

УДК 612.825.4:612.649.011.87.014.3:57.043

Ю.В. Руднева, В.Г. Бабийчук*, Е.А. Чернявская, В.В. Кулик

Состояние вегетативной и гуморальной регуляции сердечного ритма молодых и старых крыс на фоне ритмического экстремального охлаждения (-120°C) в сочетании с введением ядросодержащих клеток кордовой крови

UDC 612.825.4:612.649.011.87.014.3:57.043

Yu.V. Rudneva, V.G. Babiychuk*, E.A. Chernyavskaya, V.V. Kulik

State of Vegetative and Humoral Regulations of Cardiac Rhythm in Young and Aged Rats on Background of Rhythmic Extreme Cooling (-120°C) Combined with Application of Cord Blood Nucleated Cells

Реферат: С помощью спектрального анализа вариабельности сердечного ритма исследовано состояние вегетативной и гуморальной регуляции сердечного ритма у молодых и старых крыс после сочетанного применения ритмических экстремальных холодовых воздействий (РЭХВ) и препарата ядросодержащих клеток кордовой крови (ЯСК КК). Показано положительное влияние РЭХВ и ЯСК КК на функциональное состояние регуляторных систем организма животных независимо от их возраста, что подтверждается повышением показателей общей спектральной мощности нейрогуморальной регуляции за счет активации вегетативной нервной системы и гуморального звена регуляции. Полученные данные свидетельствуют о том, что у старых животных после РЭХВ и введения ЯСК КК процесс управления сердечным ритмом переходит с медленного гуморально-метаболического уровня регуляции на быстрый вегетативный, который не присущ пожилому организму.

Ключевые слова: ритмические экстремальные холодовые воздействия, ядросодержащие клетки кордовой крови, вариабельность сердечного ритма, нейрогуморальная регуляция, криокамера.

Реферат: За допомогою спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму досліджено стан вегетативної та гуморальної регуляції серцевого ритму в молодих і старих щурів після сумісного застосування ритмічних екстремальних холодових впливів (РЕХВ) і препарату ядерних клітин кордової крові (ЯК КК). Показано позитивний вплив РЕХВ і ЯК КК на функціональний стан регуляторних систем організму тварин незалежно від їх віку, що підтверджується підвищенням показників загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції за рахунок активації вегетативної нервової системи та гуморальної ланки регуляції. Отримані дані свідчать про те, що у старих тварин після РЕХВ і введення ЯК КК процес управління серцевим ритмом переходить із повільного гуморально-метаболического рівня регуляції на швидкий вегетативний, який не властивий літньому організму.

Ключові слова: ритмічні екстремальні холодові впливи, ядровмісні клітини кордової крові, варіабельність серцевого ритму, нейрогуморальна регуляція, криокамера.

Abstract: Spectral analysis of heart rate variability was used to study the state of vegetative and humoral regulations of heart rate in young and aged rats after combined use of rhythmic extreme cold exposures (RECE) and introduction of cord blood nucleated cells (CBNC). There was shown a positive effect of RECE and CBNC introduction on functional state of regulatory systems in organism of the animals regardless of age; that was confirmed by the rise of indices of total power spectrum of neurohumoral regulation due to activation of vegetative nervous system and humoral link of regulation. The findings testified that the process of heart rate control in aged animals after RECE and CBNC administration transited from a slow humoral-metabolic regulation level to a rapid vegetative level, not intrinsic to an aged organism.

Key words: rhythmic extreme cold exposures, cord blood nucleated cells, heart rate variability, neurohumoral regulation, cryochamber.

Повышенная заболеваемость пожилых людей связана с возрастными изменениями клеток, систем и органов, уменьшением резервных возможностей организма и замедлением компенсаторных процессов. С возрастом на фоне ослабления

High morbidity of aged people is associated with the age-related changes of cells, systems and organs, reduction of an organism's reserve and slowing of compensatory processes. Together with metabolic suppression and depression of other organism functions

Отдел криофизиологии, Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Department of Cryophysiology, Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

*Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:
ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015;
тел.: (+38 057) 373-74-35, факс: (+38 057) 373-30-84,
электронная почта: babiichuk.lyudmila@mail.ru

*To whom correspondence should be addressed:
23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015;
tel.: +380 57 3737435, fax: +380 57 373 3084,
e-mail: babiichuk.lyudmila@mail.ru

Поступила 17.09.2013
Принята в печать 06.11.2013

Received September, 17, 2013
Accepted November, 06, 2013

Проблемы криобиологии и криомедицины. – 2013. – Т. 23, №4. – С. 318–325.
© 2013 Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины

Problems of Cryobiology and Cryomedicine. – 2013. – Vol. 23, Nr. 4. – P. 318–325.
© 2013 Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

обмена веществ и снижения других функций организма мобилируются важные приспособительные механизмы.

