

Кордова кров у корекції стресзумовлених гіпертензивних змін у щурів

Л.М. Самохіна¹, В.В. Ломако², Ю.С. Рудик¹

¹ДУ «Національний інститут терапії ім. Л.Т.Малої НАМН України»;

²Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків;
e-mail lub.samokhina@gmail.com

Мезенхімальні стовбурові клітини кордової крові (КК) активно використовують для корекції серцево-судинних порушень, важлива роль у формуванні яких належить хімазі та тоніну (або калікреїну II), здатних у людини утворювати ангіотензин II. На фоні зниження активності хімази за умов похилого віку дія тоніну призводить до підвищення артеріального тиску і частоти серцевих скорочень. Мета нашої роботи – дослідити активність хімази, тоніну при введенні КК старим щурам зі стресзумовленою гіпертензією (СЗГ), яку моделювали у тесті «не уникнення». Проводили один сеанс щодня протягом 3 тиж до стійкої гіпертензії. Аlogenну кріоконсервовану КК, яку отримували від 17–19-денних ембріонів щурів, вводили одноразово внутрішньоочеревинно по 0,5 мл (кількість клітин у дозі препарату $3,5 \cdot 10^7$ /мл). Через 4 доби після ін'єкції у сироватці крові, без'ядерних гомогенатах тканин кори мозку, легень, серця, печінки, нирок визначали активність хімази та тоніну ензиматичними методами. Розвиток СЗГ призводив до зниження активності хімази, особливо у сироватці крові, корі мозку, нирках, тоніну – у корі мозку, серці та нирках. Після введення КК щурам із СЗГ активність хімази та тоніну підвищувалась у всіх зразках, крім печінки. Слід відмітити істотні зміни активності тоніну у корі мозку та нирках. При цьому не спостерігали нормалізації цього показника у корі мозку, що вказує на необхідність збільшення дози препарату або кількості ін'єкцій, пролонгації строку спостереження для досягнення повного оновлюючого ефекту. Таким чином, введення аlogenної КК старим 24-місячним щурам зі СЗГ призводить до відновлення активності хімази, тоніну у більшості вивчених тканин.

Ключові слова: хімаза; тонін; стресзумовлена гіпертензія; кордова кров.

ВСТУП

Останні роки наше суспільство перебуває під дією серйозних кризових ситуацій: COVID-19 і російсько-українська війна [1, 2]. При цьому психосоціальний або психічний стрес став важливим фактором ризику, пов'язаним з високою частотою серцево-судинних порушень [3], тривалий стрес – з патогенезом серцево-судинних захворювань [4, 5], серед яких переважає за значимістю есенційна артеріальна гіпертензія [5–8].

Важливим елементом у регуляції серцевої функції є пряма генерація вазоконстрикторного пептиду ангіотензину II (АП) з ангіотензину-(1-12), яка відбувається за участю

хімази (ЕС 3.4.21.39) – найбільш ефективного ензиму, що утворює АП у людини [9]. Цей процес не вимагає наявності реніну, і саме хімаза, а не ангіотензинперетворюючий ензим (АПЕ), має високу каталітичну активність у безпосередньому перетворенні тканинного субстрату [10, 11]. Хімаза продукується опасистими клітинами, наявна у кардіоміоцитах, серцевих фібробластах і клітинах гладеньких м'язів [12]. Як АП-утворюючий ензим, вона міститься у тканинах судин людини, мавп, собак, хом'яків, а у кроликів, щурів, мишей цей ензим розщеплює АП на неактивні фрагменти і утворює вазоконстрикторний пептид лише за високої концентрації АІ [13]. Додекапептид ангіотензину-(1-12) є ендогенним

субстратом утворення АП у крові та серці людини, а у щурів – у серці, мозку, нирках, кишечнику, надниркових залозах [10]. Активність ренін-ангіотензинової системи серця за участю хімази сприяє хронічному перебігу гіпертензії та гіпертрофії серця [9]. Блокада хімази у щурів зі спонтанною гіпертензією знижує середній артеріальний тиск (–6%) і вміст АП у плазмі (–38%), нирках (–71%) та серці (–52%) [11].

