

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ

ЛУЦЕНКО ДМИТРО ГРИГОРОВИЧ

УДК 57.017.3:599.323.4:612.135:612.1

**СТАН МІКРОГЕМОЦИРКУЛЯТОРНОЇ СИСТЕМИ ТА
ВЕГЕТАТИВНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ СЕРЦЕВОГО РИТМУ ЩУРІВ В УМОВАХ
РІЗНИХ РЕЖИМІВ ХОЛОДОВОЇ АКЛІМАЦІЇ**

03.00.19 – кріобіологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Харків – 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України.

Науковий керівник: кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник
Шило Олександр Володимирович,
Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України,
старший науковий співробітник відділу кріофізіології,
м. Харків.

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Жегунов Геннадій Федорович,
Харківська державна зооветеринарна академія МОН України, завідувач кафедри хімії та біохімії імені професора О. В. Чечоткіна;

кандидат біологічних наук
Наглов Олександр Володимирович,
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна МОН України, доцент кафедри фізіології людини та тварин.

Захист відбудеться «24» вересня 2019 р. о 13.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.242.01 в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України за адресою: 61016, м. Харків, вул. Переяславська, 23.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України за адресою: 61016, м. Харків, вул. Переяславська, 23

Автореферат розісланий 22 серпня 2019 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 64.242.01

О.В. Фалько

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Холод є одним з основних адаптогенних факторів зовнішнього середовища. Механізми, які забезпечують адаптацію організму до перебування в умовах низьких температур запускаються навіть після короткочасної дії холоду. При цьому відбуваються зміни як на рівні усього організму, так і на рівні окремих тканин і органів. Холодові впливи використовуються для підвищення стійкості тварин до хвороб [Schaeffer, 2001], для підготовки людей до роботи у екстремальних умовах [Young, 1994; DeGroot, 2015], для підвищення функціональних можливостей спортсменів [Lombardi, 2017; Wilson, 2018] та в медицині [O'Connor, 2017; Hohenauer, 2018]. Наразі ще немає однакості в розумінні механізмів формування адаптації до холоду (ХА). Розглядаються різні фізіологічні механізми, спрямовані або на підвищення метаболічної потужності та ефективності теплоутворення, або на зменшення віддачі тепла в зовнішнє середовище [Silva, 2006; Makinen, 2010]. Більшість робіт було виконано на моделі з неперервною тривалою дією холоду. Але акліматизація часто відбувається на тлі коливань температури. Таким чином, більш адекватними є режими аклімації, що враховують ритми природних факторів та ендогенні фізіологічні ритми організму. Порівняльні дослідження різних форм адаптації показали існування відмінностей між експериментальною довготривалою ХА та природною аклімацією до зими і, навпаки, схожість з останньою за більшістю вивчених ознак ХА, заснованій на дії ритмічних холодкових впливів. [Пастухов, 2003].

Однією з найважливіших ланок, що задіяні у процесі аклімації до холоду, є серцево-судинна система (ССС), яка забезпечує збільшені потреби терморегуляторного гомеостазу на тлі адаптації. Наразі є поодинокі роботи, в яких показано зміни на мікроциркуляторному рівні у адаптованих і неадаптованих ссавців. Та більшість робіт була проведена за умов тривалого перебування на холоді, хоча така аклімація призводить до збільшення навантаження на апарат кровообігу та зниження компенсаторних можливостей ССС.

З огляду на вищенаведене доцільним є дослідити особливості функціонування ССС в умовах аклімації до холоду з урахуванням ритмічних складових дії холоду.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Робота виконана в рамках відомчих НДР відділу кріофізіології Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України «Фізіологічні і патофізіологічні механізми дії низьких температур на стан центральної нервової, серцево-судинної та ендокринної систем у тварин різних вікових груп» (шифр – 2.2.6.29, № 0106U002162) та «Особливості фізіологічних і патофізіологічних механізмів регуляції гомеостазу організму гомойо- і

гетеротермних тварин при різних видах охолодження» (шифр – 2.2.6.63, № 0111U001195).

Мета і завдання дослідження. Мета роботи – дослідити стан мікрогемоциркуляторного русла та вегетативної регуляції серцевого ритму у щурів в умовах неперервної та ритмічної холодової аклімації.

Для досягнення поставленої мети передбачалося вирішити такі завдання:

1. Порівняти рівень розвитку адаптаційних здібностей до холоду у щурів після неперервної та ритмічної холодової аклімації.

2. Порівняти зміни морфометричних показників мікрогемоциркуляторного русла тканин «оболонки» і «ядра» тіла щурів після неперервної та ритмічної холодової аклімації методами прижиттєвого спостереження.

3. Оцінити стан вегетативної регуляції серцевого ритму в умовах неперервної та ритмічної холодової аклімації.

4. Дослідити NO-залежні механізми структурно-функціональної організації мікрогемоциркуляторного русла органів і тканин в умовах неперервної та ритмічної холодової аклімації.

5. Дослідити вплив неперервної та ритмічної холодової аклімації на еритроцити та лейкоцити крові щурів.

Об'єкт дослідження – структурно-функціональний стан серцево-судинної системи тварин в умовах формування адаптації організму до холоду.

Предмет дослідження – електрофізіологічні та морфологічні показники стану серцево-судинної системи організму щурів у процесі холодової аклімації на тлі ритмічного та неперервного режимів дії холоду на організм.

Методи дослідження. У роботі були використані кріобіологічні (ритмічна та неперервна холодова аклімація (РХА та НХА), тест вимушеного плавання в холодній воді (ТВПХВ)), електрофізіологічні (електрокардіографія (ЕКГ) з подальшим аналізом варіабельності серцевого ритму (ВСР)), прижиттєва мікроскопія судин шкіри, стегнового м'яза, печінки та головного мозку (з використанням люмінесцентного та поляризаційного освітлення) з подальшим морфометричним аналізом фото- і відеозображень, гістологічний та спектрофотометричний методи дослідження крові та тканин головного мозку і міокарда. За допомогою статистичних методів проведено аналіз отриманих експериментальних даних.

Наукова новизна одержаних результатів. У дисертаційній роботі *вперше* показано, що застосування НХА і РХА приводять до різної відповіді мікросудин піальної оболонки головного мозку, шкіри, м'язів і печінки щурів. *Уперше встановлено*, що тварини з різним вихідним рівнем вегетативної регуляції серця при тривалих режимах ХА реалізують стратегії, які відрізняються за ступенем залучення симпатичної і парасимпатичної ланок вегетативної нервової системи. Виявлені закономірності вказують на важливість попереднього аналізу вихідного рівня показників ВСР для прогнозування результатів адаптації до холоду. *Вперше* показано, що РХА та НХА приводять до зміни осмотичної крихкості еритроцитів крові щурів.

Вперше показано, що при НХА і РХА спостерігається зниження концентрації метаболітів оксиду азоту (NO) в сироватці крові. Вплив НХА призводить до значного підвищення рівня метаболітів NO в міокарді щурів, а РХА – до зниження їх рівня в тканинах кори головного мозку.