Каждому возрастному периоду соответствуют свой уровень адаптации и особенности обмена веществ. Качественные изменения, возникающие при старении в организме человека, определяют специфику и тяжесть возрастной патологии, способствуют исчезновению или, напротив, прогрессированию определённых заболеваний [4, 6, 10, 11]. Понимание патофизиологических механизмов старения важно для клинической оценки симптомов, а также выбора необходимого терапевтического воздействия.

При физиологическом старении и сопутствующих на его фоне заболеваниях возникают выраженные изменения вариабельности сердечного ритма (ВСР), связанные с нарушениями вегетативной регуляции сердечно-сосудистой системы. Обнаружена взаимосвязь между функциональными расстройствами вегетативной нервной системы (ВНС) и смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний, включая внезапную смерть [5].

Благодаря современным методам анализа волновой структуры сердечного ритма появилась возможность по данным ВСР оценивать общее функциональное состояние и адаптационные резервы организма, более точно прогнозировать вероятность исхода того или иного заболевания [1, 3]. Спектральный анализ ВСР является наиболее адекватным и простым методом оценки баланса симпатического и парасимпатического звеньев ВНС, фона нейрогуморальной регуляции [7].

До настоящего времени продолжают поиски оптимальных способов охлаждения организма человека и животных с целью создания условий для генерализованного специфического воздействия на гомеостатические регуляторные системы, степень «изношенности» которых определяется возрастными особенностями [12]. Одним из таких способов является искусственная гипотермия, использование которой в медицине дало возможность раскрыть ряд особенностей возникновения и развития ответных реакций организма при охлаждении.

Клеточно-тканевая терапия – перспективное направление в практическом здравоохранении [18]. Исследования последних лет подтверждают высокий терапевтический потенциал кордовой крови, содержащей гемопоэтические стволовые клетки [16, 17], которая показана при лечении более 70 заболеваний [15].

Как показали наши исследования [2], ритмическое экстремальное охлаждение приводит к повышению проницаемости гематоэнцефалического барьера для нейромедиаторов, катехоламинов, бел-

aging is accompanied with mobilization of important adaptive mechanisms.

Each age period has its peculiar adaptation level and metabolic features. Qualitative changes appearing during aging in human organism determine the specificity and severity of age pathology, contribute to disappearance or, on the contrary, progression of certain diseases [4, 6, 10, 11]. Understanding of pathophysiological mechanisms of aging is important for clinical assessment of symptoms as well as selection of a proper therapeutic influence.

During physiological senescence and accompanying on its background diseases the pronounced changes appear in heart rate variability (HRV) associated with the disturbances in vegetative regulation of cardiovascular system. We have revealed the interrelation between functional disorders of vegetative nervous system (VNS) and cardiovascular mortality including a sudden death [5].

With the development of modern methods for analysis of wave structure of cardiac rhythm one got an opportunity to use HRV indices when assessing a general functional state and organism adaptive reserves, more accurately predict the probability of any disease outcome [1, 3]. Spectral analysis of HRV is the most valid and the simplest method to assess the balance of VNS sympathetic and parasympathetic links, background of neurohumoral regulation [7].

Currently, the search of appropriate methods for cooling of human and mammal organisms is still prospective in order to create the conditions for generalized specific effect on homeostatic regulatory systems, the 'exhaustion' degree of which is determined by age peculiarities [12]. One of such methods is an artificial hypothermia, the use of which allowed revealing the range of peculiarities of appearance and development of organism responses to cooling.

Moreover, a successful development of cell and tissue-based therapy is promising direction in practical healthcare [18]. The studies in recent years confirm a high therapeutic potential of cord blood containing hemopoietic stem cells [16, 17]. It is indicated for treatment of more than 70 diseases [15].

Our investigations have demonstrated [2] that rhythmic extreme cooling induced the rise of blood brain barrier permeability for neurotransmitters, catecholamines, plasma proteins, hormones (in young rats this was found after six cooling procedures, and after nine procedures in old rats) and therefore stimulated the function of VNS and its main integrator, hypothalamus as well.

Due to a unique ability of rhythmic extreme cold exposures and cord blood treatment to restore homeostasis in an organism the research aim was to study the influence of rhythmic extreme cold exposures



ков плазмы, гормонов (у молодых крыс после шести, а у старых после девяти процедур охлаждения) и таким образом стимулирует функцию ВНС, а также ее главный интегратор – гипоталамус.

В связи с уникальной способностью ритмических экстремальных холодových воздействий и кордовой крови к поддержанию гомеостаза в организме целью данного исследования было изучение влияния ритмических экстремальных холодových воздействий (РЭХВ) (-120°C) и препарата ядро-содержащих клеток кордовой крови (ЯСК КК) на состояние вегетативной регуляции сердечного ритма у молодых и старых крыс.

Материалы и методы

Исследования проводили на белых молодых (6-месячных) и старых (24–26-месячных) нелинейных крысах-самцах. Эксперименты выполняли в соответствии с «Общими принципами работы на животных», одобренными I Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001) и согласованными с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986).