У тканинах людини за незалежне від АПЕ утворення АП з АІ відповідають не лише хімаза, а й тонін, катепсин G та еластаза-2, і з ангіотензиногену – тонін, катепсин G або тканинний активатор плазміногену [5, 13]. Тонін або калікреїн II (ЕС 3.4.21.34) – серинова протеїназа, яка може впливати на скорочувальну функцію кардіоміоцитів, пов'язану зі зміною вмісту Ca^{2+} . Дія тоніну призводить до значного підвищення артеріального тиску та частоти серцевих скорочень. Підвищення його активності спостерігається у людей похилого віку на тлі зниження активності хімази, що пов'язують із некоронарогенними змінами, які сприяють посиленню серцевого ритму. На цьому фоні слід відзначити ефективність блокаторів рецепторів АП (БРА) [14]. Але вживання останніх одночасно з інгібіторами АПЕ може збільшити ризик зниження артеріального тиску, пошкодження нирок і підвищення концентрації калію. Взаємодія з БРА, впливаючи на вміст калію, також можуть знеболюючі препарати, такі як ібупрофен і напроксен.

Досвід використання пуповинної або кордової крові (КК) показав її ефективність при лікуванні цілої низки захворювань [15, 16]. Відомо, що КК є альтернативним джерелом гемопоетичних стовбурових клітин, які здатні зменшувати пошкодження головного мозку переважно через протизапальні та імуномодулюючі механізми [17]. З моноклеарних клітин КК отримані функціонально компетентні $CD8^+$ Т-клітини, специфічні до вірусних антигенів [18]. Мезенхімальні стовбурові клітини КК, здатні

диференціюватися у клітини, специфічні для тканин органів [19], активно використовуються у дослідженнях серцево-судинної системи [15, 20].

Мета нашої роботи – дослідити активність хімази, тоніну за умов введення КК старим щурам зі стимульованою артеріальною гіпертензією.

МЕТОДИКА

Робота виконана на 24-місячних білих безпородних аутбредних самцях щурів (*Rattus norvegicus*), отриманих методом стадної рандомбредної системи розведення, яких до початку експерименту утримували у віварії Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (ІПКіК НАНУ) при світловому природному режимі на стандартному раціоні *ad libitum*. Тварин розподілили на три групи (по 6 у кожній). До 1-ї контрольної групи ввійшли інтактні тварини, до 2-ї – зі стресзумовленою гіпертензією (СЗГ), до 3-ї – щури зі СЗГ, яким вводили КК.

Моделювали СЗГ у тесті «не уникнення» переривчастим впливом електричного струму 30–50 А (15 с – дія, 45 с – перерва) протягом 30 хв. Один сеанс здійснювали щодня протягом 3 тиж до отримання стійкої гіпертензії: тиск становив $221,6 \pm 9,8$ мм рт. ст., у контролі – $130,0 \pm 12,2$ мм рт. ст. У експерименті використовували кріоконсервовану алогенну КК, яку отримували від 17–19-денних ембріонів щурів. Після розморожування її вводили тваринам внутрішньоочеревинно по 0,5 мл (кількість клітин у дозі препарату становила $3,5 \cdot 10^7$ /мл). Кріоконсервування КК щурів здійснювали розробленими у ІПКіК НАНУ методами з відповідно високим рівнем їхньої життєздатності [21, 22]. Через 4 доби після ін'єкції КК щурів виводили з експерименту. Тиск у щурів 3-ї групи становив $154,0 \pm 4,1$ мм рт. ст.

Експерименти проводили відповідно до Закону України «Про захист тварин від

жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) і положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), та були схвалені Комітетом із біоетики ПККіК НАН України (Протокол № 5 від 15.10.2003).

