журнал серцево-судинної хірургії*. 2025;33(2):53–61. DOI: [https://doi.org/10.63181/ujcvs.2025.33\(2\).53-61](https://doi.org/10.63181/ujcvs.2025.33(2).53-61)
38. Chyzh MO, Hladkykh FV, Liadova TI, Matvieienko MS, Komorovsky RR. Modulatory effects of porcine cardiac cryoextract on glycogenolysis in experimental models of myocardial dystrophy. *Eastern Ukrainian Medical Journal*. 2025;13(3):712–22. (in Ukrainian). DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2025;13\(3\):712-722](https://doi.org/10.21272/eumj.2025;13(3):712-722)
39. Chyzh MO, Matvieienko MS, Hladkykh FV, Liadova TI, Komorovsky RR, Karafulidi OV. Effects of heart cryoextract on myocardial antioxidant capacity in rats with adrenaline-induced acute myocardial dystrophy. *Scripta Medica*. 2025;56(5):883–93. DOI: <https://doi.org/10.5937/scriptamed56-61304>
40. Komorovsky RR, Chyzh MO, Hladkykh FV, Liadova TI, Matvieienko MS. Adaptive action of heart cryoextract on myocardial energy metabolism in experimental epinephrine-induced myocardiodystrophy. *Odesa Medical Journal*. 2025;195(4):15–20. (in Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2025-4-2>
41. Чиж М, Матвеєнко М, Гладких Ф, Лядова Т, Коморовський Р, Козлова Т. Оцінка кардіопротекторної активності кріоекстракту серця на моделі

адреналінової міокардіодистрофії за показниками вільнорадикального окиснення. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина.* **2025**;33(2):178–93. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-53-02>

42. Chizh MO, Babayeva AG, Sleta IV, Galchenko SE, Sandomirsky BP. Peculiarities of myocardial necrosis development and heart remodeling after coronary artery ligation and left ventricle local cryodestruction. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine.* **2011**;21(3):321–9. Режим доступу: <http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/130/161>

43. Бабаєва ГГ, Рогоза ЛА, Чиж МО, Гальченко СЄ, Сандомирський БП. Вплив екстрактів серця на міокард. *Вісник невідкладної та відновлювальної медицини.* **2012**;13(10):16–18. Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/306017519_Effects_of_heart_extracts_on_myocardium

44. Бабаєва ГГ, Рогоза ЛА, Чиж МО, Дюбко ТС, Белочкіна ІВ, Гальченко СЄ, та ін. Модуляція біохімічних змін в сироватці крові при експериментальному некрозі міокарда екстрактом кріоконсервованих фрагментів серця поросят. *Експериментальна і клінічна медицина.* **2014**;62(1):5–11. Режим доступу: <https://ecm.knmu.edu.ua/article/view/75/68>

45. Чиж МО, Гальченко СЄ. Електрофізіологічні показники серця та молекулярно-масовий розподіл пептидів в сироватці щурів з експериментальним інфарктом міокарда. *Вісник проблем біології і медицини.* **2019**;149(1):192–7. DOI: <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2019-1-2-149-192-197>

46. Чиж МО, Бабаєва АГ, Рогоза ЛА, Гальченко СЄ. Екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят як регулятор стану серцевого м'яза щурів на моделі некрозу міокарда. *Вісник проблем біології і медицини.* **2020**;158(4):78–83. DOI: <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2020-4-158-78-83>

47. Гладких Ф В, Лядова ТІ, Чиж МО, Матвеєнко МС, Коморовський РР. Ехокардіографічна оцінка впливу кріоекстрактів плаценти та селезінки на функціональний стан міокарду при експериментальному аутоімунному

міокардиті. *Здоров'я суспільства*. **2024**;14(2):16–24. DOI:
<https://doi.org/10.32782/2306-2436.14.2.2024.314>

48. Чиж МО, Бизов ДВ, Антоненко ЄО, Рогоза ЛА, Гребенюк АІ, Мотко ОВ, та ін. Ендоскопічний метод для операцій на експериментальних тваринах. *Фізіологічний журнал*. **2017**;63(2):86–94. DOI:
<https://doi.org/10.15407/fz63.02.086>

49. Гладких ФВ, Лядова ТІ, Чиж МО, Матвєєнко МС, Коморовський РР. Порівняльна характеристика морфофункціонального стану серця при застосуванні кріоекстракту плаценти та кріоекстракту селезінки на моделі аутоімунного міокардиту за даними ультразвукового дослідження *Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я*. **2024**;18(4):27–36. DOI:
<https://doi.org/10.32689/2663-0672-2024-4-4>

50. Рогоза ЛА, Бабаєва АГ, Чиж МО, Гальченко СЄ, Сандомирський БП. Тканиноспецифічний вплив пептидних комплексів на стан серця щурів в нормі та при некрозі міокарда. *Журнал Національної академії медичних наук України*. **2012**;18(Suppl):138–9.

51. Babaeva G, Chizh M, Galchenko S, Sandomirsky B. Formation features of ischemic necrosis and myocardium cryonecrosis. *Regenerative Medicine*. **2011**;6(6 Suppl 2):342. DOI: <https://doi.org/10.2217/rme.12.16>

52. Babaieva AG, Chizh MO, Galchenko SYe, Sandomirsky BP. Cardiac microhemocirculation in experimental myocardium necrosis. *Cardiovascular Research*. **2012**;93(Suppl 1):265. Режим доступу:
https://www.researchgate.net/publication/297568437_Cardiac_microhemocirculation_in_experimental_myocardium_necrosis

53. Babaeva GG, Bogatyrova OO, Rogosa LA, Chizh MO, Galchenko SEe, Sandomirsky BP. Biological effect of extract of cryopreserved piglets heart fragments upon ischemia and experimental myocardial necrosis. *Minimally Invasive Therapy and Allied Technologies*. **2013**;22(1):45–6. Режим доступу:
https://www.researchgate.net/publication/398282796_Invasive_Therapia_45-46

54. Babaeva GG, Rogosa LA, Chizh MO, Galchenko SYe, Sandomirsky BP. Effect of extract of cryopreserved piglets heart fragments upon ischemia and

experimental myocardial necrosis. *Proceedings of the International Conference of the Society for Low Temperature Biology*. **2013**;47. Режим доступа: https://www.researchgate.net/publication/312498182_Effect_of_extract_of_cryopreserved_piglets%27_heart_fragments_upon_ischemia_and_experimental_myocardial_necrosis

55. Trofimova AV, Chizh MO, Manchenko AA, Belochkina IV, Sandomirsky BP. Combined application of therapeutic hypothermia and mesenchymal stromal cells in treatment of experimental myocardial infarction in rats. *Proceedings of the Annual Scientific Conference of the Society for Cryobiology*. **2014**;70. Режим доступа: https://www.researchgate.net/publication/398283707_Combined_application_of_therapeutic_hypothermia_and_mesenchymal_stromal_cells_in_treatment_of_experimental_myocardial_infarction_in_rats

56. Shkand TV, Chizh MO, Sleta IV, Tatarets AL, Roshal AD, Patsenker LD, et al. Use alginate implant after cryodestruction of myocardium. *Proceedings of the Annual Scientific Conference of the Society for Cryobiology*. **2014**;75. Режим доступа: https://www.researchgate.net/publication/398334354_Use_alginate_implant_after_cryodestruction_of_myocardium

57. Rohoza L, Bepalova I, Chizh M, Galchenko S, Sandomirsky B. Peptidic composition and biological action of extracts of cryopreserved fragments of piglets' heart and skin. *The International Journal of Artificial Organs*. **2015**;38(7):411. DOI: <https://doi.org/10.5301/IJAO.2015.15180>

58. Tatarets AL, Shkand TV, Chizh MO, Sleta IV, Sandomirsky BP, Patsenker LD. Viscosity sensitive dyes for determining the rheological properties of hydrogels in biological tissues. *Proceedings of the Conference on Methods and Applications in Fluorescence*. **2015**;232. Режим доступа: https://www.researchgate.net/publication/397832741_The_14_th_Conference_on_Methods_and_Applications_in_Fluorescence_MAF_14

59. Rohoza LA, Chizh MO, Halchenko SYe, Snadomirsky BP, Gromovoy TYu. Mass-spectrometry of extracts of young rats' hearts via MALDI-ToF. *Proceedings of the Dutch Peptide Symposium*. **2016**;51. Режим доступа: <https://pubmed.com.ua/xmlui/handle/123456789/414>

60. Chyzh M, Trofimova A, Belochkina I. Hypothermia and MSCS effect on some biochemical parameters in experimental myocardial infarction. *Proceedings of the Annual Meeting of the Society for Cryobiology*. **2025**;VP25. Режим доступу: https://drive.google.com/file/d/10uaqJVy1qpI5fhqHsVg3XCeNTcFkCv3c/view?usp=drive_link
61. Рогоза ЛА, Бабаєва ГГ, Богатирьова ОО, Чиж МО. Органна специфічність пептидного складу екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця, селезінки та шкіри свиней. *VII Міжнародна наукова конференція «Молодь та поступ біології»*. Тези доповідей. **2011**;306–7. Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/397832440_VII_MIZNARODNA_NAUK_OVA_KONFERENCIA_STUDENTIV_TA_ASPIRANTIV_VII_Molod_ta_postup_biologiiYOUTH_AND_PROGRESS_OF_BIOLOGY_ABSTRACTS_BOOK
62. Чиж МО, Бабаєва ГГ. Моделювання некрозу міокарда кріохірургічним методом. *VII Міжнародна наукова конференція «Молодь та поступ біології»*. Тези доповідей. **2011**;360–1. Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/397832440_VII_MIZNARODNA_NAUK_OVA_KONFERENCIA_STUDENTIV_TA_ASPIRANTIV_VII_Molod_ta_postup_biologiiYOUTH_AND_PROGRESS_OF_BIOLOGY_ABSTRACTS_BOOK
63. Babayeva AG, Chizh MO. Comparative characteristics of ischemic necrosis and myocardium cryonecrosis. *Problems of Cryobiology*. **2011**;21(2):228. Режим доступу: <http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/144/175>
64. Бабаєва ГГ, Чиж МО. Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на перебіг експериментального некрозу міокарда. *Матеріали X Міжнародної наукової конференції студентів та молодих науковців «Шевченківська весна»*. **2012**;43–4. Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/398380743_Sevcenkivska_vesna
65. Shkand TV, Chizh MO. Use of alginate hydrogels for slow ejection of pig heart peptides into liquid. *Problems of Cryobiology*. **2012**;22(2):211. Режим доступу: <http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/86/112>