Каждая возрастная группа животных (по 10 крыс в каждой) была разделена на две подгруппы: первая – интактная; вторая – животные, которым проводили РЭХВ и вводили препарат ЯСК КК.

Ритмические экстремальные холодových воздействия выполняли в криокамере для охлаждения экспериментальных животных [13]. Установка включает следующие узлы: камера для экстремального охлаждения, состоящая из двух отсеков – основного (рабочего) с смонтированным теплообменником и дополнительного (шлюзового); сосуд Дьюара; клапан для подачи паров азота с датчиком давления; блок управления температурой; контроллер температуры с цифровым дисплеем; термодатчик; пульт управления; системы соединительных трубопроводов. В криокамере (-120°C) животные находились в течение 2 мин, затем их содержали 5 мин при комнатной температуре ($22\dots 24^{\circ}\text{C}$) 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 и 5-е сутки сеансы РЭХВ повторяли. Всего животные подвергались охлаждению 9 раз по 2 мин при температуре -120°C .

Животным вводили криоконсервированный препарат кордовой крови человека, полученный в ИПКиК НАН Украины [14]. Препарат представлял

(RECE) (at -120°C) and introduction of cord blood nucleated cells (CBNC) preparation on the state of vegetative regulation of cardiac rhythm in young and aged rats.

Materials and methods

The research was performed in white young (6 months old) and aged (24–26 months old) outbred male rats. Investigations were carried out according to the General Principles of Experiments in Animals approved by the 1st National Congress on Bioethics (Kiev, 2001) and agreed with the regulations of European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986).

Each age group of animals (10 rats in each) was divided into two subgroups: the first one was intact, the second included the animals to which there were performed RECE and administered CBNC. Rhythmic extreme cold exposures were done in cryochamber for cooling of experimental animals [13]. Installation comprised the following units: chamber for extreme cooling consisting of two sections – main (operating) section with built-in heat exchanger and additional one (air lock chamber); Dewar vessel; valve to supply nitrogen vapors with pressure sensor; temperature control unit; digital temperature controller; thermosensor; control panel; interconnecting pipe system. The animals were placed to cryochamber (-120°C) for 2 min, then they were held for 5 min at room temperature ($22\dots 24^{\circ}\text{C}$) out of a chamber. Then the cooling was repeated, the animals were warmed for 5 min at room temperature, thereafter cycle of cooling was performed by similar scheme. Thus, the animals obtained three RECE procedures a day. To the 3rd and 5th days the RECE series were repeated. Totally the animals were exposed to cooling 9 times by 2 min at -120°C .

The animals were injected with preparation of human cryopreserved cord blood obtained in IPC&C of the National Academy of Sciences of Ukraine [14]. The preparation was a suspension of cryopreserved in autoplasm CBNCs with CD34^+ cells concentration of $2\text{--}4 \times 10^5$ in 1 ml. Fraction of NC was isolated from CB by sedimentation in dex-tran D-60 solution. During cryopreservation DMSO was used as cryoprotectant in 5% final concentration. Content of cells with phenotype of CD45^+ , $\text{CD45}^+\text{CD34}^+$, as well as their viability ($\text{CD45}^+\text{7AAD}^-$, $\text{CD34}^+\text{7AAD}^-$) were determined using flow cytometer FACS Calibur (Becton Dickinson, USA), BD reagents and according to the protocol of ISHAGE (International Society for Hematotherapy and Graft Engineering).

Thawed CBNC preparation was injected one time intraperitoneally after the sixth cooling procedure in



собой взвесить криоконсервированных ЯСК КК в аутоплазме с концентрацией CD34⁺-клеток (2–4)×10⁵ в 1 мл. Выделение фракции ядродержащих клеток из кордовой крови проводили методом седиментации в растворе декстрана Д-60. При криоконсервировании в качестве криопротектора использовали ДМСО в конечной концентрации 5%. Содержание клеток с фенотипом CD45⁺, CD45⁺CD34⁺, а также их жизнеспособность (CD45⁺ 7AAD⁻, CD34⁺7AAD⁻) определяли с помощью проточного цитофлуориметра «FACS Calibur» («Becton Dickinson», США) с использованием реагентов производства «BD» (США) по протоколу Международного общества гематотерапии и трансплантационной инженерии (International Society for Hematotherapy and Graft Engineering, ISHAGE).

Размороженный препарат ЯСК КК вводили однократно внутривенно в дозе 1×10⁵ CD34⁺-клеток на килограмм массы после шестой процедуры охлаждения молодым животным и после девятой процедуры – старым. Препарат доводили до объема 1 мл плазмой.