Кров збирали у пробірки, відстоювали 10 хв при кімнатній температурі та центрифугували 15 хв при 5000g на центрифугі MPW-331 («Mechanika Precyzyjna», Польща). Печінку перфузували охолодженим фізіологічним розчином упродовж 5–10 хв. Тканини кори мозку, легень, серця, печінки та нирок (300 мг) подрібнювали та гомогенізували у 3 мл 0,2 М Na-фосфатного буфера рН 7,2 при 4–6°C. Гомогенати тканин центрифугували протягом 10 хв при 5000g на центрифугі PC-6 («Dastan», Казахстан) при 4°C. Проби сироватки крові та аліквоти 10%-х гомогенатів тканин до аналізу зберігали при –20°C.

Визначали активність хімази і тоніну високочутливими (10^{-9} – 10^{-10} г) ензиматичними методами, які ґрунтуються на розщепленні комплексу маркерного ензиму (пероксидази хрону) та протеїнового субстрату, іммобілізованого на поверхні полістиролу [13, 23]. У результаті протеолітичної реакції відбувається розщеплення та десорбція субстрату з поверхні полістиролу разом із молекулами зв'язаного з ним маркерного ензиму. Для оцінки активності хімази як субстрат використовували фрагмент 4–8 АП, для тоніну – протамінсульфат. Перед аналізом активності хімази попередньо окремо проводили реакцію пригнічення трипсину, плазміну, сироваткового калікреїну, тоніну (має трипсин- і хіотрипсинподібну активність) додаванням (1:1 за об'ємом) соєвого інгібітора трипсину у концентрації 0,01 мкг/мл і інкубували 5 хв при 37°C. Для визначення активності тоніну попередньо пригнічували калікреїноподібні ензими додаванням (1:1 за об'ємом) апротиніну (20 мкг/мл) і інкубували 5 хв при 37°C. Активність хімази та тоніну

розраховували за змінами активності маркерного ензиму – пероксидази хрону у реакції з ортофенілєндіаміном. Оптичну щільність зразків вимірювали при 490 нм. Активність хімази і тоніну виражали у наномолях субстрату за 1 хв.

У дослідженнях використовували пероксидазу хрону, соєвий інгібітор трипсину, протамінсульфат («ICN», США), трипсин («Srofa», Чехія) та інші реагенти («Reaxim», Україна); полістиролові планшети («KIMA», Італія), а також фотометр-аналізатор імуноензимний Humanreader («Human», Німеччина).

Результати були оброблені за допомогою пакета інструментів MS Excel із використанням метода Стьюдента-Фішера та непараметричного критерію Манна-Уїтні-Вілкоксона. Описову статистику вказували як середнє ± стандартна похибка (SE).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У тварин зі СЗГ виявлено зниження активності хімази у всіх зразках тканин, більш суттєво (за критерієм Стьюдента-Фішера) у сироватці крові, корі мозку та нирках, тоніну – у корі мозку, серці і нирках, менш – у сироватці крові (таблиця). Введення КК призводило до підвищення активності хімази, тоніну у всіх досліджених зразках, окрім печінки – місця синтезу вказаних ензимів. Істотні відмінності за критерієм Стьюдента-Фішера відзначено лише стосовно тоніну у корі мозку і нирках (порівняно з контролем і значеннями при СЗГ). Використання непараметричного критерію дало змогу відзначити вірогідні зміни активності хімази порівняно зі значеннями у тварин зі СЗГ у всіх зразках окрім печінки, тоніну – у сироватці крові, корі мозку і нирках, але порівняно з контролем активність хімази залишалася зниженою у сироватці крові, корі мозку, серці і печінці, тоніну – у корі мозку, а у сироватці крові і легенях спостерігали її підвищення.

