

МОРФОЛОГІЯ

© Мартынова Ю. В., Невзоров В. П., Бабийчук В. Г., Чернявская Е. А., Кулик В. В.

УДК 616. 127-056. 5-092. 4:612. 649. 011. 87+612. 592

Мартынова Ю. В., Невзоров В. П., Бабийчук В. Г., Чернявская Е. А., Кулик В. В.

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ КАРДИОМИОЦИТОВ И ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ КРОВЕНОСНЫХ КАПИЛЛЯРОВ МИОКАРДА КРЫС В ДИНАМИКЕ СТАРЕНИЯ ПОСЛЕ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ КОРДОВОЙ КРОВИ И ЭКСТРЕМАЛЬНОГО ОХЛАЖДЕНИЯ

(-120°C)

Інститут проблем криобіології і криомедицини НАН України (г. Харків)

ГУ Інститут общей и неотложной хирургии АМН Украины (г. Харьков)

Данная работа выполнена в рамках научной темы ИПК и К НАН Украины на 2011-2015 гг. шифр 2. 2. 6. 63 «Особливості фізіологічних та патофізіологічних механізмів регуляції гомеостазу організму гомоїо- і гетеротермних тварин при різних видах охолодження», № гос. регистрации 0111U001195.

Вступление. Проблема старения привлекает внимание ученых разных стран, что сопровождается увеличением числа исследований физиологии этого процесса [9].

Одной из ведущих причин смертности населения на сегодняшний день остаются сердечно-сосудистые заболевания [5, 8]. С возрастом происходит снижение функциональных возможностей различных систем организма, в том числе и сердечно-сосудистой [5], патологии которой сопровождаются изменениями в ультраструктуре её компонентов [2, 3].

В геронтологических и гериатрических исследованиях значительный интерес вызывают стволовые клетки из различных источников благодаря их способности восстанавливать и омолаживать организм за счет, как замещения поврежденных клеток реципиента, так и активации собственных стволовых клеток стареющего организма [1]. В тоже время исследования, проводимые в последние десятилетия, подтверждают концепцию, что кордовая кровь является важным источником стволовых клеток для биомедицинских исследований и клинического применения [7].

Применение общего экстремального охлаждения широко используется во многих странах мира [10], а количество доказательств положительных эффектов этой неинвазивной физиотерапевтической процедуры возрастает [4]. Однако на сегодняшний день отсутствуют данные о сочетанном влиянии кордовой крови и общего экстремального охлаждения организма в динамике его старения на субмикроскопическую структуру компонентов сердечно-сосудистой системы.

Цель исследования – изучить динамику изменений в субмикроскопической организации кардиомиоцитов и эндотелиоцитов кровеносных

капилляров миокарда крыс в процессе их старения на фоне сочетанного применения препарата ядросодержащих клеток кордовой крови (ЯСК КК) и ритмических экстремальных (-120°C) холодовых воздействий (РЭХВ).

Объект и методы исследования. Исследования были выполнены на белых беспородных крысах-самцах в динамике старения на фоне сочетанного применения РЭХВ и введения ЯСК КК с возраста 6 месяцев. Эксперименты на животных проведены в соответствии с Общими принципами работы на животных, одобренными 1-м Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, Украина, 2001) и согласованными с положением Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, Франция, 1985). Все животные содержались в условиях вивария на стандартном пищевом рационе.

Было исследовано 4 экспериментальные группы животных разного возраста: 6, 12, 18 и 24 месяца. РЭХВ выполняли в криокамере для охлаждения экспериментальных животных [13]. В криокамере (-120°C) животные находились в течение 2 мин, затем их вынимали и содержали 5 мин при комнатной температуре (22...24 °C) вне камеры. Далее процедуру охлаждения повторяли: животных согревали 5 мин при комнатной температуре, после чего по аналогичной схеме проводили цикл охлаждения. Таким образом, животные получали три процедуры РЭХВ в сутки. На 3 и 5-е сутки сеансы РЭХВ повторяли. Всего животные подвергались охлаждению 9 раз по 2 мин при температуре -120°C.

Размороженный криоконсервированный препарат ЯСК КК, содержащий гемопоэтические стволовые клетки с концентрацией стволовых CD34+ клеток $2-4 \times 10^5$ в 1 мл, вводили в дозе 1×10^5 CD34+ клеток на килограмм веса. Повторное охлаждение и введение препарата ЯСК КК крысам проводили каждые 6 месяцев (до 24 месячного возраста).

