

ВЛИЯНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ ЯДРОСОДЕРЖАЩИХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ НА СОСТОЯНИЕ ГОМЕОСТАЗА У ЖИВОТНЫХ РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП ПРИ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Л.В. Бабийчук¹, В.Г. Бабийчук¹, Л.А. Сиротенко², Н.Г. Малова², С.Н. Коваль³

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков, Украина

²Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины, Харьков, Украина

³Национальный институт терапии имени Л.Т. Малой НАМН Украины, Харьков, Украина

Effect of cryopreserved nucleated cord blood cells on homeostasis state in animals of different age groups under stress-induced arterial hypertension

L.V. Babiychuk¹, V.G. Babiychuk¹, L.A. Sirotenko², N.G. Malova², S.N. Koval³

¹Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NAS of Ukraine, Kharkov, Ukraine

²V.Ya. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology of the NAS of Ukraine, Kharkov, Ukraine

³L.T. Malaya National Institute of Therapy of the NAS of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Артериальная гипертензия (АГ) по своей распространенности, влиянию на качество жизни и вклад в смертность населения может быть в полной мере отнесена к числу социально значимых патологий. В настоящий момент накоплено большое количество данных, свидетельствующих о положительном терапевтическом влиянии клеточных препаратов, полученных из пуповинной крови, как на разные органы и системы, так и на организм в целом. Целью данной работы являлось изучение динамики изменений показателей спектрального анализа вариабельности сердечного ритма (ВСР) и липидного гомеостаза в сыворотке крови животных различных возрастных групп при неврогенной стресс-индуцированной АГ до и после введения криоконсервированного препарата ядродержащих клеток пуповинной крови (ЯСК ПК). Установлено, что неврогенная стресс-индуцированная АГ, вызванная эмоционально-болевым стрессом, сопровождается значительным снижением всех исследуемых параметров ВСР, а также нарушениями липидного состава сыворотки крови крыс независимо от их возраста. Наблюдалось уменьшение активности вегетативной регуляции сердечного ритма, а также имела место тенденция к снижению гуморально-метаболических влияний. Было показано, что введение криоконсервированного препарата ЯСК ПК приводит к повышению тонуса симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы, а также гуморального звена регуляции, что свидетельствует о наличии у экспериментальных животных развитой сбалансированной вегетативной регуляции. Кроме того, применение препарата нивелировало состояние показателей липидного профиля, которые наблюдались на фоне стресс-индуцированной АГ, а сам препарат обладал антиатерогенным действием и был способен существенно улучшать реологические свойства крови.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, вариабельность сердечного ритма, вегетативная нервная система, ядродержащие клетки пуповинной крови, липидный гомеостаз.

Введение

Артериальная гипертензия (АГ) — одно из широко распространенных, клинически и социально значимых заболеваний в мире, которое особенно часто встречается в пожилом возрасте [1]. АГ представляет собой хроническое патологическое состояние, приводящее к таким поражениям сердечно-сосудистой системы, как инфаркт миокарда, инсульт, аневризмы крупных артерий, сердечная и почечная недостаточность, микроваскулярные нарушения.

Прогноз больных АГ в значительной степени определяется наличием дополнительных факторов

Артериальная гипертензия (АГ) might be entirely referred to the socially important pathologies by its prevalence, impact on quality of life and contribution to mortality rate. Nowadays there is accumulated a great number of data testifying to a positive therapeutic effect of cord blood-derived preparations on both different organs and systems, and the whole body as well. This research was aimed to study the dynamics of changes in the indices of heart rate variability (HRV) spectral analysis and lipid homeostasis in blood serum of animals from different age groups under neurogenic stress-induced AH prior to and after administering cryopreserved preparation of cord blood nucleated cells (CB NCs). Neurogenic stress-induced AH caused by emotional and painful stresses was established to be accompanied by a significant decrease in all the studied HRV parameters, as well as disorders in lipid composition of blood serum in rats irrespective of their age. There was observed a decreased activity of autonomic regulation of cardiac rhythm, as well as the tendency to reduction of humoral and metabolic effects. Administration of CB NCs cryopreserved preparation was shown to result in an increased tonus of sympathetic and parasympathetic divisions of autonomic nervous system, as well as humoral link of regulation, that testified to the presence in experimental animals of developed balanced autonomic regulation. In addition the application of CB NCs preparation leveled the state of lipid profile indices, observed at the background of stress-induced AH, and the preparation itself had an antiatherogenic effect and might significantly improve blood rheology.

Keywords: arterial hypertension, heart rate variability, autonomic nervous system, cord blood nucleated cells, lipid homeostasis.

риска, среди которых большую роль играет дислипидемия. Согласно статистике нарушения липидного обмена встречаются у 40–85% больных АГ [2, 3]. При сочетании АГ и дислипидемии риск развития ишемической болезни сердца увеличивается в 8 раз, а риск внезапной сердечной смерти — в 10 раз [4]. Установлена прямая связь между уровнем общего холестерина и смертностью от сердечно-сосудистой патологии у больных АГ [5]. Не вызывает сомнения наличие тесной взаимосвязи между метаболическими нарушениями и кардиоваскулярными заболеваниями [6, 7].

При АГ возникают выраженные изменения вариабельности сердечного ритма (ВСР), связанные с нарушениями вегетативной регуляции сердечно-сосудистой системы. Система кровообращения может рассматриваться как чувствительный индикатор адаптационных реакций организма в целом [8], а ВСР хорошо отражает степень напряжения регуляторных систем, обусловленного возникающей в ответ на любое стрессорное воздействие активацией системы «гипофиз-надпочечники» и реакцией симпатoadреналовой системы [9].