Зниження активності хімази за умов СЗГ у 24-місячних щурів може сприяти

збільшенню артеріального тиску, внаслідок зменшення розщеплювання АП. А аналогічна закономірність щодо активності тоніну ймовірно, вказує на його виснаження у процесі утворення АП. Підвищення активності хімази, тоніну під дією КК свідчить про вивільнення вказаних ензимів з печінки, відновлення гомеостазу організму. Можна припустити, що мезенхімальні стовбурові клітини КК диференціювалися, як вказано іншими авторами [19], і це призвело до збільшення кількості гепатоцитів, здатних вивільняти ензими, зокрема хімазу, тонін. Крім того, КК, яка є внутрішнім середовищем організму, що росте, забезпечує доставку до різних тканин і органів біологічно активних речовин [24]. Особливостями плазми КК є наявність більш ніж 60 специфічних

плацентарних білків, що відіграють роль ферментів, коферментів, гемопоетинів, адаптогенів, рецепторів, факторів росту, імунорегуляторних агентів. Вона також містить цілу низку опіюїдних пептидів, має високу гормональну насиченість, високий вміст вітамінів і мікроелементів, нейропептидів і низькомолекулярних сполук. Ці речовини знаходяться у збалансованих концентраціях і є потужним біологічно активним комплексом, який нормалізує обмін речовин при введенні до дорослого організму. Але зростання активності хімази після введення КК виявилось недостатнім для досягнення контрольного рівня у всіх тканинах, що може сприяти підтримці зниженого вмісту АП у 24-місячних щурів.

Ефект КК узгоджується із залученням

Активність хімази та тоніну (нмоль субстрату/хв) у старих щурів із стресзумовленою гіпертензією (СЗГ) та за умов дії кордової крові (КК)

Біологічний зразок	Активність хімази			Активність тоніну		
	Контроль	СЗГ	СЗГ і КК	Контроль	СЗГ	СЗГ і КК
Сироватка крові	0,012± 0,003	0** [§]	0,0088± 0,0020 [§] P _{сзг2} <0,05	0,0025± 0,0008	0,0015±0,0004 [§]	0,0051±0,0020 [§] P _{сзг2} <0,05
Кора мозку	0,032± 0,006	0,0009±0,0003* [§]	0,0160± 0,0054 [§] P _{сзг2} <0,05	0,0055± 0,0018	0,0005±0,0001* [§]	0,0025±0,0005* [§] P _{сзг1} <0,01 P _{сзг2} <0,05
Легені	0,020± 0,008	0,0033±0,0011 [§]	0,021± 0,006 P _{сзг2} <0,05	0,0013± 0,0004	0,0025±0,0008	0,0059±0,0016 [§]
Серце	0,020± 0,008	0,0009±0,0003 [§]	0,0088± 0,0035 [§] P _{сзг2} <0,05	0,0050± 0,0016	0,0017±0,0005** [§]	0,0042±0,0016
Печінка	0,128± 0,042	0,0050±0,0011 [§]	0,0013± 0,0003 [§]	0,0038± 0,0012	0,0017±0,0006	0,0014±0,0006
Нирки	0,014± 0,005	0,0009±0,0003* [§]	0,022± 0,008 P _{сзг2} <0,05	0,0047± 0,0015	0,00014± 0,00004** [§]	0,0051±0,0012 P _{сзг1} <0,05 P _{сзг2} <0,05

Примітки: 1) *,** ступінь вірогідності відмінностей порівняно з контролем за критерієм Стьюдента-Фішера, P < 0,05, P < 0,01 відповідно; 2) [§] зміни достовірні порівняно з контролем за критерієм Манна-Уїтні-Вілкоксона, P < 0,05; 3) P_{сзг1} – ступінь вірогідності відмінностей порівняно зі значеннями при СЗГ за критерієм Стьюдента-Фішера; 4) P_{сзг2} – зміни достовірні порівняно зі значеннями СЗГ за критерієм Манна-Уїтні-Вілкоксона.

