

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

АЙДАРОВА ВІКТОРІЯ СЕРГІЇВНА

УДК 616.592+611.018.5:618.48]:57.086.13:616.831-092.4

ДИСЕРТАЦІЯ

ВПЛИВ РИТМІЧНОЇ ГІПОТЕРМІЇ ТА КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ КОРДОВОЇ
КРОВІ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЦЕНТРАЛЬНОЇ
НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ З ДИСЦИРКУЛЯТОРНОЮ
ЕНЦЕФАЛОПАТІЄЮ

(експериментальне дослідження)

за спеціальністю 14.01.35 – «Кріомедицина»

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук
(доктора філософії)

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ (В.С. Айдарова)

(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник (консультант)

д.м.н., ст.н.с. В.Г. Бабійчук

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступень, вчене звання)

Харків

2020

АНОТАЦІЯ

Айдарова В. С. Вплив ритмічної гіпотермії та кріоконсервованої кордової крові на структурно-функціональний стан центральної нервової системи щурів з дисциркуляторною енцефалопатією. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.01.35 «Кріомедицина». – Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків, 2020.

Терапевтична гіпотермія (ТГ) в безпечному діапазоні зниження температури тіла має доведені нейропротективні властивості, забезпечуючи зниження ступеня прогресування цереброваскулярної патології (ЦВП) та зменшення обсягу неврологічного дефіциту.

Краніоцеребральна гіпотермія (КЦГ), як метод локальної ТГ, володіючи нейропротективними властивостями, прямо пов'язаними зі зниженням температури головного мозку (ГМ), обмежує розвиток ефектів ексайтотоксичності, продукцію прозапальних і апоптозіндукуючих факторів, утворення вільних радикалів, набряку, що в сукупності сприяє значному зменшенню вторинних ушкоджень ГМ після ішемії, реперфузії і нейротравми.

Холодовий подразник впливає на всі структури центральної нервової системи (ЦНС) на всіх рівнях. Як показали раніше проведені в ІПКіК НАН України дослідження, КЦГ дозволяє цілеспрямовано змінювати проникність гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ), коригувати вегетативну регуляцію периферичних процесів, активно впливати на нейромедіаторні системи. Ритмічна КЦГ (рКЦГ) призводить до вираженої корекції регуляторних процесів в ЦНС і серцево-судинній системі (ССС) у гіпертензивних щурів завдяки резонансу правильно підбраною ритміки холодкових впливів з ритмічними характеристиками інтегральної (центральної) ланки регуляції.

Спроби створення принципово нових методів лікування ЦВП призвели до досліджень в області терапії стовбуровими клітинами (СК), які можуть служити

цінним джерелом нейроноподібних клітин і нейротрофічних факторів для лікування цілого ряду нейродегенеративних захворювань судинного генезу. Багатогранність терапевтичного потенціалу кордової крові (КК) пов'язують з наявністю в ній мультипотентних СК, які здатні давати початок не тільки гемопоетичним СК, але і епітеліальним, ендотеліальним і нервовим клітинам-попередникам.

З огляду на те, що в Україні в структурі ЦВП 96% належить хронічним порушенням мозкового кровообігу, які об'єднуються терміном «дисциркуляторна енцефалопатія» (ДЕ), а рКЦГ підвищує прояви центральних (парадоксальних) ефектів системно введених лікарських препаратів та може застосовуватися в терапії хронічної алкогольної інтоксикації (ХАІ), доцільним є визначення дії рКЦГ, кріоконсервованих ядровмісних клітин КК (кЯВК КК) та їх поєднаного застосування на порушення структурно-функціонального стану ЦНС у щурів при різних формах експериментальної енцефалопатії.

У дисертаційній роботі вперше дана оцінка структурно-функціональним змінам, які відбуваються в регуляторних системах організму щурів лінії SHR, на тлі розвитку гіпертензивної та ускладненої ХАІ ДЕ, до та після проведення рКЦГ, введення кЯВК КК та за їх поєднання. Вперше з'ясована ефективність самостійного та поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК з метою зниження прогресуючого судинного ураження ГМ та наслідків дії хронічної ішемії у тварин з різними формами ДЕ.

Для оцінки стану регуляторних систем організму нормотензивних та гіпертензивних щурів (безпородні білі та щури лінії SHR (spontaneously hypertensive rats)) проведені гістологічні (з оцінкою морфометричних показників) дослідження тканин ГМ з області прецентральної звивини, як одного із головних маркерів, що відображає процес прогресуючого старіння мозку, визначено концентрацію малонового діальдегіду (МДА), який характеризує інтенсивність перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) в мозковій тканині, рівень гемореологічних показників (кількість еритроцитів та в'язкість крові, гематокрит, коефіцієнт оксигенації органів та тканин), досліджено показники спектрального аналізу

варіабельності серцевого ритму (BCP) та артеріального тиску (АТ), дана оцінка змінам когнітивних функцій. Усі дослідження проводили через 7 та 30 діб після відповідних впливів.

Вперше показано, що у щурів з гіпертензивною та змішаною (гіпертензивна, що обтяжена ХАІ) формами ДЕ застосування рКЦГ, кЯВК КК і їх поєднання призводить до зменшення прояву ішемії мозку за рахунок зниження нейрогліального індексу та збільшення кількості функціонуючих капілярів, а також появи морфологічних ознак поліпшення кровообігу.

На 30 добу після рКЦГ в корі ГМ тварин з гіпертензивною і змішаною формою ДЕ спостерігається збільшення кількості функціонуючих капілярів (на 14,5% і 38,3% відповідно), зменшення нейрогліального індексу (на 16,22% і 63,85% відповідно).

Введення кЯВК КК, супроводжується регенерацією нейроклітин, стимуляцією ангиогенезу, зниженням проявів дистрофічних, деструктивних і патологічно змінених компенсаторно-адаптивних процесів в тканинах ГМ, що сприяє відновленню його мікрогемодинаміки та цитоархітекτονіки. Крім того, застосування кЯВК КК, у щурів з гіпертензивною і змішаною формою ДЕ підвищує кількість функціонуючих капілярів з добре вираженим просвітом (на 18,55% і 68,67% відповідно) на тлі зменшення нейрогліального індексу (на 20,95% і 44,49% відповідно).

Поєднане використання рКЦГ і кЯВК КК у тварин з гіпертензивною і змішаною формою ДЕ призводить до статистично значущого збільшення кількості функціонуючих капілярів (на 20,17% і 75,90% відповідно), зниження нейрогліального індексу (на 25,68% і 47,58% відповідно), повної або часткової ліквідації ознак гіперплазії гладком'язових клітин, спазму стінок артеріальних судин і повнокров'я в венах.

Вперше встановлено, що у щурів лінії SHR не залежно від форми ДЕ, застосування рКЦГ не змінює вихідний рівень активності процесів ПОЛ в тканинах ГМ. Введення кЯВК КК і, більшою мірою, поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК призводить до підвищення антиоксидантного захисту тканин ГМ

щурів лінії SHR з ДЕ змішаного генезу, завдяки статистично значущому зменшенню вмісту МДА в тканинах ГМ (на 22,5% і 28% відповідно), при цьому не впливаючи на процеси ПОЛ у тварин з генетично детермінованою формою ДЕ.

Вперше виявлено, що рКЦГ не впливає на основні гемореологічні показники крові (кількість еритроцитів, в'язкість крові, гематокрит) у щурів з гіпертензивною формою ДЕ, проте значно збільшує (на 23%) рівень доставки кисню до тканин в групі тварин з ДЕ, ускладненою ХАІ. У спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR, не залежно від форми ДЕ, введення кЯВК КК і їх поєднане застосування з рКЦГ на всіх етапах експериментальних досліджень супроводжується поліпшенням постачання органів і тканин киснем та зниженням рівня гіпоксії.

Вперше показано, що у щурів з гіпертензивною та змішаною формами ДЕ, поряд зі стійким підвищенням рівня артеріального тиску (АТ), відзначаються різні за характером зміни вегетативного балансу. Вперше встановлено, що поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК сприяє зниженню показників АТ, надає найбільш виражений позитивний вплив на стан нейрорегуляторних систем, а також призводить до значущого поліпшення когнітивних функцій експериментальних тварин не залежно від форми ДЕ. Відзначається активація адаптаційно-компенсаторних процесів зі збалансованістю ваго-симпатичних взаємин і нейрогуморальних факторів регуляції.

Таким чином, самостійне та поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК зменшує ознаки прояву дистрофічних, деструктивних і патологічно змінених компенсаторно-адаптивних процесів в ГМ щурів з різними формами ДЕ, за рахунок відновлення його мікрогемоциркуляції та цитоархітекτονіки.

Виявлені в ході досліджень прояви впливу рКЦГ і кЯВК КК на структурно-функціональний стан ЦНС організму спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами ДЕ обґрунтовують перспективність їх застосування в різних галузях медицини (неврології, наркології, реаніматології, травматології). Отримані експериментальні дані розкривають деякі механізми самостійного та поєднаного застосування рКЦГ і ЯВК КК, що спрямовані на підвищення

активності компенсаторних процесів в регуляторних системах організму тварин, порушених внаслідок розвитку прогресуючого судинного ураження ГМ, доводять доцільність їх використання з метою корекції тотальної або часткової ішемії ГМ.

Ключові слова: ритмічна краніоцеребральна гіпотермія, кріоконсервовані ядровмісні клітини кордової крові, спонтанно гіпертензивні щури, дисциркуляторна енцефалопатія, центральна нервова система.

ANNOTATION

Aidarova V.S. Effect of rhythmic hypothermia and cryopreserved cord blood on structural-functional state of central nervous system of rats with dyscirculatory encephalopathy (experimental study). – The qualifying paper as a manuscript.

Thesis for the degree of Candidate of Medical Sciences (Philosophy Doctor) in specialty 14.01.35 - “Cryomedicine”. - Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, 2020.

Therapeutic hypothermia (TH) within safe range of body temperature lowering has the proven neuroprotective properties, by providing a reduction of the progression extent of cerebrovascular pathology (CVP) and a decrease in a volume of neurological deficits.

Craniocerebral hypothermia (CCH), as a method of local TH, having neuroprotective properties, directly associated with a decrease in brain temperature, limits the development of effects of excitotoxicity, production of pro-inflammatory and apoptosis-inducing factors, formation of free radicals, oedema, that all together contributes to a significant diminishing of secondary injuries to brain after ischemia, reperfusion and neurotrauma.

Cold stimuli affect all the structures of the central nervous system (CNS) at all the levels. As evidenced by the studies performed earlier at the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of Ukraine, the CCH allows to purposefully change the permeability of the blood-brain barrier (BBB), to correct the vegetative regulation of peripheral processes, to actively influence the neurotransmitter systems. Rhythmic CCH

(RCCH) results in a pronounced correction of regulatory processes in the CNS and cardiovascular system (CVS) in hypertensive rats due to the resonance of properly selected rhythms of cold influences with the rhythmic characteristics of the integral (central) level of regulation.

Attempts to create the fundamentally new treatment methods for CVP have led to the investigations in the field of stem cell (SCs) therapy, which can serve as a valuable source of neuron-like cells and neurotrophic factors to treat a variety of neurodegenerative diseases of vascular genesis. The versatile therapeutic potential of cord blood (CB) is associated with the presence of multipotent SCs in it, which are capable of initiating not only hematopoietic SCs but also epithelial, endothelial and nerve progenitors.

Considering that in Ukraine in the structure of CVP 96% belongs to chronic disorders of cerebral circulation, which are combined by the term "dyscirculatory encephalopathy" (DE), and the RCCH increases the manifestations of central (paradoxical) effects of systemically administered drugs and can be used in therapies of chronic alcohol intoxication (CAI), it is expedient to determine the effect of the RCCH, cryopreserved CB nucleated cells (cCBNCs) and their combined use in disorders of the CNS structural and functional state in rats in various forms of experimental encephalopathy.

In this thesis for the first time, the structural and functional changes occurring in the regulatory systems of the SHR rats were evaluated, against the background of the development of hypertensive and CAI-complicated DE, before and after the RCCH, the introduction of cCBNCs and their combination. For the first time, the efficiency of independent and combined use of RCCH and cCBNCs to reduce the progressive vascular lesions of brain and the effects of chronic ischemia in the animals with various forms of DE have been investigated.

To assess the state of regulatory systems of an organism of normotensive and hypertensive rats (outbred white and SHR (spontaneously hypertensive rats) rats), histological (with morphometric indices estimation) studies of brain tissues from the precentral gyrus area were performed, as one of the main markers reflecting the

progression of brain ageing, there were determined the concentration of malondialdehyde (MDA), which characterizes the intensity of lipid peroxidation (LPO) in brain tissue, the level of hemorheological parameters (number of erythrocytes and blood viscosity, hematocrit, coefficient of oxygenation of organs and tissues), there were studied the indices of spectral analysis of heart rate variability (HRV) and blood pressure (BP), the changes in cognitive functions were assessed. All the studies were performed in 7 and 30 days after appropriate exposures.

For the first time, it has been shown that in rats with hypertensive and mixed (hypertensive, CAI-burdened) forms of DE, the use of RCCH, CCBNCs and their combination leads to a decrease in brain ischemia by reducing the neuroglial index and increasing the number of functioning capillaries, as well as by the appearance of morphological signs of blood circulation improvement.

On day 30 after RCCH in the brain cortex of the animals with hypertensive and mixed form of DE there is an increased number of functioning capillaries (by 14.5% and 38.3%, respectively), as well as a decrease in the neuroglial index (by 16.22% and 63.85%, respectively) .

The introduction of cCBNCs is accompanied with a regeneration of neurocells, stimulation of angiogenesis, reduced manifestations of dystrophic, destructive and pathologically altered compensatory-adaptive processes in the brain tissues, which contributes to the restoration of its microhemocirculation and cytoarchitectonics. In addition, the use of cCBNCs in rats with hypertensive and mixed form of DE increases the number of functioning capillaries with a well-defined lumen (by 18.55% and 68.67%, respectively) against the background of a decrease in the neuroglial index (by 20.95% and 44.49% respectively).

The combined use of RCCH and cCBNCs in animals with hypertensive and mixed form of DE results in a statistically significant rise in the number of functioning capillaries (by 20.17% and 75.90%, respectively), a decrease in the neuroglial index (by 25.68% and 47.58%) respectively), either complete or partial elimination of the signs of hyperplasia of smooth muscle cells, spasm of the walls of arterial vessels and anemia in veins.

For the first time, it was found that in SHR rats, regardless of the form of DE, the use of RCCG does not change the initial level of activity of GH processes in GM tissues. The introduction of KVAC QC and, to a greater extent, the combined use of RCCG and KVAC QC leads to an increase in the antioxidant protection of GM tissues of SHR rats of DE mixed genesis, due to a statistically significant decrease in MDA content in GM tissues (by 22.5% and 28%, respectively) without affecting the processes of sex in animals with a genetically determined form of DE.

It was first discovered that RCCH did not affect the major hemorheological parameters of blood (erythrocyte count, blood viscosity, hematocrit) in rats with hypertensive DE, but significantly increased (by 23%) the level of oxygen supply to tissues in the group of animals with DE, complicated with CAI. In spontaneously hypertensive rats, irrespective of the form of DE, the introduction of cCBNCs and their combined use with RCCH at all the stages of experimental studies is accompanied by an improvement in the supply of organs and tissues with oxygen and a decrease in the level of hypoxia.

It has been shown for the first time that the rats with hypertensive and mixed forms of DE, together with a steady increase in blood pressure (BP), have different in origin changes in the vegetative balance. For the first time, it has been established that the combined use of RCCH and cCBNCs contributes to a decrease in blood pressure, has the most pronounced positive effect on the state of neuroregulatory systems, and also leads to a significant improvement in a cognitive function of experimental animals, regardless of the form of DE. An activation of adaptation-compensatory processes with the balanced weight-sympathetic relationships and neurohumoral factors of regulation is noted.

Thus, the independent and combined use of RCCH and cCBNCs reduces the manifestation of dystrophic, destructive and pathologically altered compensatory-adaptive processes in brain of rats with various forms of DE, by restoring its microhemocirculation and cytoarchitectonics.

The revealed during the research manifestations of the influence of RCCH and cCBNCs on the structural and functional state of the CNS of spontaneously

hypertensive rats with various forms of DE substantiate the prospects of their use in various fields of medicine (neurology, addiction medicine, critical and emergency care, traumatology). The obtained experimental data disclose some mechanisms of independent and combined application of RCCH and cCBNCs, aimed at increasing the activity of compensatory processes in regulatory systems of animal organism, disturbed as a result of the development of progressive vascular lesions of brain, prove the feasibility of their use for the purpose of correction.

Key words: rhythmic craniocerebral hypothermia, cryopreserved cord blood nucleated cells, spontaneously hypertensive rats, dyscirculatory encephalopathy, central nervous system.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ ТА ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. **Айдарова ВС**, Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ, Бабийчук ГА. Сравнительная характеристика некоторых гемореологических показателей у нормо- и гипертензивных крыс. *Експ. і клін. медицина*. 2016; 72(3):5–9.

2. **Айдарова ВС**, Кудокоцева ОВ, Бабийчук ГА. Влияние краниocereбральной гипотермии на некоторые свойства эритроцитов крыс линии SHR. *Експ. і клін. медицина*. 2017; 75(2):5–11.

3. **Айдарова ВС**, Наумова ОВ, Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ, Бабийчук ВГ. Структура мозга крыс линии SHR с генетически детерминированной артериальной гипертензией. *Світ медицини та біології*. 2018; 64(2):115–9.

DOI 10.26.724 / 2079-8334-2018-2-64-115-119 (*Web of Science*)

4. **Айдарова ВС**, Бабийчук ВГ, Кудокоцева ОВ, Наумова ОВ, Ломакин ИИ, Проценко ЕС. Экспериментальное обоснование применения лечебной гипотермии и клеточной терапии при дисциркуляторной энцефалопатии у крыс линии SHR. Часть 1. Спонтанно гипертензивные крысы линии SHR в качестве модели

дисциркуляторной энцефалопатии. Проблемы криобиологии і кріомедицини. 2018;28(3):224–36. <https://doi.org/10.15407/cryo28.03.224> (Scopus)

5. **Айдарова ВС**, Бабийчук ВГ, Ломакин ИИ, Кудokoцева ОВ, Наумова ОВ. Экспериментальное обоснование применения лечебной гипотермии и клеточной терапии при дисциркуляторной энцефалопатии у крыс линии SHR. Часть 2. Структурные изменения в ткани головного мозга крыс с дисциркуляторной энцефалопатией после применения ритмической краниocereбральной гипотермии и криоконсервированных ядрoсoдержaщих клеток кордовой крови. Проблемы криобиологии і кріомедицини. 2019; 29(1):58–72. <https://doi.org/10.15407/cryo29.01.058> (Scopus)

2. Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

Статті в журналах та збірках матеріалів конференцій інших країн, які входять до міжнародних наукометричних баз

6. **Aidarova VS**, Babijchuk VG, Lomakin II, Kudokotseva OV, Babijchuk GA. The effect of cryopreserved cord blood nucleated cells on pathological processes in the progressive aging of the brain (experimental study). Advances in Gerontology. 2018; 8(4):292–7. DOI: 10.1134/S2079057018040021 (Scopus)

Оглядів статті в журналах, які входять до міжнародних наукометричних баз

7. **Айдарова ВС**, Кудokoцева ОВ, Ломакин ИИ, Бабийчук ГА. Возможности использования клеток кордовой крови в неврологии. Проблемы криобиологии и кріомедицини. 2016; 26(2):1–13. <http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/137401> (Scopus)

Статті у збірках матеріалів конференцій

8. **Айдарова ВС**, Кудokoцева ОВ, Ломакин ИИ. Влияние введения криоконсервированных клеток пуповинной крови крысам линии SHR с хронической алкогольной интоксикацией на процессы перекисного окисления липидов в мозге. В: Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии. Сборник тезисов. VII Всероссийский симпозиум с

международным участием; 2017 Квіт. 27–28; Астрахань. Астрахань: Изд-во Астраханского государственного медицинского университета; 2017. с. 117–9.

9. **Айдарова ВС.** Експериментальне обґрунтування застосування ритмічної краніоцеребральної гіпотермії і кріоконсервованої кордової крові при дисциркуляторної енцефалопатії. В: International research and practice conference «Innovative technology in medicine: experience of Poland and Ukraine. Conference Proceedings; 2017 Apr. 28–29; Lublin. Lublin: Lublin Science and Technology Park S.A.; 2017. p. 157–60.

10. **Айдарова ВС, Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ, Бабийчук ГА.** Краниоцеребральная гипотермия потенцирует антиоксидантные свойства кримоконсервированных клеток пуповинной крови. В: Цап НА, редактор. Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения. Материалы II международной (72 Всероссийской) научно-практическая конференция молодых ученых и студентов; 2017 Апр. 12–14; Екатеринбург. Екатеринбург: Изд-во УГМУ; 2017;(1). с. 867–71.

11. **Айдарова ВС.** Влияние хронической артериальной гипертензии на развитие цереброваскулярных заболеваний на примере крыс линии SHR. В: Актуальні питання біології та медицини. Матеріали Всеукраїнської наукової конференції; 2017 Лист. 16–17; Суми. Суми: ФОП Цьома С.П.; 2017. с. 10–3.

Тези конференцій

12. **Айдарова ВС, Ломакин ИИ, Кудокоцева ОВ.** Крысы линии SHR со спонтанной гипертензией как модель дисциркуляторной энцефалопатии. В: Фадєєнко ГД, редактор. Щорічні терапевтичні читання: профілактика неінфекційних захворювань на перехресті терапевтичних наук. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті академіка ЛТ Малої; 2016 Квіт. 21; Харків. Харків: ДУ «Національний інститут терапії»; 2016. с. 5.

13. **Айдарова ВС, Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ.** Влияние ритмической краниоцеребральной гипотермии на некоторые гемореологические показатели у спонтанно гипертензивных крыс. В: Фадєєнко ГД, редактор. Стратегії

профілактики неінфекційних хвороб та шляхи їх реалізації: від постулатів минулого в майбутнє. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю; 2016 Лист. 4; Харків. Харків: ДУ «Національний інститут терапії»; 2016. с. 4.

14. **Айдарова ВС**, Кудогоцева ОВ, Ломакин ИИ. Процессы перекисного окисления липидов в мозге крыс линии SHR под влиянием криоконсервированных клеток кордовой крови. В: Фадєєнко ГД, редактор. Щорічні терапевтичні читання: медикаментозна та немедикаментозна профілактика неінфекційних захворювань: погляд в майбутнє. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті академіка ЛТ Малої; 2017 Квіт. 20; Харків. Харків: ДУ «Національний інститут терапії»; 2017. с. 7.

15. **Айдарова ВС**. Изучение механизмов преждевременного старения мозга на примере крыс линии SHR. В: Фундаментальная наука и клиническая медицина: Тезисы XX международная медико-биологическая научная конференция молодых исследователей; 2017 Апр. 22; СПб. СПб: Изд-во СПбГУ; 2017;(20). с. 23–4.

16. **Айдарова ВС**, Бабийчук ГА. Криоконсервированная пуповинная кровь способствует изменению структуры головного мозга крыс линии SHR. В: Материалы III Национального конгресса по регенеративной медицине; 2017 Ноябрь 15–18; Москва: Московский государственный университет им. МВ Ломоносова; Гены и Клетки. 2017;XII(3): 22–3.

17. **Айдарова ВС**. Влияние ритмической краниоцеребральной гипотермии на морфологические и морфометрические характеристики ткани головного мозга крыс линии SHR. Проблеми кріобіології і кріомедицини. 2018;28(2):160.

18. **Айдарова ВС**, Бабийчук ВГ, Кудогоцева ОВ, Ломакин ИИ. Применение низких температур для коррекции морфометрических изменений в головном мозге крыс при дисциркуляторной энцефалопатии сметанного генеза. В: Деев РВ, редактор. Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы регенеративной медицины,

инновации в репродуктологии»; 2018 Авг. 23–24; Самара. Гены и Клетки. 2018;(1), Приложение:38–9.

19. **Айдарова ВС.** Новые методы терапии цереброваскулярных заболеваний (экспериментальное исследование). В: Актуальні проблеми геронтології і геріатрії», присвячена 95-річчю з дня народження Академіка В.В. Фролькіса. Науково-практична конференція з міжнародною участю; 2019 Січень 28. с.40–1.

Патенти України на корисну модель

20. Бабійчук ВГ, **Айдарова ВС**, Кудокоцева ОВ, Ломакін ІІ, Мамонтов ВВ., винахідники; патентовласник Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної Академії Наук України. Спосіб лікування цереброваскулярних порушень головного мозку. Патент України на корисну модель № 128597. 25.09.2018.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
ЗМІСТ.....	15
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	20
ВСТУП.....	21
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	31
1.1 Терапевтична гіпотермія – найбільш перспективний метод нейропротекції. Краніocereбральна гіпотермія як структурна одиниця терапевтичної гіпотермії. Механізми краніocereбральної гіпотермічної нейропротекції.....	31
1.2 Застосування кордової крові як джерела мультипотентних стовбурових клітин в терапії цереброваскулярних патологій	39
1.3 Дисциркуляторна енцефалопатія. Сучасні аспекти етіопатогенезу.....	48
1.4 Спонтанно гіпертензивні щури лінії SHR як адекватна модель для вивчення дисциркуляторної енцефалопатії	52
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ Й МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	57
2.1 Характеристика експериментальних тварин та схема експерименту.....	57
2.2 Моделювання хронічної алкогольної інтоксикації.....	58
2.3 Біохімічні методи дослідження для підтвердження хронічної алкогольної інтоксикації у щурів лінії SHR.....	59
2.4 Методика ритмічної краніocereбральної гіпотермії і введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові.....	60
2.5 Гістологічні та морфометричні методи дослідження.....	61
2.6 Визначення інтенсивності перекисного окислення ліпідів в гомогенаті мозкової тканини.....	62
2.7 Гематологічні методи дослідження.....	62
2.8 Електрофізіологічні методи дослідження та методика вимірювання артеріального тиску.....	64
2.9 Методика дослідження когнітивних функцій.....	66
2.10 Статистична обробка отриманих результатів.....	67

РОЗДІЛ 3. ДИНАМІКА ЗМІН МОРФОЛОГІЧНИХ І МОРФОМЕТРИЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СТАНУ ТКАНИН ГОЛОВНОГО МОЗКУ СПОНТАННО ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ЛІНІЇ SHR З РІЗНИМИ ФОРМАМИ ДИСЦИРКУЛЯТОРНОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ ПІСЛЯ РИТМІЧНОЇ КРАНІОЦЕРЕБРАЛЬНОЇ ГІПОТЕРМІЇ, ВВЕДЕННЯ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ТА ЇХ ПОЄДНАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ.....68

3.1 Порівняльна характеристика гістологічного стану тканин головного мозку нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами дисциркуляторної енцефалопатії.....69

3.2 Структурна організація тканин головного мозку спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з гіпертензивною дисциркуляторною енцефалопатією після ритмічної краніоцеребральної гіпотермії, введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові та їх поєднаного застосування.....80

3.3 Структурні зміни тканин головного мозку спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з дисциркуляторною енцефалопатією змішаного генезу після ритмічної краніоцеребральної гіпотермії, введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові та їх поєднаного застосування.....90

РОЗДІЛ 4. ВПЛИВ РИТМІЧНОЇ КРАНІОЦЕРЕБРАЛЬНОЇ ГІПОТЕРМІЇ, КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ТА ЇХ КОМБІНАЦІЇ НА ПРОЦЕСИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ В ТКАНИНАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ СПОНТАННО ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ЛІНІЇ SHR З РІЗНИМИ ФОРМАМИ ДИСЦИРКУЛЯТОРНОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ.....106

4.1 Порівняльна характеристика показників рівня МДА в тканинах головного мозку нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами дисциркуляторної енцефалопатії.....107

4.2 Динаміка змін рівня МДА в тканинах головного мозку спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з гіпертензивною дисциркуляторною

енцефалопатією після ритмічної краніоцеребральної гіпотермії, введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові та їх комбінації.....108

4.3 Динаміка змін рівня МДА в тканинах головного мозку спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з дисциркуляторною енцефалопатією змішаного генезу після ритмічної краніоцеребральної гіпотермії, введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові та їх комбінації.....110

РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ РИТМІЧНОЇ КРАНІОЦЕРЕБРАЛЬНОЇ ГІПОТЕРМІЇ, КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ТА ЇХ ПОЄДНАННЯ НА ДЕЯКІ ГЕМОРЕОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ СПОНТАННО ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ЛІНІЇ SHR З РІЗНИМИ ФОРМАМИ ДИСЦИРКУЛЯТОРНОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ.....117

5.1 Порівняльна характеристика деяких показників гемореології у нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами дисциркуляторної енцефалопатії.....118

5.2 Динаміка змін гемореологічних показників спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з гіпертензивною дисциркуляторною енцефалопатією на тлі самостійного і поєданого застосування ритмічної краніоцеребральної гіпотермії і кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові.....125

5.3 Зміни гемореологічних показників спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з дисциркуляторною енцефалопатією змішаного генезу на тлі самостійного і поєданого застосування ритмічної краніоцеребральної гіпотермії і кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові.....128

РОЗДІЛ 6. ОСОБЛИВОСТІ СТАНУ ВЕГЕТАТИВНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ СЕРЦЕВОГО РИТМУ У СПОНТАННО ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ЛІНІЇ SHR З РІЗНИМИ ФОРМАМИ ДИСЦИРКУЛЯТОРНОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ ПІСЛЯ РИТМІЧНОЇ КРАНІОЦЕРЕБРАЛЬНОЇ ГІПОТЕРМІЇ, ВВЕДЕННЯ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ТА ЇХ КОМБІНОВАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ.....133

6.1 Порівняльна характеристика стану вегетативної регуляції серцевого ритму у нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами дисциркуляторної енцефалопатії.....	135
6.2 Вплив ритмічної краніоцеребральної гіпотермії, кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові і їх комбінації на стан вегетативної регуляції серцевого ритму спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з гіпертензивною дисциркуляторною енцефалопатією.....	138
6.3 Вплив ритмічної краніоцеребральної гіпотермії, кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові і їх комбінації на стан вегетативної регуляції серцевого ритму спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з дисциркуляторною енцефалопатією змішаного генезу.....	144
РОЗДІЛ 7. ЗМІНИ КОГНІТИВНИХ ФУНКЦІЙ СПОНТАННО ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ЛІНІЇ SHR З РІЗНИМИ ФОРМАМИ ДИСЦИРКУЛЯТОРНОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ НА ТЛІ САМОСТІЙНОГО І ПОЄДНАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ РИТМІЧНОЇ КРАНІОЦЕРЕБРАЛЬНОЇ ГІПОТЕРМІЇ І КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ.....	149
7.1 Порівняльна характеристика когнітивних функцій нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами дисциркуляторної енцефалопатії.....	150
7.2 Оцінка когнітивних функцій спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з гіпертензивною дисциркуляторною енцефалопатією після ритмічної краніоцеребральної гіпотермії, введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові і їх поєданого застосування.....	152
7.3 Оцінка когнітивних функцій спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з дисциркуляторною енцефалопатією змішаного генезу після ритмічної краніоцеребральної гіпотермії, введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові і їх поєданого застосування.....	154
УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	157
ВИСНОВКИ.....	166

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	169
Додаток А. Список публікацій здобувача за темою дисертації та відомості про апробацію результатів дисертації.....	216
Додаток Б. Апробація матеріалів дисертації.....	220
Додаток В. Матеріали допоміжного характеру.....	222

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АГ – артеріальна гіпертензія

АТ – артеріальний тиск

ВНС – вегетативна нервова система

ВСП – варіабельність серцевого ритму

ГЕБ – гематоенцефалічний бар'єр

ГСК – гемопоетичні стовбурові клітини

ДЕ – дисциркуляторна енцефалопатія

Е – еритроцити

ЕКГ – електрокардіограма

ІС - індекс сферичності

КЦГ – краніоцеребральна гіпотермія

кЯВК КК – кріоконсервовані ядровмісні клітини кордової крові

МДА – малоновий діальдегід

МСК – мезенхімальні стовбурові клітини

ОХ - осмотична крихкість

ПК – периферична кров

ПОЛ – перекисне окислення ліпідів

рКЦГ – ритмічна краніоцеребральна гіпотермія

СК – стовбурові клітини

СПВК – синдром підвищеної в'язкості крові

ССС – серцево-судинна система

ТГ – терапевтична гіпотермія

ХАІ – хронічна алкогольна інтоксикація

ЦВЗ – цереброваскулярні захворювання

ЦВП – цереброваскулярна патологія

ЦНС – центральна нервова система

SHR – spontaneously hypertensive rats

НГІ – нейрогліальний індекс

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. European Stroke Research Network for Hypothermia (EuroHYP) – Європейський рандомізований науково-дослідний і клінічний центр, який проводить клінічні випробування методів терапевтичної гіпотермії (ТГ) при цереброваскулярній патології (ЦВП), в своїх звітах переконливо показав, що ЦВП є основною причиною інвалідності, для лікування якої немає ефективної нейропротекторної терапії на основі лікарських засобів [1, 2]. ТГ в безпечному діапазоні зниження температури тіла (не нижче 32-33°C) має доведені нейропротекторні властивості, які забезпечують зниження ступеня прогресування ЦВП і зменшення обсягу неврологічного дефіциту [3-9]. Єдиною альтернативою традиційній терапії при ЦВП є метод локальної гіпотермії – охолодження мозку/тіла низькими температурами [1-13].

Раніше проведені і застосовані в медичній практиці методи краніоцеребральної гіпотермії (КЦГ) використовувалися в основному в інтенсивній (реанімаційній) терапії для боротьби з набряком і набуханням мозку при екзотоксичних комах, повторних алкогольних деліріях, черепно-мозкових травмах (ЧМТ), гострих ішемічних порушеннях при судинних захворюваннях [10-13]. Виявлена властивість КЦГ впливати на нейромедіаторні процеси в головному мозку (ГМ), приводячи до функціональних змін метаболічного та гормонального середовища ГМ [10-13], дозволила застосовувати даний метод ТГ при психоемоційних порушеннях (ендогенних депресіях, порушеннях пам'яті і поведінки, сну, тривожних станах і фобічних синдромах) [10-16].

КЦГ, як метод локальної ТГ, володіючи нейропротективними властивостями обмежує розвиток ефектів ексайтотоксичності, продукцію прозапальних і апоптоз-індукуючих факторів, утворення вільних радикалів, набряку [9-13]. Холодовий подразник впливає на всі структури центральної нервової системи (ЦНС) на всіх рівнях. Як показали раніше проведені в ІПКіК НАН України дослідження [10-12], КЦГ дозволяє цілеспрямовано змінювати проникність

гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ), коригувати вегетативну регуляцію периферичних процесів, активно впливати на нейромедіаторні системи.

Таким чином, на сьогоднішній день церебральна гіпотермія, безумовно, є найбільш потужним терапевтичним підходом з доведеними нейропротекторними властивостями [3-13].

Відомо [10–12, 17, 18], що ритмічні екстремальні холодові впливи підвищують лабільність регуляторних процесів у центральній нервовій і серцево-судинній (ССС) системах, стимулюють прямі та зворотні зв'язки, нормалізують симпато-парасимпатичний баланс вегетативної нервової системи (ВНС) завдяки тому, що повторюють та модулюють активність власних ендогенних ритмів організму. Встановлено, що ритмічна КЦГ (рКЦГ) призводить до вираженої корекції регуляторних процесів в ЦНС і ССС у гіпертензивних щурів завдяки резонансу правильно підбраною ритміки холодкових впливів з ритмічними характеристиками інтегральної (центральної) ланки регуляції [17].

Проведені раніше в ІПКіК НАН України дослідження механізмів дії рКЦГ показали, що цей метод, будучи сенсорним і систематично діючим подразником, обумовлює певні зрушення в терморегуляторних системах мозку, приводячи до модифікації процесів секреції і захоплення нейромедіаторів. Метод рКЦГ вдало реалізував можливості для керованої (в залежності від глибини і швидкості охолодження) зміни проникнення біологічно активних речовин (БАР) через ГЕБ і регуляції нейротрансмітерних процесів в ЦНС через зміну впливу ВНС на функціональний стан периферичних органів і систем [10-12, 17, 18]. Тому, рКЦГ може бути використана в терапії ЦВП як самостійний метод нейропротекції, так і для забезпечення спрямованого проходження БАР і лікарських препаратів через ГЕБ.

Необхідність вдосконалення вже відомих методів лікування цереброваскулярних захворювань (ЦВЗ) і пошуку нових, більш ефективних обумовлена тим, що дана патологія займає лідируючі позиції в структурі смертності населення України і в світі [19]. В Україні з різними формами судинних уражень ГМ зареєстровано понад 3 млн. чоловік. Смертність від ЦВЗ в

нашій країні перевищує аналогічний показник більшості країн Європи і Азії – ця патологія є другою причиною в структурі смертності населення в нашій країні і третьої в світі [20-22].

Особливі надії покладаються на створення комплексу імунобіологічних препаратів, що містять стовбурові клітини (СК) [23-26]. Спроби пошуку принципово нових методів лікування ЦВП привели до досліджень в області терапії стовбуровими клітинами (СК), які можуть служити цінним джерелом нейроноподібних клітин і нейротрофічних факторів для лікування цілого ряду нейродегенеративних захворювань судинного генезу [23-28].

В даний час лікувальний потенціал клітин кордової крові (КК) описаний в багатьох роботах по експериментальній неврології [29-35]. Перевагами клітин, виділених з КК, є їх безпека, доступність в отриманні, низька імуногенність, відсутність законодавчих та етичних заборон для застосування.

Дослідження властивостей СК КК показали їх високий проліферативний потенціал, здатність до мультилінійного диференціювання та трансдиференціювання *in vitro* і *in vivo* [29-35]. Крім гемопоетичних СК (ГСК) з КК були виділені і описані мезенхімальні стовбурові клітини (МСК), популяція CD133 + -клітин, ендотеліальні прогеніторні клітини, а також популяція плюрипотентних СК, клітини якої здатні утворювати як мезенхімальні дифферони (остео, хондро-, адіпо- і міобластичні), так і експресувати нейрональні і гепатоцитарні маркери *in vitro* і *in vivo* [34, 35-37].

Розробка вченими ІПКіК НАН України сучасних методів виділення з КК стовбурових клітин і їх кріоконсервування при температурах рідкого азоту дала можливість мати в своєму арсеналі життєздатні функціонально активні СК, а також весь спектр БАР властивих плазмі КК [38]. Разом з тим аналіз літератури показав, що питанню впливу кріоконсервованих клітин КК на функціональний стан ГМ при ЦВП, а також питанню потенціювання її терапевтичних ефектів приділено вкрай мало уваги. Проведені раніше у відділі кріофізіології ІПКіК НАН України дослідження визначили нові можливості застосування низьких

температур, як з метою активації репараційних процесів, так і потенціювання інших терапевтичних методів впливу на патологічний процес.

Однак, на сьогодні фундаментальні дослідження, які розкривають механізми терапевтичної дії рКЦГ та ядровмісних клітин (ЯВК) КК на структурно-функціональний стан ГМ при ЦВП, перебувають на стадії ретельного вивчення, а експериментальних даних про їх поєднане застосування немає взагалі.

З огляду на, що в Україні в структурі ЦВП 96% належить хронічним порушенням мозкового кровообігу, які об'єднуються терміном «дисциркуляторна енцефалопатія» (ДЕ) [20-22], а рКЦГ підвищує прояви центральних (парадоксальних) ефектів системно введених лікарських препаратів [39] та може застосовуватися в терапії хронічного алкоголізму [40], доцільним є визначення дії рКЦГ, кріоконсервованих ядровмісних клітин КК (кЯВК КК) та їх поєданого застосування на структурно-функціональний стан ЦНС, який був порушений внаслідок розвитку гіпертензивної та алкогольно-гіпертензивної форм ДЕ у щурів лінії SHR.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Робота виконана в рамках відомчої НДР відділу кріофізіології Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України № 103: «Формування адаптаційних реакцій організму експериментальних тварин в умовах дії штучного охолодження та кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові при старінні і патологічних станах» (шифр – 2.2.6.103, № державної реєстрації 0116U003493).

Мета і завдання дослідження. Мета роботи – визначити вплив ритмічної краніоцеребральної гіпотермії, кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові людини та їх поєданого застосування на структурно-функціональний стан центральної нервової системи у щурів при різних формах дисциркуляторної енцефалопатії.

Для досягнення поставленої мети передбачалося вирішити такі завдання:

1. За допомогою гістологічних, морфометричних і фізіологічних методів дослідження провести порівняльний аналіз структурно-функціонального стану ЦНС у нормотензивних та гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами ДЕ.

2. Вивчити вплив рКЦГ, кЯВК КК та їх поєднаного застосування на морфологічні ознаки та морфометричні показники тканин головного мозку спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами ДЕ.

3. Визначити концентрацію малонового діальдегіду (МДА), як одного з продуктів перекисного окислення ліпідів, в тканинах головного мозку спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами ДЕ, після рКЦГ, введення кЯВК КК та їх поєднаного застосування.

4. Дослідити динаміку змін гемореологічних показників спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами ДЕ, на тлі рКЦГ, введення кЯВК КК та їх поєднаного застосування.

5. Вивчити вплив рКЦГ, кЯВК КК та їх поєднаного застосування на стан вегетативної регуляції серцевого ритму спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами ДЕ.

6. Оцінити зміни когнітивних функцій спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами ДЕ на тлі самостійного та поєднаного застосування рКЦГ та кЯВК КК.

Об'єкт дослідження – структурно-функціональний стан центральної нервової системи спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами ДЕ до та після проведення рКЦГ, введення кЯВК КК та їх поєднаного застосування.

Предмет дослідження – електрофізіологічні, біохімічні, морфологічні та гематологічні показники стану регуляторних систем організму спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами ДЕ і динаміка їх змін на тлі самостійного та поєднаного застосування рКЦГ та кЯВК КК.

Методи дослідження. У роботі були використані кріобіологічні і кріомедичні (методика рКЦГ як різновид локальної ТГ, метод розморожування кріоконсервованої клітинної суспензії), електрофізіологічні (реєстрація електрокардіограми (ЕКГ) з подальшим спектральним аналізом варіабельності серцевого ритму (ВСР)), фізіологічні (вимірювання артеріального тиску (АТ) та визначення когнітивних функцій у щурів), гістологічні та морфометричні методи

дослідження тканин ГМ, біохімічні методи визначення рівня ферментів білкового обміну, спектрофотометричний метод дослідження рівня МДА в тканинах ГМ. За допомогою статистичних методів проведено аналіз отриманих даних.

Наукова новизна отриманих результатів. У дисертаційній роботі *вперше* дана оцінка структурно-функціональним змінам, які відбуваються в регуляторних системах організму щурів лінії SHR на тлі розвитку гіпертензивної та ускладненої ХАІ ДЕ, до та після проведення рКЦГ, введення кЯВК КК та за їх поєднання. *Вперше* з'ясована ефективність самотійного та поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК з метою зниження дії хронічної ішемії як прояву прогресуючого судинного ураження ГМ у тварин з різними формами ДЕ. Показано, що у щурів з гіпертензивною та змішаною формами ДЕ застосування рКЦГ, кЯВК КК і їх поєднання призводить до зменшення проявів ішемії мозку за рахунок зниження нейрогліального індексу та збільшення кількості функціонуючих капілярів, а також появи морфологічних ознак поліпшення кровообігу. Введення кЯВК КК, а також поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК супроводжується регенерацією нейроклітин, стимуляцією ангіогенезу, зниженням проявів дистрофічних, деструктивних і патологічно змінених компенсаторно-адаптивних процесів в тканинах ГМ, що сприяє відновленню його мікрогемоциркуляції та цитоархітекτονіки. Встановлено, що у щурів лінії SHR, не залежно від форми ДЕ, застосування рКЦГ не змінює вихідний рівень активності процесів ПОЛ в тканинах ГМ. Введення кЯВК КК і, більшою мірою, поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК призводить до підвищення антиоксидантного захисту тканин ГМ щурів лінії SHR з ДЕ змішаного генезу завдяки статистично значущому зменшенню вмісту МДА в тканинах ГМ, при цьому не впливаючи на процеси ПОЛ у тварин з генетично детермінованою формою ДЕ. *Вперше* виявлено, що рКЦГ не впливає на основні гемореологічні показники крові (кількість еритроцитів, в'язкість крові, гематокрит) у щурів з гіпертензивною формою ДЕ, проте значно збільшує (на 23%) рівень доставки кисню до тканин в групі тварин з ДЕ, ускладненою ХАІ. У спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR, не залежно від форми ДЕ, введення кЯВК КК і їх поєднане застосування з рКЦГ на всіх

етапах експериментальних досліджень супроводжувалося поліпшенням постачання органів і тканин киснем та зниженням рівня гіпоксії. *Показано*, що у щурів з гіпертензивною та змішаною формами ДЕ, поряд зі стійким підвищенням рівня АТ, відзначаються різні за характером зміни вегетативного балансу. *Доведено*, що поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК сприяє зниженню показників АТ, надає найбільш виражений позитивний вплив на стан нейрорегуляторних систем, а також призводить до значущого поліпшення когнітивних функцій експериментальних тварин. Відзначається активація адаптаційно-компенсаторних процесів зі збалансованістю ваго-симпатичних і нейрогуморальних факторів регуляції.

Практичне значення отриманих результатів. Виявлені в ході досліджень прояви впливу рКЦГ і кЯВК КК на структурно-функціональний стан ЦНС організму спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами ДЕ обґрунтовують перспективність їх застосування в різних галузях медицини. Отримані експериментальні дані розкривають деякі механізми самостійного та поєднаного застосування рКЦГ та кЯВК КК, що спрямовані на підвищення активності компенсаторних процесів в регуляторних системах організму тварин, порушених внаслідок розвитку прогресуючого судинного ураження ГМ, доводять доцільність їх використання з метою корекції тотальної або часткової ішемії ГМ. Встановлені особливості самостійного та поєднаного впливу рКЦГ і кЯВК КК можуть бути використані в освітніх програмах кафедр неврології, наркології, геронтології та кріобіології. Результати досліджень дозволили розробити спосіб лікування цереброваскулярних порушень ГМ, що підтверджено Патентом України (№ 128597).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійним і оригінальним науковим дослідженням. Основна частина експериментальних досліджень виконана здобувачем особисто. Автором проаналізована сучасна вітчизняна та зарубіжна наукова література з досліджуваної проблеми, обґрунтовано вибір теми, проведена статистична обробка, аналіз та інтерпретація отриманих результатів. Спільно з науковим керівником сформульовані мета і

завдання роботи, визначені методи їх вирішення, обговорено інтерпретовані результати, сформульовані висновки.

Гістологічні, морфометричні та фізіологічні дослідження виконані за безпосередньої участі автора. Зважаючи на використання суміжних дисциплін, дисертаційна робота виконувалася за консультативної допомоги співробітників кафедри загальної та клінічної патології медичного факультету Харківського національного університету імені Василя Назаровича Каразіна, на базі кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету та співробітників відділів ІПКіК НАН України.

Опубліковані в співавторстві наукові статті відображають концепцію роботи, підтверджують ідеї і рішення поставлених дисертантом завдань. Допомога співавторів була спрямована на виконання окремих методичних завдань.

В опублікованих зі співавторами роботах особистий внесок здобувача полягає:

- у роботі [33] – в узагальненні наукової літератури щодо застосування клітин кордової крові в неврології та підготовці матеріалів до друку;
- у роботах [328–329, 332–334] – у заборі тканин ГМ, аналізі мікроскопічних фотографій, розрахунку морфометричних показників кори ГМ, проведенні статистичної обробки даних;
- у роботах [330–331, 335–337] – у розрахунку, підготовці і введенні кЯВК КК, заборі тканин ГМ, аналізі мікроскопічних фотографій, розрахунку морфометричних показників кори ГМ, проведенні статистичної обробки даних;
- у роботі [374] – у моделюванні ХАІ, розрахунку, підготовці і введенні кЯВК КК, заборі тканин ГМ, виконанні експериментальних досліджень із визначення рівня МДА, проведенні статистичної обробки даних;
- у роботах [375–377] – у розрахунку, підготовці і введенні кЯВК КК, заборі тканин ГМ для визначення в них рівня МДА, проведенні статистичної обробки даних та підготовці матеріалів до друку;
- у роботах [414] – у проведенні досліджень периферичної крові у нормотензивних та гіпертензивних щурів та статистичної обробки даних;

- у роботах [415, 416] – у проведенні досліджень периферичної крові у щурів з різними формами ДЕ на тлі застосування рКЦГ та статистичної обробки даних;
- у роботах [419] – у записі електрокардіограм, проведенні спектрального аналізу ВСР, вимірюванні АТ у щурів з різними формами ДЕ, на тлі рКЦГ, введення кЯВК КК та їх поєднаного використання, проведенні статистичної обробки даних;
- у роботах [438, 439] – у постановці експерименту з вивчення поведінкових реакцій щурів в нормі та з проявами ДЕ, підготовці матеріалів до друку.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи доповідалися і обговорювалися на наукових форумах: науково-практичних конференціях з міжнародною участю «Щорічні терапевтичні читання» (Харків, 2016); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Стратегії профілактики неінфекційних хвороб та шляхи їх реалізації: від постулатів минулого в майбутнє» (Харків, 2017); VII Всероссийском симпозиуме с международным участием «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии» (Россия, Астрахань, 2017); Интернациональной Польско-Украинской научно-практической конференции «Innovative technology in medicine: experience of Poland and Ukraine» (Польша, Люблин, 2017); II международной (72 Всероссийской) научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения» (Россия, Екатеринбург, 2017); Всеукраїнській науковій конференції «Актуальні питання біології та медицини» (Суми, 2017); XX международной медико-биологической научной конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина» (Россия, СПб, 2017); III Национальном конгрессе по регенеративной медицине (Россия, Москва, 2017); конференції молодих вчених ІПКіК НАН України «Холод в біології та медицині» (Харків, 2018); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы регенеративной медицины, инновации в репродуктологии» (Россия, Самара, 2018); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні проблеми геронтології і геріатрії»

(Київ, 2019).

Публікація матеріалів. Основні положення дисертації викладені у 20 наукових роботах: 5 – у фахових наукових виданнях України (2 – входять до міжнародної наукометричної бази даних Scopus; 1 – до міжнародної наукометричної бази даних Web of Science), 1 – у закордонному науковому періодичному виданні (входить до міжнародної наукометричної бази даних Scopus), 1 оглядова стаття – у журналі, який входить до наукометричної бази даних Scopus, 4 – у збірниках матеріалів науково-практичних конференцій, опубліковано 8 тез доповідей. Отримано патент на корисну модель.

Об'єм і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 222 сторінках (з яких 154 сторінки основної частини) і складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, 5 розділів власних досліджень і їх обговорення, узагальнення, висновків, списку літератури та 3 додатків. Список літератури містить 439 джерел, розміщених на 47 сторінках тексту. Робота ілюстрована 23 таблицями і 44 рисунками, з яких 37 – мікрофотографії.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Терапевтична гіпотермія – найбільш перспективний метод нейропротекції. Краніocereбральна гіпотермія як структурна одиниця терапевтичної гіпотермії. Механізми краніocereбральної гіпотермічної нейропротекції

Терапевтична гіпотермія в безпечному діапазоні зниження температури тіла (не нижче 32–33°C) має доведені нейропротективні властивості, забезпечуючи зменшення обсягу неврологічного дефіциту [3–7]. Американське суспільство гіпотермічної медицини (American Society of Hypothermic Medicine, ASHM, 2012) на офіційному сайті розмістило інформацію, в якій загальне охолодження розглядається як метод лікування, заснований на контрольованому зниженні температури тіла [3, 41]. На симпозіумі в Брюсселі з досліджень ТГ при інсульті в рамках погоджувальної конференції організатори та учасники (EuroHyp, World Stroke Organization, European Stroke Organization, European Stroke Network, Stroke Alliance for Europe, European Space Agency) прийняли декларацію «Гіпотермія при інсульті: заклик до дії» [42]. У розділі 1 Euroreanimation-2010 «Загальні положення» сказано: «Дані досліджень на тваринах і у людей вказують на те, що гіпотермія має нейропротекторну дію і покращує результати після періоду глобальної церебральної гіпоксії/ішемії» [3–6, 42]. Там же зазначено, що «на сьогоднішній день відсутні фармакологічні засоби з доведеним ефектом нейропротекції» [3, 41, 42].

У зв'язку з цим ТГ може розглядатися в якості найбільш перспективного напрямку нейропротекції. У рекомендаціях Американської Асоціації серцевих захворювань [41] велика увага приділяється питанням використання апаратної ТГ, що проводиться за допомогою спеціальних гіпотермів, які дозволяють забезпечити автоматизоване підтримування температури тіла на заданому

безпечному рівні. З огляду на небезпеку розвитку ускладнень і побічних ефектів при проведенні неконтрольованого охолодження, особливостям проведення температурного менеджменту при ТГ приділяється особлива увага [43].

Гіпотермія в якості можливого терапевтичного засобу була відома протягом тисячоліть і тільки нещодавно вчені почали розуміти деякі з її механізмів дії і побічних ефектів [44]. Гіпотермія – це стан біологічних об'єктів в умовах температури тіла нижче природної.

Стан гіпотермії настає в разі, коли організм піддається впливу холоду і організм втрачає тепла більше, ніж утворює. Гомеостатичні механізми не в змозі компенсувати втрату тепла і температура ядра тіла при цьому може опуститися на кілька градусів. Залежно від ступеня переохолодження симптоми і наслідки можуть відрізнятися. За ступенем тяжкості гіпотермію поділяють на: легку (температура тіла 32–35°C), помірну (28–32°C), важку (20–28°C) і глибоку (необоротну) – менше 20°C [11, 12, 45-48].

ТГ увійшла в клінічну практику в 60–70 роках минулого століття без проведення попередніх глибоких експериментальних досліджень. Виникаючі іноді ускладнення в вигляді фібриляції серця, гострої печінкової недостатності і т.п. деякий час не знаходили пояснень [49, 50].

На сьогоднішній день встановлено, що неконтрольоване зниження температури тіла живого організму може сприяти порушенню фізіологічних систем організму, включаючи зміни в мікроциркуляції і зменшення постачання кисню до тканин. Недолік кисню може викликати генерацію активних форм кисню і вільних радикалів оксиду азоту з наступним окислювальним стресом, і, нарешті, апоптозом і/або некрозом клітин [44, 49–55]. Загальна депресія метаболізму клітин при ТГ (на 3–7% при падінні температури тіла на 1°C) [49] компенсує недолік кисню, проте може призводити до розвитку невираженого ацидозу. Загальна неконтрольована гіпотермія призводить до розвитку електролітних розладів, зниження рівня магнію, калію, фосфору, кальцію, що в свою чергу може спричинити розвиток аритмій, зниження артеріального тиску (АТ), зменшення церебрального кровотоку. Останнє особливо важливо, оскільки

зниження температури тіла супроводжується зменшенням серцевого викиду і зниженням АТ [17].

Неконтрольована гіпотермія може чинити імунодепресивну дію, підвищуючи ризик інфекцій, призводити до швидкого поверхневого дихання з подальшим розвитком бронхоспазму та гіповентиляції [56]. Є дані, що гіпотермія сприяє збільшенню в'язкості крові (на 2% на кожен градус втрати тепла) [57]. Таким чином, термомоніторинг при проведенні ТГ дуже важливий, оскільки неконтрольоване зниження температури може істотно впливати на весь гомеостаз організму.

Зігрівання після гіпотермії може призводити до розвитку вторинної циркуляторної гіпоксії в зв'язку зі значним підвищенням інтенсивності метаболізму в тканинах на фоні недостатнього постачання до них кисню. З усього вищесказаного випливає, що постгіпотермічні зміни можна пояснити сумарною дією температурного фактору і вторинною циркуляторною гіпоксією [45, 50].

Незважаючи на багато небажаних фізіологічних ефектів безперервної неконтрольованої гіпотермії, протягом останнього десятиліття керована апаратна ТГ, як найбільш перспективний метод захисту органів від гіпоксії, переступила поріг лабораторії і стала активно впроваджуватися в клінічну практику [8, 58–69].

Точні механізми дії ТГ до кінця не з'ясовані, що відкриває простір для наукових досліджень в цій сфері. Припускають [70], що основна дія ТГ пов'язана зі зміною (перериванням або модуляцією) метаболічних, молекулярних та клітинних ланцюжків пошкодження, що ведуть до загибелі нейронів. До найважливіших механізмів нейропротективного ефекту ТГ відносять зменшення або затримку метаболічних потреб під час пошкодження ЦНС. Традиційно вважається, що зменшення споживання кисню ГМ становить 5% на кожен градус втрати тепла [71, 72]. Використання м'якої ТГ у пацієнтів з тяжкою черепно-мозковою травмою (ЧМТ) сприяло зменшенню потреби в енергії на 5,9% на кожен знижений градус температури тіла. Зменшення потреби організму в енергії при ТГ сприятливо впливає на запаси АТФ і процес підтримки нормальних трансмембранних градієнтів для іонів і нейротрансмітерів. При ТГ за рахунок

обмеження споживання мозком кисню і глюкози зменшується ризик енергетичної недостатності, що дає не тільки лікувальний, а й профілактичний ефект [73–75].

Лікувальний ефект зниження температури тіла при м'якій гіпотермії проявляється в зменшенні загибелі нейронів за рахунок відключення деяких хімічних шляхів клітинного апоптозу [76], інгібіції або зменшенні запальної відповіді і вироблення прозапальних цитокінів [77], активації супероксиддісмутази (ферменту, який обмежує шкідливу дію вільних радикалів, що в кінцевому рахунку захищає клітинну мембрану) [78].

Правильно проведена ТГ з контрольованим зниженням температури тіла дає пацієнтові шанс відновлення життєво-важливих функцій після серцево-легеневої та серцево-судинної реанімації, при перинатальній гіпоксично-ішемічній енцефалопатії, підвищеному внутрішньочерепному тиску у пацієнтів з травматичним пошкодженням ГМ, тепловому ударі, травматичних ушкодженнях спинного і ГМ, порушеннях мозкового кровообігу при інсультах та інфарктах міокарду [3, 6, 9, 11, 63, 67, 79, 80].