Животных выводили из эксперимента путем декапитации каждые 6 месяцев (6, 12, 18 и 24 мес.) и

МОРФОЛОГІЯ

проводили забор кусочков ткани миокарда для электронно-микроскопического исследования.

Предварительную фиксацию проводили в глютарово-формальдегидном фиксаторе при температуре 4°C в течении 5-6 часов. Затем кусочки миокарда переносили в 1%-ный забуференный раствор четырехокиси оsmия на 3-4 часа при температуре 4°C для окончательной фиксации. В дальнейшем ткань обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне, пропитывали в смеси эпоксидных смол (эпон-аралдит) и заключали в блоки по стандартным методикам. Полимеризацию блоков проводили в термостате при 60°C в течении двух суток.

Из полученных блоков, на ультрамикротоме УМТП – ЗМ, изготавливали ультратонкие срезы, монтировали их на электролитические сеточки и, после контрастирования цитратом свинца, изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100 БР при ускоряющем напряжении 75 кВ.

Результаты исследований и их обсуждение.

Спустя месяц после проведения 9 сеансов РЭХВ и введения криоконсервированного препарата ЯСК КК у 6 месячных крыс ультраструктурная архитектоника кардиомиоцитов в общих чертах оставалась такой же, как и в группе интактных животных аналогичного возраста.

Ядра кардиомиоцитов имели типичную удлинённую форму. Хроматин, находился в деконденсированном состоянии, его гранулы равномерно распределялись по площади среза. Матрикс ядра был средней электронной плотности.

Митохондрии кардиомиоцитов обладали высокой степенью полиморфизма. Основная их часть имела мелко-гранулярный матрикс и большое количество укороченных крист. Матрикс митохондрий мелкозернистый, обладал средней электронной плотностью. Наряду с этим встречались митохондрии с перетяжками. Небольшая часть митохондрий содержала электронно-прозрачный матрикс и дезорганизованные кристы (рис. 1).

Пучки миофибрил располагались параллельными рядами, окруженными митохондриями и имели чётко выраженную поперечную исчерченность. Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи гипертрофирован.

В саркоплазме присутствовало небольшое количество гранул гликогена, рибосом и полисом.

Эндотелиоциты кровеносных капилляров содержали ядра неправильной формы с четко контурируемой ядерной мембраной и мелкозернистым матриксом. Значительная часть хроматина находилась в деконденсированном состоянии. Деструкций ядерной мембранны не выявлено. Митохондрии эндотелиальных клеток мелкие с одиночными кристами и электронно-плотным матриксом. В препаратах присутствовали митохондрии гантелевидной формы.

Гранулярный эндоплазматический ретикулум умеренно развит, на его мембранах локализовалось большое количество рибосом. Пластинчатый

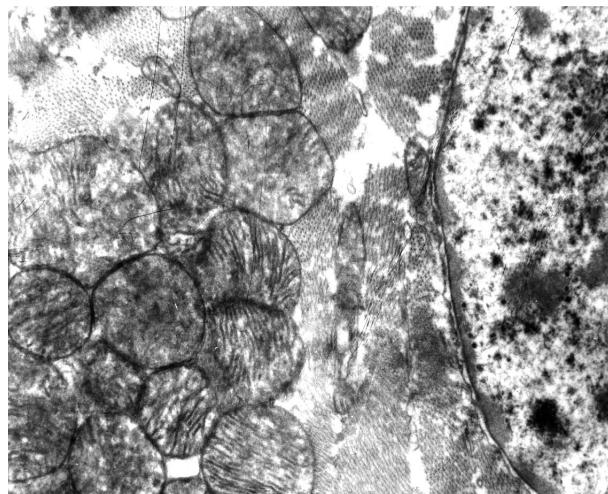


Рис. 1. Ультраструктура кардиомиоцитов миокарда 6 месячных крыс после РЭХВ и введения ЯСК КК. Деконденсация ядерного хроматина, равномерное расширение перинуклеарного пространства, скопление митохондрий в перинуклеарной области саркоплазмы x 40 000. Контрастировано цитратом свинца.