Изучению ВСР при АГ посвящено множество работ [10, 11]. У пациентов с АГ отмечается повышение симпатического тонуса и снижение парасимпатического, что рассматривается в качестве одного из ключевых механизмов формирования и становления как пограничной, так и стабильной АГ.

Успешное развитие клеточных технологий является чрезвычайно перспективным для создания эффективных терапевтических средств [12]. Однако необходимо учитывать, что пролиферативная активность и высокий дифференцировочный потенциал стволовых и прогениторных клеток уменьшаются с возрастом [13]. В связи с этим, использование пуповинной крови (ПК) как источника различных популяций «молодых» клеток разрабатывается для лечения более 70 заболеваний [14]. Научные исследования последних лет подтверждают значительный потенциал применения в медицине ПК, содержащей гемопоэтические стволовые клетки (ГСК). В клинической практике накоплено значительное количество данных о положительном влиянии клеточных препаратов, полученных из ПК, как на разные органы, системы, так и на организм в целом. Благодаря своему биологическому составу она является уникальной «субстанцией» с разнонаправленной биологической активностью [14].

Установлено, что ГСК ПК характеризуются мультипотентностью, дают начало предшественникам лимфоидного и миелоидного рядов, которые способны образовывать форменные элементы крови, ряд специализированных клеток иммунной системы. ГСК ПК обладают более высоким пролиферативным потенциалом в сравнении с клетками костного мозга взрослого человека. В организме реципиента ГСК могут делиться, продуцировать биологически активные вещества, дифференцироваться, что позволяет в короткие сроки восстанавливать функцию поврежденного органа или ткани.

Учитывая небольшие объемы забранной после рождения ребенка ПК (в среднем, не более 100 мл), важным является как наиболее полное выделение ядросодержащих клеток (ЯСК) (в том числе ГСК) из нее, так и разработка технологии криоконсервирования ПК с сохранением ее структурно-функциональной полноценности. Всем этим требованиям отвечает разработанная в ИПК и К НАН Украины технология выделения и криоконсервирования ядросодержащих клеток ПК, позволяющая сохранять до 85% CD45⁺-клеток и до 98% CD34⁺-клеток в жизнеспособном состоянии [15, 16].

В связи с уникальной способностью ПК (в частности ее ГСК) к поддержанию гомеостаза в организме, целью данного исследования было изучение особенностей состояния вегетативной и гуморальной регуляции сердечного ритма, а также липидного гомеостаза в сыворотке крови животных различных возрастных групп при неврогенной стресс-индуцированной АГ до

и после введения криоконсервированного препарата ЯСК ПК.

Материал и методы

Исследование проводили на белых молодых (6-месячных) и старых (28–30-месячных) нелинейных крысах-самцах. Все манипуляции с лабораторными животными выполнялись 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, 1986).

Каждая возрастная группа животных была разделена на 3 подгруппы (по 7 крыс в каждой):

- подгруппа 1 — 6- и 28–30-месячные интактные крысы;

- подгруппа 2 — 6- и 28–30-месячные крысы с неврогенной стресс-индуцированной АГ;

- подгруппа 3 — 6- и 28–30-месячные животные с АГ после введения криоконсервированного препарата ЯСК ПК.

Неврогенную стресс-индуцированную АГ моделировали по запатентованному методу Л.В. Бабійчук и соавт. (2011) [17] до получения стойких повышенных цифр артериального давления (АД): у старых животных — $179,25 \pm 2,29/95,42 \pm 2,08$ мм рт. ст., (при норме — $103,92 \pm 2,96/74,42 \pm 2,44$ мм рт. ст.), у молодых — $161,98 \pm 5,47/80,1 \pm 2,12$ мм рт. ст. (при норме — $99,72 \pm 3,57/69,15 \pm 1,06$ мм рт. ст.) путем комплексного периодического воздействия на организм животных различными видами раздражителей: светового, звукового, электрического. АГ контролировали по стабильно высокому, по сравнению с контрольными животными, уровню АД, которое измеряли непрямой методом по принципу медицинской тонометрии с применением электрокардиографа «Поли-Спектр» (Нейрософт, Россия), используя специальные прижимные манжеты и датчики пульса кровеносных сосудов хвоста животного.

Животным со стресс-индуцированной АГ вводили криоконсервированный препарат ПК [15, 16]. ПК получали во время родоразрешения путем естественных родов или операции кесарева сечения. Все доноры подписывали добровольное информированное согласие и проходили тщательный дородовой скрининг на наличие противопоказаний к донорству.

После забора ПК производили выделение ЯСК ПК, включающих в себя стволовые гемопоэтические CD 34⁺-клетки. С целью уменьшения общего объема крови и удаления эритроцитов был использован метод седиментации в растворе декстрана Д-60 [15]. После этого выделенные клетки в аутоплазме замораживали по разработанному нами методу с использованием криопротектора ДМСО в конечной концентрации 5% [16]. Замораживание клеток проводили на программном замораживателе (Cryoson, Германия) по четырехэтапной программе с использованием медленных скоростей охлаждения и временной экспозиции при субнулевых температурах. На длительное хранение препараты закладывали в криобанк при температуре -196°C. Перед использованием криоконсервированные препараты ЯСК ПК размораживали при температуре 37–40°C на водяной термостатируемой бане.