Гіпотермія може бути природною (викликається природними факторами зовнішнього середовища) і штучною (викликається примусово з використанням спеціальних засобів). Штучну гіпотермію, в залежності від способу охолодження, підрозділяють на загальну (охолоджується весь організм), краніоцеребральну (охолоджується тільки голова) та локальну (охолоджуються окремі частини тіла).

Краніоцеребральне охолодження направлено в першу чергу на зниження температури поверхні ГМ, а потім і всього організму за рахунок конвекції охолодженої при КЦГ крові в загальний кровотік.

КЦГ підвищує стійкість тканин організму (в першу чергу ГМ і серця) до гіпоксії шляхом зниження швидкостей біохімічних реакцій і споживання кисню. Зниження температури ГМ при КЦГ до 28–26°C і температури тіла до 32–30°C зменшує потребу організму в кисні приблизно на 30%. Ризик ускладнень при такій ТГ відсутній або вкрай незначний [3, 11].

Нейропротективні ефекти КЦГ прямо пов'язані з рівнем зниження температури мозку. Відомо, що зниження температури на 1°C забезпечує

зменшення споживання нейронами кисню на 7–8% [11]. Крім того, в залежності від ступеня зниження температури обмежується розвиток ефектів ексайтотоксичності, утворення вільних радикалів, набряку, продукція прозапальних і апоптоз-індукуючих факторів, що в сукупності забезпечує значне зменшення вторинних ушкоджень ГМ після ішемії, реперфузії і нейротравми [9]. Нейрони ЦНС і механізми ауторегуляції мозкового кровотоку зберігають свої функції при зниженні температури ГМ до 27–29°C. При цьому рівні гіпотермії стійкість нейронів до гіпоксії зростає більш ніж в 2 рази в порівнянні з нормотермією [3, 11, 81].

На думку авторів [3, 11, 81] КЦГ, в порівнянні із загальною ТГ запобігає загибелі нейронів кори ГМ, які найбільш вразливі в умовах гіпоксії. КЦГ також сприяє поліпшенню адаптаційно-компенсаторних можливостей серцево-судинної, дихальної та інших систем організму, створюючи більш сприятливі умови для проведення подальших лікувальних заходів.

Переваги КЦГ обумовлені градієнтом загальної температури і температури кори ГМ. Цей градієнт залежить від швидкості мозкового кровотоку, обміну речовин, характеристик охолодження. Головне, щоб температура ГМ залишалася нижче ніж температура тіла, в результаті чого знижується ризик розвитку ускладнень, властивих загальній гіпотермії [3].

Впровадження КЦГ в практичну медицину торкнулося, в першу чергу, спортивної медицини [82]. Так, за участю Американського космічного агентства NASA була розроблена система Welkins, призначена для попередження ускладнень спортивної ЧМТ в американському футболі.

На даний час КЦГ застосовується для надання медичної допомоги на догоспітальному етапі при таких патологіях, як найгостріший період інсульту, травми ЦНС (закрита ЧМТ і травма спинного мозку), транзиторна ішемічна атака, постгіпоксична енцефалопатія, гіпертермія центрального генезу, кома неясного генезу, нейрогенна лихоманка та інших станах, що супроводжуються набряком мозку [3, 9, 42, 50, 60, 63, 72, 74, 82]. Найчастіше КЦГ використовується в

медичній практиці як метод захисту мозку при невідкладних станах [83], в інтенсивній терапії та реаніматології [84, 85].

При проведенні КЦГ у нейрохірургічних пацієнтів при прямому вимірюванні температури мозку у клінічних дослідженнях були отримані докази розвитку локальної церебральної гіпотермії. Так, в роботі W. Olivero [86] було показано, що через 3–4 години після проведення процедури КЦГ температура ГМ, яка вимірюється датчиком, імплантованим на глибину 0,8 см в паренхіму мозку, була нижче базальної на 2,4°C. У хворих з одно- і двостороннім атеросклеротичним ураженням сонних артерій в умовах багатокомпонентної загальної анестезії КЦГ дозволила безпечно виконати тривалу (оклюзія до 60-ти хвилин) хірургічну реконструкцію внутрішньої сонної артерії [87].

КЦГ як метод лікування відноситься до групи так званих «активних» методів. Мета і призначення КЦГ при різних захворюваннях полягає в створенні найбільш оптимальних, сприятливих умов для нормального функціонування менш стійких до нестачі кисню життєво важливих органів і тканин організму. Реалізація фізіологічного ефекту КЦГ здійснюється на рівні підкоркових структур шляхом впливу на центри терморегуляції, викликаючи реакцію адаптації [11, 12, 17, 88, 89].

У 2011 р J.W. Lampe і L.B. Becker була запропонована узагальнююча схема механізмів дії КЦГ [9]. Схема дозволила зрозуміти вплив процесів зниження температури ГМ на патогенетичні механізми ушкодження нейронів в умовах тотальної ішемії/гіпоксії і реперфузії.

Великий обсяг виконаних експериментальних і клінічних досліджень дозволяє цілком обґрунтовано розглядати КЦГ як метод нейропротекції, який надає позитивний вплив на більшість ключових механізмів вторинних ушкоджень нейронів. Так, депресія метаболізму в клітинах при зниженні їх температури традиційно розглядається як важлива складова нейропротективної дії гіпотермії [90]. Зниження потреби в кисні, субстраті і АТФ сприяє зменшенню реакцій нейронів на ішемію, подовжує період їхнього життя в умовах гіпоперфузії [63]. Обмеження місцевого запалення при ішемії і нейротравмі в умовах КЦГ

супроводжується зниженням прозапальних факторів, міграцією лейкоцитів і інфільтрацією ними тканини ГМ [90], зниженням набряку і зменшенням внутрішньочерепного тиску [3, 11, 91, 92]. В умовах гіпотермії зменшується обсяг пошкодження нервової тканини і попереджується загибель нейронів як по некробіотичному типу, так і шляхом апоптозу [13, 93, 94].

Відомо, що ефективність нейропротекції тим вище, чим нижче температура ГМ, а не тіла. Зокрема, при моделюванні ішемічного інсульту у щурів показано, що нейропротективні властивості КЦГ починають проявлятися при температурі тіла нижче 35°C, приводячи до зменшення обсягу інфаркту ГМ на 44% в порівнянні з тваринами з більш високою температурою. Для значного зменшення розміру інфаркту ГМ достатній час для його охолодження становить 3–4 години [94-96].

Концепція ТГ в цілому і КЦГ зокрема стала привертати значну увагу протягом останніх кількох десятиліть. Два великих рандомізованих дослідження, що проводилися в Європі та Австралії, показали істотну користь легкої гіпотермії при неврологічному дефіциті [63, 97]. КЦГ зменшувала температуру кори ГМ, знижувала швидкість кровотоку мозку і амплітуду альфа-бета-ритмів [98]. Автори припускають, що зниження альфа-бета-ритмів пов'язане з легкою седацією і нейропротекторним ефектом [98]. Було також з'ясовано [99], що КЦГ не тільки сприяє регресу неврологічного дефіциту, а і призводить до тромболізу. Поєднання КЦГ з додатковими лікувальними заходами і лікарськими препаратами може підвищувати ефективність м'якої гіпотермічної терапії і пригнічувати системну запальну і стрес-реакцію у пацієнтів з тяжкою ЧМТ [100]. Введення пацієнтам фактору росту нервів (nerve growth factor, NGF) в поєднанні з КЦГ сприяло підвищенню у них рівня нейротрофічних факторів мозку (BDNF) і зниженню сироваткових запальних чинників [100].

На даний час КЦГ розширює сфери свого застосування і використовується не тільки в інтенсивній терапії і реанімації [3, 6, 11, 83–85, 101], а й у пацієнтів з алкогольною хворобою [3, 6, 25, 30], при депресивних станах різного генезу, лікуванні психічних порушень, обумовлених порушеннями в ГМ [11, 28, 29, 89].

Застосування КЦГ в клінічній практиці призводить до зниження внутрішньочерепного тиску з нормалізацією гемо- та ліквородинаміки ГМ, що особливо актуально при судинних захворюваннях ГМ [103].

Ускладнень від одноразового і курсового застосування КЦГ не виявлено. Однак, незалежно від вибору методики проведення КЦГ, потрібно постійно і ретельно контролювати глибину і фокальність розвитку гіпотермії, що передбачає застосування в першу чергу апаратної ТГ і адекватного термомоніторингу [13, 102].

Результати досліджень, проведені у відділі кріофізіології ІПКіК НАН України, дали наукове обґрунтування застосування рКЦГ [18]. Було показано, що рКЦГ з частотою 0,1 Гц призводила до більш вираженого уповільнення частоти серцевого ритму (в 2–3 рази) у експериментальних щурів з підвищеним АТ, ніж безперервне охолодження. Отриманий феномен можна пояснити резонансом ритміки холодкових впливів з ритмічними характеристиками інтегральної (центральної) ланки (частота в 0,1 Гц відповідає оптимальній роботі терморецепторів) [103]. Встановлено, що рКЦГ призводить до вираженої корекції гуморальних і клітинних чинників імунореактивності організму гіпертензивних щурів, підвищуючи прояв центральних (парадоксальних) ефектів системно введених лікарських препаратів [11, 18, 39].

Таким чином, рКЦГ, як структурна одиниця ТГ, має широкі терапевтичні можливості, як самостійний метод терапії, так і в комплексній терапії широкого спектра захворювань і патологій.

1.2 Застосування кордової крові як джерела мультипотентних стовбурових клітин в терапії цереброваскулярних патологій

Розробка ефективних методів допомоги при захворюваннях і травмах ЦНС – одне з найбільш складних завдань сучасної медицини. За частотою і поширеністю хвороби нервової системи займають в загальній структурі всієї захворюваності 4 місце [19, 23, 104–107]. ВООЗ опублікувала статистичні дані (з матеріалів

журналу «Бюлетень Всесвітньої організації охорони здоров'я»), згідно з якими приблизно 1 млрд. людей, тобто 7 частина населення земної кулі, страждають від тих чи інших хвороб нервової системи, серед яких ДЕ займає одну з лідируючих позицій. Від ЦВЗ, за даними ВООЗ, щорічно вмирають близько 6,2 млн. людей, а судинні захворювання ГМ визнані однією з провідних причин смертності та інвалідності в світі [19, 23, 104–107].

Традиційні методи лікування, які мають багаторічну історію, в більшості випадків не можуть змінити прогресуючий перебіг цереброваскулярних порушень. Медикаментозне лікування і підтримуюча терапія в ряді випадків не дає бажаного лікувального ефекту, а лише притупляє симптоми і викликає звикання до лікарських препаратів, що через певний часовий проміжок призводить до втрати терапевтичного ефекту [23, 24, 107–116]. Неухильне зростання частоти ЦВЗ і прогресуючий їх перебіг призводить до подальших системних дисциркуляторних розладів, частих декомпенсацій з високим ступенем ризику розвитку інсульту.

Важкі соціально-економічні наслідки хронічних судинних захворювань ГМ обумовлюють актуальність пошуку ефективних методів лікування цієї патології. У зв'язку з цим проблема профілактики і лікування ДЕ вимагає створення нових, більш ефективних методів боротьби з розвитком і прогресуванням судинної деменції при ДЕ.

Протягом останніх 20 років проводяться спроби створення принципово нових методів лікування ДЕ. До таких методів можна віднести терапію СК, які можуть служити цінним джерелом нейроноподібних клітин і нейротрофічних факторів для лікування цілого ряду нейродегенеративних захворювань судинного генезу [23–28].

Численні експериментальні дані і результати клінічних досліджень свідчать про перспективність клітинної трансплантації при лікуванні інсульту, травми ЦНС і нейродегенеративних захворювань [23–28, 117–121]. Доклінічні дослідження терапії СК з моделюванням захворювань і патологічних процесів на

тваринах вказують на позитивний ефект застосування даного виду лікування [23–28, 117–121].

Основними цілями клітинної терапії є: [26]

1. Заміщення нефункціонуючої чи дефектної тканини або клітинної популяції;
2. Стимуляція власних прогеніторних клітин організму і посилення репаративної регенерації;
3. Адресна доставка біомолекул (різних регуляторних речовин, таких як: фактор росту фібробластів, фактор росту нейронів, фактор, що стимулює зростання макрофагальних і еритроїдних колоній, інсуліноподібний та ендотеліотропний фактори росту, проліферативні цитокіни, що запобігають гіперстимуляції).

В ході лікування з використанням клітинної терапії пацієнт отримує ряд біологічно активних збалансованих речовин природного походження, які здатні впливати на різні сторони метаболізму цілісного організму, а також стовбурові і прогеніторні клітини, що можуть виконувати замісні функції [23, 26–28, 117–120].

Таким чином, позитивний ефект від застосування клітинних технологій з використанням СК, вочевидь, обумовлений поєднанням їх замісного і організуючого впливу. СК для клітинної терапії можуть бути виділені з ембріональних і фетальних тканин, кісткового мозку (КМ), периферичної крові, жирової тканини та КК [15–18, 117–119].

Нейробиологічні дослідження останніх років ХХ століття переконливо свідчили про можливість відновлення порушених хворобою або травмою функцій мозку за допомогою пересадок ембріональної нервової тканини [23, 24, 120]. Однак, через імунологічні, релігійні, етичні проблеми і можливості утворення пухлин, трансплантація тканин і клітин ембріонального і фетального походження не може бути рекомендована до широкого клінічного застосування.

В даний час на зміну СК ембріонального походження прийшли мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) [25, 26, 121–123]. Численні експериментальні дані і перші результати клінічних досліджень свідчать про

перспективність клітинної трансплантації МСК при лікуванні інсульту, травм ГМ, нейродегенеративних і цереброваскулярних захворювань [25, 26, 122–132]. КМ і жирова тканина є найбільш поширеними джерелами МСК, які широко застосовуються в клінічній і експериментальній медицині [25, 26, 130]. Останнім часом встановлено, що МСК можна отримувати також з КК [23, 26, 130–132].

КК визнана альтернативним і найбільш доступним джерелом МСК. В роботі S. Kern і співавт. [130] показано, що ніяких істотних відмінностей відносно морфології і імунного фенотипування МСК, отриманих з КМ, жирової тканини і КК, виявлено не було. МСК КК мають величезний потенціал для мультилінійної диференціації [130, 131]. Таким чином, застосування КК, яка раніше використовувалася тільки для лікування гематологічних захворювань [23, 25, 26, 31, 133–135], може бути поширено і на негематологічні захворювання [26, 36, 136–140].

Роботами, виконаними за останні роки у відділі кріофізіології ІПКіК НАН України показано, що кЯВК КК можуть позитивно впливати не тільки на систему гемопоезу, а й на всю систему гомеостазу, нормалізувати рівень ліпідів, глюкози і кінцевих продуктів обміну оксиду азоту в сироватці крові тварин різних вікових груп при стрес-індукованій АГ [136–138]. Крім того, кріоконсервовані препарати КК нормалізують нейрогуморальну регуляцію серцевого ритму при фізіологічному старінні щурів [139] і аліментарному ожирінні [140].

Багатогранність терапевтичного потенціалу КК пов'язують з наявністю в ній мультипотентних СК, які здатні давати початок не тільки ГСК, але і епітеліальним, ендотеліальним і нервовим клітинам-попередникам [23, 26, 36, 37].

Велика кількість робіт вказує на можливість застосування клітин КК в неврології [23, 26–28, 30, 33, 141–150]. Перевагами клітин, виділених з КК, є безпека, доступність, низька імуногенність, відсутність законодавчих та етичних норм для їх застосування. Ці клітини не обтяжені вантажем генетичних мутацій, накопичених дорослими соматичними СК.

В останні роки були досліджені різні популяції СК в КК людини. Так, крім ГСК, були описані МСК КК [146, 149, 150], CD133⁺ популяція [151],

ендотеліальні прогеніторні клітини [152, 153]. Кількома групами дослідників була показана наявність плюрипотентної популяції СК КК, здатної утворювати як мезенхімальні та диференційні популяції (остео, хондро-, адіпо- і міобластичні), так і експресувати нейрональні і гепатоцитарні маркери *in vitro* і *in vivo* [34, 35, 154].

До теперішнього часу охарактеризовані клітини, що виділені з КК [23]:

- стовбурові кровотворні ($CD34^{+}$, $CD31^{+}$, $CD59^{+}$, $Sca-1^{+}$, $Thy1^{+}$, $Oct-4^{+}$, $Nanog^{+}$, $SOX2^{+}$, $FGF-4^{+}$);
- мультипотентні мезенхімальні стромальні;
- прогеніторні ендотеліальні ($CD34^{+}$, $GATA^{+2}$, $Flk-1^{+}$);
- side population (SP), здатні диференціюватися в міогеному та кровотворному напрямках;
- клітини, які експресують специфічні CD-маркери і дають початок різним клітинним типам.

З КК людини також вдалося виділити популяцію стовбурових негемопоезічних клітин (експресуючих *Oct-4*, *Rex-1*, *Sox-2*), які здатні позитивно впливати на перебіг експериментальної ішемії ГМ у щурів [155].

Підґрунтям до досліджень терапевтичної ефективності клітин КК в неврології послужили роботи по виділенню з неї клітин, характеристика яких близька до нейрональних. З різних популяцій клітин КК *in vitro* декількома групами дослідників були отримані всі види нервових клітин.

Піонерські роботи по отриманню нейрональних клітин з КК були виконані групою L. Buzanska в 2002 р. [142, 156]. Інші групи дослідників піддавали диференціюванню $CD45^{+}$ [157], $CD133^{+}$ [158] і МСК КК [159]. Виходячи з результатів цих досліджень, було констатовано, що різні популяції стовбурових і прогеніторних клітин КК можуть бути піддані диференціюванню *in vitro* в усі види нервових клітин. Це було показано не тільки дослідженням їх імунофенотипу, але і даними по експресії генів (мРНК) і характерних транскрипційних факторів [23, 26, 31, 158-163].

Накопичені знання дозволили перейти до експериментів з вивчення терапевтичної ефективності КК на різних патофізіологічних тваринних моделях, зокрема, на моделі неврологічного дефіциту. Найбільш виражений лікувальний ефект був отриманий при терапії СК КК інсульту [23, 24, 27, 107, 119, 164]. Ще в 2001 році було показано, що введення ГСК КК щурам з експериментальною моделлю інсульту покращує багато фізичних і поведінкових реакцій, пов'язаних з цим захворюванням [165]. В роботі було показано, що клітини мігрували в ГМ, переважно в зону ураження, і диференціювалися в нейрони і клітини глії (GFAP⁺, NeuN⁺, MAP-2⁺) [23, 165].

Роботи різних авторів [23, 24, 166] продемонстрували приблизно схожі ефекти трансплантації клітин КК при експериментальному інсульті, незважаючи на різницю в кількості клітин, яка вводилась (1–10 млн або 200 тис) і ступеня очищення трансплантату (мононуклеарні або CD34⁺–клітини).

В роботі [167] показано, що одноразове внутрішньовенне введення мононуклеарів КК людини зменшувало клінічні прояви ішемії мозку (білі щури-самці лінії Вістар з моделлю ішемічного інсульту) незалежно від дози клітин що вводяться (2x10⁴ або 2x10⁶ клітин на тварину). На 10 тиждень 10 тварин з модельованим ішемічним інсультом, що отримали препарат, практично не відрізнялися від ложнопрооперованих тварин за ступенем неврологічного дефіциту. При вивченні дозозалежного ефекту трансплантації мононуклеарних клітин КК людини на моделі ішемічного інсульту у щурів спостерігали поліпшення поведінкових реакцій і рухової активності через 2 та 4 тижні після трансплантації [166].

Таким чином, вдалося отримати доказову базу успішного застосування СК КК при інсульті тварин [23, 27, 28, 33, 121, 143, 144, 168–175]. СК КК можуть виступати в якості нейронних прогеніторних клітин і брати участь в регенерації і відновленні нейронів ГМ. Введення клітин КК також покращувало васкуляризацію, мієлінізацію і нейрогенез в тваринної моделі інсульту [23, 143, 145, 161, 163, 176]. Можна погодитися з думкою авторів, які роблять висновок, що в клініці препарат ЯВК КК може являти собою ефективний засіб профілактики

і/або лікування наслідків інсульту, для чого необхідні клінічні випробування [23, 26–28, 33, 160, 177].

Більшість проявів ЦВЗ пов'язано з гіпоксією під час пологів або в процесі старіння, в результаті зниження нейрогенезу і проліферації стовбурових/прогеніторних клітин [23, 177–180]. Аутологічні мононуклеарні клітини КК були використані при церебральному паралічу, викликаному гіпоксією мозку. Результати показали, що введення СК КК сприяло уповільненню процесів нейродегенерації [181] і збільшенню числа прогеніторних клітин в ГМ за рахунок стимуляції ендогенних СК та диференціювання клітин, що вводилися [182].

Пізніше було показано, що трансплантовані мононуклеарні клітини КК були виявлені в пошкоджених ділянках мозку щура на моделі пренатального ураження мозку [183]. СК КК також використовувалися в тваринних моделях травми спинного мозку. Після трансплантації СК (спільно з нейротрофічним фактором) в місце пошкодження, вони диференціювалися в нервові клітини і надавали позитивний ефект на регенерацію аксонів [184]. В іншому дослідженні, СК КК вводили щурам з фокальною ішемією після оклюзії артерій мозку, і отримували поліпшення функціонального стану тварин [185]. Ці трансплантовані клітини експресували нейрональні маркери і були виявлені в ураженій корі, підкіркових структурах і стріатумі пошкодженого мозку [186]. Таким чином, була доведена можливість СК КК не тільки мігрувати в ушкоджені місця в організмі реципієнта, а їх здатність до нейронального диференціювання.

Однак недолік експериментів *in vivo* не завжди дозволяє переконливо довести функціональну ефективність клітин КК. Одну з таких робіт було виконано групою Т. Zigova [187]. Пластик-адгезивну мононуклеарну предифереційовану фракцію КК пересаджували унілатерально в шлуночки ГМ новонароджених щурят без імуносупресії. Через місяць після трансплантації було виявлено, що близько 20% клітин, що вижили, виявлялися в субвентрікулярній зоні і лише 2% з них експресували GFAP (маркер мікроглії). Міграції, характерної для нейрональних СК, дослідники не спостерігали [187]. Можливою причиною відсутності міграції

та диференціювання в нейрони, на думку авторів, є трансплантація гетерогенної популяції клітин в імунокомпетентний орган (мозок) щурів.

Успіх трансфузії або трансплантації багато в чому визначається цілою низкою чинників, одним з яких є спосіб введення клітин. Існує багато можливих шляхів введення лікарських препаратів в організм. В даний час відомо кілька добре вивчених методів клітинної трансплантації: внутрішньовенне введення, внутрішньом'язове, а також введення СК безпосередньо в осередок ураження (локальне введення) [23, 25-28, 31, 121, 135].

Так, інтрацеребральна (локальна) трансплантація СК виявилася дуже перспективною для корекції мікроциркуляторних порушень в ГМ при АГ, сприяючи активації ангиогенезу і підвищуючи виживання нейронів в тканинах ГМ після ішемічного інсульту і травм голови в експерименті [188, 189]. Однак деякі дослідження показали, що пряма ін'єкція в мозок не потрібна [189], а позитивні результати спостерігали, навіть якщо СК не досягали органу-мішені [29, 190].

Традиційним способом трансфузії кріоконсервованих клітинних суспензій є їх внутрішньовенне введення, що забезпечує швидке настання і точне дозування ефекту, а також припинення надходження препарату в кров при виникненні побічних реакцій [135]. При внутрішньовенному введенні препарат відразу потрапляє в кров, при цьому ендотелій контактує з високою концентрацією БАР. Всмоктування при введенні в вену здійснюється дуже швидко протягом перших хвилин.

Деякими дослідниками показаний високий позитивний ефект після внутрішньовенної трансплантації СК КК при ішемічному інсульті та переваги внутрішньовенного введення перед інтрацеребральним. При цьому автори [29, 190] виявляли введені клітини в ГМ, переважно в зоні пошкодження, де клітини диференціювалися в нейрони і клітини глії.

Цікаві результати внутрішньовенної трансплантації сингенних СК КМ щурам були представлені в роботі А.О. Соловйової і співавт. [191]. Вченими була показана присутність маркерів донорських клітин в органах реципієнта протягом принаймні 3 місяців, причому в деяких органах (печінка, селезінка та ГМ)

кількість клітин донорського походження збільшувалася з часом. На думку авторів, це може свідчити про проліферацію і диференціювання трансплантованих клітин, що не суперечить теорії про придбання СК фенотипу зрілих клітин. Щодо подальшої долі трансплантованих клітин існують різні думки. Однак факт збільшення кількості маркера в органах через 1 і 3 місяці, ймовірно, більше свідчить про пластичність СК, проліферацію і диференціювання трансплантованих клітин в органах реципієнтів. Іншими авторами [158, 192] практично не було виявлено міграції СК КК в ГМ при їх внутрішньовенному введенні. В роботі було показано, що клітини КК, хоч і стимулюють нейро- і ангиогенез, але не мігрують через гематоенцефалічний бар'єр [23, 192–194]. Міграція СК в уражені ділянки ГМ виявлена при виборі внутрішньоартеріального способу введення цих клітин, а не внутрішньовенної ін'єкції, та обґрунтована в роботах авторів [168, 175, 192].

Цікаво, що при внутрішньочеревному введенні клітинної суспензії КК щурам з ушкодженнями ГМ в результаті гіпоксії та подальшої ішемії був отриманий значний ефект відновлення нейронів [195]. Це свідчить про те, що при цьому способі введення клітини КК не втрачають своєї функціональної активності [196].

Як показано в роботах [23, 26–28, 192, 194] клітини КК, незалежно від способу їх введення та кількості трансплантованих СК, реалізують свій позитивний ефект. В даний час клітинні та молекулярні механізми цих ефектів активно вивчаються.

Ряд авторів вважає, що реалізація терапевтичного ефекту від введення СК КК при ЦВЗ здійснюється головним чином за рахунок розмноження, диференціювання та заміни втрачених внаслідок хвороби нейронів [23, 27, 192]. Однак було виявлено, що міграція СК із загального кровотоку в тканини ГМ йде значно повільніше, ніж проникнення факторів росту через гематоенцефалічний бар'єр [23, 192, 194]. Очевидно, що в основі позитивного терапевтичного ефекту лежить не заміщення пошкоджених нейронів або інших клітин, а перш за все активація регенеративних процесів в тканинах реципієнта. Такий механізм дії є провідним не тільки при алло- або ксено-, але і для аутологічної трансплантації

або трансплантації сингенних клітин [23]. Поліпшення неврологічного статусу наступало, на думку авторів, за рахунок зниження рівня запальних цитокінів [197], ішемії [198, 199] і рівня гранулоцитарної і моноцитарної інфільтрації, а також за рахунок активації астроцитів і мікроглії [197]. Цей ефект обумовлюється здатністю СК КК інвазуватися після трансплантації в тканини реципієнта, переміщатися в осередки ішемії, запалення або механічного пошкодження в ЦНС, піддаватися там хоумінгу і індукувати або посилювати процеси регенерації за рахунок секреції факторів росту і цитокінів [23, 26–28, 192, 194]. Наймовірніше, трансплантовані СК, досягнувши уражену зону ГМ, надають стимулюючі паракринні ефекти.

Трансплантовані мононуклеари КК здатні до переважної міграції в осередки нейродегенерації, де служать джерелом ростових і трофічних факторів [23, 26, 29, 192, 200]. В експериментах *in vitro* продемонстровано здатність мононуклеарних клітин КК секретувати інтерлейкіни, фактори росту і білки хемотаксису [201]. Показано також, що клітини CD34⁺ людини виділяють численні ангіогенні фактори, включаючи VEGF (Vascular-Endothelial Growth Factor) – сигнальний білок, що виробляється клітинами для стимулювання васкулогенезу [23].

Таким чином, СК КК є унікальним і перспективним об'єктом для їх застосування в регенеративній медицині з метою створення принципово нових методів лікування ЦВЗ, включаючи і ДЕ.

Одним з важливих моментів застосування СК КК в медичній практиці є їх біологічна безпека, висока ступінь функціональної активності і можливість довгострокового зберігання [23, 25-28, 31, 121, 135]. Технології кріоконсервування дозволяють зберегти життєздатність і функціональну активність біологічних об'єктів після відігрівання, що забезпечує високу клінічну ефективність після їх застосування. Механізм дії життєздатних препаратів заснований на збереженні після відігрівання повноцінності клітин і тканин, а також наявності в них БАР природного походження, що мають різноспрямовану фармакологічну дію.

В ІПКіК НАН України розроблений і запатентований оптимальний багатоетапний спосіб заморожування суспензії клітин КК [38]. Даний метод кріоконсервування дозволяє не тільки зберегти до 95% ГСК (CD34⁺) та до 90% всіх моноклеарних клітин КК, а і знизити концентрацію кріопротектору DMSO до 5%, поєднуючи його з високомолекулярним декстраном («Поліглюкін» з молекулярної масою 60000 ± 10000). Для зниження можливої токсичності DMSO при подальшій інфузії кріоконсервованих клітин КК використовуються методи седиментації еритроцитів і подальшого центрифугування ЯВК КК з метою зменшення кінцевого обсягу до 10,0 мл. Таким чином, використання 5% розчину DMSO в якості кріопротектора і 6% розчину декстрану для кріоконсервування клітинної суспензії КК в обсязі 10 мл по 4-етапній програмі заморожування [38], дозволяє домогтися високих показників життєздатності ЯВК, не вимагаючи їх відмивання від кріопротектора перед інфузією [133, 134, 136–140].

1.3 Дисциркуляторна енцефалопатія. Сучасні аспекти етіопатогенезу

Щорічно АНА (American Heart Association), NHLBI (National Heart, Lung and Blood Institute) та інші урядові установи Америки працюють разом, щоб провести огляд найактуальніших національних даних про серцеві захворювання, інсульти та інші судинні захворювання і представити їх результати в щорічних доповідях [202]. Як показано в доповіді Американської кардіологічної асоціації за 2017 рік, ЦВЗ займають лідируюче положення в структурі поширеності, інвалідизації та смертності серед захворювань системи кровообігу [203].

Термін «цереброваскулярні захворювання» об'єднує групу захворювань ГМ, обумовлених патологією церебральних судин з порушенням мозкового кровообігу. Цереброваскулярні захворювання є найважливішою медико-соціальною проблемою в зв'язку з широкою поширеністю, високою смертністю і значними показниками тимчасових трудових втрат і інвалідизацією [204]. У 2004 році ВООЗ оголосила інсульт глобальною епідемією, яка загрожує життю і здоров'ю населення усього світу. Відповідно до оцінок ВООЗ (2006) в світі

щорічно реєструється близько 6 млн випадків мозкового інсульту, кожен четвертий з них – з летальним результатом [205, 206].

В Україні з різними формами ЦВЗ зареєстровано понад 3 млн осіб. За даними 2011 року, поширеність судинних захворювань ГМ склала 8493 на 100 тис. населення [20–22, 207]. ЦВЗ визначають тривалість і якість життя населення країни і обумовлюють 2/3 всіх летальних випадків, будучи основною причиною інвалідності [20, 208, 209]. За останні 10 років поширеність цих захворювань в нашій країні істотно зросла, особливо хронічних форм недостатності мозкового кровообігу (частка інсульту складає всього близько 4%, за даними професора Т.С. Міщенко) [21]. У зв'язку з цим в Україні ЦВЗ є важливими медико-біологічними і соціальними проблемами та закономірно привертають увагу до питань профілактики та лікування цієї патології для поліпшення якості життя пацієнтів.

Згідно з офіційною статистикою МОЗ України, в 2015 році було зареєстровано понад 2,5 млн пацієнтів з різними формами ЦВЗ, що на 100 тис. населення становить 7200,3 випадків. З цієї кількості 11,2% – це люди працездатного віку [20, 21, 210–212, 211].

Як відзначають експерти ВООЗ, в майбутньому кількість ЦВЗ буде зростати [19, 104, 107, 213]. Згідно з прогнозами, до 2020 року захворюваність на інсульт зросте на 25% (до 7,6 млн осіб на рік), що обумовлено старінням населення планети і зростанням поширеності в популяції факторів ризику мозкових інсультів. В економічно розвинених країнах смертність від інсульту займає 2–3 місце в структурі загальної смертності.

За останні 25 років поширеність хвороб системи кровообігу в Україні зросла втричі, рівень смертності від них на 45% [106, 214, 215]. Тому профілактика цереброваскулярних ускладнень АГ залишається однією з найважливіших і до кінця невирішених проблем сучасної медицини [111, 113].

У структурі ЦВЗ велику частку займають хронічні порушення мозкового кровообігу (понад 90%), які у вітчизняній науковій літературі та клінічній практиці традиційно позначаються терміном «дисциркуляторна енцефалопатія».

Дисциркуляторна енцефалопатія – це синдром хронічного прогресуючого ураження головного мозку судинної етіології, який розвивається в результаті хронічної недостатності кровопостачання ГМ і (або) повторних гострих порушень мозкового кровообігу і виявляється клінічно неврологічними, нейропсихологічними і/або психічними порушеннями [216–218].

Велика частка (96%) в структурі ЦВЗ в Україні належить до хронічних порушень мозкового кровообігу [20–22, 106]. У це поняття входять: дисциркуляторна енцефалопатія, хронічна ішемічна хвороба мозку, судинна енцефалопатія, цереброваскулярна недостатність, атеросклеротична енцефалопатія, судинний (атеросклеротичний) паркінсонізм, судинна деменція, судинна (пізня) епілепсія [19, 104, 105, 107, 111–114, 116].

Саме за рахунок зростання ДЕ спостерігається збільшення поширеності ЦВЗ. Слід зазначити, що майже половина всіх випадків ДЕ реєструється у людей працездатного віку. В Україні згідно зі статистичними даними 6,1% населення страждає ДЕ [20, 21].

Існує багато причин швидкого збільшення темпів зростання поширеності ДЕ в Україні. Розвитку ДЕ сприяють зростаюча поширеність серед населення АГ, цукрового діабету, захворювань серця і системи крові, зловживання алкоголем, куріння, стресові ситуації [219, 220]. Основними причинами ДЕ є АГ і атеросклероз. Така ДЕ називається гіпертензивною дисциркуляторною енцефалопатією [110, 217].

На практиці дуже часто зустрічаються ситуації, коли на мозок впливає не один, а кілька патологічних факторів, тому не завжди вдається встановити, яка саме причина викликала порушення роботи ГМ. У таких випадках встановлюється діагноз енцефалопатія змішаного генезу (або ДЕ змішаної форми) [110, 217].

ДЕ, відповідно до існуючих уявлень, це результат повільно прогресуючої недостатності кровопостачання, що призводить до розвитку множинних дрібновогнищевих некрозів мозкової тканини і обумовлює наростаюче порушення функцій ГМ.

У сучасній вітчизняній і зарубіжній літературі існує багато дискусійних моментів, пов'язаних з термінологією ДЕ. У Міжнародній класифікації хвороб (МКБ) 10-го перегляду термін ДЕ відсутній [221, 222]. Для позначення хронічних форм ЦВЗ виділені рубрики «церебральний атеросклероз», «гіпертензивна енцефалопатія», «інші уточнені ураження судин мозку», включаючи «хронічну ішемію мозку», «неуточнені цереброваскулярні захворювання», «прогресуючу судинну лейкоенцефалопатію» (хвороба Бінсвангера) [207].

Для позначення критичних стадій хронічної ішемії мозку (або стадій, які подальше невинно прогресують) користуються терміном «судинна деменція». В Україні, як і в інших країнах СНД, до сих пір для позначення хронічної ішемії мозку використовують термін «дисциркуляторна енцефалопатія». Цей термін був запропонований ще в 1950-х роках Є.В. Шмідтом і Г.А. Максудовим [223, 224]. Крім ДЕ в Україні використовуються такі терміни, як «хронічна недостатність мозкового кровообігу», «хронічна ішемічна хвороба мозку», «судинна/гіпоксична/атеросклеротична/гіпертензивна енцефалопатія» та ін. [225–228].

В основі механізму розвитку будь-якого виду енцефалопатій найбільш часто лежить гіпоксія мозку, що є наслідком погіршення його кровопостачання, венозного повнокрів'я, набряку, впливу на мозок екзогенних і ендогенних токсинів, які поглиблюють порушення метаболізму ГМ [104, 105, 107, 113, 114, 116].

Найбільш несприятливий перебіг та розвиток патологічних процесів відзначається, коли є додатковий токсичний фактор, який сам може провокувати розвиток енцефалопатії на тлі вже існуючих змін [116]. Так, спроба емоційної та психологічної компенсації несприятливого зовнішнього впливу за допомогою прийому різних доз алкоголю лише посилює розвиток і перебіг порушень метаболічних процесів в тканинах і органах.

Для постановки діагнозу ДЕ у хворого повинна бути наявність клінічних ознак ураження ГМ у вигляді неврологічних, когнітивних, емоційно-афективних симптомів та синдромів; наявність серцево-судинного захворювання (АГ,

атеросклероз і ін.); наявність структурних змін ГМ та наявність клінічних та параклінічних ознак прогресування цереброваскулярної недостатності. Когнітивні порушення є невід'ємною складовою ДЕ і часто служать найважливішим її діагностичним критерієм, що свідчить про тяжкість стану хворих і є чутливим маркером для оцінки динаміки захворювання [229, 230].

Традиційні методи лікування, які мають багаторічну історію, в більшості випадків не можуть змінити прогресуючий перебіг ЦВЗ [231, 232]. Тому, розробка нових ефективних методів боротьби з розвитком і прогресуванням судинної деменції при ДЕ – найважливіше завдання медицини і біології.

1.4 Спонтанно гіпертензивні щури лінії SHR як адекватна модель для вивчення дисциркуляторної енцефалопатії

Обрана модель на лабораторних тваринах повинна бути адекватна організму людини і залежати від формування уявлень про механізми фізіологічних процесів і стратегії вибору нових фізичних агентів і терапевтичних препаратів з певними фізіологічними та фармакологічними властивостями [233].

На сьогоднішній день АГ є найбільш поширеною причиною розвитку ДЕ [234, 235]. Серед існуючої великої кількості експериментальних моделей АГ спонтанно гіпертензивні щури лінії SHR (spontaneously hypertensive rats) розглядаються як найбільш тотожні есенціальній гіпертензії людини [236].

Розвиток АГ, її перебіг і наслідки на організм у цих тварин близькі до розвитку АГ у людини, тому в даний час щури лінії SHR визнані вдалою моделлю АГ і широко використовуються в експериментальній роботі [111, 236-238]. Вплив підвищеного АТ на морфофункціональний стан ГМ є надзвичайно важливою проблемою. Високі цифри АТ частіше асоціюються з високим ризиком розвитку гострого порушення мозкового кровообігу та інсульту, проте показано, що провідну роль у зміні стану ГМ грає не одномоментне підвищення, а хронічно високі показники АТ [111, 238–240].

Аналіз даних сучасної літератури щодо впливу АГ на ГМ і його гемодинаміку представлений в роботі Ю.І. Головченка і М.А. Трещинської [112]. При АГ відбувається ремоделювання судинного русла, порушення ауторегуляції мозкового кровотоку і порушення речовини ГМ. Подібні зміни спостерігаються і у щурів SHR [236, 241, 242]. Крім цього, спонтанно гіпертензивні щури є моделлю для вивчення неврологічно-поведінкових розладів [243–252] і цілого ряду ЦВЗ [23, 238, 253], судинної деменції [23, 254, 255], що об'єднуються загальним терміном ДЕ. Щури SHR є також загальноприйнятою моделлю для вивчення ряду метаболічних порушень [256].

З метою вивчення ЦВЗ і ДЕ, як і АГ, найбільш часто використовується лінія щурів SHR [258]. Лінія була виведена в 1963 році в м. Кіото з щурів лінії Wistar-Kyoto шляхом схрещування самців, що мають сильно підвищений АТ з самками, що мають злегка підвищений АТ. Наступне за цим схрещування супроводжувалося безперервною селекцією на спонтанну АГ. В якості контролю до щурів лінії SHR іноді використовують лінію WKY (Wistar-Kyoto), як нормотензивну контрольну лінію. АТ починає підвищуватися у тварин лінії SHR з 3-х місячного віку [236], досягаючи свого плато 200 мм рт.ст. на 7–15-му тижнях життя [236, 259]. Розвиток АГ пов'язують з полігенетичними змінами, з залученням 3-х генів [237, 259–261].

За етіопатогенетичними механізмами розвитку АГ неоднорідна [262, 263]. Стійка АГ, незалежно від причин і механізмів її виникнення, супроводжується різним ступенем прояву порушень вуглеводного і жирового обмінів [259], та прямо залежить від рівня глікемії, холестерину, тригліцеридів і стану водно-сольового обміну [259, 264].

Варіабельність АГ багато в чому визначається тонусом як симпатичної (СНС), так і парасимпатичної нервової системи (ПНС) [265]. Згодом при стійкій хронічній АГ виникають ураження органів мішеней, а саме кровоносних судин, сітківки ока, нирок, серця, ГМ [259]. З підвищенням АТ серце відчуває підвищене навантаження, що вимагає більшого припливу кисню і поживних речовин [267]. При впливі високого АТ на судини виникає баротравма інтими і ендотеліальна

дисфункція, розвивається атеросклероз і гіаліноз судин, і, як наслідок, зменшується їх просвіт з подальшою ішемією органу [267].

У тварин лінії SHR спостерігається високий ризик серцево-судинних захворювань. Так, у представників цієї лінії спостерігалось перевищення маси серця і питомої щільності органу в порівнянні з нормотензивним контролем на 23% і 14%, відповідно. [259].

На хронічне підвищення АТ і порушення кальцієвого гомеостазу серцевий м'яз відповідає компенсаторним розвитком гіпертрофії [268]. При цьому в кардіоміocyтах щурів SHR спостерігаються патологічні порушення NO-cGMP-регуляторної системи [269], зміни в мембранах і в змісті саркомерних білків [268]. Ці тварини мають ряд аномалій судинної системи – таких як структурні порушення судинної стінки, виражені в зменшенні просвіту судин [239, 270], патології функціональної активності ендотелію судинної стінки, які проявляються в порушенні мікроциркуляції і реології [259, 270]. Середній АТ у SHR щурів в 2 рази вище, ніж у нормотензивних тварин і він строго корелює з церебральною дисфункцією [259].

На відміну від щурів лінії Wistar гематологічні параметри у щурів лінії SHR менш стабільні. В ході онтогенезу цієї лінії щурів відбувається збільшення загального числа лейкоцитів, змінюються і показники червоної крові: збільшується кількість еритроцитів і гемоглобіну [270, 271]. Кількість тромбоцитів у щурів-самців лінії SHR в онтогенезі зростає, що пов'язано з наявним у цієї лінії щурів дефектом CCC [259].

Аналіз даних літератури показав [270–276], що зростання гематокриту і підвищення в'язкості крові у щурів лінії SHR є предикторами ендотеліальної дисфункції і підвищення АТ. Підвищення гематокриту можна розцінювати як компенсаторну реакцію, в той час як збільшення в'язкості крові є негативним гемодинамічним ефектом. Гематокрит і агрегація еритроцитів в період зростання АТ є параметрами, що впливають на активність ендотелію при вазодилатації. Порушення реологічних властивостей крові не зникають при зниженні АТ і є однією з причин порушення кровообігу в органах-мішенях при АГ.

Таким чином, хронічна АГ – вкрай неоднорідний стан з багатофакторною етіологією. У SHR щурів за рахунок порушення центрального регулювання АТ спостерігається функціональне збільшення периферичного судинного опору. Підвищений нейрогенний тонус призводить до прискорення синтезу білка і викликає структурні зміни в судинах (гіперплазія гладком'язових клітин і порушення їх по адренергичним механізмам).

Відповідно до робіт [259, 264] у спонтанно гіпертензивних щурів більш ніж в 2 рази збільшен рівень тиреотропного гормону, мають місце порушення внутрішньоклітинного балансу електролітів зі збільшенням внутрішньоклітинного натрію і кальцію. Тривала поточна АГ супроводжується гіперальдестеронізмом. Альдостерон впливає на виведення калію, в результаті чого виникає дистрофія серцевого м'яза і, як наслідок дилатація лівого шлуночка. Це, в свою чергу, викликає застійні явища у великому і малому колах кровообігу. В результаті формується портальний застій, який супроводжується патологією функції печінки зі зниженням сечовини, що цілком укладається в порочне коло розвитку АГ у даної лінії щурів. У зв'язку з цим і тривалість життя у щурів лінії SHR скорочується приблизно на півроку в порівнянні з нормотензивними [277].

Одним із проявів хронічної судинної ішемічної патології ГМ є когнітивні порушення. Існує багато доказів, що АГ є найпотужнішим модифікуючим фактором ризику для дисфункції церебральних судин і може сприяти зниженню когнітивних проявів [278]. Синдром дефіциту уваги і гіперактивності (СДУГ) є комплексним нейропсихіатричним розладом, який включає поведінкові і когнітивні відхилення, такі як неухвага, імпульсивність і гіперактивність. Спонтанно гіпертензивні щури є загальновизнаною моделлю СДУГ [243–252]. Однією з причин патології поведінкових відхилень щурів SHR, на думку автора [279], може бути функціональна зміна глутаматергічної синаптичної трансмісії. Крім цього щури лінії SHR характеризуються підвищеною чутливістю до дії етанолу, в результаті чого вони можуть виступати в якості моделі для вивчення дії алкоголю на всі функціональні системи організму [280].

Таким чином, обрана нами модель ДЕ адекватна патології організму людини, а досліджувані нами особливості самостійного і поєднаного впливу рКЦГ і кЯВК КК на щурів лінії SHR в подальшому можуть знайти своє застосування в комплексі терапевтичних заходів при ЦВЗ. З огляду на вище викладене, актуальним є проведення наукових досліджень із визначення дії рКЦГ, кЯВК КК та їх поєднаного застосування на структурно-функціональний стан центральної нервової системи у щурів лінії SHR на тлі розвитку гіпертензивної та ускладненої хронічною алкогольною інтоксикацією ДЕ.

За матеріалами першого розділу опублікована робота [33].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ Й МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Характеристика експериментальних тварин та схема експерименту

Дослідження виконані на статевозрілих 12-13 місячних білих безпородних (нормотензивний контроль – N) і спонтанно гіпертензивних щурах-самцях лінії SHR, масою 250-300 грамів. Всього в експерименті було використано 14 білих безпородних і 98 спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR.

Щури лінії SHR, були моделлю гіпертензивної ДЕ [240, 254, 255], а тварини цієї ж лінії, які піддавалися ХАІ протягом 9 місяців, виступали в якості моделі ДЕ змішаного генезу (гіпертензивна ДЕ, обтяжена ХАІ) [254].

Основну частину досліджень проведено на базі наукових підрозділів Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (м. Харків), відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.01.2006 р) при дотриманні вимог Комітету інституту з біоетики, узгоджених з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986).

Усі тварини утримувались в умовах віварію ІПКіК НАН України зі стандартним харчовим раціоном і вільним доступом до їжі і води (крім щурів з ХАІ). Маніпуляції зі щурами виконували в першій половині дня.

Науково-дослідна робота складалася з трьох частин (рис. 2.1):

1 – вивчення функціонального стану регуляторних систем організму нормотензивних щурів;

2 – вивчення впливу рКЦГ, кЯВК КК та їх поєднання на функціональний стан регуляторних систем організму щурів з генетично детермінованою АГ (спонтанно гіпертензивні щури SHR);

З – вивчення впливу рКЦГ, кЯВК КК та їх поєднаного застосування на функціональний стан регуляторних систем організму щурів з генетично детермінованою АГ, що була ускладнена ХАІ (SHR алк.).

В динаміці проведення експерименту і в період спостереження жодна з досліджуваних тварин не загинула.

Дизайн експерименту представлений на рис. 2.1. Кожна група складалася не менше ніж з 7 експериментальних тварин.

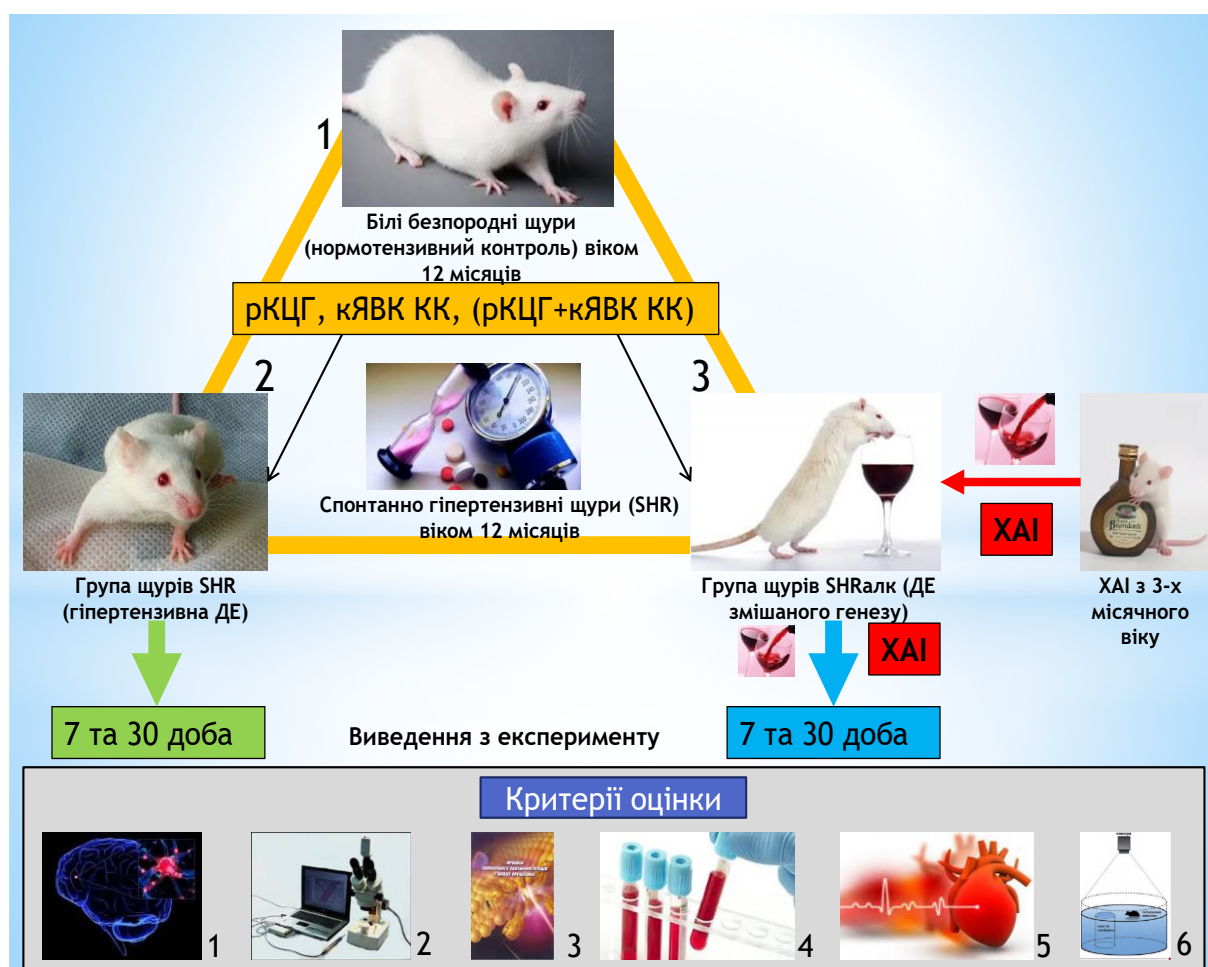


Рис. 2.1. Схема (дизайн) експерименту

2.2 Моделювання хронічної алкогольної інтоксикації

Хронічну алкогольну інтоксикацію у щурів лінії SHR здійснювали за методом [281], який передбачає споживання алкоголю тваринами самостійно, в три етапи:

перший етап – відбір тварин, схильних до алкоголізації;

другий – звикання щурів до алкоголю;

третій – інтенсивна алкоголізація.

Після завершення останнього етапу щурів переводили на малу дозу алкоголю (15% розчин етанолу як єдине джерело рідини). ХАІ проводили, починаючи з 3-х місячного віку і не припиняли до виведення тварини з експерименту.

2.3 Біохімічні методи дослідження для підтвердження хронічної алкогольної інтоксикації у щурів лінії SHR

Амінотрансферазна активність сироватки крові є загальноприйнятим маркером розвитку ушкодження печінки як показника ступеня тяжкості хронічного отруєння алкоголем.

Амінотрансферазна активність, сироваткові концентрації якої підвищено при гепатиті, цирозі, алкогольному делірії і інших захворюваннях печінки, пов'язаних з некрозом, визначали в сироватці крові щурів лінії SHR ферментативним методом за допомогою експрес наборів («Біокон», Росія). Принцип методу заснований на спектрофотометричному вимірюванні інтенсивності поглинання NADPH при 340 нм, кількість якого знижується пропорційно активності трансаміназ [259].

Активність аспартатамінотрансферази (АСТ) визначали за методом Н.У. Bergmeyer і співавт., активність аланінамінотрансферази (АЛТ) – за методом Вроблевського в модифікації Н.У. Bergmeyer і співавт. і виражали в мкмоль NADPH на 1 літр сироватки за 1 хвилину (Е/л) [259, 281].

Нами показано, що ХАІ щурів протягом 9 місяців призводила до статистично значущих змін амінотрансферазної активності (табл. 2.1), що є доказом адекватності обраної методики моделювання ХАІ у щурів.

Таблиця 2.1

Рівень амінотрансфераз в сироватці крові щурів лінії SHR до і після ХАІ

Група	Амінотрансферазна активність, Е/л	
	АСТ	АЛТ
SHR	23,6±4,12	13,8±3,33
SHRалк	65,7±8,45 ¹	46,6±8,53 ¹

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від групи SHR (p < 0,05).

2.4 Методика ритмічної краніоцеребральної гіпотермії і введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові

Для проведення рКЦГ використовували апарат «Флюїдокраніотерм ПГВ-02» з блоком програмного управління – шторкою, що забезпечує в заданому режимі переривчасту подачу хладоагенту (холодне повітря з температурою 4-6°C) при частоті впливу 0,05-0,2 Гц [17, 282]. Під час рКЦГ щур перебував в спеціальній камері, що обмежує рух, в яку потік холодного повітря подавали тільки на краніоцеревікальну область. Тварина протягом всієї процедури дихала атмосферним повітрям. Проводили рКЦГ одноразово, тривалість сеансу не перевищувала 90 хвилин, а ректальна температура не опускалася нижче 35°C.

Експериментальним тваринам вводили готовий препарат кЯВК КК людини [283, 284, 285], який отримували в кріобанку ПІКіК НАН України. Розморожений препарат кЯВК КК являв собою суспензію кріоконсервованих ЯВК КК в аутоплазмі КК з концентрацією CD34⁺ - клітин (2-4)×10⁵ в 1 мл. Кріопробірки із замороженою суспензією ЯВК КК розморожували на водяній бані при температурі 37°C. Розморожені зразки кЯВК КК вводили одноразово внутрішньочеревно з розрахунку (3-5) ×10⁵ життєздатних ЯВК на кг маси тіла тварини. Препарат доводили до об'єму 1 мл аутоплазмою КК. Вибір зазначеної концентрації базувався на наявних літературних даних щодо ефективності застосування кордової крові людини за внутрішньочеревного введення в щурів після моделювання інсульту [286], а також на попередніх роботах [287, 288],

проведених у відділі кріофізіології ІПКіК НАН України. Контрольним тваринам проводили аналогічні маніпуляції з використанням фізіологічного розчину об'ємом 1 мл.

З метою вивчення поєднаного впливу рКЦГ та кЯВК КК препарат вводили щурам після сеансів церебральної гіпотермії за наступною схемою: спочатку проводили сеанс рКЦГ, після чого через добу їм вводили кЯВК КК.

2. 5 Гістологічні та морфометричні методи дослідження

Контрольних і дослідних тварин виводили з експерименту шляхом декапітації на 7-му та 30-ту добу після проведених впливів. Матеріалом для гістологічного дослідження був ГМ щурів, фіксований в 10% нейтральному формаліні, з якого брали зразки з області прецентральної звивини товщиною 0,4 см, що включають м'яку мозкову оболонку, сіру і білу речовину мозку, кору і підкіркові структури. Оглядові препарати, забарвлені гематоксиліном і еозином, використовувалися для загальної оцінки стану м'яких мозкових оболонок і речовин ГМ. Фарбування препаратів пікрофуксином по ван Гізону проводили для виявлення і оцінки ступеня розвитку колагенових волокон в стромі м'яких мозкових оболонок і стінках судин. Препарати, пофарбовані толуїдиновим синім по Ніслю, служили об'єктом для вивчення стану нейронної популяції, гліального компонента клітинної популяції речовини мозку, гліо-нейрональних взаємодій [289].

Морфометричні дослідження для об'єктивізації отриманих даних проводили на препаратах, забарвлених толуїдиновим синім по Ніслю. Визначали значення нейрогліального індексу (кількість гліальних клітин, що припадають на один нейрон), щільність нейронів, гліоцитів і функціонуючих (відкритих) капілярів (в 1 мм²) в III-V шарах кори ГМ. Всі морфометричні і морфологічні дослідження проводили на мікроскопі Olympus BX-41 («Olympus Corporetion», Японія) з використанням комп'ютерної програми Olympus DP-Soft 3.1 («Olympus Corporetion», Японія).

2.6 Визначення інтенсивності перекисного окислення ліпідів в гомогенаті мозкової тканини

Для оцінки інтенсивності ПОЛ в гомогенаті мозкової тканини використовували спектрофотометричний метод визначення швидкості накопичення МДА, як одного з продуктів ПОЛ, з реагентами ZeptoMetrix (США). Суть методу полягає в тому, що МДА утворює з тіобарбітуровою кислотою стійкий забарвлений комплекс, інтенсивність забарвлення якого пропорційна концентрації кінцевого продукту ПОЛ. Рівень МДА в гомогенаті мозкової тканини контрольних і експериментальних тварин на 7-му і 30-ту добу після проведення рКЦГ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування обчислювали в присутності прооксидантів (солі Мора і аскорбінової кислоти) (індуковане ПОЛ) і в їх відсутності (спонтанне ПОЛ) [290, 291].