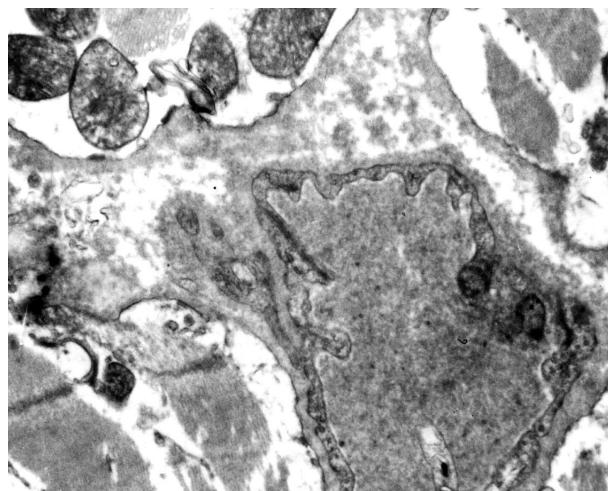


Рис. 2. Ультраструктура эндотелиальных клеток кровеносных капилляров миокарда 6 месячных крыс после РЭХВ и введения ЯСК КК. Инвагинации цитоплазматической мембранны, обращённой к току крови x 42 000. Контрастировано цитратом свинца.

цитоплазматический комплекс Гольджи был гипертрофирован, его гладкие мембранны параллельно ориентированы и собраны в стопки.

В цитоплазме эндотелиоцитов выявлялись многочисленные полисомы и рибосомы. Включения липидов и вторичные лизосомы отсутствовали.

В цитоплазме отростков эндотелиальных клеток кровеносных капилляров миокарда располагалось множество микропиноцитозных пузырьков. Цитоплазматическая мембрана, обращённая в просвет капилляра, имела множественные инвагинации (рис. 2).

У 12 месячных крыс на фоне 9 сеансов РЭХВ и введения криоконсервированного препарата ЯСК

МОРФОЛОГІЯ

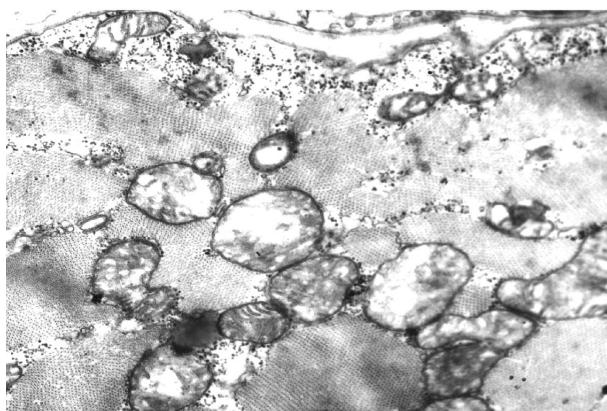


Рис. 3. Ультраструктура кардиомиоцитов миокарда 12 месячных после РХВ и введения ЯСК КК. Многочисленные гранулы гликогена в саркоплазме х 40 000. Контрастировано цитратом свинца.

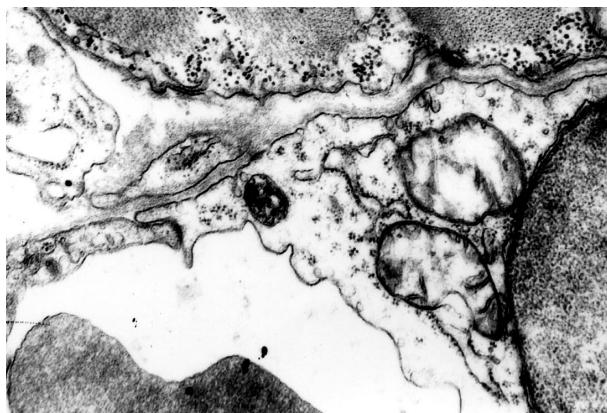


Рис. 4. Ультраструктура эндотелиальных клеток кровеносных капилляров миокарда 12 месячных крыс после РХВ и введения ЯСК КК. Деконденсация хроматина х 42 000. Контрастировано цитратом свинца.

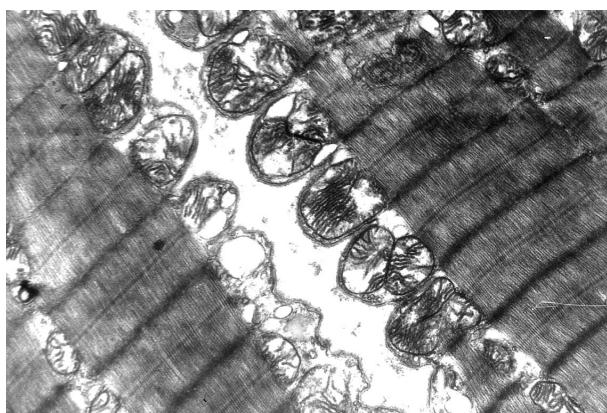


Рис. 5. Ультраструктура кардиомиоцитов миокарда 18 месячных крыс после РХВ и введения ЯСК КК. Участки просветления матрикса митохондрий, параллельная ориентация крист х 38 000. Контрастировано цитратом свинца.