Фенотип клеток CD45⁺, CD45⁺CD34⁺, а также их жизнеспособность (CD45⁺7AAD⁻, CD34⁺7AAD⁻) определяли методом проточной цитофлуориметрии (FACS Calibur, Becton Dickinson, США) с использованием реагентов BD по ISHAGE протоколу фирмы-производителя.

Вводимый после криоконсервации препарат представлял собой взвесь ЯСК ПК в аутоплазме человека с концентрацией стволовых CD34⁺-клеток $2-4 \times 10^5$ в 1 мл. Размороженный препарат вводили внутривенно, однократно в дозе 1×10^5 CD34⁺ клеток на килограмм массы на 7-е сут. после развития АГ. Животных выводили из эксперимента путем декапитации на 3, 7 и 30-е сутки после введения препарата ЯСК ПК. Перед выведением у животных регистрировали электрокардиограмму на электрокардиографе серии «Поли-Спектр» (Нейро-Софт, Россия) в шести стандартных отведениях. Длительность записи составляла 5 мин. Спектральный анализ ВСР проводили с помощью программы «Поли-Спектр-Ритм» (Нейро-Софт, Россия). Согласно основной системе спектрального анализа ВСР у крыс [18, 19], нами были выделены и проанализированы следующие показатели:

- TP (мс²) — полная мощность спектра колебаний кардиоритма;
- HF (мс²) — мощность высокочастотных колебаний в диапазоне (1–3 Гц);
- LF (мс²) — мощность низкочастотных колебаний в диапазоне (0,04–1 Гц);
- VLF (мс²) — мощность спектра кардиоритма в области очень низких частот (0–0,04 Гц).

Для оценки липидного профиля крови крыс со стресс-индуцированной АГ до и после введения ЯСК ПК определяли уровень общего холестерина (ОХ), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХСЛПВП), холестерина липопротеинов низкой плотности (ХСЛПНП), холестерина липопротеинов очень низкой плотности (ХСЛПОНП) и коэффициент атерогенности (КА). Уровень ОХ, ТГ, ХСЛПВП в сыворотке крови определяли при помощи стандартных коммерческих наборов (DAC-SpectoMed, Молдова) по прилагаемой фирмой производителем методике. Измерение оптической плотности выполняли на биохимическом анализаторе Stat Fax 1904 plus (США). Содержание ХСЛПОНП, ХСЛПНП и (КА) рассчитывали по формулам Фридвальда [20]:

$$KA(\text{усл.ед.}) = (OX - \text{ХСЛПВП})/\text{ХСЛПВП};$$

$$\text{ХСЛПОНП} = \text{ТГ}/2,2;$$

$$\text{ХСЛПНП} = OX - (\text{ХСЛПВП} + \text{ХСЛПОНП}).$$

Данные представлены как среднее значение и стандартная ошибка среднего значения. При статистической обработке данных проверяли характер распределения цифрового материала в выборках с помощью критерия Шапиро — Уилка. В основном данные соответствовали закону нормального распределения. Равенство дисперсий в группах проверяли с помощью критерия Фишера. Сравнение средних арифметических значений проводили с помощью t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ [21, 22].

Результаты и обсуждение

Ведущая роль в развитии АГ и нарушений углеводного и липидного обмена принадлежит нарушениям взаимосвязей в системе регуляции энергетического

гомеостаза, где центральным интегрирующим органом является гипоталамус и подкорковые центры, а одним из основных эффекторных звеньев — вегетативная нервная система (ВНС).

Важнейшей функцией ВНС является ее способность управлять энергетическими и метаболическими процессами в организме, осуществлять мобилизацию адапционных резервов и функциональных возможностей при стрессорных воздействиях. Механизмы вегетативной регуляции играют ведущую роль в развитии адаптивных реакций организма, а также в сохранении гомеостаза его основных систем. Спектральный анализ ВСР позволяет выделить диапазоны частот, отражающих активность разных уровней системы управления сердечным ритмом. Вагусную активность отражает высокочастотный компонент (HF) спектра ВСР. Низкочастотный компонент (LF) характеризует активацию вазомоторного центра продолговатого мозга. Очень низкочастотные волны (VLF) тесно связаны с психоэмоциональным напряжением и являются индикатором управления гуморально-метаболическими процессами. Суммарная мощность спектра нейрогуморальной регуляции (TP) — один из наиболее информативных показателей, который используется при анализе функциональной адаптации сердечно-сосудистой системы в ответ на действие стрессов различного генеза [18].

Было установлено, что у молодых крыс со стресс-индуцированной АГ значения общей спектральной мощности нейрогуморальной регуляции существенно снижались по сравнению с контрольными животными без гипертензии (рис. 1). Данные изменения были четко выражены как через 3 и 7 сут. от начала моделирования АГ, так и спустя 7 сут. и 1 мес. после развития данного патологического состояния. В вышеуказанные сроки отмечалось значительное уменьшение активности вегетативной регуляции сердечного ритма, а также наблюдалась тенденция к снижению гуморально-метаболических влияний. На спектрограмме это подтверждалось уменьшением удельного веса высоко-, низко- и очень низкочастотных волн (HF, LF, VLF-компонент). Через 1 мес. после развития стойкой АГ показатели TP возрастали по отношению к предыдущим срокам, однако оставались значительно ниже контрольных.

