

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини
Національна академія наук України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

КУЛИК ВОЛОДИМИР ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК 57.086.13.034:577.121:612.825.4-084"461"- "464"

ДИСЕРТАЦІЯ

ВПЛИВ РІЗНИХ РЕЖИМІВ РИТМІЧНОГО ЕКСТРЕМАЛЬНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ НА СТРУКТУРНО–ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НЕЙРОГУМОРАЛЬНОЇ СИСТЕМИ ОРГАНІЗМУ МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ

за спеціальністю 03.00.19 «Кріобіологія»

091 – Біологічні науки

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

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

_____ (В.В. Кулік)

Науковий керівник Бабійчук Владислав Георгійович, доктор медичних наук,
старший науковий співробітник

Харьков – 2021

АНОТАЦІЯ

Кулик В.В. Вплив різних режимів ритмічного екстремального охолодження на структурно-функціональний стан нейрогуморальної системи організму молодих і старих щурів. – 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, 2021.

За останні десятиліття значно зросла роль фізичних методів впливу на організм із метою збереження або відновлення здоров'я людини. Серед них основне місце займає термічний, відмінною ознакою якого є застосування теплових або холодних агентів. Холодовий вплив це один з методів, в основі якого лежить здатність холоду стимулювати адаптаційні механізми і усувати з їх допомогою придбану або вроджену (генетично обумовлену) недостатність адаптації до дії стресових факторів та інших негативних чинників навколишнього середовища.

В даний час поряд із клінічними набули поширення саме фундаментальні дослідження, що стосуються вивчення механізмів дії холоду на гематологічні параметри, про- і антиоксидантну систему організму, структурно-функціональний стан і нейрогуморальну регуляцію серцево-судинної системи.

Досягнутий на сьогоднішній день значний науковий прогрес у галузі комп'ютерних технологій дозволив використовувати широкий спектр різноманітних холодних впливів, які відрізняються не тільки абсолютними показниками температури, але й режимами проведення процедур. Дослідження дії охолодження різного рівня, тривалості та кратності на процеси терморегуляції організму, дали змогу значно розширити уявлення про внутрішні регуляторні механізми, які задіяні у відповідь на вплив низької температури оточуючого середовища.

Відомо, що ритмічно організовані і ретельно підібрані за інтенсивністю екстремальні холодові впливи позитивно впливають на фізіологічні та біохімічні процеси організму, модулюють активність основних його функціональних систем.

Проте незважаючи на високу терапевтичну ефективність застосування ритмічних екстремальних холодових впливів (РЕХВ) (-120°C), обумовлену підвищенням адаптаційних можливостей організму, в ряді випадків їх використання, особливо у старих тварин, може супроводжуватися вираженою стресовою реакцією організму у вигляді перенапруження симпатичної ланки вегетативної нервової системи, розвитку патологічної гіперліпідемії і т.д. Тому актуальним є пошук і розробка нових більш оптимальних температурних режимів РЕХВ, у тому числі з використанням на ранніх етапах екстремального охолодження менш «агресивних» с точки зору дії на гомеостатичні регуляторні системи організму температур, які здатні надавати не тільки стимулюючий вплив на гомеостаз, а і мінімізувати вірогідність розвитку негативних реакцій з боку основних функціональних систем організму експериментальних тварин, що особливо важливо для людей похилого віку з порушеними властивостями адаптації до дії стресових факторів.

У зв'язку з вищевикладеним виникають передумови для вивчення особливостей функціонального стану нейрогуморальної системи організму молодих і старих щурів під впливом різних режимів ритмічного екстремального охолодження, з метою розробки нових методів корекції порушеного гомеостазу і прискореної адаптації тварин різних вікових груп до несприятливих умов життєдіяльності.

У дисертаційній роботі вперше дана оцінка структурно-функціональним змінам, які відбуваються в нейрогуморальній системі організму молодих і старих тварин до та після застосування різних режимів ритмічного екстремального охолодження. Вперше з'ясована ефективність використання комбінованого режиму РЕХВ (-60°C ; -120°C ; -120°C), особливо у старих щурів, з метою підвищення не тільки власних адаптаційно-компенсаторних можливостей

організму, які істотно знижуються з віком, а і для відновлення біологічних ритмів та прискореної адаптації тварин до несприятливих умов життєдіяльності.

Для оцінки структурно-функціонального стану нейрогуморальної системи організму молодих і старих щурів до та після застосування різних режимів РЕХВ проведено спектральний аналіз варіабельності серцевого ритму (ВСР), досліджено динаміку змін ліпідного профілю і рівня тиреоїдних і статевих гормонів сироватки крові, визначено концентрацію малонового діальдегіду (МДА), який характеризує інтенсивність перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) в мозковій тканині, дана оцінка змінам когнітивних функцій. За допомогою електронно-мікроскопічних методів досліджено особливості субмікроскопічних перебудов клітин і судин головного мозку.