альтернативних шляхів до опосередкованого відновлення мозку, процесів ангиогенезу [25]. Множинні захисні та відновлювальні ефекти трансплантатів клітин КК можуть бути взаємозалежними та діяти синергічно, сприяючи терапевтичним перевагам. Для досягнення оновлюючого ефекту щодо дії тоніну під впливом КК у корі мозку старих щурів необхідне збільшення дози препарату або кількості ін'єкцій, або пролонгація строку спостереження. Отримані результати узгоджуються з описаними раніше даними, які свідчать про можливість корекції під дією КК змін у системі протеїназа–інгібітор протеїназ, викликаних стимулюванням гіпертензії у старих щурів [26]. При цьому була виявлена низька активність α -2-макроглобуліну, одного з основних інгібіторів протеїназ, зокрема хімази і тоніну, що свідчить про недостатню ефективність одноразового введення КК для нормалізації неспецифічної захисної системи організму. Але можливо саме цей факт сприяв підвищенню активності хімази і тоніну, відзначеному у нашому дослідженні.

При цьому слід зауважити, що існують обмеження використання КК [27]. Для їх подолання запропоновано спеціальні стратегії, одна з яких передбачає *ex vivo* збільшення дози КК перед трансплантацією, друга – включає вплив на КК сполук, які спроможні покращити хоумінг (поділ в організмі та пошук місця, де їхня допомога найпотрібніша), приживлення після трансплантації. Такі підходи зараз тестуються на пізніх етапах багатоцентрових клінічних випробувань. У разі доведення їх ефективності вони можуть змінити підходи для трансплантації алогенних стовбурових клітин. Маніпуляції з клітинами КК людини *in vitro* показали їх пластичність через прості молекулярні характеристики та гарну переносимість [28].

Слід також зазначити, що у інтактних щурів з віком підвищується активність хімази у сироватці крові, корі мозку та печінці і це

пов'язують зі зниженням вазоконстрикції, враховуючи видову специфічність цього ензиму [13]. У нирках здорових самців вона знижується у 6 міс порівняно зі значеннями у Зміс і залишається зниженою у 24 міс, що може сприяти локальному вазоконстрикторному ефекту, зменшенню розщеплення АП. Тобто у нирках самців щурів із СЗГ прояв активності хімази наймовірніше пов'язаний з віковими змінами і відновлюється після введення КК. Ефективність КК у корекції вікових порушень відбувається і на гормональному рівні [29]. Активність центральної ланки гіпофізарно-тиреоїдної системи (за вмістом тиреотропного гормону) у щурів із віком зменшується. Індекс периферичної конверсії (відношення вмісту тироксину до трийодтироніну (Т4/Т3)) також знижується, що вказує на пригнічення функціональної активності щитоподібної залози. Введення ядровмісних клітин КК у 18-місячних щурів призводить до збільшення вмісту тиреотропного гормону, Т3 вільного. У зв'язку з цим слід зазначити особливу роль опасистих клітин, що містять хімазу і здатні модулювати ефекти Т3 [30]. Вони можуть його накопичувати і експресувати зв'язані з мембраною рецептори тиреотропного гормону. У людей гормони щитоподібної залози істотно впливають на серцево-судинні функції, сприяють розвитку гіпертензії [31]. Вільні форми Т3 і Т4 сироватки крові пов'язані з підвищеним артеріальним тиском, принаймні у дорослих за умов нормальної активності залози.