Регистрацию ЭКГ осуществляли на электрокардиографе серии «Поли-Спектр» («НейроСофт», Россия) в шести стандартных отведениях после 3-, 6-, 9-го сеанса РЭХВ, а также на следующие сутки, через трое суток, неделю и месяц после последней процедуры охлаждения и введения ЯСК КК. Длительность записи составляла 5 мин. Спектральный анализ ВСР проводили с помощью программы «Поли-Спектр-Ритм» (Россия). Согласно основной системе спектрального анализа [5] нами были выделены и проанализированы следующие показатели: TP (мс²) – полная мощность спектра колебаний кардиоритма; HF (мс²) – мощность высокочастотных колебаний (0,15–0,4 Гц); LF (мс²) – мощность низкочастотных колебаний (0,04–0,15 Гц); VLF (мс²) – мощность спектра кардиоритма в области очень низких частот (0,003–0,04 Гц).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Спектральный анализ ВСР позволяет обнаружить периодические составляющие в колебаниях сердечного ритма и оценить их количественный вклад в динамику ритма. Каждый из выделенных частотных диапазонов отображает влияние различных систем регуляции на ВСР. Высокочастотные колебания сопряжены с актом дыхания, их формирование обусловлено связью блуждающего нерва с синусовым узлом. Значения спектральной мощности в этом диапазоне свидетельствуют об

the young animals and after the ninth procedure in the aged ones. The preparation was made up to 1 ml volume with plasma.

The recording of ECG was carried out with electrocardiograph Poly-Spectrum (Neurosoft, Russia) in six standard leads after the 3rd, 6th, 9th RECE series as well as on the next day, in three days, week and month after the last cooling and CBNC administration. The recording lasted 5 minutes. Spectral analysis of HRV was performed with Poly-Spectrum-Rhythm (Russia). According to the basic system of spectral analysis [5] we have determined and analyzed the following indices: TP (ms²), the total power of heart rate fluctuations spectrum; HF (ms²), the power of high frequency fluctuations (0.15–0.4 Hz); LF (ms²), the power of low frequency fluctuations (0.04–0.15 Hz); VLF (ms²), the heart rhythm power spectrum within the range of very low frequencies (0.003–0.04 Hz).

The obtained data were statistically processed with Student's t-criterion.

Results and discussion

Spectral analysis of HRV enables revealing the periodic components in heart rate fluctuations and evaluating their quantitative contribution to the rhythm dynamics. Each determined frequency range shows the effect of different regulation systems on HRV. High frequency fluctuations are associated with the act of breathing, their formation is stipulated by the links of vagus nerve and the sinus node. The values of spectral power within this range indicate the activity of VNS parasympathetic division. In its turn, cardiac rhythm wave fluctuations within the low frequency spectrum range are conditioned by the bursts of sympathetic vasomotor activity, *i. e.* the presence of low frequency waves reflects the activity of VNS sympathetic division. The formation of waves in extremely low spectrum range is presumably stipulated by the influence of VNS non-segmental divisions, endocrine or humoral factors on sinus node [5].

The analysis of heart rhythm wave structure in young rats after the 3rd, 6th RECE series (the day followed after CBNC administration) as well as after the 9th RECE series (in 3 days after CBNC administration) (Fig. 1) showed that spectrum total power of neurohumoral regulation increased as for the control indices due to the balanced activation of both VNS sympathetic and parasympathetic divisions as well as the humoral link of regulation (the increase of LF, HF, and VLF waves power). The increase in proportion of very low frequency waves (VLF-waves) can be explained by hormonal effects on myocardium and association of waves of this frequency with thermoregulation rhythms [5].



активности парасимпатического отдела ВНС. В свою очередь, волновые колебания сердечного ритма в низкочастотном диапазоне спектра обусловлены вспышками симпатической вазомоторной активности, т. е. наличие низкочастотных волн свидетельствует об активности симпатического отдела ВНС. Формирование волн в очень низкочастотном диапазоне спектра, предположительно, зависит от влияния несегментарных отделов ВНС, эндокринных или гуморальных факторов на синусовый узел [5].

Анализ волновой структуры сердечного ритма у молодых крыс после 3- и 6-го сеансов РЭХВ (на следующие сутки после введения ЯСК КК), а также после 9-го сеанса РЭХВ (через 3 суток после введения ЯСК КК) показал, что общая мощность спектра нейрогуморальной регуляции (ТР) возрастала по отношению к контрольным показателям (рис. 1) благодаря сбалансированной активации как симпатического и парасимпатического отделов ВНС, так и гуморального звена регуляции. Увеличение удельного веса волн очень низкой частоты (VLF-волны) можно объяснить гормональными влияниями на миокард, а также связью волн этой частоты с ритмами терморегуляции [5].

Через 5 суток после 9-й процедуры РЭХВ (7 суток после введения ЯСК КК) нами отмечено увеличение общей спектральной мощности по отношению к предыдущим этапам экспериментальных исследований преимущественно за счет повышения тонуса симпатического и парасимпатического отделов ВНС на фоне неменяющейся активности гуморальных систем регуляции (рис. 1).