КК субмікроскопіческе структурне кардиоміоцитів та ендотеліоцитів кровеносних капілярів характеризується активацією метаболіческих та синтетических процесів.

Ядра кардиоміоцитів містять деконденсований хроматин. В кариоплазмі присутствували осміофільні ядрышки. Ядерна мембрана гладка, перинуклеарні простори не розширяються.

Мітохондрії в кардиоміоцитах розташовані рівномірними рядами вздовж міофибріл. Наружні мембрани та кристали не містили очагів деструкції. Матрикс мітохондрій містив різну електронну густоту. Суттєво збільшилося кількість кристалів в мітохондріях порівняно з кардиоміоцитами інтактних 12-ти місячних мишей.

Цистерни саркоплазматичного ретікулума та Т-системи розширяються. В саркоплазмі виявляються численні рибосоми, полісоми та гранули гликогена (рис. 3).

Саркоплазма залишилася умерено просвітленою. Міофибріллі, зібраних у пучки, містили паралельну орієнтацію та чітку поперечну исчерченість.

В ультраструктурній перебудові ендотеліоцитів кровеносних капілярів миокарда міститься активація внутріклеточного метаболізму. Гіалоплазма отримала мелкозернисте структурне та середню електронну густоту. Ядра ендотеліальних клеток містять переважно деконденсований хроматин, гранули якого дифузно розподіляються по матриксу ядра. Ядерна мембрана формувала мінливі та глибокі инвагінації, без очагів розривання та лізуза (рис. 4).

Мітохондрії містять умерено просвітлений, мелкозернистий матрикс та незмінені кристали. Наружні мембрани та кристали містили типове структурне, зустрічалися мітохондрії гантеле-видної форми.

Обирає на себе увагу значний розмір рибосом, як пов'язаних з мембраними ендоплазматичного ретікулума, так і свободно лежащих в цитоплазмі. Пластинчатий цитоплазматичний комплекс Гольджі гіпертрофійний. В області його локалізації відсутні включення ліпідів та вторинні лізосоми. Розмірно збільшилась концентрація мікропіноцитозних пузырьків, локалізованих вздовж цитоплазматичної мембрани.

Через місяць після 9 сесій РХВ та введення криоконсервованого препарату ЯСК КК у 18-ти місячних мишей розвивалися репаративні процеси, міститься активація метаболізму в порівнянні з інтактними мишенями. Ядра кардиоміоцитів містять типову форму та розміри. Ядерна мембрана формувала численні глибокі та мінливі инвагінації. Замінено кількість конденсованого ядерного хроматина. В перинуклеарній області саркоплазми

МОРФОЛОГІЯ

появлялись многочисленные органеллы и мембранны саркоплазматического ретикулума.

Митохондрии обладали мелко гранулярным матриксом, средней электронной плотностью и достаточно большим количеством крист. Следует особо отметить, что в этой группе животных появлялись митохондрии с перетяжками имеющие «гантелеевидную» форму. Полиморфизм форм и размеров митохондрий сочетался с различной степенью осмифилии их матрикса, который имел участки с очень низкой электронной плотностью (рис. 5). Кристы митохондрий были параллельно ориентированы, а наружные мембранны чётко контурированы.

Цистерны саркоплазматического ретикулума и вакуоли Т-системы уплощались, содержимое их приобретало тонко филаментозное строение и различную электронную плотность.

В сравнении с группой интактных 18 месячных крыс в саркоплазме кардиомиоцитов существенно возрастила число рибосом, полисом и гранул гликогена. При этом в саркоплазме отсутствовали вторичные лизосомы и включения липидов, лиофусцина. Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи гипертрофировался, в области параллельно ориентированных гладких мембран обнаруживалось множество мелких везикул, заполненных веществом различной электронной плотности. Саркоплазматическая мембра имела типичное строение, характерное для элементарной мембранны.