Представленные результаты исследования показателей спектрального анализа ВСР у молодых крыс в динамике позволяют предположить, что психоэмоциональное напряжение, вызванное эмоционально-болевым стрессом на раннем этапе может проявляться избыточным тонусом симпатико-адреналовой системы. По мере ее истощения, а также развития и прогрессирования АГ вегетативное обеспечение сердечной деятельности все в большей степени осуществляется за счет перехода регуляции на медленный, но более стабильный гуморально-метаболический уровень. Кроме того, полученные нами экспериментальные данные согласуются с литературными [23, 24], свидетельствующими о том, что АГ эссенциального генеза (в том числе невrogenная), в отличие от симптоматической, приводит к значительному снижению исследуемых параметров ВСР.

Уже через 3 сут. после введения молодым животным с АГ криоконсервированного препарата ЯСК ПК отмечалось увеличение общей спектральной мощности до контрольных значений. (рис. 1) Ее рост был результатом повышения тонуса симпатического и парасимпатического отдела ВНС на фоне практически

не меняющейся активности гуморальной регуляции. Аналогичные показатели ТР имели место через 1 и 2 нед. после введения ЯСК ПК, однако отмечалось увеличение гуморально-метаболических влияний на сердечный ритм.

В отдаленные сроки наблюдения у молодых крыс с АГ (3 нед. и 1 мес. после введения ЯСК ПК) уровень общей мощности спектра нейрогуморальной регуляции существенно возрастал не только относительно предыдущих этапов экспериментального исследования, но и по отношению к показателям контроля. По нашему мнению, благоприятным является тот факт, что подъем спектральной мощности, был результатом активации деятельности как вегетативных центров, так и гуморального звена регуляции. Полученные данные, такие как высокий уровень вагальных, симпатических влияний в модуляции сердечного ритма на фоне введения криоконсервированного препарата ЯСК ПК, свидетельствуют о наличии у молодых крыс с АГ развитой сбалансированной вегетативной регуляции.

Проведенный спектральный анализ ВСР у старых крыс контрольных групп показал, что показатели ТР у них были ниже чем у молодых (рис. 2). Через 3 сут. после начала моделирования АГ достоверных отличий в ее значениях, по отношению к контролю, отмечено не было. Однако спустя 1 нед. от начала эксперимента, а также через 3, 7 сут. и 1 мес. после развития стойкой гипертензии уровень общей спектральной мощности нейрогуморальной регуляции уменьшался относительно интактных старых животных. Имело место снижение симпатической и гуморально-метаболической регуляции, соответственно

(уменьшался удельный вес LF и VLF волн). Резкое падение тонуса парасимпатического отдела ВНС у животных данной возрастной группы наблюдалось лишь через 7 сут. от начала моделирования стресс-индуцированной АГ.

Анализ волновой структуры сердечного ритма у старых крыс с АГ на фоне введения криоконсервированного препарата ЯСК ПК продемонстрировал существенный рост ТР благодаря синхронной активации всех регуляторных звеньев организма экспериментальных животных. В структуре спектра в большей степени превалировал тонус симпатического и парасимпатического отделов ВНС, а также прослеживалась динамика увеличения гуморально-метаболических влияний. Данные изменения были ярко выражены как через 3 и 7 сут. после введения ЯСК ПК, так и в отдаленные сроки (через 2, 3 нед. и 1 мес. после введения).

Таким образом, у старых животных нами отмечена аналогичная динамика изменения основных показателей спектрального анализа ВСР, как и у молодых. Развитие патологического состояния сопровождалось резким снижением всех исследуемых параметров ВСР, а введение препарата ЯСК ПК приводило к активации ВНС и гуморального звена регуляции. Данные изменения являются физиологически значимыми, поскольку гомеостатические свойства целостного организма являются результатом одновременного действия многих сложно организованных регуляторных механизмов, среди которых одно из важных мест занимает вегетативная регуляция, обеспечивающая постоянство уровней обмена веществ и энергии в организме, отдельных органах и тканях.