У молодых животных оценивали показатели спектрального анализа ВСР через неделю и месяц после РЭХВ и введения ЯСК КК. Интересно, что в отдаленные сроки наблюдения (через неделю и месяц после РЭХВ и введения ЯСК КК) существенно возрастали значения общей спектральной мощности нейрогуморальной регуляции в результате активации вегетативных центров, при этом уровень гуморальной регуляции не изменялся по отношению к предыдущим срокам (рис. 1). В структуре ТР преобладал тонус парасимпатического отдела ВНС.

Таким образом, высокий уровень как вагальных, так и симпатических влияний в модуляции сердечного ритма свидетельствует о наличии у молодых крыс на фоне сочетанного применения РЭХВ и препарата ЯСК КК развитой вегетативной регуляции.

Согласно литературным данным возраст значительно влияет на вариабельность кровообращения [8, 9]. Проявлением этого является снижение общей спектральной мощности нейрогуморальной

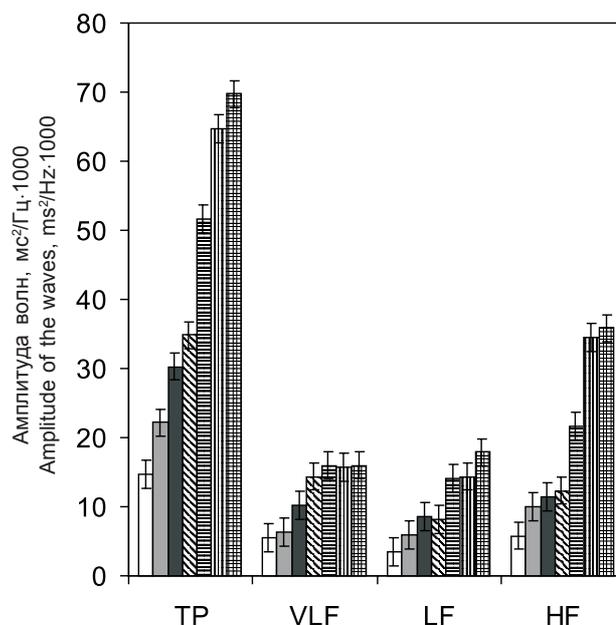


Рис. 1. Показатели спектрального анализа ВСР у молодых крыс: □ – контрольные; ■ – после 3 сеансов РЭХВ; ■ – после 6 сеансов РЭХВ (следующие сутки после введения ЯСК КК); ▨ – сутки после 9 сеансов РЭХВ (через 3 суток после введения ЯСК КК); ▩ – через 5 суток после 9 сеансов РЭХВ (через 7 суток после введения ЯСК КК); ▪ – через 7 суток после РЭХВ (9 суток после введения ЯСК КК); ▫ – через месяц после РЭХВ и введения ЯСК КК.

Fig. 1. The indices of HRV spectral analysis in young rats: □ – control; ■ – after 3 RECE series; ■ – after 6 RECE series and on the following day after CBNC administration; ▨ – the day after 9 RECE series and in 3 days after CBNC administration; ▩ – in 5 days after 9 RECE series and in 7 days after CBNC administration; ▪ – in 7 days after RECE and in 9 days after CBNC administration; ▫ – in a month after RECE and CBNC administration.

In 5 days after the 9th RECE series (in 7 days after CBNC administration) we have noted the tendency to the rise of spectrum total power in comparison to the previous stages of research mainly due to the increase in tone of VNS sympathetic and parasympathetic divisions on the background of a constant activity of humoral system regulation (Fig. 1).

In young animals we evaluated the values of HRV spectral analysis in a week and a month after RECE and CBNC administration. Of interest was the fact that in the later terms of observation (in a week and a month after RECE and CBNC administration) the values of total power of neurohumoral regulation spectrum were significantly increased due to activation of vegetative centers. Furthermore the level of humoral regulation did not change with respect to the previous terms (Fig. 1). The tone of VNS parasympathetic division prevailed in TP structure.

Рис. 2. Показатели спектрального анализа ВСР у старых крыс: □ – контрольные; ▤ – после 3 сеансов РЭХВ; ■ – после 6 сеансов РЭХВ (следующие сутки после введения ЯСК КК); ▨ – 1 сутки после 9 сеансов РЭХВ (через 3 суток после введения ЯСК КК); ▩ – через 5 суток после 9 сеансов РЭХВ (через 7 суток после введения ЯСК КК); ▪ – через 7 суток после РЭХВ (9 суток после введения ЯСК КК); ▫ – через месяц после РЭХВ и введения ЯСК КК.

Fig. 2. The indices of HRV spectral analysis in old rats: □ – control; ▤ – after 3 RECE series; ■ – after 6 RECE series and on the following day after CB NC administration; ▨ – the day after 9 RECE series and in 3 days after CB NC administration; ▩ – in 5 days after 9 RECE series and in 7 days after CB NC administration; ▪ – in 7 days after RECE and in 9 days after CB NC administration; ▫ – in a month after RECE and CB NC administration.