66. Babayeva AG, Chizh MO. Effect of spleen and heart extracts on myocardium. *Problems of Cryobiology*. **2012**;22(2):213. Режим доступу: <http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/86/112>
67. Shkand TV, Chizh MO, Roshal AD, Sandomirsky BP. Ejection of piglet heart peptides from alginate hydrogels into liquid phase. *Problems of Cryobiology*. **2012**;22(3):262. Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/311307073_Izucenie_vyhoda_peptidov_ser_dca_porosat_iz_alginatnyh_gidrogelej_v_zidkuu_fazu
68. Chizh MO, Rohoza LA, Babayeva GG, Galchenko SYe, Sandomirsky BP. Tissue-specific effect of peptide complexes of heart. *Problems of Cryobiology*. **2012**;22(3):263. Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/397832376_Tkaninnospecificnij_vpliv_peptidnih_kompleksiv_serca_Tissue-Specific_Effect_of_Peptide_Complexes_of_Heart
69. Бабаєва АГ, Чиж МО, Слета ІВ, Гальченко СЄ, Сандомирський БП. Адаптаційні зміни в серці при експериментальному некрозі міокарда. *Тези доповідей міждисциплінарної наукової конференції «Адаптаційні стратегії живих систем»*. **2012**;133–4. Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/398334635_Adaptacijni_zmini_v_serci_pri_eksperimentalnomu_nekrozi_miokarda_133
70. Рогоза ЛА, Чиж МО, Гальченко СЄ, Сандомирський БП. Вплив пептидних комплексів кріоконсервованих фрагментів свиней та поросят на морфологічну будову та електрофізіологічні показники серця щурів в нормі. *Тези доповідей міждисциплінарної наукової конференції «Адаптаційні стратегії живих систем»*. **2012**;313–14. Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/398334379_Vpliv_peptidnih_kompleksiv_kriokonservovanih_fragmentiv_svinej_ta_porosat_313
71. Shkand TV, Chizh MO, Sandomirsky BP. Study of rat myocardium morphology at experimental heart necrosis. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2013**;23(2):180. Режим доступу: <http://cryo.org.ua/journal/index.php/probl-cryobiol-cryomed/article/view/33/54>

72. Rohoza LA, Chizh MO, Galchenko SYe. Effect of piglet heart extracts on electrophysiological parameters of the rat heart with myocardial ischemia. *Proceedings of the International Interdisciplinary Scientific Conference «Biologically Active Substances and Materials: Fundamental and Applied Issues of Production and Application»*. **2013**;2:273–4. (in Ukrainian). Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/397831261_Kievskij_nacionalnyj_universitet_imeni_Tarasa_Sevcenko
73. Trofimova AV, Chizh MO, Belochkina IV, Manchenko AA, Shabliy VA, Sandomirsky BP. Functional state of myocardium after combined application of therapeutic hypothermia and mesenchymal stromal cells at experimental myocardial infarction. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2015**;25(2):182. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo25.02.182>
74. Trofimova AV, Chizh MO, Belochkina IV, Volina VV, Sandomirsky BP. Therapeutic hypothermia and injection of MSCs improve heart structure under experimental myocardial infarction. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2016**;26(2):166. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo26.02.166>
75. Grebenyuk AI, Chizh MO, Byzov DV, Rohoza LA, Antonenko EA, Lukyanenko PG, et al. Designing of device for endoscopic surgery in experimental animals. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2016**;26(2):189. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo26.02.189>
76. Motko AV, Dolgopyatenko AD, Chizh MO, Avrunin OG, Sandomirsky BP. Designing of insufflator for endoscopic surgery in experimental animals. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2016**;26(2):190. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo26.02.190>
77. Trofimova AV, Chyzh MO, Repin NV, Belochkina IV, Sandomirsky BP. Effect of therapeutic hypothermia and mesenchymal stromal cells on ultrastructure of rat cardiomyocytes with experimental myocardial infarction. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. **2017**;27(2):166. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo27.02.166>
78. Antonenko YeA, Chizh MO, Buriak MM, Osypenko OO. Development of telemetry for experimental cryomedicine. *Problems of Cryobiology and*

79. Шканд ТВ, Татарець АЛ, Чиж МО, Слета ІВ, Белочкіна ІВ. Використання чутливих до в'язкості флуоресцентних барвників для оцінки деградації гідрогелю альгінату в тканині міокарда. *Матеріали другої всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології».* **2018**;182–4. Режим доступу:

https://www.researchgate.net/publication/341043386_NAUKOVO-PRAKTICNA_KONFERENCIA_Z_MIZNARODNOU_UCASTU_VIKORISTANN_A_CUTLIVIH_DO_V'AZKOSTI_FLUORESCENTNIH_BARVNIKIV_DLA_OCINKI_DEGRADACII_GIDROGELU_ALGINATU_V_TKANINI_MIOKARDA

80. Chizh MO, Manchenko AO, Trofimova AV, Belochkina IV. Cardiac muscle remodeling after therapeutic hypothermia and allogeneic mesenchymal stromal cells in a model of myocardial infarction. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine.* **2020**;30(3):284. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo30.03a.284>

81. Україна, патент на винахід №119124. Пристрій для реєстрації електрокардіограми у дрібних лабораторних тварин. **2019**. Авт.: Чиж МО, Белочкіна ІВ. Заявник: Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України. МПК (2019) А61В 5/0402, А61В 5/02. Заявл. 25.05.2018; опубл. 25.04.2019; Бюл. №8. Режим доступу:

<https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/1351080/>

82. Україна, патент на винахід №109751. Спосіб визначення гідрогелю в біологічних тканинах. **2015**. Авт.: Шканд ТВ, Чиж МО, Слета ІВ, Татарець АЛ, Рошаль ОД, Паценкер ЛД, Сандомирський БП. Заявник: ІПКиК НАН України. МПК G01N 33/483. Заявл. 26.09.2014; заявка № а 2014 10540; опубл. 25.09.2015; Бюл. №18. Режим доступу: <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/870756/>

83. Shkand TV, Chyzh MO, Sleta IV, Tatarets AL, Roshal OD, Patsenker LD, Sandomyrskiy BP, Terpetschnig EA. Viscosity-sensitive dyes and method. United States patent application No. US20160091495. **2016**. Режим доступу: <https://patents.google.com/patent/US20160091495A1/en>

84. Україна, патент на корисну модель №65535. Спосіб моделювання інфаркту міокарда. **2011**. Авт.: Бабаєва ГГ, Чиж МО, Гальченко СЄ, Сандомирський БП. Заявник: ІПКіК НАН України. МПК (2006.01) G09B 23/28. Заявл. 10.05.2011; опубл. 12.12.2011; Бюл. №23. Режим доступу: <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/680868/>
85. Україна, патент на корисну модель №53408. Спосіб моделювання інфаркту міокарду. **2010**. Авт.: Чиж МО, Слета ІВ, Гальченко СЄ, Сандомирський БП. Заявник: ІПКіК НАН України. МПК (2006.01) G09B 23/28. Заявл. 12.03.2010; опубл. 11.10.2010; Бюл. №19. Режим доступу: <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/256187/>
86. Україна, патент на корисну модель №86783. Спосіб отримання імпланта з пролонгованим звільненням біологічно активних пептидних компонентів. **2014**. Авт.: Шканд ТВ, Рошаль ОД, Чиж МО, Сандомирський БП. Заявник: Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна. МПК A61L 27/00, A61K 38/17, A61K 38/02. Заявл. 15.07.2013; опубл. 10.01.2014; Бюл. №1. Режим доступу: <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/1116137/>
87. Україна, патент на корисну модель №135663. Спосіб денервації барорецепторів дуги аорти в експерименті. **2019**. Авт.: Чиж МО, Белочкіна ІВ. Заявник: Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України. МПК (2019.01) A61B 17/00, A61B 18/02. Заявл. 07.02.2019; опубл. 10.07.2019; Промислова власність; Бюл. №13. Режим доступу: <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/1367072/>
88. Ковальов ГО, Гальченко СЄ, Чиж МО, Белочкіна ІВ, Іщенко ІО, Власов ОО. Стимуляція репаративних процесів під впливом кріоконсервованих біологічно активних речовин після кріодеструкції шкіри. In: Петренко ОЮ, editor. *Холод у біології та медицині: сучасний стан і перспективи*. Київ: Наукова думка; **2024**:252–67. DOI: <https://doi.org/10.15407/978-966-00-1867-9>
89. Чиж МО, Гальченко СЄ, Гладких ФВ, Бизов ВВ, Рогоза ЛА, Белочкіна ІВ, та ін. Безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби: технологія отримання та визначення складу. За ред. М.О. Чижа. Вінниця: Твори; **2024**:264. DOI: <https://doi.org/10.46879/2024.1>

90. Чиж МО, Гальченко СС, Гладких ФВ, Лядова ТІ, Бизов ВВ, Рогоза ЛА, та ін. Метаболічні, регенеративні та імунологічні властивості водно-солевих екстрактів кріоконсервованих тканин. За ред. М.О. Чижа. Вінниця: Твори; **2025**:296. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.5>
91. Гладких ФВ, Лядова ТІ, Чиж МО, Коморовський РР, Бабаєва ГГ, Матвєєнко МС. Кардіоселективність кріобіотехнологічних засобів у терапії серцево-судинних захворювань. Вінниця: Твори; **2025**:384. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.4>
92. Ghanta SN, Kattamuri LPV, Odueke A, Mehta JL. Molecular insights into ischemia-reperfusion injury in coronary artery disease: mechanisms and therapeutic implications: a comprehensive review. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. **2025**;14(2):213. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox14020213>
93. Dong S, Qian L, Cheng Z, Chen C, Wang K, Hu S, et al. Lactate and myocardial energy metabolism. *Frontiers in Physiology*. **2021**;12:715081. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.715081>
94. Buja LM. Pathobiology of myocardial ischemia and reperfusion injury: models, modes, molecular mechanisms, modulation, and clinical applications. *Cardiology in Review*. **2023**;31(5):252–64. DOI: <https://doi.org/10.1097/CRD.0000000000000440>
95. Xia H, Zahra A, Jia M, Wang Q, Wang Y, Campbell SL, et al. Na⁺/H⁺ exchanger 1, a potential therapeutic drug target for cardiac hypertrophy and heart failure. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*. **2022**;15(7):875. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph15070875>
96. Kho C. Targeting calcium regulators as therapy for heart failure: focus on the sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase pump. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. **2023**;10:1185261. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2023.1185261>
97. Chen CL, Zhang L, Jin Z, Kasumov T, Chen YR. Mitochondrial redox regulation and myocardial ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*. **2022**;322(1):C12–23. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00131.2021>