Враховуючи нинішню актуальність ситуації з COVID-19 слід зауважити, що псевдовіріони, у які включений спайковий глікопротеїн SARS-CoV-2, викликають активацію опасистих клітин [32]. Хімаза з цих клітин здатна утворювати комплекс зі спайковим білком, сприяє протеазозалежному проникненню вірусу. При цьому опасисті клітини мають не лише патогенний вплив на проникнення вірусу SARS-CoV-2, а також діють як імуномодулятор, який має захисну дію. Тому вивчення впливу КК, з якої можуть

бути отримані функціонально компетентні CD8⁺ Т-клітини, специфічні до вірусних антигенів [18], можна розглядати як перспективний варіант при розробці природних лікарських засобів для контролю серцево-судинних ускладнень COVID-19, зокрема гіпертензивних змін. Ефективність КК щодо підвищення активності хімази (зниження вмісту АП у щурів), тоніну зумовлена тим, що калікреїн-брадікінінова система та хімаза інтенсивно переплітаються з ренін-ангіотензиновою системою через безліч шляхів зі складними реципрокними взаємодіями, які стосуються патофізіології захворювання COVID-19, включаючи діяльність легневих альвеолярних клітин та макрофагів, судинну мережу, серцево-судинну систему, шлунково-кишковий тракт та тканини нирок [33].

Для визначення ефективності використання КК і подальшого її впровадження у стандартну клінічну практику потрібні додаткові рандомізовані плацебо-контрольовані дослідження [34]. З розвитком нових технологій, що дають змогу краще характеризувати, відбирати та розширювати різні клітинні популяції КК, можна було б попереджати розвиток багатьох патологічних станів.

Таким чином, формування СЗГ у старих 24-місячних щурів пов'язано зі зниженням активності хімази, особливо у сироватці крові, корі мозку та нирках, тоніну – у корі мозку, серці і нирках. Введення алогенної КК призводило до протилежно спрямованих змін, а саме: підвищення активності хімази, тоніну у всіх досліджених зразках, окрім печінки – місця синтезу вказаних ензимів. При цьому у корі мозку відсутня нормалізація активності тоніну, що вказує на необхідність збільшення дози клітинного препарату або кількості ін'єкцій, пролонгації строку спостереження для досягнення повного оновлюючого ефекту.

Робота виконана в рамках НДР: тема ПР 01/22, № держреєстрації 0122U000391 (2022-2024 рр.) та тема № 103, шифр 2.2.6.103, № держреєстрації 0116U003493 (2016-2020).

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

L.M. Samokhina¹, V.V. Lomako², Yu.S. Rudyk¹

CORD BLOOD IN CORRECTING STRESS-INDUCED HYPERTENSIVE CHANGES IN RATS

¹*L.T. Malaya named National Institute of Therapy of the National Academy of Sciences of Ukraine, state institute, Kharkiv;*

²*Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv; e-mail lub.samokhina@gmail.com*

Mesenchymal stem cells from cord blood (CB) are actively used for the correction of cardiovascular disorders, the important role in the formation of which belongs to chymase and tonin (or kallikrein II), capable of forming angiotensin II in humans. In elderly people, the action of tonin leads to an increase in blood pressure and heart rate against the background of chymase activity decrease. The aim of our work was to investigate the activity of chymase and tonin under allogenic CB injection to old rats with stress-induced hypertension (SIH). The SIH was modeled using the "non-avoidance" test, conducting one session daily for three weeks until stable hypertension was achieved. Allogeneic cryopreserved CB, which was obtained from 17-19-day-old rat embryos, was injected intraperitoneally once in 0.5 ml ($3.5 \cdot 10^7$ cells/ml). 4 days after the injection, the activity of chymase and tonin was determined by enzymatic methods in blood serum, nuclear-free homogenates of brain cortex, lung, heart, liver, and kidney tissues. The SIH development led to a decrease in the chymase activity, more significantly in blood serum, brain cortex, kidneys and the tonin activity in the brain cortex, heart and kidneys. After the CB injection to rats with SIH, the chymase and tonin activities increased in all samples except the liver. Significant changes were noted only for tonin in the brain cortex and kidneys. At the same time, normalization of this indicator was not observed in the brain cortex, which indicates the need to increase the dose of the cellular drug or the number of injections and prolong the observation period to achieve a full renewing effect. Thus, allogeneic umbilical CB injection to 24-month-old rats with SIH leads to restoration of chymase and tonin activity in most of the studied tissues. Key words: chymase; tonin; stress-induced hypertension; cord blood.