2.7 Гематологічні методи дослідження

Абсолютну кількість еритроцитів в периферичній крові (ПК) визначали загальноприйнятим методом в камері Горяєва, використовуючи об'єктив Х40 і окуляр Х7 [292].

Відносну в'язкість крові визначали з використанням капілярного віскозиметра ВК-4 (Полтавський склозавод, м Полтава) [292].

Для оцінки рівня постачання кисню до тканин (РПК) використовували розрахунковий показник k - відношення гематокриту до в'язкості крові [293].

Зміна зовнішнього контуру еритроцитів – одна з відповідних реакцій системи крові на будь який несприятливий вплив на організм. Особливо показовим є сферичний індекс еритроцитів, що свідчить про перебудову структури і зміну фізико-хімічних властивостей еритроцитарної мембрани [294]. Індекс сферичності (IC), що прямо пропорційний поверхнево-об'ємному співвідношенню (S/V) і характеризує форму еритроцитів, визначали методом малокутового розсіювання світла в суспензії еритроцитів (30% гематокрит) [295].

Для визначення щільності розподілу еритроцитів по ІС отримували експериментальні криві осмотичної крихкості (ОХ). З цією метою в вимірювальну комірку приладу для визначення інтенсивності розсіяного суспензією еритроцитів світла, що містить 3 мл розчину хлориду натрію з концентрацією від 0,15 до 0,05 М, додавали 3 мкл еритромаси. За даними малокутового розсіювання та каліброваного графіка визначали долю (у відсотках) непрогемолізованих клітин в гіпотонічних розчинах непроникаючої речовини. Розподіл еритроцитів по ІС встановлювали по залежності осмотичній крихкості, використовуючи фізико-математичну модель гіпотонічного гемолізу еритроцитів в розчині непроникаючої речовини [295-299]. Щільність розподілу еритроцитів по ІС є функцією, яка визначає частку клітин, сферичний індекс яких укладено в певному інтервалі: заштрихованна площа під кривою ρ (рис. 2.2).

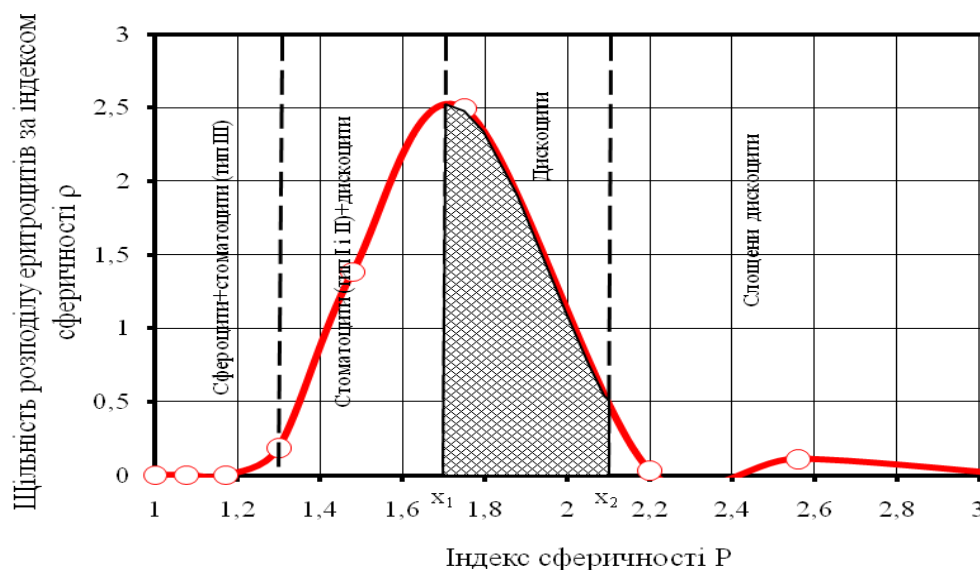


Рис. 2.2. Типова залежність щільності розподілу еритроцитів за індексом сферичності

Обмежена віссю абсцис і прямими $P = x_1$, $P = x_2$ заштрихована область дорівнює частці клітин, сферичний індекс яких укладено між значеннями x_1 і x_2 . Площа під кривою ρ відповідає 100% клітин. Знаючи площу сегмента, укладеного між значеннями x_1 і x_2 , можна розрахувати частку клітин, індекс сферичності яких укладено в зазначеному інтервалі. Площі під кривою визначали за допомогою

програми «AxioVision Rel. 4.6». Відношення площі сегмента, укладеного між значеннями x_1 і x_2 до загальної площі під кривою p дає шукану частку клітин.

2.8 Електрофізіологічні методи дослідження та методика вимірювання артеріального тиску

Гемодинамічні параметри є найважливішими показниками роботи кровоносної системи. До найбільш значущих з них належать частота і характер серцевих скорочень.

Реєстрацію ЕКГ у ненаркотизованих іммобілізованих тварин здійснювали на 7-му і 30-ту добу після проведення рКЦГ, введення кЯВК КК, та їх сумісного застосування на електрокардіографі серії «Полі-Спектр» («Нейро-Софт», Росія) у 6 стандартних відведеннях. Тривалість запису становила 5 хвилин. Спектральний аналіз ВСР виконували за допомогою програми «Полі-Спектр-Ритм» («Нейро-Софт», Росія) у діапазонах частот, рекомендованих для щурів [301, 302]. Для тварин контрольної групи запис і спектральний аналіз виконувалися в аналогічні терміни.

АТ вимірювали непрямим методом за принципом медичної тонометрії, за допомогою електрокардіографа «Полі-Спектр» (компанія «Нейро-Софт», Росія), використовуючи спеціальні притискні манжетки «Microlife BP BEO-4» (Microlife, Швейцарія) і датчики пульсу кровоносних судин хвоста тварини [300].

Аналіз ВСР останнім часом привертає до себе велику увагу дослідників і практичних лікарів. [303-306]. Це пов'язано як з визнанням ВСР одним з індикаторів стану регулюючих систем організму, що мають важливе прогностичне значення [307], так і з можливістю комп'ютерної обробки даних добового моніторингу та електрокардіограм [308].

Сучасний математичний аналіз ВСР включає варіаційну пульсометрію, кореляційний, автокореляційний і спектральний аналізи кардіоритмограм [308, 309]. Такий комплексний підхід дозволяє витягувати зі звичайної ЕКГ не тільки інформацію про частоту серцевих скорочень, але і важливі відомості про

внутрішню організацію динамічних рядів кардіоінтервалів, ступеня їх ентропії, особливості хвильової структури та стан окремих ланок вегетативної регуляції.

Метод аналізу ВСР заснований на розпізнаванні і вимірюванні часових інтервалів між RR-інтервалами ЕКГ, побудові динамічних рядів кардіоінтервалів (кардіоінтервалограми) з подальшим аналізом отриманих числових рядів. Математично метод виконується перетворенням Фур'є з побудовою спектрограми й підрахунком площі спектра у виділених частотних діапазонах [310, 311]. При цьому будується варіаційна крива (крива розподілу кардіоінтервалів або гістограма) і визначаються її основні характеристики: мода (M_o) як показник стану гуморального каналу регуляції ритму серця, яка представляє діапазон найбільш часто зустрічаємих значень RR-інтервалів; амплітуда моди (A_{Mo}), що характеризує симпатичну активність і представляє число кардіоінтервалів, які відповідають значенням або діапазону моди. Обчислюється показник адекватності процесів регуляції (ПАПР), що відображає відповідність активності симпатичного відділу ВНС і ведучого рівня функціонування синусового вузла (СУ) ($ПАПР = A_{Mo} / M_o$).

Застосування спектрального аналізу дозволяє кількісно оцінити різні частотні складові коливань ритму серця і наочно графічно представити співвідношення різних компонентів серцевого ритму, що відображають активність певних ланок регуляторного механізму [311, 312].

Потужність хвиль в області високих частот спектра ВСР – HF (high frequencies) характеризує активність парасимпатичного (вагусного) кардіоінгібіторного центру довгастого мозку. Зміна активності вазомоторного центру довгастого мозку відображені в коливаннях низькочастотного компонента – LF (low frequencies). Потужність дуже низькочастотного компонента (VLF – very low frequencies) є індикатором управління гуморально–метаболічними процесами. Хвилі в цій області частот тісно пов'язані з психоемоційним напруженням [18, 19].

Керуючись рекомендаціями для проведення спектрального аналізу ВСР у щурів [303–306] нами були виділені і проаналізовані наступні показники:

TP (mc^2) – загальна потужність спектра коливань кардіоритму (0,015–3 Гц);
 HF (mc^2) – потужність високочастотних коливань у діапазоні (0,8–3 Гц);
 LF (mc^2) – потужність низькочастотних коливань у діапазоні (0,05–0,79 Гц);
 VLF (mc^2) – потужність спектра кардіоритму в області дуже низьких частот (0,015–0,04 Гц).

Визначали також індекс вагосимпатичних взаємодій (IBC), що характеризується відношенням низьких (LF) і високих частот (HF) спектра (LF / HF), індекс централізації (ІЦ), рівний (HF + LF)/VLF).

2.9 Методика дослідження когнітивних функцій

Когнітивні функції або методи пізнання включають процеси сприйняття, навчання і пам'яті, тобто, всі способи, завдяки яким сприймається інформація про світ за допомогою органів почуттів, а також процес обробки цієї інформації, її утримання в пам'яті і прийняття рішення. Вони реалізуються в результаті складних взаємодій різних нейромедіаторних систем, тому для вивчення базових нейрофізіологічних механізмів, які опосередковують когнітивні функції, в експерименті використовуються найрізноманітніші підходи, що моделюють окремі складові процесу.

Навчання – складний процес формування нової поведінки, і його вивчення є дуже важливим для розуміння функціонування нервової системи. У зв'язку з цим для вивчення механізмів навчання, пам'яті і уваги, а також для дослідження ефективності потенційних лікарських препаратів важливим є коректний вибір методів дослідження. Найпоширенішим тестом, який дозволяє оцінити порушення просторової пам'яті, є водний лабіринт Морріса (ВЛМ) [313-315]. Цей тест також широко використовується для вивчення механізму фармакологічної корекції функціональної активності ЦНС [316] і нейропротекторної дії нейротрофічних факторів [317, 318].

ВЛМ являє собою циліндричний басейн заповнений водою до позначки 0,25 метра, діаметром 1,8 м, зі стінками заввишки 0,6 м.

Лабораторних тварин навчали уникненню примусового плавання за допомогою знаходження прихованої під водою платформи, яка розташовувалася в одному з чотирьох квадрантів. Температура води для щурів становила $(26 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ [313-315].

2.10 Статистична обробка отриманих результатів

При статистичній обробці результатів перевіряли характер розподілу цифрового матеріалу в вибірках за допомогою W – критерію Шапіро-Уїлка. Середні арифметичні значення порівнювали за допомогою t -критерію Стьюдента для незалежних вибірок.

Статистичну обробку морфометричних даних проводили за допомогою пакета прикладних програм фірми Microsoft Excel (2007 г.). Площі під кривою для визначення залежності щільності розподілу еритроцитів за індексом сферичності вираховували за допомогою програми «AxioVision Rel. 4.6».

Всі отримані цифрові дані були представлені у вигляді середньої арифметичної величини (M) і помилки середньої арифметичної величини (m). На підставі U -критерію Манна-Уїтні між групами розраховували ймовірність відмінностей (p). Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$ [319, 320].

РОЗДІЛ 3

ДИНАМІКА ЗМІН МОРФОЛОГІЧНИХ І МОРФОМЕТРИЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СТАНУ ТКАНИН ГОЛОВНОГО МОЗКУ СПОНТАННО ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ЛІНІЇ SHR З РІЗНИМИ ФОРМАМИ ДИСЦИРКУЛЯТОРНОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ ПІСЛЯ РИТМІЧНОЇ КРАНІОЦЕРЕБРАЛЬНОЇ ГІПОТЕРМІЇ, ВВЕДЕННЯ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ТА ЇХ ПОЄДНАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ

Етіологічним фактором розвитку ДЕ найчастіше є АГ. При АГ відбувається ремоделювання епітелію судинного русла, порушення ауторегуляції мозкового кровотоку та пошкодження речовини ГМ. Подібні зміни спостерігаються і у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR [241, 242], які за своєю природою є перспективною моделлю для вивчення як неврологічно-поведінкових розладів розвитку синдрому дефіциту уваги і гіперактивності [243], так і цілого ряду ЦВЗ [238] та судинної деменції [23, 254], що об'єднуються загальним терміном ДЕ. ХАІ сприяє подальшому прогресуванню ДЕ, посилюючи її перебіг і наслідки розвитку процесу.

Протягом останніх 20 років проводяться дослідження по створенню принципово нових методів лікування ДЕ. СК КК можуть служити цінним матеріалом для клітинної терапії нейродегенеративних захворювань, в тому числі і ДЕ [23, 33, 192, 321, 322]. Слід припустити, що отримання клінічного ефекту і від застосування холодових методів впливу на ГМ в умовах формування ДЕ, враховуючи роль вищих вегетативних центрів, локалізованих в лімбіко-ретикулярному комплексі, і симпатичного відділу автономної нервової системи в розвитку АГ [323]. Раніше було встановлено, що гіпотермія ГМ може надавати позитивну дію на тварин, коли умови їх існування зазнають змін у зв'язку з розвитком патологічного процесу та під впливом несприятливих факторів. [11, 40]. Крім цього, в ІПКіК НАН України була показана висока терапевтична

ефективність не тільки від індивідуального використання двох вищевказаних методів, а і від поєднаного їх застосування [324, 325].

3.1 Порівняльна характеристика гістологічного стану тканин головного мозку нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами дисциркуляторної енцефалопатії

Проведені гістологічні дослідження препаратів ГМ білих безпородних щурів (нормотензивний контроль) підтвердили їх повну відповідність представленим в літературі даним, характерним для тварин з нормальними цифрами АТ [238, 239]. М'які мозкові оболонки ГМ були тонкі, з помірним вмістом колагенових волокон, які формували ніжні фуксинофільні пучки з помірною кількістю фібробластів і фіброцитів, нечисленними лімфоцитами і гістіоцитами. Артеріальні і венозні судини мали добре виражений просвіт, заповнений форменими елементами крові (переважно еритроцитами). Ендотеліюцити судин сплющеної форми з дещо витягнутим помірно базофільним ядром, рівномірно розташовувалися на судинній базальній мембрані. У середній оболочці стінки артерій виявлялася помірна кількість гладких клітин веретеновидної форми, між якими спостерігалися тонкі, слабо фуксинофільні колагенові волокна. Венозні судини характеризувалися трохи зниженим тонусом (рис. 3.1, А).

У структурі кори ГМ візуалізувалося шість шарів, які плавно переходили один в другий. При звичайних гістологічних забарвленнях і при фарбуванні по Ніслю в першому (молекулярному) шарі визначалися нечисленні дрібні нейрони. У другому (зовнішньому зернистому) шарі нейрони були численні, в їх складі зустрічалися малі зерноподібні, зірчасті і рідше пірамідні клітини. Третій (зовнішній пірамідний) широкий шар містив пірамідні нейрони середніх і великих розмірів. У четвертому (внутрішньому зернистому) шарі, так само як і в другому, містилися малі зерноподібні, зірчасті і пірамідні клітини, однак щільність їх була нижчою. У п'ятому (внутрішньому пірамідному, гангліонарному) шарі спостерігалися пірамідні клітини середніх і великих розмірів, а також гігантські

піраміди. У шостому (поліморфному) шарі переважали клітини веретеноподібної форми, зрідка виявлялися малі і середні піраміди (рис. 3.1, Б).

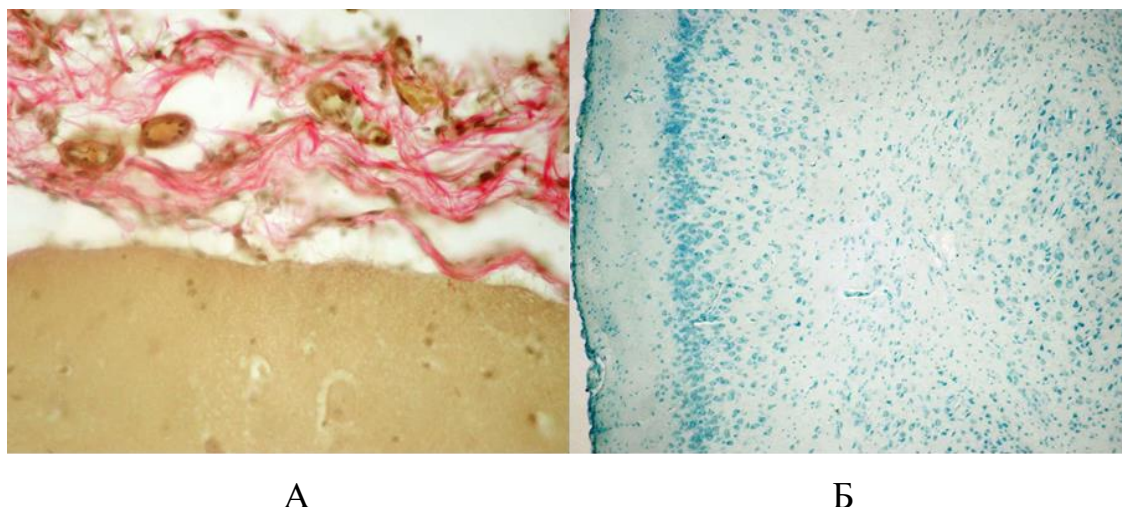


Рис. 3.1. А – м'які мозкові оболонки ГМ нормотензивних контрольних щурів. Забарвлення пікрофуксином по ван Гізону, x400; Б – ламінарна будова кори ГМ нормотензивних контрольних щурів (оглядовий знімок). Забарвлення толуїдиновим синім по Ніслю, x100.

У всіх препаратах будова і розміри нейронів відповідали їх локалізації в корі і підкіркових структурах. Нервові клітини мали округле центрально розташоване базofilьне ядро, яке містило одне, рідше два ядерця. Цитоплазма нейронів помірно сприймала кислі барвники. При фарбуванні по Ніслю в ній візуалізувалися зерна і грудочки базofilьної речовини (субстанція Нісля). Щільність нейронів в III–V шарах кори в середньому становила $(1473,09 \pm 43,46)$ екз/мм² (табл. 3.1).

Нейропіль в групі нормотензивного контролю був дрібнозернистий, блідий. Численні олігодендрогліюцити містили велике кругле базofilьне ядро та дифузно розташовувалися в сірій речовині кори і підкіркових структурах. Навколо окремих нейронів виявлялися 1–2, рідше 3 олігодендрогліюцитів (сателітоз). У білій речовині олігодендрогліюцити розташовувалися у вигляді ланцюжків з 3–6 клітин, які перебували між пучками мієлінових волокон однорідного вигляду. Астроцити сірої і білої речовини були дрібні, розташовувалися біля стінки судин і

мали велике базофільне ядро (рис. 3.2). Дрібні, нечисленні мікрогліюцити в корі і підкіркових структурах, дещо частіше зустрічалися в білій речовині (рис. 3.2).

Щільність клітин нейроглії в III–V шарах кори в середньому становила $(1253,43 \pm 45,33)$ екз/мм², а значення нейрогліального індексу – $(0,85 \pm 0,02)$ (табл. 3.1).

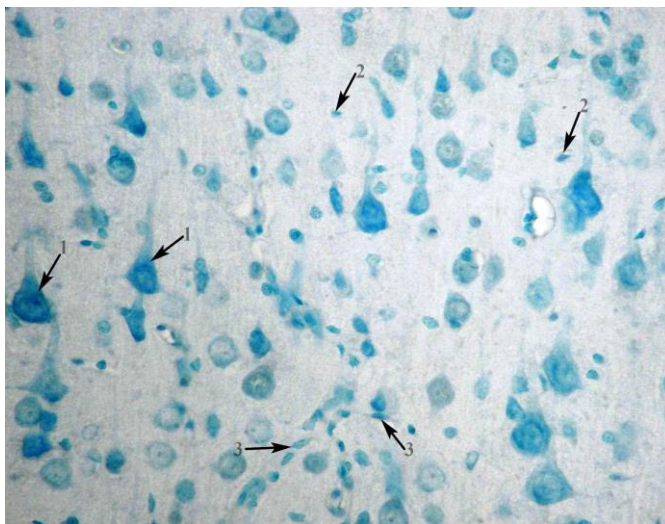


Рис. 3.2. Гангліонарний шар кори ГМ нормотензивних контрольних щурів. Гігантські пірамідні клітини нейроглії (1), олігодендрогліюцити (2), астроцити (3). Забарвлення толуїдиновим синім по Ніслю, х400.

Таблиця 3.1

Морфометричні показники компенсаторних процесів в корі ГМ нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами ДЕ

Група	Нейро-гліальний індекс	Щільність, екз/мм ²		
		Нейронів	Гліоцитів	Функціонуючих капілярів
1–нормотензивні	$0,85 \pm 0,02$	$1473,09 \pm 41,46$	$1253,43 \pm 45,33$	$228,81 \pm 9,61$
2–SHR	$1,48 \pm 0,04^1$	$1116,15 \pm 41,97^1$	$1655,68 \pm 52,26^1$	$170,23 \pm 7,01^1$
3–SHR+ XAI	$2,27 \pm 0,06^{1,2}$	$829,21 \pm 30,20^{1,2}$	$1879,46 \pm 73,02^{1,2}$	$113,95 \pm 8,79^{1,2}$

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів; ² – статистично значущі відмінності між 2 і 3 групами щурів ($p < 0,05$).

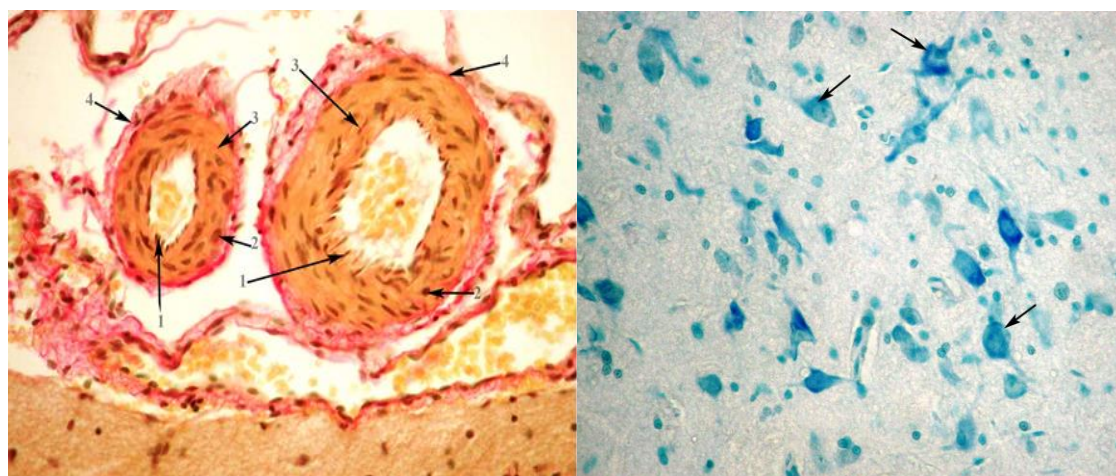
Просвіти внутрішньомозгових артерій та вен були добре виражені, містили формені елементи крові, переважно еритроцити. Ендотеліоцити судин з базофільним ядром і слабо еозинофільною цитоплазмою мали сплюснену форму. На судинній базальній мембрані ендотеліальні клітини розташовувалися рівномірно, були горизонтально орієнтовані, а в капілярах тісно прилягали один до одного. У середній оболонці артерій візуалізувалися гладком'язові клітини веретеноподібної форми з базофільним ядром, між ними визначалися в невеликій кількості тонкі помірно фуксинофільні колагенові волокна. Велика частина капілярів мала добре виражені просвіти, які були заповнені кров'ю, у деяких просвіти були важко помітні. Щільність функціонуючих капілярів в середньому становила $(228,81 \pm 9,61)$ екз/мм² (табл. 3.1).

Таким чином під час гістологічного дослідження всіх структур ГМ білих безпородних щурів вогнищеві зміни речовини мозку не виявлялись.

При морфологічному дослідженні препаратів ГМ спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR, на відміну від нормотензивного контролю, зазначалося потовщення м'яких мозкових оболонок ГМ за рахунок їх набряку та надлишкового розвитку колагенових волокон, які були згруповані в фуксинофільні пучки переважно навколо судин. Внаслідок накопичення набряклої рідини простір між волокнистими структурами виглядав розширеним, оптично порожнім. У складі м'яких мозкових оболонок зустрічалися численні фібробласти, окремі фіброцити, лімфоцити і гістіоцити. Артеріальні судини мали ознаки нерівномірно вираженого спазму, в ділянках якого визначалася типова акомодация ендотелію у вигляді частоколу та вогнищева десквамація клітин. У порівнянні з нормотензивним контролем у тварин лінії SHR спостерігалось потовщення стінок артерій внаслідок гіпертрофії і гіперплазії гладком'язових клітин і надлишкового розвитку міжм'язових колагенових волокон (рис. 3.3, А).

Тонус стінок вен знижувався, просвіти їх розширювалися і переповнялися кров'ю. В половині спостережень візуалізувалися вени з ознаками еритродіapedезу та формуванням вогнищевих периваскулярних крововиливів. Ендотеліальні клітини вен були частково десквамовані, а простори між рештою

клітин були розширені. У всіх препаратах кори ГМ виявлялися ділянки з порушенням ламінарної будови, що було обумовлено наявністю у всіх її шарах вогнищ гангліозноклітинних розріджень і запустіння з нерівномірно вираженим зниженням щільності нейронів. Аналогічні зміни фіксувалися і в підкіркових структурах. Поряд з нейронами звичайної будови у всіх шарах кори і підкіркових утворень, на відміну від нормотензивних тварин, спостерігалися окремі клітини або їх групи з ішемічними змінами – зменшені в розмірах, трикутної або витягнутої формою тіла, дрібним, ексцентрично розташованим ядром, гомогенною, гіперхромною цитоплазмою, в якій не визначалася субстанція Нісля. Візуалізувалися численні клітини – «тіні» з блідо забарвленою гомогенною цитоплазмою, з клітинною та ядерною мембранами, що не контурірують, іноді зі слабо наміченим дуже блідо забарвленим ядром. Частина з них мала явища нейрофагії (рис. 3.3, Б).



А

Б

Рис. 3.3. А – артерії м'яких мозкових оболонок контрольних щурів лінії SHR. Парціальний спазм з розташуванням ендотелію у вигляді частоколу (1); гіпертрофія і гіперплазія гладком'язових клітин (2); помірний міжм'язовий (3) і періартеріальний склероз (4). Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізоні, x400; Б – дегенеративні зміни нейронів гангліонарного шару кори ГМ контрольних щурів лінії SHR (стрілки). Забарвлення по Ніслю, x400.

Щільність нейронів в III–V шарах кори значно зменшувалася в порівнянні з відповідним показником у нормотензивних щурів і в середньому становила $(1116,15 \pm 41,97)$ екз/мм².

У дрібнозернистому, блідому нейропілю кори ГМ спостерігалася дифузне збільшення щільності гліоцитів з формуванням периваскулярних вогнищ проліферації гіпертрофованих астроцитів в локусах гангліозноклітинних розріджень і запустінь (рис. 3.4). У підкіркових утвореннях під епендимною шлуночків мала місце вогнищева проліферація амебоїдних дрібних астроцитів. Численні олігодендрогліоцити кори з вираженими дегенеративними змінами візуалізувалися поблизу нейронів, навколо нервових клітин. Відзначалася проліферація олігодендрогліоцитів (сателітоз), кількість сателітів досягало 4–5. У білій речовині були сформовані ланцюжки з олігодендроцитів, кількість клітин в яких коливалася від 3 до 8 примірників. Щільність клітин нейроглії і значення нейрогліального індексу в III–V шарах кори значно перевищували аналогічні показники у нормотензивних тварин і в середньому становили $(1655,68 \pm 52,26)$ і $(1,48 \pm 0,04)$ екз/мм² відповідно (табл. 3.1).

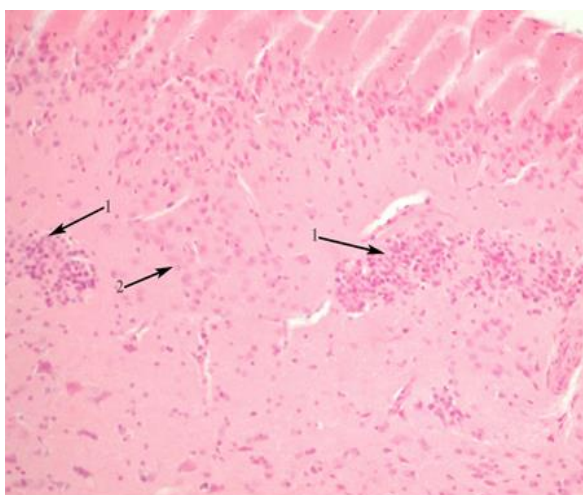


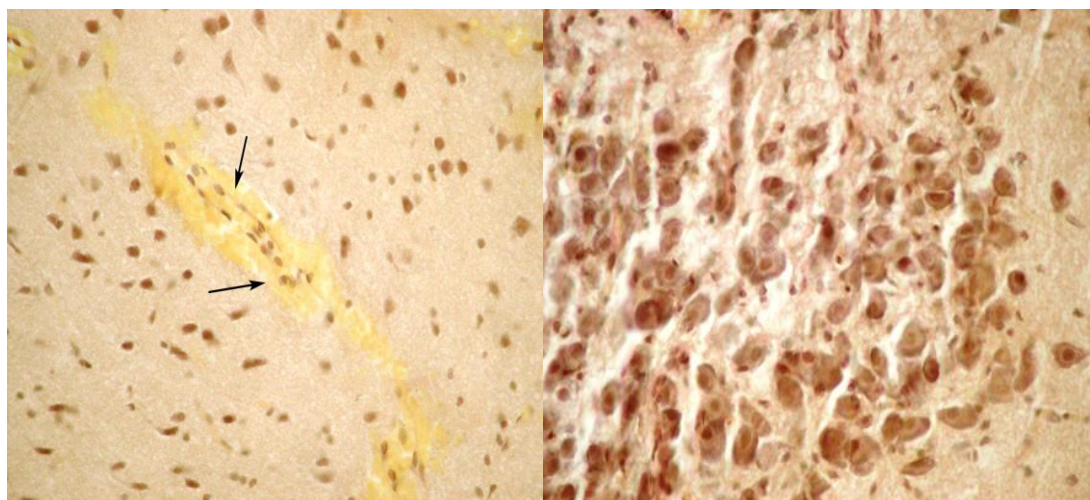
Рис. 3.4. Структура кори ГМ контрольних щурів лінії SHR. Вогнища гангліозноклітинних запустінь з осередковою проліферацією астроцитів (1); групи клітин – «тіней» в корі ГМ (2). Забарвлення гематоксилином і еозином, x200.

Внутрішньомозкові артерії і артеріоли мали ділянки парціального спазму з типовою акомодациєю ендотеліоцитів і нерівномірно вираженим просвітом та зниженим кровонаповненням. Стінки артерій нерівномірно товщали внаслідок

гіперплазії і гіпертрофії гладких міоцитів з помірним розвитком міжм'язових колагенових волокон. Для деяких дрібних артерій і артеріол були характерні ознаки гіалінозу стінки. Периваскулярні простори були розширені, оптично порожні, а вени зі зниженим тонусом стінки розтягнуті і надлишково кровонаповнені. Ендотеліоцити, що вистилають венозні судини і капіляри, мали сплюснуту форму, витягнуте базofilьне ядро і помірно еозинофільну цитоплазму. Відзначалися роз'єднання просторів між ендотеліоцитами і вогнищева десквамація останніх. Частина капілярів мала добре виражені, заповнені кров'ю просвіти, а частина слабо помітні просвіти, оскільки перебувала в спалому стані. Деякі капіляри з ознаками стазу були ділятовані. Показник щільності функціонуючих капілярів статистично значимо знижувався в порівнянні з групою нормотензивних тварин і в середньому становив $(170,23 \pm 7,01)$ екз/мм² (табл. 3.1).

У 40% спостережень в частині полів зору мали місце ознаки плазматичного просякання і фібриноїдного некрозу стінки артерій з утворенням переважно в області підкіркових структур і білої речовини діapedезних і дрібновогнищевих крововиливів, як гострих, так і на стадії організації (рис. 3.5, А, Б). У 30% спостережень в корі і підкіркових структурах зустрічалися дрібні ішемічні інфаркти, частиною з ознаками організації. У процесі організації спостерігалось перетворення мікрогліоцитів в макрофаги, які здійснюють резорбцію некротизованої тканини, новоутворення судин і проліферацію астроцитів, які продукують гліальні волокна. Надалі судини запусівали, на місці вогнища деструкції формувалась гліальний рубчик або кіста з гліальними волокнами в стінці.

Таким чином, виявлені в процесі гістологічного дослідження структурні зміни тканин ГМ спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR переконливо доводять, що дані тварини є адекватною моделлю для вивчення гіпертензивної дисциркуляторної енцефалопатії.



А

Б

Рис. 3.5. А – свіжі дрібновогнищеві крововиливи в підкірковому шарі ГМ контрольних щурів лінії SHR (стрілки). Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізону, х400; Б – крововиливи в стадії організації з макрофагальною реакцією в підкірковій області контрольних щурів лінії SHR. Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізону, х400.

При морфологічному дослідженні препаратів ГМ спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з ХАІ встановлено, що м'які мозкові оболонки були нерівномірно потовщені, набряклі, з щільно упакованими фуксинофільними колагеновими волокнами, що склалися в пучки різної товщини, серед яких виявлялися численні фібробласти зі слабо базофільною цитоплазмою і округлим світлим ядром, а також веретеновидної форми фіброцити і поодинокі макрофаги. Артеріальні судини м'яких мозкових оболонок мали ознаки парціального або тотального спазму з типовою акомодациєю ендотеліоцитів у вигляді частоколу, осередковою десквамацією і проліферацією ендотеліоцитів. Стінки артерій були декілька потовщені за рахунок м'язового шару, в якому визначалося збільшення кількості та розмірів гладких клітин. При фарбуванні за Ван Гізону візуалізувався надлишковий розвиток фуксинофільних колагенових волокон (рис. 3.6, А).

Венозні судини оболонок були вистелені сплюсненим ендотелієм з помірно базофільним витягнутим ядром і слабо базофільною цитоплазмою, а їх просвіти розширені, переповнені кров'ю, місцями з вогнищевим еритродіapedезом і формуванням дрібних периваскулярних крововиливів (рис. 3.6, Б). У корі ГМ

ламiнарна організація була порушена. В усіх прошарках кількість нейронів знижувалась, клітини розташовувалися нерівномірно і містили осередки гангліозноклітинних розряджень і запустінь, які зустрічалися переважно навколо судин. У корі і підкіркових структурах численні нейрони зменшувалися в розмірах, мали витягнуту або незграбну форму, часто зі сплющеним тілом, базофільним пікнотичним ядром і гіперхромною гомогенною цитоплазмою, в якій зазначалося зникнення гранул Нісля.

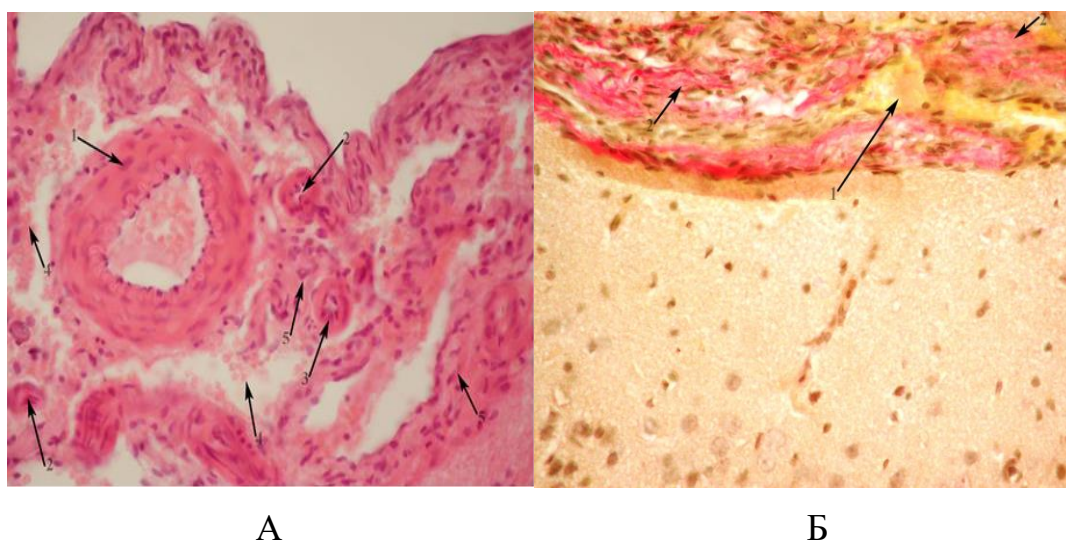


Рис. 3.6. А – м'які мозкові оболонки контрольних щурів лінії SHR на тлі ХАІ. Гіперплазія і гіпертрофія гладком'язових клітин (1) в стінці артерії дрібного калібру; звуження просвітів артеріол (2) з розташуванням ендотелію у вигляді частоколу (3); вогнищеві периваскулярні крововиливи (4); проліферація фібробластів (5). Забарвлення гематоксиліном і еозином, х400; Б – повнокров'я венозних судин (1) і фіброз м'яких мозкових оболонок ГМ (2) у контрольних щурів лінії SHR на тлі ХАІ. Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізону, х400.

Окремі нейрони або їх групи мали вигляд «тіней». Вони були сферичної форми, гомогенного виду з набряклою безформною цитоплазмою і розсмоктуванням субстанції Нісля, каріопікнозом зі зміщенням ядра на периферичну зону або каріолізісом. На місці фрагментів зруйнованих нейронів визначалися скупчення мікрогліоцитів (нейронофагія) (рис. 3.7, А). Щільність нейронів в III–V шарах кори в середньому становила $(829,21 \pm 30,205)$ екз/мм² (табл. 3.1).

У всіх шарах кори спостерігалися численні дрібні олігодендрогліюцити з темним круглим ядром. Навколо нейронів з дегенеративними змінами мала місце проліферація олігодендрогліюцитів (сателітоз), кількість сателітів досягало 5–7. У всіх шарах кори візуалізувалися прилеглі до стінки судин гіпертрофовані астроцити, що містили велике ядро, яке добре сприймало основні барвники. Кількість астроцитарних клітин дифузно збільшувалася, в локусах гангліозноклітинних розряджень і запусінь зустрічалися вогнищеві скупчення гліюцитів (гліальні вузлики) (рис. 3.7, Б).

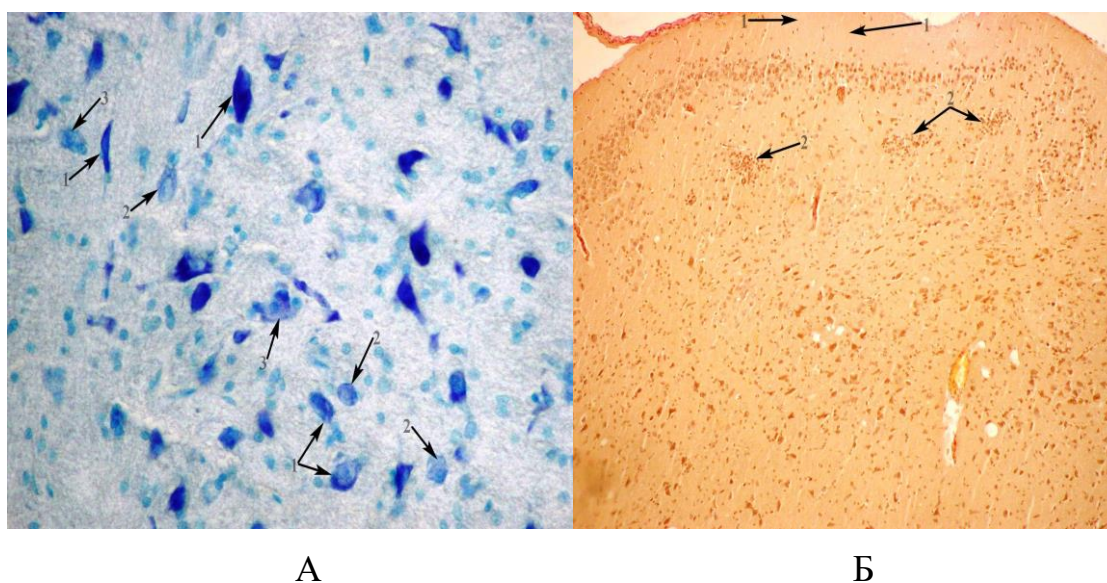


Рис. 3.7. А – дегенеративні зміни нейронів (1), клітини – «тіні» (2), нейронофагія в корі ГМ (3) контрольних щурів лінії SHR на тлі ХАІ. Забарвлення по Ніслю, $\times 400$; Б – локуси гангліозноклітинних запусінь (1) з осередковою проліферацією астроцитів (2) в III–IV шарах кори ГМ контрольних щурів лінії SHR на тлі ХАІ. Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізону, $\times 100$.

Щільність клітин нейроглії в V шарі кори в середньому становила $(1879,46 \pm 73,02)$ екз/мм², а значення нейроногліального індексу – $(2,27 \pm 0,06)$ (табл. 3.1).

Нейропіль був дрібнозернистий, блідий при фарбуванні по Ніслю і звичайних гістологічних забарвленнях. У білій речовині між пучками мієлінових волокон виявлялися ряди олігодендроцитів, астроцити і нечисленні мікрогліальні клітини. Переважно субпендімарно спостерігалася очагово-дифузна проліферація астроцитів, серед яких переважали амебоїдні форми.

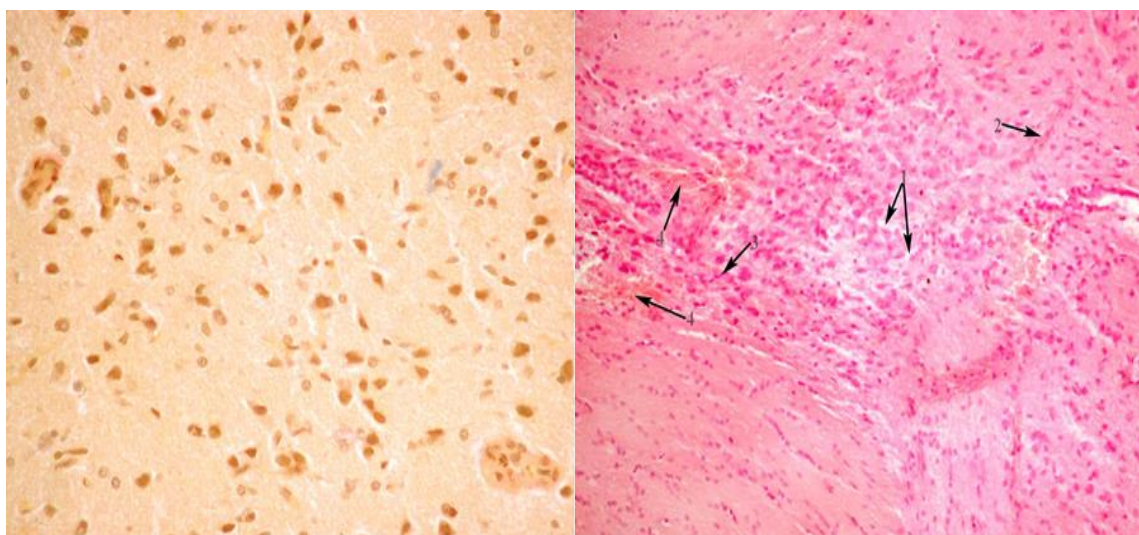
Артерії дрібного калібру кори, білої речовини і підкіркових утворень в даній групі тварин були помірно кровонаповнені, з ділянками звуження і просвітом зірчастого обрису в них внаслідок спазму, а ендотеліоцити набряклі, орієнтовані у вигляді частоколу, очагово десквамовані.

Стінка судин товшала за рахунок огрубіння внутрішньої еластичної мембрани, гіпертрофії і гіперплазії гладком'язових клітин і міжм'язового склерозу. Численні дрібні артерії і артеріоли мали звужений просвіт, потовщену гомогенну еозинофільну стінку (гіаліноз) (рис. 3.8, А). В частині полів зору кори, білої речовини і підкіркових структур зустрічалися артеріальні судини з ознаками плазматичного просякання. Вени були розширені, повнокровні. Ендотеліоцити, що їх вистилають, з гіперхромними ядрами і помірно еозинофільною цитоплазмою мали витягнуту форму. Більшість капілярів перебувала в спалому стані та характеризувалася слабо помітним просвітом. Окремі капіляри зі зниженим тонусом були ділятовані, з ознаками стазу. Морфометрично щільність функціонуючих капілярів становила $(113,95 \pm 8,79)$ екз/мм² (табл. 3.1). Периваскулярні простори розширювалися, виглядали оптично порожніми внаслідок накопичення набряклої рідини.

У 80% спостережень відзначався фокальний або тотальний фібриноїдний некроз стінки судин, а в 30% мав місце прорив крові в бічні шлуночки. Зустрічалися як свіжі крововиливи з незміненими еритроцитами, так і геморагії на різних стадіях репаративного процесу (рис. 3.8, Б). У 70% спостережень в корі і підкіркових утвореннях спостерігалися дрібні ішемічні інфаркти в стадії некрозу або організації.

Таким чином, у хронічно алкоголізованих гіпертензивних щурів лінії SHR у всіх досліджуваних структурних компонентах ГМ виявлялися більш яскраво виражені морфологічні ознаки розвитку дистрофічних і деструктивних процесів, в порівнянні з групою тварин цієї ж лінії без ХАІ.

Отримані експериментальні дані свідчать про те, що ХАІ потенціює прогресуюче старіння ГМ у щурів з гіпертензивною формою ДЕ, обтяжуючи її перебіг, і призводить до розвитку ДЕ змішаного генезу.



А

Б

Рис. 3.8. А – гіаліноз стінки дрібних артерій в корі ГМ контрольних щурів лінії SHR на тлі ХАІ. Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізону, x400; Б – ранні репаративні процеси в зоні крововиливу паравентрікулярної області контрольних щурів лінії SHR на тлі ХАІ. Гемоліз еритроцитів (1); макрофагальна реакція (2); гіпертрофія астроцитів (3); вторинні свіжі крововиливи (4) в прилеглій речовині ГМ. Забарвлення гематоксиліном і еозином, x200.

3.2 Структурна організація тканин головного мозку спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з гіпертензивною дисциркуляторною енцефалопатією після ритмічної краніоцеребральної гіпотермії, введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові і їх поєднаного застосування

Під час гістологічного дослідження препаратів тканин ГМ щурів лінії SHR через 7 діб після проведення рКЦГ ніяких змін в досліджуваних структурних компонентах ГМ виявлено не було.

Через 30 діб після проведення рКЦГ (SHR + рКЦГ) було встановлено, що в порівнянні з контрольною групою тварин SHR, вираженість і поширеність набряку і періартеріального фіброзу знижувалась, хоча на препаратах м'яких мозкових оболонок ГМ і візуалізувалося нерівномірне їх потовщення і

набряклість. Артеріальні судини були помірно кровонаповнені, місцями з нерівномірно звуженими внаслідок спазму просвітами, в ділянках яких визначалася вертикальна орієнтація і вогнищева десквамація ендотеліоцитів. Стінки артерій були потовщені за рахунок помірної гіперплазії і гіпертрофії гладком'язових клітин, а також посилення міжм'язового колагеноутворення (рис. 3.9, А). Однак, у порівнянні з контрольними тваринами лінії SHR, дані зміни в стінках артеріальних судин носили більш обмежений характер. Просвіти вен були розширені, повнокровні, тонус стінки знижений, ендотеліоцити орієнтовані горизонтально, простори між ними розширені. В 40% спостережень в корі ГМ зберігалася ламінарна будова, проте щільність нейронів була дещо знижена. В інших 60% зустрічалися осередки гангліозноклітинних розряджень, рідше запустіння. Ішемічно змінені нейрони були невеликих розмірів з трикутною або витягнутою формою тіла, дрібним ексцентрично розташованим ядром, гомогенною гіперхромною цитоплазмою, в якій не виявлялася гранулярність, характерна при фарбуванні по Ніслю. Переважно в корі виявлялися дрібні групи або окремі без'ядерні нейрони з блідо забарвленою гомогенною цитоплазмою, клітинною мембраною, що не контурується, іноді зі слабо наміченим дуже блідо забарвленим ядром (клітини – «тіні»), частина з них мала явища нейронофагії (рис. 3.9, Б). Щільність нейронів в III–V шарах кори становила $(1267,16 \pm 41,97)$ екз/мм², що статистично значуще перевищувало аналогічний показник контрольних гіпертензивних щурів (табл. 3.2).

Внутрішньомозкові артерії мали декілька потовщену стінку, в якій відзначалися помірна гіперплазія і гіпертрофія гладком'язових клітин і не різко виражений міжм'язовий склероз. Просвіти артерій були нерівномірно наповнені кров'ю, місцями з ділянками парціального спазму з типовою акомодациєю ендотеліоцитів. У частині дрібних артерій і артеріол спостерігався гіаліноз стінки (рис. 3.10).

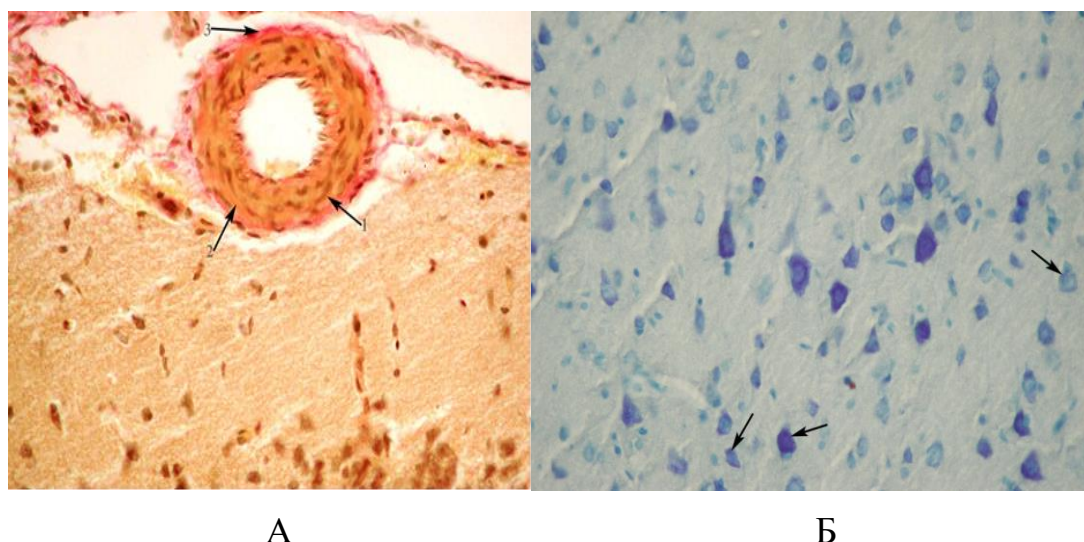


Рис. 3.9. А – гіперплазія і гіпертрофія гладком'язових клітин (1), міжм'язовий склероз (2) в стінці артерії, слабо виражений періартеріальний фіброз (3) у щурів лінії SHR через 30 діб після рКЦГ. Забарвлення пікрофуксином по Ван Гизону, x400; Б – дегенеративні зміни окремих нейронів (стрілки) в гангліонарному шарі кори головного мозку щурів лінії SHR через 30 діб після рКЦГ. Забарвлення по Ніслю, x400.

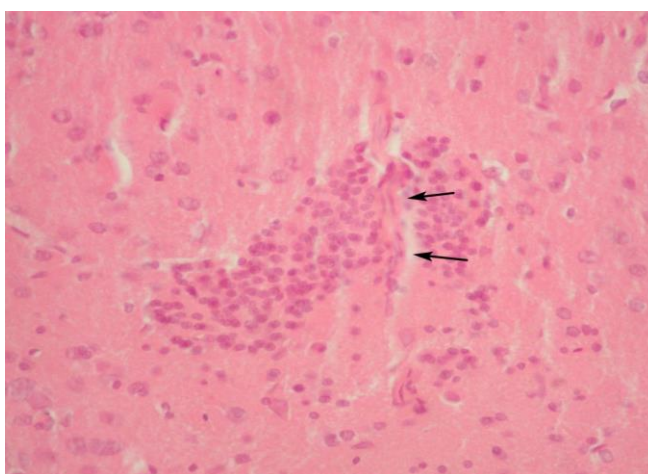


Рис. 3.10. Гіаліноз внутрішньомозкової артерії, вогнище гангліозноклітинного розрядження кори з реактивним гліозом (стрілки) у щурів лінії SHR через 30 діб після рКЦГ. Забарвлення гематоксилином і еозином, x400.

Вени були розширені, повнокровні, вистелені ендотеліоцитами сплющеної форми, з витягнутим базофільним ядром і помірно еозинофільною цитоплазмою. В частині капілярів визначалася агрегація еритроцитів, візуалізувалися капіляри з важко помітним просвітом, а також функціонуючі капіляри з добре вираженим

просвітом, щільність яких становила $(194,95 \pm 8,68)$ екз/мм², що значно перевищувало аналогічний показник у контрольних гіпертензивних тварин (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Морфометричні показники компенсаторних процесів в корі ГМ щурів з гіпертензивною формою ДЕ на 7 та 30 добу після рКЦГ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування

Група	Нейро- гліальний індекс	Щільність, екз/мм ²		
		Нейронів	Гліоцитів	Функціонуючих капілярів
1 – SHR (контроль)	1,48±0,04	1116,15±41,97	1655,68±52,26	170,23±7,01
2 – SHR+ рКЦГ (7 доба)	1,49±0,04	1111,29±38,67	1656,12±49,87	172,34±7,45
3 – SHR+ рКЦГ (30 доба)	1,24±0,02 ¹	1267,16±41,97 ¹	1569,19±58,62	194,95±8,68 ¹
4 – SHR + кЯВК КК (7 доба)	1,48±0,04	1119,25±40,23	1651,68±53,06	174,04±8,23
5 – SHR+ кЯВК КК (30 доба)	1,17±0,03 ¹	1263,04±38,28 ¹	1474,47±62,14 ¹	201,81±11,30 ¹
6 – SHR+ рКЦГ+ кЯВК КК (7 доба)	1,47±0,04	1121,32±45,01	1649,96±53,74	173,92±7,89
7 – SHR + рКЦГ+ кЯВК КК (30 доба)	1,10±0,03 ¹	1319,33±32,65 ¹	1448,38±39,50 ¹	204,56±10,13 ¹

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від контрольної групи щурів лінії SHR (p<0,05).

В області підкіркових структур і білої речовини в 50% гістологічних препаратів ГМ виявлялися організовані гематоми, поодинокі або багатокамерні кісти, сформовані в їх результаті. Гострий дрібноочаговий крововилив зустрічався рідко (в 10% випадків).

Таким чином, встановлені раніше [192, 241, 323] зміни активності центральної регуляції периферичних процесів після рКЦГ за допомогою зміни спрямованості вегетативних реакцій і гуморальної ланки регуляції сприяють частковому відновленню цереброваскулярних процесів у щурів з гіпертензивною формою ДЕ.

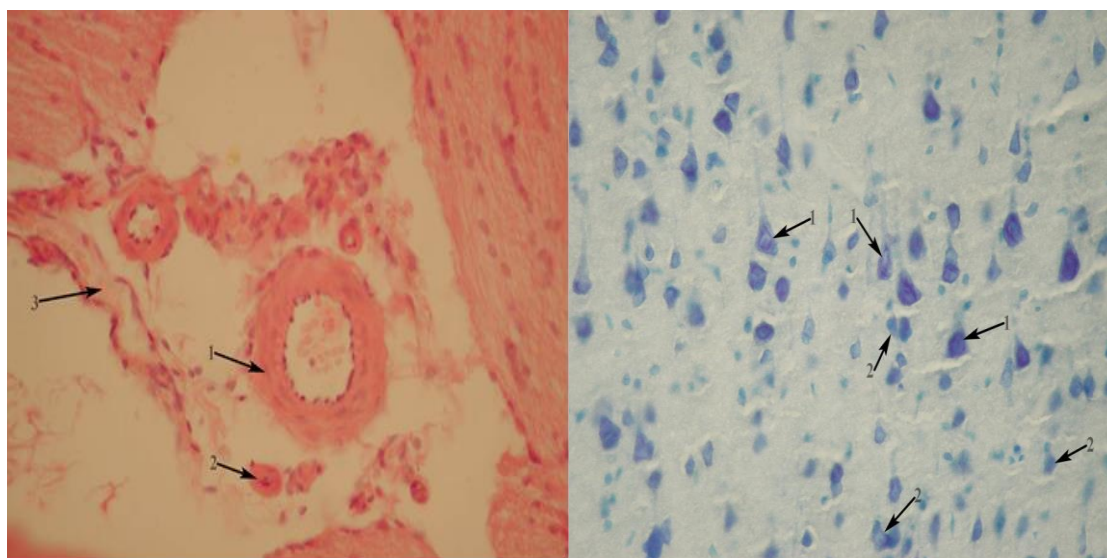
Гістологічне дослідження препаратів тканин ГМ щурів лінії SHR через 7 діб після введення кЯВК КК не виявило ніяких змін в досліджуваних структурних компонентах.

Через 30 діб після введення їм кЯВК КК (SHR + кЯВК КК) встановлено, що м'які мозкові оболонки мали нерівномірну товщину, переважно за рахунок набряку, внаслідок чого простори між волокнистими структурами були дещо розширені. У порівнянні з групою контрольних тварин лінії SHR ступінь периваскулярного фіброзу знижувалась. Просвіти артеріальних судин були добре виражені, помірно кровонаповнені, вистелені сплюсненими ендотеліоцитами з витягнутим базофільним ядром. Деякі дрібні артерії мали кілька звужений просвіт внаслідок парціального спазму з типовою акомодациєю ендотеліоцитів в них.