Аналіз хвильової структури серцевого ритму молодих контрольних тварин показав наявність у них швидкої (рефлекторної) системи регуляції серцевого ритму, а у старих щурів спостерігалися істотні порушення структури спектра нейрогуморальної регуляції ВСР.

Вперше встановлено, що незалежно від віку тварин, застосування температурних режимів РЕХВ (-60°C ; -120°C ; -120°C) і (-120°C ; -120°C ; -120°C), сприяло статистично значущому збільшенню показника загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції (ТР) за рахунок активації як вегетативних центрів, так і гуморальної ланки регуляції. При цьому на тлі використання режиму РЕХВ (-60°C ; -120°C ; -120°C) показник ТР кількісно більш істотно зростав у віддалені терміни експериментальних досліджень. Так через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження у молодих щурів рівень ТР підвищувався щодо контролю в 3,6 і 4,2 рази, а у старих в 4,6 і 8 раз відповідно.

Застосування температурного режиму РЕХВ (-60°C ; -60°C ; -60°C) у молодих і старих тварин не приводило до достовірних змін всіх досліджуваних параметрів ВСР.

Показано, що у старих інтактних щурів вміст тиреоїдних і статевих гормонів у сироватці крові за рахунок зниження функціональної активності, як щитоподібної, так і статевих залоз істотно зменшувався в порівнянні з молодими.

Вперше виявлено, що у старих тварин використання температурних режимів РЕХВ (-120°C ; -120°C ; -120°C) та (-60°C ; -120°C ; -120°C) відновлювало гормонсинтезуючу здатність щитоподібної і статевих залоз в порівнянні з режимом (-60°C ; -60°C ; -60°C), що свідчило про збільшення адаптаційно-компенсаторного потенціалу організму старих експериментальних тварин.

З'ясовано, що у старих контрольних щурів рівень загального холестерину (ЗХ), холестерину ліпопротеїнів низької щільності (ХСЛПНЦ) і коефіцієнт атерогенності (КА) істотно підвищувався в порівнянні з молодими.

Вперше встановлено, що режим охолодження (-60°C ; -120°C ; -120°C) надавав більш «м'який» вплив на ліпідний профіль сироватки крові молодих і старих щурів, оскільки не супроводжувався стресовою реакцією організму у вигляді гіперліпідемії. Так у молодих тварин режим РЕХВ (-120°C ; -120°C ; -120°C) на початкових етапах викликав гіперліпідемію з подальшим зниженням концентрації атерогенних фракцій ліпідів. На цьому тлі режим (-60°C ; -120°C ; -120°C) не супроводжувався вираженою стресовою реакцією організму у вигляді гіперліпідемії. У старих тварин тільки режим охолодження (-60°C ; -120°C ; -120°C) призводив до нормалізації співвідношення корисних фракцій ліпідів і атерогенних (нормоліпідемія), а концентрація ліпідів в сироватці крові і їх баланс практично відповідали показникам молодих контрольних тварин.

З'ясовано, що РЕХВ по різному впливають на інтенсивність процесів ПОЛ в тканинах головного мозку щурів різних вікових груп в залежності від температурного режиму. Вперше показано, що режим РЕХВ (-60°C ; -120°C ; -120°C) на початкових етапах досліджень збільшував вміст МДА в тканинах головного мозку тварин незалежно від їх віку, при цьому на відміну від режиму (-120°C ; -120°C ; -120°C) у відповідь на надмірне накопичення продуктів ПОЛ

адекватно активував антиоксидантну систему. Застосування PEXB в температурному режимі (-60°C ; -60°C ; -60°C) не змінювало інтенсивність процесів ПОЛ в тканинах головного мозку.

Ультраструктурна організація нейронів кори головного мозку, гіпоталамусу та гіпокампу головного мозку молодих контрольних щурів свідчила про їх високу структурно-функціональну активність, що підтверджувалось наявністю великої кількості мітохондрій і крист у них, а також присутністю гантелеподібних форм, які свідчили про їх поділ. Крім того, вторинні лізосоми і включення ліпідів у цих тварин не виявлялися. При електронно-мікроскопічному дослідженні нейронів кори головного мозку, гіпоталамусу та гіпокампу старих щурів встановлено, що в них розвивалися внутрішньоклітинні катаболічні процеси. Органели мали ознаки, дистрофічних і деструктивних порушень мембранних структур.

Вперше виявлено, що використання 9 сеансів PEXB в температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C) стимулювало синтетичні і метаболічні процеси в клітинних елементах кори головного мозку, гіпоталамусу та гіпокампу тварин різних вікових груп. У цитоплазмі були відсутні деструктивно змінені мітохондрії, вторинні лізосоми і включення ліпофусцину. У пластинчастому цитоплазматичному комплексі Гольджі розвивалась гіпертрофія мембран. Цитоплазматична мембрана набувала типову будову і не містила вогнищ розпушення і лізису. Мало місце збільшення функціональної активності нейронів, що структурно проявлялося в гіперплазії мембран гранулярного ендоплазматичного ретикулума, появи мітохондрій, що діляться, збільшені кількості, як пов'язаних з мембранами рибосом, так і вільних рибосом та полісом в цитоплазмі.