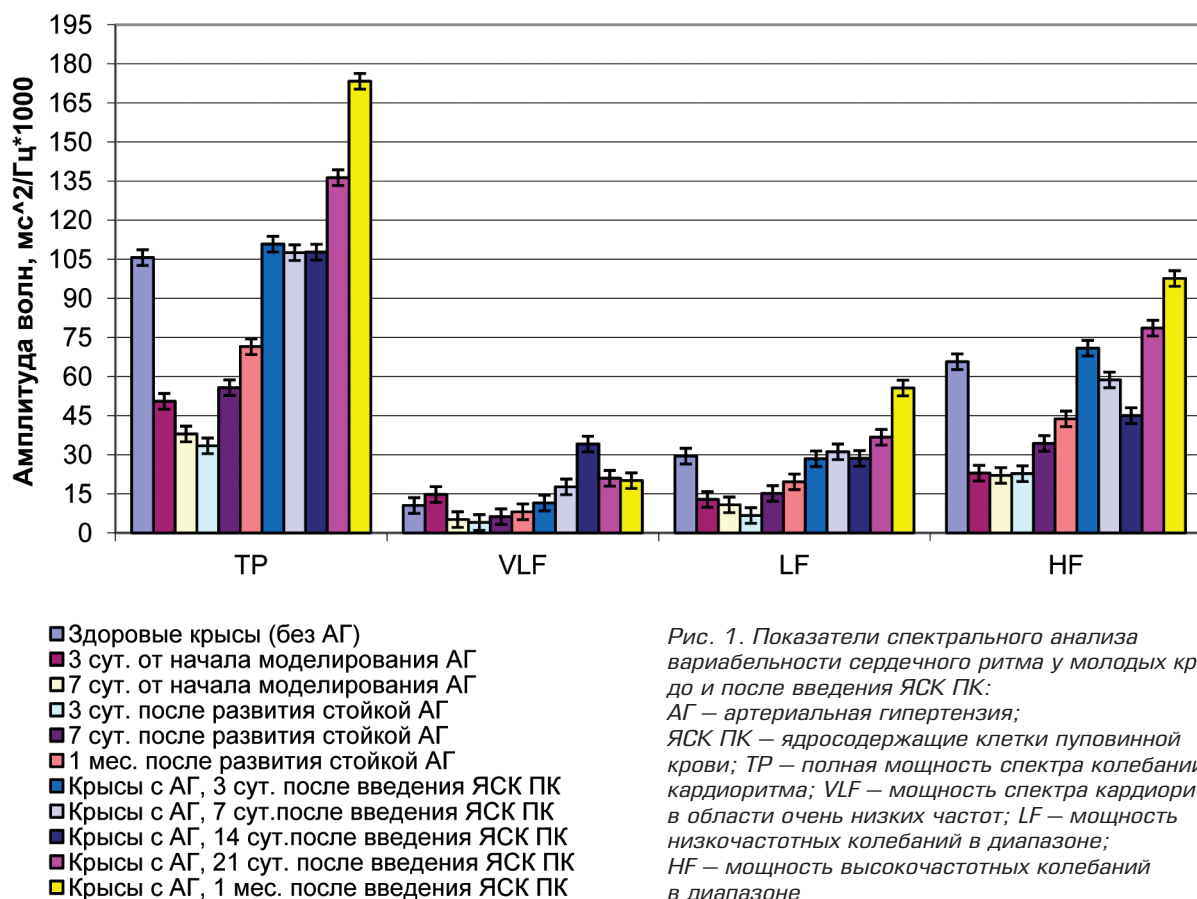


Рис. 1. Показатели спектрального анализа variability сердечного ритма у молодых крыс до и после введения ЯСК ПК: АГ — артериальная гипертензия; ЯСК ПК — ядросодержащие клетки пуповинной крови; ТР — полная мощность спектра колебаний кардиоритма; VLF — мощность спектра кардиоритма в области очень низких частот; LF — мощность низкочастотных колебаний в диапазоне; HF — мощность высокочастотных колебаний в диапазоне