Стінки артерій ГМ товщали за рахунок помірного міжм'язового фіброзу середнього шару, в якому визначалася не різко виражена гіперплазія і гіпертрофія гладком'язових клітин, ступінь розвитку яких була дещо нижчою, ніж у контрольних спонтанно гіпертензивних щурів. Вени мали кілька знижений тонус стінок, просвіти були нерівномірно розширені і повнокровні (рис. 3.11, А).

Ламінарна будова кори ГМ в 50% спостережень зберігалася і характеризувалась відносно рівномірним розподілом нейронів. Нейрона популяція була неоднорідна. Поряд з нейронами звичайної будови зустрічалися окремі клітини або їх дрібні групи з гіперхромним деформованим тілом, зморщеним базофільним ядром, зміщеним на периферію. Виявлялися дрібні групи або поодинокі клітини – «тіні» округлої форми з блідим набряклим тілом і дрібним слабо базофільним ядром, зміщеним до клітинної мембрани. У частині таких клітин ядро не візуалізувалося (рис. 3.11, Б). Щільність нейронів в III–V

шарах кори становила $(1263,04 \pm 38,28)$ екз/мм², що статистично значуще перевищувало аналогічний показник контрольних щурів лінії SHR (табл. 3.2).



А

Б

Рис. 3.11. А – судини м'яких мозкових оболонок щурів лінії SHR через 30 діб після введення КЯВК КК. Гіперплазія гладком'язових клітин в стінці артерії (1); спазм дрібної артерії (2); повнокров'я вен (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином, х400; Б – пірамідні клітини гангліонарного шару кори ГМ (1); дистрофія окремих нейронів (2) у щурів лінії SHR через 30 діб після введення КЯВК КК. Забарвлення по Ніслю, х400.

Знижувалася інтенсивність гліозу, але зберігався його дифузно-вогнищевий характер. Численні олігодендрогліюцити кори ГМ розташовувалися в блідому зернистому нейропілі, а також навколо частини нейронів з дистрофічними змінами. Кількість сателітів становило 1–3, рідше досягало 5 клітин. Астроцити візуалізувалися дифузно в корі поблизу судин. В 50% спостережень в осередках гангліозноклітинних розряджень періваскулярно визначалися локуси гіперплазії і гіпертрофії астроцитів, що містили велике базофільне ядро. При аналізі даних морфометрії показано, що щільність клітин нейроглії в III–V шарах кори, а також значення нейрогліального індексу значуще знижувалися щодо показників контрольних тварин лінії SHR і в середньому становили $(1474,47 \pm 62,14)$ і $(1,17 \pm 0,03)$ екз/мм² відповідно (табл. 3.2).

У білій речовині пучки мієлінових волокон мали однорідний вид, олігодендроцити формували ряди з 3–8 клітин. Зустрічалися астроцити, пов'язані із судинною стінкою і нечисленні мікрогліюцити. Під епендимною шлуночків в білій речовині і підкіркових структурах периваскулярно спостерігалися дрібні вогнища проліферації невеликих розмірів астроцитів амебоїдної форми (рис. 3.12). Просвіти внутрімозкових артеріальних судин кілька звужувалися і містили помірну кількість формених елементів крові, переважно еритроцитів. Стінка судин була потовщена: артерій – за рахунок гіперплазії і гіпертрофії гладких м'язів і надлишкового розвитку колагенових волокон в середньому шарі, артеріол – в частині полів зору внаслідок гіалінозу і рідше – плазматичного просякання. Зрідка визначалися ознаки парціального спазму стінки артеріальних судин. Вени з розширеними просвітами були повнокровні. Ендотеліюцити судинної стінки прилягали до базальної мембрани, сплющеної форми, з витягнутим базофільним ядром і помірно еозинофільною цитоплазмою. У ділянках спазму ендотеліюцити мали вертикальне розташування.

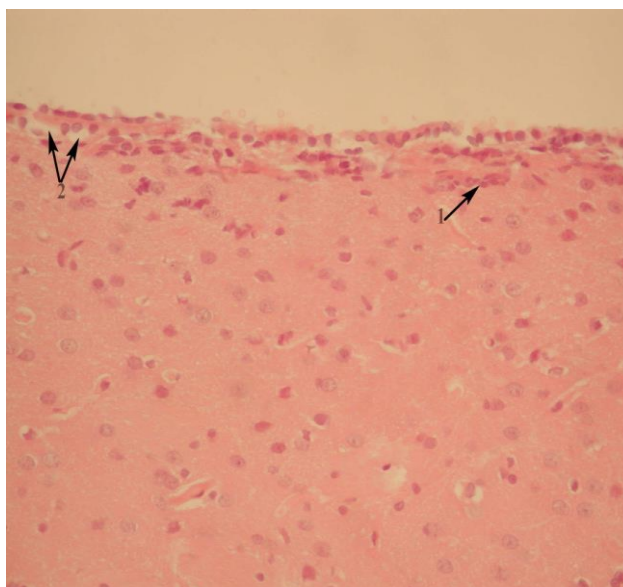


Рис. 3.12. Дрібновогнищевий гліоз в субепендимарній зоні підкіркового ядра (1), помірний периваскулярний набряк (2) у щурів лінії SHR через 30 діб після введення кЯВК КК. Забарвлення гематоксиліном і еозином, x400.

У порівнянні з контрольними гіпертензивними щурами у експериментальних тварин даної групи зменшувалася кількість капілярів зі спавшимися просвітами, рідше зустрічалися ознаки стазу.

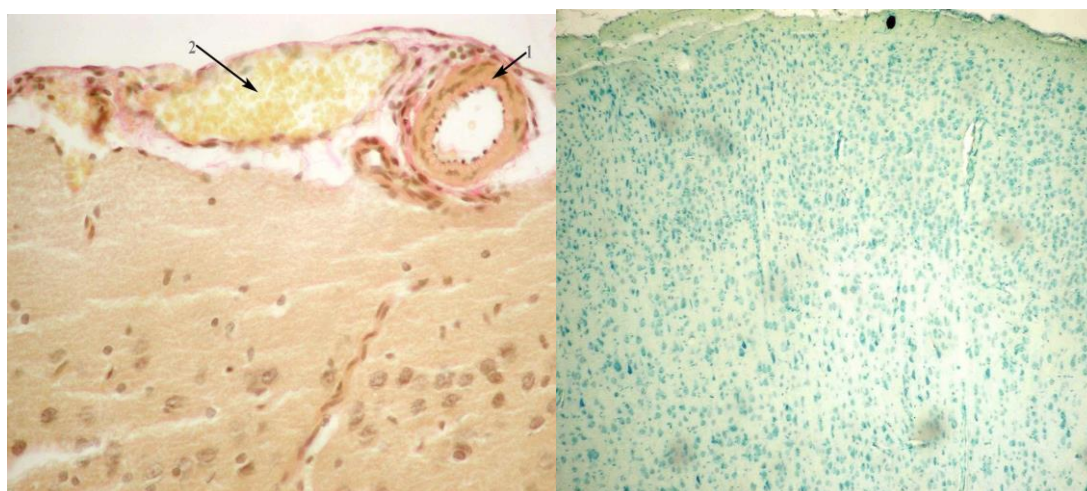
Морфометрично статистично значуще збільшувалася кількість функціонуючих капілярів, щільність яких становила $(201,81 \pm 11,30)$ екз/мм² (табл. 3.2).

Периваскулярний набряк речовини мозку був виражений слабо або помірно. У 30% спостережень в кірковій речовині мали місце дрібні ішемічні інфаркти в стадії організації, в підкіркових структурах і білій речовині крововиливи, що організуються, поодинокі або багатокамерні кісти. Гострих вогнищевих деструктивних змін речовини мозку не виявлялося.

Таким чином, отримані результати гістологічного і морфометричного дослідження у щурів лінії SHR через 30 діб після введення їм кЯВК КК дозволили виявити ознаки, що свідчать про зменшення вираженості дегенеративних процесів в тканинах ГМ при повній відсутності гострих деструктивних змін.

При морфологічному дослідженні препаратів ГМ щурів лінії SHR через 30 діб після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК (SHR + рКЦГ + кЯВК КК) виявлено, що просвіти артеріальних судин м'яких мозкових оболонок, як правило, були добре помітні, заповнені форменими елементами крові, переважно еритроцитами. Частина артерій мала ознаки парціального спазму з типовою акомодациєю ендотелію у вигляді частоколу. Венозні судини з добре вираженим просвітом були повнокровні і вистелені ендотеліоцитами сплющеної форми з витягнутим базофільним ядром (рис. 3.13, А).

У 60% спостережень шари кори ГМ мали звичайну або кілька знижену щільність нейронів. В інших випадках в сірій речовині зустрічалися осередки гангліозноклітинних розряджень і, рідше, локуси відносного підвищення щільності нейронів на тлі збереженої структури (рис. 3.13, Б). Щільність нейронів в III–V шарах кори становила $(1319,33 \pm 32,65)$ екз/мм², що значуще перевищувало відповідний показник у контрольних тварин лінії SHR (табл. 3.2).



А

Б

Рис. 3.13. А – помірний склероз стінок артерій (1), повнокров'я вен (2) м'яких мозкових оболонок щурів лінії SHR через 30 діб після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК. Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізону, х400; Б – ділянка кори зі збереженою ламінарною структурою щурів лінії SHR через 30 діб після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК (оглядовий знімок). Забарвлення по Ніслю, х100.

У дрібнозернистому, блідому нейропілю візуалізувалися численні гліюцити (рис. 3.14).

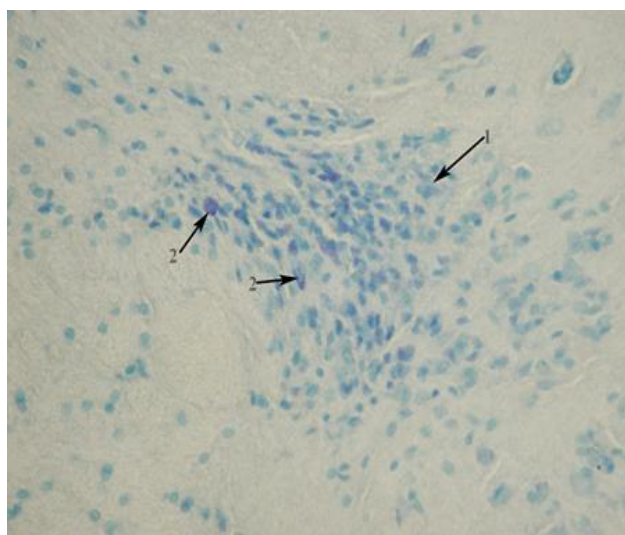


Рис. 3.14. Вогнищева проліферація гліоцитів в V–VI шарах кори ГМ (1), дегенеративні зміни нейронів (2) у щурів лінії SHR через 30 діб після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК. Забарвлення по Ніслю, х400.

Олігодендрогліюцити дифузно розташовувалися в сірій речовині, оточуючи тіла нейронів. Навколо деяких дегенеративно змінених нейронів спостерігалися ознаки сателітоза, кількість сателітів досягало 4 клітин. У білій речовині олігодендрогліюцити формували ланцюжки з 3–7 клітин, розташованих між пучками мієлінових волокон однорідного вигляду.

Астроцити прилягали до стінки судин, в сірій речовині кори і підкіркових утвореннях відзначалася їх гіпертрофія і гіперплазія, в 40% спостережень з формуванням локусів гліозу в осередках гангліозноклітинних розряджень. Мікрогліюцити були нечисленні. Розрахункове значення нейрогліального індексу значуще знижувалося не тільки щодо аналогічних показників контрольних гіпертензивних щурів, а й у порівнянні з групами тварин лінії SHR, яким проводили рКЦГ і вводили кЯВК КК, і становило $(1,10 \pm 0,03)$ екз/мм² (табл. 3.2).

Внутрішньомозкові артеріальні судини характеризувалися помірним кровонаповненням, дещо звуженим просвітом внаслідок потовщення стінки за рахунок нерізкого склерозу або гіалінозу і помірної гіпертрофії гладких міоцитів. Ступінь вираженості склерозу стінки артерій у порівнянні з контролем знижувалася, була відсутня гіперплазія гладком'язових клітин, рідше спостерігалися ознаки спазму в дрібних артеріях. Вени з кілька розширеними просвітами були помірно повнокровні. Велика частина капілярів мала добре помітний просвіт без ознак стазу і була заповнена еритроцитами. Щільність функціонуючих капілярів значуще зростала щодо контрольної групи тварин лінії SHR (табл. 3.2). Периваскулярні простори місцями були дещо набряклі, виглядали оптично порожніми. У 20% спостережень в підкіркових структурах і білій речовині візуалізувалися дрібні поодинокі або багатокамерні кісти, сформовані в результаті попередніх геморагій, а в сірій речовині кори дрібноочагові ішемічні інфаркти на різних стадіях організації (рис. 3.15). При цьому гострі вогнищеві деструктивні зміни речовини мозку не виявлялися.

Можна зробити висновок, що на 30 добу після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК у всіх досліджуваних структурних компонентах ГМ були відсутні морфологічні ознаки гострих деструктивних змін, зменшувалася ступінь

вираженості дистрофічних і компенсаторно-адаптивних процесів, що свідчило про ефективність їх застосування з метою корекції цереброваскулярних порушень при судинній енцефалопатії.

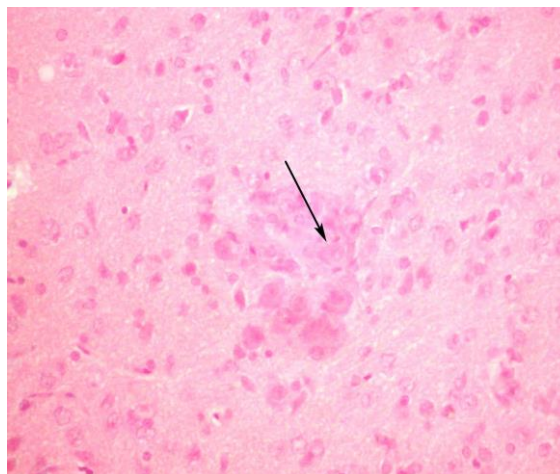


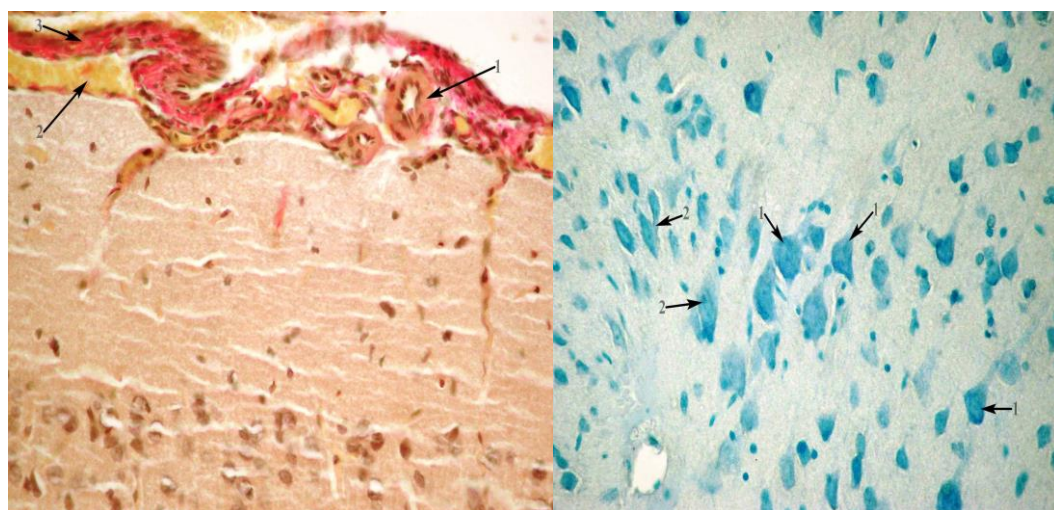
Рис. 3.15. Дрібновогнищевий інфаркт коркової речовини ГМ на стадії організації (стрілка) у щурів лінії SHR через 30 діб після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК. Забарвлення гематоксиліном і еозином, x400.

3.3 Структурні зміни тканин головного мозку спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з дисциркуляторною енцефалопатією змішаного генезу після ритмічної краніоцеребральної гіпотермії, введення кріоконсервованих ядромісних клітин кордової крові і їх поєднаного застосування

Під час гістологічного дослідження препаратів тканин ГМ тварин лінії SHR зі змішаною формою ДЕ (ускладненою ХАІ) на 30 добу після проведення рКЦГ зазначалося нерівномірне потовщення м'яких мозкових оболонок за рахунок набряку і наявності ділянок потовщених фуксинофільних пучків колагенових волокон, переважно навколо артерій (на відміну від контрольної групи щурів (SHR + ХАІ), в якій спостерігався дифузний фіброз). Простори між волокнистими структурами містили фібробласти, фіброцити, лімфоцити, гістіоцити. Артерії м'яких мозкових оболонок мали потовщені стінки внаслідок гіпертрофії, помірного міжм'язового склерозу і не різко вираженої гіперплазії гладком'язових клітин. Виявлялися дрібні артерії з ознаками спазму і типовою акомодациєю

ендотеліоцитів у вигляді частоколу, а також осередкової десквамації ендотеліальних клітин. Вени були нерівномірно розширені, повнокровні, а сплюснені ендотеліоцити, що їх вистилають, були декілька роз'єднані, осередково десквамовані (рис. 3.16, А). Місцями візуалізувалися дрібновогнищеві периваскулярні крововиливи, які зустрічалися рідше, ніж в контрольній групі.

Кора і підкіркові структури з нерівномірним розташуванням нейронів, в 70% спостережень містили вогнища переважно гангліозноклітинного розрядження, які зустрічалися рідше, ніж в групі контролю (SHR + XAI). Нейронна популяція була неоднорідна, більшість нейронів мали звичайну форму і розміри, в той же час визначалися групи або окремі клітини зменшених розмірів, витягнутої або незграбної форми, з дрібним базофільним ядром і гіперхромною гомогенною цитоплазмою без характерної гранулярності (рис. 3.16, Б).



А

Б

Рис. 3.16. А – склероз стінки артерій (1), повнокров'я вен (2), фіброз стромы м'яких мозкових оболонок (3) у щурів лінії SHR на тлі XAI через 30 діб після застосування рКЦГ. Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізону, $\times 400$; Б – нейрони звичайної будови (1) і дистрофічно змінені нейрони (2) в V–VI шарах кори ГМ щурів лінії SHR на тлі XAI через 30 діб після застосування рКЦГ. Забарвлення по Ніслю, $\times 400$.

Зустрічалися нейрони сферичної форми з набряклою безконтурною цитоплазмою, в якій не визначалася субстанція Ніслю, а пікнотичне ядро було зміщено на периферію або не візуалізувалося. Окремі нервові клітини мали

ознаки нейронофагії. Щільність нейронів в III–V шарах кори значуще збільшувалася щодо відповідного показника в групі контролю (SHR + XAI) і в середньому становила $(1175,18 \pm 40,82)$ екз / мм^2 (табл. 3.3).

Дрібнозернистий нейропіль слабо сприймав основні барвники. Численні клітини нейроглії, дрібні олігодендрогліюцити з темним округлим ядром візуалізувалися в корі і підкіркових утвореннях, розташовуючись поблизу нейронів. Навколо деяких нервових клітин з дегенеративними змінами налічувалося до 5 сателітів. Олігодендрогліюцити білої речовини розташовувалися між мієліновими волокнами у вигляді ланцюжків. У сірій речовині кори і підкіркових утворень виявлялися численні великі астроцити з великим базофільним ядром. У 70% спостережень в локусах гангліозноклітинних розряджень спостерігався осередковий гліоз (рис. 3.17).



Рис. 3.17. Вогнищевий гліоз в молекулярному шарі кори ГМ щурів лінії SHR на тлі XAI через 30 діб після застосування рКЦГ. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 400$.

У підкіркових ядрах під епендимною шлуночків мала місце осередково-дифузна проліферація астроцитів з переважанням амебоїдних форм. Щільність клітин нейроглії в III–V шарах кори і значення нейрогліального індексу статистично значуще зменшувалися в порівнянні з контрольною групою тварин лінії SHR на тлі XAI і в середньому становили $(1641,96 \pm 48,81)$ і $(1,40 \pm 0,02)$ екз/ мм^2 відповідно (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Морфометричні показники компенсаторних процесів в корі ГМ щурів зі змішаною формою ДЕ на 7 та 30 добу після рКЦГ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування

Група	Нейро- гліальний індекс	Щільність, екз/мм ²		
		Нейронів	Гліоцитів	Функціонуючих капілярів
1 – SHR+XAI (контроль)	2,27±0,06	829,21±30,20	1879,46±73,02	113,95±8,79
2 – SHR+ XAI+ рКЦГ (7 доба)	2,21±0,03	841,33±21,33	1859,33±43,12	119,56±11,67
3 – SHR+XAI + рКЦГ (30 доба)	1,40±0,02 ¹	1175,18±40,82 ¹	1641,96±48,81 ¹	186,71±9,11 ¹
4 – SHR+XAI + кЯВК КК (7 доба)	2,14±0,11	845,67±38,12	1811,34±69,17	129,11±12,78
5 – SHR+XAI +кЯВК КК (30 доба)	1,26±0,04 ¹	1202,64±34,97 ¹	1521,14±65,30 ¹	192,20±9,15 ¹
6 – SHR+XAI+ рКЦГ+ кЯВК КК (7 доба)	2,15±0,09	843,45±32,11	1816,65 ±34,12	127,14±11,56
7 – SHR+XAI + рКЦГ+ кЯВК КК (30 доба)	1,19±0,03 ¹	1250,69±33,28 ¹	1489,57±49,82 ¹	200,44±9,60 ¹

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від контрольної групи щурів лінії SHR + XAI (p<0,05).

Внутрішньомозкові артерії з вираженими просвітами були виконані форменими елементами крові, переважно еритроцитами. У стінці артерій відзначалася гіпертрофія і не різко виражена гіперплазія гладком'язових клітин, між якими виявлявся розвиток помірно фуксинофільних колагенових волокон, однак кількість їх була менша, ніж в групі контролю. У частині дрібних артерій спостерігалось накопичення гіаліноподібної еозинофільної речовини в субендотеліальному просторі.

Зустрічалися окремі судини з ознаками плазматичного просякання стінки і парціального спазму. Периваскулярні простори місцями були розширені внаслідок накопичення набряклої рідини. Вени з нерівномірним тонусом стінки також місцями були розширені і повнокровні. Ендотеліоцити, що вистилають судини, були горизонтально орієнтовані, в ділянках спазму розташовувалися вертикально, а в капілярах тісно прилягали один до одного.

Просвіти капілярів, як правило, були добре виражені, деякі з них розширювалися і мали ознаки стазу. Визначалися капіляри зі спавшоїся стінкою і звуженим просвітом. Морфометрично щільність функціонуючих капілярів в середньому становила $(186,71 \pm 9,11)$ екз/мм², що значуще перевищувало аналогічні показники контрольних щурів лінії SHR на тлі ХАІ (табл. 3.3).

В 20% спостережень в окремих артеріях переважно в підкіркових утвореннях і білої речовині виявлявся фокальний або тотальний фібриноїдний некроз стінки з формуванням гострих дрібновогнищевих периваскулярних крововиливів. В 50% спостережень виявлялися крововиливи на стадії організації або сформовані дрібні кісти, а в корі і підкіркових структурах виявлялися дрібновогнищеві ішемічні інфаркти (рис. 3.18).

Таким чином, під час гістологічного дослідження препаратів ГМ спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR зі змішаною формою ДЕ через 30 діб після проведення рКЦГ у всіх досліджуваних структурних компонентах відзначалося зниження ступеня прояву морфологічних змін, що розвиваються в результаті тривалого ішемічно-токсичного впливу.

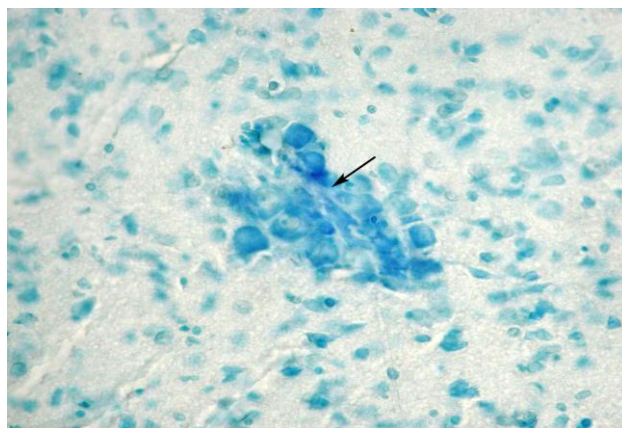


Рис. 3.18. Дрібновогнищевий ішемічний інфаркт кори ГМ на стадії організації (стрілка) у щурів лінії SHR на тлі ХАІ через 30 діб після застосування рКЦГ. Забарвлення по Ніслю, х400.

Під час гістологічного дослідження мікропрепаратів ГМ тварин лінії SHR зі змішаною формою ДЕ на 30 добу після введення кЯВК КК встановлено, що м'які мозкові оболонки ГМ мали нерівномірну товщину. При фарбуванні пікрофуксином по Ван Гізону строма на великому протязі була представлена тонкими або помірно потовщеними фуксинофільними пучками колагенових волокон. На відміну від контрольних щурів (SHR + ХАІ), де фіброз оболонок носив виражений дифузний характер, в ділянках потовщення визначалися більш товсті інтенсивно фуксинофільні пучки волокон, в тому числі навколо артерій. Простори між пучками колагенових волокон помірно розширювалися і виглядали оптично порожніми внаслідок накопичення набряклої рідини. Клітинні елементи були представлені функціонально активними фібробластами, фіброцитами, лімфоцитами і макрофагами (рис. 3.19).

Артеріальні судини м'яких мозкових оболонок мали виражений просвіт, виповнений форменими елементами крові, переважно еритроцитами. У деяких полях зору дрібні артерії мали звужений просвіт внаслідок парціального спазму і осередкової десквамації ендотелію. У порівнянні з щурами лінії SHR на тлі ХАІ, в середньому шарі артерій відзначалося зниження вираженості гіперплазії і гіпертрофії гладком'язових клітин, міжм'язового склерозу, проте в ділянках фіброзу м'яких мозкових оболонок склеротичні зміни носили аналогічний характер. Вени були з розширеними просвітами, повнокровні, місцями з

вогнищевими периваскулярними крововиливами. Ендотеліоцити судин витягнутої форми зі сплосченим базофільним ядром і слабо еозинофільною цитоплазмою, рівномірно розташовувалися на судинній базальній мембрані. У ділянках спазму ендотелій мав типову акомодацию у вигляді частоколу (рис. 3.19). Ламінарна організація кори ГМ була виражена нерівномірно. В 40% спостережень зазначалося рівномірне зниження вмісту нейронів при збереженій ламінарній структурі кори. У 60% поряд з ділянками відносно збереженої структури кори зустрічалися осередки вираженого зниження щільності і випадіння нейронів. Іноді візуалізувалися локуси з відносно підвищеною щільністю нервових клітин. У підкіркових утвореннях виявлялися аналогічні зміни. Нейрони кори і підкіркових структур, як правило, мали звичайну форму і будову.

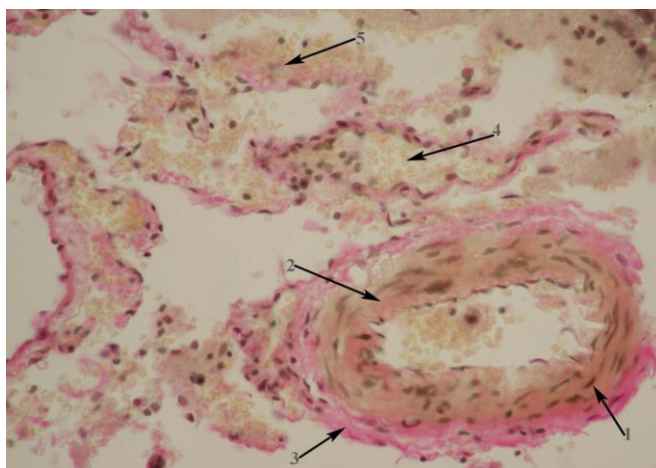


Рис. 3.19. Гіперплазія і гіпертрофія гладком'язових клітин, міжм'язовий склероз стінки артерії (1), періартеріальний склероз (2), повнокров'я вени (3), вогнищеві периваскулярні крововиливи (4) в м'яких мозкових оболонках щурів лінії SHR на тлі ХАІ через 30 діб після введення кЯВК КК. Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізону, $\times 400$.

У порівнянні з контролем рідше спостерігалися нейрони з дегенеративними змінами, які зустрічалися в окремих клітинах або їх невеликих групах, і характеризувалися зменшеним розміром, незграбною або сплющеною формою тіла, базофілією дрібного ядра і гомогенізацією інтенсивно еозинофільної цитоплазми, в якій при фарбуванні по Ніслю не візуалізувалася характерна гранулярність. У деяких нейронах і їх дрібних скупченнях виявлялися ознаки

хроматолізу – клітини сферичної форми з гомогенною безконтурною цитоплазмою без гранул Нісля, каріопікнозом або каріолізисом (клітини–«тіні»). Зустрічалися ознаки нейронофагії. Щільність нейронів в III–V шарах кори статистично значуще збільшувалася щодо відповідних показників контрольних алкоголізованих щурів лінії SHR і в середньому становила $(1202,64 \pm 34,97)$ екз/мм².

Нейропіль був дрібнозернистий, блідий, містив численні клітини нейроглії (рис. 3.20, А). Дрібні олігодендрогліюцити з округлим базофільним ядром спостерігалися дифузно у всіх шарах кори і підкіркових утвореннях, а в білій речовині між пучками мієлінових волокон вони формували ланцюжки з 2–7 клітин. Навколо окремих дистрофічно змінених нервових клітин візуалізувалося до 3–4 олігодендрогліюцитів. Численні і великі астроцити кори ГМ з базофільним ядром локалізувалися біля стінки судин. В 60% спостережень в локусах гангліозноклітинних розряджень і запустіннь були сформовані гліальні вузлики (рис. 3.20, Б). У групі контролю (SHR + XAI) дані зміни виявлялися у всіх випадках. У паравентрікулярних відділах більш дрібні астроцитарні клітини амебоїдної форми частіше розташовувалися, як і в групі контролю, дифузно в кілька рядів. Однак в 30% спостережень гліоз носив дрібновогнищевий периваскулярний характер. Щільність клітин нейроглії в III–V шарах кори в середньому становила $(1521,14 \pm 65,30)$ екз/мм², а значення нейрогліального індексу – $(1,26 \pm 0,04)$ екз/мм², що значуще перевищувало аналогічні показники контрольних тварин лінії SHR з XAI (табл. 3.3).

Внутрішньомозкові артеріальні судини були нерівномірно кровонаповнені і вистелені розташованими на базальній мембрані ендотеліюцитами з витягнутим базофільним ядром. У частині дрібних артерій і артеріол просвіти судин нерівномірно звужувалися внаслідок гіалінозу стінки, іноді з ознаками парціального спазму і плазматичного просочування, а в більш великих артеріях в результаті помірного міжм'язового склерозу стінки. Однак, в порівнянні з групою контрольних алкоголізованих щурів лінії SHR, склероз і гіаліноз судин був виражений в меншій мірі.

Вени з розширеними просвітами були повнокровні, ендотеліоцити, що їх вистилають, роз'єднані і очагово десквамовані. Мав місце помірно виражений периваскулярний набряк речовини мозку. Капіляри з добре помітними просвітами зустрічалися частіше, ніж в групі контролю. Зрідка виявлялися ознаки стазу, частина капілярів була з нерозбірливим просвітом. Морфометрично щільність функціонуючих капілярів статистично значуще збільшувалася щодо показників тварин контрольної групи (SHR + XAI) і в середньому становила $(192,20 \pm 9,15)$ екз/мм² (табл. 3.3).

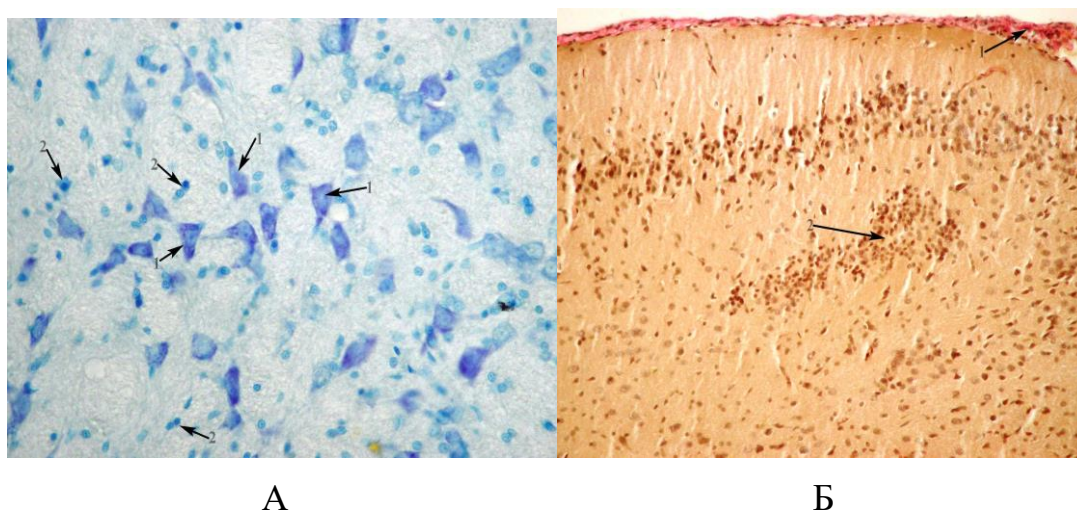


Рис. 3.20. А – нейрони нормальної гістологічної будови в підкірковій структурі ГМ (1), дифузна проліферація гліоцитів (2), сателітоз і нейронофагія у щурів лінії SHR на тлі ХАІ через 30 діб після введення кЯВК КК. Забарвлення по Ніслю, x400; Б – вогнищевий фіброз м'яких мозкових оболонок (1), вогнищева проліферація нейроглії в III–IV шарах кори в зоні гангліозноклітинного запустіння (2) у щурів лінії SHR на тлі ХАІ через 30 діб після введення кЯВК КК. Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізону, x200.

В 50% спостережень в корі і підкіркових утвореннях відзначалися осередки ішемічних інфарктів на стадії організації з макрофагальною реакцією, а також створені в їх результаті одно- або багатокамерні дрібні кісти. У білій речовині і підкіркових ядрах зустрічалися невеликі гематоми, які приводили до формування одиночних або множинних лакун (рис. 3.21). Свіжих крововиливів та інфарктів в стадії некрозу в речовині ГМ не виявлялося.

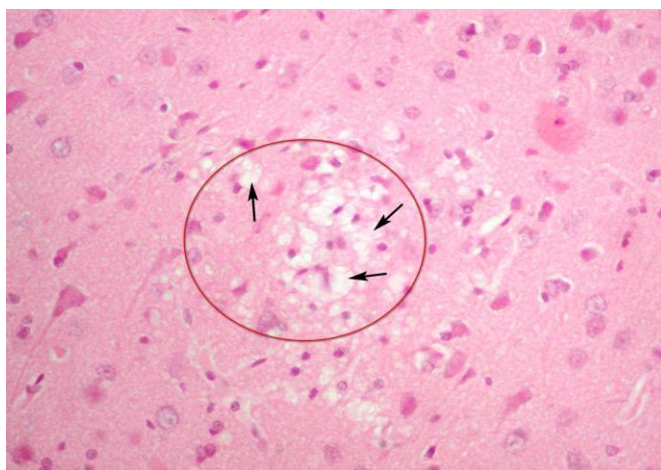


Рис. 3.21. Дрібні багатокамерні кісти в гангліонарному шарі кори ГМ (стрілки) щурів лінії SHR на тлі ХАІ через 30 діб після введення кЯВК КК. Забарвлення гематоксилином і еозином, х400.

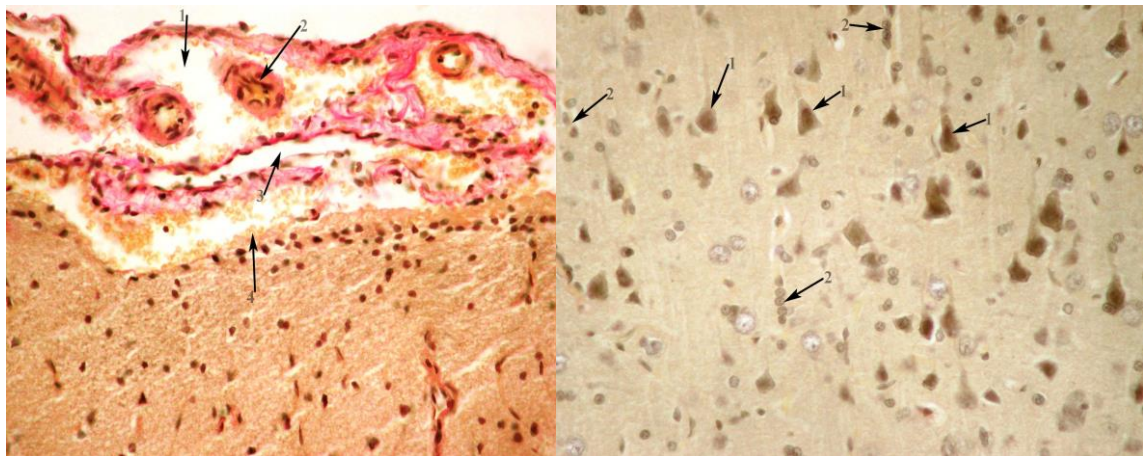
Таким чином, у спонтанно гіпертензивних щурів зі змішаним типом ДЕ через 30 діб після внутрішньочеревного введення кЯВК КК у всіх досліджуваних структурних компонентах ГМ мали місце морфологічні та морфометричні ознаки помірних дистрофічних і компенсаторно-адаптивних змін, ступінь вираженості яких істотно знижувалась в порівнянні з контрольними тваринами лінії SHR на тлі ХАІ. Відсутність гострих деструктивних процесів в досліджуваних структурах ГМ дозволяє відзначити, що використання кЯВК КК є ефективним методом як терапії захворювань ішемічно-токсичного генезу, так і профілактики їх ускладнень.

Під час гістологічного дослідження препаратів ГМ щурів лінії SHR зі змішаною формою ДЕ на 30 добу після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК встановлено, що м'які мозкові оболонки ГМ були дещо набряклі і представлені на великому протязі тонкими або кілька потовщеними пучками фуксинофільних колагенових волокон. Вогнищево периваскулярно волокна формували товсті пучки з вираженою фуксинофілією, на відміну від групи контролю (SHR + ХАІ), в якій фіброз строми мозкових оболонок носив більш виражений дифузний характер. Серед клітинних елементів візуалізувалися в помірній кількості фібробласти, фіброцити, лімфоцити і нечисленні гістіоцити. Просвіти артеріальних судин були добре виражені, однак дещо звужені, в основному в

ділянках спазму, який мав місце в деяких дрібних артеріях, але зустрічався значно рідше в порівнянні з контролем. Артерії і артеріоли були помірно повнокровні, вислані рівномірно розташованими сплюсненими ендотеліальними клітинами, за винятком ділянок спазму, де ендотеліоцити розташовувалися у вигляді частоколу. Стінка судин була кілька потовщена в результаті помірної гіпертрофії гладком'язових клітин і накопичення колагенових волокон в середньому шарі артерій. На відміну від контрольної групи тварин у досліджуваних препаратах були відсутні ознаки гіперплазії гладком'язових клітин, а міжм'язовий склероз менш виражений. Вени були помірно повнокровні, просвіти їх дещо розширені, периваскулярно візуалізувалися осередкові екстравазати, які в порівнянні з контролем зустрічалися рідше і носили дрібновогнищевий характер (рис. 3.22, А).

У 50% спостережень виявлялося рівномірне зниження вмісту нейронів, проте в цілому ламінарна організація кори зберігалася. В інших випадках в корі і підкіркових структурах на тлі рівномірного зниження вмісту нейронів спостерігалися ділянки відносного підвищення щільності нейронів і осередки гангліозноклітинного розрядження, рідше запустіння, які на відміну від контрольних алкоголізованих щурів лінії SHR зустрічалися значно рідше. У корі і підкіркових структурах переважали нейрони звичайної форми і будови (рис. 3.22, Б).

Разом з тим в підкіркових структурах визначалися окремі невеликих розмірів клітини, а в корі і їх дрібні групи, незграбної форми з пікнозом ядра, гомогенізацією цитоплазми, втратою гранул Нісля. Нейрони з ознаками хроматолізу, нейронофагії, клітини-«тіні» були нечисленні і візуалізувалися переважно в корі. В цілому нейрони з дегенеративними змінами зустрічалися рідше, ніж в групі контролю (SHR + XAI). Щільність нейронів в III–V шарах кори в середньому становила $(1250,69 \pm 33,28)$ екз/мм², що значуще перевищувало аналогічний контрольний показник.



А

Б

Рис. 3.22. А – набряк м'яких мозкових оболонок (1), помірний склероз стінки і парціальний спазм дрібних артерій (2), повнокров'я вени (3), вогнищеві периваскулярні крововиливи (4) у щурів лінії SHR на тлі ХАІ через 30 діб після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК. Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізону, x400; Б – гангліонарний шар кори ГМ щурів лінії SHR на тлі ХАІ через 30 діб після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК: пірамідні клітини нормальної будови (1), гіперплазія великих астроцитів навколо судин (2). Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізону, x400.

У дрібнозернистому, блідому нейропілі спостерігалися дифузно-осередково розташовані численні клітини нейроглії. Дрібні, з круглим базофільним ядром олігодендрогліюцити виявлялися в корі і підкіркових утвореннях навколо тіл нейронів, а в білій речовині вони локалізувалися між пучками мієлінових волокон у вигляді ланцюжків з 2–7 клітин. Кількість сателітів деяких нейронів з дегенеративними змінами досягало 3–4 олігодендрогліюцитів. Навколо судин кори візуалізувалися численні великі з базофільним ядром астроцити, які в 50% спостережень в осередках гангліозноклітинних випадінь нейронів формували гліальні вузлики (рис. 3.23, А). Субпендимарно, на відміну від групи контролю, виявлялася дрібноосередкова або слабо виражена дифузна проліферація невеликих астроцитів амебоїдної форми (рис. 3.23, Б).

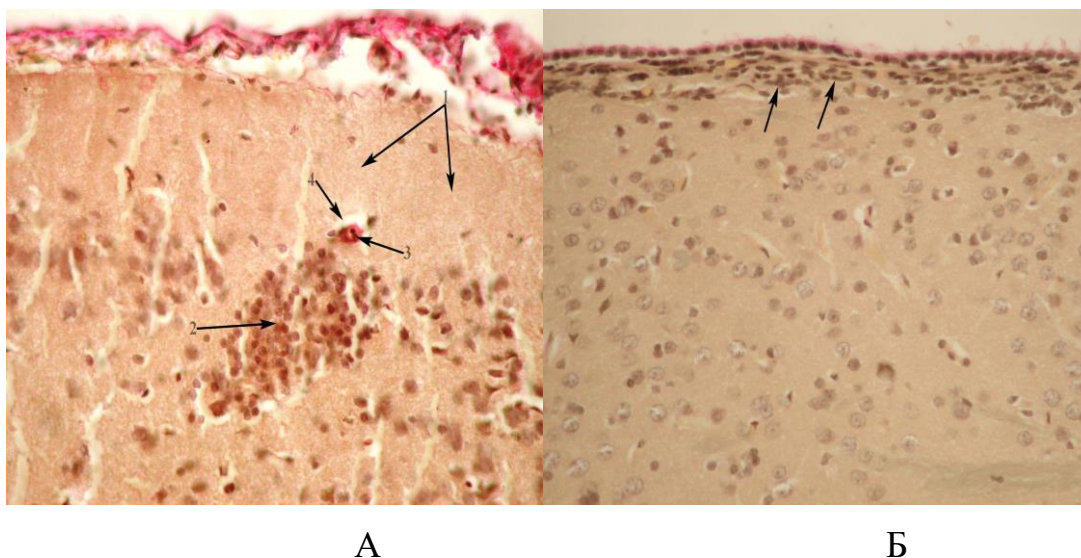


Рис. 3.23. А – локус гангліозноклітинного розрідження з осередковою проліферацією астроцитів в II–III шарах кори (1), гіаліноз внутрішньомозкової артерії (2), помірний периваскулярний набряк (3, 4) у щурів лінії SHR на тлі ХАІ через 30 діб після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК. Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізону, $\times 400$; Б – дифузна проліферація астроцитів під епендимною шлуночка в зоні підкіркового утворення (стрілки) у щурів лінії SHR на тлі ХАІ через 30 діб після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК. Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізону, $\times 400$.

Щільність клітин нейроглії в III–V шарах кори і значення нейрогліального індексу статистично значуще знижувалися в порівнянні з контрольною групою тварин лінії SHR на тлі ХАІ і в середньому становили $(1489,57 \pm 49,82)$ екз/мм² і $(1,19 \pm 0,03)$ екз/мм² відповідно.

Просвіти внутрішньомозкових артеріальних судин кілька звужувалися внаслідок потовщення стінки і були виконані форменими елементами крові. На відміну від контрольної групи щурів (SHR + ХАІ) артерії характеризувалися не різко вираженим міжм'язовим склерозом, помірною гіпертрофією гладком'язових клітин без ознак їх гіперплазії.

Велика частина дрібних артерій і артеріол мала ознаки гіалінозу, зрідка визначалися артерії і артеріоли з явищами парціального спазму і плазматичного просочування стінки. Стінка артерій і артеріол була рівномірно вислана сплосченими ендотеліоцитами, а в ділянках спазму мала типову акомодацию

ендотелію. Вени мали нерівномірно знижений тонус стінки, а простори між ендотеліоцитами розширювалися. Просвіти були переповнені кров'ю. Периваскулярні простори кілька розширювалися і виглядали оптично порожніми. Просвіти численних капілярів добре візуалізувалися, подекуди виявлялися ділатовані капіляри з ознаками стазу, а також спалі капіляри зі слабо помітними просвітами. Морфометрично щільність функціонуючих капілярів в середньому становила $(200,44 \pm 9,60)$ екз/мм², що значуще перевищувало відповідний контрольний показник (табл. 3.3). У сірій та білій речовині, у підкіркових утвореннях не зустрічалися ознаки гострих деструктивних вогнищевих змін. Разом з тим, в 30% спостережень мали місце дрібновогнищеві крововиливи на стадії організації та ішемічні інфаркти, а також створені в їх результаті дрібні кісти (рис. 3.24).

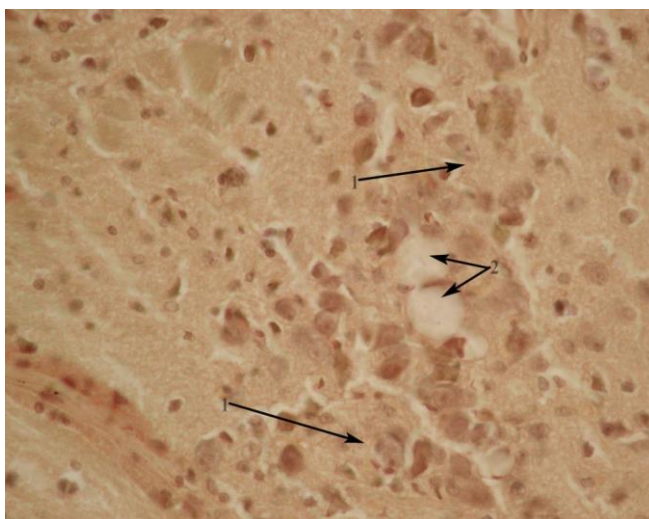


Рис. 3.24. Дрібновогнищевий ішемічний інфаркт кори ГМ на стадії організації з початковим кістоутворенням (1), склероз стінки внутрішньомозкової артерії (2) у щурів лінії SHR на тлі ХАІ через 30 діб після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК. Забарвлення пікрофуксином по Ван Гізону, х400.

Можна зробити висновок що, через місяць після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК у щурів лінії SHR зі змішаною формою ДЕ у всіх досліджуваних структурних компонентах ГМ виявлялися помірно виражені дистрофічні і компенсаторно-адаптивні зміни. На відміну від контрольних тварин зазначалося статистично значуще зниження щільності гліоцитів і нейроногліального індексу,

збільшення щільності нейронів і кількості функціонуючих капілярів. Були відсутні гострі геморагії і ішемічні інфаркти. Виявлені компенсаторно-адаптивні зміни структур ГМ свідчать про ефективність поєднаного використання рКЦГ і кЯВК КК з метою як терапії ішемічно-токсичних станів, так і для корекції їх ускладнень.

Таким чином в проведених дослідженнях експериментально обґрунтована адекватність обраних нами моделей ДЕ (гіпертензивної і змішаної (обтяженої ХАІ)). Так, для контрольних тварин лінії SHR і щурів цієї ж лінії на тлі ХАІ були характерні яскраво виражені гістологічні ознаки зміни архітекτονіки судинного русла і прогресуючого дегенеративно-дистрофічного ураження тканин ГМ, які розвивалися в результаті хронічної недостатності кровопостачання ГМ і наступних гострих порушень мозкового кровообігу (крововиливи і ішемічні інфаркти в корі ГМ). У тварин з моделлю гіпертензивної ДЕ, в порівнянні з нормотензивним контролем, відзначалося зниження кількості нейронів (на 24,31%) і числа функціонуючих капілярів (на 25,61%).

ХАІ (протягом 9 місяців) спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR поглиблювала перебіг патологічного процесу в ГМ, що виражалось в значущому, в порівнянні з контрольними щурами SHR, зниженні нейрогліального індексу (в 1,5 рази) і кількості функціонуючих капілярів (на 33,1 %).

Через 7 діб після самостійного і поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК тваринам з гіпертензивною і змішаною формами ДЕ гістологічних змін в досліджуваних нами структурних компонентах ГМ не спостерігалось.

На 30 добу після проведення рКЦГ щурам з гіпертензивною формою ДЕ відзначалося зменшення нейрогліального індексу (на 16,22%) за рахунок збільшення кількості нейронів в корі ГМ (на 13,53%) і зниження числа гліальних клітин (на 5,23%). Крім того збільшувалася кількість функціонуючих капілярів (на 14,5%), що свідчило про зменшення ступеня ішемії мозку. При змішаній формі ДЕ (гіпертензивній, що була обтяжена ХАІ) рКЦГ сприяла збільшенню кількості функціонуючих капілярів (на 38,3%) і зниженню нейрогліального

індексу на (63,85%), практично повністю знімаючи токсичний вплив алкоголю на морфометричні показники ГМ.

Внутрішньочеревне введення кЯВК КК щурам лінії SHR з гіпертензивною і змішаною формами ДЕ супроводжувалося регенерацією нейроклітин, стимуляцією ангиогенезу, що знижувало ознаки прояву дистрофічних, деструктивних і патологічно змінених компенсаторно-адаптивних процесів в ГМ за рахунок відновлення його мікрогемоциркуляції та цитоархітекτονіки. Крім того, застосування кЯВК КК значно збільшувало кількість функціонуючих капілярів з добре вираженим просвітом (на 18,55% у тварин з гіпертензивною ДЕ і на 68,67% у щурів зі змішаною формою ДЕ) на тлі зниження нейрогліального індексу (на 20,95% у тварин з гіпертензивною ДЕ і на 44,49% у щурів зі змішаною формою ДЕ).

На 30 добу після поєднаного використання рКЦГ і кЯВК КК у щурів з різними формами ДЕ спостерігалась повна або часткова відсутність ознак гіперплазії гладком'язових клітин, спазму стінок артеріальних судин і ступеня повнокров'я в венах. Мало місце статистично значуще зменшення нейрогліального індексу, збільшення кількості функціонуючих капілярів (на 25,68% і 20,17% у щурів з ДЕ гіпертензивного типу і на 47,58 і 75,90% у тварин з ДЕ, обтяженої ХАІ). Виявлені особливості структурного стану тканин і судин ГМ у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR на тлі поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК свідчать про поліпшення кровообігу і зниження ступеня ішемії ГМ, а також підтверджують доцільність їх поєднаного використання для корекції цереброваскулярних порушень при різних формах ДЕ.

За матеріалами розділу 3 опубліковано роботи [328–337].

РОЗДІЛ 4

ВПЛИВ РИТМІЧНОЇ КРАНІОЦЕРЕБРАЛЬНОЇ ГІПОТЕРМІЇ, КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ТА ЇХ КОМБІНАЦІЇ НА ПРОЦЕСИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ В ТКАНИНАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ СПОНТАННО ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ЛІНІЇ SHR З РІЗНИМИ ФОРМАМИ ДИСЦИРКУЛЯТОРНОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ

Перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) – універсальний процес, який протікає в кожній клітині живого організму як в нормі, так і при розвитку цілого ряду патологічних станів. Утворені в результаті розвитку вільнорадикальних реакцій токсини (спирти, кетони, альдегіди, ефіри й ін.) вносять суттєвий внесок в пошкодження клітин і організму в цілому. Активація процесів ПОЛ призводить до порушення функціонування систем, що регулюють скорочення і тонус гладких м'язів судин. Захист тканини від згубної дії активних форм кисню і вільних радикалів здійснює антиоксидантна система. Динамічна рівновага системи «ПОЛ-антиоксиданти» лежить в основі гармонійного функціонування нейрогуморальних шляхів регуляції судинного тону [338, 339].

У розділі 3 нами було показано, що стійке підвищення АТ та ХАІ на тлі АГ призводять до зміни морфофункціональних характеристик мікросудин і нейронних структур ГМ. Можна припустити, що одним з компонентів пошкодження ГМ при АГ і АГ на тлі ХАІ, може бути інтенсифікація ПОЛ і зниження антиоксидантного захисту мозку. Відомо [109, 340, 341], що розвиток АГ і тривала алкоголізація супроводжуються вираженими змінами процесів ПОЛ і антиоксидантного захисту в тканинах ГМ, які потребують фармакологічної корекції.

Метод КЦГ, який отримав широке застосування в медичній неврології [342], може призводити до порушення деяких фізіологічних систем організму, включаючи зміни в мікроциркуляції та зменшення поставок кисню до тканин.

Нестача кисню може викликати генерацію активних форм кисню і вільних радикалів азоту з наступним окислювальним стресом [44]. У зв'язку з цим ми вивчали вплив рКЦГ на оксидантно/антиоксидантний баланс в мозковій тканині експериментальних тварин і роль процесів ПОЛ в механізмах терапевтичної гіпотермії. Пошук речовин, що регулюють активність ПОЛ, є однією з актуальних наукових проблем. Беручи до уваги роботи [26, 343, 344], які свідчать про високий терапевтичний потенціал СК КК для лікування судинних захворювань нервової системи, а також взаємо потенціючий ефект поєднаного застосування кріотерапії і кЯВК КК [324, 325, 330], нами було вивчено як самостійний вплив кЯВК КК, так і їх поєднане використання разом з методом рКЦГ, на процеси ПОЛ в мозковій тканині щурів лінії SHR.

4.1 Порівняльна характеристика показників рівня МДА в тканинах головного мозку нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами дисциркуляторної енцефалопатії

Результати експериментів показали, що у вихідній реакції ПОЛ, рівень МДА в гомогенаті мозкової тканини щурів лінії SHR з гіпертензивною формою ДЕ був на 160% вище за аналогічний показник нормотензивних тварин (табл. 4.1). Отримані нами дані підтверджують положення про те, що при хронічній АГ в тканинах ГМ вихідний рівень продукту ліпопероксидації у вигляді МДА, що характеризує окислювальний стрес, значуще перевершує відповідний показник в мозковій тканині нормотензивних щурів [345–348]. У присутності прооксидантів (солі Мора та аскорбінової кислоти) (індуковане ПОЛ) і в їх відсутності (спонтанне ПОЛ) процес ПОЛ в мозковій тканині щурів лінії SHR також характеризувався статистично вищими показниками МДА в порівнянні з контрольними нормотензивними тваринами (рівень МДА зростав на 78 і 48% відповідно). Отримані в ході експериментальних досліджень результати узгоджуються з даними, що були опубліковані в роботі [349]: АГ призводила до розвитку пошкоджень в гіпокампі ГМ щурів SHR, на що вказувала підвищена

присутність в мозковій тканині апоптичних клітин і астроцитів, підвищена експресія маркерів окислювального стресу (iNOS і gp47phox) і апоптичних регуляторних білків (Вах і каспаза-3).

Таблиця 4.1

Рівень МДА в тканинах головного мозку нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами дисциркуляторної енцефалопатії

Група	Нмоль МДА/мг мозкової тканини		
	Реакції ПОЛ		
	Вихідна	Спонтанна	Індукована
1– нормотензивні	0,10±0,01	0,43±0,08	0,51±0,04
2 – SHR	0,26±0,02 ¹	0,64±0,05 ¹	0,91±0,12 ¹
3 – SHR + ХАІ	0,40±0,05 ^{1, 2}	0,97±0,15 ^{1, 2}	2,32±0,36 ^{1, 2}

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів; ² – статистично значущі відмінності між 2 і 3 групами щурів (p<0,05).

Встановлено, що ХАІ спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR супроводжувалася подальшою активацією процесів ПОЛ в тканинах ГМ (табл. 4.1). Вміст МДА в вихідній і спонтанній реакціях ПОЛ у цих тварин на 53 та 51% перевищував відповідні показники у щурів з гіпертензивною формою ДЕ і на 300 і 126% – в порівнянні з нормотензивними. У аскорбатзалежній реакції ПОЛ рівень МДА зростав на 159% щодо тварин з ДЕ без алкогольної інтоксикації і становив (2,32 ± 0,36) нмоль МДА/мг.