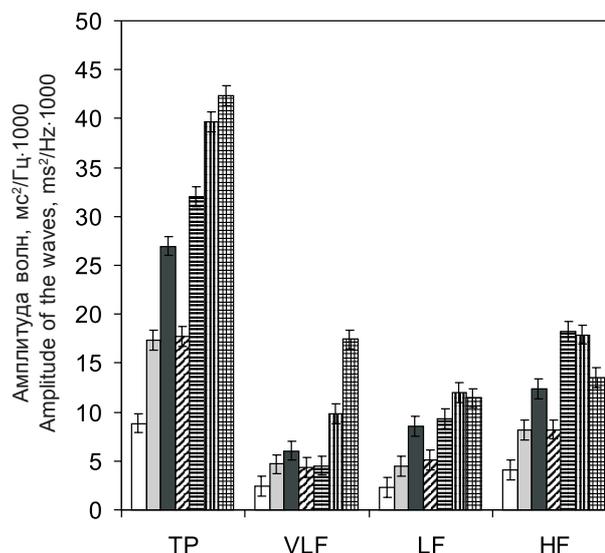
регуляции в результате уменьшения тонуса симпатического и парасимпатического отделов ВНС.

Установлено, что у старых контрольных животных значения общей спектральной мощности нейрогуморальной регуляции были существенно ниже, чем у молодых. Выявлено снижение активности вегетативных центров, а также гуморального звена регуляции.

После 3- и 6-го сеанса РЭХВ у старых крыс отмечался подъем общей спектральной мощности за счет активации гуморального звена регуляции и ВНС (рис. 2). Таким образом, у животных обеих возрастных групп на данных этапах экспериментальных исследований нами отмечена аналогичная динамика изменения основных показателей спектрального анализа ВСР.

После 9-й процедуры РЭХВ (на следующие сутки после введения ЯСК КК) в структуре общей мощности спектра снизились тонус симпатического и парасимпатического отделов ВНС, а также активность гуморальной регуляции. На спектрограмме это проявлялось уменьшением удельного веса LF, HF и VLF волн (рис. 2). Таким образом, на данном этапе экспериментального исследования имело место снижение активности всех звеньев регуляции по сравнению с предыдущими сроками наблюдения.

Положительным является тот факт, что в отдаленные сроки наблюдения (через неделю и месяц после РЭХВ и введения ЯСК КК) значения общей спектральной мощности нейрогуморальной регуляции у старых животных существенно превосходили как контрольные показатели, так и полученные на предыдущих этапах экспериментальных исследований (рис. 2). У этих животных увеличивалась активность симпатического, парасимпатического



Thus, a high level of both vagal and sympathetic effects in heart rhythm modulation indicates the presence in young rats of the developed vegetative regulation on the background of combined use of RECE and CBNC.

As reported previously, blood flow variability is strongly affected by age [8, 9]. This fact is manifested in the decrease of total power of neurohumoral regulation spectrum due to reduction in tone of VNS sympathetic and parasympathetic divisions.

We have found that in aged control animals the values of total power of neurohumoral regulation spectrum were significantly lower than in young ones. The decreased activity of vegetative centers and humoral link of regulation was observed.

After the 3rd and 6th RECE series in aged rats we noted the rise in spectrum total power due to activation of humoral regulation link and VNS (Fig. 2). Therefore at these stages of research the animals of both age groups had a similar dynamics of change in main indices of HRV spectral analysis.

After the 9th RECE procedure and to the following day after CBNC administration the tone of VNS sympathetic and parasympathetic divisions as well as activity of humoral regulation were decreased in structure of spectrum total power (Fig. 2). In spectrogram it was manifested by decreased LF, HF, and VLF waves values. Thus, at this stage of research the decreased activity of all regulation links occurred if compared to the previous observation terms.

The positive aspect was the fact that in late observation terms (in a week and a month after RECE and CBNC administration) in aged animals the values of total power spectrum of neurohumoral regulation significantly exceeded both the control values and the ones obtained at previous stages of research (Fig. 2).

кого отделов ВНС, а также гуморального уровня регуляции. При этом тонус парасимпатического отдела ВНС оставался выше, чем в контроле. Такие изменения можно считать положительными, поскольку умеренное преобладание парасимпатических влияний является одним из факторов индивидуальной устойчивости организма к возникновению заболеваний сердечно-сосудистой системы [5].

На основании результатов, полученных при исследовании ВСП у крыс двух возрастных групп, можно предположить, что сочетанное применение РЭХВ и препарата криоконсервированных ЯСК КК способно значительно повышать функциональные возможности организма животных независимо от их возраста. Данный метод воздействия направлен, прежде всего, на активацию собственных гомеостатических регуляторных систем. Подтверждением этому являются данные спектрального анализа ВСП: подъем общей спектральной мощности происходит не за счет активации одного звена регуляции, а благодаря сбалансированному повышению активности всех звеньев.