98. Alves-Figueiredo H, Silva-Platas C, Lozano O, Vázquez-Garza E, Guerrero-Beltrán CE, Zarain-Herzberg A, et al. A systematic review of post-translational modifications in the mitochondrial permeability transition pore complex associated with cardiac diseases. *Biochimica et Biophysica Acta. Molecular Basis of Disease*. **2021**;1867(1):165992. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165992>
99. Bertero E, Popoiu TA, Maack C. Mitochondrial calcium in cardiac ischemia/reperfusion injury and cardioprotection. *Basic Research in Cardiology*. **2024**;119(4):569–85. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00395-024-01060-2>
100. Schirone L, Forte M, D'Ambrosio L, Valenti V, Vecchio D, Schiavon S, et al. An overview of the molecular mechanisms associated with myocardial ischemic injury: state of the art and translational perspectives. *Cells*. **2022**;11(7):1165. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells11071165>
101. Benitah JP, Perrier R, Mercadier JJ, Pereira L, Gómez AM. RyR2 and Calcium Release in Heart Failure. *Frontiers in Physiology*. **2021**;12:734210. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.734210>
102. Bernardi P, Gerle C, Halestrap AP, Jonas EA, Karch J, Mnatsakanyan N, et al. Identity, structure, and function of the mitochondrial permeability transition pore: controversies, consensus, recent advances, and future directions. *Cell Death and Differentiation*. **2023**;30(8):1869–85. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41418-023-01187-0>
103. Zong Y, Li H, Liao P, Chen L, Pan Y, Zheng Y, et al. Mitochondrial dysfunction: mechanisms and advances in therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. **2024**;9(1):124. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01839-8>
104. Boyenle ID, Oyedele AK, Ogunlana AT, Adeyemo AF, Oyelere FS, Akinola OB, et al. Targeting the mitochondrial permeability transition pore for drug discovery: Challenges and opportunities. *Mitochondrion*. **2022**;63:57–71. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mito.2022.01.006>
105. Prag HA, Pala L, Kula-Alwar D, Mulvey JF, Luping D, Beach TE, et al. Ester Prodrugs of Malonate with Enhanced Intracellular Delivery Protect Against Cardiac Ischemia-Reperfusion Injury In Vivo. *Cardiovascular Drugs and Therapy*. **2022**;36(1):1–13. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10557-020-07033-6>

106. Chavda V, Lu B. Reverse Electron Transport at Mitochondrial Complex I in Ischemic Stroke, Aging, and Age-Related Diseases. *Antioxidants*. **2023**;12(4):895. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12040895>
107. Xing Y, Xie SY, Deng W, Tang QZ. Cardiolipin in myocardial ischaemia-reperfusion injury: From molecular mechanisms to clinical strategies. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. **2024**;176:116936. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116936>
108. Swain L, Bhav S, Qiao X, Reyelt L, Everett KD, Awata J, et al. Novel Role for Cardiolipin as a Target of Therapy to Mitigate Myocardial Injury Caused by Venoarterial Extracorporeal Membrane Oxygenation. *Circulation*. **2024**;149(17):1341–53. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.123.065298>
109. Haleckova A, Benek O, Zemanová L, Dolezal R, Musilek K. Small-molecule inhibitors of cyclophilin D as potential therapeutics in mitochondria-related diseases. *Medicinal Research Reviews*. **2022**;42(5):1822–55. DOI: <https://doi.org/10.1002/med.21892>
110. Garbincius JF, Luongo TS, Jadiya P, Hildebrand AN, Kolmetzky DW, Mangold AS, et al. Enhanced NCLX-dependent mitochondrial Ca²⁺ efflux attenuates pathological remodeling in heart failure. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. **2022**;167:52–66. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2022.03.001>
111. Piao L, Fang YH, Hamanaka RB, Mutlu GM, Dezfulian C, Archer SL, et al. Suppression of Superoxide-Hydrogen Peroxide Production at Site IQ of Mitochondrial Complex I Attenuates Myocardial Stunning and Improves Postcardiac Arrest Outcomes. *Critical Care Medicine*. **2020**;48(2):e133–40. DOI: <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000004095>
112. Fang J, Wong HS, Brand MD. Production of superoxide and hydrogen peroxide in the mitochondrial matrix is dominated by site IQ of complex I in diverse cell lines. *Redox Biology*. **2020**;37:101722. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101722>

113. Escudero DS, Pérez NG, Díaz RG. Myocardial Impact of NHE1 Regulation by Sildenafil. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. **2021**;8:617519. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.617519>
114. Tsurusaki S, Kizana E. Mechanisms and Therapeutic Potential of Multiple Forms of Cell Death in Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. *International Journal of Molecular Sciences*. **2024**;25(24):13492. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms252413492>
115. Marin W, Marin D, Ao X, Liu Y. Mitochondria as a therapeutic target for cardiac ischemia reperfusion injury. *International Journal of Molecular Medicine*. **2021**;47(2):485–99. DOI: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2020.4823>
116. Du B, Fu Q, Yang Q, Yang Y, Li R, Yang X, et al. Different types of cell death and their interactions in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cell Death Discovery*. **2025**;11(1):87. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41420-025-02372-5>
117. Jin B, Zhang Z, Zhang Y, Yang M, Wang C, Xu J, et al. Ferroptosis and myocardial ischemia-reperfusion: mechanistic insights and new therapeutic perspectives. *Frontiers in Pharmacology*. **2024**;15:1482986. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1482986>
118. Cui B, Qi Z, Liu W, Zhang G, Lin D. ZBP1-mediated PANoptosis: A possible novel mechanism underlying the therapeutic effects of penicillamine hydrochloride on myocardial ischemia-reperfusion injury. *International Immunopharmacology*. **2024**;137:112373. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.112373>
119. Li PB, Bai JQ, Jiang WX, Li HH, Li CM. The mechanosensitive Piezo1 channel exacerbates myocardial ischaemia-reperfusion injury by activating caspase-8-mediated PANoptosis. *International Immunopharmacology*. **2024**;139:112664. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.112664>
120. Xiang Q, Yi X, Zhu XH, Wei X, Jiang DS. Regulated cell death in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. **2024**;35(3):219–34. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2023.10.010>
121. Venugopala KN, Uppar V, Chandrashekarappa S, Abdallah HH, Pillay M, Deb PK, et al. Cytotoxicity and Antimycobacterial Properties of Pyrrolo[1,2-

- a]quinoline Derivatives: Molecular Target Identification and Molecular Docking Studies. *Antibiotics*. **2020**;9(5):233. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics9050233>
122. Orfali R, Gamal El-Din AH, Karthick V, Lamis E, Xiao V, Ramanishka A, et al. Modulation of Redox-Sensitive Cardiac Ion Channels. *Antioxidants*. **2025**;14(7):836. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox14070836>
123. Daiber A, Andreadou I, Oelze M, Davidson SM, Hausenloy DJ. Discovery of new therapeutic redox targets for cardioprotection against ischemia/reperfusion injury and heart failure. *Free Radical Biology and Medicine*. **2021**;163:325–43. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.12.026>
124. Chen QM. Nrf2 for cardiac protection: pharmacological options against oxidative stress. *Trends in Pharmacological Sciences*. **2021**;42(9):729–44. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2021.06.005>
125. Lee J, Hyun DH. The Interplay between Intracellular Iron Homeostasis and Neuroinflammation in Neurodegenerative Diseases. *Antioxidants*. **2023**;12(4):918. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12040918>
126. Zhao WK, Zhou Y, Xu TT, Wu Q. Ferroptosis: Opportunities and Challenges in Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. **2021**;2021:9929687. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/9929687>
127. Wang Q, Wu J, Zeng Y, Chen K, Wang C, Yang S, et al. Pyroptosis: A pro-inflammatory type of cell death in cardiovascular disease. *Clinica Chimica Acta*. **2020**;510:62–72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.06.044>
128. Rochette L, Dogon G, Rigal E, Zeller M, Cottin Y, Vergely C. Lipid Peroxidation and Iron Metabolism: Two Corner Stones in the Homeostasis Control of Ferroptosis. *International Journal of Molecular Sciences*. **2022**;24(1):449. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24010449>
129. Fischesser DM, Bo B, Benton RP, Su H, Jahanpanah N, Haworth KJ. Controlling Reperfusion Injury With Controlled Reperfusion: Historical Perspectives and New Paradigms. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. **2021**;26(6):504–23. DOI: <https://doi.org/10.1177/10742484211046674>
130. Daiber A, Andreadou I, Oelze M, Davidson SM, Hausenloy DJ. Discovery of new therapeutic redox targets for cardioprotection against ischemia/reperfusion injury

- and heart failure. *Free Radical Biology and Medicine*. **2021**;163:325–43. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.12.026>
131. Mangoni AA, Zinellu A. Serum Concentrations of Ischaemia-Modified Albumin in Acute Coronary Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Clinical Medicine*. **2022**;11(14):4205. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm11144205>
132. Vancheri F, Longo G, Vancheri S, Henein M. Coronary Microvascular Dysfunction. *Journal of Clinical Medicine*. **2020**;9(9):2880. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm9092880>
133. Bairey Merz CN, Pepine CJ, Shimokawa H, Berry C. Treatment of coronary microvascular dysfunction. *Cardiovascular Research*. **2020**;116(4):856–70. DOI: <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa006>
134. Ghobrial M, Bawamia B, Carlidge T, Spyridopoulos I, Kunadian V, Zaman A, et al. Microvascular Obstruction in Acute Myocardial Infarction, a Potential Therapeutic Target. *Journal of Clinical Medicine*. **2023**;12(18):5934. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm12185934>
135. Park SK, Cho JM, Mookherjee S, Pires PW, Symons JD. Recent Insights Concerning Autophagy and Endothelial Cell Nitric Oxide Generation. *Current Opinion in Physiology*. **2022**;30:100614. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2022.100614>
136. Marzoug BA. Endothelial cell autophagy in the context of disease development. *Anatomy and Cell Biology*. **2023**;56(1):16–24. DOI: <https://doi.org/10.5115/acb.22.098>
137. Tang L, Zhang W, Liao Y, Wang W, Deng X, Wang C, et al. Autophagy: a double-edged sword in ischemia-reperfusion injury. *Cellular and Molecular Biology Letters*. **2025**;30(1):42. DOI: <https://doi.org/10.1186/s11658-025-00713-x>
138. Bezhaeva T, Karper J, Quax PHA, de Vries MR. The Intriguing Role of TLR Accessory Molecules in Cardiovascular Health and Disease. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. **2022**;9:820962. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.820962>