Практичне значення одержаних результатів. Структурно-функціональні зміни ССС щурів в умовах НХА і РХА, виявлені в результаті наших досліджень, можна розглядати як підтвердження гіпотези про залучення різних фізіологічних механізмів для забезпечення сталої адаптації організму до холоду. Виявлені закономірності вказують на важливість попереднього аналізу вихідного рівня стану вегетативної регуляції організму для прогнозування розвитку ХА. Виявлене в дослідженні підвищення адаптаційних здібностей після РХА доводить доцільність використання ритмічних режимів холодової аклімації для пристосування теплокровних тварин до дії низьких температур. Отримані дані щодо формування холодової адаптації організму теплокровних тварин можуть бути використані для покращення адаптації тварин до дії низьких температур та в освітніх програмах кафедр фізіології та кріобіології.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням. Автором проаналізована сучасна вітчизняна та зарубіжна наукова література з досліджуваної проблеми, обґрунтовані мета й завдання роботи, визначені методи їх вирішення, проведена статистична обробка отриманих даних. Основна частина експериментальних досліджень виконана здобувачем особисто. Спільно з науковим керівником проведено аналіз отриманих результатів, їх інтерпретація й обговорення, сформульовані висновки. В опублікованих зі співавторами роботах особистий внесок здобувача зазначено, допомога співавторів була спрямована на виконання окремих методичних завдань або консультування. В опублікованих зі співавторами роботах особистий внесок здобувача полягає: у роботах [1-4, 6-8, 10-14, 16-20, 22-23, 25, 27-33, 35-37] — у плануванні експериментів, проведенні статистичної обробки, обговоренні отриманих результатів, формулюванні висновків; у роботах [1-3, 6-8, 10-12, 14, 16-20, 22-23, 25, 27-33, 35-37] — у проведенні різних видів холодкових впливів; у роботах [7, 22-23] — у проведенні ТВПХВ у щурів; у роботах [1, 6, 10, 29, 31, 35] у записі ЕКГ і проведенні спектрального аналізу ВСР у щурів; у роботах [2, 4, 6, 8, 11, 13-14, 16-20, 25, 27, 32-34, 36, 37] — у проведенні мікроскопічних досліджень мікроциркуляторного руслу в різних тканинах щурів *in vivo* та морфометричного аналізу мікросудин; у роботах [2, 4, 6, 8, 13-14, 17, 19, 20, 25, 27, 32] — в проведенні стереотаксичних операцій на щурах; у роботі [28] — в дослідженнях формули крові; у роботах [3, 30] — у вимірюванні осмотичної крихкості і обрахунку індексу сферичності еритроцитів; у роботах [8, 29] — у виконанні експериментальних досліджень із визначення вмісту кінцевих метаболітів NO в тканинах і сироватці крові щурів.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи доповідались і обговорювалися на *міжнародних наукових форумах*: 21 з'їзді

Фізіологічного товариства ім. І.П. Павлова (19-25.09.2010, Калуга, РФ), 10 Пушчинській школі-конференції молодих учених «Біологія – наука ХХІ сторіччя» (17-21.04.2006, Пушино, РФ), 18 Європейській студентській конференції “Promising medical scientists willing to look beyond” (7-11.10.2007, Берлін, ФРН), конференції «Гіпобіоз – фундаментальні та прикладні аспекти» (24-25.05.2007, Київ), конференції «Нові кріобіотехнології» (26-28.11.2008, Харків), 4 конференції «Нове в практичній кріомедицині» (9.11.2010, Москва, РФ), 3 з’їзді фізіологів СНД «Фізіологія і здоров’я людини» (1-6.10.2011, Ялта), конференції «Адаптаційні стратегії живих систем» (11-16.06.2012, Новий Світ), 6 Міжнародній Антарктичній конференції (15-17.05.2013, Київ), конференції «Теоретичні і практичні питання сучасної кріобіології» (24.03.2014, Сиктивкар, РФ), 3 конференції «Фізіологічні механізми адаптації і екології людини» (28.10.2014, Тюмень, РФ), конференції «Проблеми кардіології: від первинної профілактики до високих технологій» (27-28.05.2016, Ташкент, Узбекистан); *на вітчизняних наукових форумах з міжнародною участю*: конференції «Актуальні проблеми і досягнення кріобіології і кріомедицини» (22-24.11.2005, Харків), конференції «Молодь і сучасні проблеми радіотехніки і телекомунікацій «РТ-2006» (17-21.04.2006, Севастополь), 5 Національному конгресі патофізіологів України (17-19.09.2008, Запоріжжя), конференції «Кріотерапія: безпечні технології використання» (24.04.2012, Костянтинівка), конференції «Актуальні проблеми кріобіології і кріомедицини» (18-19.10.2012, Харків), конференції «Медична наука: нові ідеї та концепції» (9–10.11.2012, Дніпропетровськ), конференції «Інформаційні технології в кардіології», (11-12.04.2013, Харків), 6 Конгресі Українського товариства нейронаук (4-8.06.2014, Київ); *на вітчизняних конференціях*: конференціях молодих вчених "Холод в біології і медицині" (23-25.05.2006, 16-17.05.2007, Харків), Школі-семінарі «Сцинтиляційні процеси і матеріали для реєстрації іонізуючого випромінювання» (16-19.09.2009, Харків), конференції молодих учених «Люмінесцентні процеси в конденсованих середовищах» LUMCOS 2009 (17-20.11.2009, Харків), конференціях «Щорічні терапевтичні читання» (15-16.04.2010, 14-15.04.2011, 19-20.04.2012, 25-26.04.2013, 21.04.2016, Харків), конференції «Загальнотерапевтична практика: нові технології та міждисциплінарні питання» (07.11.2013, Харків), конференції «Наукові та практичні аспекти хронізації неінфекційних захворювань внутрішніх органів» (06.11.2014, Харків).

Публікація матеріалів. Основні положення дисертації викладені в 37 наукових роботах: 7 – у фахових наукових виданнях України (2 в Scopus), 2 – у закордонних наукових журналах (1 в Scopus), 1 – у нефарховому спеціалізованому науковому виданні України, 4 – у збірниках матеріалів конференцій, опубліковано 23 тез доповідей.

Об’єм і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 212 сторінках, з яких 128 сторінок основної частини, і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, 4 розділів власних

досліджень і їх обговорення, узагальнення, висновків, списку літератури та 2 додатків. Список літератури містить 555 джерел, у тому числі 364 зарубіжних, розміщених на 58 сторінках тексту. Робота ілюстрована 19 таблицями і 23 рисунками, з яких 12 мікрофотографій.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Огляд літератури. У розділі представлено аналіз літературних даних, які розкривають фізіологічні особливості адаптації організму теплокровних тварин до холоду. Розглядається існування кількох стратегій ХА і можливих причин, що спричиняють розвиток адаптації тим чи іншим шляхом, які підтверджуються спостереженнями за тваринами в природних умовах існування і при штучному моделюванні. Особливу увагу приділяється ролі ССС і її вегетативної регуляції в забезпеченні адаптації організму до холоду. На підставі аналізу наукових публікацій доведено актуальність досліджень використання різних режимів холодкових впливів на організм.

Матеріали й методи дослідження. Експерименти на тваринах були ухвалені Комітетом з біоетики при ІПКіК НАН України і відповідають усім вітчизняним і міжнародним нормам.

Експерименти виконували на 150 безпородних білих щурах самцях (*Rattus norvegicus*) 6–8 місячного віку масою 200–260 грамів. Тварини утримувалися в умовах віварію ІПКіК НАН України (температура 22 ± 2 °С, освітленість 200 лк) з режимом світло/темрява 12:12 годин, вода і їжа надавалися *ad libitum*. У щурів вивчався вплив НХА та РХА на стан мікрогемодинамічного русла та вегетативну регуляцію ритму серця. НХА здійснювали шляхом витримування тварин протягом 30 діб при температурі 5 ± 2 °С. РХА проводили наступним чином: протягом перших 15 хвилин кожної години тварин обдували холодним повітрям (швидкість потоку 6,5 м/с) з температурою 8 ± 1 °С, наступні 45 хвилин вони перебували при кімнатній температурі 22 ± 2 °С. Ритмічні холодкові впливи проводили щоденно по 9 раз протягом місяця. Поверхневу температуру тіла і тканин вимірювали цифровим інфрачервоним термометром IR 1DE1 («Microlife», Швейцарія).

Для оцінки адаптаційних здібностей у тварин нами був використаний тесті вимушеного плавання у холодній воді (ТВПХВ). Щури поміщалися в судину ($d=1$ м) з холодною водою (4 ± 1 °С), яка була заповнена так, щоб тварини не могли спиратися лапами чи хвостом на дно і були вимушені плавати. Коли тварини вже не могли тримати голову над поверхнею води, їх виймали з води, обсушувалися рушниками і вони самовідігрівалися при кімнатній температурі (22 ± 2 °С). Тривалість плавання кожної тварини в першому тестуванні була прийнята за 100%. Надалі всі дані по тривалості плавання в ТВПХВ порівнювалися з вихідним рівнем для кожної тварини і переводилися у відсотки.