REFERENCES

1. Limone P, Toto GA, Messina G. Impact of the COVID-19 pandemic and the Russia-Ukraine war on stress and anxiety in students: A systematic review. *Front Psychiatr.* 2022;25;13:1081013.
2. Vadzyuk SN, Sas BB, Ratynska OM, Tkachuk SS. Features of psycho-emotional state in people with different stress resistance. *Fiziol Zh.* 2022;68(2):92-7.
3. Sara JDS, Toya T, Ahmad A, Clark MM, Gilliam WP, Lerman LO, et al. Mental stress and its effects on vascular health. *Mayo Clin Proc.* 2022;97(5):951-90.
4. Silva AA, Perilhão MS, Portes LA, Serra AJ, Tucci PJF, Leopoldo AS, et al. Physical exercise attenuates stress-induced hypertension in rats but not the impairments on the myocardial mechanics. *J Hypertens.* 2022;40(3):528-35.
5. Samokhina LM, Rudyk YuS. Stress and hypertension in war and COVID-19 conditions. *Fiziol Zh.* 2023;69(5):100-13.
6. Gideon A, Sauter C, Ehlert U, von Känel R, Wirtz PH. Aldosterone hyperreactivity to acute psychosocial stress induction in men with essential hypertension. *Horm Behav.* 2021;134:105018.
7. Bal NB, Han S, Kiremitci S, Uludag MO, Demirel-Yilmaz E. Reversal of deleterious effect of hypertension on the liver by inhibition of endoplasmic reticulum stress. *Mol Biol Rep.* 2020;47(3):2243-52.
8. Mahmood S, Shah KU, Khan TM, Nawaz S, Rashid H, Baqar SWA, et al. Non-pharmacological management of hypertension: in the light of current research. *Ir J Med Sci.* 2019;188(2):437-52.
9. Reyes S, Cheng CP, Roberts DJ, Yamashita T, Ahmad S, VonCannon JL, et al. Angiotensin-(1-12)/chymase axis modulates cardiomyocyte L-type calcium currents in rats expressing human angiotensinogen. *Int J Cardiol.* 2019;297:104-10.
10. Ferrario CM, Groban L, Wang H, Cheng CP, VonCannon JL, Wright KN, et al. The Angiotensin-(1-12)/Chymase axis as an alternate component of the tissue renin angiotensin system. *Mol Cell Endocrinol.* 2021;529:111119.
11. Roszkowska-Chojecka MM, Baranowska I, Gawrys O, Sadowski J, Walkowska A, Kalisz M, et al. Role of chymase in blood pressure control, plasma and tissue angiotensin II, renal Haemodynamics, and excretion in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens.* 2021;43(5):392-401.
12. Dell'Italia LJ, Collawn JF, Ferrario CM. Multifunctional role of chymase in acute and chronic tissue injury and remodeling. *Circ Res.* 2018;122(2):319-36.
13. Samokhina LM, Lomako VV. Activity of chymase, tonin and calpains in tissues of males and females rats of different ages. *Advances Gerontol.* 2021;11(3):247-53.
14. Carter A, Donovan R. Angiotensin II Receptor Blockers (ARBs). *Pharm.D.* 2022; Jul: 8.
15. Roura S, Pujal JM, Gálvez-Montón C, Bayes-Genis A. Impact of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells on cardiovascular research. *Biomed Res Int.* 2015;2015:975302.
16. Orlando N, Pellegrino C, Valentini CG, Bianchi M, Barbagallo O, Sparnacci S, et al. Umbilical cord blood: Current uses for transfusion and regenerative medicine. *Transfus Apher Sci.* 2020;59(5):102952.
17. Qiu H, Qian T, Wu T, Wang X, Zhu C, Chen C, et al. Umbilical cord blood cells for the treatment of preterm white matter injury: Potential effects and treatment options. *J Neurosci Res.* 2021;99(3):778-92.
18. Germeis AE, Karanikas V. Cord blood as a source of non-senescent lymphocytes for tumor immunotherapy. *J Reprod Immunol.* 2010;85(1):47-50.