139. Matta BM, Reichenbach DK, Blazar BR, Turnquist HR. Alarmins and Their Receptors as Modulators and Indicators of Alloimmune Responses. *American Journal of Transplantation*. **2017**;17(2):320–7. DOI: <https://doi.org/10.1111/ajt.13887>
140. Zhang Y, Huang Z, Li H. Insights into innate immune signalling in controlling cardiac remodelling. *Cardiovascular Research*. **2017**;113(13):1538–50. DOI: <https://doi.org/10.1093/cvr/cvx130>
141. Mann DL. Innate immunity and the failing heart: the cytokine hypothesis revisited. *Circulation Research*. **2015**;116(7):1254–68. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.302317>
142. Sager HB, Heidt T, Hulsmans M, Dutta P, Courties G, Sebas M, et al. Targeting Interleukin-1 β Reduces Leukocyte Production After Acute Myocardial Infarction. *Circulation*. **2015**;132(20):1880–90. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.016160>
143. Dutta P, Sager HB, Stengel KR, Naxerova K, Courties G, Saez B, et al. Myocardial Infarction Activates CCR2(+) Hematopoietic Stem and Progenitor Cells. *Cell Stem Cell*. **2015**;16(5):477–87. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.stem.2015.04.008>
144. González-Ramos S, Paz-García M, Rius C, Del Monte-Monge A, Rodríguez C, Fernández-García V, et al. Endothelial NOD1 directs myeloid cell recruitment in atherosclerosis through VCAM-1. *The FASEB Journal*. **2019**;33(3):3912–21. DOI: <https://doi.org/10.1096/fj.201801231RR>
145. Simons KH, de Vries MR, Peters HAB, Hamming JF, Jukema JW, Quax PHA. The protective role of Toll-like receptor 3 and type-I interferons in the pathophysiology of vein graft disease. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. **2018**;121:16–24. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2018.06.001>
146. He Y, Hara H, Núñez G. Mechanism and Regulation of NLRP3 Inflammasome Activation. *Trends in Biochemical Sciences*. **2016**;41(12):1012–21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2016.09.002>
147. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C, et al. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *The*

New England Journal of Medicine. **2017**;377(12):1119–31. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1707914>

148. Fernandes-Alnemri T, Yu JW, Datta P, Wu J, Alnemri ES. AIM2 activates the inflammasome and cell death in response to cytoplasmic DNA. *Nature*. **2009**;458(7237):509–13. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature07710>

149. Tone K, Stappers MHT, Willment JA, Brown GD. C-type lectin receptors of the Dectin-1 cluster: Physiological roles and involvement in disease. *European Journal of Immunology*. **2019**;49(12):2127–33. DOI: <https://doi.org/10.1002/eji.201847536>

150. Fan J, Liu L, Liu Q, Cui Y, Yao B, Zhang M, et al. CKIP-1 limits foam cell formation and inhibits atherosclerosis by promoting degradation of Oct-1 by REGγ. *Nature Communications*. **2019**;10(1):425. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07895-3>

151. Li XM, Jin PP, Xue J, Chen J, Chen QF, Luan XQ, et al. Role of sLOX-1 in intracranial artery stenosis and in predicting long-term prognosis of acute ischemic stroke. *Brain and Behavior*. **2017**;8(1):e00879. DOI: <https://doi.org/10.1002/brb3.879>

152. Wang S, Zhang K, Huang Q, Meng F, Deng S. TLR4 signalling in ischemia/reperfusion injury: a promising target for linking inflammation, oxidative stress and programmed cell death to improve organ transplantation outcomes. *Frontiers in Immunology*. **2024**;15:1447060. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1447060>

153. Zhang K, Huang Q, Deng S, Yang Y, Li J, Wang S. Mechanisms of TLR4-Mediated Autophagy and Nitroxidative Stress. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. **2021**;11:766590. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.766590>

154. Ha T, Liu L, Kelley J, Kao R, Williams D, Li C. Toll-like receptors: new players in myocardial ischemia/reperfusion injury. *Antioxidants and Redox Signaling*. **2011**;15(7):1875–93. DOI: <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3723>

155. Arslan F, Keogh B, McGuirk P, Parker AE. TLR2 and TLR4 in ischemia reperfusion injury. *Mediators of Inflammation*. **2010**;2010:704202. DOI: <https://doi.org/10.1155/2010/704202>

156. Ben DF, Yu XY, Ji GY, Zheng DY, Lv KY, Ma B, et al. TLR4 mediates lung injury and inflammation in intestinal ischemia-reperfusion. *Journal of Surgical Research*. **2012**;174(2):326–33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jss.2010.12.005>
157. Lin H, Xiong W, Fu L, Yi J, Yang J. Damage-associated molecular patterns (DAMPs) in diseases: implications for therapy. *Molecular Biomedicine*. **2025**;6(1):60. DOI: <https://doi.org/10.1186/s43556-025-00305-3>
158. Francisco J, Del Re DP. Inflammation in Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury: Underlying Mechanisms and Therapeutic Potential. *Antioxidants*. **2023**;12(11):1944. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12111944>
159. Heger LA, Schommer N, Van Bruggen S, Sheehy CE, Chan W, Wagner DD. Neutrophil NLRP3 promotes cardiac injury following acute myocardial infarction through IL-1 β production, VWF release and NET deposition in the myocardium. *Scientific Reports*. **2024**;14(1):14524. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-64710-4>
160. Horner E, Lord JM, Hazeldine J. The immune suppressive properties of damage associated molecular patterns in the setting of sterile traumatic injury. *Frontiers in Immunology*. **2023**;14:1239683. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1239683>
161. Forte E, Perkins B, Sintou A, Kalkat HS, Papanikolaou A, Jenkins C, et al. Cross-Priming Dendritic Cells Exacerbate Immunopathology After Ischemic Tissue Damage in the Heart. *Circulation*. **2021**;143(8):821–36. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.044581>
162. Alshoubaki YK, Nayer B, Lu YZ, Salimova E, Lau SN, Tan JL, et al. Tregs delivered post-myocardial infarction adopt an injury-specific phenotype promoting cardiac repair via macrophages in mice. *Nature Communications*. **2024**;15(1):6480. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-024-50806-y>
163. Anzai A, Ko S, Fukuda K. Immune and Inflammatory Networks in Myocardial Infarction: Current Research and Its Potential Implications for the Clinic. *International Journal of Molecular Sciences*. **2022**;23(9):5214. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23095214>

164. Liu J, Liu F, Liang T, Zhou Y, Su X, Li X, et al. The roles of Th cells in myocardial infarction. *Cell Death Discovery*. **2024**;10(1):287. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41420-024-02064-6>
165. Timmers L, Pasterkamp G, de Hoog VC, Arslan F, Appelman Y, de Kleijn DP. The innate immune response in reperfused myocardium. *Cardiovascular Research*. **2012**;94(2):276–83. DOI: <https://doi.org/10.1093/cvr/cvs018>
166. Zhang Z, Wang Y, Li T, Wang H. NETosis in myocardial ischemia-reperfusion injury: From mechanisms to therapies. *Biomedical Reports*. **2025**;23(1):113. DOI: <https://doi.org/10.3892/br.2025.1991>
167. Ge L, Zhou X, Ji WJ, Lu RY, Zhang Y, Zhang YD, et al. Neutrophil extracellular traps in ischemia-reperfusion injury-induced myocardial no-reflow: therapeutic potential of DNase-based reperfusion strategy. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*. **2015**;308(5):H500–9. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00381.2014>
168. Zhang F, Li Y, Wu J, Zhang J, Cao P, Sun Z, et al. The role of extracellular traps in ischemia reperfusion injury. *Frontiers in Immunology*. **2022**;13:1022380. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1022380>
169. Wong NR, Mohan J, Kopecky BJ, Guo S, Du L, Leid J, et al. Resident cardiac macrophages mediate adaptive myocardial remodeling. *Immunity*. **2021**;54(9):2072–88.e7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.07.003>
170. Thorp EB. Cardiac macrophages and emerging roles for their metabolism after myocardial infarction. *The Journal of Clinical Investigation*. **2023**;133(18):e171953. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI171953>
171. Thorp EB. Macrophage Metabolic Signaling during Ischemic Injury and Cardiac Repair. *Immunometabolism*. **2021**;3(2):e210018. DOI: <https://doi.org/10.20900/immunometab20210018>
172. Bajpai G, Schneider C, Wong N, Bredemeyer A, Hulsmans M, Nahrendorf M, et al. The human heart contains distinct macrophage subsets with divergent origins and functions. *Nature Medicine*. **2018**;24(8):1234–45. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0059-x>

173. Lai L, Zhang A, Yang B, Charles EJ, Kron IL, Yang Z. Plasmacytoid Dendritic Cells Mediate Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury by Secreting Type I Interferons. *Journal of the American Heart Association*. **2021**;10(15):e020754. DOI: <https://doi.org/10.1161/JAHA.121.020754>
174. Saleh D, Jones RTL, Schroth SL, Thorp EB, Feinstein MJ. Emerging Roles for Dendritic Cells in Heart Failure. *Biomolecules*. **2023**;13(10):1535. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom13101535>
175. Vahldieck C, Löning S, Hamacher C, Fels B, Rudzewski B, Nickel L, et al. Dysregulated complement activation during acute myocardial infarction leads to endothelial glycocalyx degradation and endothelial dysfunction via the C5a:C5a-Receptor1 axis. *Frontiers in Immunology*. **2024**;15:1426526. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1426526>
176. Welt FGP, Batchelor W, Spears JR, Penna C, Pagliaro P, Ibanez B, et al. Reperfusion Injury in Patients With Acute Myocardial Infarction: JACC Scientific Statement. *Journal of the American College of Cardiology*. **2024**;83(22):2196–2213. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2024.02.056>
177. Hofmann U, Frantz S. Role of T-cells in myocardial infarction. *European Heart Journal*. **2016**;37(11):873–79. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv639>
178. Correia AF, Oliveira CGC, Oliveira DC Jr, Pereira MC, Carvalho FA, Martins ECC, et al. Circulating Interleukin-22 in Patients with Acute Myocardial Infarction Undergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention. *Journal of Clinical Medicine*. **2024**;13(17):4971. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm13174971>
179. Takahashi J, Yamamoto M, Yasukawa H, Nohara S, Nagata T, Shimozono K, et al. Interleukin-22 Directly Activates Myocardial STAT3 Signaling Pathway and Prevents Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. *Journal of the American Heart Association*. **2020**;9(8):e014814. DOI: <https://doi.org/10.1161/JAHA.119.014814>
180. Xia N, Lu Y, Gu M, Li N, Liu M, Jiao J, et al. A Unique Population of Regulatory T Cells in Heart Potentiates Cardiac Protection From Myocardial Infarction. *Circulation*. **2020**;142(20):1956–73. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046789>