В целом количество деструкций мембранных внутриклеточных комплексов и органелл кардиомиоцитов и эндотелиоцитов кровеносных капилляров в этой группе животных существенно уменьшалось, по сравнению с 18 месячными интактными крысами.

Наблюдалось нарастание активности внутриклеточных процессов и в эндотелиальных клетках кровеносных капилляров миокарда. Увеличивалось количество крист в митохондриях, гипертрофировался пластинчатый комплекс Гольджи, резко возрастило количество рибосом, полисом.

Цитоплазматическая мембра эндотелиоцитов приобретала типичное строение. В просвете капилляров располагались эритроциты и бесструктурный детрит различной электронной плотности. Цитоплазматическая мембра, обращённая к току крови, умеренно разрыхлялась (рис. 6).

В группе 24 месячных крыс на фоне РЭХВ и введения ЯСК КК в ультраструктурной организации кардиомиоцитов миокарда выявлялись как дистрофические, так и репаративные изменения органелл.

Ядерная мембра оставалась сильно разрыхлённой, однако не содержала очагов лизиса. Перинуклеарные пространства не равномерно расширялись. Снижалась степень конденсации ядерного хроматина. Осмиофильные глыбки конденсированного хроматина располагались как вблизи ядерной мембранны, так и в других отделах матрикса ядра. Центральная область ядра имела низкую электронную плотность и была заполнена гранулами деконденсированного хроматина.



Рис. 6. Ультраструктура эндотелиальных клеток кровеносных капилляров миокарда 18 месячных крыс после РЭХВ и введения ЯСК КК. Разрыхление цитоплазматической мембранны, эритроциты и детрит осмиофильной субстанции x 65 000. Контрастировано цитратом свинца.

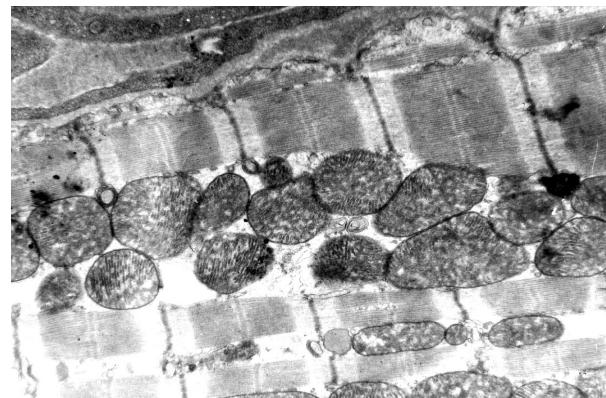


Рис. 7. Ультраструктура кардиомиоцитов миокарда 24 месячных крыс после РЭХВ и введения ЯСК КК. Множество крист в митохондриях x 36 000. Контрастировано цитратом свинца.

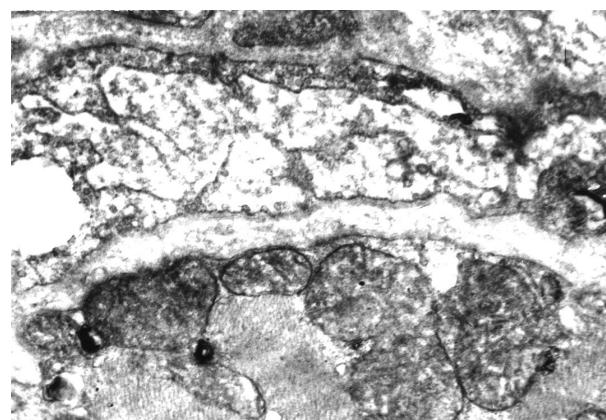


Рис. 8. Ультраструктура эндотелиальных клеток кровеносных капилляров миокарда 24 месячных крыс после РЭХВ и введения ЯСК КК. Множество микропиноцитозных пузырьков в цитоплазме x 68 000. Контрастировано цитратом свинца.

МОРФОЛОГІЯ

Саркоплазма кардиоміоцитів сохраняла низку електронну плотність, в ній суттєвоувеличилось кількість свободних рибосом, полісом і гранул глюкогену.

Частина мітохондрій містила мелко гранулярний матрикс з численними кристами і чітко контурованими наружними мембранами (рис. 7).

В інших мітохондріях виявлялась активізація системи репарації, що включає появлення делящихся форм мітохондрій. В деяких кардиоміоцитах мітохондрії розташувались в виде скоплень, кристи в них були паралельно орієнтовані і изогнуті.