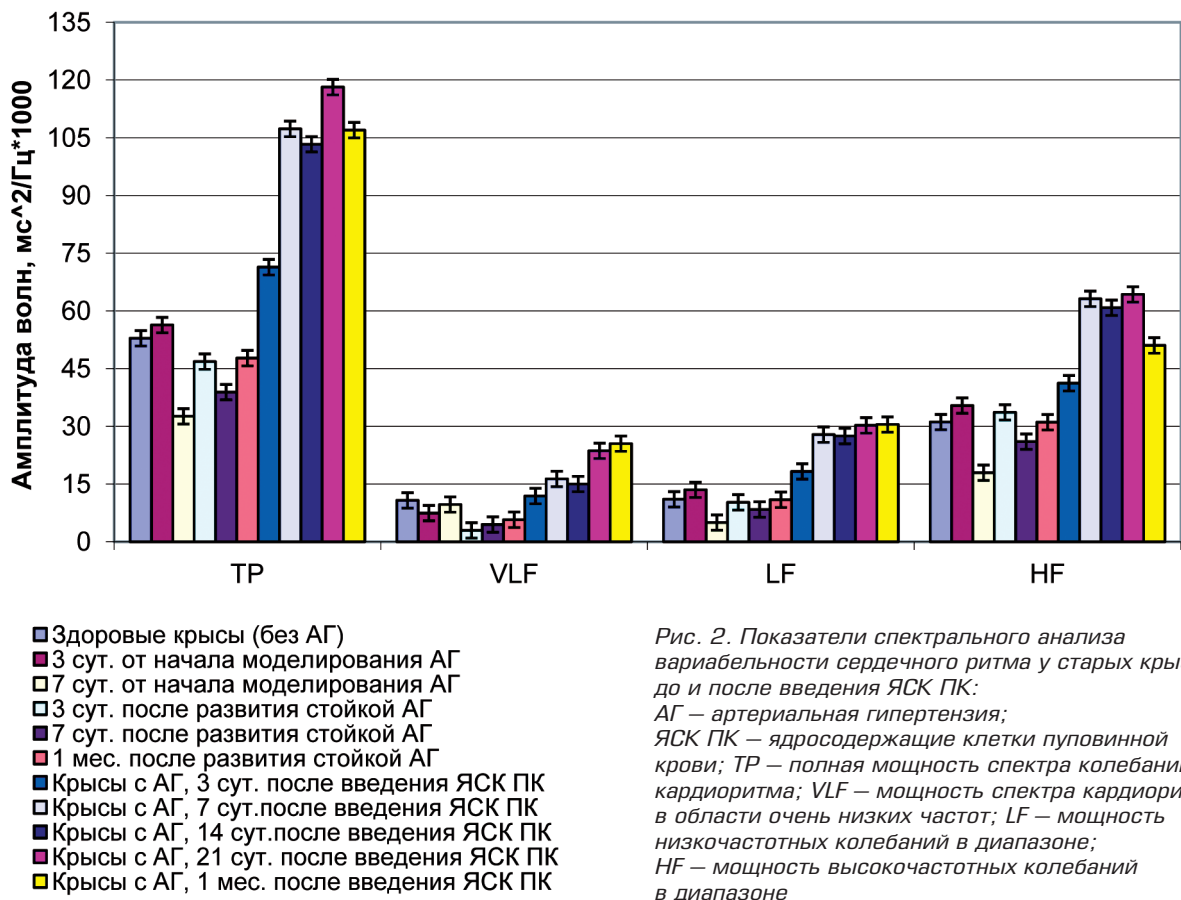


Рис. 2. Показатели спектрального анализа
вариабельности сердечного ритма у старых крыс
до и после введения ЯСК ПК:
АГ – артериальная гипертензия;
ЯСК ПК – ядродержащие клетки пуповинной
крови; TP – полная мощность спектра колебаний
кардиоритма; VLF – мощность спектра кардиоритма
в области очень низких частот; LF – мощность
низкочастотных колебаний в диапазоне;
HF – мощность высокочастотных колебаний
в диапазоне

Как отмечалось, тяжесть течения АГ тесно связа-
на с наличием дополнительных факторов риска, од-
ним из которых является дислипидемия. У больных
с АГ дислипидемия проявляется повышением уровня
холестерина ЛПОНП и снижением уровня холесте-
рина ЛПВП. Содержание холестерина ЛПНП обычно
остается в пределах нормы или слегка повышенным
[3]. Однако даже незначительное повышение концен-
трации фракции ХСЛПНП, является фактором для
атерогенного процесса и увеличивает риск развития
сердечно-сосудистых осложнений у больных с АГ [5].

На 3 сут. после развития стресс-индуцированной
АГ у старых животных отмечались достоверные
изменения липидного состава сыворотки кро-
ви (табл. 1). Наблюдалось повышение уровня ТГ,
ХСЛПОНП и ХСЛПНП, что может указывать на акти-
вацию энергетического обеспечения организма при
стрессе. Также имело место достоверное повыше-
ние ОХ. Такие изменения липидного состава крови в
состоянии стресса вполне объяснимы [5]. Уровень
ХСЛПВП был достоверно ниже, чем у интактных
животных. Эта фракция липидов крови отвечает

Таблица 1. Липидный профиль старых крыс с АГ до и после введения криоконсервированного
препарата ЯСК ПК. Данные представлены как М±m

Группы и сроки	ХСЛПВП ммоль/л	ТГ ммоль/л	Холестерин ммоль/л	КА	ХСЛПОНП ммоль/л	ХСЛПНП ммоль/л
Здоровые животные	1,69±0,14	0,67±0,03	3,65±0,27	2,65±0,27	0,30±0,01	1,65±0,17
3 сут. АГ без лечения	0,40±0,08*	1,24±0,06*	4,40±0,18*	3,40±0,18*	0,56±0,03*	3,45±0,27*
7 сут. АГ без лечения	2,04±0,13*	2,48±0,27*	5,27±0,1*	4,27±0,14*	1,12±0,12*	2,12±0,17*
1 мес. АГ без лечения	1,47±0,11	1,34±0,06*	4,48±0,09*	3,48±0,09	0,60±0,03*	2,40±0,12*
3 сут. АГ+ЯСК ПК	1,36±0,23	1,26±0,30*	2,82±0,24	1,82±0,24	0,57±0,13*	0,90±0,35
7 сут. АГ+ЯСК ПК	1,97±0,35	0,91±0,12	3,79±0,19	2,79±0,19	0,41±0,05	1,41±0,38
1 мес. АГ+ЯСК ПК	3,23±0,41*	0,54±0,09	4,15±0,21	3,15±0,21	0,24±0,04	0,68±0,21*

АГ – артериальная гипертензия; ЯСК ПК – криоконсервированный препарат ядродержащих клеток пуповинной кро-
ви; ХСЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности, ТГ – триглицериды; КА – коэффициент атерогенности;
ХСЛПОНП – холестерин липопротеинов очень низкой плотности; ХСЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности.
* – различия при сравнении с контролем (здоровые животные) статистически значимы, p<0,05.

за обратный транспорт холестерина от периферических тканей в печень. По всей видимости, при стрессе этот процесс менее активен. Соответственно такое соотношение липидов в сыворотке крови приводит к повышению КА и смещению липидного профиля в сторону атерогенности.

Через 7 сут. после развития АГ уровень ТГ оставался достоверно высоким, так же происходило статистически значимое повышение ОХ, ХСЛПВП, ХСЛПОНП и КА [7], то есть увеличивалось количество липидов и тех фракций липопротеинов, которые участвуют в переносе холестерина и ТГ от печени к периферическим тканям. Уровень ХСЛПВП повышался, однако по отношению к другим фракциям это увеличение не было существенным. Отмечалась патологическая гиперлипидемия, которая впоследствии может приводить к атеросклеротическим изменениям в сосудах.

Через 1 мес. после развития АГ уровень атерогенных фракций липидов в крови животных оставался достоверно высоким, что подтверждает прогрессирование патологического процесса. Введение препарата ЯСК ПК экспериментальным животным на фоне стресс-индуцированной АГ сопровождалось изменениями липидного профиля сыворотки крови (табл. 1).