181. Liberale L, Ministrini S, Carbone F, Camici GG, Montecucco F. Cytokines as therapeutic targets for cardio- and cerebrovascular diseases. *Basic Research in Cardiology*. **2021**;116(1):23. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00395-021-00863-x>
182. Liberale L, Montecucco F, Schwarz L, Lüscher TF, Camici GG. Inflammation and cardiovascular diseases: lessons from seminal clinical trials. *Cardiovascular Research*. **2021**;117(2):411–22. DOI: <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa211>
183. Ibanez B, Aletras AH, Arai AE, Arheden H, Bax J, Berry C, et al. Cardiac MRI Endpoints in Myocardial Infarction Experimental and Clinical Trials: JACC Scientific Expert Panel. *Journal of the American College of Cardiology*. **2019**;74(2):238–56. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.05.024>
184. Schumacher SM, Naga Prasad SV. Tumor Necrosis Factor- α in Heart Failure: an Updated Review. *Current Cardiology Reports*. **2018**;20(11):117. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11886-018-1067-7>
185. Schulz R, Heusch G. Tumor necrosis factor-alpha and its receptors 1 and 2: Yin and Yang in myocardial infarction?. *Circulation*. **2009**;119(10):1355–7. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.846105>
186. Moe GW, Marin-Garcia J, Konig A, Goldenthal M, Lu X, Feng Q. In vivo TNF-alpha inhibition ameliorates cardiac mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and apoptosis in experimental heart failure. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*. **2004**;287(4):H1813–20. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00036.2004>
187. Van Tassell BW, Varma A, Salloum FN, Das A, Seropian IM, Toldo S, et al. Interleukin-1 trap attenuates cardiac remodeling after experimental acute myocardial infarction in mice. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. **2010**;55(2):117–22. DOI: <https://doi.org/10.1097/FJC.0b013e3181c87e53>
188. Toldo S, Mezzaroma E, Bressi E, Marchetti C, Carbone S, Sonnino C, et al. Interleukin-1 β blockade improves left ventricular systolic/diastolic function and restores contractility reserve in severe ischemic cardiomyopathy in the mouse. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. **2014**;64(1):1–6. DOI: <https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000000106>

189. Jong WM, Ten Cate H, Linnenbank AC, de Boer OJ, Reitsma PH, de Winter RJ, et al. Reduced acute myocardial ischemia-reperfusion injury in IL-6-deficient mice employing a closed-chest model. *Inflammation Research*. **2016**;65(6):489–99. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00011-016-0931-4>
190. Linkova DD, Rubtsova YP, Egorikhina MN. Cryostorage of Mesenchymal Stem Cells and Biomedical Cell-Based Products. *Cells*. **2022**;11(17):2691. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells11172691>
191. Wu Y, Hoogduijn MJ, Baan CC, Korevaar SS, de Kuiper R, Yan L, et al. Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Have a Heterogenic Cytokine Secretion Profile. *Stem Cells International*. **2017**;2017:4960831. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/4960831>
192. Luk F, Carreras-Planella L, Korevaar SS, de Witte SFH, Borràs FE, Betjes MGH, et al. Inflammatory Conditions Dictate the Effect of Mesenchymal Stem or Stromal Cells on B Cell Function. *Frontiers in Immunology*. **2017**;8:1042. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01042>
193. Wang Y, Chen X, Cao W, Shi Y. Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: pathological and therapeutic implications. *Nature Immunology*. **2014**;15(11):1009–16. DOI: <https://doi.org/10.1038/ni.3002>
194. Phinney DG, Pittenger MF. Concise Review: MSC-Derived Exosomes for Cell-Free Therapy. *Stem Cells*. **2017**;35(4):851–8. DOI: <https://doi.org/10.1002/stem.2575>
195. Mishra VK, Shih HH, Parveen F, Lenzen D, Ito E, Chan TF, et al. Identifying the Therapeutic Significance of Mesenchymal Stem Cells. *Cells*. **2020**;9(5):1145. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells9051145>
196. Asumda FZ. Age-associated changes in the ecological niche: implications for mesenchymal stem cell aging. *Stem Cell Research and Therapy*. **2013**;4(3):47. DOI: <https://doi.org/10.1186/scrt197>
197. Congrains A, Bianco J, Rosa RG, Mancuso RI, Saad STO. 3D Scaffolds to Model the Hematopoietic Stem Cell Niche: Applications and Perspectives. *Materials*. **2021**;14(3):569. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma14030569>

198. Kulikouskaya V, Kraskouski A, Hileuskaya K, Zhura A, Tratsyak S, Agabekov V. Fabrication and characterization of pectin-based three-dimensional porous scaffolds suitable for treatment of peritoneal adhesions. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. **2019**;107(8):1814–23. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36700>
199. Serafini M, Sacchetti B, Pievani A, Redaelli D, Remoli C, Biondi A, et al. Establishment of bone marrow and hematopoietic niches in vivo by reversion of chondrocyte differentiation of human bone marrow stromal cells. *Stem Cell Research*. **2014**;12(3):659–72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scr.2014.01.006>
200. Tan W, Desai TA. Microfluidic patterning of cells in extracellular matrix biopolymers: effects of channel size, cell type, and matrix composition on pattern integrity. *Tissue Engineering*. **2003**;9(2):255–67. DOI: <https://doi.org/10.1089/107632703764664729>
201. Haque N, Kasim NH, Rahman MT. Optimization of pre-transplantation conditions to enhance the efficacy of mesenchymal stem cells. *International Journal of Biological Sciences*. **2015**;11(3):324–34. DOI: <https://doi.org/10.7150/ijbs.10567>
202. Pittenger MF, Discher DE, Péault BM, Phinney DG, Hare JM, Caplan AI. Mesenchymal stem cell perspective: cell biology to clinical progress. *NPJ Regenerative Medicine*. **2019**;4:22. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41536-019-0083-6>
203. Le Blanc K, Davies LC. MSCs-cells with many sides. *Cytotherapy*. **2018**;20(3):273–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2018.01.009>
204. Schlarb D. Liposuktion [Liposuction]. *Der Hautarzt*. **2018**;69(2):165–76. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00105-017-4108-z>
205. Moll G, Geißler S, Catar R, Ignatowicz L, Hoogduijn MJ, Strunk D, et al. Cryopreserved or Fresh Mesenchymal Stromal Cells: Only a Matter of Taste or Key to Unleash the Full Clinical Potential of MSC Therapy?. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. **2016**;951:77–98. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-45457-3_7
206. Moll G, Alm JJ, Davies LC, von Bahr L, Heldring N, Stenbeck-Funke L, et al. Do cryopreserved mesenchymal stromal cells display impaired immunomodulatory

- and therapeutic properties?. *Stem Cells*. **2014**;32(9):2430–42. DOI: <https://doi.org/10.1002/stem.1729>
207. François M, Copland IB, Yuan S, Romieu-Mourez R, Waller EK, Galipeau J. Cryopreserved mesenchymal stromal cells display impaired immunosuppressive properties as a result of heat-shock response and impaired interferon- γ licensing. *Cytotherapy*. **2012**;14(2):147–52. DOI: <https://doi.org/10.3109/14653249.2011.623691>
208. Jeong YH, Kim U, Lee SG, Ryu B, Kim J, Igor A, et al. Vitrification for cryopreservation of 2D and 3D stem cells culture using high concentration of cryoprotective agents. *BMC Biotechnology*. **2020**;20(1):45. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12896-020-00636-9>
209. Hunt CJ. Technical Considerations in the Freezing, Low-Temperature Storage and Thawing of Stem Cells for Cellular Therapies. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. **2019**;46(3):134–50. DOI: <https://doi.org/10.1159/000497289>
210. Hoang VT, Trinh QM, Phuong DTM, Bui HTH, Hang LM, Ngan NTH, et al. Standardized xeno- and serum-free culture platform enables large-scale expansion of high-quality mesenchymal stem/stromal cells from perinatal and adult tissue sources. *Cytotherapy*. **2021**;23(1):88–99. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2020.09.004>
211. Svalgaard JD, Juul S, Vester-Glovinski PV, Haastrup EK, Ballesteros OR, Lynggaard CD, et al. Lipoaspirate Storage Time and Temperature: Effects on Stromal Vascular Fraction Quality and Cell Composition. *Cells Tissues Organs*. **2020**;209(1):54–63. DOI: <https://doi.org/10.1159/000507825>
212. Матвеєнко МС, Гладких ФВ, Олексюк ОБ. Терапевтичний потенціал екзосом із мезенхімальних стромальних клітин при сепсисі. *Каразінський імунологічний журнал*. **2024**;7(1):84–97. DOI: <https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-13-09>
213. Diaz-Dussan D, Peng YY, Sengupta J, Zabłudowski R, Adam MK, Acker JP, et al. Trehalose-Based Polyethers for Cryopreservation and Three-Dimensional Cell Scaffolds. *Biomacromolecules*. **2020**;21(3):1264–73. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.0c00018>

214. Весніна ЛЕ, Кайдашев ПІ. Тималін відновлює експресію поверхневих антигенних детермінант лімфоцитів, попередньо оброблених трипсином. *Вісник Української медичної стоматологічної академії*. **2005**;5(2):9–12. Режим доступу: <https://repository.pdmu.edu.ua/server/api/core/bitstreams/66a48eac-cf5b-4b88-8fef-7b4682b268ca/content>
215. Грищенко ВІ, Прокопюк ОС, Шепітько ВІ, Строна ВІ, Юрченко ТМ, Бобирьова ЛЄ, та ін. Використання кріоконсервованої плаценти в лікувальній практиці. *Трансплантологія*. **2002**;3(2):32–6. Режим доступу: <https://repository.pdmu.edu.ua/handle/123456789/5012>
216. Світінна ГМ, Калмикова ОО, Шелест ДВ, Скачкова ОВ, Гарманчук ЛВ, Шаблій ВА. Клітинна імунна відповідь у щурів з 1,2-диметилгідразин-індукованим раком товстої кишки після трансплантації мультипотентних клітин плаценти. *Клітинна та органна трансплантологія*. **2016**;4(1):48–54. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/ktot_2016_4_1_9
217. Гальченко СЄ. Екстракти кріоконсервованих фрагментів ксеноорганів: одержання та біологічна дія. *Проблеми кріобіології*. **2005**;15(3):403–6. Режим доступу: <https://nasplib.isoftware.kiev.ua/server/api/core/bitstreams/f856a331-fbdd-49d5-a2a3-500ad5ce7b1c/content>
218. Іванов ЛВ, Щербак ОВ, Деримедвідь ЛВ, Кравченко ВГ, Безугла ОП. Вивчення молекулярно-масового розподілу фракцій водного екстракту тканини свинячої плаценти методом високоефективної гель-проникаючої хроматографії. *Український біофармацевтичний журнал*. **2020**;62(1):56–62. DOI: <https://doi.org/10.24959/ubphj.20.252>
219. Dzhihaliuk OV, Stepaniuk HI, Zaitchko NV, Kovalenko SI, Shabelnyk KP. Characterization of the effect of 4-[4-oxo-4H-quinazolin-3-yl] benzoic acid (PK-66) on the course of adrenaline-induced myocardial dystrophy in rats based on biochemical studies. *Medical and Clinical Chemistry*. **2016**;18(4):16–22. DOI: <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2016.v0.i4.7249>
220. Markova OO, Popovych IL, Tserkovnyuk AV, Barylyak LG. Adrenaline myocardial dystrophy and body reactivity. Kyiv: Computerpress; **1997**:12