19. Körbling M, Robinson S, Estrov Z, Champlin R, Shpall E. Umbilical cord blood-derived cells for tissue repair. *Cytotherapy.* 2005;7(3):258-61.
20. Roura S, Gálvez-Montón C, Bayes-Genis A. Umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells: new therapeutic weapons for idiopathic dilated cardiomyopathy? *Int J Cardiol.* 2014;177(3):809-18.
21. Babiichuk LO, Hryshenko VI, Hurina TM, Riazantsev VV, Zubova OL, Zubov PM. Method for cryoconservation of whole cord blood. Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine patent UA 80062. 2007 Aug 10.
22. Tsutsaieva AO, Hryshenko VI, Zheltiakova IO, Brovko OV, Chernousova SS, Peschanskyi MI. Method for cryopreserving nucleated cells in composition of whole cord blood. Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, patent UA 81368. 2007 Dec 25.
23. Samokhina LM. Stress, hypertension and adaptation. LAP LAMBERT Acad Publ. Deutschland. 2015.
24. Makashova OE. The influence of antioxidants on the state of nucleated cells of cord blood during cryopreservation with the cryoprotector dimethylsulphoxide [dissertation]. Kharkiv (UA): Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine. 2018.
25. Park DH, Borlongan CV, Willing AE, Eve DJ, Cruz LE, Sanberg CD, et al. Human umbilical cord blood cell grafts for brain ischemia. *Cell Transplant.* 2009;18(9):985-98.
26. Samokhina LM, Babiychuk VG, Lomako VV, Mamontov VV, Poznahareva IA, Samokhin AA, et al. The proteinase-proteinase inhibitor system in old rats with stimulated hypertension under the cord blood influence. *Ukr Biochem J.* 2002;74(2):95-9.
27. Maung KK, Horwitz ME. Current and future perspectives on allogeneic transplantation using *ex vivo* expansion or manipulation of umbilical cord blood cells. *Int J Hematol.* 2019;110(1):50-8.
28. Herranz AS, Gonzalo-Gobernado R, Reimers D, Asensio MJ, Rodríguez-Serrano M, Bazán E. Applications of human umbilical cord blood cells in central nervous system regeneration. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2010;5(1):17-22.
29. Lomako VV, Shilo OV, Samokhina LM, Lutsenko DG. Pituitary-thyroid system of rats of different ages under desynchronization, cryostimulation and cord blood

- administration. Probl Cryobiol Cryomed 2022;32(3):196-205. [Ukrainian].
30. Landucci E, Laurino A, Cinci L, Gencarelli M, Raimondi L. Thyroid hormone, thyroid hormone metabolites and mast cells: A Less explored Issue. Front Cell Neurosci. 2019;13:79.
31. Gu Y, Zheng L, Zhang Q, Liu L, Meng G, Yao Z, et al. Relationship between thyroid function and elevated blood pressure in euthyroid adults. J Clin Hypertens (Greenwich). 2018;20(10):1541-9.
32. Liu S, Suzuki Y, Takemasa E, Watanabe R, Mogi M. Mast cells promote viral entry of SARS-CoV-2 via formation of chymase/spike protein complex. Eur J Pharmacol. 2022;930:175169.
33. Abassi Z, Skorecki K, Hamo-Giladi DB, Kruzel-Davila E, Heyman SN. Kinins and chymase: the forgotten components of the renin-angiotensin system and their implications in COVID-19 disease. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2021;320(3):L422-9.
34. Xue E, Milano F. Are we underutilizing bone marrow and cord blood? Review of their role and potential in the era of cellular therapies. 2020;9:F1000.

*Матеріал надійшов
до редакції 11.09.2023*