Мікрогемодинамічне русло підшкірної жирової клітковини, м'язів стегна, печінки та конвексимальної поверхні головного мозку досліджували методом контактної біомікроскопії за допомогою мікроскопа «Люмам К-1»

(«ЛОМО», РФ), забезпеченого засобами фото- і відеореєстрації (чорно-біла телекамера VC-45-BSHRX («Panasonic», Японія), кольорова телекамера CAM-690C («CAMSTAR», США) і цифровий фотоапарат DSC-T5 («Sony», Японія)) у режимах поляризаційного та люмінесцентного освітлення. Морфометричні вимірювання мікроциркуляторного русла (довжина, ширина, площа судин та інші лінійні і кутові виміри) вираховували за допомогою комп'ютерних програм «AxioVision LE» («Carl Zeiss AG», ФРН) та «FRAM» (автор М.В. Марченко).

Реєстрація ЕКГ і аналіз ВСР проводились за допомогою електрокардіографа «Поліспектр-12/Е» з програмою «Поліспектр-ритм» («Нейро-Софт», РФ). ЕКГ тривалістю 5 хвилин реєструвалася у анестезованих тварин. Електроди для реєстрації були розміщені на усіх 4 кінцівках тварини. Частота дискретизації сигналу складала 1000 Гц; розрядність – 24 біта. Спектральний аналіз ВСР проводили у діапазонах частот, рекомендованих для щурів [Hauton, 2011].

Рівень метаболітів оксиду азоту (NO) оцінювали спектрофотометричним методом за реакцією Гресса з використанням реактивів фірми «ICN» (США). Вимірювання оптичної щільності зразків проводили за допомогою спектрофотометра СФ-46 («ЛОМО», РФ) за довжини хвилі 540 нм.

Підрахунок формули крові проводили у мазках, підготованих стандартними методами з фіксацією і забарвленням за Май-Грюнвальдом і Романовським.

Вимірювання осмотичної крихкості і індексу сферичності (IS) еритроцитів проводили методом малокутового розсіювання світла на приладі, розробленому в ІПКіК НАН України. Вивчали залежність інтенсивності розсіювання світла суспензією еритроцитів під кутом 9° у напрямку до падаючого променя від кількості клітин в цій суспензії. У вимірювальну ємність, що містить 3,0 мл розчину NaCl різної концентрації (від 0,15 до 0,05 М), вносили 30 мкл еритромаси після відстоювання крові і аспірації плазми [Гордієнко, 2000]. Всі дослідження проводили при температурі 20°C . Використовуючи експериментальні криві осмотичної крихкості ми обчислювали IS еритроцитів. Для зручності опису отриманих даних ми, згідно [Kovalenko, 2006], розподілили еритроцити на 4 групи за значеннями IS: 1 (IS = 1–1,3), 2 (IS=1,3–1,7), 3 (IS = 1,7–2,1) та 4 (IS = 2,1–3,0).

Статистичний аналіз проводили з використанням непараметричних методів за допомогою комп'ютерної програми «Statistica 10» («StatSoft», США). Статистично значущими вважали відмінності за $p < 0,05$.

Результати власних досліджень та їх обговорення

Формування холодової аклімації організму після різних режимів холодових впливів. Згідно з сучасними уявленнями тіло складається з двох термофізіологічних відділів – гомеотермічного («ядро», яке продукує тепло) і пойкилотермічного («оболонка», що регулює тепловіддачу). Розмір «оболонки» змінюється в залежності від температури навколишнього середовища, і,

ймовірно, може визначатися стадією і ступенем пристосованості організму до холоду, а також типом ХА. Скелетні м'язи і шкіра вносять вагомий вклад в функціонування «оболонки», регулюючи периферійне кровопостачання. Це впливає на поверхневу температуру тіла. Тому температура шкіри є показовим критерієм зміни поверхневого кровотоку.

В обох експериментальних групах протягом перших 2 тижнів спостерігалось зниження температури шкіри в міжлопатковій області (МЛО) (рис. 1), яке пояснюється викликаною холодом вазоконстрикцією поверхневих судин шкіри і м'язів, що запобігає втратам тепла організмом. Таким же чином відбувається падіння температури хвоста у щурів при НХА. На 3-й тиждень в обох експериментальних групах було зафіксовано повернення температури в МЛО щурів до показників контрольної групи, що свідчить про завершення формування стійкої ХА.

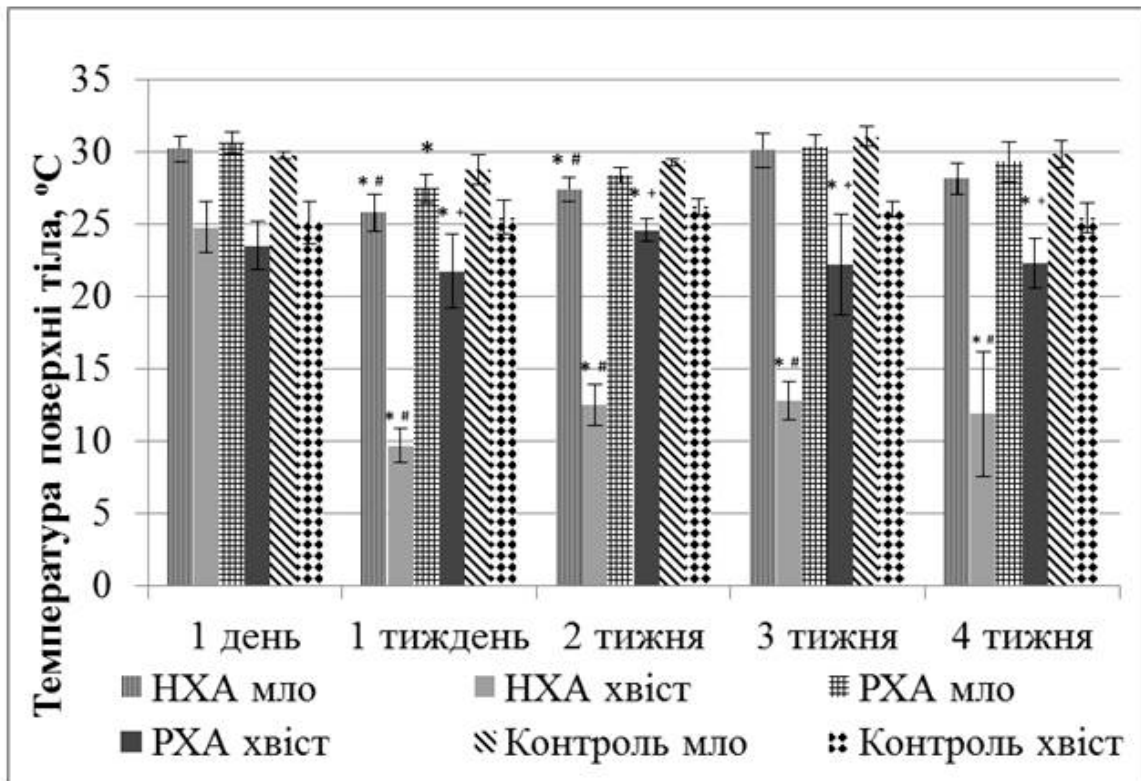


Рис. 1. Зміни поверхневої температури у щурів при різних режимах холодової аклімації, по тижнях
Примітки: * – $p < 0,05$ відносно тварин контрольної групи; + – $p < 0,05$ відносно до тварин при НХА; # – $p < 0,05$ відносно початкових показників тварин.

Підвищення холодової стійкості в тесті вимушеного плавання у холодній воді. Реальні умови життєдіяльності ставлять досить жорсткі вимоги до адаптованості організму до холоду. Тварина або людина повинні не тільки пасивно перецікувати несприятливий період, але бути здатними до активної діяльності в умовах низьких температур. У нашій роботі ми порівняли вплив НХА та РХА на адаптаційні здібності щурів до холоду і на здатність

виконувати фізичне навантаження при стресових впливах. Для оцінки адаптаційних здібностей нами був використаний ТВПХВ (табл. 1).

Таблиця 1

Тривалість плавання щурів в ТВПХВ в залежності від виду холодової аклімації, $M \pm SD$

Група тварин	Вихідний рівень, %	Холодова аклімація 1 місяць, %	1 місяць після ХА, %
1 група, контроль	100	121,79±34,09	123,32±36,73
2 група, РХА	100	192,30±62,39*, #	168,55±49,83 [#]
3 група, НХА	100	105,82±26,50	115,52±44,84

Примітки: * – $p < 0,05$ у порівнянні з контролем; # – $p < 0,05$ у порівнянні з НХА.