Установлено, что у старых крыс на фоне РЭХВ и введения криоконсервированных ЯСК КК существенно повышался тонус парасимпатического отдела ВНС. Увеличение общей спектральной мощности за счет активации ВНС у старых животных может свидетельствовать о переходе процесса управления сердечным ритмом с медленного гуморально-метаболического уровня регуляции на быстрый вегетативный, который не характерен для пожилого организма.

Выводы

Таким образом, в работе показано влияние РЭХВ и препарата ЯСК КК на функциональное состояние регуляторных систем организма молодых и старых животных: повышение показателей общей спектральной мощности нейрогуморальной регуляции за счет активации вегетативной нервной системы и гуморального звена регуляции.

Проведенные экспериментальные исследования позволяют обосновать возможность сочетанного применения ритмических экстремальных криовоздействий (-120°C) и препаратов, полученных из кордовой крови, в медицинской практике с целью коррекции нарушенного гомеостаза организма пожилых людей.

Литература

1. Айдаралиев А.А., Максимов А.Л. Адаптация человека к экстремальным условиям. – Л.: Наука, 1988. – 124 с.
2. Бабийчук В.Г. Сравнительная характеристика частоты сердечных сокращений у крыс при различных методах

In these animals the activity of VNS sympathetic and parasympathetic links as well as humoral link of regulation was increased. We have found the rise in tone of VNS parasympathetic division. These changes could be considered as positive, since a moderate prevalence of parasympathetic phenomena is one of the factors of individual organism resistance to the appearance of cardiovascular diseases.

Basing on the experimental data obtained during HRV analysis in rats of both age groups we may assume that the combined use of RECE and cryopreserved CBNC introduction results in a significant increase of the functional capacities of mammal organism regardless of their age. This method of treatment is directed primarily to the activation of an organism's own homeostatic regulatory systems. This is confirmed by the data of HRV spectral analysis: the rise in total power spectrum is provided due to activation of not only one regulation link but by balanced rise of activity of all the regulation links.

We have established that on the background of RECE and CBNC administration the aged rats had significantly increased tone of VNS parasympathetic division. Increase of spectrum total power due to VNS activation in aged animals can indicate the transition of heart rhythm control from slow humoral-metabolic regulation level to rapid vegetative one, which is not typical for an old organism.

Conclusions

Collectively, it was shown a positive effect of RECE and CBNC introduction on a functional state of organismic regulatory systems organism of young and aged animals: a rise in values indices of total power of neurohumoral regulation spectrum was observed due to activation of vegetative nervous system and humoral link of regulation.

The conducted experiments allow to substantiate the possible combined application of rhythmic extreme cryoexposures (-120°C) and cord blood based preparations in medical practice to correct impaired homeostasis of an aged human organism.

References

1. Aydaraliyev A.A., Maksimov A.L. Human adaptability to extreme conditions. – Leningrad: Nauka, 1988. – 124 p.
2. Babiychuk V.G. Comparative characteristics of cardiac rhythm in rats using different methods of cold exposures // Problems of Cryobiology. – 2007. – Vol. 17, N3. – P. 229–236.
3. Baevsky R.M., Berseneva A.P. Estimation of adaptable opportunities of an organism and risk of diseases development. – Moscow, 1997. – 235 p.
4. Butenko G.M., Voytenko V.P. Genetic and immunologic mechanisms of age pathology. – Kyiv: Zdorov'ya, 1983. – 142 p.
5. Voronin I.M., Govsha Yu.A., Istomina T.A., Belov A.M. Variability and spectral analysis of cardiac rhythm in diagnosis of dys-