На 3 сут. после введения препарата ЯСК ПК оставался высоким уровень только ТГ, остальные показатели липидного гомеостаза приближались к показателям здоровых животных. Через 7 сут. состояние липидного профиля полностью соответствовало значениям в группе интактных животных. Через 1 мес. после введения препарата ЯСК ПК отмечалось достоверное повышение ХСЛПВП и снижение ХСЛПНП относительно контролей.

На основании полученных результатов можно предположить, что применение препарата ЯСК ПК нивелировало состояние показателей липидного профиля, которые наблюдались на фоне стресс-индуцированной АГ, а сам препарат обладает антиатерогенным действием и способен существенно улучшать реологические свойства крови [12, 14].

Определение уровня липидов у молодых крыс через 3 сут. после развития АГ (табл. 2) показало достоверное увеличение ТГ, ОХ, ХСЛПНП и КА. Причем на фоне повышения атерогенных фракций липидов одновременно увеличивался и уровень ХСЛПВП. Рост содержания свободных жиров в сыворотке крови молодых животных приводил к незамедлительному повышению их переносчика (ХСЛПВП) к месту трансформации, то есть к печени. КА, как и у старых животных, был достоверно выше, чем у контрольных. Это указывает на то, что стресс-индуцированная АГ усиливает атерогенный риск независимо от возраста.

На 7 сут. происходило нарастание уровня ТГ, снижался ХСЛПВП, содержание других фракций липидов соответствовало предыдущему сроку наблюдения. Через 1 мес. показатели липидограммы имели аналогичную тенденцию, как на 3 и 7 сут. после развития устойчивой АГ. Таким образом, АГ приводит к смещению липидного состава крови в сторону атерогенности в обеих возрастных группах.

На 3 и 7 сут. после введения молодым животным криоконсервированного препарата ЯСК ПК, наблюдалось достоверное снижение уровня ТГ (табл. 2). Нормализовался КА и содержание ОХ в сыворотке крови. Через 1 мес. липидный профиль молодых животных с АГ соответствовал показателям контрольных крыс.

В это же время показатели АД также возвращались к нормальным значениям. У старых животных с АГ на фоне введения препарата ЯСК ПК — $113,75 \pm 3,75/73,75 \pm 2,39$ мм рт. ст., у молодых — $115 \pm 2,89/72,5 \pm 1,44$ мм рт. ст. В группе крыс с АГ (без введения препарата ЯСК ПК) АД через 1 мес. оставалось достаточно высоким: у старых крыс — $157,5 \pm 2,5/95,0 \pm 5,0$ мм рт. ст., у молодых — $145,0 \pm 2,89/82,5 \pm 1,44$ мм рт. ст.

Данные проведенных нами экспериментальных исследований согласуются с результатами других авторов об эффективности применения ПК человека с целью снижения выраженности поражения сердечно-сосудистой системы и восстановления функции нервной системы [25, 26].

Таблица 2. Липидный профиль молодых крыс с АГ до и после введения криоконсервированного препарата ЯСК ПК. Данные представлены как $M \pm m$

Группа	ХСЛПВП ммоль/л	ТГ ммоль/л	Холестерин ммоль/л	КА	ХСЛПОНП ммоль/л	ХСЛПНП ммоль/л
Контроль	$1,11 \pm 0,19$	$0,53 \pm 0,03$	$3,67 \pm 0,08$	$2,67 \pm 0,08$	$0,24 \pm 0,01$	$2,33 \pm 0,18$
3 дня модель АГ	$2,29 \pm 0,14^*$	$0,87 \pm 0,09^*$	$5,98 \pm 0,82^*$	$4,98 \pm 0,82^*$	$0,39 \pm 0,04$	$3,30 \pm 0,95^*$
7 дней модель АГ	$1,27 \pm 0,42$	$0,90 \pm 0,25^*$	$4,35 \pm 0,22^*$	$3,35 \pm 0,22^*$	$0,41 \pm 0,11^*$	$2,68 \pm 0,46$
1 месяц модель АГ	$2,00 \pm 0,13^*$	$2,52 \pm 0,29^*$	$4,43 \pm 0,08^*$	$3,43 \pm 0,08^*$	$1,13 \pm 0,13^*$	$1,30 \pm 0,05$
3 дня после введения ЯСК ПК	$1,49 \pm 0,29$	$1,16 \pm 0,25^*$	$3,48 \pm 0,11$	$2,48 \pm 0,11$	$0,52 \pm 0,11$	$1,47 \pm 0,39$
7 дней после введения ЯСК ПК	$1,19 \pm 0,27$	$1,13 \pm 0,14^*$	$4,14 \pm 0,12$	$3,14 \pm 0,12$	$0,51 \pm 0,06$	$2,45 \pm 0,11$
Месяц после введения ЯСК ПК	$1,61 \pm 0,37$	$0,67 \pm 0,09$	$4,14 \pm 0,10$	$3,14 \pm 0,10$	$0,30 \pm 0,04$	$2,22 \pm 0,47$

АГ — артериальная гипертензия; ЯСК ПК — криоконсервированный препарат ядросодержащих клеток пуповинной крови; ХСЛПВП — холестерин липопротеинов высокой плотности, ТГ — триглицериды; КА — коэффициент атерогенности; ХСЛПОНП — холестерин липопротеинов очень низкой плотности; ХСЛПНП — холестерин липопротеинов низкой плотности.

* — различия при сравнении с контролем (здоровые животные) статистически значимы, $p < 0,05$.