Після 30 днів холодкових впливів час плавання в холодній воді у тварин 2 групи підвищувався на 92,3% і відрізнявся від контрольної групи і від групи з НХА. У контролі тривалість плавання у холодній воді перевищувала таку у тварин з НХА. Це свідчить про високе фізіологічне та енергетичне навантаження на організм в умовах НХА (у деяких тварин було зафіксовано зниження тривалості плавання в порівнянні з вихідним рівнем). Високий рівень адаптованості зберігався у 2-й групі і через 1 місяць після припинення ХА (168,55%), в той час, як у контролі він залишався практично на тому ж рівні (123,3%).

Згідно з прийнятими уявленнями про розвиток адаптації до холоду [Пастухов, 2003], тварини обох експериментальних груп вважаються адаптованими до холоду, але після НХА тварини виявилися нездатними до виконання активної роботи в екстремальних умовах. У той же час, після РХА ми спостерігаємо ефект підвищення адаптаційних здібностей організму.

Вплив РХА та НХА на особливості мікрогемоциркуляції у щурів під час ХА. Холодовий вплив викликає комплекс адаптаційно-компенсаторних реакцій організму, які яскраво проявляються на мікроциркуляторному рівні. По мірі адаптації до холоду в залежності від його сили і інтенсивності відбувається стабілізація змін кровообігу відповідно до типу адаптації. Тепловий баланс організму залежить від взаємодії органів «ядра», що генерують тепло, та віддаленими ділянками тіла. У вирівнюванні температурних градієнтів головна роль належить кровообігу. Найбільші зміни під час впливу холоду спостерігалися в мікросудинному руслі шкіри і м'язів (табл. 2).

Після НХА ми помітили збільшення діаметрів капілярів шкіри усіх типів в порівнянні з контролем. У м'язах стегна також спостерігалось збільшення діаметрів усіх капілярних судин, а діаметри венул і артеріол не відрізнялись від контролю. Після РХА діаметри артеріол, прекапілярів і венул шкіри не відрізнялись від контролю. Але діаметри прекапілярів після РХА були значимо менше, ніж у тварин після НХА. У той же час діаметри посткапілярів після РХА не відрізнялись від показників у тварин після НХА, але були більші, ніж у контролі. У м'язах діаметри артеріол і венул після РХА не відрізнялись від

контролю, проте діаметри артеріол після РХА були більші, ніж у тварин після НХА. Діаметри пре- і посткапілярів були більші, ніж у контролі, а діаметри посткапілярів були менші, ніж після НХА.

Таблиця 2

**Показники мікрогемодинаміки судин органів «оболонки»
(шкіри і м'язів) щурів після РХА і НХА, $M \pm SD$**

Показники	Контроль	РХА	НХА
Шкіра			
Діаметр артеріол, мкм	10,57±2,16	8,77 ±1,07	9,57 ±1,62
Діаметр прекапілярів і капілярів, мкм	5,02±0,38	4,84±0,48 [#]	6,06±0,33*
Діаметр посткапілярів, мкм	8,49±0,55	10,21±0,91*	10,10±0,85*
Діаметр венул, мкм	29,84±4,50	30,83±3,96	30,77±4,71
Відносна площа мікросудин в полі зору, %	17,62±5,10	23,98±7,98	25,85±3,25*
Фрактальна розмірність D	1,562±0,059	1,618±0,043	1,704±0,079
Стегновий м'яз			
Діаметр артеріол, мкм	9,13±1,13	9,93 ±0,84 [#]	7,75 ±1,15
Діаметр прекапілярів і капілярів, мкм	4,25 ±0,21	6,11 ±0,12*	5,74 ±0,15*
Діаметр посткапілярів, мкм	5,37 ±0,22	6,81 ±0,18* [#]	8,15 ±0,26*
Діаметр венул, мкм	16,24 ±2,87	15,65 ±2,16	15,73 ±1,85
Відносна площа мікросудин в полі зору, %	15,06 ±0,51	20,49 ±0,48*	18,52 ±1,68
Фрактальна розмірність D	1,528±0,008	1,706±0,024*	1,564±0,073

Примітки: * – $p < 0,05$ по відношенню до контролю; [#] – $p < 0,05$ по відношенню до НХА.

Головний мозок традиційно відносять до органів «ядра». Після НХА у щурів спостерігалось збільшення відносної площі мікросудин на поверхні головного мозку та їх звивистості, в той же час значимих змін діаметрів мікросудин не реєструвалося (табл. 3). Таке збільшення відносної площі мікросудин може бути пов'язане з венозним застоєм внаслідок постійної дії холоду, чи з залученням резервних капілярів в процесі адаптації. Після РХА у щурів, на відміну від реакції після НХА, спостерігалася вазодилатація артеріол і збільшення діаметрів як пре-, так і посткапілярів. В той же час діаметри венул не відрізнялись від контролю. Відносна площа мікроциркуляторного русла була близька до контрольних показників, що може вказувати на відсутність після РХА (на відміну від НХА) венозного застою у судинах головного мозку. На підставі цього можна припустити, що РХА визивають підвищення адаптаційних здібностей організму, подібне такому, що відбувається після НХА, але не призводять до вазоконстрикції артеріальних судин, яка супроводжується венозним застоєм. Вказані відмінності в реакції мікрогемодинаміки судин органів «оболонки» можуть бути в тій чи іншій мірі пов'язані з особливостями холодних навантажень, яких зазнає організм під час НХА і РХА.

Таблиця 3

Показники мікрогемодинамічного русла органів «ядра» (головного мозку і печінки) щурів після РХА і НХА, М±SD

Показники	Контроль	РХА	НХА
Головний мозок			
Діаметр артеріол, мкм	17,68 ±2,14	20,42 ±2,24 ⁺	15,77 ±1,71
Діаметр прекапілярів та капілярів, мкм	7,14 ±0,31	9,74 ±1,07* ⁺	7,17 ±0,72
Діаметр посткапілярів, мкм	10,64 ±0,53	11,80 ±0,31* ⁺	9,86 ±1,65
Діаметр венул, мкм	29,44 ±2,00	28,35 ±5,76	32,86 ±3,22
Відносна площа мікрогемодинамічного русла, %	18,57 ±2,02	21,05 ±4,50	22,49 ±1,51*
Фрактальна розмірність D	1,588±0,061	1,598±0,091	1,603±0,082
Печінка			
Діаметр термінальних венул, мкм	17,87±1,73	22,64 ±1,91*	19,97 ±2,37
Діаметр синусоїдів, мкм	7,10±0,31	8,23 ±0,25*	8,88 ±0,48*
Відносна площа мікроциркуляторного русла, %	28,29±2,66	33,30 ±1,21 ⁺	29,44 ±1,49
Фрактальна розмірність D	1,29±0,047	1,371±0,030	1,346±0,040

Примітки: * – $p < 0,05$ по відношенню до контролю; + – $p < 0,05$ по відношенню до НХА.

У печінці при тривалій дії холоду було відзначено збільшення діаметрів синусоїдів як після РХА, так і після НХА (табл. 3), що знайшло відображення у збільшенні відносної площі мікросудинного русла і його фрактальної розмірності після завершення холодової аклімації. Порівнюючи дію тривалих режимів ХА між собою, ми виявили, що після РХА спостерігалось збільшення діаметрів всіх мікросудин, що відбулося також і на збільшенні відносної площі, яку займали судини в полі зору, в той час як після НХА значимих відхилень від контрольних показників за цим параметром не спостерігалось. Не змінювалися також і діаметри термінальних венул після НХА.