- холодовых воздействий // Проблемы криобиологии. – 2007. – Т. 17, №3. – С. 229–236.
3. Баевский Р.М., Берсенева А.П. Оценка адаптационных возможностей организма и риска развития заболеваний. – М., 1997. – 235 с.
 4. Бутенко Г.М., Войтенко В.П. Генетические и иммунологические механизмы возрастной патологии. – К.: Здоров'я, 1983. – 142 с.
 5. Воронин И.М., Говша Ю.А., Истомина Т.А., Белов А.М. Вариабельность и спектральный анализ сердечного ритма в диагностике дисфункций синусового узла // Кардіологія. – 1999. – №10. – С. 32–34.
 6. Коркушко О.В. Сердечно-сосудистая система и возраст. – М.: Медицина, 1983. – 176 с.
 7. Крыжановский Г.Н. Общая патофизиология нервной системы: Руководство. – М.: Медицина, 1997. – 352 с.
 8. Матусова А.П. Клиническое значение статистического анализа сердечного ритма у больных с острым инфарктом миокарда // Кардиология. – 1989. – Т. 29, №1. – С. 29–32.
 9. Сметнев А.С., Жаринов О.И., Чубучный В.Н. Вариабельность ритма сердца, желудочковые аритмии и риск внезапной смерти // Кардиология. – 1995. – Т. 35, №4. – С. 49–52.
 10. Фролькис В.В. Синдромы старения // Вестник АМН СССР. – 1990. – №1. – С. 8–13.
 11. Фролькис В.В. Старение мозга. – Л.: Наука, 1991. – 277 с.
 12. Шиман А.Г., Кирьянова В.В., Максимова А.В. и др. Клинико-физиологические аспекты применения криотерапии // Вестник СПб Гос. Мед. Академии им. И.И. Мечникова. – 2001. – №1. – С. 27–34.
 13. Патент 40168, Україна, МПК А61В 18/00. Кріокамера для експериментального охолодження лабораторних тварин / Г.О. Бабійчук, О.В. Козлов, І.І. Ломакін, В.Г. Бабійчук; власник Інститут проблем криобіології і кріомедицини НАН України. – u200812930; заявл. 06.11.2008; опубл. 25.03.2009, Бюл. №6.
 14. Патент № 92227, Україна, МПК А01N1/02. Спосіб кріоконсервування ядровмісних клітин кордової крові, у тому числі гемопоетичних стовбурових клітин / Л.О. Бабійчук, В.І. Грищенко, Т.М. Гуріна та інші.; Заяв. №200814009 05.12.2008; опубл. 11.10.2010, Бюл. №19.
 15. Cornetta K., Laughlin M., Carter S. Umbilical cord blood transplantation in adults: results of the prospective Cord Blood Transplantation (COBLT) // Biol. Blood Marrow Transplant. – 1995. – Vol. 2, №11. – P. 149–160.
 16. Gluckman E., Broxmeyer H.A., Auerbach A.D. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling // N. Engl. J. Med. – 1989. – Vol. 32, №17. – P. 1174–1178.
 17. Long G.D., Laughlin M., Madan B. Unrelated umbilical cord blood transplantation in adult patients // Biol. Blood Marrow Transplant. – 2003. – Vol. 9, №12. – P. 772–780.
 18. Rocanova L., Ramphal P. The role of stem cells in the evolution of longevity and its application to tissue therapy // Tissue Cell. – 2003. – Vol. 35, №1. – P. 79–81.
 - function of the sinus node // Kardiologija. – 1999. – N10. – P. 32–34.
 6. Korkushko O.V. Cardiovascular system and age – Moscow: Meditsina, 1983. – 176 p.
 7. Kryzhanovsky G.N. General pathophysiology of nervous system: Handbook. – Moscow: Meditsina, 1997. – 352 p.
 8. Matusova A.P. Clinical value of statistical analysis of cardiac rhythm in patients with acute myocardial infarction // Kardiologiya. – 1989. – Vol. 29, N1. – P. 29–32.
 9. Smetnev A.S., Zharinov O.I., Chubuchny V.N. Heart rate variability, ventricular arrhythmias and risk of sudden death // Kardiologija. – 1995. – Vol. 34, N4. – P. 49–52.
 10. Frolkis V.V. Syndromes of aging // Vestnik AMN SSSR. – 1990. – N1. – P. 8–13.
 11. Frolkis V.V. Brain aging. – Leningrad: Nauka, 1991. – 277 p.
 12. Shiman A.G., Kiryanova V.V., Maksimova A.V. et al. Clinical and physiological aspects of cryotherapy // Vestnik of North-Western State Medical Academy named after I.I. Mechnikov. – 2001. – N1. – P. 27–34.
 13. Patent N 40168 Ukraine, IPC A61V 18/00. Cryochamber for experimental cooling of laboratory animals / G.O. Babiychuk, O.V. Kozlov, I.I. Lomakin, V.G. Babiychuk; owned by the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine. – Appl. u200812930 06.11.1998; Publ. 25.03.2009. – Bull. Nr. 6.
 14. Patent N92227 Ukraine IPC A01N1/02. Method of cryopreservation of nucleated cells of cord blood including hemopoietic stem cells / L.O. Babiychuk, V.I. Grischenko, T.M. Gurina et al.; Appl. №200814009 05.12.2008; Publ. 11.10.2010. – Bul. Nr. 19.
 15. Cornetta K., Laughlin M., Carter S. Umbilical cord blood transplantation in adults: results of the prospective Cord Blood Transplantation (COBLT) // Biol. Blood Marrow Transplant. – 1995. – Vol. 2, N11. – P. 149–160.
 16. Gluckman E., Broxmeyer H.A., Auerbach A.D. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling // N. Engl. J. Med. – 1989. – Vol. 32, N17. – P. 1174–1178.
 17. Long G.D., Laughlin M., Madan B. Unrelated umbilical cord blood transplantation in adult patients // Biol. Blood Marrow Transplant. – 2003. – Vol. 9, N12. – P. 772–780.
 18. Rocanova L., Ramphal P. The role of stem cells in the evolution of longevity and its application to tissue therapy // Tissue Cell. – 2003. – Vol. 35, N1. – P. 79–81.