Заключение

Проведенные исследования показали, что неврогенная стресс-индуцированная АГ, вызванная эмоционально-болевым стрессом, сопровождается значительным снижением всех исследуемых параметров ВСР (полной мощности спектра колебания ритма, мощности высокочастотных, низкочастотных, очень низкочастотных колебаний), а также нарушениями липидного состава сыворотки крови в виде снижения ХСЛПВП, повышения уровня ХСЛПНП, ХСЛПОНП, ТГ и ОХ у экспериментальных животных. Происходит смещение липидного профиля крови в сторону атерогенности за счет повышения КА. Изменения, возникающие во фракциях липидов, зависят от возраста животных и сроков развития заболевания.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Синькова Г.М. Эпидемиология артериальной гипертензии. Сиб. Мед. Журн. 2007; 8: 5-10.
2. Balantyne C., Arroll B., Shepherd J. Lipids and CVD management towards a global consensus. Eur. Heart. J. 2005; 26: 2664-72.
3. Kannel W. Hypertension as a risk for cardiac events: epidemiologic results of long-term studies. J. Cardiovasc. Pharmac. 1993; 21(2): 27-37.
4. Sans S., Kesteloor H., Kromhout D. et al. The burden of cardiovascular diseases mortality in Europe. Task Force of the European Society of Cardiology on Cardiovascular Mortality and Morbidity Statistics in Europe. Eur. Heart J. 1997; 18: 1231-48.
5. Чазова И.Е. Лечение дислипидемий у больных артериальной гипертензией. Терапевт. Аpx. 2007; 4: 53-7.
6. Reaven G.M. Insulin resistance/compensatory hyperinsulinemia, essential hypertension, and cardiovascular disease. J. Clin. Endocrin. 2003; 88: 2399-403.
7. Шилов А.М., Чубаров М.В., Мельник М.В. и др. Артериальная гипертензия и метаболический синдром. Международный медицинский журнал 2002; 11(21): 1145-9.
8. Парин В.В., Баевский Р.М., Волков Ю.Н. и др. Космическая кардиология. Ленинград: Медицина; 1967.
9. Баевский Р.М., Иванов Г.Г. Вариабельность сердечного ритма: теоретические аспекты и возможности клинического применения. Ультразвуковая и функциональная диагностика 2001; 3: 108-27.
10. Олейников В.Э., Кулюцин А.В., Буданова В.А. и др. Вариабельность ритма сердца и эссенциальная гипертензия. Нерешенные проблемы практического применения. Международный медицинский журнал 2007; 4: 50-4.
11. Васюк Ю.А., Ющук Е.Н., Шупенина Е.Ю. и др. Вариабельность сердечного ритма в оценке клинко-функционального состояния и прогноза при хронической сердечной недостаточности. Рациональн. Фармакотер. Кардиол. 2006; 2: 61-5.
12. Roccanova L., Ramphal P. The role of stem cells in the evolution of longevity and its application to tissue therapy. Tissue Cell 2003; 35(1): 79-81.
13. Liang Y., Van Zant G. Genetic control of stem-cell properties and stem cells in aging. Curr. Opin. Hematol. 2003; 10(3): 195-202.
14. Cornetta K., Laughlin M., Carter S. et al. Umbilical cord blood transplantation in adults: results of the prospective Cord Blood Transplantation (COBLT). Biol. Blood Marrow Transplant. 2005; 11(2): 149-60.
15. Бабійчук Л.О., Грищенко В.І., Рязанцев В.В. та ін. Спосіб виділення ядровмісних клітин пуповинної крові. Пат. 23499 Україна, С12N5/00. 22 января 2007.
16. Бабійчук Л. О., Грищенко В. І., Гуріна Т. М. та ін. Спосіб кріоконсервування ядровмісних клітин кордової крові, у тому числі стовбурових гемопоетичних клітин. Пат. 92227 Україна, A01N1/02. 05 декабря 2008.
17. Бабійчук Л. В., Бабійчук В. Г., Козлов О. В. та ін. Спосіб моделювання стрес-індукованої артеріальної гіпертензії. Пат. 67199 Україна, G09B23/28. 29 июня 2011.
18. Kuwahara M., Yagyu K., Ishii K. et al. Power spectral analysis of heart rate variability as a new method for assessing autonomic activity in the rat J. Electrocardiol. 1994; 27(4): 333-7.
19. Hauton D., May S., Sabharwal R. et al. Cold-impaired cardiac performance in rats is only partially overcome by cold acclimation. J. Exper. Biol. 2011; 214: 3021-31.
20. Friedewald W., Levy R., Fredrickson D. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem. 1972; 18: 499-502.
21. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Москва: Практика; 1998.
22. Атраментова Л.А., Утевская О.М. Статистические методы в биологии Горловка: ЧП «Видавництво ліхтар»; 2008.
23. Каверина Н.В., Попова Е.П. Влияние антиаритмика III класса кардиоцикла на вариабельность ритма сердца у крыс в условиях эмоционального стресса. Вестник аритмологии 2010; 62: 47-51.
24. Рябыкина Г.В., Соболев А.В. Вариабельность ритма сердца. Москва: Стар'ко; 1998.
25. Сурков К.Г., Белова Л.А., Красняков В.К. Доклинические исследования отечественного препарата стволовых клеток пуповинной крови «Криоцелл». Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2006; 1(3): 74-7.
26. Смолянинов А.Б. Клеточные и генные технологии в кардиологии. СПб.: Издательство СпецЛит; 2009.

Поступила: 27.11.2014