4.2 Динаміка змін рівня МДА в тканинах головного мозку спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з гіпертензивною дисциркуляторною енцефалопатією після ритмічної краніоцеребральної гіпотермії, введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові та їх комбінації

Встановлено, що у щурів лінії SHR з гіпертензивною формою ДЕ на 7 і 30 добу після застосування рКЦГ рівень МДА в тканинах ГМ значуще не змінювався

ні в одній з трьох досліджених реакціях ПОЛ (вихідній, індукованій та спонтанній) (табл. 4.2). У той же час на 7 і 30 добу після введення цим тваринам кЯВК КК у вихідній, індукованій та спонтанній реакціях ПОЛ відзначалася динаміка зменшення концентрації МДА. При цьому статистично значущі відмінності спостерігалися тільки в аскорбатіндукованій реакції ПОЛ на 7 добу після введення кЯВК КК (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

Рівень МДА в тканинах головного мозку щурів з гіпертензивною формою ДЕ на 7 та 30 добу після рКЦГ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування

Група	Нмоль МДА/мг мозкової тканини		
	Реакції ПОЛ		
	Вихідна	Спонтанна	Індукована
1 – SHR (контроль)	0,26±0,02	0,64±0,05	0,91±0,12
2 – SHR + рКЦГ (7 доба)	0,24±0,04	0,59±0,06	0,91±0,08
3 – SHR + рКЦГ (30 доба)	0,29±0,07	0,66±0,04	0,86±0,09
4 – SHR + кЯВК КК (7 доба)	0,21±0,03	0,58±0,06	0,62±0,04 ¹
5 – SHR+ кЯВК КК (30 доба)	0,25±0,04	0,66±0,07	0,88±0,05 ²
6 – SHR+ рКЦГ+ кЯВК КК (7 доба)	0,21±0,02	0,54±0,05	0,66±0,04 ¹
7 – SHR + рКЦГ +кЯВК КК (30 доба)	0,24±0,07	0,58±0,04	0,79±0,08

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів; ² – статистично значущі відмінності між 4 і 5 групою щурів (p<0,05).

На 7 добу після поєднаного використання рКЦГ і кЯВК КК у вихідній, спонтанній та індукованій реакціях мало місце зниження інтенсивності протікання процесів ПОЛ на 19, 16 і 27% відповідно. Однак в порівнянні з

контрольними тваринами лінії SHR, статистично значущі відмінності в змісті МДА в тканинах ГМ визначалися тільки в реакції з солями Мора і аскорбіновою кислотою. Через 30 діб після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК значущих відмінностей (в порівнянні з контрольними щурами лінії SHR) в рівні МДА не виявлялося (табл. 4.2).

4.3 Динаміка змін рівня МДА в тканинах головного мозку спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з дисциркуляторною енцефалопатією змішаного генезу після ритмічної краніоцеребральної гіпотермії, введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові та їх комбінації

На 7 добу після рКЦГ в тканинах ГМ спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з ДЕ змішаного типу (обтяженої ХАІ) в спонтанній і аскорбатіндукованій реакціях зазначалося статистично значуще зниження інтенсивності процесів ПОЛ (на відміну від групи тварин з ДЕ гіпертензивного типу) (табл. 4.3). На 7 і 30 добу після введення щурам лінії SHR з ХАІ кЯВК КК спостерігалось зменшення рівня МДА в усіх досліджуваних реакціях ПОЛ (вихідна, індукована та спонтанна). Однак значущі відмінності в змісті МДА у вихідній, індукованій та спонтанній реакції ПОЛ виявлялися тільки на 30 добу після введення кЯВК КК, що свідчить про антиоксидантні властивості кордової крові, які проявляються у віддалений термін спостережень (табл. 4.3).

У щурів лінії SHR зі змішаною формою ДЕ на 7 і 30 добу після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК виявлялася тенденція до подальшого зниження інтенсивності процесів ПОЛ в мозковій тканині (табл. 4.3). Однак, незважаючи на це, рівень МДА в тканинах ГМ тварин даної групи залишався вище аналогічних показників щурів з гіпертензивною ДЕ, що не була обтяжена ХАІ (табл. 4.2).

Інтенсифікація ПОЛ і зниження антиоксидантної активності найчастіше розглядаються в якості найбільш загальних причин метаболічних порушень в клітинах, що може посилювати клітинний апоптоз, брати участь у розвитку широкого кола патологічних станів (в першу чергу інсульту та інфаркту). У мозку

встановлена зворотна кореляція між ступенем постачання мозку киснем і змістом ліпоперекисей [44, 350].

Таблиця 4.3

Рівень МДА в тканинах головного мозку щурів зі змішаною формою ДЕ на 7 та 30 добу після рКЦГ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування

Група	Нмоль МДА/мг мозкової тканини		
	Реакції ПОЛ		
	Вихідна	Спонтанна	Індукована
1 – SHR+ХАІ (контроль)	0,40±0,05	0,97±0,15	2,32±0,36
2 – SHR+ХАІ+рКЦГ (7 доба)	0,33±0,04	0,72±0,09 ¹	1,62±0,12 ¹
3 – SHR+ХАІ+рКЦГ (30 доба)	0,39±0,07	0,87±0,16	2,11±0,23 ²
4 – SHR+ХАІ+кЯВК КК (7 доба)	0,32±0,04	0,84±0,12	1,13±0,13 ¹
5 – SHR+ХАІ+кЯВК КК (30 доба)	0,31±0,03 ¹	0,78±0,07 ¹	1,63±0,26 ^{1,3}
6 – SHR+ХАІ+рКЦГ+ кЯВК КК (7 доба)	0,27±0,05 ¹	0,70±0,04 ¹	1,55±0,07 ¹
7 – SHR+ХАІ+рКЦГ+ кЯВК КК (30 доба)	0,30±0,02 ¹	0,72±0,03 ¹	1,56±0,13 ¹

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів; ² – статистично значущі відмінності між 2 і 3 групою щурів; ³ – статистично значущі відмінності між 4 і 5 групою щурів (p<0,05).

Особлива небезпека розвитку оксидантного стресу в ЦНС визначається значною інтенсивністю окислювального метаболізму в ГМ, оскільки мозок містить велику кількість ліпідів (до 50% сухої речовини). Тканини ГМ мають підвищену чутливість до дії кисневих радикалів через високий вміст ненасичених жирних кислот і катехоламінів в мембранах ГЕБ та клітинних мембранах.

Утворений в процесі ПОЛ малоновий альдегід є мутагеном і має виражену цитотоксичність [44, 350]. Модифікуючий ефект вторинних та третинних продуктів ПОЛ реалізується вазоконстрикцією артеріол і підвищенням загального

периферичного опору, що і визначає роль МДА в патогенезі та прогресуванні АГ [341].

Раніше було показано [351–353], що хронічна АГ призводить до зміни морфофункціональних характеристик мікросудин і нейронних структур ГМ, збільшення активності основних ферментів енергетичного метаболізму.

Виявлена нами інтенсифікація ПОЛ (за рівнем МДА) в тканинах ГМ спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR (в порівнянні з нормотензивними тваринами) може свідчити про зниження в них антиоксидантної системи захисту. Подібні зміни інтенсивності ПОЛ можуть бути одним з чинників ушкодження ГМ при АГ і спричиняти порушення мозкового кровообігу і різних ланок метаболізму нервової тканини, що підтверджується рядом робіт [345–347, 354].

Тривала алкоголізація призводить до серйозних і постійних змін у мозку дослідних тварин, викликаючи оксидативний стрес, ослаблення активності антиокислювальних ферментів, зрив антиоксидантного захисту та значні зміни ліпідів тканин мозку, включаючи сфінголіпіди, жирні кислоти, лізофосфатиділхоліни та інші гліцерофосфоліпіди [355–357]. Отримані результати по впливу ХАІ на процеси ПОЛ в мозковій тканині щурів можна пояснити тим, що етанол, хоча і проявляє антиоксидантні властивості, посилює процеси ПОЛ. Незалежно від шляху окислення алкоголю, проміжним продуктом його метаболізму завжди виступає ацетальдегід, в ході окислення якого також відбувається посилене утворення активних форм кисню [358]. Відомо [44, 338, 339, 359, 360], що токсична дія активних форм кисню виявляється при окислювальному стресі, який супроводжується різкою інтенсифікацією вільнорадикальних процесів і зниженням активності антиоксидантного захисту в тканинах. Посилення вільнорадикальних процесів і розвиток стану окисного стресу є однією з патогенетичних ланок неврологічних і психічних порушень ЦНС. У роботах [347, 361–363] було встановлено, що окисне пошкодження білків, ліпідів і нуклеїнових кислот займає провідне місце в розвитку захворювань, пов'язаних з нейродегенеративними порушеннями мозкової тканини, які є

причиною незворотних ушкоджень нервової тканини, порушень психічних і структурних функцій ГМ.

Ритмічна КЦГ сприяє оптимізації енергоємних обмінних процесів в ГМ, знижує потребу мозку в кисні, змінює нейрональну реактивність [11, 364]. При цьому організм включає свої резервні можливості, переходячи на більш економічний режим функціонування. Зменшується активність ряду ферментів, зростає «чутливість» пацієнта до фармацевтичних препаратів, в тому числі і до тих, які раніше не давали очікуваного лікувального ефекту.

Відомо, що при гіпотермії, що супроводжується зниженням температури ядра тіла нижче рівня, необхідного для підтримки функцій організму, можуть порушуватися деякі фізіологічні системи, включаючи зміни в мікроциркуляції і зменшенні подачі кисню до тканин [5–9]. Нестача кисню може викликати утворення реакційноздатних кисневих і азотистих вільних радикалів, що провокують розвиток окисного стресу [44]. Оскільки гіпотермія неминуче супроводжується відновлювальним процесом, необхідно було розглянути її наслідки. В роботі [87] показано, що в процесі КЦГ зміст вторинних перекисних метаболітів в крові, що відтікає від мозку в період реперфузії, збільшується, що свідчить про активацію процесів ПОЛ. До моменту повного зігрівання пацієнта, за даними автора, зміст МДА в мозку нормалізується. В роботі [365] також встановлено, що гіпотермія, незалежно від її глибини (33°C, 30°C, 20°C) і тривалості (від 15 хвилин до 2 годин), призводить до підвищення активності як ферментативної, так і неферментативної ланки ПОЛ. Подібні зміни в інтенсивності ПОЛ, викликані гіпотермією, при подальшому самозігріванні змінюють свою спрямованість, а повна нормалізація активності пероксидації ліпідів ГМ настає вже на 4 добу після самозігрівання.

Отримані нами результати по впливу рКЦГ на рівень МДА в гомогенаті ГМ щурів лінії SHR показали, що на 7 добу після проведення рКЦГ активність процесів ПОЛ значуще не відрізнялася від такої у контрольних тварин цієї ж лінії у всіх трьох досліджених реакціях. Можливо, на 7 добу після застосування рКЦГ

баланс про- та антиоксидантної систем приходить до своїх початкових показників і тому ми не спостерігали змін у рівні МДА у щурів даної групи.

На 7 добу після рКЦГ процеси ліпопероксидації в тканинах ГМ щурів лінії SHR з ХАІ супроводжувалися статистично значущим зниженням спонтанної і аскорбатзалежної активності ПОЛ.

Результати робіт [342, 366] свідчать про підвищення антиоксидантних захисних властивостей локальної гіпотермії голови щодо метаболічно активної тканини стовбура ГМ при геморагічному шоку і зниженні процесів пероксидації ліпідів при травмах голови. Можливо, у випадку з ХАІ ми зіткнулися з подібним ефектом, коли рКЦГ сприяла зниженню спочатку підвищеного рівня МДА в тканинах мозку.

На даний час активно проводиться пошук вже існуючих і синтез нових речовин, що регулюють активність ПОЛ [367, 368]. Отримані нами експериментальні дані з вивчення впливу кЯВК КК на процеси ПОЛ в тканинах ГМ у щурів з різними формами ДЕ (гіпертензивною та змішаною, що обтяжена ХАІ) дають можливість стверджувати про їх неоднозначну дію на прооксидантно-антиоксидантний баланс.

У нашому дослідженні кЯВК КК через 30 діб після введення не впливали на активність процесів ПОЛ у вихідній і спонтанній реакціях у щурів лінії SHR. Можливо, кЯВК КК не можуть змінити генетично детермінований рівень ПОЛ, що проявляється в його вихідній і спонтанній реакціях, принаймні, протягом 30 діб спостереження.

У той же час кЯВК КК проявляють виражені антиоксидантні властивості у тварин лінії SHR з ХАІ, активізуючи систему антиоксидантного захисту, яка стримує надмірний прояв прооксидантних факторів і механізмів в результаті етанолзалежного оксидативного стресу. Отримані нами результати узгоджуються з даними, що представлені в роботі [369]. Авторами показана можливість алогенних мононуклеарних клітин кісткового мозку знижувати рівень кінцевого продукту окислювальних реакцій в мозковій тканині щурів через 90 діб після введення. Антиоксидантні властивості кЯВК КК показані в роботі [367] на моделі

ішемічного інсульту у щурів. Автори пов'язують терапевтичний ефект КК як з її антиоксидантною активністю, так й зі стабілізуючим впливом на біомакромолекули.

Ще в 1982 році Н.В. Шинкаренко зі співавторами встановили [370], що в живих організмах окремі антиоксиданти діють не самі по собі, а формують антиоксидантні ланцюга, ефективність яких визначається роботою всіх компонентів. Для ефективної дії антиоксидантні препарати, перш за все повинні легко надходити в мозок, проникати через ГЕБ, не порушуючи його функцій [359, 360].

Раніше у відділі кріофізіології ІПКіК НАН України була показана можливість застосування ритмічної гіпотермії з метою потенціювання інших методів впливу на патологічний осередок [324, 325, 330, 371].

Поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК підтвердило наше припущення про те, що рКЦГ потенціює терапевтичний ефект кЯВК КК, сприяючи підвищенню антиоксидантного захисту тканин ГМ спонтанно гіпертензивних тварин лінії SHR з ХАІ.

Через 30 діб після поєднаного використання рКЦГ і кЯВК КК у щурів лінії SHR без ХАІ статистично значущі зміни активності процесів ПОЛ, в порівнянні з контрольною групою тварин цієї ж лінії, були відсутні. Оскільки у випадку із щурами SHR мова йде про довготривалу адаптацію організму до високого рівня АТ і ПОЛ, можна припустити, що зниження рівня МДА може вказувати на пригнічення біосинтезу судинорозширювальних простагландину Е2 і простагліну і посилювати розвиток гіпертензії [372].

Таким чином, у контрольних спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR вміст МДА в тканинах ГМ значуще збільшувався (в 2,6 рази) щодо нормотензивних тварин, що свідчило про інтенсифікацію процесів ПОЛ в результаті ослаблення механізмів антиоксидантного захисту тканин ГМ. ХАІ спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR супроводжувалася подальшою активацією процесів ПОЛ в тканинах ГМ.

Вихідний рівень активності процесів ПОЛ в тканинах ГМ щурів з ДЕ гіпертензивного та змішаного типу на тлі рКЦГ не змінювався. Введення кЯВК КК щурам лінії SHR з ДЕ змішаного генезу сприяло зниженню рівня МДА в тканинах ГМ на 20%, але не впливало на процес ПОЛ в тканинах мозку тварин лінії SHR з ДЕ гіпертензивного типу. На 7 та 30 добу після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК у щурів з ДЕ змішаного генезу спостерігалось підвищення антиоксидантного захисту тканин мозку на 32,5% і 25% відповідно.

За матеріалами розділу 4 опубліковано роботи [374–377].

РОЗДІЛ 5

ВПЛИВ РИТМІЧНОЇ КРАНІОЦЕРЕБРАЛЬНОЇ ГІПОТЕРМІЇ, КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ТА ЇХ ПОЄДНАННЯ НА ДЕЯКІ ГЕМОРЕОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ СПОНТАННО ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ЛІНІЇ SHR З РІЗНИМИ ФОРМАМИ ДИСЦИРКУЛЯТОРНОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ

У розділі 4 нами встановлено, що спонтанно гіпертензивні щури лінії SHR характеризуються підвищеною інтенсивністю протікання процесів ПОЛ в тканинах ГМ в порівнянні з нормотензивними тваринами, що відображає загальну тенденцію ліпідної пероксидації в їх організмі. Показано, що практично всі патологічні стани, в тому числі і ХАІ, супроводжуються підвищеним рівнем ПОЛ [378–381]. Відомо, що при збільшенні рівня вільнорадикального окислення можливо швидке руйнування клітинних структур в результаті їх пошкодження [338, 339].

Еритроцити (Е), як найчисленніша клітинна популяція, є високочутливою тест-системою, що відображає як загальний стан гомеостазу на рівні цілісного організму, так і динаміку перебігу патологічного процесу. Саме Е визначають реологічну поведінку крові в судинах, містять компоненти системи антиоксидантного захисту, є регуляторами судинного тонуусу [382].

Порушення реологічних властивостей крові призводять до розладів в системі мікроциркуляції, ускладнення оксигенації тканин і, в кінцевому підсумку, до порушення функціонування органів і систем [383–386]. Система крові грає одну з ключових ролей у підтримці гомеостазу та формуванні адекватних реакцій організму. Розлади в системі гемостазу є невід'ємним компонентом патогенезу АГ і ДЕ [383, 384]. Діагностику ДЕ проводять по 6 основним критеріям, одним з яких є зміни, зафіксовані при дослідженні крові хворого. Згідно з даними літератури [387–389], кров при ДЕ часто має підвищену в'язкість, що призводить до утворення тромбів і погіршення внутрішньомозкового кровообігу.

У зв'язку з цим нами були вивчені деякі гемореологічні показники у контрольних нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR (з ХАІ і без такої) до і після самостійного і поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК.

5.1 Порівняльна характеристика деяких показників гемореології у нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами дисциркуляторної енцефалопатії

Факти причетності показників реології крові до розвитку гіпертонії відображені в роботах [384, 385, 390–393]. Щури лінії SHR з генетично детермінованою АГ визнані вдалою моделлю синдрому підвищеної в'язкості крові (СПВК) [274, 390]. Збільшення в'язкості крові є результатом зміни цілого ряду параметрів, в тому числі підвищення гематокриту, в'язкості плазми та агрегації еритроцитів [383–386, 389].

В ході проведених експериментальних досліджень встановлено статистично значуще збільшення кількості циркулюючих Е, в'язкості ПК і показників гематокриту у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR в порівнянні з нормотензивними тваринами (на 41, 81 і 17%, відповідно) (табл. 5.1).

Підвищення гематокриту у контрольних щурів SHR може бути обумовлено збільшенням рівня Е в ПК, що є компенсаторною реакцією організму на розвиток (в результаті хронічно високих цифр АТ) гіпоксії і пов'язано з посиленою продукцією кістковим мозком червоних кров'яних клітин. У свою чергу, зростання гематокриту супроводжується зниженням доставки кисню до тканин і призводить до ще більшого наростання тканинної гіпоксії [384]. Рівень постачання кисню до тканин (РПК), що дорівнює відношенню показника гематокриту до значення в'язкості крові, за даними наших досліджень значуще зменшувався в контрольній групі спонтанно гіпертензивних щурів у порівнянні з нормотензивним контролем (табл. 5.1).

Хронічна алкоголізація щурів лінії SHR (протягом 9–10 місяців) призводила до статистично значущих змін (в сторону їх нормалізації) гемореологічних

показників (за винятком показника в'язкості крові), в порівнянні з тваринами, які не вживали алкоголь (щери лінії SHR без ХАІ) (табл. 5.1). При цьому ХАІ сприяла ще більшому зниженню коефіцієнта k , що характеризує РПК, тим самим посилюючи кисневе голодування всіх органів і тканин хронічно алкоголізованих тварин.

Таблиця 5.1

Деякі гемореологічні показники нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами дисциркуляторної енцефалопатії

Групи	Показники гемореології			
	Кількість Е в 1мл ПК (10^9)	Гематокрит, %	В'язкість ПК	РПК, ср. k
1 – нормотензивні	4,4±0,3	36,8±1,1	3,7±0,4	9,9
2 – SHR	6,2±0,3 ¹	43,3±1,8 ¹	6,7±0,2 ¹	6,5 ¹
3 – SHR + ХАІ	4,8±0,2 ²	34,4±2,5 ²	6,8±0,4 ¹	5,1 ^{1,2}

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів;

² – статистично значущі відмінності між 2 та 3 групами щурів ($p < 0,05$).

Здатність алкоголю підвищувати в'язкість крові була показана ще в 1983 році японськими вченими, які вказали на основну причину цього феномену – гемоконцентрацію (збільшення кількості Е в плазмі, пов'язане зі зменшенням обсягу плазми). Встановлено [394], що зловживання алкоголем надає негативний вплив на серцево-судинну систему і показники згортання крові. На тлі ХАІ збільшується проникність стінок судин, внаслідок чого виникає периферичний набряк. Одночасно з цим розвивається дегідратація (в результаті збільшення клубочкової фільтрації). Збільшення проникності судинної стінки і дегідратація в кінцевому підсумку призводять до значної гемоконцентрації і розвитку або посилення СПВК [395–397].

Зміна в'язкості крові, як інтегрального гемореологічного показника, впливає на загальний периферичний судинний опір, хвилинний обсяг кровообігу та величину системного транспорту кисню [383–386]. На в'язкість крові, в свою чергу, впливають як макрореологічні показники, до яких відносять гематокрит і

в'язкість крові, так і мікрореологічні параметри (агрегація та деформованість еритроцитів).

Аналіз кривих осмотичної крихкості (ОК) Е контрольних тварин лінії SHR і SHR з ХАІ свідчить, що Е щурів SHR більш стійкі до осмотичних навантажень. Так, 50% еритроцитів ПК щурів лінії SHR гемолізує в розчинах NaCl з осмолярністю 150 мОсм / л ($\sim 0,45\%$ NaCl), в той час як аналогічний показник для Е групи нормотензивного контролю становить 155 мОсм / л ($\sim 0,465\%$ NaCl) (рис. 5.1).

Отримані нами результати узгоджуються з даними літератури, які свідчать про підвищення ступеня осмотичної та кислотної резистентності Е при хронічній АГ [382, 398].

ХАІ призводить до ще більшого підвищення ОК і, відповідно, зниження осмотичної резистентності еритроцитів (рис. 5.1). Так, 50% Е від їх загальної кількості гемолізується в розчинах NaCl з осмолярністю 172 мОсм / л ($\sim 0,515\%$ NaCl).

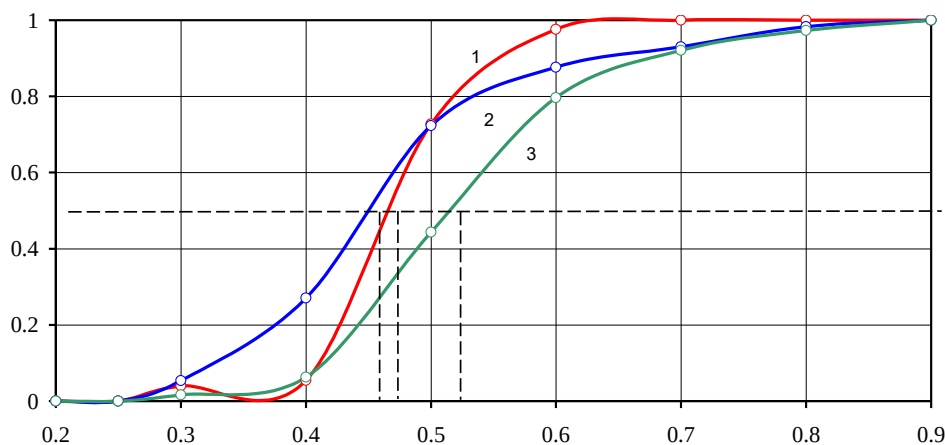


Рис. 5.1. Криві осмотичної крихкості еритроцитів для нормотензивних (1), спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR (2) і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR на тлі ХАІ (3). По осі абсцис – концентрація NaCl, в %; по осі ординат – частка збережених клітин.

На підставі даних ОК ми розрахували відсоток гемолізу в суспензії еритроцитів в групах нормо- і гіпертензивних щурів в залежності від концентрації NaCl в позаклітинному розчині (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

Гемоліз еритроцитів у крові нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами дисциркуляторної енцефалопатії

Концентрація NaCl, %	Гемоліз Е (в %) по групам		
	1 – нормотензивні	2 – SHR	3– SHR+XAI
0,9	0	0	0
0,8	0	2,75±2,44 ¹	2,69±2,23 ¹
0,7	0	6,75±3,00 ¹	7,90±1,77 ¹
0,6	2,38±1,79	10,60±2,71 ¹	20,36±4,33 ^{1,2}
0,5	27,25±7,61	22,73±6,78	55,62±5,54 ^{1,2}
0,4	94,57±1,75	60,63±16,46 ¹	93,70±2,21 ²
0,3	96,02±2,06	91,62±2,22 ¹	98,39±1,13 ²

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів;

² – статистично значущі відмінності між 2 та 3 групами щурів ($p < 0,05$).

Так, при вмісті NaCl в розчині, що дорівнює 0,5%, гемоліз Е склав ($27,25 \pm 7,61$)% для групи нормотензивних щурів, ($22,73 \pm 6,78$)% для групи SHR і ($55,62 \pm 5,54$)% для тварин SHR на тлі XAI. При концентрації NaCl, що дорівнює 0,3%, гемоліз Е склав ($96,02 \pm 2,06$), ($91,62 \pm 4,22$) і ($98,39 \pm 1,13$)%, відповідно.

Таким чином, в суспензії Е щурів лінії SHR зі спадково детермінованою АГ навіть при такій високій гіпотонії (0,3% розчин NaCl) залишається до 10% непрогемолізованих еритроцитів, що значно перевищує аналогічні показники нормотензивного контролю та тварин SHR з XAI.

Зміни гемореологічних показників тісно пов'язані зі зміною структурно-функціональних особливостей мембран Е. Продиференціював криві осмотичної крихкості (рис. 5.1) та проаналізувавши графіки щільності розподілу Е за індексом сферичності (рис. 5.2), ми визначили співвідношення форм Е в ПК в трьох досліджуваних групах (табл. 5.3).

З табл. 5.3 видно, що популяції Е в групах щурів SHR і (SHR + ХАІ) більш гетерогенні в порівнянні з еритроцитами ПК нормотензивних тварин. Це підтверджувалося статистично значущим збільшенням кількості Е предгемолітичної форми (сфероцити): $(8,98 \pm 2,29)\%$ в групі SHR і $(12,0 \pm 2,10)\%$ в групі (SHR + ХАІ), в той час як у нормотензивних щурів даний показник становив $(0,88 \pm 0,81)\%$. Число дегенеративних (сплоснених форм) Е у щурів SHR було значуще вище (більш ніж в 4 рази) в порівнянні з нормотензивним контролем.

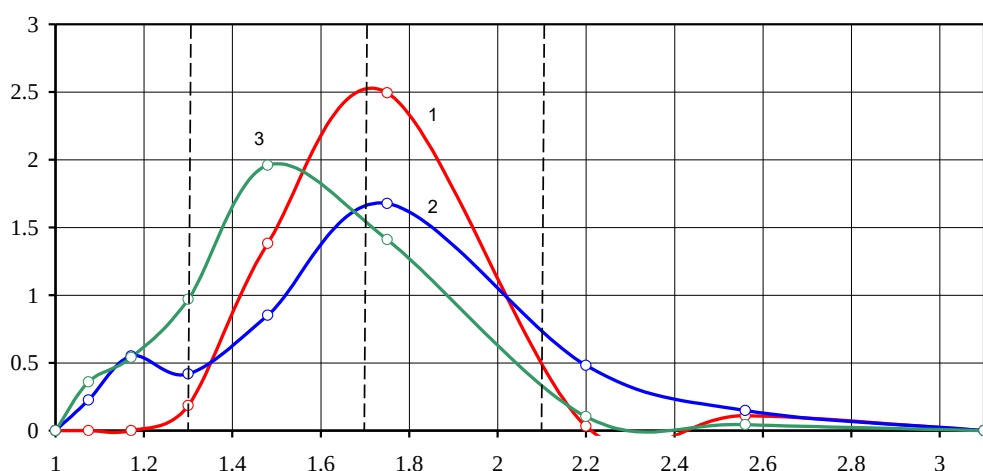


Рис. 5.2. Щільність розподілу еритроцитів у нормотензивних (1), спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR (2) і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR на тлі ХАІ (3). По осі абсцис – індекс сферичності P; по осі ординат – щільність розподілу еритроцитів, ρ.

Дегенеративні форми Е є менш повноцінними з точки зору мікроциркуляції, кисневотранспортної функції та здатності до деформації, ніж дискоцити. Збільшення їх кількості є несприятливою ознакою [397–399]. Перехід з дискоїдної форми в недискоїдну розглядається багатьма авторами як природний процес старіння Е [397, 400, 401]. Порушення кровообігу ішемічного типу супроводжуються прискоренням процесів дегенерації Е і призводять до зростання числа змінених форм. Не виключено, що одним з факторів, що викликає

пошкодження Е при АГ, є значні гідродинамічні перевантаження внаслідок підвищеного системного тиску [396, 401].

Виявлені нами зміни поверхневої архітекtonіки Е спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR, найімовірніше є наслідком порушення структурно-функціональної організації клітинних мембран, що може бути основним фактором реалізації патологічних станів вродженого та набутого генезу. У роботах [274, 402] показано, що в умовах стійкої АГ змінюються показники системного метаболізму, зокрема, рівень ліпідів (холестерину, тригліцеридів, ліпопротеїнів різної щільності), що може відображатися на структурній організації клітинних мембран тварин лінії SHR.

Таблиця 5.3

Співвідношення форм еритроцитів за індексом сферичності у нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами дисциркуляторної енцефалопатії

Групи	Індекс сферичності			
	1–1,3	1,3–1,7	1,7–2,1	2,1–3,1
1 – нормотензивні	0,88±0,81	45,84±7,76	49,51±6,64	3,77±2,14
2 – SHR	8,98±2,29 ¹	32,48±3,48 ¹	42,97±1,15	15,58±4,2 ¹
3 – SHR + ХАІ	12,0±2,10 ¹	54,2±6,18 ²	30,2±6,08 ^{1,2}	3,6±2,01 ²

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів;

² – статистично значущі відмінності між 2 та 3 групами щурів ($p < 0,05$).

Таким чином, популяція Е щурів лінії SHR характеризувалася значно високою кількістю сфероцитів і дегенеративних (сплоснених) форм дискоцитів в порівнянні з нормотензивним контролем, тоді як в популяції Е ПК тварин групи SHR на тлі ХАІ переважали стоматоцити ($54,2 \pm 6,18$). У цій групі тварин також спостерігалось статистично значуще зниження числа дискоцитів і збільшення Е сфероїдної форми, що узгоджується з даними літератури [403] і підтверджує факт того, що ХАІ змінює морфологічний статус Е. Науково підтверджено, що прийом алкоголю протягом тривалого часу викликає зміни цитоархітекtonіки Е, що

відображає як стан мембран цих клітин, так і мембран організму в цілому [399, 404, 405].

У осіб, які хронічно зловживали алкоголем, виявлено збільшення рівня холестерину, зниження поліненасищених жирних кислот і зменшення плинності ліпідного бішару мембран Е [399, 404–406]. Подібні зміни можна розглядати з позиції адаптації організму до розріджуючої (флюїдізуючої) дії алкоголю на клітинні мембрани. Можна припустити, що зміни в'язкоеластичних властивостей еритроцитарних мембран і підвищення їх жорсткості сприяють підтримці впорядкованої структури мембран і їх нормальному функціонуванню в присутності етанолу. При цьому підвищується ОК червоних кров'яних клітин хронічно алкоголізованих щурів, в результаті чого процес гемолізу сфероцитів і стоматоцитів в гіпотонічних розчинах NaCl відрізняється від фізіологічної норми [399, 404–406]. Отримані дані узгоджуються з положенням про те, що при зміні форми Е від дискоцитів до сфероцитів ОК значуще зростає [407].

Отримані нами експериментальні дані підтвердили, що Е щурів SHR більш стійкі до осмотичних навантажень в порівнянні з Е тварин SHR з ХАІ, які мають підвищену ОК. Ймовірно, хронічна алкоголізація протягом 9–10 місяців підвищує ступінь деформованості Е [406].

Фізіологічні властивості Е, що визначають їх лабільність (осмотична резистентність і деформованість, здатність до агрегації і т.п.), сприяють успішному просуванню червоних клітин по кров'яному руслу і забезпеченню органів і клітин киснем. При генетично детермінованій формі АГ, особливо на тлі ХАІ, значуще змінюється реологія крові, морфологія Е, відбуваються ліпідні перебудови в мембранах цих клітин, що сприяє підвищенню вмісту холестерину в них і зниженню кількості загальних фосфоліпідів. Всі ці фактори, без сумніву, призводять до структурно-функціональної дезорганізації мембран Е, зниження їх гемолітичної стійкості [408], збільшення розвитку тканинної гіпоксії, що має місце при ДЕ і веде до розладу кровообігу, а також деструктивним процесам у всіх внутрішніх органах і системах організму [409]. У зв'язку з цим ДЕ як захворювання вимагає розробки нових методичних підходів до її лікування.

5.2 Динаміка змін гемореологічних показників спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з гіпертензивною дисциркуляторною енцефалопатією на тлі самостійного і поєднаного застосування ритмічної краніоцеребральної гіпотермії і кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові

Відомо, що КЦГ відноситься до групи «активних» методів, що призводять до реалізації фізіологічного ефекту гіпотермії на рівні підкіркових структур і зниження внутрішньочерепного тиску з нормалізацією гемодинаміки ГМ [25]. Клітинні препарати КК містять в своєму складі ГСК, які можуть сприяти нормалізації процесів гемопоезу.

Встановлено, що на 7 та 30 добу після проведення рКЦГ спонтанно гіпертензивним щурам лінії SHR статистично значущих змін в досліджуваних показниках реологічних властивостей крові зафіксовано не було (табл. 5.4). Через 7 діб на 5% підвищувався рівень постачання кисню до тканин, на 10% зменшувалась загальна кількість Е в ПК, на 7,4 і 12% знижувалися показники гематокриту і в'язкості крові (табл. 5.4).

На 7 і 30 добу після введення спонтанно гіпертензивним щурам лінії SHR кЯВК КК зазначалося значуще зниження показників в'язкості крові і підвищення коефіцієнта, що характеризує рівень постачання кисню до тканин (табл. 5.4). Кількість Е в одиниці об'єму ПК статистично значимо збільшувалася тільки на 7 добу після застосування кЯВК КК, що відображає загальну картину, характерну для відповідної реакції організму на введення клітинних суспензій, що містять ГСК. Нормалізація числа Е в ПК до рівня гіпертензивного контролю до 30 доби після використання кЯВК КК пояснюється достовірним зростанням коефіцієнта k і зниженням потреби організму тварин лінії SHR в підвищеному вмісті Е (табл. 5.4).

На 7 та 30 добу після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК також, як і при самостійному введенні кЯВК КК, мало місце статистично значуще

зменшення рівня гіпоксії і поліпшення постачання органів і тканин експериментальних тварин киснем (табл. 5.4).

Таблиця 5.4

Динаміка змін деяких гемореологічних показників спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з гіпертензивною формою дисциркуляторної енцефалопатії на 7 та 30 добу після рКЦГ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування

Групи	Гемореологічні показники			
	Кількість Е в 1мл ПК (10^9)	Гематокрит, %	В'язкість ПК	РПК, ср. k
1 – SHR (контроль)	6,2±0,3	43,3±1,8	6,7±0,2	6,5
2 – SHR+рКЦГ (7 доба)	5,8±0,4	40,1±2,1	5,9±0,5	6,8
3 – SHR+рКЦГ (30 доба)	6,5±0,4	41,9±2,4	6,6±0,4	6,3
4 – SHR+кЯВК КК (7 доба)	7,4±0,3 ¹	46,6±3,6	6,0±0,3 ¹	7,8 ¹
5 – SHR+кЯВК КК (30 доба)	6,1±0,5 ²	42,9±4,1	5,8±0,2 ¹	7,4 ¹
6 – SHR+рКЦГ+ кЯВК КК (7 доба)	7,7±0,5 ¹	43,6±2,8	5,7±0,4 ¹	7,6 ¹
7 – SHR+рКЦГ +кЯВК КК (30 доба)	6,4±0,4 ³	42,7±3,1	5,8±0,3	7,4 ¹

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів;

² – статистично значущі відмінності між 4 та 5 групами щурів; ³ – статистично значущі відмінності між 6 та 7 групами щурів ($p<0,05$).

На 7 добу після проведення рКЦГ щурам лінії SHR число дискоцитів в ПК значуще знижувалося, а сфероцитів і стоматоцитів збільшувалося в порівнянні з контрольною групою SHR (табл. 5.5). На 30 добу після рКЦГ розподіл еритроцитів за ІС наближався до контрольних показників, за винятком сплосчених

дегенеративних форм дискоцитів, кількість яких в популяції червоних кров'яних клітин статистично значуще зменшувалася (табл. 5.5).

Таблиця 5.5

Співвідношення форм еритроцитів за індексом сферичності у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з гіпертензивною формою дисциркуляторної енцефалопатії на 7 та 30 добу після рКЦГ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування

Групи	Індекс сферичності			
	1–1,3	1,3–1,7	1,7–2,1	2,1–3,1
1 – SHR (контроль)	8,98±2,29	32,48±3,48	42,97±1,15	15,58±4,16
2 – SHR+рКЦГ (7 доба)	20,16±7,02 ¹	55,07±7,69 ¹	30,20±6,08 ¹	3,60±2,01 ¹
3 – SHR+рКЦГ (30 доба)	14,8±4,55	45,26±3,23 ²	35,34±8,12	4,60±1,86 ²
4 – SHR+кЯВК КК (7 доба)	9,05±4,32	37,02±6,43	41,82±8,00	12,11±2,72
5 – SHR+кЯВК КК (30 доба)	7,12±2,77	34,58±10,11	45,43±3,45	12,87±5,65
6 – SHR+рКЦГ+кЯВК КК (7 доба)	7,54±4,23	37,78±3,34	40,23±4,55	14,45±6,34
7 – SHR+рКЦГ+кЯВК КК (30 доба)	9,48±3,58	34,21±7,52	48,02±7,25	8,29±1,01

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів;

² – статистично значущі відмінності між 2 та 3 групами щурів (p<0,05).

Оскільки клітинна суспензія КК має імунно- та гемомодулюючі властивості [26, 133, 134, 410], ми припустили, що введення кЯВК КК буде сприяти нормалізації процесу розподілу клітин Е за ІС до рівня нормотензивного контролю.

Однак на 7 та 30 добу після застосування кЯВК КК співвідношення форм Е гіпертензивних щурів лінії SHR не змінювалося (табл. 5.5) що, ймовірно, можна пояснити відносною стабільністю досліджуваного показника, закріпленого на генетичному рівні для даної лінії тварин.

Поєднане використання рКЦГ і кЯВК КК також істотно не впливало на показники розподілу Е по їх формі як на 7, так і на 30 добу після їх застосування (табл. 5.5).

5.3 Зміни гемореологічних показників спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з дисциркуляторною енцефалопатією змішаного генезу на тлі самостійного і поєднаного застосування ритмічної краніоцеребральної гіпотермії і кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові

На відміну від спонтанно гіпертензивних щурів SHR, у алкоголізованих тварин цієї ж лінії відзначалися більш виражені реакції на ритмічне церебральне охолодження. Так, через 7 діб після проведення рКЦГ у них статистично значуще зменшувалася в'язкість ПК і зростав коефіцієнт k . На 30 добу спостереження всі досліджувані показники гемореології значуще не відрізнялися від контролю (табл. 5.6).

На 7 і 30 добу після введення щурам лінії SHR з ХАІ кЯВК КК мало місце статистично значуще збільшення кількості Е в ПК, показників гематокриту і коефіцієнта k , що характеризує рівень постачання кисню до тканин (табл. 5.6). У порівнянні з самостійним застосуванням кЯВК КК, на 7 і 30 добу після поєднаного використання рКЦГ і кЯВК КК показник коефіцієнта k зростав на 19 і 9% відповідно (табл. 5.6). Отримані експериментальні дані свідчили про зменшення рівня гіпоксії і поліпшення постачання органів і тканин спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з ХАІ киснем.

Таблиця 5.6

Динаміка змін деяких гемореологічних показників спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR зі змішаною формою дисциркуляторної енцефалопатії на 7 та 30 добу після рКЦГ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування

Групи	Гемореологічні показники			
	Кількість Е в 1мл ПК (10^9)	Гематокрит, %	В'язкість ПК	РПК, ср. k
1 – SHR+ХАІ (контроль)	$4,8 \pm 0,2$	$34,4 \pm 2,5$	$6,8 \pm 0,4$	5,1
2 – SHR+ХАІ+рКЦГ (7 доба)	$4,1 \pm 0,5$	$33,6 \pm 3,2$	$5,3 \pm 0,3^1$	$6,3^1$
3 – SHR+ХАІ+рКЦГ (30 доба)	$5,2 \pm 0,3^2$	$37,6 \pm 2,9$	$6,5 \pm 0,4^2$	$5,8^2$
4 – SHR+ХАІ+кЯВК КК (7 доба)	$6,8 \pm 0,4^1$	$43,8 \pm 2,3^1$	$7,0 \pm 0,4$	$6,3^1$
5 – SHR+ХАІ+кЯВК КК (30 доба)	$6,5 \pm 0,5^1$	$47,3 \pm 3,1^1$	$7,2 \pm 0,3$	$6,6^1$
6 – SHR+ХАІ+рКЦГ+кЯВК КК (7 доба)	$6,3 \pm 0,4^1$	$45,8 \pm 1,9$	$6,1 \pm 0,3$	$7,5^1$
7 – SHR+ХАІ+рКЦГ+кЯВК КК (30 доба)	$6,2 \pm 0,4^1$	$42,9 \pm 2,8$	$5,9 \pm 0,5$	$7,2^1$

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів;

² – статистично значущі відмінності між 2 та 3 групами щурів ($p < 0,05$).

Дії різних факторів, як ендогенних, так і екзогенних, можуть призводити до змін морфофункціональних властивостей Е. Ці зміни можуть виражатися в двох видах трансформації: в утворенні виростів клітинної мембрани і формуванні інвагінацій мембрани клітини. Перший вид трансформації називається ехіноцитарним, другий – стоматоцитарним [398].

Результати досліджень, що були проведені в ІПКіК НАН України, свідчать про структурно-функціональні зміни в мембранах Е при стресі та патології [410, 411]. Під впливом КЦГ також відбуваються зміни в мембрані Е [411], однією з

причин яких можливе зниження в ній концентрації неестерифіцированих жирних кислот, фосфоліпідів, холестерину, АТФ, магнію і підвищення концентрації кальцію [412]. З іншого боку, гострий холодової стрес, до якого можна віднести рКЦГ, викликає гормональні зрушення, наслідком яких є збільшення концентрації тригліцеридів і холестерину в сироватці крові. Зміна біохімічного складу сироватки не може не відбиватися на структурно-функціональних характеристиках Е – основній мішені дії хімічних сполук, що накопичуються в судинному руслі. Це обумовлено, по-перше, високим вмістом Е в ПК в порівнянні з іншими клітинами, а по-друге, підвищеною лабільністю мембран Е, що пов'язано з виходом зрілих клітин, позбавлених ядра, з під генетичного контролю [413]. З огляду на вищевикладене можна припустити, що рКЦГ впливає на поверхнево-об'ємне співвідношення клітин Е.

На 7 і 30 добу після проведення рКЦГ щурам зі змішаною формою ДЕ (обтяженої ХАІ), на відміну від тварин з гіпертензивною ДЕ, змін поверхнево-об'ємних співвідношень в популяції Е не виявлялося. Через 7 діб після введення кЯВК КК статистично значуще підвищувалася процентна кількість дискоцитів, при цьому істотно знижувалося число перехідних форм Е (стоматоцитів). На 30 добу спостерігалось незначне збільшення кількості двояковогнутих дискоцитів (табл. 5.7).

На 7 і 30 добу після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК статистично значуще підвищувався відсоток клітин з ІС в межах (1,7–2,1) (дискоцитів), що свідчило про оздоровлення популяції Е, зменшувалася кількість сфероцитів (еритроцитів в кінцевій стадії їх трансформації). При цьому істотних змін в кількості клітин з індексом сферичності (1,3–1,7) зафіксовано не було (табл. 5.7).

Таким чином, у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR, в порівнянні з нормотензивними тваринами, значуще збільшувалася кількість циркулюючих Е, в'язкість периферичної крові, показники гематокриту, кількість дегенеративних еритроцитів (сплоснених форм) і сфероцитів на тлі зниження РПК до тканин. ХАІ протягом 9 місяців призводила до статистично значущого (в порівнянні з щурами SHR без ХАІ) зменшення кількості Е периферичної крові, в'язкості крові,

показників гематокриту, РПК до тканин, і числа нормальних дискоцитів при підвищенні кількості Е сфероїдної форми. Крім того, Е щурів SHR з гіпертензивною формою ДЕ виявилися більш стійкими до осмотичних навантажень в порівнянні з Е тварин з ДЕ змішаного генезу, які мали підвищену осмотичну крихкість.

Таблиця 5.7

Співвідношення форм еритроцитів за індексом сферичності у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR зі змішаною формою дисциркуляторної енцефалопатії на 7 та 30 добу після рКЦГ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування

Групи	Індекс сферичності			
	1–1,3	1,3–1,7	1,7–2,1	2,1–3,1
1 – SHR+ХАІ (контроль)	12,00±2,10	54,20±6,18	30,20±6,08	3,60±2,01
2 – SHR+ХАІ+рКЦГ (7 доба)	8,60±4,11	56,89±4,32	30,42±2,39	4,09±1,94
3 – SHR+ХАІ+рКЦГ (30 доба)	9,78±3,12	51,76±4,44	34,48±3,56	3,98±1,56
4 – SHR+ХАІ+кЯВК КК (7 доба)	10,29±6,33	40,34±3,13 ¹	45,76±5,12 ¹	3,61±2,12
5 – SHR+ХАІ+кЯВК КК (30 доба)	7,89±2,45	44,61±4,75	42,34±7,12	5,16±2,34
6 – SHR+ХАІ+рКЦГ+ кЯВК КК (7 доба)	3,57±1,78 ¹	49,44±5,76	44,87±2,13 ¹	2,12±0,54
7 – SHR+ХАІ+рКЦГ+ кЯВК КК (30 доба)	5,3±1,01 ¹	46,13±6,37	44,12±5,43 ¹	3,45±0,71

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів ($p < 0,05$).

У тварин з гіпертензивною формою ДЕ рКЦГ не впливала на основні гемореологічні показники крові (кількість Е, в'язкість, гематокрит), а у щурів з ДЕ обтяженої ХАІ підвищувала РПК до тканин на 7 добу після застосування (на 23%).

Введення кЯВК КК щурам лінії SHR, не залежно від типу ДЕ, в усі терміни експериментальних досліджень супроводжувалося значним збільшенням коефіцієнта, що характеризує рівень постачання кисню до тканин.

У спонтанно гіпертензивних тварин, не залежно від типу ДЕ, поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК сприяло статистично значущому зниженню рівня гіпоксії і поліпшенню постачання органів і тканин киснем в усі терміни досліджень (в середньому на 15% для щурів групи SHR і на 43% для групи SHR з ХАІ).

За матеріалами розділу 5 опубліковано роботи [414–416].

РОЗДІЛ 6

ОСОБЛИВОСТІ СТАНУ ВЕГЕТАТИВНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ СЕРЦЕВОГО РИТМУ У СПОНТАННО ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ЛІНІЇ SHR З РІЗНИМИ ФОРМАМИ ДИСЦИРКУЛЯТОРНОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ ПІСЛЯ РИТМІЧНОЇ КРАНІОЦЕРЕБРАЛЬНОЇ ГІПОТЕРМІЇ, ВВЕДЕННЯ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ТА ЇХ КОМБІНОВАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ

В умовах розвитку патологічного процесу, при вже сформованих особливостях або стійких змінах органів і систем організму, необхідна оцінка стану функціональної напруги адаптаційно-компенсаторних і регуляторних реакцій з боку ЦНС і серцево-судинної систем (ССС), відповідальних за підтримання гомеостазу. Взаємозамінність і взаємокомпенсація всередині даних функціональних систем при розвитку патологічного процесу і наступних терапевтичних діях дозволяють створювати в організмі умови для забезпечення кінцевого пристосувального результату. Особливого значення набуває функціональний стан цих систем і їх вплив на формування регуляторних процесів і впливів на периферичні органи і системи в умовах судинної (гіпертензивної) і токсичної (алкогольної) ДЕ. У модельних експериментах хронічна АГ і ХАІ об'єднані в широке психоемоційне, соматовегетативне, судинне і ендокринне коло порушень. Безумовне домінування в ЦНС кори ГМ, гіпоталамічних і лімбічних структур, що впливають на спрямованість нейромедіаторних процесів, нейроендокринних реакцій і формування регуляторних реакцій при енцефалопатії, визначає доцільність вибору спрямованості терапевтичного впливу.

Як показали раніше проведені в ІПКіК НАН України дослідження [10-12, 17, 18, 47], перспективним і терапевтично ефективним напрямком є застосування різних видів холодових впливів, що дозволяють направлено змінювати проникливість гістогематичних бар'єрів, коригувати вегетативну регуляцію

периферичних процесів, активно впливати на нейромедіаторні системи. При ритмічній гіпотермії, яка є сенсорним і систематично діючим подразником, відбуваються певні зміни в терморегуляторних системах ГМ. Показано [10-12, 17, 18], що при ритмічних холодкових впливах протікання реакцій в центральних нейротрансмітерних системах (з метою реалізації процесів адаптації, участі в терморегуляторних реакціях і загальних механізмах підтримки цілісного гомеостазу) забезпечується фізіологічно адекватною (селективною) проникністю ГЕБ, яка визначає перехід фізіологічно необхідних речовин і їх надходження в клітини мозку.

У поєднанні з використанням КК, можливий розвиток трьох напрямків впливу на стійкий патологічний стан: 1 – зниження активності сформованого стійкого патологічного компенсаторно-гіперактивного стану функціональних систем і структур ГМ; 2 – модифікація нейротрансмітерних систем і їх адаптивна перебудова за рахунок активації резервів ГМ; 3 – спрямоване адаптивне біоуправління з використанням методів впливу, реалізація механізмів яких схожа з тими, які сам мозок використовує для адаптації і захисту.

ССС володіє багаторівневою регуляцією з наявністю власної самокеруючої і саморегулюючої підсистеми, а також зовнішньої керуючої та узгоджувальної ланки. За даними Р.М. Баєвського [309], до керуючої ланки відносять ЦНС, вегетативну регуляцію та ендокринну систему. До узгоджувальної ланки регуляції відносять, в першу чергу, судинну і всі вісцеральні системи. Кінцевим результатом діяльності ССС є забезпечення необхідного рівня функціонування всіх систем з метою підтримки гомеостазу.

Інформаційні зміни у функціонуванні ССС виявляються на всіх стадіях розвитку патології. Простежити динаміку змін інформаційних показників ССС дозволяє оцінка вегетативної складової в загальному ланцюжку регуляторних впливів [309, 417, 418]. Відображаючи в своїй діяльності активність кіркових систем і кірково-підкіркових взаємовідносин в ЦНС, структурно-функціональна організація вегетативної нервової системи (ВНС) визначає процес інтегрування ряду функцій організму через поведінкові реакції і вплив на периферичні органи і

системи, що обумовлюють характер спрямованості оптимальних адаптаційних реакцій.

Регулюючий вплив ВНС на систему кровообігу здійснюється через симпатичний і парасимпатичний відділи. Симпатичний відділ ВНС активує діяльність серця, парасимпатичний – пригнічує. Є тісний зв'язок між змінами вегетативної регуляції серцевого ритму і розвитком серцево-судинних захворювань. Одну з ключових ролей в патогенезі АГ, ішемічної хвороби серця, виникнення аритмій відіграє стійке підвищення тону симпатичного відділу ВНС. Однак питання, чи є збільшення симпатичної активності первинним або вторинним фактором виникнення АГ, залишається відкритим.

6.1 Порівняльна характеристика стану вегетативної регуляції серцевого ритму у нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами дисциркуляторної енцефалопатії

Найбільш інформативним неінвазивним методом кількісної оцінки вегетативної регуляції серцевого ритму є визначення варіабельності серцевого ритму (ВСР) – мінливості тривалості інтервалів R-R, послідовних циклів серцевих скорочень за певні проміжки часу. Аналіз ВСР дозволяє, на основі коливань математичних значень фізіологічних параметрів серцевого ритму, оцінити діяльність різних ланцюгів системи управління по каналах прямого і зворотного зв'язку.

У стані спокою (норми або вихідному) варіації кардіоінтервалів являють собою налаштування механізмів контролю серцебиття до характеру діяльності керуючих систем. При цьому в умовах проведеного експерименту у білих безпородних щурів (нормотензивний контроль) характер вегетативної регуляції ритму серця можна було оцінити як стан вегетативної ейтонії з оптимальним рівнем симпатичної активності. В такому стані вегетативна регуляції на міжсистемному рівні регуляції периферичних органів і систем більш чутлива до

зниження активності парасимпатичного відділу, ніж симпатичного, зберігаючи резерв для розвитку компенсаторних реакцій.

У спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR зазначалось зміщення показників ВСР в бік посилення симпатичного контуру вегетативної регуляції, що підтверджувалося статистично значущими змінами показників моди (Мо) і амплітуди моди (АМо). Значуще підвищення показників адекватності процесів регуляції (ПАПР) і індексу централізації (ІЦ) імовірно обумовлено зростанням впливу надсегментарного рівня регуляції на ритм серця (табл. 6.1), який відображає церебральні ерготропні впливи на периферичні нижче розташовані рівні.

Аналіз хвильової структури серцевого ритму показав, що у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR значення загальної потужності спектра нейрогуморальної регуляції (ТР) статистично значуще збільшувалися (більш ніж в 2 рази) в порівнянні з нормотензивним контролем за рахунок підвищення тону вегетативних центрів, причому симпатичні впливи на міокард переважали над парасимпатичними (рис. 6.1). На спектрограмі це проявлялося збільшенням питомої ваги низько і високочастотних хвиль (LF і HF-хвилі). У тварин SHR також мала місце тенденція до незначного підвищення активності гуморально-метаболічної ланки регуляції (VLF-компонент).

Таблиця 6.1

Показники варіаційної пульсометрії у нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами дисциркуляторної енцефалопатії

Групи щурів	Показники варіаційної пульсометрії				
	АМо	Мо	ПАПР	ІВР	ІЦ
1– нормотензивні	88,4±2,4	0,172±0,01	514±21	0,415±0,14	0,17±0,02
2 – SHR	94,8±2,2 ¹	0,127±0,03 ¹	746±16 ¹	0,421±0,07	6,51±0,11 ¹
3 – SHR + ХАІ	67,5±0,5 ^{1,2}	0,14±0,03 ^{1,2}	482±40 ²	2,32±0,12 ^{1,2}	0,428±0,04 ^{1,2}

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів;

² – статистично значущі відмінності між 2 і 3 групою щурів (p<0,05).

Таким чином, у щурів SHR виявлялися зміни вегетативного балансу, що виражались в низькій синхронізації регуляторних складових і зростанні симпатичної ланки регуляції. Отримані в ході аналізу ВСР експериментальні дані ймовірно свідчать про зниження рівня нейрогуморальної регуляції і наявності явищ перенапруження і астенізації в регуляторних відділах ЦНС у тварин з гіпертензивною формою ДЕ.

Тривала алкоголізація спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR супроводжувалася значними змінами показників ВСР (в порівнянні з нормотензивним контролем і тваринами SHR без ХАІ). На спектрограмі зазначалося статистично значуще зниження ТР, в результаті зменшення тону як симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС, так і гуморально-метаболічної ланки регуляції, при цьому в структурі спектра переважала активність гуморальної ланки (рис. 6.1). Крім того, на тлі нормотензивних і спонтанно гіпертензивних тварин без ХАІ значуще зростає (майже в 5 разів) показник ІВР. При цьому показники АМо і ПАПР статистично значуще знижувалися щодо контрольних щурів SHR (табл. 6.1).

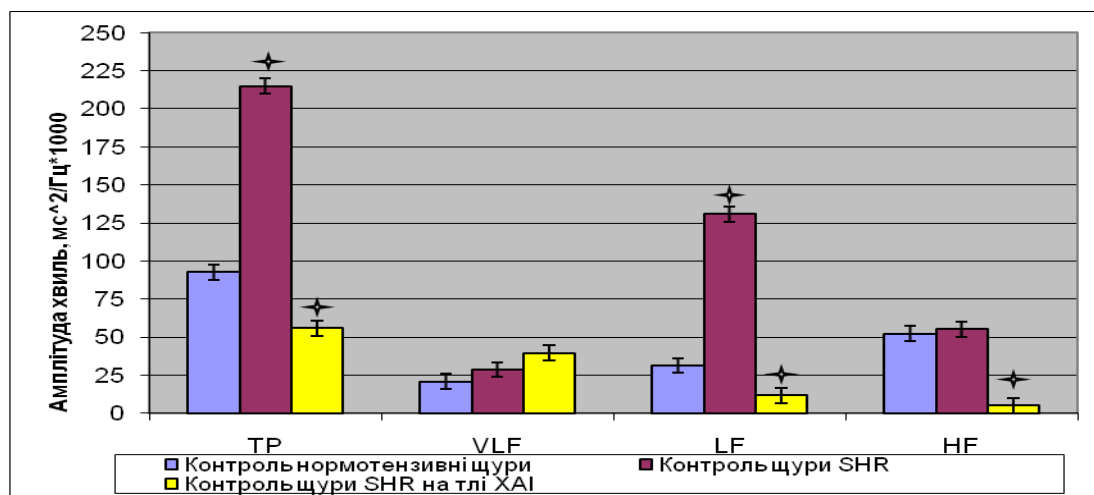


Рис. 6.1. Показники спектрального аналізу ВСР у нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами дисциркуляторної енцефалопатії.

Таким чином, у щурів лінії SHR з ДЕ змішаного генезу в процесі ХАІ симпатичні впливи на пейсмекерну активність синусового вузла поступово слабшають, поступаючи місцем церебральним ерготропним і гуморально-

метаболічним модуляціям. Представлені результати дослідження ВСР дозволяють припустити, що тривала алкоголізація спонтанно гіпертензивних тварин сприяючи виснаженню тонуусу симпато-адреналової системи, призводить до того, що вегетативне забезпечення серцевої діяльності більшою мірою здійснюється за рахунок переходу процесу регуляції на повільний, але більш стабільний, гуморально-метаболічний рівень.