В саркоплазмі кардиоміоцитів суттєвоувеличилось кількість глюкогену, рибосом і полісом. Наблюдалася гіпертрофія пластинчатого цитоплазматичного комплекса Гольдгі, виражавши в збільшенні навколо стопок гладких мембрани кількість малих везикул. Суттєвоувеличилось кількість включень ліпідів і ліпофусцину в саркоплазмі.

В цілому наблюдалось зниження кількості участков разривлення і очагів лізиса внутріклеточних мембрани кардиоміоцитів міокарда.

Ендотеліоцити кровеносних капіillaryв міокарда претерпівали суттєві, яскраво виражені репаративні зміни. Ядра ендотеліоцитів мали неправильну форму і звичайні розміри. Ядерна мембра образовувала велику кількість неглибоких інвагінацій. Перинуклеарні простори зберігали небольші участки розширення. Мітохондрії були набухлими, матрикс залишився низької електронної плотності. Наружні мембрани мітохондрій практично не містили очагів лізиса. Велика кількість мітохондрій мали гантеле-видну форму і перетяжки.

Гранулярний ендоплазматичний ретікулум у значительного кількості ендотеліальних клеток підвергався гіпертрофії, на його мембрани виявлялись численні рибосоми. Пластинчатий цитоплазматичний комплекс Гольдгі гіпертрофіювався. У більшості ендотеліоцитів виявлялися включення ліпідів

і вторичні лізосоми. В цитоплазмі отростків ендотеліальних клеток зростало кількість мікропиноцитозних пузырьків, в порівнянні з групою інтактних крыс 24-ти місячного віку (рис. 8). В просвіті капіillaryя находилися скоплення речовин різної електронної плотності.

Выводы.

1. В групі 6 і 12-ти місячних крыс на фоні РЭХВ і введення криоконсервованого препарату ЯСК КК дистрофіческі зміни в субмікроскопіческій організації кардиоміоцитів і ендотеліоцитів кровеносних капіillaryв міокарда відсутні. В мітохондріях кардиоміоцитів зростало кількість крист, а в препаратах виявлялись делящися форми, що дозволяє предположити про зростання біоенергетичного забезпечення внутріклеточних метаболіческих процесів. Збільшення кількості рибосом, полісом і гранул глюкогену в саркоплазмі свідчить про високий рівень сократитичної здатності кардиоміоцитів.

2. Після 9 сеансів РЭХВ і введення ЯСК КК в ультраструктурі кардиоміоцитів і ендотеліальних клеток міокарда 18-ти місячних крыс відмічалось відсутність в цитоплазмі вторичних лізосом і включень ліпідів. Уменьшалася ступінь набухання мітохондрій, практично повністю відсутні очаги деструкції наружних мембрани і крист.

3. У 24-ти місячних крыс сочтанне використання РЭХВ і ЯСК КК суттєвоувеличилось ступінь вираженості дистрофіческих і деструктивних змін кардиоміоцитів і ендотеліоцитів кровеносних капіillaryв по порівнянню з групою контрольних животних. Зростає кількість рибосом, полісом і гранул глюкогену, що свідчить про покращення сократитичної здатності сердечних мышць.

Перспективи дальнейших исследований.

В дальнейшем представляє інтерес проведення експериментальних досліджень по дослідженням сочтанного впливу ритмічних екстремальних холодових здійснень (-120°C) і криоконсервованої крдової крові на субмікроскопіческую організацію кардиоміоцитів і ендотеліоцитів кровеносних капіillaryв міокарда крыс в динаміці їх старіння при наявності патологіческих станів.

Література

1. Анисимов В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения: в 2т. / В. Н. Анисимов – 2-е издание. – СПб.: Наука, 2008. – Т. 1. – 481 с.
2. Бабийчук Л. В. Динамика ультраструктурних перестроек кардиоміоцитів міокарда старих крыс з неврогенною артеріальною гіпертензією після введення криоконсервованих гемопоетических стволових клеток крдової крові / Л. В. Бабийчук, В. Г. Бабийчук, В. П. Невзоров, О. Ф. Невзорова // Харківська хірургічна школа. – 2012. – №4 (55). – С. 47-52.
3. Бабийчук Л. В. Динамика ультраструктурных перестроек органелл кардиоміоцитів міокарда молодих крыс в процесі розвиття і прогресування неврогенної артеріальної гіпертензії / Л. В. Бабийчук, В. П. Невзоров, О. Ф. Невзорова, В. Г. Бабийчук // Харківська хірургічна школа. – 2012. – №5 (56). – С. 24-29.
4. Hematological profile and martial status in rugby players during whole body cryostimulation / G. Lombardi, P. Lanteri, S. Porcelli, [et al.] // PLoS ONE. – 2013. – Vol. 8. – 6 p. – Mode access to the journal: doi:10.1371/journal.pone.0055803.
5. Kendall K. L. Women and exercise in aging / K. L. Kendall, C. M. Fairman // Journal of Sport and Health Science. – 2014. – Vol. 3. – P. 170-178.