Особливості вегетативної регуляції серцевої діяльності при різних режимах ХА. На здібність організму до адаптації може вказувати його вегетативний статус. Зокрема, ряд дослідників вказують, що вегетативна нервова система (ВНС) відіграє значну роль під час ХА [LeBlanc, 1975; Lunt, 2010]. Після проведення РХА і НХА нами було виявлено, що тварин можна розділити на дві підгрупи залежно від спрямованості змін загальної потужності спектра ВСР (TP) після аклімації: у одних тварин після аклімації спостерігалось помітне збільшення цього показника, а в інших – значне зниження. У зазначених підгрупах спостерігалась кореляція змін показника TP із змінами частоти серцевих скорочень (ЧСС), потужністю у наднизькочастотному (VLF), низькочастотному (LF), високочастотному (HF) діапазонах ВСР та індексом вагосимпатичної взаємодії (LF/HF). До підгрупи 1 були віднесені тварини з

меншим значенням ЧСС, високим значенням ТР і в діапазоні VLF. Після РХА у підгрупі 1 спостерігалось зниження потужності спектра у всіх діапазонах, що супроводжувалося зміною структури спектру ВСР (зменшення частки VLF та підвищення часток LF і HF). Значення LF/HF вказувало на переважання парасимпатичної ланки в регуляції ВСР у тварин цієї підгрупи. У тварин підгрупи 2, навпаки, відбувалося зростання ТР за рахунок підвищення потужності у всіх діапазонах. Окремо слід зупинитися на змінах індексу LF/HF. Серед тварин цієї групи в початковому стані у 40% щурів відзначалося значне переважання LF, і після проведення аклімації таке переважання LF також відзначалося у 40% тварин, але тепер значення LF/HF були наближені до одиниці, що вказує на те, що в результаті РХА у тварин підгрупи 2 відбувається активація парасимпатичної ланки регуляції серцевого ритму. Після проведення НХА спостерігалися подібні з РХА зміни ВСР. Тварини також ділилися на 2 підгрупи. У підгрупі 1 спостерігалось зниження ТР за рахунок зменшення потужності всіх діапазонів, в першу чергу за рахунок VLF, що свідчить про переважання симпатичних механізмів регуляції ВСР.

Таким чином, при ХА в організмі активуються всі рівні регуляції серцевого ритму. Велике значення має вихідний рівень вегетативної регуляції серцевого ритму. Тварини з різним вихідним рівнем ТР під час ХА реалізують різні стратегії вегетативної регуляції, які відрізняються за ступенем залучення симпатичної і парасимпатичної ланок ВНС. При початково високому значенні ТР у тварин ХА реалізовувалася переважно за рахунок активації симпатичної регуляції. Якщо ж тварини мали вихідні низькі значення ТР, то в процесі ХА активувалися і симпатична і парасимпатична ланки ВНС.

Вплив різних режимів холодової аклімації на окремі показники системи крові щурів. *Вплив на осмотичну крихкість і індекс сферичності еритроцитів щурів.* Показано, що вазомоторні реакції на мікроциркуляторному рівні часто пов'язані з реологічними показниками крові та її клітинним складом, а в деяких випадках можуть бути обумовлені ними. Окремими авторами показано вплив короткочасної дії холодкових факторів на осмотичну крихкість еритроцитів і здатність їх до деформації [Erken, 2011; Teległów, 2011]. Після НХА, як і після РХА, були відсутні значущі відмінності в показниках осмотичної крихкості еритроцитів відносно контрольних тварин. Але напрямки змін після цих двох видів аклімації були протилежно спрямовані, тому показники осмотичної крихкості еритроцитів після РХА значимо відрізнялися від таких після НХА (табл. 4).

Найбільше змін у популяційному складі еритроцитів спостерігалось після НХА: було зареєстровано значне збільшення кількості еритроцитів близьких до сферичної форми (група 1) та «сплощених» еритроцитів (група 4). Таке підвищення долі сфероцитів та наближених до них за формою еритроцитів після НХА може відображати значний рівень холодового навантаження на клітини крові, що приводить до зменшення їх пластичності і як наслідок більш швидкої елімінації. А це в свою чергу активує надходження в кров більшої

кількості молодих, більш стійких до гемолізу форм еритроцитів, які мають сплюснену форму. Після РХА ми спостерігали не таке значне збільшення кількості еритроцитів близьких до сферичної форми і зменшення кількості «сплюснених» еритроцитів, що може свідчити про відсутність додаткової стимуляції еритропоезу при РХА.

Таблиця 4

Показники осмотичної крихкості еритроцитів крові щурів та їх розподіл за індексом сферичності після РХА і НХА, $M \pm SD$

Умови експерименту	Осмотична крихкість	Групи еритроцитів за індексами сферичності, %			
		1	2	3	4
Контроль	0,458 $\pm 0,005$	1,14 \pm 0,05	40,82 \pm 2,16	52,79 \pm 1,78	5,14 \pm 1,18
НХА	0,448 \pm 0,011	13,19 \pm 2,9*	25,47 \pm 3,65*	49,24 \pm 2,89	12,10 \pm 2,62*
РХА	0,470 \pm 0,001 *	4,66 \pm 3,38	42,56 \pm 9,61	37,93 \pm 4,98*	3,52 \pm 0,12

Примітка: * – $p < 0,05$ по відношенню до контролю.

Вміст кінцевих продуктів метаболізму NO у сироватці крові. NO приймає участь у забезпеченні температурного гомеостазу [Gerstberger, 1999]. В першу чергу це пов'язано з його вазодилататорною дією [Taylor, 1993]. Також встановлено, що навіть короточасний холодний вплив приводить до пригнічення експресії NO-синтаз у головному мозку [Lee, 2002] та скелетних м'язах щурів [Arbogast, 2004]. Крім того NO відіграє певну роль в розвитку пов'язаної з холодом гіпертензії у щурів [Cárnio, 1997].

Найбільші відмінності спостерігалися після проведення НХА (табл. 5). При цьому спостерігалось помітне підвищення концентрації метаболітів NO в гіпоталамусі і в міокарді. А в сироватці крові після НХА відзначалося зниження кількості дериватів NO. У той же час концентрація кінцевих метаболітів обміну NO в корі головного мозку не відрізнялася від контролю. Після РХА відзначалася схожа картина за спрямованістю змін в концентрації метаболітів NO. Однак в гіпоталамусі і міокарді підвищення концентрації не було значимим. А ось зниження кінцевих продуктів обміну NO після РХА в корі головного мозку і в сироватці крові було значимим.

Таблиця. 5

Показники концентрації кінцевих метаболітів обміну NO, $M \pm SD$

Тканини	Контроль, мкМ	НХА, мкМ	РХА, мкМ
Сироватка крові	29,0 \pm 9,52	17,2 \pm 5,88*	19,44 \pm 0,04*
Міокард	18,07 \pm 8,75	46,21 \pm 3,01*	23,81 \pm 5,93
Кора мозку	21,02 \pm 5,37	18,0 \pm 7,12	14,8 \pm 1,8*
Гіпоталамус	42,29 \pm 4,08	51,89 \pm 9,84	45,83 \pm 5,3

Примітка: * - $p < 0.05$ по відношенню до контролю.

Слід зазначити, що динаміка змін концентрації кінцевих метаболітів після тривалих холодкових впливів помітно відрізняється від подібних змін після короткочасної дії холодкових подразників. Ми вважаємо, що зменшення концентрації кінцевих метаболітів у сироватці крові після обох видів ХА свідчить про вироблену за цей час адаптацію для забезпечення зменшення тепловіддачі організмом за рахунок підтримування тривалої вазоконстрикції судин «оболонки» тіла.

Особливості лейкоцитарної формули крові в залежності від режиму холодкових впливів. Вважається, що за змінами лейкоцитарної формули з урахуванням інших гематологічних показників можна судити про силу стресорних процесів, що відбуваються в організмі, та їх прогностичне значення для подальших профілактичних заходів [Гаркави, 1990; Davis, 2008].

Нами було виявлено, що в контролі і після НХА та РХА всі лімфоцитарні показники крові практично не виходять за межі розкиду, притаманного для щурів в осінньо-зимовий період [Западнюк, 1983]. Якщо порівнювати ці показники між собою, то слід зазначити, що після НХА і РХА у щурів реєструється помірний лейкоцитоз відносно тварин контрольної групи (табл. 6).