Таблиця 6.2

Показники артеріального тиску у нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами дисциркуляторної енцефалопатії

Групи щурів	Показники АТ, мм рт.ст.	
	САТ	ДАТ
1 – нормотензивні	126,6±3,0	94,7±2,6
2 – SHR	221,1±6,4 ¹	129,2±4,2 ¹
3 – SHR + XAI	247,5±2,5 ^{1,2}	129±5,4 ¹

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів;

² – статистично значущі відмінності між 2 і 3 групою щурів ($p < 0,05$).

Розвиток вегетативної дисфункції у щурів з гіпертензивною і змішаною формами ДЕ супроводжувався значущим, в порівнянні з нормотензивним контролем, підвищенням АТ. Так у тварин SHR показники систолічного АТ складала (221,1 ± 6,4) мм.рт.ст., а у щурів SHR на тлі XAI (247,5 ± 2,5) мм.рт.ст (табл. 6.2).

6.2 Вплив ритмічної краніоцеребральної гіпотермії, кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові і їх комбінації на стан вегетативної регуляції серцевого ритму спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з гіпертензивною дисциркуляторною енцефалопатією

Метод рКЦГ дозволяє управляти процесом охолодження зі стабілізацією температури тіла на потрібному рівні. При впливі на меншу площу (в даному

випадку прилеглі кіркові структури), досягається швидке зниження активності нервових центрів, контролюючих терморегуляцію і вегетативні функції. При аналізі реакцій функціональних систем на рКЦГ необхідно враховувати особливості функціонування ГМ в умовах хронічної недостатності кровопостачання при ДЕ, що впливає на формування і активність центральних регуляторних механізмів стрес-реакцій.

Для щурів лінії SHR несприятливим фактором після застосування рКЦГ було переважання збудливих контурів. При цьому погіршувалася загальна стійкість регуляторних і регульованих систем, порушувалася вегетативна рівновага і адекватність процесів регуляції, посилювалася напруга регуляторних систем підкіркових центрів, інгібувався автономний контур регуляції серцевого ритму. Відбувалося зниження компенсаторних можливостей.

На 7 добу після проведення рКЦГ у тварин з гіпертензивною формою ДЕ спостерігалось статистично значуще зменшення показників АМо і ПАПР, що свідчило про зниження не тільки мобілізуючого ефекту симпатичної ланки регуляції, але і на недостатній або низький рівень централізації управління ритмом серця. На 30 добу після рКЦГ зберігався низький рівень симпатичних впливів, збільшувався показник ІВР, що відображає збалансованість вагосимпатичних взаємин, а також значуще зменшувався ІЦ (табл. 6.3).

За даними спектрального аналізу ВСР у щурів з гіпертензивною формою ДЕ на 7 і 30 добу після використання рКЦГ встановлено прогресуюче зниження значень ТР в основному за рахунок симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС (рис. 6.2). Згладжування компенсованого порушення еферентної вагусної активності зі зниженням еферентної симпатичної активності через 30 діб після рКЦГ вказувало на виснаження адаптаційно-компенсаторних можливостей організму тварин лінії SHR внаслідок розвитку хронічної ішемії при ДЕ.

На 7 та 30 добу після введення спонтанно гіпертензивним щурам SHR кЯВК КК зазначалась статистично значуща зміна таких показників варіаційної пульсометрії, як ІВР і ІЦ (табл. 6.3). При цьому на 7 добу після введення кЯВК КК показники АМо, Мо і ПАПР значуще не змінювалися. Зменшення значень ІЦ

практично в 7 разів, а також підвищення показника ІВР свідчить про те, що вагусна активність знаходиться під тонічним стримуючим впливом афферентної кардіальної симпатичної активності.

Таблиця 6.3

Показники варіаційної пульсометрії у щурів лінії SHR з гіпертензивною формою дисциркуляторної енцефалопатії на 7 і 30 добу після рКЦГ, введення кЯВК КК та їх поєднаного застосування

Групи щурів	Показники варіаційної пульсометрії				
	АМо	Мо	ПАПР	ІВР	ІЦ
1 – SHR (контроль)	94,8±2,2	0,127±0,03	746±16	0,421±0,07	6,51±0,11
2 – SHR+рКЦГ (7 доба)	52,3±0,33 ¹	0,131±0,02	399±21 ¹	0,311±0,07	7,26±0,11 ¹
3 – SHR+рКЦГ (30 доба)	52,2±2,4 ¹	0,118±0,036 ^{1,2}	442±26 ¹	1,55±0,07 ^{1,2}	1,28±0,13 ^{1,2}
4 – SHR+кЯВК КК (7 доба)	96,7±4,3	0,13±0,01	773±46	0,90±0,03 ¹	0,93±0,02 ¹
5 – SHR+кЯВК КК (30 доба)	86,5±4,1 ^{1,4}	0,12±0,03	739±26	0,69±0,06 ^{1,4}	0,59±0,01 ^{1,4}
6 – SHR+рКЦГ+кЯВК КК (7 доба)	95,7±2,1	0,12±0,03	790±30	0,44±0,02	3,78±0,02 ¹
7 – SHR+рКЦГ+кЯВК КК (30 доба)	77,3±2,2 ^{1,6}	0,15±0,01	533±53 ^{1,6}	0,39±0,06	4,83±0,03 ^{1,6}

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів;

² – статистично значущі відмінності між 2 і 3 групою щурів; ⁴ – статистично значущі відмінності між 4 і 5 групою щурів; ⁶ – статистично значущі відмінності між 6 і 7 групою щурів ($p < 0,05$).

При спектральному аналізі ВСР у тварин з гіпертензивною формою ДЕ на 7 добу після введення кЯВК КК встановлено різке збільшення (більше ніж в 2,5 рази) ТР в результаті підвищення тону як вегетативних центрів, так і гуморально-метаболічної ланки регуляції (рис. 6.2). Відбувалася активація трофотропної і ерготропної функцій ВНС, що проявлялося в направленій зміні діяльності органу (робота серця), що володіє автоматизмом.

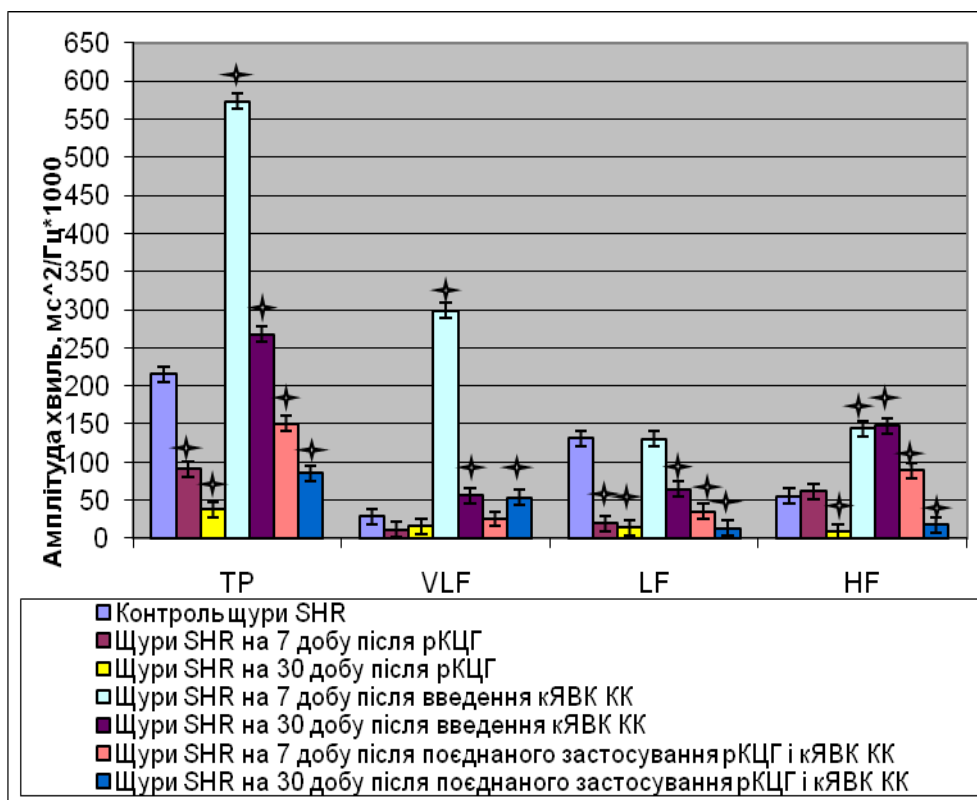


Рис. 6.2. Показники спектрального аналізу ВСР у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR на 7 і 30 добу після рКЦГ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування.

Іннервація різних відділів серця неоднорідна і несиметрична, що визначається його анатомо-фізіологічною організацією. Наприклад, при подразненні правого блукаючого нерва більш виражений негативний хронотропний ефект (уповільнення ЧСС), а при стимуляції лівого – негативний дромотропний (уповільнення атріовентрикулярного проведення). Асиметрія присутня і в симпатичній іннервації серця. Симпатичні нерви правого боку зазвичай іннервують передню поверхню шлуночків і в більшій мірі синусовий вузол, а лівої – задню поверхню шлуночків і атріовентрикулярний вузол.

Наявність асиметрії в симпатичній і парасимпатичній іннервації серця може визначати особливість його функціонування при стресових навантаженнях і дії БАР. Особливо демонстративно ефект введення кЯВК КК був відображений в найповільнішій системі регуляції, яка здійснюється гуморально-метаболічною системою. У нашому випадку введення кЯВК КК викликало різке збільшення питомої ваги VLF хвиль (в 12 разів) (рис. 6.2).

На 30 добу після введення кЯВК КК спостерігалось зниження ТР більшою мірою за рахунок зменшення тонуусу ВНС (рис. 6.2). Таким чином, зниження рівня вегетативних симпато-парасимпатичних впливів і активності центрального контуру супроводжувалося переважанням гуморально-метаболічної ланки регуляції.

У щурів з гіпертензивною формою ДЕ на 7 добу після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК мало місце подібна динаміка змін показників варіаційної пульсометрії, як і у тварин на тлі введення кЯВК КК (табл. 6.3). У той же час характер змін даних показників після комбінованого використання рКЦГ і кЯВК КК істотно відрізнявся від таких отриманих після застосування рКЦГ як самостійного терапевтичного методу. При спектральному аналізі ВСР встановлено, що значення загальної потужності спектра нейрогуморальної регуляції знижувалися в порівнянні з контролем, завдяки зменшенню активності симпатичного відділу ВНС. На спектрограмі це підтверджувалося зниженням питомої ваги LF-хвиль (на 20%) (рис. 6.2).

Отримані експериментальні дані дозволили припустити, що у щурів з гіпертензивною формою ДЕ поєднане застосування методів рКЦГ і введення кЯВК КК сприяє підвищенню адаптаційно-компенсаторних процесів зі збалансованістю ваго-симпатичних взаємин і гуморально-метаболічних факторів регуляції.

У тварин з гіпертензивною ДЕ на 30 добу після поєднаного використання рКЦГ і кЯВК КК виявлялося зниження симпатикотонічних впливів на вірогідну складову функціонування синусового вузла. Статистично значуще, в порівнянні з контролем, збільшувалися показники Мо, зменшувалися АМо, ПАПР (на 28,6%) і ІВР (на 7,4%) (табл. 6.3). Зниження загальної потужності спектра нейрогуморальної регуляції (більш ніж на 30% в порівнянні з 7 добою) відбувалося за рахунок зменшення тонуусу парасимпатичного відділу ВНС (рис. 6.2).

Таким чином, на 7 добу після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК у щурів з гіпертензивною формою ДЕ значно зростали адаптаційно-компенсаторні

можливості організму, які знижувалися до 30 доби, однак зберігалися на більш високому рівні, в порівнянні з самотійним використанням даних методів.

Показники АТ відображають загальну тенденцію активності регуляторних впливів ВНС, що проявляється у зниженні тиску. Отримані в ході аналізу ВСР дані узгоджувалися з динамікою змін цифр АТ (табл. 6.4). На 7 добу після самотійного проведення рКЦГ і введення кЯВК КК у щурів з гіпертензивною ДЕ зазначалося статистично значуще зниження показників АТ, в порівнянні з контрольними спонтанно гіпертензивними тваринами лінії SHR, які, однак, не досягали цифр нормотензивного контролю. На 30 добу показники систолічного АТ (на відміну від діастолічного) значуще не відрізнялися від контрольних значень щурів SHR (табл. 6.4). На тлі поєднаного використання рКЦГ і кЯВК КК, на відміну від їх самотійного застосування, спостерігалось статистично значуще зменшення цифр систолічного і діастолічного АТ (табл. 6.4).

Таблиця 6.4

Показники артеріального тиску у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з гіпертензивною формою дисциркуляторної енцефалопатії після рКЦГ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування

Групи щурів	Показники АТ, мм рт.ст.	
	САТ	ДАТ
1 – SHR (контроль)	221,1±6,4	129,2±4,2
2 – SHR+рКЦГ (7 доба)	200,5±5,1 ¹	90,0±3,1 ¹
3 – SHR+рКЦГ (30 доба)	215,0±5,1 ²	115,0±2,6 ^{1,2}
4 – SHR+кЯВК КК (7 доба)	210,0±4,9 ¹	100,1±3,0 ¹
5 – SHR+кЯВК КК (30 доба)	215,1±5,3	95,0±1,9 ¹
6 – SHR+рКЦГ+ кЯВК КК (7 доба)	195,3±2,2 ¹	95,0±1,1 ¹
7 – SHR+рКЦГ+кЯВК КК (30 доба)	200,0±3,4 ¹	95,1±2,6 ¹

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів;

² – статистично значущі відмінності між 2 і 3 групою щурів (p < 0,05).

6.3 Вплив ритмічної краніocereбральної гіпотермії, кріоконсервованих ядромісних клітин кордової крові і їх комбінації на стан вегетативної регуляції серцевого ритму спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з дисциркуляторною енцефалопатією змішаного генезу

При аналізі даних варіаційної пульсометрії у спонтанно гіпертензивних щурів з ДЕ змішаного генезу на 7 і 30 добу після рКЦГ виявлялися зміни основних показників в порівнянні з тваринами з гіпертензивною ДЕ. Статистично значуще підвищувалися показники АМо, ПАПР і ІЦ на тлі зниження ІВР (більш ніж в 2 рази). При цьому показник Мо значуще не змінювався (табл. 6.5).

В ході аналізу хвильової структури серцевого ритму у спонтанно гіпертензивних щурів зі змішаною формою ДЕ встановлено, що на 7 добу після рКЦГ значення ТР статистично значуще не відрізнялися від показників контрольних тварин SHR з ХАІ. При цьому в структурі спектра достовірно зменшувалася (на 25%) активність гуморально-метаболічної ланки регуляції (VLF-компонент), а тонус парасимпатичного відділу ВНС (HF-компонент) збільшувався в 2 рази (рис. 6.3). Слід зазначити, що рівень симпатичних впливів на міокард (LF-компонент) не змінювався. На 30 добу після рКЦГ рівень ТР знижувався, перш за все в результаті зменшення активності гуморальної ланки регуляції (в 8 разів), в той час як активність ВНС статистично значуще зростала (рис. 6.3).

Аналіз отриманих результатів дозволяє припустити, що у щурів лінії SHR з ХАІ, рКЦГ надавала стимулюючий вплив на діяльність вегетативних центрів тим самим сприяючи збереженню контролю центрального контуру регуляції серцевого ритму.

На 7 і 30 добу після введення щурам SHR з ХАІ кЯВК КК спостерігалася статистично значуще зниження показників АМо і ІВР, що свідчило про зменшення симпатичних і збільшення парасимпатичних впливів на динаміку серцевого ритму. Незважаючи на істотне збільшення ІЦ (в 3 рази), рівень

стабілізуючого ефекту центральних впливів на функціонування синусового вузла відбувався на тлі вирівнювання симпато-вагусних взаємин (табл. 6.5).

Таблиця 6.5

Показники варіаційної пульсометрії у щурів лінії SHR зі змішаною формою дисциркуляторної енцефалопатії на 7 і 30 добу після рКЦГ, введення кЯВК КК та їх поєднаного застосування

Групи щурів	Показники варіаційної пульсометрії				
	АМо	Мо	ПАПР	ІВР	ІЦ
1 – SHR+ХАІ (контроль)	67,5±0,5	0,14±0,03	482±40	2,32±0,12	0,43±0,04
2 – SHR+ХАІ+рКЦГ (7 доба)	91,4±2,2 ¹	0,11±0,01	810±40 ¹	0,92±0,06 ¹	0,91±0,01 ¹
3 – SHR+ХАІ+рКЦГ (30 доба)	98,0±4,0 ^{1,2}	0,11±0,003	867±53 ¹	0,94±0,04 ¹	11,21±2,40 ^{1,2}
4 – SHR+ХАІ+кЯВК КК (7 доба)	55,4±2,4 ¹	0,12±0,01	457±24	1,29±0,03 ¹	1,32±0,04 ¹
5 – SHR+ХАІ+кЯВК КК (30 доба)	61,0±2,3 ^{1,4}	0,13±0,01	248±18 ^{1,4}	1,16±0,04 ^{1,4}	1,26±0,06 ¹
6 – SHR+ХАІ+рКЦГ+кЯВК КК (7 доба)	86,7±4,3 ¹	0,11±0,01	767±41 ¹	0,79±0,01 ¹	0,24±0,02 ¹
7 – SHR+ХАІ+рКЦГ+кЯВК КК (30 доба)	99,2±2,4 ^{1,6}	0,11±0,01	885±50 ^{1,6}	1,25±0,05 ^{1,6}	0,68±0,02 ^{1,6}

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів;

² – статистично значущі відмінності між 2 і 3 групою щурів; ⁴ – статистично значущі відмінності між 4 і 5 групою щурів; ⁶ – статистично значущі відмінності між 6 і 7 групою щурів (p < 0,05).

Згідно з даними спектрального аналізу ВСР показано, що на 7 і 30 добу після введення спонтанно гіпертензивним тваринам з ДЕ змішаного генезу кЯВК КК рівень ТР істотно зростав (більш ніж на 90%) щодо показників контролю (щери SHR з ХАІ). Зростання ТР було результатом збалансованої активації симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС і в меншій мірі гуморально-метаболическої ланки регуляції (рис. 6.3). Оскільки ХАІ супроводжується токсичним ураженням всіх регульованих систем, можна припустити, що введення

кЯВК КК сприяє компенсації порушених функцій органів і систем експериментальних тварин, що відображається в розвитку прямих і зворотних функціональних міжсистемних реакцій біологічної системи в умовах багатфакторної патології.

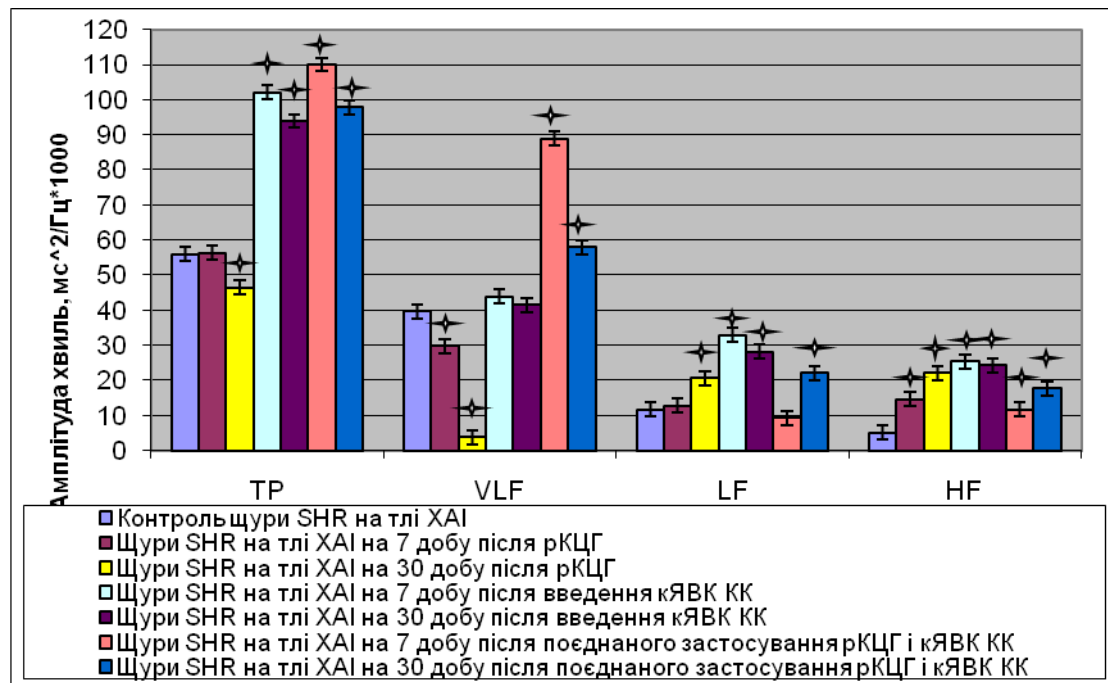


Рис. 6.3. Показники спектрального аналізу ВСР у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR на тлі ХАІ на 7 і 30 добу після рКЦГ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування.

Аналіз показників ВСР за даними варіаційної пульсометрії у щурів SHR зі змішаною формою ДЕ на 7 добу після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК виявив динаміку підвищення активності всіх регуляторних систем організму тварин в порівнянні з вихідним рівнем (табл. 6.5). Статистично значуще збільшувалися показники АМо, ПАПР (в 1,6 рази) на тлі зниження Мо і ІЦ (на 46%). На 30 добу показники АМо і ПАПР ще більш істотно зростали відносно попереднього терміну спостережень, а показник Мо зменшувався (табл. 6.5).

При спектральному аналізі ВСР у щурів SHR з ХАІ на 7 добу після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК спостерігалася значне зростання ТР як в порівнянні з контролем (в 2 рази), так і з тваринами яким вводили кЯВК КК (на 10%). Збільшення показників ТР відбувалося за рахунок значущого підвищення активності гуморально-метаболічної ланки регуляції (в 1,8 рази зростала питома

вага VLF-хвиль) при не змінному тонусі симпатичного відділу ВНС. На 30 добу рівень ТР знижувався (на 10%), проте статистично значуще перевищував аналогічні показники контролю (SHR + XAI). При цьому в структурі спектра достовірно збільшувалася питома вага LF і HF-хвиль, а VLF-хвиль зменшувалася, що свідчило про активацію у щурів з ДЕ змішаного генезу після поєднаного використання рКЦГ і кЯВК КК вегетативних центрів.

Виявлені зміни показників ВСР відбивалися на цифрах АТ (табл. 6.6). У тварин SHR на тлі ХАІ на 7 і 30 добу після самостійного і поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК спостерігалася тенденція до статистично значущого зниження показників як систолічного, так і діастолічного АТ.

Таблиця 6.6

Показники артеріального тиску у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR зі змішаною формою дисциркуляторної енцефалопатії після рКЦГ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування

Групи щурів	Показники АТ, мм рт.ст.	
	САТ	ДАТ
1 – SHR+ХАІ (контроль)	247,5±2,5	129,2±4,2
2 – SHR+ХАІ+рКЦГ (7 доба)	205,4±2,2 ¹	110,0±1,8 ¹
3 – SHR+ХАІ+рКЦГ (30 доба)	215,1±3,1 ^{1,2}	100,1±2,5 ^{1,2}
4 – SHR+ХАІ+кЯВК КК (7 доба)	225,4±4,1 ¹	100,4±2,4 ¹
5 – SHR+ХАІ+кЯВК КК (30 доба)	219,2±3,1 ¹	105,0±0,9 ¹
6 – SHR+ХАІ+рКЦГ+кЯВК КК (7 доба)	200,1±3,6 ¹	95,3±1,7 ¹
7 – SHR+ХАІ+рКЦГ+кЯВК КК (30 доба)	195,3±2,9 ¹	95,7±2,0 ¹

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів;

² – статистично значущі відмінності між 2 і 3 групою щурів ($p < 0,05$).

Таким чином, у щурів лінії SHR з гіпертензивною формою ДЕ відзначалися зміни вегетативного балансу, що виражалися в низькій синхронізації регуляторних складових і підвищенні активності симпатичної ланки регуляції. Отримані результати досліджень можуть свідчити про зниження рівня

нейрогуморальної регуляції, а також наявності явищ перенапруження і астенізації в регуляторних відділах ЦНС.

При ДЕ змішаного генезу, у алкоголізованих щурів SHR на тлі зниження централізації (в порівнянні з неалкоголізованими щурами) зберігається переважання симпатичної складової управління ритмом серця, мала місце мобілізація надсегментарного рівня за рахунок збільшення впливу нейрогуморальних факторів. У даній групі спостерігалися порушення узгодження регуляторних процесів автономного контуру і надсегментарного рівня вегетативної регуляції. Вегетативна дисфункція супроводжувалася стійким підвищенням рівня АТ.

На 7 добу після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК у щурів з гіпертензивною формою ДЕ значно зростали адаптаційно-компенсаторні можливості організму, які знижувалися до 30 доби, однак зберігалися на більш високому рівні, в порівнянні з самотійним використанням даних методів. Крім того, на тлі поєднаного використання рКЦГ і кЯВК КК, на відміну від їх самотійного застосування, спостерігалось статистично значуще зменшення цифр систолічного і діастолічного АТ.

У тварин з ДЕ змішаного генезу поєднане використання рКЦГ і кЯВК КК сприяло стійкому зниженню показників АТ, а також активації вищих вегетативних центрів автономної нервової системи, яка є найбільш розвиненим і швидким шляхом реалізації ефектів нейрогуморальної регуляції.

За матеріалами розділу 6 опубліковано роботи [329, 419].

РОЗДІЛ 7

ЗМІНИ КОГНІТИВНИХ ФУНКЦІЙ СПОНТАННО ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ЛІНІЇ SHR З РІЗНИМИ ФОРМАМИ ДИСЦИРКУЛЯТОРНОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ НА ТЛІ САМОСТІЙНОГО І ПОЄДНАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ РИТМІЧНОЇ КРАНІОЦЕРЕБРАЛЬНОЇ ГІПОТЕРМІЇ І КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЯДРОВІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ

Відомо, що при АГ змінюються показники реактивності і резистентності організму, відбувається порушення ауторегуляції мозкового кровотоку, ремоделювання судин [216, 218, 220, 226, 232]. Неконтрольована АГ, за даними численних епідеміологічних досліджень, є одним з найбільш значущих чинників ризику розвитку когнітивних розладів. Найбільш часто при АГ страждають пам'ять, керуючі функції і швидкість обробки інформації [420, 421]. У дослідженнях [422, 423], була показана кореляційна залежність між рівнем артеріального тиску в середньому віці і ризиком розвитку когнітивних розладів. При цьому підвищення систолічного артеріального тиску на кожні 10 мм рт.ст. збільшувало ризик розвитку когнітивних розладів на 7-16%.

ГМ можна віднести до одного з головних органів-мішеней при АГ. АГ призводить до двох видів судинних змін в ГМ: лакунарних інфарктів і дифузних змін білої речовини. З огляду на те, що обидва зазначених морфологічних показника можуть викликати розлади вищих мозкових функцій, то когнітивні розлади при АГ найчастіше мають судинну природу [428].

Судинні когнітивні розлади зазвичай у поєднанні з емоційно-поведінковими, руховими та іншими неврологічними розладами утворюють ядро клінічної картини ДЕ [417, 418]. Згідно з визначенням М.М. Яхно [429], під ДЕ розуміється синдром ураження ГМ судинної етіології, який проявляється різними неврологічними, нейропсихологічними і психічними розладами, що формуються в результаті повторних гострих порушень і/або хронічній недостатності кровопостачання ГМ. Результати проведеного дослідження [432] когнітивних

функцій у хворих людей середнього та похилого віку, які тривалий час страждають АГ, свідчать про зниження слухоречової пам'яті, концентрації уваги, швидкості виконання нейропсихологічних тестів, мовної продукції, просторової орієнтації.

Більшість досліджень підтверджує прямий зв'язок між когнітивними порушеннями і зловживанням алкоголем [433, 434]. Відхилення результатів виконання нейропсихологічних тестів від прийнятих нормативів показано при ХАІ осіб середнього віку [433-434].

Щури лінії SHR можуть служити адекватною моделлю ДЕ [238, 240, 244-248, 254, 255]. Крім цього, щури цієї лінії за своєю природою є перспективними моделями для вивчення неврологічно-поведінкових розладів розвитку синдрому дефіциту уваги і гіперактивності (СДУГ) [244-247, 430, 431]. У цієї групи тварин відзначаються специфічні зміни активності дофамінергічної, норадренергічної і серотонінергічної систем [435]. Встановлено також підвищена чутливість щурів SHR до психостимуляторів (метілфенідату, кофеїну і кокаїну) [436], виявлено зниження довгострокової потенціації в гіпокампі, що може вказувати на дисфункцію активності N-метіл-D-аспартатних рецепторів, що контролюють цей процес [437]. Необхідно також враховувати, що при ХАІ відбувається розвиток оксидативного стресу в мозку щурів в результаті як накопичення активних форм кисню та азоту, так і виснаження антиоксидантних систем [238, 357-359].

Отримані в наших дослідженнях можливості поєданого застосування рКЦГ і КЯВК КК дозволяють прогнозувати ефективність їх використання з метою корекції порушень когнітивних здібностей щурів SHR з різними формами ДЕ.

7.1 Порівняльна характеристика когнітивних функцій нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами дисциркуляторної енцефалопатії

У спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR, не залежно від форми ДЕ, в порівнянні з нормотензивними тваринами, відзначалися труднощі в придбанні

навичок знаходження платформи в ВЛМ (табл. 7.1). В ході проведення експерименту час, який проходив від запуску тварини в ВЛМ до знаходження нею платформи, скорочувався, при цьому спрощувалася і траєкторія руху.

Для нормотензивних щурів вже з 2 спроби час знаходження платформи скорочувався на 36,7%, з 3 на 46%, з 4 більш, ніж в 4,6 рази, а з 7 в 6 разів. Для щурів з гіпертензивною формою ДЕ процес навчання проходив значуще складніше і повільніше (табл. 7.1). Так, до 4 спроби час знаходження платформи скорочувався тільки в 2 рази, а час, близький до нормотензивних тварин, досягався лише у 7 тесті. Порушення оперативної пам'яті, контролю уваги і прийняття рішень у щурів SHR, мабуть пов'язані, зі змінами їх локомоторної активності.

Крім того, настільки виражені відмінності в показниках когнітивних функцій між нормотензивними і спонтанно гіпертензивними тваринами можуть бути обумовлені встановленим нами в попередньому розділі вираженим переважанням симпатичної спрямованості вегетативних реакцій, що має своє відображення у формуванні афективної складової формування поведінкових реакцій. В першу чергу це стосується підвищеної тривожності, страху і непродуктивної (безцільної) рухової активності. Цей стан відображається в кінцевому прояві на еферентній частині функціональних систем і формуванні передпускової інтеграції, що відповідає прихованій домінанті формування довготривалої просторової пам'яті, що особливо проявляється на перших 4 етапах тестування щурів лінії SHR.

ХАІ гальмувала процес навчання (табл. 7.1). У тварин зі змішаною формою ДЕ в 4 спробі, час, витрачений на пошук платформи, статистично значуще збільшувався в порівнянні з аналогічним показником щурів з гіпертензивною ДЕ, а після 5-7 спроб зменшувався практично в 2 рази, що вказувало на формування у них уявлення про просторове розташування платформи.

Таким чином, у спонтанно гіпертензивних тварин SHR на тлі ХАІ порушення когнітивних функцій в поєднанні зі змінами вегетативного балансу відбивалися і на мотивації в умовах ситуаційного подразника у вигляді ВЛМ. Ці порушення позначалися на швидкості, необхідної для виконання майбутньої діяльності (була

відсутня будь-яка рухова і пошукова активність протягом 15–20с після приміщення щурів в ВЛМ). У підсумковій 7 спробі у щурів лінії SHR зі змішаною формою ДЕ час знаходження платформи в ВЛМ статистично значуще збільшувався як в порівнянні з нормотензивним контролем, так і тваринами з гіпертензивною ДЕ.

Таблиця 7.1

Динаміка змін когнітивних функцій нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами ДЕ за часом знаходження платформи в ВЛМ

Групи щурів	Спроби						
	1	2	3	4	5	6	7
	Час знаходження платформи, секунди						
1 – нормотензивні	60±2	38±4	32±2	13±3	15±4	8±2	10±2
2 – SHR	>60 ¹	52±4 ¹	48±4 ¹	30±4 ¹	22±3	16±4 ¹	14±4
3 – SHR + XAI	>60 ¹	>60 ¹	58±6 ¹	42±4 ^{1,2}	22±2 ¹	20±2 ¹	22±4 ^{1,2}

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів;

² – статистично значущі відмінності між 2 і 3 групою щурів ($p < 0,05$).

7.2 Оцінка когнітивних функцій спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з гіпертензивною дисциркуляторною енцефалопатією після ритмічної краніоцеребральної гіпотермії, введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові і їх поєднаного застосування

У щурів з гіпертензивною формою ДЕ на 7 і 30 добу після проведення рКЦГ значущих відмінностей в поведінкових реакціях, у порівнянні з контрольними тваринами SHR не спостерігалось (табл. 7.2). Виявлене при дослідженні вегетативного статусу погіршення стійкості регуляторних і регульованих систем і зниження компенсаторних можливостей, вочевидь, відбивалося на механізмах висхідних активуючих впливів підкіркових утворень на кору ГМ і характеристиках мотиваційних збуджень.

Введення кЯВК КК також не змінювало тимчасові параметри пошукових поведінкових реакцій. Спостерігалось статистично значуще збільшення часу знаходження платформи в ВЛМ при 4 спробі, однак на наступних етапах тестування ці відмінності не повторювалися (табл. 7.2).

Можна припустити, що у щурів з гіпертензивною ДЕ, незважаючи на раніше відмічений перерозподіл в бік переважання різних рівнів вегетативної регуляції, зберігалася стійка симпатикотонічна спрямованість регуляторних систем, яка і визначала особливості поведінкових реакцій.

Таблиця 7.2

Динаміка змін когнітивних функцій щурів лінії SHR з гіпертензивною формою ДЕ, за часом знаходження платформи в ВЛМ, на 7 та 30 добу після рКЦГ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування

Групи щурів	Спроби						
	1	2	3	4	5	6	7
	Час знаходження платформи, секунди						
1 – SHR (контроль)	>60	52±4	48±4	30±4	22±3	16±4	14±4
2 – SHR+рКЦГ (7 доба)	>60	60±4	56±2	42±4	24±4	20±2	18±4
3 – SHR+рКЦГ (30 доба)	>60	58±2	52±4	38±4 ¹	22±4	18±2	20±2
4 – SHR+кЯВК КК (7 доба)	>60	64±6	52±4	38±2 ¹	18±2	18±3	12±4
5 – SHR+кЯВК КК (30 доба)	>60	>60	60±6 ¹	48±4 ¹	22±4	16±2	16±4
6 – SHR+рКЦГ+кЯВК КК (7 доба)	68±6 ¹	42±4 ¹	32±2 ¹	28±4	18±2	12±3 ¹	14±2
7 – SHR+рКЦГ+кЯВК КК (30 доба)	60±4 ¹	46±4	34±2 ¹	26±2	16±3	16±2	12±2

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів ($p < 0,05$).

Поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК викликало якісно-кількісні зміни пошукових поведінкових реакцій. Якщо у контрольних тварин з гіпертензивною ДЕ пошукова реакція при 1 спробі вимірювалася в межах більше 60 секунд, то після поєднаного використання рКЦГ і кЯВК КК (особливо на 30 добу) час пошуку платформи в ВЛМ скорочувався та наближався до показників нормотензивних щурів. В 2 та 3 спробах час пошуку платформи значуще не

відрізнявся від нормотензивного контролю (табл. 7.2), а в наступних спробах (4, 5, 7) подібного прискорення в часі пошукових реакцій не відзначалося.

Таким чином, існуючий когнітивний дефіцит у щурів з гіпертензивною формою ДЕ проявлявся в зниженні швидкості навчання і формування пам'яті. Поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК, на відміну від їх самостійного використання, в поведінкових тестах сприяло зменшенню часу знаходження платформи в ВЛМ, що свідчило про збільшення адаптаційно-компенсаторних можливостей у даної групи тварин.

7.3 Оцінка когнітивних функцій спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з дисциркуляторною енцефалопатією змішаного генезу після ритмічної краніоцеребральної гіпотермії, введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові і їх поєднаного застосування

Через 7 діб після проведення рКЦГ щурам зі змішаною формою ДЕ спостерігалось значуще збільшення часових показників знаходження платформи в ВЛМ, в 5 і 6 спробах (табл. 7.3). Через 30 діб після рКЦГ в перших 3 спробах кількість витраченого часу на пошук платформи скорочувалась.

На 7 добу після введення кЯВК КК на 2–4 етапах тестування виявлялося зниження часу пошуково-поведінкових реакцій у порівнянні з контрольними тваринами SHR з ДЕ змішаного генезу. Однак, починаючи з 5 етапу, час знаходження платформи не скорочувався, а статистично значуще збільшувався щодо контрольних показників спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з ХАІ. Подібна динаміка зміни часових інтервалів відзначалася у тварин даної експериментальної групи і на 30 добу після введення кЯВК КК (табл. 7.3).

Можливо, різниця в тимчасових інтервалах після самостійного застосування рКЦГ і кЯВК КК, пов'язана не тільки з якісно різними особливостями стану когнітивних можливостей ГМ тварин після зазначених впливів, а й з метаболічною складовою, результативним ефектом якої є рухова активність. Подібне припущення пояснює і характер проходження тесту щурами SHR зі

змішаною формою ДЕ через 30 діб після рКЦГ, коли на перших 3 етапах кількість витраченого часу на пошук платформи скорочувалась, але при цьому перевищувало час знаходження платформи в групі тварин, яким вводили кЯВК КК.

Таблиця 7.3

Динаміка змін когнітивних функцій щурів лінії SHR зі змішаною формою ДЕ, за часом знаходження платформи в ВЛМ, на 7 та 30 добу після рКЦГ, введення кЯВК КК і їх поєднаного застосування

Групи щурів	Спроби						
	1	2	3	4	5	6	7
	Час знаходження платформи, секунди						
1 – SHR+ХАІ (контроль)	>60	>60	68±6	42±4	22±2	20±2	22±4
2 – SHR+ХАІ+рКЦГ (7 доба)	60±4	62±4	58±4 ¹	50±4	46±4 ¹	28±2 ¹	26±2
3 – SHR+ХАІ+рКЦГ (30 доба)	64±6	60±4	56±2 ¹	46±2	38±2 ¹	18±2	24±2
4 – SHR+ХАІ+кЯВК КК (7 доба)	>60	56±2 ¹	48±4 ¹	32±2 ¹	28±2 ¹	30±4 ¹	26±2
5 – SHR+ХАІ+кЯВК КК (30 доба)	>60	60±2	46±2 ¹	38±2 ¹	32±2 ¹	28±2 ¹	30±2 ¹
6 – SHR+ХАІ+рКЦГ+кЯВК КК (7 доба)	58±2 ¹	48±2 ¹	18±4 ¹	16±2 ¹	14±2 ¹	10±2 ¹	12±2 ¹
7 – SHR+ХАІ+рКЦГ+кЯВК КК (30 доба)	60±4	56±4 ¹	22±4 ¹	18±2 ¹	8±2 ¹	12±2 ¹	13±2 ¹

Примітка: ¹ – статистично значущі відмінності від 1 групи щурів ($p < 0,05$).

На 7 і 30 добу після поєднаного використання рКЦГ і кЯВК КК у щурів зі змішаною формою ДЕ час, який проходив від запуску тварин в ВЛМ і до знаходження платформи, скорочувався, а шлях спрощувався (табл. 7.3). Починаючи з 3 спроби, час знаходження платформи у них був навіть менший, ніж у щурів з гіпертензивною ДЕ, наближаючись до показників нормотензивного контролю (табл. 7.1), що свідчить про формування у них уявлення про просторове

розташування платформи на основі зовнішніх по відношенню до басейну орієнтирів.

Аналізуючи отримані експериментальні дані можна зробити висновок, що підвищення цілеспрямованої рухової активності і просторової орієнтації в сукупності з раніше зазначеними нами змінами рівня нейрогуморальної регуляції, свідчать про активацію когнітивних процесів у щурів зі змішаною формою ДЕ.

Таким чином, поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК супроводжується істотним поліпшенням когнітивних функцій, оновленням ритміки нейрогуморальних впливів на організм, зниженням показників АТ, відновленням мікрогемодинаміки та цитоархітекtonіки ГМ, збільшенням рівня оксигенації тканин і в деяких випадках підвищенням антиоксидантного захисту клітин ГМ у щурів з різними формами ДЕ, що є одним з найбільш об'єктивних показників поліпшення стану ГМ при ЦВП.

За матеріалами розділу 7 опубліковано роботи [333, 438, 439].

УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Цереброваскулярні захворювання є найважливішою медико-соціальною проблемою в зв'язку з їх широкою поширеністю і тяжкістю наслідків (висока смертність, значні показники тимчасових трудових втрат та інвалідизація). У структурі ЦВЗ 96% належить хронічним порушенням мозкового кровообігу, які об'єднуються терміном «дисциркуляторна енцефалопатія» (ДЕ). Смертність від судинних захворювань ГМ в нашій країні перевищує аналогічний показник більшості країн Європи та Азії [19, 104, 107, 213], причому в останні 10 років їх поширеність в Україні істотно зросла [20-22, 207, 210, 211]. Розвитку ДЕ сприяють АГ, захворювання серцево-судинної системи і системи крові, зловживання алкоголем [110, 116, 217, 229, 230, 234, 235]. Хронічний прийом алкоголю посилює розвиток і тяжкість будь-якого патологічного процесу в органах і тканинах, у тому числі і гіпертензивної ДЕ, переводячи її в рамки ДЕ змішаного генезу.

Тому розробка нових ефективних методів боротьби з розвитком і прогресуванням судинної деменції при ДЕ – найважливіше завдання медицини та біології.

Незважаючи на існування великої кількості експериментальних моделей АГ спонтанно гіпертензивні щури лінії SHR сьогодні розглядаються в якості найбільш адекватної моделі есенціальної гіпертензії [111, 236-238]. Також вони є загальновизнаною моделлю для вивчення неврологічно-поведінкових розладів розвитку синдрому дефіциту уваги і гіперактивності [243-252], цілого ряду ЦВЗ [23, 238, 253] та судинної дисфункції [23, 254, 255].

Таким чином, вибір спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR як біомоделі для вивчення розвитку гіпертензивної ДЕ та її наслідків на організм, а також з метою визначення нової стратегії профілактики та лікування даної патології, можна вважати виправданим і адекватним організму людини.

Відомо, що нейропротективні властивості КЦГ пов'язані зі зниженням температури ГМ. Впливаючи на всі структури ЦНС, КЦГ обмежує розвиток

ефектів ексайтотоксичності, утворення вільних радикалів, набряку [10–12, 17, 18]. Ритмічна КЦГ підвищує лабільність регуляторних процесів у ЦНС і серцево-судинній системі, стимулює прямі та зворотні зв'язки, нормалізує симпатопарасимпатичний баланс ВНС завдяки повторенню та моделюванню активності власних ендогенних ритмів організму. Під впливом КЦГ також відбуваються зміни в реологічних показниках крові, однієї з причин яких може бути зниження концентрації фосфоліпідів, холестерину, АТФ, магнію та підвищення концентрації кальцію в мембрані еритроцита [411, 412].

Спроби створення принципово нових методів лікування ЦВЗ призвели до досліджень в області терапії СК, які можуть служити цінним джерелом нейроноподібних клітин і нейротрофічних факторів для лікування цілого ряду нейродегенеративних захворювань судинного генезу. Перевагами СК з КК є їх високий проліферативний потенціал, здатність до мультилінійного диференціювання та трансдиференціювання *in vitro* і *in vivo*.

У зв'язку з вищенаведеним нами було визначено вплив рКЦГ, кЯВК КК людини та їх поєднання на структурно-функціональний стан центральної нервової системи у щурів при різних формах ДЕ.

В ході проведених морфологічних та морфометричних досліджень препаратів ГМ білих безпородних та спонтанно гіпертензивних щурів SHR було підтверджено правильність вибору цих тварин в якості нормотензивного контролю та моделей ДЕ, відповідно [238, 239, 259]. Так, у контрольних щурів SHR і тварин цієї ж лінії з ХАІ спостерігались виражені гістологічні ознаки змін архітекτονіки судинного русла і прогресуючого дегенеративно-дистрофічного ураження тканин ГМ, які розвивалися в результаті хронічної недостатності кровопостачання ГМ і подальших гострих порушень мозкового кровообігу (крововиливи в підкіркових структурах і ішемічні інфаркти в корі ГМ). У тварин з моделлю гіпертензивної ДЕ, в порівнянні з нормотензивним контролем, відзначалось статистично значуще зниження кількості нейронів (на 24,31%) і числа ФК (на 25,61%). ХАІ гіпертензивних щурів поглиблювала перебіг патологічного процесу в ГМ, що виражалось в значущому, в порівнянні з

контрольними щурами SHR, збільшенні НГІ (в 1,5 рази) і зниженні кількості ФК (на 33,1%).

Через 7 діб після самостійного та поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК щурам з різними формами ДЕ гістологічних змін в досліджуваних нами структурних компонентах ГМ не спостерігалось. На 30 добу після проведення рКЦГ щурам з гіпертензивною формою ДЕ відзначалось зменшення НГІ (на 16,22%) за рахунок збільшення кількості нейронів в корі ГМ (на 13,53%) і зниження числа гліальних клітин (на 5,23%). Крім того збільшувалась кількість ФК (на 14,5%), що свідчило про зменшення ступеня ішемії мозку. При змішаній формі ДЕ рКЦГ сприяла збільшенню кількості ФК (на 38,3%) і зниженню НГІ (на 63,85%), практично повністю знімаючи токсичний вплив алкоголю на морфометричні показники ГМ.

Введення кЯВК КК щурам лінії SHR з гіпертензивною та змішаною формами ДЕ супроводжувалось регенерацією нейроклітин, стимуляцією ангиогенезу, що знижувало ознаки прояву дистрофічних, деструктивних і патологічно змінених компенсаторно-адаптивних процесів в ГМ за рахунок відновлення його мікрогемодинаміки та цитоархітекtonіки. Крім того, застосування кЯВК КК значуще збільшувало число ФК з добре вираженим просвітом (на 18,55% у тварин з гіпертензивною ДЕ та на 68,67% у щурів зі змішаною формою ДЕ) на тлі зниження НГІ (на 20,95% у тварин з гіпертензивною ДЕ і на 44,49% у щурів зі змішаною формою ДЕ).

Поєднане використання рКЦГ і кЯВК КК у щурів з різними формами ДЕ призводило до відновлення ламінарної структури кори ГМ, повної або часткової відсутності ознак гіперплазії гладком'язових клітин, гострих геморагій і ішемічних інфарктів, спазму стінок артеріальних судин і повнокров'я в венах. Спостерігалось статистично значуще зменшення НГІ, збільшення кількості ФК (на 25,68% і 20,17% у щурів з ДЕ гіпертонічного типу і на 47,58 і 75,90% у тварин з ДЕ, обтяженої ХАІ).

Отже, виявлені особливості структурного стану тканин і судин ГМ у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR на тлі поєднаного застосування рКЦГ і

кЯВК КК свідчать про поліпшення кровообігу і зниження ступеня ішемії ГМ, а також підтверджують доцільність їх поєднаного використання для корекції цереброваскулярних порушень при різних формах ДЕ.

ПОЛ – універсальний процес, який протікає в кожній клітині живого організму, як в нормі, так і при розвитку цілого ряду патологічних станів. Оскільки розвиток АГ і тривала алкоголізація супроводжуються вираженими змінами процесів ПОЛ та антиоксидантного захисту в тканинах ГМ, які потребують фармакологічної корекції, нами був вивчений як самостійний вплив кЯВК КК, так і поєднаний з методом рКЦГ на процеси ПОЛ в мозковій тканині щурів лінії SHR.

Встановлено, що у вихідній реакції ПОЛ рівень МДА в гомогенаті мозкової тканини щурів лінії SHR з гіпертензивною формою ДЕ був на 160% вище за аналогічний показник нормотензивних тварин. У присутності прооксидантів (індуковане ПОЛ) і в їх відсутності (спонтанне ПОЛ) процес ПОЛ в мозковій тканині щурів лінії SHR також характеризувався значуще вищими показниками МДА в порівнянні з контрольними нормотензивними тваринами (рівень МДА зростав на 78 і 48% відповідно), що свідчило про інтенсифікацію процесів ПОЛ в результаті ослаблення механізмів антиоксидантного захисту тканин ГМ. Подібні зміни в інтенсивності процесів ПОЛ можуть бути одним з чинників ушкодження ГМ при АГ, спричиняти порушення мозкового кровообігу та різних ланок метаболізму нервової тканини. ХАІ спонтанно гіпертензивних щурів супроводжувалася подальшою активацією процесів ПОЛ в тканинах ГМ. Вміст МДА в вихідній і спонтанній реакціях ПОЛ у цих тварин на 53 та 51% перевищував відповідний показник для щурів з гіпертензивною формою ДЕ і на 300 і 126% – для нормотензивних. В аскорбатзалежній реакції ПОЛ рівень МДА зростав на 155% в порівнянні з тваринами SHR без ХАІ і становив $(2,32 \pm 0,36)$ нмоль МДА/мг. Отримані результати по впливу ХАІ на процеси ПОЛ в тканинах ГМ щурів можна пояснити тим, що етанол, хоча і проявляє антиоксидантні властивості, посилює процеси ПОЛ.

Вихідний рівень активності процесів ПОЛ в тканинах ГМ щурів з ДЕ гіпертензивного і змішаного типу після рКЦГ не змінювався. Введення кЯВК КК щурам лінії SHR з ДЕ змішаного генезу сприяло зниженню рівня МДА в тканинах ГМ на 20%, але не впливало на процес ПОЛ в тканинах мозку тварин лінії SHR з ДЕ гіпертензивного типу. На 7 і 30 добу після поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК у щурів з ДЕ змішаного генезу спостерігалось значуще зниження рівня МДА в тканинах мозку (на 32,5% і 25% відповідно).

Порушення реологічних властивостей крові призводять до розладів в системі мікроциркуляції, ускладнення оксигенації тканин і, в кінцевому підсумку, до порушення функціонування органів і систем. Кров при ДЕ часто має підвищену в'язкість, що призводить до утворення тромбів і погіршення внутрішньо мозкового кровообігу.

У зв'язку з цим на наступному етапі досліджень нами були вивчені деякі гемореологічні показники у контрольних нормотензивних і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR (з ХАІ і без такої) до і після самостійного і поєднаного застосування рКЦГ та кЯВК КК.

Показано, що показники кількості циркулюючих Е, в'язкості крові і гематокриту у спонтанно гіпертензивних щурів SHR значуще збільшувались в порівнянні з нормотензивними тваринами (на 41, 81 і 17% відповідно), а показник РПК зменшувався. ХАІ призводила до ще більшого зниження показника РПК (до 5,1), тим самим посилюючи кисневе голодування всіх органів і тканин хронічно алкоголізованих тварин. Зміни гемореологічних показників тісно пов'язані зі зміною структурно-функціональних особливостей мембран Е. Популяції Е в групах щурів з гіпертензивною та змішаною ДЕ були більш гетерогенні в порівнянні з нормотензивними щурами, що підтверджувалося зменшенням числа дискоцитів та збільшенням дегенеративних форм Е в проміжках ІС ($1 \div 1,3$), що є несприятливою ознакою та розглядається як процес старіння Е.

У тварин з гіпертензивною формою ДЕ рКЦГ не впливала на основні гемореологічні показники крові (кількість еритроцитів, в'язкість, гематокрит), а у щурів з ДЕ, обтяженою ХАІ, підвищувала РПК на 7 добу після застосування (на

23%). Введення кЯВК КК і їх поєднане застосування з рКЦГ сприяло значущому зниженню рівня гіпоксії та поліпшенню постачання органів і тканин киснем в усі терміни досліджень (в середньому на 15% для щурів групи SHR і на 43% для групи SHR з ХАІ). Крім того поєднане використання двох методів не впливало на форму червоних клітин у тварин з генетично детермінованою АГ, але сприяло перерозподілу клітин Е за ІС у щурів SHR з ХАІ. Значуще підвищувався відсоток клітин з ІС в межах $(1,7 \div 3,1)$, що свідчило про оздоровлення популяції Е в крові щурів з ДЕ змішаного генезу.

В умовах розвитку патологічного процесу, при вже сформованих особливостях або стійких змінах органів і систем організму, необхідна оцінка стану функціональної напруги адаптаційно-компенсаторних і регуляторних реакцій з боку ЦНС та серцево-судинної систем, відповідальних за підтримання гомеостазу. Регулюючий вплив ВНС на систему кровообігу здійснюється через симпатичний і парасимпатичний відділи. Є тісний зв'язок між змінами вегетативної регуляції серцевого ритму і розвитком серцево-судинних захворювань. Одну з ключових ролей в патогенезі АГ, ішемічної хвороби серця, виникнення аритмій відіграє стійке підвищення тону симпатичного відділу ВНС. Однак питання, чи є збільшення симпатичної активності первинним або вторинним фактором виникнення АГ, залишається відкритим.

Найбільш інформативним неінвазивним методом кількісної оцінки вегетативної регуляції серцевого ритму є визначення ВСР. Аналіз ВСР дозволяє, на основі коливань математичних значень фізіологічних параметрів серцевого ритму, оцінити діяльність різних ланок системи управління по каналах прямого і зворотного зв'язку.

Тому на наступному етапі експериментальних досліджень нами були вивчені особливості стану вегетативної регуляції серцевого ритму у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами ДЕ після рКЦГ, введення кЯВК КК та їх поєданого застосування.

Виявлено, що у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR значення загальної потужності спектра нейрогуморальної регуляції (ТР) значуще

збільшувалися (більш ніж в 2 рази) в порівнянні з нормотензивним контролем за рахунок підвищення тону вегетативних центрів, причому симпатичні впливи на міокард суттєво превалювали над парасимпатичними. У щурів з ДЕ змішаного генезу показники ТР статистично значуще знижувались в порівнянні з нормотензивним контролем і тваринами SHR без ХАІ за рахунок зменшення тону як симпатичного, так і парасимпатичного відділів ВНС. Представлені результати дослідження ВСР дозволяють припустити, що тривала алкоголізація гіпертензивних тварин, сприяючи виснаженню тону симпато-адреналової системи, призводить до того, що вегетативне забезпечення серцевої діяльності більшою мірою здійснюється за рахунок переходу процесу регуляції на повільний, але більш стабільний, гуморально-метаболический рівень.

Розвиток вегетативної дисфункції у щурів з гіпертензивною і змішаною формами ДЕ супроводжувався значущим, в порівнянні з нормотензивним контролем, підвищенням рівня АТ. Так, у тварин SHR показники систолічного АТ становили $(221,1 \pm 6,4)$ мм рт.ст., а у щурів SHR на тлі ХАІ $(247,5 \pm 2,5)$ мм рт.ст.

У щурів з гіпертензивною ДЕ на 7 і 30 добу після використання рКЦГ спостерігалось зменшення значень ТР в основному за рахунок симпатичного і парасимпатичного відділів ВНС. У тварин зі змішаною формою ДЕ на 30 добу після рКЦГ рівень ТР знижувався перш за все в результаті зменшення активності гуморальної ланки регуляції (в 8 разів), в той час як активність ВНС статистично значуще зростала. Аналіз отриманих результатів дозволяє припустити, що у щурів лінії SHR з ХАІ рКЦГ надавала стимулюючий вплив на діяльність вегетативних центрів, тим самим сприяючи збереженню контролю центрального контуру регуляції серцевого ритму. На 30 добу після введення кЯВК КК тваринам з гіпертензивною та змішаною формами ДЕ мало місце збільшення показників ТР відносно контролю, більшою мірою за рахунок підвищення активності вегетативних центрів (LF- і HF- компонентів). На тлі поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК у щурів з гіпертензивною ДЕ виявлялося зниження симпатикотонічних впливів на вірогідну складову функціонування синусового вузла. У тварин зі змішаною ДЕ поєднане використання рКЦГ і кЯВК КК сприяло

значущому зростанню рівня ТР відносно контрольних показників завдяки підвищенню як активності симпатичного і парасимпатичного відділів ВНС, так і гуморально-метаболічної ланки регуляції (LF-, HF- і VLF- компонентів). Отримані в ході аналізу ВСР дані узгоджувалися з динамікою змін цифр АТ. У щурів SHR з гіпертензивною та змішаною ДЕ після самостійного і поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК спостерігалось значуще зниження показників як систолічного, так і діастолічного АТ.

Таким чином, у спонтанно гіпертензивних тварин, незалежно від форми ДЕ, поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК сприяло стійкому зниженню АТ, а також супроводжувалось активацією вищих вегетативних центрів автономної нервової системи, яка є найбільш розвиненим і швидким шляхом реалізації ефектів нейрогуморальної регуляції.

Неконтрольована АГ, є однією з найбільш значущих чинників ризику розвитку когнітивних розладів. Відомо, що при АГ часто страждає пам'ять, керуючі функції і швидкість обробки інформації. Судинні когнітивні розлади зазвичай у поєднанні з емоційно-поведінковими, руховими та іншими неврологічними розладами утворюють ядро клінічної картини ДЕ. Тому на заключних етапах роботи доцільним було оцінити зміни когнітивних функцій спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами ДЕ на тлі самостійного і поєднаного застосування рКЦГ та кЯВК КК.

Встановлено, що у спонтанно гіпертензивних щурів SHR, незалежно від форми ДЕ, відзначалися труднощі в придбанні навичок знаходження платформи в ВЛМ. Якщо для нормотензивних тварин вже в 2 спробі час знаходження платформи скорочувався на 36,7%, то для щурів з гіпертензивною ДЕ процес навчання проходив значуще складніше і повільніше. Так, в 2 спробі час знаходження платформи скорочувався тільки на 7,7%, а час, близький до нормотензивного контролю, досягався лише у 7 тесті. ХАІ гальмувала процес навчання та навіть в 7 спробі тестовий час не досягав відповідного як в групі нормотензивного контролю, так і в групі контрольних тварин SHR.

Поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК викликало якісно-кількісні зміни пошукових поведінкових реакцій. У щурів SHR в 1 спробі час пошуку платформи в ВЛМ наближався до показників нормотензивних щурів. У тварин SHR на тлі ХАІ час, який проходив від запуску щурів в ВЛМ і до знаходження платформи, скорочувався, а шлях спрощувався. Починаючи з 3 спроби, час знаходження платформи у них був навіть менший, ніж у щурів з гіпертензивною ДЕ, наближаючись до показників нормотензивного контролю.

Сукупність підвищення цілеспрямованої рухової активності та просторової орієнтації з раніше зазначеними нами змінами рівня нейрогуморальної регуляції, зниженням напруги збуджуючих контурів, зростанням вкладу центрального надсегментарного рівня регуляції периферійними процесами може вказувати на активацію когнітивних процесів у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR, незалежно від форми дисциркуляторної енцефалопатії.

Таким чином, самостійне і поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК зменшує ознаки прояву дистрофічних, деструктивних і патологічно змінених компенсаторно-адаптивних процесів в ГМ щурів з різними формами ДЕ, за рахунок відновлення його мікрогемодинаміки та цитоархітекtonіки, сприяє нормалізації показників артеріального тиску, надає найбільш виражений позитивний вплив на стан нейрорегуляторних систем організму, а також призводить до істотного поліпшення когнітивних функцій експериментальних тварин.

Виявлені в ході досліджень прояви впливу рКЦГ і кЯВК КК на структурно-функціональний стан ЦНС організму спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR з різними формами ДЕ обґрунтовують перспективність їх застосування в різних галузях медицини (неврології, наркології, реаніматології, травматології). Отримані експериментальні дані розкривають деякі механізми самостійного та поєданого застосування рКЦГ та кЯВК КК, що спрямовані на підвищення активності компенсаторних процесів в регуляторних системах організму тварин, порушених внаслідок розвитку прогресуючого судинного ураження ГМ, доводять доцільність їх використання з метою корекції тотальної або часткової ішемії ГМ.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукових завдань, що стосуються розробки нових методів корекції тотальної або часткової ішемії ГМ у щурів лінії SHR в умовах розвитку гіпертензивної та ускладненої хронічною алкогольною інтоксикацією ДЕ. Отримані експериментальні дані розкривають механізми самостійного та поєднаного застосування рКЦГ та кЯВК КК, які спрямовані на підвищення активності компенсаторних процесів в регуляторних системах організму, порушених внаслідок розвитку прогресуючого судинного ураження ГМ.

1. В проведених дослідженнях експериментально обґрунтована доцільність використаних в роботі моделей ДЕ. Було показано, що для тварин лінії SHR і щурів цієї лінії з моделлю ХАІ були характерні гістологічні ознаки зміни архітекτονіки судинного русла і прогресуючого дегенеративно-дистрофічного ураження тканин ГМ (крововиливи в підкіркових структурах, ішемічні інфаркти в корі ГМ). У тварин з гіпертензивною ДЕ відзначалось значуще зниження кількості нейронів (на 24,31%) і числа ФК (на 25,61%). ХАІ щурів лінії SHR поглиблювала перебіг патологічного процесу, що виражалось в значущому, в порівнянні з контрольними щурами SHR, збільшенні НГІ (в 1,5 рази) і зниженні кількості ФК (на 33,1%).

2. Продемонстровано, що на відміну від самостійного використання, поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК у щурів з різними формами ДЕ чинить більш виражений позитивний вплив на структуру тканин і судин ГМ. Знижувались ознаки прояву дистрофічних, деструктивних і патологічно змінених компенсаторно-адаптивних процесів в ГМ за рахунок регенерації нейроклітин, стимуляції ангиогенезу, повної або часткової відсутності ознак гіперплазії гладком'язових клітин, гострих геморагій і ішемічних інфарктів, спазму стінок артеріальних судин. Спостерігалось зменшення НГІ, збільшення кількості ФК (на 25,68% і 20,17% у щурів з ДЕ гіпертензивного типу і на 47,58 і 75,90% у тварин з ДЕ, обтяженої ХАІ).

3. Доведено, що у щурів з гіпертензивною ДЕ вміст МДА в тканинах ГМ значуще збільшувався (в 2,6 рази), що свідчить про інтенсифікацію процесів ПОЛ. ХАІ супроводжувалася подальшою активацією ПОЛ. Застосування рКЦГ у тварин лінії SHR, незалежно від форми ДЕ, не змінювало вихідний рівень активності процесів ПОЛ у тканинах ГМ. Введення кЯВК КК і в більшій мірі поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК сприяло підвищенню антиоксидантного захисту тканин ГМ щурів лінії SHR з ДЕ змішаного генезу завдяки зменшенню вмісту МДА в тканинах ГМ (на 22,5% і 2 % відповідно), при цьому не впливаючи на процеси ПОЛ у тварин з генетично детермінованою формою дисциркуляторної енцефалопатії.

4. Встановлено, що у гіпертензивних щурів SHR збільшувалась кількість циркулюючих еритроцитів, в'язкість периферичної крові, показники гематокриту на тлі зниження рівня постачання кисню до тканин. ХАІ призводила до зменшення кількості еритроцитів периферичної крові, в'язкості крові, показників гематокриту та рівня постачання кисню до тканин. РКЦГ не впливала на основні гемореологічні показники крові у щурів з гіпертензивною формою ДЕ, проте на 7 добу підвищувала на 23% рівень постачання кисню до тканин в групі щурів з ДЕ, обтяженою ХАІ. У спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR, незалежно від форми ДЕ, введення кЯВК КК і їх поєднане застосування з рКЦГ на всіх етапах експериментальних досліджень призводило до значного поліпшення оксигенації органів і тканин: в середньому на 15% для щурів групи SHR і на 43% для групи SHR з ХАІ.

5. Показано, що тварин з гіпертензивною і змішаною формами ДЕ спостерігалися порушення узгодження регуляторних процесів автономного контуру і надсегментарного рівня вегетативної регуляції. Вегетативна дисфункція супроводжувалася стійким підвищенням рівня АТ (до $(221,1 \pm 6,4)$ мм рт.ст. для щурів SHR та до $(247,5 \pm 2,5)$ мм рт.ст. для щурів SHR на тлі ХАІ). Поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК сприяло активації вищих вегетативних центрів автономної нервової системи та стійкому зниженню показників АТ (до $(200,0 \pm 3,4)$ мм рт.ст. для щурів SHR та до $(195,3 \pm 2,9)$ мм рт.ст. для щурів SHR на тлі ХАІ).

6. Виявлено, що у щурів SHR, незалежно від форми ДЕ, спостерігались труднощі в отриманні навичок знаходження платформи в водному лабіринті Моріса. Поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК сприяло до корекції когнітивних функцій у щурів з різними формами ДЕ за рахунок підвищення цілеспрямованої рухової активності і просторової орієнтації.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Winkel P, Bath PM, Glud C, Lindschou J, van der Worp HB, Macleod MR, et al. Statistical analysis plan for the EuroHYP-1 trial: European multicentre, randomised, phase III clinical trial of the therapeutic hypothermia plus best medical treatment versus best medical treatment alone for acute ischaemic stroke. *Trials*. [Internet]. 2017 Nov 29 [cited 2018 Feb. 20];18(1):573. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29187242>
2. van der Worp HB, Macleod MR, Bath PM, Demotes J, Durand-Zaleski I, Gebhardt B, Glud C, et al. EuroHYP-1: European multicenter, randomized, phase III clinical trial of therapeutic hypothermia plus best medical treatment vs. best medical treatment alone for acute ischemic stroke. *Int J Stroke*. [Internet]. 2014 Jul [cited 2018 May 12];9(5):642-5. Epub 2014 May 15. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24828363>
3. Шевелев ОА, Бутров АВ, Ходорович НА, Смоленский АВ, Каленова ИЕ, Бояринцев ВВ и др. Краниocereбральная гипотермия. Теория и практика Москва: ООО «КриоТехМед»; 2017. 72 с.
4. Nolan JP, Soar J, Cariou A. European Resuscitation Council and European Society of Intensive Care Medicine Guide lines for Post-resuscitation Care 2015. Section 5 of the European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2015. Resuscitation. [Internet]. 2015 [cited 2018 Feb. 25];95:202–22. Available from: <https://ercguidelines.elsevierresource.com/european-resuscita...>
5. Усенко ЛВ, Царев АВ, Кобеляцкий ЮЮ. Сердечно-легочная и церебральная реанимация: новые рекомендации Европейского совета по реанимации 2015 г. Медицина неотложных состояний. 2016;4:25–35.
6. Бутров АВ, Шевелев ОА, Петрова МВ, Кондратьев АН, Чебоксаров ДВ, Шестов АВ, и др. Методические рекомендации по применению медицинского изделия «АТГ-01 (аппарат терапевтической гипотермии-01)» у больных в критических состояниях ТУ 9444-001-74101900-2011, РУ №ФСР 2011/11788: учеб.пособие; ФГАОУ ВПО «Российский университет дружбы народов», ФГБУ

РНИИ им. Л.А. Поленова, ФГБУ Клиническая больница №1 УДП. Москва; 2014. 41 с.

7. Усенко ЛВ, Царев АВ, Кобеляцкий ЮЮ. Сердечно-легочная и церебральная реанимация: новые рекомендации Европейского совета по реанимации 2010 г. Медицина неотложных состояний. 2011;3(34):44–51.

8. Григорьев ЕВ, Шукевич ДЛ, Плотников ГП, Тихонов НС. Терапевтическая гипотермия: возможности и перспективы. Клиническая медицина. 2014;92(9):9–16.

9. Lampe JW, Becker LB. State of the art in therapeutic hypothermia. Annu Rev Med. 2011;11(62):79–93.

10. Бабийчук ВГ, Марченко ВС, Бабийчук ГА. Влияние охлаждения на структурно-функциональное состояние гематоэнцефалического барьера В: Гольцев АН, редактор. Актуальные проблемы криобиологии и криомедицины. Харьков: ИПКиК НАНУ; 2012. с. 655–704.

11. Бабийчук ГА, Марченко ВС, Ломакин ИИ, Белостоцкий АВ. Нейрофизиологические процессы охлажденного мозга. К.: Наукова думка; 1992. 208 с.

12. Бабийчук ГА, Шифман МИ. Нейрохимические процессы в центральной нервной системе при гипотермии. К.: Наукова думка; 1989. 152 с.

13. Nariyuki H, Dalton WD. Brain hypothermia treatment [Internet]. Japan: Springer; [cited 2018 Feb. 9]; 2004. 325 s. Available from: <https://books.google.com.ua/books?isbn>

14. Волошин ПВ, Бачериков АМ, Шестопалова ЛФ, Підкоритов ВС, Реміняк ВІ, Ткаченко ТВ. и др., винахідники; Інститут проблем кріобіології і кріомедицини, патентовласник. Спосіб лікування психотичних та непсихотичних психічних розладів. Патент України №2003065046. 15.01.2004.

15. Гончарова ІЄ. Динаміка нейрофізіологічних показників у хворих із психічними порушеннями, внаслідок хронічної гіпертонічної дисциркуляторної енцефалопатії в процесі лікування методом краніоцеребральної гіпотермії. Архів психіатрії. 2005;11(4):93–5.

16. Лесников ДВ, Радущкевич ВЛ. Краниocereбральная гипотермия в комплексе интенсивной терапии металкогольных психозов. Прикладные информационные аспекты медицины. 2014;17(1):111–4.

17. Бабийчук ВГ. Влияние ритмического охлаждения на кардиорегуляторные механизмы функционирования гематоэнцефалического барьера при стресс индуцированной гипертензии [диссертация]. Харків: Інститут проблем кріобіології і кріомедицини; 2002. 163 с.

18. Бабийчук ВГ. Механизмы действия экстремально низких температур на структурно-функциональное состояние центральной нервной и сердечно-сосудистой систем у животных различных возрастных групп [диссертация]. Харків: Інститут проблем кріобіології і кріомедицини; 2010. 335с.

19. Раимкулов БН. Цереброваскулярные расстройства (обзор литературы). Вестник КазНМУ. 2014;1(2):185–8.

20. Зінченко ОМ, Міщенко ТС. Стан неврологічної служби в Україні в 2015 році. Харків, 2016. 23 с.

21. Мищенко ТС. Эпидемиология цереброваскулярных заболеваний и организация помощи больным с мозговым инсультом в Украине. Український вісник неврології. 2017; 25(90):22–4.

22. Мищенко ТС, Здесенко ИВ. Терапевтические возможности коррекции венозных нарушений при дисциркуляторной энцефалопатии. Международный неврологический журнал. 2013;2(56):141–6.

23. Ярыгин ВН, редактор. Регенеративная биология и медицина. Книга II. Клеточные технологии в терапии болезней нервной системы Екатеринбург; Москва; Омск; Томск; Ханты-Мансийск: Омская областная типография; 2015. 360 с.

24. Цымбалюк ВИ, Медведев ВВ. Нейрогенные стволовые клетки. Киев: Коваль; 2005. 596 с.

25. Петренко АЮ, Хунов ЮА, Иванов ЭН. Стволовые клетки. Свойства и перспективы клинического применения: монография. Луганск: ООО «Пресс-экспресс»; 2011. 368 с.

26. Владимирская ЕБ, Майорова ОА, Румянцев СА, Румянцев АГ. Биологические основы и перспективы терапии стволовыми клетками. Москва: Медпрактика; 2005. 391 с.
27. Davis C. Cell Therapy for Brain Injury. NY: Humana; 2015. 365 s.
28. Morser J, Nishikawa SI, Schoeler HR, editors. Stem cells in reproduction and in the brain. NY: Springer Science & Business Media; 2006. 138 s.
29. Newman MB, Willing AE, Manressa JJ, Sanberg CD, Sanberg PR. Cytokines produced by cultured human umbilical cord blood (HUCB) cells: implications for brain repair. *Experimental Neurology*. 2006;199(1):201–8.
30. Пальцев МА, Сухих ГТ, Смирнов ВН. Терапевтический потенциал стволовых клеток пуповинной крови (неврология и психиатрия). *Российские Медицинские Вести*. 2009;XIV(2):84–6.
31. Исаев АА, Мелихова ВС. Применение клеток пуповинной крови в клинической практике. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2008;3(1):34–43.
32. Гольцев АН, Калиниченко ТА. Пуповинная кордовая кровь человека как источник гемопоэтических клеток для клинического применения. Часть 1. Характеристика гемопоэтического потенциала. *Проблемы криобиологии*. 1998;(1):3–24.
33. Айдарова ВС, Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ, Бабийчук ГА. Возможности использования клеток кордовой крови в неврологии. *Проблемы криобиологии и криомедицины*. 2016;26(2):103–15.
34. Goodwin H, Bicknese A, Chien S, Bogucki BD, Quinn CO, Wall DA. Multilineage differentiation activity by cells isolated from umbilical cord blood: expression of bone, fat, and neural markers. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2001;7(11):581–8.
35. Lee OK, Kuo TK, Chenet W.-M, Lee KD, Hsieh SL, Chen TH. Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Blood*. 2004;103(5):1669–75.

36. Achyut BR, Varma NRS, Arbab AS. Application of umbilical cord blood derived stem cells in diseases of the nervous system. J Stem Cell Res Ther. [Internet]. 2014 [cited 2018 Feb. 20];4:1000202. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4296316/>

37. Jaing TH. Umbilical cord blood: a trustworthy source of multipotent stem cells for regenerative medicine. Cell Transplant. 2014;23(4–5):493–6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24816446>

38. Бабийчук ЛО, Грищенко ВІ, Гуріна ТМ, Зубов ПМ, Рязанцев ВВ, Кудокоцева ОВ та ін., винахідники; Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, патентовласник. Спосіб кріоконсервування ядровмісних клітин кордової крові, у тому числі гемопоетичних стовбурових клітин. Патент України № 92227. 2010.

39. Бачериков АН, Романова АА. Пути преодоления резистентности к психотропным препаратам с сочетанным применением краниocereбральной гипотермии и респондента (описание клинического случая). Український вісник психоневрології. 2003;11(3):26–7.

40. Ломакин ИИ. Обоснование методов лечебного охлаждения в терапии хронического алкоголизма. Проблемы кріобиологии. 2008;18(3):383–5.

41. Randal JT, King M, Lui K, Oldridge N, Piña IL, Spertus J. AACVPR/ACCF/AHA 2010 Update: Performance measures on cardiac rehabilitation for referral to cardiac rehabilitation/secondary prevention services. A report of the American association of cardiovascular and pulmonary rehabilitation and the American college of cardiology foundation/American heart association task force on performance measures (writing committee to develop clinical performance measures for cardiac rehabilitation) circulation [Internet]. 2010 Sept. 27 [cited 2018 Feb 2];122(3):1342–50. Available from: <https://DOI.org/10.1161/CIR.0b013e3181f5185b/>

42. Maricleod MR, Petersson J, Norrving B, Hacke W, Dimagl U, Wagner M. et al. Hypothermia for Stroke: call to action 2010. International Journal of Stroke, 2010;5(Is.6):489–92.

43. Царев АВ. Целевой температурный менеджмент в клинической практике интенсивной терапии критических состояний. Медицина неотложных состояний. 2014;7:186–91.

44. Alva N, Palomeque J, Carbonell T. Oxidative stress and antioxidant activity in hypothermia and rewarming: can rons modulate the beneficial effects of therapeutic hypothermia? *Oxid Med Cel Longev*. [Internet]. 2013 Oct. [cited 2018 Feb 16];2013(Article ID 957054), 10 s. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/957054>.

45. Marx J, Hockberger R, Walls R. Rosen's emergency medicine: concepts and clinical practice. USA: Mosby, Elsevier, Philadelphia; 2010. 2894 s.

46 11. Gentilello LM. Advances in the management of hypothermia. *Surgical Clinics of North America*. 1995;75(2):243–56.

47. Кудokoцева ОВ, Ломакин ИИ. Общая экстремальная аэрокриотерапия. *Провизор*. 2006;3:14–6.

48. Панченко О.А. Криотерапия. Киев: КВИЦ; 2013. 188 с.

49. Marion DW, Leonov Y, Ginsberg M. Resuscitative hypothermia. *Critical Care Medicine*. 1996;24(2):S81–S9.

50. Maier CM, Steinberg GK, editors. Hypothermia and cerebral ischemia: Mechanisms and Clinical Applications. NY: Humana Press Inc.; 2004. 188 s.

51. Capoluongo E. Effect of whole body hypothermia on inflammation and surfactant function in asphyxiated neonates. *ER J Express* [Internet]. 2014 Aug. 19 [cited 2018 Feb 16]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25142478>

52. Han HS, Park J, Kim JH, Suk K. Molecular and cellular pathways as a target of therapeutic hypothermia;pharmacological aspect. *Curr Neuropharmacol*. 2012;10:80–7.

53. Ball MK, Hillman NH, Kallapur SG, Polglase GR, Jobe AH, Pillow JJ. Body temperature effects on lung injury in ventilated preterm lambs. *Resuscitation* 2010;81:749–54.

54. Suri LN, McCaig L, Picardi MV, Ospina OL, Veldhuizen RA, Staples JF, et al. Adaptation to low body temperature influences pulmonary surfactant composition

thereby increasing fluidity while maintaining appropriately ordered membrane structure and surface activity. *Biochim Biophys Acta* 2012;1818:1581–9.

55. Pietrini D, Pennisi M, Vitale F, Pulitanò SM, Conti G, Mancino A, et al. Rescue hypothermia for refractory hypercapnia. *Eur J Pediatr* 2012;171:1855–7.

56. Polderman KH. Hypothermia, immune suppression and SDD: can we have our cake and eat it? *Critical Care* [Internet]. 2011 Mar 31 [cited 2018 Feb 16];15(2):article 144. Available from: <https://doi.org/10.1186/cc10080>

57. Schumacker PT, Rowland J, Saltz S, Nelson DP, Wood LDH. Effects of hyperthermia and hypothermia on oxygen extraction by tissues during hypovolemia. *J Applied Physiology*. 1987;63(3):1246–52.

58. Choi HA, Badjatia N, Mayer SA. Hypothermia for acute brain injury—mechanisms and practical aspects. *Nature Rev. Neurol.* 2012;8:214–22.

59. Dietrich WD, Bramlett HM. The evidence for hypothermia as a neuroprotectant in traumatic brain injury. *Neurotherapeutics*. 2010;7:43–50.

60. Dine CJ, Abella BS. Therapeutic hypothermia for neuroprotection. *Emerg. Med. Clin. N. Am.* 2009;27:137–49.

61. Liu L, Kim JY, Koike MA, Yoon YJ, Tang XN, Ma H, et al. FasL shedding is reduced by hypothermia in experimental stroke. *J. Neurochem.* 2008;106:541–50.

62. Peterson K, Carson S, Cairney N. Hypothermia treatment for traumatic brain injury: a systematic review and meta-analysis. *J. Neurotrauma*. 2008;25:62–71.

63. Hypothermia After Cardiac Arrest Study Group. Mild therapeutic hypothermia to improve the neurologic outcome after cardiac arrest. *N. Engl. J. Med.* 2002;346:549–56.

64. Kim F, Olsufka M, Longstreth WT, Maynard C, Carlbom D, Deem S, et al. Pilot randomized clinical trial of prehospital induction of mild hypothermia in out-of-hospital cardiac arrest patients with a rapid infusion of 4 degrees C normal saline. *Circulation*. 2007;115:3064–70.

65. McIntyre LA, Fergusson DA, Hebert PC, Moher D, Hutchison JS. Prolonged therapeutic hypothermia after traumatic brain injury in adults: a systematic review. *J.A.M.A.* 2003;289:2992–9.

66. Sadaka F, Veremakis C. Therapeutic hypothermia for the management of intracranial hypertension in severe traumatic brain injury: a systematic review. *Brain Inj.* 2012;26:899–908.
67. Shankaran S, Laptook AR, Ehrenkranz RA, Tyson JE, McDonald SA, Donovan EF, et al. Whole-body hypothermia for neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy. *N. Engl. J. Med.* 2005;353:1574–84.
68. Sinclair HL, Andrews PJ. Bench-to-bedside review: Hypothermia in traumatic brain injury. *Crit. Care.* 2010;14:204 s.
69. Chihara H, Blood AB, Hunter CJ, Power GG. Effect of mild hypothermia and hypoxia on blood flow and oxygen consumption of the fetal sheep brain. *Pediatr. Res.* 2003;54:665–71.
70. Drury PP, Bennet L, Gunn AJ. Mechanisms of hypothermic neuroprotection. *Semin. Fetal Neonatal Med.* 2010;15:287–92.
71. Masaoka H. Cerebral blood flow and metabolism during mild hypothermia in patients with severe traumatic brain injury. *J. Med. Dent. Sci.* 2010;57:133–8.
72. van der Worp HB, Sena ES, Donnan GA, Howells DW, Macleod MR. Hypothermia in animal models of acute ischaemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *Brain.* 2007;130:3063–74.
73. Amantea D, Nappi G, Bernardi G, Bagetta G, Corasaniti MT. Postischemic brain damage: pathophysiology and role of inflammatory mediators. *FEBS J.* 2009;276:13–26.
74. Choi HA, Badjatia N, Mayer SA. Hypothermia for acute brain injury—mechanisms and practical aspects. *Nature Rev. Neurol.* 2012;8:214–22.
75. Kawanishi M, Kawai N, Nakamura T, Luo C, Tamiya T, Nagao S. Effect of delayed mild brain hypothermia on edema formation after intracerebral hemorrhage in rats. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* 2008;17:187–95.
76. Ji X, Luo Y, Ling F, Stetler RA, Stetler RA, Lan J, Cao G, et al. Mild hypothermia diminishes oxidative DNA damage and pro-death signaling events after

cerebral ischemia: a mechanism for neuroprotection. *Front Bioscience*. 2002;12:1737–47.

77. Wang GJ, Deng HY, Maier CM, Sun GH, Yenari M. Mild hypothermia reduces ICAM-1 expression, neutrophil infiltration and microglia/monocytic accumulation following experimental stroke. *Neuroscience*. 2002;114:1081–90.

78. Park E, Bell J, Baker A. Traumatic brain injury: can the consequences be stopped? *CMAJ*. 2008;178(9):1163–70.

79. Arcure J, Harrison E. Review Article of the Use of Early Hypothermia in the Treatment of Traumatic Brain Injuries. *J. Spec. Oper. Med*. 2009;9(3):22–5.

80. Dietrich WD. Therapeutic hypothermia for spinal cord injury. *Crit. Care Med*. [Internet]. 2008 [cited 2018 Feb 16];37(7):S238-S242. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19535953>

81. Волотовская АВ, Колтович ГК, Козловская ЛЕ, Мумин АН. Криотерапия: учеб.-метод. пособие. Минск: Бел.МАПО; 2010. 26 с.

82. Конов АВ, Шевелёв ОА, Смоленский АВ, Беличенко ОИ, Тарасов АВ, Хусайнов ЗМ. Использование локальной терапевтической краниocereбральной гипотермии для профилактики осложнений легкой черепно-мозговой травмы в спорте. *Терапевт*. 2015;(11–12):21–8.

83. Шевелев ОА, Бутров АВ, Евдокимов ЕА. Краниocereбральная гипотермия – методика защиты мозга в неотложных состояниях. *Новости анестезиологии и реаниматологии*. 2009;(1):15–9.

84. Шевелев ОА., Бутров АВ. Технологии лечебной гипотермии в интенсивной терапии и реаниматологии. *Неотложная медицина*. 2010;3:45–9.

85. Царенко СВ. Нейрореаниматология. Интенсивная терапия черепно-мозговой травмы. Москва: Медицина; 2009. 384 с.

86. Olivero W. Patients were randomly assigned to groups receiving either the cooling helmet or no cooling, and brain temperatures. *J Neurosurgery*. 2004;4(4):232–9.

87. Дерягин МН. Краниocereбральная гипотермия в хирургии сонных артерий [диссертация в интернете]. Новосибирск: Гос. учреждение «Новосибирский научно-исследовательский ин-т патологии кровообращения им.

ак. Е.Н. Мешалкина МЗ РФ» 2004 [цитовано 2018 Бер. 25]. Доступно: <http://medical-diss.com/medicina/kraniotserebralnaya-gipotermiya-v-hirurgii-sonnyh-arteriy#ixzz5CounBil4>.

88. Бачериков АМ. До патогенетичного обґрунтування використання КЦГ в лікуванні травматичної хвороби мозку. Укр. вісн. психоневрології. 1994;(1):96–8.

89. Гончарова ІЄ. Ефективність терапії із застосуванням методу краніоцеребральної гіпотермії у лікуванні психічних розладів внаслідок хронічної гіпертонічної дисциркуляторної енцефалопатії [автореферат дисертації]. Харків: Державна установа «Інститут неврології, психіатрії і наркології АМН»; 2008. 25 с.

90. Azmoon S, Demarest C, AL P, Hjemdahl-Monsen C, Kay R, Ahmadi N. et al. Neurologic and cardiac benefits of therapeutic hypothermia. *Cardiol Rev.* 2011;19:108–14.

91. Prandini MN, Filho AN, Lapa AJ, Stavale JN. Mild hypothermia reduces polymorphonuclear leukocytes infiltration in induced brain inflammation. *Arq. Neuro-Psiquiatr.* [Internet]. 2005 [cited 2018 Feb 2];63(3b). Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/S0004-282X2005000500012>.

92. Bernard SA, Buist M. Induced hypothermia in critical care medicine: a review. *Crit Care Med.* 2003;31:2041–51.

93. Polderman KH. Mechanisms of action, physiological effects, and complications of hypothermia. *Crit Care Med.* 2009;37:186–202.

94. Hossmann KA. Resuscitation potentials after prolonged global cerebral ischemia in cats. *Crit Care Med.* 1988;16(10):923–41.

95. Leonov Y, Sterz F, Safar P, Radovsky A. Moderate hypothermia after cardiac arrest of 17 minutes in dogs. Effect on cerebral and cardiac outcome. *Stroke.* 1990;21(11):1600–6.

96. Lyden TM. Induced hypothermia for acute stroke. *Stroke.* 2007;38(2):794–9.

97. Tahir RA, Pabaney AH. Therapeutic hypothermia and ischemic stroke: A literature review. *Surg Neurol Int.* [Internet]. 2016 [cited 2018 Feb 14];7(Suppl 14):S381–S386. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27313963>

98. Ustinskaya S, Sharinova I, Litvinov N, Petrova M, Torosayn B, Kalenova I. et al. EEG and cerebral blood flow velocity parameters in healthy adult on the background of therapeutic craniocerebral hypothermia. [Internet]. 2018 [cited 2018 Apr. 18];P3.269. Available from: n.neurology.org/content/90/15_Supplement/P3.269

99. Sharinova I, Stulin I, Kalenova I, Shevelev O, Ustinskaya S, Litvinov N. et al. The effectiveness of combination therapeutic craniocerebral hypothermia and trombolysis in hyperacute stroke manegment. [Internet]. 2018 [cited 2018 Apr. 18];90 (15 Supplement):P4.252. Available from: n.neurology.org/content/90/15_Supplement/P4.252 –.

100. Liu C-Y, Pang H-L, Huang H-Z, Du J, Li B. The cerebral protective effect of mouse nerve growth factor combined with early mild hypothermia therapy for patients with severe craniocerebral injury and the influence on the inflammatory and stress reaction indexese. J Hainan Medical University. 2017;23(7):113–7.

101. Шевелев ОА, Бутров АВ, Каленова ИЕ, Шаринова ИА. Краниocereбральная гипотермия в терапии ишемического инсульта. Біль, знеболення та інтенсивна терапія. 2012;1:605–8.

102 . Yenari M, Kitagawa K, Lyden P, Perez-Pinzon M. Metabolic Downregulation A Key to Successful Neuroprotection? Stroke. 2008;39:2910–7.

103. Бочаров МИ. Терморегуляция организма при холодových воздействиях (обзор). Сообщение 1. Вестник САФУ: Серия «Медико-биологические науки. 2015;2:5–16.

104. Harrigan MR, Deveikis JP. Handbook of Cerebrovascular Disease and Neurointerventional Technique. NY: Springer; 2018. 1102 s.

105. Липовецкий БМ. Эпидемиология ишемической болезни сердца, цереброваскулярной болезни и артериальной гипертензии. СПб: ЭкоВектор; 2013. 175 с.

106. Корнацкий ВМ. Проблемы болезней системы кровообращения и пути ее минимизации в Украине. Кардиология [Интернет]. 2013 [цитовано 2018 Бер. 19]; 5(07). Доступно на: <http://kardiolog.in.ua/5-07-2013/172-problema-boleznei-sitemu-krovoobrascheniya>

107. Brien JO, Ames D, Gustafson L, editors. Cerebrovascular disease, cognitive impairment and dementia. London: Martin Dunitz; 2004. 406 s.
108. Насонова ТИ, Сазонова ИВ. Старение мозга: возможности нейрогеропротекторной терапии. Міжнародний неврологічний ж. 2014;67(5):79–85.
109. Пристром МС, Пристром СЛ, Семененков ИИ. Старение физиологическое и преждевременное. Современный взгляд на проблему. Медицинские новости. 2015;2:36–45.
110. Штульман ДР, Левин ОС. Неврология. Справочник практического врача. Москва: Медпресс-информ; 2008. 1080 с.
111. Meissner A. Hypertension and the brain: A risk factor for more than heart disease. Cerebrovasc Dis. 2016;42(3–4):255–62.
112. Головченко ЮИ, Трещинская МА. Патогенетические особенности развития циркуляторной гипоксии мозга при артериальной гипертензии. Медицина неотложных состояний. 2011;35(4):86–93.
113. Bakris GL, Sorrentino M. Hypertension: A Companion to Braunwald's Heart Disease. Philadelphia: Elsevier; 2018. 520 s.
114. Coca A. Hypertension and Brain Damage. NY: Springer International Publishing Switzerland; 2016. 329 s.
115. Левин ОС, Юнищенко НА. Диагностика и лечение когнитивных нарушений при дисциркуляторной энцефалопатии. Consilium medicum. 2007;8:47–53.
116. Яхно НН, Дамулин ИВ, Захаров ВВ. Дисциркуляторная энцефалопатия. Москва: МЕДпресс-информ; 2000. 32 с.
117. Drury-Stewart D, Song M, Mohamad O, Guo Y, Gu X, Chen D, et al. Highly efficient differentiation of neural precursors from human embryonic stem cells and benefits of transplantation after ischemic stroke in mice. Stem Cell Res Ther. [Internet]. 2013 [cited 2018 Feb. 15];4:93. Available from: <https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/scrt292>
118. Chang KA, Lee JH, Suh YH. Therapeutic potential of human adipose-derived

- stem cells in neurological disorders. *J Pharmacol Sci.* 2014;126:293–301.
119. Chau M, Zhang J, Wei L, Yu SP. Regeneration after stroke: Stem cell transplantation and trophic factors. *Brain Circulation.* 2016;(2):86–94.
120. Сухих ГТ, Малайцев ВВ, Богданова ИМ. Перспективы использования фетальных стволовых/прогениторных клеток человека в клеточной терапии. *Клеточные технологии в биологии и медицине.* 2008;(1):5–13.
121. Запорожан ВН, Бажора ЮИ. Стволовые клетки. Одесса: Одесский университет; 2004. 228 с.
122. Yi T, Song SU. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their therapeutic applications. *Arch Pharm Res.* 2012;35(2):213–21.
123. Lin YC, Ko TL, Shih YH, Lin MY, Fu TW, Hsiao HS, et al. Human umbilical mesenchymal stem cells promote recovery after ischemic stroke. *Stroke.* 2011;42(7):2045–53.
124. Mattis VB, Svendsen CN. Induced pluripotent stem cells: a new revolution for clinical neurology? *Lancet Neurol.* 2011;10(4):383–94.
125. Steinberg GK, Kondziolka D, Wechsler LR, Lunsford LD, Coburn ML, Billigen JB, et al. Clinical outcomes of transplanted modified bone marrow-derived mesenchymal stem cells in stroke: a phase 1/2a study. *Stroke.* 2016;47:1817–24.
126. Hoogduijn MJ, Popp F, Verbeek R, Masoodi M, Nicolaou A, Baan C, et al. The immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their use for immunotherapy. *Int Immunopharmacol.* 2010;10(12):1496–1500.
127. Azari MF, Mathias L, Ozturk E, Cram DS, Boyd RL, Petratos S. Mesenchymal stem cells for treatment of CNS injury. *Curr. Neuropharmacol.* 2010;8(4):316–23.
128. Ramesh T, Kirmani N. Role of Mesenchymal Stem Cells (MSC) in the Management of Brain Stroke. *Res Med Eng Sci.* [Internet]. 2017 [cited 2018 Jan. 5];1(4). RMES.000516.2017. Available from: <https://crimsonpublishers.com/rmes/pdf/RMES.000516.pdf>
129. Zhu J, Liu Q, Jiang Y, Wu L, Xu G, Liu X. Enhanced angiogenesis promoted by human umbilical mesenchymal stem cell transplantation in stroked mouse is

Notch1 signaling associated. *Neuroscience*. 2015;290:288–99.

130. Kern S., Eichler H., Eichler H., Stoeve J. Comparative Analysis of Mesenchymal Stem Cells from Bone Marrow, Umbilical Cord Blood, or Adipose Tissue. *Stem Cells*. 2006;24(5):1294–301.

131. Sun T, Ma Q-H. Repairing neural injuries using human umbilical cord blood. *Mol Neurobiol*. 2013;47(3):938–45.

132 . Lu X, Alshemali S, Wynter EA, Dickinson AM. Mesenchymal stem cells from CD34(-) human umbilical cord blood. *Transfus Med*. 2010; Jun 23;20(3):178–84.

133. Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ, Бабийчук ГА. Купирование фторурациловой миелодепрессии у мышей путем введения криоконсервированных препаратов кордовой крови. *Проблемы криобиологии и криомедицины*. 2015;25(4):359–70.

134. Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ, Коваленко ИФ, Бабийчук ГА. Влияние криоконсервированного клеточного препарата кордовой крови на некоторые показатели эритропоэза у мышей при цитостатической гемодепрессии. *Південноукраїнський медичний науковий журнал*. 2013;(6):63–7.

135. Румянцев АГ, Масчан АА. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей. Москва: МИА; 2003. 909 с.

136. Бабийчук ЛВ, Бабийчук ВГ, Сиротенко ЛА, Малова НГ, Коваль СН. Влияние криоконсервированных ядродержащих клеток пуповинной крови на состояние гомеостаза у животных разных возрастных групп при стресс-индуцированной артериальной гипертензии. *Гены и Клетки*. 2014;IX(4):88–94.

137. Бабийчук ЛВ, Бабийчук ВГ, Сиротенко ЛА, Малова НГ, Коваль СН. Влияние криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови на уровень конечных продуктов обмена оксида азота в сыворотке крови крыс различных возрастных групп на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии. *Експ. і клін. медицина*. 2015;(3):5–9.

138. Бабийчук ЛВ, Сиротенко ЛА, Малова НГ, Коваль СН, Бабийчук ВГ, Мамонтов ВВ. Уровни липидов и глюкозы в сыворотке крови крыс на фоне стресс-индуцированной артериальной гипертензии и после введения

криоконсервированной кордовой крови. Пробл. эндокринної патології. 2014;3:89–96.

139. Мартынова ЮВ, Бабийчук ЛВ. Оценка нейрогуморальной регуляции сердечного ритма в динамике старения крыс на фоне повторного введения ядродержащих клеток кордовой крови. Вісник Луганського національного університету ім. Т.Шевченко. Біологічні науки. 2014;12(1):14–22.

140. Чернявская ЕА. Особенности состояния вегетативной и гуморальной регуляции сердечного ритма у крыс с алиментарным ожирением на фоне введения кордовой крови. В: Димитриев ДА, редактор. Вариабельность сердечного ритма: теоретические и прикладные аспекты. Материалы всерос. заочной научн.–практ. конф. с международным участием. Чебоксары: Чувашский гос. пед. ун–т; 2014. с. 169–74.

141. Habich A, Szablowska-Gadomska I, Zayat V, Buzanska L, Domańska-Janik K. Epigenetic and molecular signature of human umbilical cord blood-derived neural stem cell (HUCB-NSC) neuronal differentiation. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2013;73:143–56.

142. Buzanska L, Jurga M, Domanska-Janik K. Neuronal differentiation of human umbilical cord blood neural stem-like cell line. *Neurodegener Dis*. 2006;3:19–26.

143. Jiang Q, Thiffault C, Kramer BC, Ding GL, Zhang L, Nejad-Davarani SP, et al. MRI detects brain reorganization after human umbilical tissue-derived cells (hUTC) treatment of stroke in rat. *PLoS One*. [Internet]. 2012 [cited 2018 Feb. 20];7:e42845. Available from: <https://journals.plos.org/.../article?...10.1371/journal.pone.00..>

144. Chopp M, Zhang ZG, Jiang Q. Neurogenesis, angiogenesis, and MRI indices of functional recovery from stroke. *Stroke*. 2007;38:827–31.

145. Iskander A., Knight R.A., Zhang Z.G., Ewing J.R., Shankar A. et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood-derived AC133+ endothelial progenitor cells in rat stroke model reduces infarct volume: magnetic resonance imaging and histological findings. *Stem Cells Transl Med*. 2013;2:703–14.

146. Мусина РА, Бекчанова ЕС, Белявский АВ, Гриненко ТС, Сухих ГТ. Мезенхимальные стволовые клетки пуповинной крови. Клеточные технологии в биологии и медицине. 2007;(1):16–20.
147. Смолянинов АВ, Хурцилава ОГ, Тыренко ВВ, Новицкий АВ, Иволгин ДА. Современная стратегия регенеративной терапии и безопасность применения аллогенных стволовых клеток пуповинной крови при нейродегенеративных заболеваниях. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2011;VI(4):14–20.
148. Harris DT. Cord blood stem cells: a review of potential neurological applications. Stem Cell Rev. 2008;4(4):269–74.
149. Zarrabi M, Mousavi SH, Abroun S, Sadeghi B. Potential Uses for Cord Blood Mesenchymal Stem Cells. Cell J. (Yakhteh). 2014;15(4):274–81.
150. Zhang MJ, Sun JJ, Qian L, Liu Z, Zhang Z, Cao W, et al. Human umbilical mesenchymal stem cells enhance the expression of neurotrophic factors and protect ataxic mice. Brain Res. 2011;1402:122–31.
151. Gallacher L, Murdoch B, Wu DM, Keeney M, Bhatia M. Isolation and characterization of human CD34(-)Lin(-) and CD34(+)Lin(-) hematopoietic stem cells using cell surface markers AC133 and CD7. Blood. 2000;95:2813–20.
152. Aoki M, Yasutake M, Murohara T. Derivation of functional endothelial progenitor cells from human umbilical cord blood mononuclear cells isolated by a novel cell filtration device. Stem Cells. 2004;22(6):994–1002.
153. Murohara T, Ikeda H, Duan J, Shintani S, Sasaki Ki, Eguchi H, et al. Transplanted cord blood-derived endothelial precursor cells augment postnatal neovascularization. J Clin Invest. 2000;105(11):1527–36.
154. Kogler G, Sensken S, Airey JA, Trapp T, Müschen M, Feldhahn N, et al. A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential. J Exp Med. 2004;200(2):123–35.
155. Xiao J, Iman Z, Motooka Y, Low WC. Transplantation of a novel cell line population of umbilical cord blood stem cells ameliorates neurological deficits associated with ischemic brain injury. Stem Cells Dev. 2005;14(6):722–33.

156. Buzanska L, Machaj EK, Zablocka B, Pojda Z, Domanska-Janik K. Human cord blood-derived cells attain neuronal and glial features in vitro. *J. Cell Sci.* 2002;115(10):2131–8.
157. Bicknese AR, Goodwin HS, Quinn CO, Henderson VCD, Chien SN, Wall DA. Human umbilical cord blood cells can be induced to express markers for neurons and glia. *Cell Transplant.* 2002;11(3):261–4.
158. Jang YK, Park JJ, Lee MC, Yoon BH, Yang YS, Yang SE, Kim SU. Retinoic acid-mediated induction of neurons and glial cells from human umbilical cord-derived hematopoietic stem cells. *J. Neurosci. Res.* 2004;75(4):573–84.
159. Rafieemehr H, Kheirandish M, Soleimani M. Neural Differentiation of Human Umbilical Cord Blood-derived Mesenchymal Stem Cells. *Avicenna J Med Biochem.* [Internet]. 2016 [cited 2017 Feb. 14]:e29066. Available from: <https://pdfs.semanticscholar.org/.../b61c8871d40790318a89..>
160. Markiewicz I, Sypecka J, Domanska-Janik K, Wyszomirski T, Lukomska B. Cellular Environment Directs Differentiation of Human Umbilical Cord. *J Histochem Cytochem.* 2011 Mar;59(3):289–301.
161. Jahan S, Kumar D, Kumar A. Neurotrophic factor mediated neuronal differentiation of human cord blood mesenchymal stem cells and their applicability to assess the developmental neurotoxicity. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 2017;482(Is.4,22):961–7.
162. Yousefia B, Sanooghi D, Faghihi F. Evaluation of motor neuron differentiation potential of human umbilical cord blood- derived mesenchymal stem cells, in vitro. *J. Chemical Neuroanatomy.* 2017;81:18–26.
163. Peng L, Shu X, Lang C, Yu X. Cardiotrophin-1 stimulates the neural differentiation of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells and survival of differentiated cells through PI3K/Akt-dependent signaling pathways. *Cytotechnology.* 2017;69(6):933–41.
164. Alqtish A, Murphy SV, editors. *Perinatal Stem Cells*. NY: Springer Science+Business Media; [Internet] 2014 [cited 2017 Feb. 14]. Available from: <https://www.springer.com/la/book/9781493911172>

165. Chen J, Sanberg PR, Li Y, Wang L, Lu M, Allison E. et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats. *Stroke*. 2001;32(11):2682–8.

166. Vendrame M, Cassady J, Newcomb J, Butler T, Pennypacker KR, Zigova T, et al. Infusion of human umbilical cord blood cells in a rat model of stroke dosedependently rescues behavioral deficits and reduces infarct volume. *Stroke*. 2006;35:2390–5.

167. Сурков КГ, Белова ЛА, Красняков ВК. Экспериментальное исследование антиишемического эффекта препарата стволовых клеток пуповинной крови. Британско-российское совещание о сотрудничестве с Европейской Комиссией В: Стволовые клетки: законодательство, исследования и инновации. Международные перспективы сотрудничества: Тез. докл. [Интернет-журнал «Коммерческая биотехнология»]; 2007 [цитовано 2017 Бер. 5] Март 15; Москва; с. 180. Доступно на: <http://www.cbio.ru/>.

168. Karlupia N, Manley NC, Prasad K, Schafer R, Steinberg GK. Intraarterial transplantation of human umbilical cord blood mononuclear cells is more efficacious and safer compared with umbilical cord mesenchymal stromal cells in a rodent stroke model. *Stem Cell Res Ther*. [Internet] 2014 [cited 2017 Feb. 14]; 5:45. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24690461>

169. Riordan NH, Chan K, Marleau AM, Ichim TE. Cord blood in regenerative medicine: do we need immune suppression? *J Transl Med*. [Internet] 2007 [cited 2017 Feb. 21];5:8. Available from: <https://translational-medicine.biomedcentral.com/.../1479-58...>

170. Ballen KK, Gluckman E, Broxmeyer HE. Umbilical cord blood transplantation: the first 25 years and beyond. *Blood*. 2013;122:491–8.

171. Rosenkranz K, Meier C. Umbilical cord blood cell transplantation after brain ischemia—from recovery of function to cellular mechanisms. *Ann Anat*. 2011;193:371–9.

172. Boltze J, Schmidt UR, Reich DM, Kranz A, Reymann KG, Strassburger M, et al. Determination of the therapeutic time window for human umbilical cord blood

mononuclear cell transplantation following experimental stroke in rats. *Cell Transplant*. 2012;21:1199–211.

173. Lin YC, Ko TL, Shih YH, Lin MY, Fu TW, Hsiao HS, et al. Human umbilical mesenchymal stem cells promote recovery after ischemic stroke. *Stroke*. 2011;42:2045–53.

174. Taguchi A, Soma T, Tanaka H, Kanda T, Nishimura H, Yoshikawa H, et al. Administration of CD34+ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model. *J Clin Invest*. 2004;114:330–8.

175. Huang L, Liu Y, Lu J, Cerqueira B, Misra V, Duong TQ. Intraarterial transplantation of human umbilical cord blood mononuclear cells in hyperacute stroke improves vascular function. *Stem Cell Research & Therapy*. [Internet]. 2017; [cited 2017 Jan. 5]; 8:74. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13287-017-0529-y>

176. Arien-Zakay H, Lecht S, Bercu MM, Tabakman R, Kohen R, Galski H, et al. Neuroprotection by cord blood neural progenitors involves antioxidants, neurotrophic and angiogenic factors. *Exp Neurol*. 2009;216:83–94.

177. Bachstetter AD, Pabon MM, Cole MJ, Hudson CE, Sanberg PR, Willing AE, et al. Peripheral injection of human umbilical cord blood stimulates neurogenesis in the aged rat brain. *BMC Neurosci*. [Internet]. 2008 [cited 2017 Apr. 5]; Feb 14;9:22. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18275610>

178. Yang Z, Covey MV, Bitel CL, Jonakait GM, Levison SW. Sustained neocortical neurogenesis after neonatal hypoxic/ischemic injury. *Ann Neurol*. 2007;61:199–208.

179. Artegiani B, Calegari F. Age-related cognitive decline: can neural stem cells help us? *Aging (Albany NY)* 2012;4:176–86.

180. Wang X, Zhao Y, Wang X. Umbilical cord blood cells regulate the differentiation of endogenous neural stem cells in hypoxic ischemic neonatal rats via the hedgehog signaling pathway. *Brain Res*. 2014;1560:18–26.

181. Jensen A, Hamelmann E. First autologous cell therapy of cerebral palsy caused by hypoxic-ischemic brain damage in a child after cardiac arrest-individual

treatment with cord blood. Case Rep Transplant. [Internet] 2013 [cited 2017 Apr. 19];2013:951827. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23762741>

182. Park DH, Borlongan CV, Willing AE, Eve DJ, Cruz LE, Sanberg CD. Human umbilical cord blood cell grafts for brain ischemia. Cell Transplant. 2009;18:985–98.

183. Meier C, Middelanis J, Wasielewski B, Neuhoﬀ S, Roth-Haerer A, Gantert M. Spastic paresis after perinatal brain damage in rats is reduced by human cord blood mononuclear cells. Pediatr Res. 2006;59:244–9.

184. Rodrigues LP, Iglesias D, Nicola FC, Steﬀens D, Valentim L, Witczak A. et al. Transplantation of mononuclear cells from human umbilical cord blood promotes functional recovery after traumatic spinal cord injury in Wistar rats. Braz J Med Biol Res. 2012;45:49–57.

185. Chen R, Ende N. The potential for the use of mononuclear cells from human umbilical cord blood in the treatment of amyotrophic lateral sclerosis in SOD1 mice. J Med. 2000;31:21–30.

186. Lu D, Sanberg PR, Mahmood A, Li Y, Wang L, Sanchez-Ramos J, Chopp M. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces neurological deficit in the rat after traumatic brain injury. Cell Transplant. 2002;11:275–81.

187. Zigova T, Song S, Willing AE, Hudson JE, Newman MB, et al. Human umbilical cord blood cells express neural antigens after transplantation into the developing rat brain. Cell Transplant. 2002;11(3):265–74.

188. Соколова ИБ, Полынцев ДГ. Эффективность применения мезенхимальных стволовых клеток для улучшения микроциркуляции в коре головного мозга спонтанно гипертензивных крыс. Цитология. 2017;59(4):279–84.

189. Willing AE, Lixian J, Milliken M, Poulos S, Zigova T, Song S, et al. Intravenous versus intrastriatal cord blood administration in a rodent model of stroke. J Neurosci Res. 2003;73(3):296–307.

190. Borlongan CV, Hadman M, Sanberg CD, Sanberg PR. Central nervous system entry of peripherally injected umbilical cord blood cells is not required for neuroprotection in stroke. Stroke. 2004;35:2385–9.

191. Соловьева АО, Повещенко АФ, Повещенко ОВ, Зубарева КЭ, Миллер ТВ, Коненков ВИ. Сравнительное исследование миграции и распределения донорских клеток костного мозга и селезенки в лимфоидные и нелимфоидные органы в разные сроки после трансплантации *in vivo* у мышей СВА. Бюл. СО РАМН, 2013;33(4):35–41.

192. Venkat P, Shen Y, Chopp M, Chen J. Cell-based and pharmacological neurorestorative therapies for ischemic stroke. *Neuropharmacology* [Internet]. 2017 [cited 2017 Nov. 21]; Sep 1. Available from: pii: S0028-3908(17)30399-4.

193. Pendharkar AV, Chua JY, Andres RH, Wang N, Gaeta X, Wang H, et al. Biodistribution of neural stem cells after intravascular therapy for hypoxic-ischemia. *Stroke*. 2010;41:2064–70.

194. Yu G, Borlongan CV, Christine ES, David CH, Ou Y, Kaneko Y, Yu SJ. Systemic delivery of umbilical cord blood cells for stroke therapy: A review. *Restor Neurol Neurosci*. 2009;27(1):41–54.

195. Nakanishi K, Sato Y, Mizutani Y, Ito M, Hirakawa A, Higashi Y. Rat umbilical cord blood cells attenuate hypoxic–ischemic brain injury in neonatal rats. *Scientific Reports* 7, [Internet]. 2017. [cited 2018 Jan. 10]: Article number: 44111 (2017). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28281676>

196. Li J, Chen H, Lv Y, Wang Q, Xie Z, LiHua Ma, et al. Intraperitoneal Injection of Multiplicent Pooled Cells Treatment on a Mouse Model with Aplastic Anemia. *Stem Cells Int*. 2016;2016:3279793. [Internet]. 2016 Feb 22. [cited 2017 Dec. 10]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/3279793>

197. Adibi A, Sen A, Mitha A. Cell Therapy for Intracranial Aneurysms: A Review. *World Neurosurg*. [Internet]. 2015 Nov 4. [cited 2017 Dec. 10]. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26547001>

198. Newcomb JD, Ajrno CT, Sanberg CD, Sanberg PR, Pennypacker KR, Willing AE. Timing of cord blood treatment after experimental stroke determines therapeutic efficacy. *Cell Transplantation*. 2006;15:213–23.

199. Mäkinen S, Kekarainen T, Nystedt J, Liimatainen T, Huhtala T, Närvänen A. et al. Human umbilical cord blood cells do not improve sensorimotor or cognitive outcome following transient middle cerebral artery occlusion in rats. *Brain Research*. 2006;1123:207–15.
200. Fan CG, Zhang QJ, Tang FW, Han ZB, Wang GS, Han ZC. Human umbilical cord blood cells express neurotrophic factors. *Neurosci. Lett*. 2005;380:322–5.
201. Neuhoﬀ S, Moers J, Rieks M, Grunwald T, Jensen A, Dermietzel R, et al. Proliferation, differentiation, and cytokine secretion of human umbilical cord blood-derived mononuclear cells in vitro. *Exp. Hematol*. 2007;35(7):1119–31.
202. Murray CJL, Lopez AD, editors. World Health Organization, World Bank&Harvard School of Public Health. (1996). The Global burden of disease: a comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries, and risk factors in 1990 and projected to 2020: summary [Internet]. Geneva: World Health Organization. Available from: <http://www.who.int/iris/handle/10665/41864>
203. Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, Cushman M, Das SR, Deo R. et al. Heart Disease and Stroke Statistics – 2017 Update: A Report From the American Heart Association *Circulation* [Internet]. 2017 [cited 2018 Feb 12]. Available from: <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000485> *Circulation*. 2017
204. Шахпаронова НВ, Кадыков АС. Хронические сосудистые заболевания головного мозга: алгоритм диагностики и лечения. *Consilium Medicum*. Москва: Медицинское маркетинговое агентство «МедиаМедика»; 2017;19(2):104–9.
205. Atlas country resources for neurological disorders. Geneva: World Health Organization; 2004. 60 s.
206. Olesen J, Baker M, Freud T, Luca M, Mendlewicz J, Ragan I, Westphal M. Consensus document on European brain research. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. [Internet] 2006 [cited 2018 Feb 12];77(Suppl I):P.i1–i49. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16845120>
207. Мищенко ТС. Дисциркуляторная энцефалопатия: устаревший термин или клиническая реальность? *Международный неврологический журнал*. 2013 [цитовано 2018 Лют. 2]; 2 (56). Доступно на:

<https://cyberleninka.ru/.../distsirkulyatornaya-entsefalopatiya-ustarevshiy-termin-ili-kli...>

208. Голик В.А. Организация неврологической службы в мире. Нейрон-ревю. 2008;2: 4–8.

209. Andlin-Sobocki P, Jönsson B, Wittchen HU, Olesen J. Costs of disorders of the brain in Europe. *Europ. J. Neurol.* 2005;12 (suppl.1): 1–24.

210. Голик В.А, Гондуленко НА, Мороз ЕН, Богуславский ДД, Погорелова ВА, та інш. Особенности эпидемиологии инвалидности при заболеваниях нервной системы в Украине: клинично-експертные сопоставления (10-летний украинский опыт). *Український вісник медико-соціальної експертизи* 2014;1(11):14–20.

211. Дудник С. Сердечно-сосудистые заболевания в Украине: прогнозы – неутешительны. Ваше здоров'я [Інтернет]. 2015 [цитовано 2018 Лют. 6]; Доступно на: <https://www.vz.kiev.ua/.../sercevo-sudinni-zakhvoryuvannya-v-ukrayini-prognozi-nevt>

212. Касо В. Місія ініціативи ANGELS. Судинні захворювання головного мозку. 2016;(3/4):4–5.

213. Ключева ЕГ, Александров МВ, Панина ЕБ. Цереброваскулярные заболевания. Головная боль: учебное пособие. Часть I. СПб.: Издательство СЗГМУ им. И.И. Мечникова; 2014. 52 с.

214. Дядык АИ, Багрий АЭ. Артериальные гипертензии в современной клинической практике. Донецьк: Норд-Пресс; 2006. 322 с.

215. Сіренко ЮМ. Стратегія лікування хворих на ускладнену артеріальну гіпертензію. Стратифікація ризику та упередження основних серцево-судинних захворювань. Київ, 2004. с. 22–33.

216. Кадыков АС, Манвелов ЛС, Шахпаронова НВ. Хронические сосудистые заболевания головного мозга (дисциркуляторная энцефалопатия). Москва: ГЭОТАР-Мед; 2008. 224 с.

217. Яхно НН, Штульмана ДР, редакторы. Болезни нервной системы: Руководство для врачей. Москва: Медицина; 2007. 288 с.

218. Гусев ЕИ. Сосудистые заболевания головного мозга: Руководство для врачей. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2007. 688 с.

219. Рейхерт ЛВ, Кичерова ОА, Рейхерт ЛИ. Генетические аспекты нарушений липидного обмена и их роль в развии хронической ишемии головного мозга. Медицинская наука и образование Урала. 2017;2 (90):238–40.

220. Коваленко ОЕ, Литвин ОВ. Хроническая ишемия мозга у больных с артериальной гипертензией и гипотиреозом. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2017;13(1):95–9.

221. Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем. Десятый пересмотр. (МКБ-10). Женева, 1995;1(1):315, 510–1.

222. Камчатнов ПР, Евзельман МА, Морозова ЮА. Хронические расстройства мозгового кровообращения: возможности повышения эффективности терапии. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2017;9(3):105–10.

223. Шмидт ЕВ, Лунев ДК, Верещагин НВ. Дисциркуляторная энцефалопатия. Сосудистые заболевания головного и спинного мозга. Москва: Медицина 1976; 227–44.

224. Левин ОС. Дисциркуляторная энцефалопатия: анахронизм или клиническая реальность? Современная терапия в неврологии и психиатрии. 2012;3:40–47.