МОРФОЛОГІЯ

6. Kolling Th. Late life human development: boosting or buffering universal biological aging / Thorsten Kolling, Monika Knop // GeroPsych. – 2014. – Vol. 27 (3). – P. 103-108.
7. Pelosi E. Human umbilical cord is a unique and safe source of various types of stem cells suitable for treatment of hematological diseases and for regenerative medicine / E. Pelosi, G. Castelli, U. Testa // Blood Cells, Molecules, and Diseases. – 2012. – Vol. 49. – P. 20-28.
8. Primary prevention of coronary heart disease in women through diet and lifestyle / M. J. Stampfer, F. B. Hu, J. E. Manson [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2000. – Vol. 343. – P. 16-22.
9. Shioigai Y. Nonlinear dynamics of cardiovascular ageing / Y. Shioigai, A. Stefanovska, P. V. E. McClintock // Physics Reports. – 2000. – Vol. 488. – P. 51-110.
10. White G. E. Cold-water immersion and other forms of cryotherapy: physiological changes potentially affecting recovery from high-intensity exercise [Electronic source] / G. E White, G. D Wells // Extreme Physiology & Medicine. – 2013. – 2:26. – 11p. – Mode access to the journal: <http://www.extremephysiolmed.com/content/2/1/26>.

УДК 616. 127-056. 5-092. 4:612. 649. 011. 87+612. 592

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН УЛЬТРАСТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ КАРДІОМІОЦІТІВ ТА ЕНДОТЕЛІОЦІТІВ КРОВОНОСНИХ КАПІЛЯРІВ МІОКАРДА ЩУРІВ У ДИНАМІЦІ СТАРІННЯ ПІСЛЯ СУМІСНОГО ЗАСТОСУВАННЯ КОРДОВОЇ КРОВІ ТА ЕКСТРЕМАЛЬНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ (-120°C)

Мартинова Ю. В., Невзоров В. П., Бабійчук В. Г., Чернявська О. А., Кулик В. В.

Резюме. Електронно-мікроскопічні дослідження кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда щурів в динаміці їх старіння показали, що на тлі сумісного застосування екстремального охолодження (-120°C) і введення кріоконсервованого препарату ядрові місця клітин кордової крові у 6 і 12 місячних щурів в мітохондріях кардіоміоцитів збільшувалася кількість кристалів, що свідчить про зростання біоенергетичного забезпечення внутрішньоклітинних метаболічних процесів. У групі 18 і 24 місячних тварин у ультраструктурі кардіоміоцитів і ендотеліальних клітин міокарда зазначалася відсутність в цитоплазмі вторинних лізосом і включені ліпідів. Зростала кількість рибосом, полісом і гранул глікогену. Дані зміни субмікроскопічної архітектоніки свідчать про поліпшення скорочувальної здатності міокарда.

Ключові слова: ритмічні екстремальні холодові впливи, ядрові місця клітини кордової крові, ультраструктура кардіоміоцитів, мітохондрії, ендотеліоцити.

УДК 616. 127-056. 5-092. 4:612. 649. 011. 87+612. 592

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ КАРДИОМИОЦИТОВ И ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ КРОВЕНОСНЫХ КАПИЛЯРОВ МИОКАРДА КРЫС В ДИНАМИКЕ СТАРЕНИЯ ПОСЛЕ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ КОРДОВОЙ КРОВИ И ЭКСТРЕМАЛЬНОГО ОХЛАЖДЕНИЯ (-120°C).

Мартынова Ю. В., Невзоров В. П., Бабийчук В. Г., Чернявская Е. А., Кулик В. В.