Таблиця. 6

Лейкоцитарні показники крові щурів після РХА і НХА, $M \pm SD$

Показники	Контроль	НХА	РХА
Загальна кількість, $\times 10^9/\text{л}$	6,5 \pm 2,04	9,82 \pm 1,42*	10,93 \pm 1,88*
Палочкоядерні лейкоцити, %	2,25 \pm 1,91	3,00 \pm 1,41	2,17 \pm 1,17
Сегментоядерні лейкоцити, %	28,08 \pm 9,0	28,50 \pm 5,26	30,50 \pm 7,12
Еозінофіли, %	3,25 \pm 2,90	2,0 \pm 1,41	2,83 \pm 2,23
Моноцити, %	1,67 \pm 1,61	1,5 \pm 1,0	3,33 \pm 3,08
Лімфоцити, %	63,92 \pm 9,33	65,25 \pm 6,29	60,50 \pm 9,81

Примітка: * – $p < 0.05$ по відношенню до контролю.

Після РХА було зафіксовано збільшення кількості моноцитів в абсолютних показниках в порівнянні з контролем і НХА, але вони залишалися в межах норми, що вважається очікуваною реакцією на холодковий вплив на організм [Kim, 2014]. Після НХА і РХА спостерігалася незначна еозінопенія, при чому після НХА вона була більш виражена, що згідно [Тотолян, 2000; Кавцевич, 2009] може свідчити про більше стресове навантаження за умов такого виду ХА.

Підсумовуючи, можна сказати, що після обох режимів холодової аклімації у щурів, згідно з теорією Л.Х. Гаркаві [Гаркави, 1990], розвивається стан активації, а не стресу. Причому зважаючи на лейкоцитарну формулу можна припустити переважання стану спокійною активації під час РХА, і стану підвищеної активації в умовах НХА.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення й нове вирішення наукового завдання, що розкриває спрямованість і рівень активності адаптаційних і компенсаторних процесів, які відбуваються на рівні серцево-

судинної системи теплокровних тварин на тлі формування аклімації до холоду під дією різних режимів холододових впливів. Отримана нова інформація щодо формування адаптації організму до холоду, зокрема залучення вегетативних ланок регуляції температурного гомеостазу. Отримані результати мають як фундаментальну так і прикладну направленість і можуть бути корисними у різних галузях господарювання і медицини. Зокрема на підставі отриманих даних можуть бути запропоновані механізми підвищення холодової стійкості організму при необхідності тривалого перебування в умовах низьких температур.

1. Виявлено, що ритмічний режим холодової аклімації, на відміну від неперервної дії холоду, значимо підвищує адаптаційні здібності щурів до холоду, що виражалось в збільшенні тривалості плавання тварин в холодній воді у 2 рази, яке супроводжувалося збереженням більш високої температури ядра тіла після перебування в холодній воді. І таке підвищення адаптаційних здібностей після РХА зберігається щонайменше протягом 30-ти діб після припинення холододових впливів.

2. Показано, що застосування РХА і НХА призводило до різної відповіді в мікросудинному руслі як в структурах «ядра» (печінка, головний мозок), так і в структурах «оболонки» (шкіра, м'язи кінцівок) тіла щурів. Після НХА спостерігалось значиме збільшення середнього діаметра прекапілярів і капілярів шкіри відносно тварин контрольної групи (на 20%) та тварин з РХА (на 23%), в той час як діаметри артеріол і венул не відрізнялися у порівнянні з контролем, крім того після НХА відбувалося збільшення відносної площі мікросудин у шкірі на 46%. У м'язах стегна після НХА діаметри артеріол зменшилися на 22%, а діаметри посткапілярів збільшилися на 19% у порівнянні з РХА. Після РХА відбувалося збільшення відносної площі мікросудин у м'язах стегна на 26% у порівнянні з контролем та в печінці на 13% відносно стану після НХА. У головному мозку після РХА відбувається збільшення діаметрів артеріол, капілярів і посткапілярів (на 23, 26 та 16% відповідно) відносно змін у мікросудинах після НХА.

3. Виявлено закономірності, що вказують на важливість попереднього аналізу вихідного рівня показників варіабельності серцевого ритму для прогнозування результатів адаптації теплокровних тварин до холоду. Тварини з різним вихідним рівнем загальної потужності спектра при тривалих режимах аклімації до холоду реалізують різні вегетативні стратегії, які відрізняються ступенем залучення симпатичної і парасимпатичної ланок вегетативної нервової системи. Якщо тварини мають початково високі значення ТР то при аклімації до холоду переважно активується симпатична регуляція. При низьких значеннях ТР у процесі аклімації активуються і симпатична і парасимпатична ланки вегетативної нервової системи.

4. Встановлено, що ритмічний та неперервний режими холодової аклімації приводять до різноспрямованих змін осмотичної крихкості еритроцитів щурів. На підставі розрахованого індексу сферичності після НХА спостерігалось

збільшення кількості сплюснених еритроцитів в 2,3 рази та еритроцитів з формою, наближеною до сферичної в 11,6 раз. Після РХА спостерігалось збільшення кількості еритроцитів з формою, наближеною до сферичної лише в 4 рази, а кількість сплюснених еритроцитів зменшувалася.

5. Застосування обох видів холодової аклімації не викликало розвитку стресорного стану у щурів, про що свідчить стабільність співвідношення типів лейкоцитів у крові. Обидва види холодової аклімації приводять до формування стану активації: після РХА – спокійної активації, а після НХА – стану підвищеної активації, що може бути пов'язано з рівнем фізіологічного навантаження, отриманого організмом в процесі холодової аклімації. Ці особливості реагування на дію холоду можна використати для підготовки організму для несприятливих умов.

6. Показано, що тривалі режими холодової аклімації як неперервної, так і ритмічної, приводили до зниження концентрації метаболітів NO в сироватці крові (на 40% після НХА і 33% після РХА). НХА призводило до значного підвищення рівня метаболітів оксиду азоту в міокарді щурів (в 2,5 рази), а РХА – до значимого зниження їх рівня в корі головного мозку (на 30%).

ПЕРЕЛІК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

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

1. Особенности регуляции сердечного ритма при различных видах холодовой акклимации у крыс / **Луценко Д. Г.**, Шило А. В., Марченко Л. Н., Перский Е. Э., Бабийчук Г. А. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2013. Т. 23, № 2. С.105–115. (Scopus)

2. Peculiarities of rat brain microhemocirculation after various modes of long-term cold-acclimation. / **Lutsenko D. G.**, Shylo O. V., Sleta I. V., Marchenko V. S. Neurophysiology. 2014. Vol. 46, No 4. С. 384–386. (Scopus, Web of Science)

3. Влияние различных методов холодовой акклиматизации на осмотическую хрупкость и индекс сферичности эритроцитов крыс. / Шило А. В., **Луценко Д. Г.**, Венцковская Е. А., Коваленко И. Ф., Бабийчук Г. А. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2014. Т. 100, № 1. С.105–111. (Scopus)

4. Комплекс для фрактальной морфометрии микроциркуляторного русла in vivo. / **Луценко Д. Г.**, Марченко Н. В., Марченко В. С., Слета И. В. Проблемы криобиологии. 2005. Т. 15, № 3. С. 516-518.

5. **Луценко Д. Г.** Микрогемоциркуляция головного мозга крыс после гипотермических воздействий. Проблемы криобиологии. 2008. Т. 18, № 1, С. 81–84.

6. **Луценко Д. Г.**, Марченко В. С., Слета И. В. Применение фрактального анализа для комплексной оценки структурно-функционального состояния

микрогемоциркуляції у крыс после общей гипотермии. Проблемы криобиологии. 2008. Т. 18, № 3. С. 391–393.

7. **Луценко Д. Г.**, Бабійчук Г. А., Марченко В. С. Адаптационные способности крыс после длительных ритмических холодовых воздействий. Вісник проблем біології і медицини. 2010. № 2. С. 90–93.

8. **Луценко Д. Г.**, Марченко В. С., Бабійчук В. Г. NO-залежні механізми дії ритмічних холодових впливів на функціональну архітектуру мікрогемоциркуляторного русла головного мозку щурів. Проблемы криобиологии. 2011. Т. 21, № 2. С. 117–124.

2 Наукові праці, які засвічують апробацію матеріалів дисертації:

Статті у збірках матеріалів конференцій

9. **Луценко Д. Г.** Влияние длительных холодовых воздействий на адаптацию крыс к холоду. *Криотерапия: безопасные технологии применения*. Сборник научных работ. Киев: КВИЦ, 2012. С. 65-70.