221. Markova OO. Myocardial dystrophy and body reactivity. Ternopil: Ukrmedknyha; **1998**:151.
222. Стефанов ОВ, ред. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації. Київ: Авіцена; **2001**:527. Режим доступу: <https://pubmed.com.ua/xmlui/handle/123456789/77>
223. Коваленко СО, Кудій ЛІ. Варіабельність серцевого ритму. Методичні аспекти. Черкаси: Черкаський національний університет; 299. ISBN: 978-966-353-407-7
224. Pamies R, Schmidt RR, Lopez Martinez MDC, de la Torre JG. The influence of mono and divalent cations on dilute and non-dilute aqueous solutions of sodium alginates. *Carbohydrate Polymers*. **2010**;80:248–53.
225. Asakawa T, Matsushita S. Coloring Condition of Thiobarbituric Acid Test for Detecting Lipid Hydroperoxides. *Lipids*. **1980**;15:137–40. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02540959>
226. Li XY, Chow CK. An improved method for the measurement of malondialdehyde in biological samples. *Lipids*. **1994**;29(1):73–5. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02537094>
227. Stepanyuk HI, Sokyrko MV, Stepanyuk NH, Hladkykh FV, Korotkyi YV. Evaluation of the cardioprotective effect of 1-(1-adamantyl-1-ethoxy)-3-(N-methyl morpholinium)-2-propanol iodide (YuK-76) under conditions of experimental adrenaline-induced myocardial injury. *Odesa Medical Journal*. **2016**;6(158):26–32. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.7907521>
228. Lovaas E. A sensitive spectrophotometric method for lipid hydroperoxide determination. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. **1992**;69(8):777–83. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02635914>
229. Liang C, Gowda SG, Gowda D, Sakurai T, Sazaki I, Chiba H, et al. Simple and Sensitive Method for the Quantitative Determination of Lipid Hydroperoxides by Liquid Chromatography/Mass Spectrometry. *Antioxidants*. **2022**;11(2):229. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox11020229>

230. Chevare S, Chaba I, Sekeř I. Rol' superoksiddismutazy v okislitel'nykh protsessakh kletki i metod opredeleniia ee v biologicheskikh materialakh. *Laboratornoe delo*. **1985**;(11):678–81.
231. Koroliuk MA, Ivanova LI, Maiorova IG, Tokarev VE. Metod opredeleniia aktivnosti katalazy. *Laboratornoe delo*. **1988**;(1):16–19.
232. Moin VM. Prostoi i spetsificheskii metod opredeleniia aktivnosti glutationperoksidazy v eritrotsitakh. *Laboratornoe delo*. **1986**;(12):724–7.
233. Belenichev IF, Chernii VI, Kolesnyk YM, Pavlov SV. Rational neuroprotection. Donetsk: Zaslavsky Publishing House; **2009**:260.
234. Atkinson DE. Citrate and the citrate cycle in the regulation of energy metabolism. *Biochemical Society Symposium*. **1968**;27:23–40.
235. Karyakina EV, Belova SV. Medium-mass molecules as an integral indicator of metabolic disorders. *Clinical Laboratory Diagnostics*. **2004**;(3):3–8.
236. Asatiani VS. Biochemical photometry. Moscow; **1957**:836.
237. Prokhorova MI. Modern methods of biochemical research (Lipid and energy metabolism). Leningrad; **1982**:272.
238. Волкова ОВ, Єлецкий ЮК. Основи гістології з гістологічною технікою. Москва: Медицина; **1982**:304.
239. Zar JH. Biostatistical analysis. 5th ed. Englewood Cliffs: Prentice-Hall; **2014**:960. ISBN: 9780132065023
240. Yan F, Robert M, Li Y. Statistical methods and common problems in medical or biomedical science research. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*. **2017**;9(5):157–63.
241. Caelles C, Helmborg A, Karin M. p53-dependent apoptosis in the absence of transcriptional activation of p53-target genes. *Nature*. **1994**;370(6486):220–3. DOI: <https://doi.org/10.1038/370220a0>
242. Williams DF. Challenges With the Development of Biomaterials for Sustainable Tissue Engineering. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. **2019**;7:127. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00127>
243. Xie F, Weiss P, Chauvet O, Le Bideau J, Tassin JF. Kinetic studies of a composite carbon nanotube-hydrogel for tissue engineering by rheological methods.

Journal of Materials Science Materials in Medicine. **2010**;21(4):1163–8. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10856-009-3984-x>

244. Lozoya OA, Wauthier E, Turner RA, Barbier C, Prestwich GD, Guilak F, et al. Regulation of hepatic stem/progenitor phenotype by microenvironment stiffness in hydrogel models of the human liver stem cell niche. *Biomaterials*. **2011**;32(30):7389–402. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.06.042>

245. Shachar M, Tsur-Gang O, Dvir T, Leor J, Cohen S. The effect of immobilized RGD peptide in alginate scaffolds on cardiac tissue engineering. *Acta Biomaterialia*. **2011**;7(1):152–62. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.07.034>

246. Landa N, Miller L, Feinberg MS, Holbova R, Shachar M, Freeman I, et al. Effect of injectable alginate implant on cardiac remodeling and function after recent and old infarcts in rat. *Circulation*. **2008**;117(11):1388–96. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.727420>

247. Kim JK, Kim HJ, Chung JY, Lee JH, Young SB, Kim YH. Natural and synthetic biomaterials for controlled drug delivery. *Archives of Pharmacal Research*. **2014**;37(1):60–8. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12272-013-0280-6>

248. Nemoto T, Isogai Z, Koide K, Itoh Y, Nogata F, Shimamoto A, et al. Viscoelasticity measurement of skin in vivo by rheometer. *Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering*. **2007**;21:33–6.

249. Радченко ОМ, Кондратюк МО. Синдром ендогенної інтоксикації в клініці внутрішніх хвороб. *Медична гідрологія та реабілітація*. **2009**;7(3):25–32.

250. Рогоза ЛА, Богатирьова ОО, Дюбко ТС, Татарець АЛ, Поврозін ЄА, Гальченко СЄ, та ін. Флуоресцентні зонди для дослідження пептидів. *Biotechnologia Acta*. **2013**;6(5):108–14. Режим доступу: <http://jnas.nbuu.gov.ua/article/UJRN-0000048906>

251. Heubach JF, Ravens U, Kaumann AJ. Epinephrine activates both Gs and Gi pathways, but norepinephrine activates only the Gs pathway through human beta2-adrenoceptors overexpressed in mouse heart. *Molecular Pharmacology*. **2004**;65(5):1313–22. DOI: <https://doi.org/10.1124/mol.65.5.1313>

252. Ueyama T, Senba E, Kasamatsu K, Hano T, Yamamoto K, Nishio I, et al. Molecular mechanism of emotional stress-induced and catecholamine-induced heart attack. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. **2003**;41(Suppl 1):S115–18.
253. Brouri F, Hanoun N, Mediani O, Saurini F, Hamon M, Vanhoutte PM, et al. Blockade of beta 1- and desensitization of beta 2-adrenoceptors reduce isoprenaline-induced cardiac fibrosis. *European Journal of Pharmacology*. **2004**;485(1–3):227–34. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2003.11.063>
254. Карнаух ЕВ. Кардіопротекторний вплив пірацетама на баланс тканьових катехоламінів в міокарді при емоціональному стресі. *Медицина сьогодні і завтра*. **2013**;1(58):56–8. Режим доступу: <https://msz.knmu.edu.ua/article/view/174/161>
255. Noort WA, Feye D, Van Den Akker F, Stecher D, Chamuleau SA, Sluijter JP, et al. Mesenchymal stromal cells to treat cardiovascular disease: strategies to improve survival and therapeutic results. *Panminerva Medica*. **2010**;52(1):27–40.
256. Maureira P, Marie PY, Yu F, Poussier S, Liu Y, Groubatch F, et al. Repairing chronic myocardial infarction with autologous mesenchymal stem cells engineered tissue in rat promotes angiogenesis and limits ventricular remodeling. *Journal of Biomedical Science*. **2012**;19(1):93. DOI: <https://doi.org/10.1186/1423-0127-19-93>
257. Plotnikov EY, Khryapenkova TG, Vasileva AK, Marey MV, Galkina SI, Isaev NK, et al. Cell-to-cell cross-talk between mesenchymal stem cells and cardiomyocytes in co-culture. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. **2008**;12(5A):1622–31. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2007.00205.x>
258. Christman KL, Lee RJ. Biomaterials for the treatment of myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*. **2006**;48(5):907–13. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2006.06.005>
259. Wall ST, Walker JC, Healy KE, Ratcliffe MB, Guccione JM. Theoretical impact of the injection of material into the myocardium: a finite element model simulation. *Circulation*. **2006**;114(24):2627–35. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.657270>

260. Howard JR, Timmins P. Controlled release formulation. *United States Patent* No. 4792452A. **1988**. Filed Jul 28, 1987; Published Dec 20, 1988. Режим доступу: <https://patents.google.com/patent/US4792452A/en>
261. Marie E, Landfester K, Antonietti M. Synthesis of chitosan-stabilized polymer dispersions, capsules, and chitosan grafting products via miniemulsion. *Biomacromolecules*. **2002**;3(3):475–81. DOI: <https://doi.org/10.1021/bm015634s>
262. Jiang B, Hu L, Gao C, Shen J. Crosslinked polysaccharide nanocapsules: preparation and drug release properties. *Acta Biomaterialia*. **2006**;2(1):9–18. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2005.08.006>
263. Kamada M, Hirayama F, Udo K, Yano H, Arima H, Uekama K. Cyclodextrin conjugate-based controlled release system: repeated- and prolonged-releases of ketoprofen after oral administration in rats. *Journal of Controlled Release*. **2002**;82(2–3):407–16. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(02\)00171-2](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(02)00171-2)
264. Гальченко СС, Сандомирський БП. Екстракти кріоконсервованих фрагментів органів свиней та поросят як компонент відновної медицини. *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*. **2017**;7:91–7. DOI: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2017.07.091>
265. Алексевич КО, Фіра ЛС, Лихацький ПГ, Грималюк ОІ. Динаміка процесів ліпопероксидації та стан клітинних мембран за умов адреналінової кардіопатії. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. **2014**;35(1):75–9. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/aptm_2014_1_12
266. Berezin AE, Berezin AA. Adverse Cardiac Remodelling after Acute Myocardial Infarction: Old and New Biomarkers. *Disease Markers*. **2020**;2020:1215802. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/1215802>
267. Lunova T, Komorovsky R, Klishch I. Gender Differences in Treatment Delays, Management and Mortality among Patients with Acute Coronary Syndrome: A Systematic Review and Meta-analysis. *Current Cardiology Reviews*. **2023**;19(1):e300622206530. DOI: <https://doi.org/10.2174/1573403X18666220630120259>
268. Гладких ФВ, Чиж МО, Кошурба ІВ, Белочкіна ІВ, Коморовський РР, Марченко МС, та ін. Антрациклінові ушкодження серця та вплив кріоекстракту плаценти на стан міокарда при доксорубіциновій кардіоміопатії. *Український*

радіологічний та онкологічний журнал. **2023**;31(2):190–205. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.2.2023.190-205>

269. Ягупова АС, Ніженковська ІВ, Вельчинська ОВ, Кулікова ТА, Шамрай ЮП, Нароха ВП, та ін. Параметри антиоксидантної активності та вміст заліза в крові при експериментальному інфаркті міокарда. *Український журнал сучасних проблем токсикології*. **2011**;3:19–22. Режим доступу: <http://protox.medved.kiev.ua/index.php/en/issues/2011/3/item/95-antioxidative-activity-and-the-iron-content-in-blood-with-experimental-myocardial-infarction>

270. Vavin GV, Bunina OG. Modification of the chemiluminescence method for studying free radical oxidation processes. *Experimental and Clinical Pharmacology*. **2002**;65(2):63–6.