Резюме. Электронно-микроскопические исследования кардиомиоцитов и эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда крыс в динамике их старения показали, что на фоне сочетанного применения экстремального охлаждения (-120°C) и введения криоконсервированного препарата ядросодержащих клеток кордовой крови у 6 и 12 месячных крыс в митохондриях кардиомиоцитов увеличивалось количество кристаллов, что свидетельствует о возрастании биоэнергетического обеспечения внутриклеточных метаболических процессов. В группе 18 и 24 месячных животных в ультраструктуре кардиомиоцитов и эндотелиальных клеток миокарда отмечалось отсутствие в цитоплазме вторичных лизосом и включений липидов. Возрастало количество рибосом, полисом и гранул гликогена. Данные изменения субмикроскопической архитектоники свидетельствуют об улучшении сократительной способности миокарда.

Ключевые слова: ритмические экстремальные холодовые воздействия, ядросодержащие клетки кордовой крови, ультраструктура кардиомиоцитов, митохондрии, эндотелиоциты.

UDC 616. 127-056. 5-092. 4:612. 649. 011. 87+612. 592

Features of Changes of Ultrastructure Organization of Myocardium Cardiomyocytes and Myocardium Blood Capillaries Endotheliocytes in Dynamics of Aging in Rats after Combined Application of Cord Blood and Extreme Cooling

Martynova Yu. V., Nevzorov V. P., Babiychuk V. G., Chernyavskaya E. A., Kulik V. V.

Abstract. The number of studies devoted to the studying of physiological aspects of aging has currently increased. Functionality of various body systems, including the cardiovascular one, reduces with age. Pathologies of cardiovascular system are accompanied by ultrastructural changes of its components. Stem cells from different sources cause the considerable interest in gerontological and geriatric researches, due to their ability to repair and rejuvenate a body not only by replacement of recipients' damaged cells, but also by activation of their own stem cells in the aging body. Application of whole extreme cooling is used worldwide, and amount of positive effects evidence of this non-invasive physical therapy procedure increases.

МОРФОЛОГІЯ

The research purpose was to study the dynamics of changes in the submicroscopic organization of rat's cardiomyocytes and myocardium blood capillaries endothelial cells during aging on the background of the combined use of cord blood nucleated cells preparation (CB NCs) and rhythmic extreme (-120 °C) cold exposures (RECEs).

Subjects and methods. Studies were performed in Albino male rats in the dynamics of aging on the background of combined application of RECEs and administration of CB NCs from the 6 months age. There were studied 4 experimental animals groups of different ages: 6, 12, 18 and 24 months. RECEs were carried out in cryochamber for cooling of experimental animals. Each age group of rats was 9 times cooled (three times a day) for 2 minutes (at -120°C), 3 times every other day for 5 days. Thawed cryopreserved preparation of CB NCs was injected in the dose $14 \cdot 10^5$ of hematopoietic stem cells CD34 + cells per kilogram of a body weight. Repeated sessions of cooling and administering the preparation of CB NCs were done every six months (up to 24 months age). The animals were removed from the experiment by decapitation every 6 months (6, 12, 18 and 24 months.) and we were taking the pieces of myocardium tissue for electron microscopic examination.

Results and discussion. Carried out electron-microscopic study of the dynamics of submicroscopic transformations organelles of the rats' cardiomyocytes and myocardium capillaries endothelial cells in the dynamics of their aging showed that the feature of the cardiomyocytes' ultrastructural organization of 6 and 12 months old rats on the background application of RECEs and introduction of cryopreserved preparation CB NCs was the absence of degenerative changes. The number of cristae in the cardiomyocytes' mitochondria was increased and we noted the presence of mitochondrial fissile forms in the preparations, suggesting an increase of bioenergy provision of intracellular metabolic processes. The increase of the number of ribosomes, polysomes and glycogen granules in the sarcoplasm indicated a high level of cardiomyocytes' contractile opportunities.

In a month after 9 sessions RECEs and administration of CB NCs we noted the absence of secondary lysosomes in the cytoplasm and lipid inclusions in the ultrastructure of cardiomyocytes and myocardium endothelial cells of the 18 months old rats. The degree of mitochondria swelling was reduced, foci of destruction of outer membrane and cristae were almost completely absent.

Combined use of CB NCs and RECEs in the 24 months old rats significantly reduced the severity of dystrophic and destructive disorders of cardiomyocytes and blood capillaries endothelial cells compared with the group of control animals.

Keywords: rhythmic extreme cold exposures, cord blood nucleated cells, ultrastructure of cardiomyocytes, mitochondria, endothelial cells.

Рецензент – проф. Юрченко Т. М.

Стаття надійшла 26. 01. 2015 р.