10. **Луценко Д. Г.**, Марченко В. С. Показатели вегетативного статуса организма при различных видах акклимации к холоду. *Медицина наука: нові ідеї та концепції*: мат. міжнар. наук.-практ. конф., м. Дніпропетровськ, 9–10.11.2012 р. Дніпропетровськ: Salutem, 2012. С. 19–22.

11. **Луценко Д. Г.**, Слета И. В., Марченко В. С. Особенности микрогемоциркуляции в коже и мышцах крыс при разных режимах длительной холодовой акклимации. *Теоретические и практические аспекты современной криобиологии*: мат. межд. науч.-практ. конф., г. Сыктывкар, РФ, 24.03.2014 г. Сыктывкар, 2014. С. 364–368.

12. **Луценко Д. Г.**, Шило А. В., Бабійчук Г. А. Изменение температуры тела крыс в условиях различных режимов холодовой акклимации. *Физиологические механизмы адаптации и экология человека*: мат. III межд. науч.-практ. конф. г. Тюмень, РФ, 28.10.2014 г. Тюмень: Лаконика, 2014. С. 176–181.

Тези конференцій

13. Фрактальная морфометрия микроциркуляторного русла in vivo. / **Луценко Д. Г.**, Марченко Н. В., Марченко В. С., Слета И. В. *Биология – наука XXI века*, г. Пушино, РФ, 17-21.04.2006 г. Пушино, 2006. С. 345-346.

14. Complex for fractal morphometria of microgemocirculation in vivo. / **Lutsenko D. G.**, Marchenko N. V., Sleta I. V., Marchenko V. S. *Молодь та сучасні проблеми радіотехніки та телекомунікацій «РТ-2006»*: мат. міжн. наук.-техн. конф., м. Севастополь, 17-21.04.2006 р. Севастополь, 2006. С.185.

15. **Луценко Д. Г.** Особенности микрогемоциркуляции после острой общей гипотермии. Проблемы криобиологии. 2007. Т. 17, № 2. С. 198.

16. **Lutsenko D. G.**, Sleta I. V., Marchenko V. S. Functional value of fractal organization of microhemocirculation bed under cold stress. Eur J Med Res. 2007. Vol. 12, Suppl IV. P. 96.

17. **Lutsenko D. G.**, Babijchuk V. G. Post-hypothermic effect and aspects of the neuro- and angioarchitecture of rat's brain at different ages. *Cell Preserv Technol.* 2008. Vol. 6, No 1. P. 98–99.

18. **Луценко Д. Г.**, Слета І. В., Марченко В. С. Дослідження фрактальних чинників мікроциркуляції після гіпотермії. *Патологія.* 2008. Т. 5, № 4. С. 58.

19. Применение фрактального анализа в конфокальной и световой микроскопии при использовании флуоресцентных веществ *in vivo*. / **Луценко Д. Г.**, Марченко В. С., Коваленко И. Ф., Слета И. В. *Сцинтилляционные процессы и материалы для регистрации ионизирующего излучения*, г. Харьков, 16–19.09.2009 г. Харьков, 2009. С. 24.

20. Использование флуоресцентных веществ для фрактального анализа микроциркуляторного русла *in vivo*. / **Луценко Д. Г.**, Марченко В. С., Коваленко И. Ф., Слета И. В. *Люминесцентные процессы в конденсированных средах: тезисы науч.-техн. конф.*, г. Харьков, 17-20.11.2009 г. Харьков, 2009. С. 33.

21. **Луценко Д. Г.** Влияние длительных ритмических холодовых воздействий на адаптационные способности крыс. *Щорічні терапевтичні читання: мат. наук.-практ. конф.*, м. Харків, 15–16.04.2010 р. Харків, 2010. С. 154.

22. Влияние ритмических холодовых воздействий на адаптационные способности крыс. / Венцковская Е. А., **Луценко Д. Г.**, Шило А. В., Бабийчук Г. А. *XXI съезд Физиологического общества им. И. П. Павлова*, г. Калуга, РФ, 19-25.09.2010 г. Калуга, 2010. С. 112–113.

23. Ритмические холодовые воздействия повышают адаптационные способности крыс. / **Луценко ДГ**, Венцковская ЕА, Шило АВ, Марченко ВС, Бабийчук ГА. *Новое в практической криомедицине: тезисы 4 науч.-практ. конф.*, г. Москва, РФ, 09.11.2010 г. Москва, 2010. С. 55-56.

24. **Луценко Д. Г.** Вплив тривалих ритмічних холодових впливів на стан серцево-судинної системи щурів з різним вегетативним статусом. *Щорічні терапевтичні читання: мат. наук.-практ. конф.*, м. Харків, 14-15.04.2011 р. Харків, 2011. С. 155.

25. **Луценко Д. Г.**, Слета И. В., Шило А. В. Микрогемодициркуляция при холодовой акклимации крыс. *Физиология и здоровье человека: научные труды III съезда физиологов СНГ*, г. Ялта, 1-6.10.2011 г. Ялта, 2011. С. 242.

26. **Луценко Д. Г.** Влияние разных видов холодовой акклимации на обмен оксида азота у крыс. *Щорічні терапевтичні читання: мат. наук.-практ. конф.*, м. Харків, 19-20.04.2012 р. Харків, 2012. С. 148.

27. Разные виды холодовых воздействий приводят к сходным изменениям в гемодициркуляции мозга независимо от механизмов формирования адаптации. / **Луценко Д. Г.**, Венцковская Е. А., Марченко В. С., Бабийчук Г. А., Шило А. В. *Адаптационные стратегии живых систем: тезисы науч.-практ. конф.*, пос. Новый Свет, 11-16.06.2012 г. Киев, 2012. С. 65-66.

28. **Луценко Д. Г.**, Кудокоцева О. В., Пироженко Л. Н. Показатели белой крови у крыс после разных режимов холодовой акклимации. *Щорічні терапевтичні читання: мат. наук.-практ. конф.*, м. Харків, 25-26.04.2013 р. Харків, 2013. С. 188.

29. Влияние длительных непрерывных и многократно повторяющихся холодовых воздействий на сердечно-сосудистую систему у крыс при акклимации к холоду. / **Луценко Д. Г.**, Марченко В. С., Коваленко И. Ф., Бабийчук Г. А. *VI Міжнародна Антарктична конференція*, м. Київ, 15-17.04.2013 р. Київ, 2013. С. 449–453.

30. Влияние различных методов холодовой акклимации на осмотическую хрупкость и индекс сферичности эритроцитов крыс. / Шило А. В., **Луценко Д. Г.**, Венцковская Е. А., Коваленко И. Ф., Бабийчук Г. А. *Загальнотерапевтична практика: нові технології та міждисциплінарні питання: мат. наук.-практ. конф.*, м. Харків, 7.11.2013 р. Харків, 2013. С. 333.

31. **Луценко Д. Г.**, Марченко В. С., Бабийчук Г. А. Исходный уровень показателей variability сердечного ритма определяет стратегию вегетативного ответа при различных видах холодовой акклимации. *Клиническая информатика и Телемедицина*. 2013. Т. 9, Вып. 10. С. 181-182.

32. Peculiarities of rat brain microhemocirculation after various modes of long-term cold-acclimation. / **Lutsenko D. G.**, Shylo O. V., Sleta I. V., Marchenko V. S. *VI Конгрес Українського товариства нейронаук*, м. Київ, 04-08.06.2014 р. Київ, 2014. С. 33.

33. **Луценко Д. Г.**, Слета И. В., Марченко В. С. Особенности микрогемодикуляции в печени крыс после длительных режимов холодовой акклимации. *Наукові та практичні аспекти хронізації неінфекційних захворювань внутрішніх органів: мат. наук.-практ. конф.*, м. Харків, 06.11.2014 р. Харків, 2014. С. 224.

34. **Луценко Д. Г.** Фрактальные показатели микроциркуляторного русла крыс после холодовой акклимации. *Щорічні терапевтичні читання: мат. наук.-практ. конф.*, м. Харків, 21.04.2016 р. Харків, 2016. С. 194.

35. **Луценко Д. Г.**, Шило А. В., Бабийчук Г. А. Применение показателя Херста для оценки изменений сердечного ритма при холодовой акклимации. *Кардиология Узбекистана*. 2016. № 1-2. С. 368.

3. Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

36. Фрактальна організація мікроциркуляторного русла при штучній гіпотермії. / **Луценко Д. Г.**, Слета И. В., Марченко В. С., Козлов О. В. *Науковий вісник Національного аграрного університету*. 2008. Вип. 126. С. 75-80.

37. **Луценко Д. Г.**, Слета И. В., Марченко В. С. Влияние длительных режимов холодовой акклимации на микрогемодикуляцию печени у крыс. *Биофизика живой клетки*. 2014. Т. 10. С. 117–119.

АНОТАЦІЯ

Луценко Д. Г. Стан мікрогемодинамічної системи та вегетативної регуляції серцевого ритму щурів в умовах різних режимів холодової акліматії. — Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) за спеціальністю 03.00.19 «Кріобіологія». — Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків, 2019.

Дисертаційна робота присвячена вивченню дії різних режимів холодової акліматії (ритмічної та неперервної) на вегетативну регуляцію серцевої діяльності і мікроциркуляцію органів «оболонки» і «ядра» тіла у щурів.

Показано, що РХА підвищує адаптаційні здібності організму щурів до холоду у більшій мірі ніж НХА. У щурів після РХА та НХА спостерігаються різні фізіологічні відповіді на мікрогемодинамічному рівні в органах «оболонки» і «ядра» тіла. Виявлено, що РХА і НХА приводять до змін осмотичної крихкості еритроцитів крові. Після НХА і РХА виявлено зниження концентрацій метаболітів NO у сироватці крові щурів. Виявлене підвищення адаптаційних здібностей щурів після РХА вказує на доцільність використання ритмічних режимів ХА для покращення адаптації теплокровних тварин до дії низьких температур.

Ключові слова: холодова акліматія, мікрогемодинамічне русло, варіабельність серцевого ритму, неперервні холодкові впливи, ритмічні холодкові впливи, щури.

АННОТАЦИЯ

Луценко Д. Г. Состояние микрогемодинамической системы и вегетативной регуляции сердечного ритма в условиях разных режимов холодовой акклиматации. — Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук (доктора философии) по специальности 03.00.19 «Криобиология». — Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков, 2019.

Диссертационная работа посвящена изучению влияния различных режимов холодовой акклиматации (ритмической и непрерывной) на вегетативную регуляцию сердечной деятельности и микроциркуляцию в органах «оболочки» и «ядра» тела у крыс.

Показано, что РХА повышает адаптационные способности организма крыс к воздействию холода в большей степени, чем НХА. У крыс после РХА и НХА наблюдаются разные физиологические ответы на микроциркуляторном в органах «оболочки» и «ядра» тела. РХА и НХА приводят к изменениям осмотической хрупкости эритроцитов крови. После РХА и НХА наблюдается снижение концентрации метаболитов NO в сыворотке крови. Обнаруженное повышение адаптационных способностей крыс после РХА указывает на целесообразность применения ритмических режимов ХА для улучшения адаптации теплокровных животных к действию низких температур.

Ключевые слова: холодовая акклимация, микрогемодициркуляторное русло, вариабельность сердечного ритма, непрерывные холодовые воздействия, ритмические холодовые воздействия, крысы.

ANNOTATION

Lutsenko D. G. State of microhemocirculatory system and heart rate autonomic regulation of rats under different cold-acclimation regimens. — The qualifying paper as a manuscript.

Thesis for the degree of Candidate of Biological Science (Philosophy Doctor) in specialty 03.00.19 "Cryobiology". — Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, 2019

The thesis is devoted to studying the effects of various modes of a cold acclimation (CA) (rhythmic and continuous) on autonomic regulation of cardiac activity and microhemocirculation of the body "shell" and "core" in rats.

The rhythmic cold acclimation (RCA) has been shown to improve to cold to a greater extent the adaptive capacity of rats versus continuous cold acclimation (CCA). After the CCA we noticed an increase in average diameters of all capillary vessels in skin and thigh muscles compared with the control. After the RCA the average diameters of arterioles, capillaries and venules in rat skin did not differ from those in the control. But the diameters of precapillaries after the RCA were less than those after the CCA. The postcapillary diameters after the RCA did not differ from those after the CCA, but they were larger than those in the control. The diameters of arterioles of thigh muscles after the RCA were larger than the ones after the CCA. After RCA the diameters of pre- and postcapillaries were larger than that in the control, and the diameters of postcapillaries were lower than those after the CCA. After the CCA we observed an increase in the relative area of microvessel network on brain surface and their tortuosity.

After the RCA and CCA we found that the rats can be divided into two subgroups depending on the direction of change in the total power (TP) of heart rate variability (HRV) after the CA. In some animals after the CA this index was increased, while in others it was decreased in the contrary. In these subgroups, there was a certain correlation between the changes of TP with those in heart rate (HR), VLF, HF, LF and LF/HF. In the subgroup 1 we identified the rats with a lower baseline HR, a higher TP and VLF values than in the subgroup 2. In the subgroup 1 we observed a decrease in the spectral power in all bands, which was accompanied by changed structure of the HRV spectrum (a decrease in the VLF-band and an increase in the LF and HF bands). The LF/HF value indicated the predominance of the HRV parasympathetic regulation in the animals of this subgroup. In the animals of the subgroup 2, on the contrary, there was a rise in TP due to increased power in all bands. After the RCA the LF was prevalent in 40% of animals, but these values were about a unit. Based on this fact, we have noted that after the RCA in the rats of the subgroup 2 the parasympathetic regulation of the HR was partially activated.

After the CCA we observed the changes of HRV similar to those after the RCA. Subgroup 1 demonstrated a reduced TP caused by decreased power of all bands, but primarily due to a decrease in the VLF band, indicating the predominance of HRV sympathetic regulation mechanisms. Thus, we see that the CA activated all levels of the HR regulation. As well the initial level of the HR autonomic regulation is very important for this process. Animals with various initial levels of the TP during the CA implement different strategies of vegetative regulation, as well the animals actually differ in the degree of an involvement of sympathetic and parasympathetic links of the autonomic nervous system. At the initially high value of TP an adaptation to cold was implemented mainly due to the activation of sympathetic regulation. If the animals had initial low values of TP, then both the sympathetic and parasympathetic links of autonomic nervous system are activated in the CA process. The revealed patterns point to the importance of preliminary analysis of the baseline heart rate variability for predicting the results of adaptation to cold.

The RCA and CCA have been led to the changes in osmotic fragility of erythrocytes in rats. Also this is reflected in the alteration of their composition. The CCA led to the increased number of erythrocytes with a nearly spherical shape and flattened forms. After the RCA there was also an increase in the number of erythrocytes with a shape close to spherical but there was a decrease in the number of flattened forms of erythrocytes. It was for the first time shown that after RCA and CCA there was a decrease in the concentration of NO metabolites in serum. The CCA led to an increase in the level of NO metabolites in myocardium and the RCA did to a decrease in their level in the cerebral cortex tissues.

The revealed significant increase of adaptive abilities of rats after the RCA indicates the expediency of using the CA rhythmic modes to improve the adaptation of homoiothermic animals to the effect of low temperatures.

Keywords: cold acclimation, microhemocirculatory bed, heart rate variability, continuous cold effects, rhythmic cold effects, rats.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ВНС — вегетативна нервова система	HF — високочастотний компонент спектра
BCP — варіабельність серцевого ритму	LF — низькочастотний компонент спектра
НХА – неперервна холодова аклімація	NO — оксид азоту
РХА – ритмічна холодова аклімація	TP — загальна потужність спектра BCP
ТВПХВ – тест вимушеного плавання у холодній воді	VLF — наднизькочастотний компонент спектра
ЧСС – частота серцевих скорочень	LF/HF – індекс вагосимпатичної взаємодії
ХА – холодова адаптація	

ДЛЯ ПРИМІТОК

ДЛЯ ПРИМІТОК

Відповідальний за випуск
д.б.н. Г.О. Бабійчук

Формат 60x90/16. Ум.друк.арк. 0,9. Папір офсетний.
Наклад 100 прим. Замовлення 1907-03.
Підписано до друку 23.07.2019

Надруковано з макету замовника у ТОВ «Файний формат»
Код ЄДРПОУ 39200347
61001, м. Харків, вул. Плеханівська, 126А, оф. 434-б.
тел. (057) 764-11-87