271. Lankin VZ, Tikhaze AK, Belenkov YN. Free radical processes in cardiovascular diseases. *Cardiology*. **2000**;40(7):48–61.

272. Berthiaume JM, Wallace KB. Adriamycin-induced oxidative mitochondrial cardiotoxicity. *Cell Biology and Toxicology*. **2007**;23(1):15–25. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10565-006-0140-y>

273. Zhang H, Hu H, Zhai C, Jing L, Tian H. Cardioprotective Strategies After Ischemia-Reperfusion Injury. *American Journal of Cardiovascular Drugs*. **2024**;24(1):5–18. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40256-023-00614-4>

274. Jembrek MJ. Inhibition of Oxidative Stress and Related Signaling Pathways in Neuroprotection. *Antioxidants*. **2024**;13(9):1033. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox13091033>

275. Tong TC, Zhou B. Cardioprotective strategies in myocardial ischemia-reperfusion injury: Implications for improving clinical translation. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology Plus*. **2024**;11:100278. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmccpl.2024.100278>

276. Гавриленко ТІ, Ломаковський ОМ, Підгайна ОА, Распутняк ОВ, Рижкова НО, Гречківська НВ. Імунологічна реактивність та інтенсивність оксидативного стресу при стабільній ішемічній хворобі серця. *Український журнал серцево-судинної хірургії*. **2023**;31(3):22–30. DOI: [https://doi.org/10.30702/ujcvs/23.31\(03\)/GL008-2230](https://doi.org/10.30702/ujcvs/23.31(03)/GL008-2230)

277. Voloshyna OB, Kovalchuk LI, Balashova IV, Buheruk VV, Zbitnieva VO. Coronavirus disease: impact on risk and clinical course of cardiovascular diseases. *Odesa National Medical University*. **2023**;2:98–103. DOI: <https://doi.org/10.54229/2226-2008-2023-2-18>
278. Євсєєва В, Харченко К. Роль протоколу POCUS у діагностиці синдрому Такоцубо, спричиненого уросепсисом, у хворої на рак шийки матки. Клінічний випадок. *Український радіологічний та онкологічний журнал*. **2024**;32(4):589–596. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.4.2024.589-596>
279. Kalynyuchenko T, Anoshyna M, Malygon O, Belousov A, Yagovdik M, Parubets L, et al. Lipid peroxidation marker levels and basic laboratory health indicators of blood donors during wartime: possible consequences for preserved packed red blood cells quality. *Eastern Ukrainian Medical Journal*. **2024**;12(4):827–45. DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2024;12\(4\):827-845](https://doi.org/10.21272/eumj.2024;12(4):827-845)
280. Garmish O, Smiyan S, Hladkykh F, Koshak B, Komorovsky R. The Effects of Disease-Modifying Antirheumatic Drugs on Cardiovascular Risk in Inflammatory Joint Diseases: Current Evidence and Uncertainties. *Vascular Health and Risk Management*. **2025**;21:593–605. DOI: <https://doi.org/10.2147/VHRM.S523939>
281. Цівенко ОВ, Матвєєнко МС, Ляшок АВ, Бичкова ОВ, Цівенко ВО. Моніторинг інфузійної терапії у пацієнтів зі зниженим кардіальним резервом при абдомінальних операціях. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. **2024**;32(1(48)):73–85. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-48-08>
282. Khavinson VKh, Kuznik BI, Ryzhak GA. Peptide bioregulators – a new class of geroprotectors. Report 1. Results of experimental studies. *Advances in Gerontology*. **2012**;25(4):696–709. DOI: <https://doi.org/10.1134/S2079057013030065>
283. Khavinson VKh, Tarnovskaya SI, Linkova NS, Pronyaeva VE, Shataeva LK, Yakutseni PP. Short cell-penetrating peptides: a model of interactions with gene promoter sites. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. **2013**;154(3):403–10. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-013-1961-3>

ДОДАТКИ

ЗАТВЕРДЖУЮ

Декан біологічного факультету
Харківського національного
університету імені В. Н. Каразіна
канд. біол. наук, доцент
Ю.Г. Гамуля



« 04 » 10 2023 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): Пристрій для реєстрації електрокардіограми у дрібних лабораторних тварин
2. **Ким і коли запропонований:** Чиж М.О., Белочкіна І.В. (ІПКіК НАН України, 61016, м. Харків, вулиця Переяславська, 23), 25.05.2018 р.
3. **Джерело інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): Україна, патент № 119124, МПК (2006.01) А61В 5/0402, А61В 5/02 Заявл. № а 201805866 под. 25.05.2018, публ. 25.04.2019, Бюл. № 8 «Пристрій для реєстрації електрокардіограми у дрібних лабораторних тварин», авт. Чиж М.О., Белочкіна І.В.
4. **Де і коли впроваджено:** кафедра фізіології людини та тварин біологічного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна.
5. **Результати застосування методу за період з січня 2023 р. по теперішній час:** впровадження у навчальний процес на кафедрі фізіології людини та тварин Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна при проведенні практичних занять зі студентами та аспірантами, а також у науково-дослідну роботу кафедри.
6. **Ефективність впровадження:** Пристрій для реєстрації електрокардіограми у дрібних лабораторних тварин спрощує умови проведення неінвазивної реєстрації ЕКГ у групи тварин під час багатоденного експерименту з забезпеченням спокійного стану і можливості вільного переміщення тварини, що підвищує коректність результатів експерименту.
7. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Даний акт не є основою для фінансових претензій з боку патентовласника.

Відповідальний(і) за впровадження

В.о. завідувача кафедри
фізіології людини та тварин
біологічного факультету
Харківського національного
університету імені В. Н. Каразіна
д. б. н., професор

Т.П. Бондаренко

04. 10.2023

дата



ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи
НАУ України імені П.Л. Шупика
професор П.О. Савичук

« 08 » листопада 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят, як біотехнологічного препарату з кардіопротективною активністю при гострому коронарному синдромі.
- 2. Автори:** PhD Гладких Ф.В., PhD Матвієнко М.С., д.мед.н., проф. Комаровський Р.Р., д.мед.н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
- 3. Установа-розробник, його поштова адреса:** Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (вул. Переяславська, 23, м. Харків, Україна, 61016).
- 4. Джерела інформації:**
 1. Чиж М.О., Матвієнко М.С., Гладких Ф.В., Лядова Т.І., Комаровський Р.Р., Козлова Т.В. Метаболічні зрушення в міокарді під час ураження, викликаного адреналіном, та вплив кріоекстракту серця на метаболізм лактату-пірувату. Український журнал серцево-судинної хірургії. 2025; 33(2):53–61. [https://doi.org/10.63181/ujcv.2025.33\(2\).53-61](https://doi.org/10.63181/ujcv.2025.33(2).53-61)
 2. Chyzh MO, Hladkykh FV, Liadova TI, Matvieienko MS, & Komorovsky RR. Modulatory effects of porcine cardiac cryoextract on glycogenolysis in experimental models of myocardial dystrophy. Eastern Ukrainian Medical Journal. 2025. 13(3): 712–722. [https://doi.org/10.21272/eumj.2025.13\(3\):712-722](https://doi.org/10.21272/eumj.2025.13(3):712-722)
- 5. Базова установа, в якій здійснено впровадження:** Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, кафедра фармації
- 6. Термін впровадження:** впродовж 2025 р.
- 7. Форма впровадження пропозиції:** у наукову та навчальну роботу.
- 8. Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування серцево-судинних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та у освітньому процесі аспірантів всіх спеціальностей.
- 9. Зауваження, пропозиції:** не вносились.
- 10. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармації:** Протокол № 8 від «04» листопада 2025 р.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри фармації
д.фарм.н., професор

С.О. Соловійов

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор Полтавського
державного медичного університету
Доктор медичних наук, професор
Валентин ДВОРНИК

« 17 » грудня 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозицій для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят, як біотехнологічного препарату з кардіопротективною активністю при гострому коронарному синдромі.
- 2. Автори:** PhD Гладких Ф.В., PhD Матвієнко М.С., д.мед.н., проф. Комаровський Р.Р., д.мед.н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
- 3. Установа-розробник, його поштова адреса:** Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (вул. Переяславська. 23, м. Харків, Україна, 61016).
- 4. Джерела інформації:**
 1. Komorovsky RR, Chyzh MO, Hladkykh FV, Liadova TI, Matvieienko MS. Adaptive action of heart cryoextract on myocardial energy metabolism in experimental epinephrine-induced myocardiodystrophy. Odesa Medical Journal. 2025; 195(4): 15–20. <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2025-4-2>
 2. Chyzh MO, Matvieienko MS, Hladkykh FV, Komorovsky RR, Kozlova TV. Evaluation of the cardioprotective activity of cardiac cryoextract in an adrenaline-induced myocardiodystrophy model based on oxidative stress markers. Journal of V N Karazin Kharkiv National University Series Medicine. 2025; 33(2): 178–193. <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-53-02>
- 5. Базова установа, в якій здійснено впровадження:** Полтавський державний медичний університет, кафедра фармакології
- 6. Термін впровадження:** впродовж 2025-2026 рр.
- 7. Форма впровадження пропозицій:** у наукову та навчальну роботу.
- 8. Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування серцево-судинних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та у освітньому процесі.
- 9. Зауваження, пропозицій:** не вносились.
- 10. Обговорено та затверджено на засідання структурного підрозділу:**
Кафедри фармакології
Протокол №8 від «04» грудня 2025 р.
Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакології
Полтавського державного медичного університету
доктор медичних наук, професор

Р. В. Луценко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з в.о. з науково-педагогічної роботи
Тернопільського національного медичного
університету імені І.Я. Горбачевського
д. мед. н., професор