225. Дамулин ИВ, Захаров ВВ. Дисциркуляторная энцефалопатия: Методические рекомендации. Москва; 2000. 20 с.

226. Гусев ЕИ, Скворцова ВИ. Ишемия головного мозга. Москва: Медицина; 2001. 328 с.

227. Парфенов ВА. Дисциркуляторная энцефалопатия: Дифференциальный диагноз и лечение. Клиницист. Москва: АБВ-пресс; 2008:38–44.

228. Котова ОВ. Дисциркуляторная энцефалопатия: новые возможности комбинированной терапии. Неврология и Психиатрия. 2013;3(32):64–70.

229. Толмачов ОА. Психічні розлади у хворих на гіпертензивну енцефалопатію: діагностика, клініка, лікування [дисертація]. Київ: Український науково-дослідний інститут соціальної і судової психіатрії та наркології МОЗ України; 2018. 204 с.

230. Неверовский ДВ. Дифференциальная диагностика дисциркуляторной енцефалопатии с выраженными когнитивными расстройствами. Клиническая геронтология. 2011;(7–8):42–9.

231. Гусев ЕИ, Коновалов АН, Скворцова ВИ. Неврология. Национальное руководство. Москва: Всерос. о-во неврологов; 2015. 1064 с.

232. Nachinski V. World stroke day proclamation. Stroke. 2008;39(10):2409–20.

233. Мурашев АН. Разработка и оценка адекватности in vivo моделей для исследования сердечно-сосудистой системы [диссертация]. Пущино: Институт биоорганической химии; 2007. 213 с.

234. Lawes CM, Vander HS, Rodgers A. International Society of Hypertension. Global burden of blood-pressure-related disease, 2001. Lancet. 2008;371(9623): 513–8.

235. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redón J, Zanchetti A, Böhm M, et al. ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). J. Hypertension. 2013;31(7):1281–357.

236. Журавлев ДА. Модели артериальной гипертензии. Спонтанно-гипертензивные крысы. Артериальная гипертензия. 2009;15(6):722–3.

237. Doris PA. Genetics of hypertension: an assessment of progress in the spontaneously hypertensive rat. Physiol genomics. 2017 Nov 1;49(11):601–17.

238. Amenta F, Di Tullio MA, Tomassoni D. Arterial hypertension and brain damage evidence from animal models (review). Clin Exp Hypertens. 2003 Aug;25(6):359–80.

239. Amenta F, Tayebati SK, Tomassoni D. Spontaneously hypertensive rat neuroanatomy: applications to pharmacological research. Ital J Anat Embryol. 2010;115(1–2):13–7.

240. Tayebati SK, Tomassoni D, Amenta F. Spontaneously hypertensive rat as a model of vascular brain disorder: microanatomy, neurochemistry and behavior. *J Neurol Sci.* 2012 Nov 15;322(1–2):241–9.

241. Соколова ИБ, Сергеев ИВ, Билибина АА, Анисимов СВ, Дворецкий ДП. Влияние интрацеребральной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток на микроциркуляцию в пияльной оболочке коры головного мозга крыс. *Клеточные технологии в биологии и медицине.* 2013;(1):16–20.

242. Соколова ИБ, Сергеев ИВ, Федотова ОР, Дворецкий ДП. Возрастные изменения микроциркуляции в коре головного мозга у крыс-гипертоников. *Успехи геронтологии.* 2016;29(4):567–72.

243. Cheng J, Liu A, Shi MY, Yan Z. Disrupted glutamatergic transmission in prefrontal cortex contributes to behavioral abnormality in an animal model of ADHD. *Neuropsychopharmacology.* 2017;42:2096–104.

244. Meneses A, Perez-Garcia G, Ponce-Lopez T, Tellez R, Gallegos-Cari A, Castillo C. Spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model for ADHD: a short overview. *Rev Neurosci.* [Internet]. 2011 [cited 2018 May 4];22(3):365–71. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21591908>

245. Kantak KM, Singh T, Kerstetter KA, Dembro KA, Mutebi MM, Harvey RC, et al. Advancing the spontaneous hypertensive rat model of attention deficit/hyperactivity disorder. *Pharmacol Biochem Behav.* 2006 Mar;83(3):380–90.

246. van den Bergh FS, Bloemarts E, Chan JS, Groenink L, Olivier B, Oosting RS. Spontaneously hypertensive rats do not predict symptoms of attention-deficit hyperactivity disorder. *BMC Res Notes.* [Internet]. 2017 [cited 2018 May 4];10(1):525. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16580713>

247. Rostron CL, Gaeta V, Brace LR, Dommett EJ. Instrumental conditioning for food reinforcement in the spontaneously hypertensive rat model of attention deficit hyperactivity disorder. *Neurosci Biobehav Rev.* 2003 Nov;27(7):639–51.

248. Adriani W, Caprioli A, Granstrem O, Carli M, Laviola G. The spontaneously hypertensive-rat as an animal model of ADHD: evidence for impulsive and non-

impulsive subpopulations. *Behav Brain Funct.* [Internet]. 2017 Feb 15 [cited 2018 May 5];13(1):3. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14624808>

249. Sjoberg EA. Logical fallacies in animal model research. *Behav Brain Funct.* [Internet]. 2017 Feb 15 [cited 2018 May 5];13(1):3. doi: 10.1186/s12993-017-0121-8. Available from: <https://behavioralandbrainfunctions.biomedcentral.com/.../10...>

250. Vendruscolo LF, Izídio GS, Takahashi RN. Drug reinforcement in a rat model of attention deficit/hyperactivity disorder--the Spontaneously Hypertensive Rat (SHR). *Curr Drug Abuse Rev.* 2009;2(2): 177–83.

251. Cheng J, Liu A, Shi MY, Yan Z. Disrupted Glutamatergic Transmission in Prefrontal Cortex Contributes to Behavioral Abnormality in an Animal Model of ADHD. *Neuropsychopharmacology.* 2017;42:2096–104.

252. Somkuwar SS, Kantak KM, Bardo MT, Dwoskin LP. Adolescent methylphenidate treatment differentially alters adult impulsivity and hyperactivity in the Spontaneously Hypertensive Rat model of ADHD. *Pharmacol Biochem Behav.* 2016; 41:66–77.

253. Sabbatini M, Strocchi P, Vitaoli L, Amenta F. Microanatomical changes of intracerebral arteries in spontaneously hypertensive rats: a model of cerebrovascular disease of the elderly. *Mech Ageing Dev.* 2001 Sep;122(12):1257–68.

254. De Deyn PP, Dam DV, editors. *Animal models of dementia.* NY: Humana Press; 2011. 732 p.

255. Sabbatini M, Catalani A, Consoli C, Marletta N, Tomassoni D, Avola R. The hippocampus in spontaneously hypertensive rats: an animal model of vascular dementia? *Mech Ageing Dev.* 2002 Mar 15;123(5):547–59.

256. Ганчева ОВ. Линейные отличия паттернов экспрессии белка C-FOS в нейросекреторных ядрах гипоталамуса у крыс линии SHR и WISTAR, как патологическое звено формирования генетически обусловленной патологии. *Буковинський медичний вісник.* 2008;12(4):119–22.

258. Trippodo NC, Frohlich ED. Similarities of genetic (spontaneous) hypertension. Man and rat. *Circulation Research.* 1981;48:309–19.

259. Макаров ВГ, Макарова МН, редакторы. Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных. СПб.: Изд-во «ЛЕМА»; 2013. 116 с.

260. Doris PA. Genetics of hypertension: an assessment of progress in the spontaneously hypertensive rat. *Physiol genomics*. 2017 Nov 1;49(11):601–17.

261. Kurtz TW, Casto R, Simonet L, Printz MP. Biometric genetic analysis of blood pressure in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension*. 1990 Dec;16(6):718–24.

262. Кузьо НВ, Тищенко СВ, Самойленко НЮ, Нифонтова ВВ. Анализ патофизиологических моделей артериальной гипертензии у мелких лабораторных животных. *Вісник ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія»*. 2013;14(3):210–4.

263. Kotchen TA. Obesity-related hypertension: epidemiology, pathophysiology, and clinical management. *Am.J. Hypertens*. 2010;23(11):1170–8.

264. MacGregor GA. A comprehensive review on salt and health and current experience of worldwide salt reduction programmes. *J.Hum.Hypertens*. 2009;23(6):363–84.

265. Johnson RJ, Feig DI, Nakagawa T, Sanchez-Lozada LG, Rodriguez-Iturbe B. Richard Johnson J. Pathogenesis of essential hypertension: historical paradigms and modern insights. *J. Hypertens*. 2008;26(3):381–91.

267. Butler MG. Genetics of hypertension. Current status. *J.Med.Libn*. 2010;58(3):175–8.

268. Карадулева ЕВ, Вихлянцев ИМ, Подлубная ЗА. Экспрессия тайтина в миокарде спонтанно-гипертензивных крыс при развитии гипертрофии. *Биофизика*. 2010;55(4):612–8.

269. Ognibene DT, Moss MB, Matsuura C, Brunini TM, de Moura RS, MendesRibeiro AC, Resende AC. Characterization of the L-arginine-NO-cGMP pathway in spontaneously hypertensive rat platelets: the effects of pregnancy. *Hypertens Res*. 2010;33(9):899–904.

270. Plotnikov MB, Aliev OI, Sidekhmenova AV, Shamanaev AY, Anishchenko AM, Fomina TI, et al. Dihydroquercetin Improves Microvascularization and Microcirculation in the Brain Cortex of SHR Rats during the Development of Arterial Hypertension. *Bull Exp Biol Med.* 2017;163(1):57–60.

271. Aliev OI, Anishchenko AM, Sidekhmenova AV, Shamanaev AY, Fedorova EP, Plotnikov MB. Quantitative indexes of leukocytes in spontaneously hypertensive rats during various periods of arterial hypertension development *Bul. Exp. Biol. Med.* 2015;159(6):715–7.

272. Anishchenko AM, Aliev OI, Sidekhmenova AV, Shamanaev AY, Plotnikov MB. Dynamics of Blood Pressure Elevation and Endothelial Dysfunction in SHR Rats during the Development of Arterial Hypertension. *Bul. Exp. Biol. Med.* 2015;159(5):591–3.

273. Plotnikov MB, Aliev OI, Anishchenko AM, Sidekhmenova AV, Shamanaev AY. Sequence of changes in viscosity of whole blood, blood pressure, and vasodilator function of endothelium in spontaneously hypertensive rats at the formation stage of hypertension. *Biorheology.* 2015;52(5):141.

274. Плотников М.Б., Алиев О.И., Анищенко А.М., Сидехменова А.В., Шаманаев А.Ю., Федорова Е.П. Динамика артериального давления и количественных показателей эритроцитов у крыс SHR в ранние сроки формирования артериальной гипертензии. *Рос. физиол. ж. им. И.М. Сеченова.* 2015;101(7):822–8.

275. Сидехменова АВ, Алиев ОИ, Анищенко АМ, Шаманаев АЮ, Федорова ЕП, Плотников МБ. Динамика показателей тромбоцитов, лейкоцитов и функциональной активности эндотелия у молодых крыс линии SHR. *Сибирский медицинский журнал.* 2015;30(3):61–5.

276. Plotnikov MB, Aliev OI, Shamanaev AY, Sidekhmenova AV, Anfinogenova Y, Anishchenko AM, et al. Effects of pentoxifylline on hemodynamic, hemorheological, and microcirculatory parameters in young SHRs during arterial hypertension development. *Clin Exp Hypertens.* 2017;39(6):570–8.

277. Маевский ЕИ, Учитель МЛ, Мурашев АН, Семушкина СГ, Богданова ЛА. Коррекция овуляторного цикла у старых самок-крыс под влиянием негормонального препарата Амберен. Эндокринология. 2009;10:418–24.

278. Gąsecki D, Kwarciany M, Nyka W, Narkiewicz K. Hypertension, brain damage and cognitive decline. Curr Hypertens Rep. [Internet]. 2013 Dec [cited 2018 May 5];15(6):547–58. doi: 10.1007/s11906-013-0398-4. Available from:

279. Костюнина НВ. Участие глутаматных и дофаминовых субстратов мозга в селекции внимания у крыс линий Вистар и SHR [автореферат]. Новосибирск: НИИ физиологии СО РАМН; 2012. 39 с.

280. Da Silva GE, Vendruscolo LF, Takahashi RN. Effects of ethanol on locomotor and anxiety-like behaviors and the acquisition of ethanol intake in Lewis and spontaneously hypertensive rats. Life Sci. 2005 Jun 24;77(6):693–706.

281. Грищенко ВИ, Ковалев ГА, Петренко АЮ, Сандомирский БП, Якимова ТП. Регенеративно-пластическая терапия алкогольных висцеропатий. Киев: Наук. Думка, 2010; 152 с.

282. Марченко ВС, Полищук ЛВ, Бабийчук ВГ. Влияние ритмического охлаждения на проницаемость гематоэнцефалического барьера для экзогенного норадреналина. Проблемы криобиологии. 2000;1:36–40.

283. Бабийчук ЛА, Зубов ПМ, Рязанцев ВВ, Зубова ОЛ, Кудокоцева ОВ, Гурина ТМ. Кордовая кровь – альтернативный источник стволовых клеток для регенеративной медицины: новые подходы к проблеме криоконсервирования. Буковинський мед. вісник. 2009;13(4):23–6.

284. Бабийчук ЛА, Кудокоцева ОВ, Зубов ПМ, Зубова ОЛ. Новые подходы к криоконсервированию ядродержащих клеток кордовой крови и оценка их жизнеспособности. Укр. химиотерапевт. журнал. 2008;(1–2):85–7.

285. Schmid I, Krall WJ, Uittenbogaart CH. Dead cell discrimination with 7-amino-actinomycin D in combination with dual color laser flow cytometry. Cytometry. 1992;(13):204–8.

286. Meier C, Middelanis J, Wasielewski B. Spastic paresis after prinal brain damage in rats is reduced by human cord blood mononuclear cells. *Pediatric research*. 2006;59(2):244–9.

287. Бабийчук ЛВ, Бабийчук ВГ, Мамонтов ВВ. Влияние гемопоэтических стволовых клеток кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечного ритма у крыс разного возраста. *Проблемы старения и долголетия*. 2012;21(1):14–23.

288. Бабийчук ЛВ, Коваль СН, Бабийчук ВГ. Ультраструктурные изменения кардиомиоцитов старых крыс с экспериментальной неврогенной артериальной гипертензией до и после введения криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови. *Вестник неотложной и восстановительной медицины*. 2012; 13(1): 23–6.

289. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. Москва: Мир; 1960. 648 с.

290. Федорова ТН, Коршунова ТС, Ларский ЭГ. Реакция с ТБК для определения малонового диальдегида крови методом флуоресценции. *Лаб. Дело*. 1983;3:25–7.

291. Владимиров ЮА, Арчаков АИ. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. Москва: Наука; 1972. 235 с.

292. Блиндарь ВН, Зубрихина ГН, Матвеева ИИ, Кушлинский НЕ. Гематологические методы исследования. Клиническое значение показателей крови. Руководство для врачей. Москва: Изд-во МИА (Медицинское информационное агентство); 2013. 96 с.

293. Егорова ММ, Овчинникова ОА, Петроченко ЕП, Ослякова АО, Якусевич ВВ. Оригинальные исследования реологические параметры крови у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких. *Клиницист*. 2011;(3):61–7.

294. Хадарцев АА, Кидалов ВН, Якушина ГН, Сясин НИ, Красильникова НА. Ранняя реакция эритроцитов на экстремальные воздействия – образование условно-полиморфных стом и изменение их флуоресценции. *Вестник новых мед. технологий*. 2002;3:19–21.

295. Гордієнко ЄО, Гордієнко ОІ, Коваленко ІФ, Паніна ЮЄ, Алексєєв ОО. Фізико-математичний аналіз та експериментальне визначення щільності розподілу еритроцитів донорської і пуповинної крові людини за індексом сферичності. Біофіз. вісник. 2000;6(1):75–8.

296. Gordiyenko OI, Gordiyenko YuE, Makedonska VO. Estimation of erythrocyte population state by the spherical index distribution. Bioelectrochemistry. 2004;62(2):119–22.

297. Коваленко СЄ, Алексєєва ЛІ, Кулєшова ЛГ, Коваленко ІФ, Холодний ВС, Гордієнко ЄО, та ін. Можливі механізми антигемолітичної дії хлорпромазину. Проблеми криобиології. 2006;16(2):137–42.

299. Гордієнко ЄО, Гордієнко ОІ, Гордієнко ЮЄ, Коваленко ІФ, винахідники; Інститут проблем криобіології і кріомедицини НАН України, патентовласник. Спосіб визначення щільності ймовірності розподілу еритроцитів за індексом сферичності. Патент України № 47910А. 15.07. 2002.

300. Шерешков ВІ, Шумилова ТЕ, Ноздрачєв АД. Регистрация гемодинамических показателей в физиологическом эксперименте. Вестник СПбГУ, 2013;3(2);87–94.

301. Kuwahara M, Yayou K, Ishii K, Hashimoto S, Tsubone H, Sugano S. 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.

302. Hauton D, May S, Sabharwal R, Devoci D, Egginton S. Cold-impaired cardiac performance in rats is only partially overcome by cold acclimation. The Journal of Experimental Biology. 2011;214:3021–31.

303. Курьянова ЕВ. К вопросу о применении спектральных и статистических параметров variability сердечного ритма для оценки нейровегетативного состояния организма в эксперименте. Бюл. СО РАМН. 2009;140(6):30–7.

304. Чиж НА. Параметры спектрального анализа variability сердечного ритма у крыс. Проблеми криобиології і кріомедицини. 2015;25(3):235–45.

305. Чиж НА. Особенности влияния дыхания и сосудистого тонуса на вариабельность сердечного ритма у крыс. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2016;26(3):260–70.

306. Королев ИБ, Котельников ВН, Кириллов ОИ, Антонюк МВ. Некоторые аспекты вегетативной дисфункции при экспериментальной артериальной гипертензии у крыс. Тихоокеанский медицинский журнал. 2010;(1):18–21.

307. Рябыкина ГВ. Динамика вариабельности ритма сердца при лечении артериальной гипертензии. Кардиология. 2008; 48(7): 18–24.

308. Баевский РМ, Иванов ГГ, Чирейкин ЛВ, Гаврилушкин АП, Довгалевский ПЯ, Кукушкин, ЮА и др. Анализ ВСР при использовании различных электрокардиографических систем (методические рекомендации). Вестник аритмологии. 2001;(24):65–87.

309. Баевский РМ, Кириллов ОИ, Клецкин СМ. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе. Москва:Наука; 1984. 224 с.

310. Бабунц И, Мириджанян ЭМ, Машаех ЮА. Азбука анализа вариабельности сердечного ритма. Ставрополь: Принтмастер; 2002. 111с.

311. Михайлов ВМ. Вариабельность ритма сердца: опыт практического применения метода. 2-е изд. Иваново:Ивановская государственная медицинская академия; 2002. 290 с.

312. Karim N, Hasan JA, Ali SS. Heart rate variability - a review. Journal of Basic and Applied Sciences. 2011;7(1):71–7.

313. Morris R. Spatial localization does not require the presence of local cues. Learning and Motivation. 1981;12(2):239–60.

314. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. J. Neurosci. Methods. 1984;11:47–60.

315. Шекунова ЕВ, Кашкин ВА, Макарова МН, Макаров ВГ. Экспериментальные модели когнитивных нарушений. Международный вестник ветеринарии, 2016;(1):105–16.

316. D'Hoodge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. Brain Res. 2001;(36):60–90.

317. Cirulli F, Berry A, Chairotti F, Alleva E. Intrahippocampal administration of BDNF in adult rats affects short-term behavioral plasticity in the Morris water maze and performance in the elevated plusmaze. *Hippocampus*. 2004;(14):802–7.

318. Kulikov AV, Fursenko DV, Khotskin NV, Bazovkina DV, Kulikov VA, Naumenko VS. Spatial learning in the Morris water maze in mice genetically different in the predisposition to catalepsy: the effect of intraventricular treatment with brain-derived neurotrophic factor. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2014;(122):266–72.

319. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Москва: Практика; 1998. 459 с.

320. Атраментова ЛА, Утевская ОМ. Статистические методы в биологии. Горловка: ЧП «Видавництво ліхтар»; 2008. 248 с.

321. Wei L, Fraser JL, Lu ZY, Hu X, Yu SP.. Transplantation of hypoxia preconditioned bone marrow mesenchymal stem cells enhances angiogenesis and neurogenesis after cerebral ischemia in rats. *Neurobiol Dis*. 2012;3:635–45.

322. 11 Yanhong Z, Honghong Y. Potential therapeutic mechanisms and tracking of transplanted stem cells: implications for stroke treatment. *Stem Cells International*. [Internet] 2017 [cited 2018 Jan. 8]; 2017(Article ID 2707082). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22426403>

323. O'Brien JT. Vascular cognitive impairment. *Lancet Neurology*. 2003;2:89–98.

324. Ломакин ИИ, Кудокоцева ОВ, Пурешева ВЮ. Терапевтический эффект препаратов кордовой крови на примере структурных изменений дермы при экспериментальном гипотиреозе и его потенцирование аэрокриотерапией. В: Панченко ОА, редактор. Криотерапия: безопасные технологии применения. Київ: КВИЦ; 2012, с. 51–9.

325. Ломакін ІІ, Козлов ОВ, Ломако ВВ, Шило ОВ, Мамонтов ВВ. Потенціювання ефекту тканинної терапії в умовах моделювання патологічного старіння мозку у тварин. *Трансплантологія*. 2000;1(1):270–1.

326. Бабийчук ЛВ, Коваль СН, Бабийчук ГА. Структура миокарда молодых гипертензивных крыс после введения криоконсервированных ядросодержащих

клеток кордовой крови человека. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2016;26(3):271–87.

327. Chen J, Venkat P, Zacharek A, Chopp M. Neurorestorative therapy for stroke. *Front Hum Neurosci.* [Internet]. 2014 [cited 2016 Jan. 18];27(8):382. Available from: <https://www.frontiersin.org/.../10.3389/fnhum.2014.00382>

328. Айдарова ВС, Наумова ОВ, Кудokoцева ОВ, Ломакин ИИ, Бабийчук ВГ. Структура мозга крыс линии SHR с генетически детерминированной артериальной гипертензией. *Світ медицини та біології.* 2018;64(2):115–9.

329. Айдарова ВС, Бабийчук ВГ, Кудokoцева ОВ, Наумова ОВ, Ломакин ИИ, Проценко ЕС. Экспериментальное обоснование применения лечебной гипотермии и клеточной терапии при дисциркуляторной энцефалопатии у крыс линии SHR. Часть 1. Спонтанно гипертензивные крысы линии SHR в качестве модели дисциркуляторной энцефалопатии. *Проблеми кріобіології і кріомедицини.* 2018;28(3):224–236.

330. Айдарова ВС, Бабийчук ВГ, Кудokoцева ОВ, Наумова ОВ, Ломакин ИИ, Проценко ЕС. Экспериментальное обоснование применения лечебной гипотермии и клеточной терапии при дисциркуляторной энцефалопатии у крыс линии SHR. Часть 2. Структурные изменения в ткани головного мозга крыс с дисциркуляторной энцефалопатией после применения ритмической краниocereбральной гипотермии и криоконсервированных ядросодержащих клеток кордовой крови. *Проблеми кріобіології і кріомедицини.* 2019;29(1):

331. Айдарова ВС, Бабийчук ВГ, Ломакин ИИ, Кудokoцева ОВ, Бабийчук ГА. Влияние криоконсервированных ядросодержащих клеток пуповинной крови на течение патологических процессов при прогрессирующем старении мозга (экспериментальное исследование). *Успехи геронтол.* 2018;31(3):345–51.

332. Айдарова ВС. Влияние хронической артериальной гипертензии на развитие цереброваскулярных заболеваний на примере крыс линии SHR. В: *Актуальні питання біології та медицини. Матеріали Всеукраїнської наукової конференції;* 2017 Лист. 16 –17; Суми. Суми: ФОП Цьома С.П.; 2017, с. 10–3.

333. Айдарова ВС, Ломакин ИИ, Кудокоцева ОВ. Крысы линии SHR со спонтанной гипертензией как модель дисциркуляторной энцефалопатии. В: Фадєєнко ГД, редактор. Щорічні терапевтичні читання: профілактика неінфекційних захворювань на перехресті терапевтичних наук. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті академіка ЛТ Малої; 2016 Квіт. 21; Харків. Харків: ДУ «Національний інститут терапії»; 2016, с. 5.

334. Айдарова ВС. Изучение механизмов преждевременного старения мозга на примере крыс линии SHR. В: Фундаментальная наука и клиническая медицина: Тезисы XX международная медико-биологическая научная конференция молодых исследователей; 2017 Апр. 22; СПб. СПб: Изд-во СПбГУ; 2017;20:23–4.

335. Айдарова ВС, Бабийчук ГА. Криоконсервированная пуповинная кровь способствует изменению структуры головного мозга крыс линии SHR. В: Материалы III Национального конгресса по регенеративной медицине; 2017 Ноябрь 15–18; Москва: Московский государственный университет им. МВ Ломоносова; Гены и Клетки. 2017;XII(3):22–3.

336. Айдарова ВС. Влияние ритмической краниocereбральной гипотермии на морфологические и морфометрические характеристики ткани головного мозга крыс линии SHR. Проблеми кріобіології і кріомедицини. 2018;28(2):160.

337. Айдарова ВС, Бабийчук ВГ, Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ. Применение низких температур для коррекции морфометрических изменений в головном мозге крыс при дисциркуляторной энцефалопатии сметанного генеза. В: Деев РВ, редактор. Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы регенеративной медицины, инновации в репродуктологии»; 2018 Авг. 23–24; Самара. Гены и Клетки. 2018; (1), Приложение:38–9.

338. Меньщикова ЕБ, Ланкин ВЗ, Зенков НК, Бондарь ИА, Круговых НФ, Труфакин ВА. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. Москва: Слово; 2006. 556 с.

339. Казимирко ВК, Мальцев ВИ, Бутылин ВЮ, Горобец НИ. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия. Киев: Морион; 2004. 160 с.

340. Плотников МБ, Алиев ОИ, Колтунов АА, Маслов МЮ. Синдром повышенной вязкости крови у спонтанно гипертензивных крыс: анализ адекватности модели. Бюл. эксперим. биол. и мед. 1998;8:150–1.

341. Нестеров ЮИ, Тепляков АТ. Возможность коррекции перекисного окисления липидов комбинированной антигипертензивной терапией у больных артериальной гипертензией. Артериальная гипертензия. 2004;10(1):36–8.

342. Bayır H, Adelson PD, Wisniewski SR, Lai Y, Brown D, Janesko-Feldman KL, et al. Therapeutic hypothermia preserves antioxidant defenses after severe traumatic brain injury in infants and children. Crit Care Med. 2009;37(2):689–95.

343. Kijohiro Houkin, Koji Abe, Satoshi Kuroda, editors. Cell therapy against cerebral stroke. NY: Springer; 2017. 160 s.

344. Kijohiro Houkin, Koji Abe, Satoshi Kuroda, editors. Cell therapy against cerebral stroke. NY: Springer; 2017. 160 s.

345. Hess DC, editor. Cell Therapy for Brain Injury. NY: Springer; 2015. 366 s.

346. Lee MC, Shoji H, Miyazaki H, Yoshino F, Hori N, Toyoda M, et al. Assessment of oxidative stress in the spontaneously hypertensive rat brain using electron spin resonance (ESR) imaging and in vivo L-Band ESR. Hypertens Res. 2004;27(7):485–92.

347. Lee MC. Assessment of oxidative stress and antioxidant property using electron spin resonance (ESR) spectroscopy. J Clin Biochem Nutr. 2013; Jan. 52(1):1–8.

348. Sato K, Yamashita T, Kurata T, Lukic V, Fukui Y, Hishikawa N, et al. Telmisartan reduces progressive oxidative stress and phosphorylated α -synuclein accumulation in stroke-resistant spontaneously hypertensive rats after transient middle cerebral artery occlusion. J. Stroke. Cerebrovascular Diseases. 2013;23(6):1554–63.

349. Марущак АВ, Шоріков ЄІ, Шорікова ДВ, Тимофійчук ІР, Гайдичук ВС. Зміни пероксидного окиснення ліпідів і стану антиоксидантного захисту в

спонтанно-гіпертензивних щурів під час експериментального лікування раміприлом та кандесартаном. Медична та клінічна хімія. 2016;18(1):51–6.

350. Li Y, Liu J, Gaoet D, Wei J, Yuan H, Niu X. et al. Age-related changes in hypertensive brain damage in the hippocampi of spontaneously hypertensive rats. *Molecular medicine reports*. 2016;13(Is.3):2552–60.

351. Васильева ЕМ, Баканов МИ. Биохимические изменения при неврологической патологии. *Биомедицинская химия*. 2005;51(6):581–602.

352. Newaz MA, Yousefipour Z, Nawal NN. Modulation of nitric oxide synthase activity in brain, liver, and blood vessels of spontaneously hypertensive rats by ascorbic acid: protection from free radical injury. *Clinical and experimental hypertension*. 1993;6:1064–8.

353. Батышева ТТ, Билецкий ПС, Бойко АН. Нейропротекция острой и хронической недостаточности мозгового кровообращения. В: Хроническая недостаточность мозгового кровообращения и нейропротекция. Новое в диагностике. СПб.: Наука; 2007; с. 98–114.

354. Мельникова ЕВ. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита при ишемическом инсульте и артериальной гипертензии (клинико-экспериментальное исследование) [автореферат]. Санкт-Петербург. мед. ун-т. 1996. 19 с.

355. Mantle D, Patel V, Why HJ, Ahmed S, Rahman I, MacNee W, et al. Effects of lisinopril and amlodipine on antioxidant status in experimental hypertension. *J. Clin. Chim. Acta*. 2000;299(1–2):1–10.

356. Tikhomirov AA, Nedzvetskii VS, Lipka MV, Andrievskii GV, Klochkov VK. Chronic alcoholization-induced damage to astroglia and intensification of lipid peroxidation in the rat brain: protector effect of hydration of fullerene C₆₀. *Neurophysiology*. 2007;39(2):119–25.

357. Matsumoto H, Matsumoto I. Alcoholism: protein expression profiles in a human hippocampal model. *J. Expert Review of Proteomics*. [Internet]. 2008 [cited 2018 Feb 2];5(Is.2): 321–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1586/14789450.5.2/321>.

358. Roux A, Jackson SN, Muller L, Barbacci D, O'Rourke J, Thanos PK. et al. Ethanol induced brain lipid changes in mice assessed by mass spectrometry. *ACS Chem. Neurosci.* 2016;7(8):1148–56.

359. Anusuya MR, Kiran B. Evaluation of effect of lead, alcohol and vitmin E on lipid peroxidation on brain tissue. *Internetional J of life science Pharma Research.* 2012;2(Is. 2):37–42.

360. Дубинина ЕЕ. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клиничко-биохимические аспекты. СПб.: Медицинская пресса, 2006; 400 с.

361. Дубинина ЕЕ, Пустыгина АВ. Свободнорадикальные процессы при старении, нейродегенеративных заболеваниях и других патологических состояниях. *Биомедицинская химия.* 2007;53(4):351–72.

362. Faraci FM. Protecting against vascular disease in brain. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011;300(5):H1566–H1582.

363. Bast A, Weseler AR, Haenen GR, den Hartog GJ. Oxidative stress and antioxidants in interstitial lung disease. *Curr Opin Pulm Med.* 2010;16(5):516–20.

364. Alabarse PV, Hackenhaar FS, Medeiros TM, Mendes MF, Viacava PR, Schüller AK. et al. Oxidative stress in the brain of reproductive male rats during aging. *Exp. Gerontol.* 2011;46(4):241–8.

365. Бачериков АН, Кутько ИИ, Царицинский ВИ, Павленко ВВ. Краниocereбральная гипотермия в лечении острых и затяжных психозов. Нетрадиционные методы лечения эндогенных психозов. Киев: Здоров'я; 1992. 144 с.

366. Аваков ВЕ, Шахова ИА. Гемокоагуляция м кислотно-основное состояние при краниocereбральной гипотермии у больных тяжелой черепно-мозговой травме. *Общая реаниматология.* 2015;11(4):41–50.

367. Guven H, Amanvermez R, Malazgirt Z, Kaya E, Doganay Z, Celik C, et al. Moderate hypothermia prevents brain stem oxidative stress injury after hemorrhagic shock. *J Trauma.* 2002;53(1):66–72.

368. Лебединец ВВ, Овсянников СЕ, Останков МВ, Бондарович НА, Останкова ЛВ, Гольцев АН. Коррекция нарушений метаболизма введением криоконсервированной кордовой крови в экспериментальной модели ишемического инсульта. Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. 2015;31(16):156–62.

369. Лычко ВС, Малахов ВА, Потапов АА. Морфологические изменения мозговой ткани у крыс с экспериментальной моделью ишемического инсульта в динамике лечения иммунобиологическим препаратом Кριοцелл-криокорд. Современные технологии в медицине. 2015;7:58–63.

370. Бахтиярова ШК, Капышсва УН, Жаксымов БИ. Интенсивность перекисного окисления липидов в гомогенате нервной ткани в разные сроки после введения аллогенных моноклеаров. Междунар. журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2015;9:305–7.

371. Шинкаренко НВ, Алексовский ВБ. Химические свойства синглетного молекулярного кислорода и значение его в биологических системах. Успехи химии. 1982;51(5):713–35.

372. Ломакин ИИ, Кудокоцева ОВ, Пурышева ВЮ. Терапевтический эффект препаратов кордовой крови на примере структурных изменений дермы при экспериментальном гипотиреозе и его потенцировании аэрокриотерапией. В: Криотерапия: безопасные технологии применени: сб. трудов. Киев: КВИЦ; 2012. с. 51–9.

373. Васильева ЕМ, Зябкина АГ. Активность АТФаз, содержание циклических нуклеотидов в сердце и перекисное окисление липидов в аорте спонтанно гипертензивных крыс. Вопросы медицинской химии. 1989;35(5):20–3.

374. Айдарова ВС, Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ. Влияние введения криоконсервированных клеток пуповинной крови крысам линии SHR с хронической алкогольной интоксикацией на процессы перекисного окисления липидов в мозге. В: Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии: Сборник тезисов VII Всероссийский симпозиум с

международным участием; 2017 Квіт. 27–28; Астрахань. Астрахань: Изд-во Астраханского государственного медицинского университета; 2017, с. 117–9.

375. Айдарова ВС. Експериментальне обґрунтування застосування ритмічної краніоцеребральної гіпотермії і кріоконсервованої кордової крові при дисциркуляторної енцефалопатії. В: International research and practice conference “Innovative technology in medicine: experience of Poland and Ukraine”: Conference Proceedings; 2017 Apr. 28–29; Lublin. Lublin: Lublin Science and Technology Park S.A.; 2017, p. 157–60.

376. Айдарова ВС, Кудогоцева ОВ, Ломакин ИИ, Бабийчук ГА. Краниоцеребральная гипотермия потенцирует антиоксидантные свойства криоконсервированных клеток пуповинной крови. В: Цап НА, редактор. Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения. Материалы II международной (72 Всероссийской) научно-практической конференция молодых ученых и студентов; 2017 Апр. 12–14; Екатеринбург. Екатеринбург: Изд-во УГМУ; 2017;1, с. 867–71.

377. Айдарова ВС, Кудогоцева ОВ, Ломакин ИИ. Процессы перекисного окисления липидов в мозге крыс линии SHR под влиянием криоконсервированных клеток кордовой крови. В: Фадєєнко ГД, редактор. Щорічні терапевтичні читання: медикаментозна та немедикаментозна профілактика неінфекційних захворювань: погляд в майбутнє. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті академіка ЛТ Малої; 2017 Квіт. 20; Харків. Харків: ДУ «Національний інститут терапії»; 2017, с. 7.

378. Прокопьева В, Тюлина О. Окислительный стресс при алкоголизме. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2004;2:61–6.

379. Прокопьева В, Тюлина О, Додд Р, Куликов Е, Джонсон П. Ацетальдегид и мембрана эритроцита. Бюл. exper. биол. мед. 2001;1:39–42.

380. Husain K, Mejia J, Lalla J. Physiological basis for effect of physical conditioning on chronic ethanol-induced hypertension in a rat model. Mol Cell Biochem. 2006;289:175–83.

381. Husain K, Mejia J, Lalla J, Kazim S. Dose response of alcohol-induced changes in BP, nitric oxide and antioxidants in rat plasma. *Pharmacol Res.* 2005;51:337–43.

382. Трошкина Н, Циркин В, Дворянский С. Эритроцит: Строение и функции его мембраны. *Вятский медицинский вестник.* 2007;(2–3):32–41.

383. Муравьев АВ, Чепоров СВ. Гемореология (экспериментальные и клинические аспекты реологии крови). Ярославль: Изд-во Ярославского Гос. ун-та; 2009. 54 с.

384. Тихомирова ИА, Муравьев АВ, Петроченко ЕП, Михайлова СГ. Микроциркуляция и реология крови при нарушениях кровообращения. Ярославль: Изд-во «Канцлер»; 2011. 103 с.

385. Popel AS, Johnson PC. Microcirculation and hemorheology. *Annu. Rev. Fluid Mech.* 2005;37:43–69.

386. Lipowsky H. Microvascular rheology and hemodynamics. *Microcirculation.* 2005;12(1):5–15.

387. Котова ОВ. Дисциркуляторная энцефалопатия: новые возможности комбинированной терапии. *Эффективная фармакотерапия.* 2013;32(3):64–70.

388. Скоромца АА, Никифорова АМ, редакторы. Диагностика и принципы патогенетической терапии дисциркуляторной энцефалопатии: учеб. пособие. СПб: ЭЛБИ-СПб; 2005. 104 с.

389. Li R, Cao Z, Li Y, Wang R. Increased whole blood viscosity is associated with silent cerebral infarction. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2015;59(4):301–7.

390. Lominadze D, Schuschke D, Joshua I, Dean W. Increased ability of erythrocytes to aggregate in spontaneously hypertensive rats. *Exp Hypertens.* 2002;24(5):397–412.

391. London M. The role of blood rheology in regulating blood pressure. *Clin Hemorheol Microcirc.* 1997;17:93–106.

392. Cicco G, Pirrelli A. Red blood cell (RBC) deformability, RBC aggregability and tissue oxygenation in hypertension. *Clin Hemorheol Microcirc.* 1999;21:169–77.

393. Meiselman H. Hemorheologic alterations in hypertension: Chicken or egg? *Clin Hemorheol Microcirc.* 1999;2:195–200.

394. Hamazaki T, Shishido H. Increase in blood viscosity due to alcohol drinking. *Thromb Res.* 1983;30(6):587–94.

395. Плотников М, Алиев О, Васильев А, Маслов М, Васильев А. Влияние экстракта левзеи сафлоровидной на реологические свойства крови у крыс с артериальной гипертензией. *Эксперим. и клинич. фармакология.* 2001;6:45–7.

396. Huntgeburth M, Freyhaus H, Rosenkranz S. Alcohol consumption and hypertension. *Current Hypertension Reports.* 2005;7(3):180–5.

397. Husain K, Ansari R, Ferder L. Alcohol-induced hypertension: Mechanism and prevention. *World J Cardiol.* 2014;6(5):245–52.

398. Зинчук В. Деформируемость эритроцитов: физиологические аспекты. *Успехи физиологических наук.* 2001;32(3):66–78.

399. Лелевич А. Кислородтранспортная функция крови и прооксидантно-антиоксидантный статус эритроцитов при острой и хронической алкогольной интоксикации крыс. *Журнал ГрГМУ.* 2008;24(4):46–9.

400. Козин А, Березин М, Березина А, Архипова С, Лутай А, Пахрова О, и др. Нарушения реологических свойств эритроцитов у больных стенокардией напряжения III функционального класса в сочетании с гипертонической болезнью и их коррекция. *Вестник Ивановской Медицинской Академии.* 2008;13(1–2):40–5.

401. Алиев ОИ. Фармакологическая коррекция синдрома повышенной вязкости крови при сердечно-сосудистой патологии [автореферат]. Томск: ГУ НИИ фармакологии Томского научного центра СО РАМН. 2004. 43 с.

402. Биллах Х, Хасанов Н, Ослопов В, Чугунова Д. Мембранные нарушения как основа дислипидемии и артериальной гипертензии. *Практическая медицина.* 2013;71(3):34–6.

403. Lee S, Park H, Best-Popescu C, Jang, S, Park, Y. Effects of ethanol on the morphological and biochemical properties of individual human red blood cells. *PLoS ONE* [Internet]. 2015 Dec. [cited 2018 Feb. 21]; 10(12):e0145327. Available from: <https://journals.plos.org/.../article?...10.1371/journal.pone.01>

404. Прокопьева В, Тюлина О, Пытина Л, Бохан Н. Нарушение морфологии эритроцитов и окислительная модификация белков теней эритроцитов и плазмы крови при алкоголизме. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2005;2:13–7.

405. Benedetti A, Birarelli A, Brunelli E, Curatola G, Ferretti G, Jezequel A, et al. Effect of chronic ethanol abuse on the physico-chemical properties of erythrocyte membranes in man. Pharmacological research communication. 1986;18(11):1003–14.

406. Tyulina O, Huentelman M, Prokopieva V. Does ethanol metabolism affect erythrocyte hemolysis? Biochem. Biophys. Acta. 2000;1535(1):69–77.

407. Байбеков ИМ, Мавлян-Ходжаев РШ. Эрстекис АГ, Москвин СВ. Эритроциты в норме, патологии и при лазерных воздействиях. Тверь: ООО «Издательство «Триада»; 2008. 256 с.

408. Прокопьева В, Бохан Н, Кондакова И. Влияние этанола и ацетальдегида на микровязкость мембран эритроцитов больных алкоголизмом на разных этапах лечения. Бюл. exper. биол. мед. 2000;129(1):90–2.

409. Mirafzali S. Alcohol withdrawal delirium. Arch. Inter. Med. 2005;165(5):586–9.

410. Кудокоцева О, Коваленко И, Ломакин И, Бабийчук Г. Коррекция анемии, развивающейся в результате токсического действия 5-фторурацила, криоконсервированными препаратами кордовой крови. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2014;24(4):312–21.

411. Ломако В, Коваленко И, Шило А. Эритроциты периферической крови при разных вариантах гипотермии гомейотермного организма. Проблемы криобиологии. 2012;22(4):398–409.

412. Ловкова Т. Особенности обмена липидов при краниocereбральной гипотермии. В: Актуальные вопросы здоровья населения центра России. Сб. науч. трудов; 2002 вып. 3; Рязань; 2002, с. 43–5.

413. Кудокоцева О, Коваленко И, Ломакин И, Бабийчук Г. Продолжительность общего криовоздействия (-120°C) влияет на некоторые

свойства эритроцитов мыши. Проблемы криобиол. криомедицины. 2017;27(1):29–40.

414. Айдарова ВЮ, Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ, Бабийчук ГА. Сравнительная характеристика некоторых гемореологических показателей у нормо- и гипертензивных крыс. Эксп. і клін. медицина. 2016;72(3):5–9.

415. Айдарова ВС, Кудокоцева ОВ, Бабийчук ГА. Влияние краниocereбральной гипотермии на некоторые свойства эритроцитов крыс линии SHR. Эксп. і клін. медицина. 2017;75(2):5–11.

416. Айдарова ВС, Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ. Влияние ритмической краниocereбральной гипотермии на некоторые гемореологические показатели у спонтанно гипертензивных крыс. В: Фадєєнко ГД, редактор. Стратегії профілактики неінфекційних хвороб та шляхи їх реалізації: від постулатів минулого в майбутнє. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю; 2016 Лист. 4; Харків. Харків: ДУ «Національний інститут терапії»; 2016, с. 4.

417. Судаков КВ. Теория функциональных систем. Москва: Медицинский музей; 1996. 95 с.

418. Анохин ПК. Узловые вопросы теории функциональных систем. Москва: Наука; 1980. 197 с.

419. Айдарова ВС. Новые методы терапии цереброваскулярных заболеваний (экспериментальное исследование). [Интернет] Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні проблеми геронтології і геріатрії», присвячена 95-річчю з дня народження Академіка В.В. Фролькіса (28 січня 2019 року) [цитовано 2019 Лютий 12]. С. 40–1. Доступно на

420. Захаров ВВ, Вахнина НВ. Когнитивные нарушения при артериальной гипертензии. Нервные болезни. 2013;(3):16–21.

421. Остроумова ТМ, Парфенов ВА., Остроумова ОД. Артериальная гипертензия и когнитивные нарушения: взгляд с позиций доказательной медицины. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2017;9(4):70–6.

422. Launer LJ, Ross GW, Petrovitch H, Masaki K, Foley D, White LR, Havlik RJ.

Midlife blood pressure and dementia: the Honolulu-Asia aging study. *Neurobiol Aging*. 2000;21(1):49–55.

423. Dagres N, Chao TF, Fenelon G, Aguinaga L, Benhayon D, Benjamin EJ, et al. European heart rhythm association (EHRA)/heart rhythm society (HRS)/Asia pacific heart rhythm society (APHRS)/Latin American heart rhythm society (LAHRS) expert consensus on arrhythmias and cognitive function: What is the best practice? *J. Arrhythm*. 2018 Apr;34(2):99–123.

424. Weidung B, Littbrand H, Nordström P, Carlberg B, Gustafson Y. The association between SBP and mortality risk differs with level of cognitive function in very old individuals. *J. Hypertens*. 2016;34(4):745–52.

425. Ogliari G, Westendorp RG, Muller M, Mari D, Torresani E, Felicetta I, Lucchi T, Rossi PD, Sabayan B, de Craen AJ. Blood pressure and 10-year mortality risk in the Milan Geriatrics 75+ Cohort Study: role of functional and cognitive status. *Age Ageing*. 2015;44(6):932–7.

426. Iadecola C. Hypertension and dementia. *Hypertension*. 2014;64(1):3–5.

427. Kivipelto M, Ngandu T, Laatikainen T. Risk score for the prediction of dementia risk in 20 years among middle aged people: a longitudinal, population-based study. *Lancet Neurol*. 2006;5(9):735–41.

428. Яхно НН, Захаров ВВ. Когнитивные и эмоционально-аффективные нарушения при дисциркуляторной энцефалопатии. *Русский медицинский журнал*. 2002;10(12–13):539–42.

429. Яхно НН. Когнитивные расстройства в неврологической клинике. *Неврологический журнал*. 2006;11(1):4–12.

430. Cheng J, Liu A, Shi M.Y, Yan Z. Disrupted glutamatergic transmission in prefrontal cortex contributes to behavioral abnormality in an animal model of ADHD. *Neuropsychopharmacology*. 2017;(42):2096–104.

431. Rostron CL, Gaeta V, Brace LR, Dommett EJ. Instrumental conditioning for food reinforcement in the spontaneously hypertensive rat model of attention deficit

hyperactivity disorder. BMC Res Notes. [Internet]. 2017 [cited 2018 May 4];10(1):525. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29084583>.

432. Парфенов ВА, Старчина ЮА. Когнитивные нарушения у пациентов с артериальной гипертензией и их лечение. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2011;3(1):27–33.

433. Blaker AL, Yamamoto BK. Methamphetamine-induced brain injury and alcohol drinking. J. Neuroimmune Pharmacol. 2018 Mar;13(1):53–63.

434. Mann K, Bladstrom A, Torup L. Extending the treatment options in alcohol dependence: a randomized controlled study of as-needed nalmefene. Biol. Psychiatry. 2013;73(8): 706–13.

435. Oades RD, editor. Attention deficit/hyperactivity disorder (AD/HD) and the hyperkinetic syndrome. NY: Nova; 2006. 269 p.

436. Hagan JJ, editor. Molecular and functional models in neuropsychiatry. NY:Springer; 2011. 385 p.

437. Редькина АВ. Роль ГАМК– и NMDA–рецепторов мозга крыс в модуляции латентного торможения: значение эмоционального и генетического факторов [автореферат]. Томск: Национальный исследовательский Томский государственный университет. 2014. 18 с.

438. Айдарова АС, Ломакин ИИ, Мамонтов ВВ. Нетрадиционные методы коррекции когнитивных функций у крыс с генетически детерминированной артериальной гипертензией. Науково-практична конференція молодих вчених «Перспективи розвитку профілактичної та клінічної медицини», яка присвячена 10 річниці ДНУ «НПЦ ПКМ» ДУС. Київ, 2019.

439. Бабійчук ВГ, Айдарова ВС, Кудокоцева ОВ, Ломакін ІІ, Мамонтов ВВ, винахідники; патентовласник Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної Академії Наук України. Спосіб лікування цереброваскулярних порушень головного мозку. Патент на корисну модель № 128597. 25.09.2018.

Додаток А

Список публікацій здобувача за темою дисертації та відомості про апробацію результатів дисертації

1. Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. **Айдарова ВС**, Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ, Бабийчук ГА. Сравнительная характеристика некоторых гемореологических показателей у нормо- и гипертензивных крыс. *Експ. і клін. медицина*. 2016; 72(3):5–9.

2. **Айдарова ВС**, Кудокоцева ОВ, Бабийчук ГА. Влияние краниocereбральной гипотермии на некоторые свойства эритроцитов крыс линии SHR. *Експ. і клін. медицина*. 2017; 75(2):5–11.

3. **Айдарова ВС**, Наумова ОВ, Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ, Бабийчук ВГ. Структура мозга крыс линии SHR с генетически детерминированной артериальной гипертензией. *Світ медицини та біології*. 2018; 64(2):115–9.

DOI 10.26.724 / 2079-8334-2018-2-64-115-119 (*Web of Science*)

4. **Айдарова ВС**, Бабийчук ВГ, Кудокоцева ОВ, Наумова ОВ, Ломакин ИИ, Проценко ЕС. Экспериментальное обоснование применения лечебной гипотермии и клеточной терапии при дисциркуляторной энцефалопатии у крыс линии SHR. Часть 1. Спонтанно гипертензивные крысы линии SHR в качестве модели дисциркуляторной энцефалопатии. *Проблеми кріобіології і кріомедицини*. 2018;28(3):224–36. <https://doi.org/10.15407/cryo28.03.224> (*Scopus*)

5. **Айдарова ВС**, Бабийчук ВГ, Ломакин ИИ, Кудокоцева ОВ, Наумова ОВ. Экспериментальное обоснование применения лечебной гипотермии и клеточной терапии при дисциркуляторной энцефалопатии у крыс линии SHR. Часть 2. Структурные изменения в ткани головного мозга крыс с дисциркуляторной энцефалопатией после применения ритмической краниocereбральной гипотермии и криоконсервированных ядродержащих клеток кордовой крови. *Проблеми кріобіології і кріомедицини*. 2019; 29(1):58–72. <https://doi.org/10.15407/cryo29.01.058> (*Scopus*)

2. Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

Статті в журналах та збірках матеріалів конференцій інших країн, які
входять до міжнародних наукометричних баз

6. **Aidarova VS**, Babijchuk VG, Lomakin II, Kudokotseva OV, Babijchuk GA. The effect of cryopreserved cord blood nucleated cells on pathological processes in the progressive aging of the brain (experimental study). *Advances in Gerontology*. 2018; 8(4):292–7. DOI: 10.1134/S2079057018040021 (*Scopus*)

Оглядів статті в журналах, які
входять до міжнародних наукометричних баз

7. **Айдарова ВС**, Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ, Бабийчук ГА. Возможности использования клеток кордовой крови в неврологии. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2016; 26(2):1–13.
<http://dspace.nbuiv.gov.ua/handle/123456789/137401> (*Scopus*)

Статті у збірках матеріалів конференцій

8. **Айдарова ВС**, Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ. Влияние введения криоконсервированных клеток пуповинной крови крысам линии SHR с хронической алкогольной интоксикацией на процессы перекисного окисления липидов в мозге. В: Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии. Сборник тезисов. VII Всероссийский симпозиум с международным участием; 2017 Квіт. 27–28; Астрахань. Астрахань: Изд-во Астраханского государственного медицинского университета; 2017. с. 117–9.

9. **Айдарова ВС**. Експериментальне обґрунтування застосування ритмічної краніоцеребральної гіпотермії і кріоконсервованої кордової крові при дисциркуляторної енцефалопатії. В: International research and practice conference «Innovative technology in medicine: experience of Poland and Ukraine. Conference Proceedings; 2017 Apr. 28–29; Lublin. Lublin: Lublin Science and Technology Park S.A.; 2017. p. 157–60.

10. **Айдарова ВС**, Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ, Бабийчук ГА. Краниоцеребральная гипотермия потенцирует антиоксидантные свойства криоконсервированных клеток пуповинной крови. В: Цап НА, редактор. Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения.

Материалы II международной (72 Всероссийской) научно-практической конференция молодых ученых и студентов; 2017 Апр. 12–14; Екатеринбург. Екатеринбург: Изд-во УГМУ; 2017;(1). с. 867–71.

11. **Айдарова ВС.** Влияние хронической артериальной гипертензии на развитие цереброваскулярных заболеваний на примере крыс линии SHR. В: Актуальні питання біології та медицини. Матеріали Всеукраїнської наукової конференції; 2017 Лист. 16–17; Суми. Суми: ФОП Цьома С.П.; 2017. с. 10–3.

Тези конференцій

12. **Айдарова ВС, Ломакин ИИ, Кудокоцева ОВ.** Крысы линии SHR со спонтанной гипертензией как модель дисциркуляторной энцефалопатии. В: Фадєєнко ГД, редактор. Щорічні терапевтичні читання: профілактика неінфекційних захворювань на перехресті терапевтичних наук. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті академіка ЛТ Малої; 2016 Квіт. 21; Харків. Харків: ДУ «Національний інститут терапії»; 2016. с. 5.

13. **Айдарова ВС, Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ.** Влияние ритмической краниocereбральной гипотермии на некоторые гемореологические показатели у спонтанно гипертензивных крыс. В: Фадєєнко ГД, редактор. Стратегії профілактики неінфекційних хвороб та шляхи їх реалізації: від постулатів минулого в майбутнє. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю; 2016 Лист. 4; Харків. Харків: ДУ «Національний інститут терапії»; 2016. с. 4.

14. **Айдарова ВС, Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ.** Процессы перекисного окисления липидов в мозге крыс линии SHR под влиянием криоконсервированных клеток кордовой крови. В: Фадєєнко ГД, редактор. Щорічні терапевтичні читання: медикаментозна та немедикаментозна профілактика неінфекційних захворювань: погляд в майбутнє. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті академіка ЛТ Малої; 2017 Квіт. 20; Харків. Харків: ДУ «Національний інститут терапії»; 2017. с. 7.

15. **Айдарова ВС.** Изучение механизмов преждевременного старения мозга на примере крыс линии SHR. В: Фундаментальная наука и клиническая медицина: Тезисы XX международная медико-биологическая научная конференция молодых исследователей; 2017 Апр. 22; СПб. СПб: Изд-во СПбГУ; 2017;(20). с. 23–4.

16. **Айдарова ВС,** Бабийчук ГА. Кримоконсервированная пуповинная кровь способствует изменению структуры головного мозга крыс линии SHR. В: Материалы III Национального конгресса по регенеративной медицине; 2017 Ноябрь 15–18; Москва: Московский государственный университет им. МВ Ломоносова; Гены и Клетки. 2017;XII(3): 22–3.

17. **Айдарова ВС.** Влияние ритмической краниоцеребральной гипотермии на морфологические и морфометрические характеристики ткани головного мозга крыс линии SHR. Проблеми кріобіології і кріомедицини. 2018;28(2):160.

18. **Айдарова ВС,** Бабийчук ВГ, Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ. Применение низких температур для коррекции морфометрических изменений в головном мозге крыс при дисциркуляторной энцефалопатии сметанного генеза. В: Деев РВ, редактор. Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы регенеративной медицины, инновации в репродуктологии»; 2018 Авг. 23–24; Самара. Гены и Клетки. 2018;(1), Приложение:38–9.

19. **Айдарова ВС.** Новые методы терапии цереброваскулярных заболеваний (экспериментальное исследование). В: Актуальні проблеми геронтології і геріатрії», присвячена 95-річчю з дня народження Академіка В.В. Фролькіса. Науково-практична конференція з міжнародною участю; 2019 Січень 28. с.40–1.

Патенти України на корисну модель

20. Бабийчук ВГ, **Айдарова ВС,** Кудокоцева ОВ, Ломакин ІІ, Мамонтов ВВ., винахідники; патентовласник Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної Академії Наук України. Спосіб лікування цереброваскулярних порушень головного мозку. Патент України на корисну модель № 128597. 25.09.2018.

ДОДАТОК Б

Апробація матеріалів дисертації

Апробація результатів дисертації. Результати роботи були представлені на наступних наукових конференціях:

– «Щорічні терапевтичні читання: профілактика неінфекційних захворювань на перехресті терапевтичних наук» міжнародна науково-практична конференція (21.04.2016 р., Харків, Україна);

– «Стратегії профілактики неінфекційних хвороб та шляхи їх реалізації: від постулатів минулого в майбутнє» міжнародна науково-практична конференція (2017 р., Харків, Україна);

– «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии» VII Всеросійський симпозіум з міжнародною участю (27–28.04.2017 р., Астрахань, Росія);

– «Інноваційні технології в медицині: досвід Польщі та України» міжнародна науково-практична конференція (28–29.04.2017 р., Республіка Польща, Люблін);

– «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения» II міжнародна (72 Всеросійська) науково-практична конференція молодих вчених і студентів (12–14.04.2017 р., Єкатеринбург, Росія);

– «Актуальні питання біології та медицини» Всеукраїнська наукова конференція с дистанційною участю (16–17.11.2017 р., Суми, Україна);

– «Фундаментальная наука и клиническая медицина» XX міжнародна медико-біологічна наукова конференція молодих дослідників (22.04.2017р., Санкт-Петербург, Росія);

– III Национальном конгрессе по регенеративной медицине (15–18.11.2017р., Москва, Росія);

– «Холод в біології та медицині» конференція молодих вчених ІПКіК НАН України (2018 р., Харків, Україна);

- «Актуальные вопросы регенеративной медицины, инновации в репродуктологии» Всероссийська науково-практична конференція з міжнародною участю (2018 р., Самара, Росія);
- «Актуальні проблеми геронтології і геріатрії» науково-практична конференція з міжнародною участю (28.01.2019 р., Київ, Україна).