А. Г. Шульгай

» грудня 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят як біотехнологічного препарату з кардіопротективною активністю при гострому коронарному синдромі.
- 2. Автори:** к.біол.н. Белочкіна І.В., к.біол.н. Слета І.В., к.мед.н. Манченко А.О., Трофімова А.В., PhD Гладких Ф.В., PhD Глоба В.Ю., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
- 3. Установа-розробник, його поштова адреса:** Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (вул. Переяславська, 23, м. Харків, Україна, 61016).
- 4. Джерела інформації:**
 1. Чиж МО, Манченко АО, Трофімова ГВ, Белочкіна ІВ. Ультразвукова характеристика ремоделювання серця під впливом терапевтичної гіпотермії та МСК на моделі інфаркту міокарда. Український радіологічний та онкологічний журнал. 2020; 28(3): 222–240. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.3.2020.222-240>
 2. Chyzh MO, Manchenko AO, Trofimova AV, Belochkina IV. Doppler examination of aorta after therapeutic hypothermia and administering MSCs in experimental myocardial infarction. Ukrainian Journal of Radiology and Oncology Open source preview. 2021; 29(1): 58–69. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.1.2021.58-69>
 3. Чиж МО, Белочкіна ІВ, Глоба ВЮ, Слета ІВ, Михайлова ІП, Гладких ФВ. Ультразвукове дослідження серця шурів після експериментального ураження адреналіном та застосування ксеноекстракту серця. Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина. 2024; 32 2(49): 185–197 <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-49-06>
- 5. Базова установа, в якій здійснено впровадження:**
Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського
- 6. Термін впровадження:** впродовж 2025 р.
- 7. Форма впровадження пропозиції:** у наукову та навчальну роботу.
- 8. Результати впровадження:** Використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування серцево-судинних захворювань. Результати застосовано у освітньому процесі при викладанні дисципліни «Внутрішня медицина» та елективного курсу «Актуальні питання кардіології» для здобувачів вищої освіти V–VI курсів
- 9. Зауваження, пропозиції:** не вносились.
- 10. Обговорено та затверджено на засідання структурного підрозділу:**
кафедра внутрішньої медицини №2; протокол № 11 від 12 листопада 2025 р.
Даний акт не є основою для фінансових претензій з боку автора публікацій.

Відповідальний за впровадження:

Професор кафедри внутрішньої
медицини №2, д-р мед. н., професор
(Посада, науковий ступінь, вчене звання)

Р.Р. Коморовський
(Підпис)

Р.Р. Коморовський
(Прізвище Ім'я та По-батькові)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

проректор з науково-педагогічної роботи
Харківського національного
університету імені В.Н. Каразіна
Антон ПАНТЕЛЕЙМОНОВ

«22» жовтня 2025 р.



АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят, як біотехнологічного препарату з кардіопротективною активністю при гострому коронарному синдромі.
- 2. Автори:** к.біол.н. Белочкіна І.В., к.біол.н. Слета І.В., Шканд Т.В., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
- 3. Установа-розробник, його поштова адреса:** Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (вул. Переяславська, 23, м. Харків, Україна, 61016).
- 4. Джерела інформації:**
Белочкіна ІВ, Чиж МО, Слета ІВ, Шканд ТВ. Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят у складі альгінатного гелю на електрофізіологічні показники серця щурів з кріонекрозом міокарда. Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина. 2024; 32. 3(50): 314–338 <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-04>
- 5. Базова установа, в якій здійснено впровадження:**
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна МОН України
- 6. Термін впровадження:** впродовж 20252026 рр.
- 7. Форма впровадження пропозиції:** у наукову та навчальну роботу.
- 8. Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів в лікуванні серцево-судинних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та у освітньому процесі.
- 9. Зауваження, пропозиції:** не вносились.
- 10. Обговорено та затверджено на засідання структурного підрозділу:**
Кафедра загальної хірургії, анестезіології та паліативної медицини
Протокол № 03 від «22» жовтня 2025 р.
Даний акт не є основою для фінансових претензій з боку автора публікацій.

Декан медичного факультету

(Посада, науковий ступінь, вчене звання)


(Підпис)

Тетяна ЛЯДОВА

(Прізвище Ім'я та По-батькові)

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри _____

(Посада, науковий ступінь, вчене звання)


(Підпис)

Марія МАТВЄЄНКО

(Прізвище Ім'я та По-батькові)


«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Медичний директор
КНП «Міська поліклініка №10» ХМР
Світлана КОВАЛЬОВА
(керівник установи, в якій проведено
впровадження, печатка)
«25» листопада 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят, як біотехнологічного препарату з кардіопротективною активністю при гострому коронарному синдромі.
2. **Ким пропонується:** Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (вул. Переяславська. 23, м. Харків, Україна, 61016).
3. **Джерела інформації:**
Белочкіна ІВ, Чиж МО, Слета ІВ, Шканд ТВ. Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят у складі альгінатного гелю на електрофізіологічні показники серця щурів з кріонекрозом міокарда. Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина. 2024; 32. 3(50): 314–338 <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-04>
Чиж МО, Матвеєнко МС, Гладких ФВ, Лядова ТІ, Коморовський РР, Козлова ТВ. Метаболічні зрушення в міокарді під час ураження, викликаного адреналіном, та вплив кріоекстракту серця на метаболізм лактату-пірувату. Український журнал серцево-судинної хірургії. 2025; 33(2):53–61. [https://doi.org/10.63181/ujcvs.2025.33\(2\).53-61](https://doi.org/10.63181/ujcvs.2025.33(2).53-61)
4. **Базова установа, в якій здійснено впровадження:**
Комунальне некомерційне підприємство «Міська поліклініка №10» ХМР
5. **Термін впровадження:** впродовж 2025 р.
6. **Форма впровадження пропозиції:** у наукову та лікувальну роботу.
7. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування серцево-судинних захворювань.
8. **Зауваження, пропозиції:** не було.

Відповідальний за впровадження:

Сімеоний лікар
(Посада)


(Підпис)

Вороненська А.І.
(Підпис Іри та По-батькові)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

проректор з науково-педагогічної роботи
Харківського національного
університету імені В.Н. Каразіна
Антон ПАНТЕЛЕЙМОНОВ

«15» грудня 2025 р.



АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** застосування «Біодіалітичного кріоконсервованого біологічного засобу – екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят, як біотехнологічного препарату з кардіопротективною активністю при гострому коронарному синдромі.
2. **Автори:** PhD Гладких Ф.В., PhD Матвієнко М.С., д.мед.н., проф. Комаровський Р.Р., д.мед.н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
3. **Установа-розробник, його поштова адреса:** Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (вул. Переяславська, 23, м. Харків, Україна, 61016).
4. **Джерела інформації:**
 1. Чиж МО, Матвієнко МС, Гладких ФВ, Лядова ТІ, Комаровський РР, Козлова ТВ. Метаболічні зрушення в міокарді під час ураження, викликаного адреналіном, та вплив кріоекстракту серця на метаболізм лактату-пірувату. Український журнал серцево-судинної хірургії. 2025; 33(2):53–61. [https://doi.org/10.63181/ujcvs.2025.33\(2\).53-61](https://doi.org/10.63181/ujcvs.2025.33(2).53-61)
 2. Chyzh MO, Hladkykh FV, Liadova TI, Matvieienko MS, & Komorovsky RR. Modulatory effects of porcine cardiac cryoextract on glycogenolysis in experimental models of myocardial dystrophy. Eastern Ukrainian Medical Journal. 2025. 13(3): 712–722. [https://doi.org/10.21272/eumj.2025.13\(3\):712-722](https://doi.org/10.21272/eumj.2025.13(3):712-722)
5. **Базова установа, в якій здійснено впровадження:** Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна МОН України
6. **Термін впровадження:** впродовж 2025-2026 рр.
7. **Форма впровадження пропозиції:** у наукову та навчальну роботу.
8. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів в лікуванні серцево-судинних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та у освітньому процесі.
9. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.
10. **Обговорено та затверджено на засідання структурного підрозділу:** Кафедра інфекційних хвороб та клінічної імунології
Протокол № 6 від «15» грудня 2025 р.
Даний акт не є основою для фінансових претензій з боку автора публікацій.

Декан медичного факультету
(Посада, науковий ступінь, вчене звання)

(Підпис)

Тетяна ЛЯДОВА
(Прізвище Ім'я та По-батькові)

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри _____
(Посада, науковий ступінь, вчене звання)

(Підпис)

Ольга ВОЛОБУСВА
(Прізвище Ім'я та По-батькові)



ЗАТВЕРДЖУЮ»

проф. проректорка

Сумського державного університету

Інна ШКОЛЬНИК

«16» грудня 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** застосування безклітинного кріоконсервованого біологічного засобу – екстрактів кріоконсервованих фрагментів серця поросят, як біотехнологічного препарату з кардіопротективною активністю при гострому коронарному синдромі.
- 2. Автори:** PhD Гладких Ф.В., PhD Матвієнко М.С., д.мед.н., проф. Комаровський Р.Р., д.мед.н., проф. Лядова Т.І., к. мед. н., ст. д. Чиж М.О.
- 3. Установа-розробник, його поштова адреса:** Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (вул. Переяславська, 23, м. Харків, Україна, 61016).
- 4. Джерела інформації:**
 1. Чиж МО, Матвієнко МС, Гладких ФВ, Лядова ТІ, Комаровський РР, Козлова ТВ. Метаболічні зрушення в міокарді під час ураження, викликаного адреналіном, та вплив кріоекстракту серця на метаболізм лактату-пірувату. Український журнал серцево-судинної хірургії. 2025; 33(2):53–61. [https://doi.org/10.63181/ujcvs.2025.33\(2\).53-61](https://doi.org/10.63181/ujcvs.2025.33(2).53-61)
 2. Chyzh MO, Hladkykh FV, Liadova TI, Matvieienko MS, & Komorovsky RR. Modulatory effects of porcine cardiac cryoextract on glycogenolysis in experimental models of myocardial dystrophy. Eastern Ukrainian Medical Journal. 2025. 13(3): 712–722. [https://doi.org/10.21272/eumj.2025;13\(3\):712-722](https://doi.org/10.21272/eumj.2025;13(3):712-722)
- 5. Базова установа, в якій здійснено впровадження:** кафедра педіатрії Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету.
- 6. Термін впровадження:** впродовж 2025 р.
- 7. Форма впровадження пропозиції:** у наукову та навчальну роботу.
- 8. Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень забезпечує розширення відомостей щодо нових біотехнологічних підходів до лікування серцево-судинних захворювань. Результати впроваджено при проведенні експериментальних досліджень та у освітньому процесі.
- 9. Зауваження, пропозиції:** не вносились.
- 10. Обговорено та затверджено на засідання структурного підрозділу:** кафедри педіатрії
Протокол № 5 від «16» грудня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри педіатрії,
д. мед. н., професор

О.І. Сміян