Показано, що у старих щурів, в порівнянні з молодими мав місце когнітивний дефіцит, який проявлявся в зниженні швидкості навчання і формування пам'яті.

Вперше доведено, що режим PEXB (-60°C ; -120°C ; -120°C), на відміну від режимів (-120°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -60°C ; -60°C), незалежно від віку

експериментальних тварин, призводив до значущого поліпшення когнітивних функцій за рахунок підвищення цілеспрямованої рухової активності і просторової орієнтації.

Таким чином, результати досліджень, що стосуються вивчення особливостей впливу різних режимів ритмічного екстремального охолодження на структурно-функціональний стан нейрогуморальної системи організму молодих і старих щурів розкривають спрямованість і рівень активності адаптаційних і компенсаторних процесів, які відбуваються в гомеостатичних регуляторних системах організму тварин на тлі застосування різних режимів РЕХВ особливо у віковому аспекті. Отримані експериментальні дані обґрунтовують доцільність створення нових більш оптимальних режимів ритмічного екстремального охолодження з метою корекції порушеного гомеостазу та дадуть змогу значно розширити терапевтичний спектр застосування РЕХВ, що в свою чергу може привести до покращення якості і тривалості життя людей похилого віку.

Ключові слова: ритмічні екстремальні холодові впливи, перекисне окислення ліпідів, варіабельність серцевого ритму, головний мозок, щури.

ANNOTATION

Kulyk V.V. Influence of different modes of rhythmic extreme cooling on structure and functions of neurohumoral system of young and aged rats' body. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for the degree of Candidate of Biological Sciences on a specialty of 03.00.19 – cryobiology. – Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, 2021.

In recent decades, the role of physical methods of exposure to an organism to maintain or restore human health has strongly increased. Among them, the main place is occupied by thermal one, the hallmark of which is the application of thermal or cold

agents. Cold effect is one of the methods based on the ability of cold to stimulate adaptation mechanisms and eliminate with their help acquired or congenital (genetically determined) inadequacy of adaptation to stress and other negative environmental factors.

To date, along with clinical the fundamental research concerning the mechanisms of cold action on hematological parameters, pro- and antioxidant system of the body, structure and functions as well as neurohumoral regulation of the cardiovascular system has become widespread.

A significant scientific progress made so far in the field of computer technology has made it possible to use a wide range of different cold effects, differing not only in absolute temperature, but also in the modes of procedures. Studies of the effects of cooling of different levels, duration and multiplicity on the processes of thermoregulation of the organism allowed a significant expanding of the understanding of internal regulatory mechanisms that are involved into a response to the influence of low ambient temperature.

It is known that rhythmically organized and carefully selected on intensity extreme cold effects positively influence the physiological and biochemical processes of a body, modulate the activity of its main functional systems.

However, despite a high therapeutic efficiency of rhythmic extreme cold effects (RECEs) (-120°C), due to an increased adaptive capacity of a body, in some cases, their use, especially in older animals, may be accompanied with a pronounced stress response of the body sympathetic link nervous system, development of pathological hyperlipidemia, etc. Therefore, it is important to find and develop new more optimal temperature regimens of RECEs, including the use at early stages of extreme cooling which is less "aggressive" in terms of action on homeostatic regulatory systems of the body, capable of having not only a stimulating effect on homeostasis, but also minimizing the probability of adverse response from the main functional systems of the body of experimental animals, that is especially important for the elderly people with impaired properties of adaptation to stressors.

With reference to the above there are prerequisites for studying the functional state of the neurohumoral system of young and aged rats under the influence of different modes of rhythmic extreme cooling, to develop novel methods to correct the impaired homeostasis and improve an adaptation of animals of different ages to adverse living conditions.

The thesis for the first time evaluates the structural and functional changes that occur in the neurohumoral system of young and aged animals before and after the application of different modes of rhythmic extreme cooling. For the first time the efficiency of using the combined mode of RECEs (-60°C ; -120°C ; -120°C), especially in aged rats, in order to increase not only the body's own adaptive-compensatory capabilities, significantly decreasing with age, but also to restore biological rhythms and accelerate an adaptation of animals to adverse living conditions.

To assess the structural and functional state of the neurohumoral system of young and aged rats before and after application of different modes of RECE a spectral analysis of heart rate variability (HRV) was performed, the dynamics of changes in lipid profile and serum thyroid and sex hormones was studied, there was determined the concentration of malone dialdehyde (MDA), characterizing the intensity of lipid peroxidation (LPO) in brain tissue, the changes in cognitive functions were assessed. The peculiarities of submicroscopic rearrangements of brain cells and vessels were investigated by my means of electron microscopy methods.

Analysis of the wave structure of heart rate of young control animals showed the presence of a rapid (reflex) system of heart rate regulation, and in aged rats there were strong disorders in the structure of the spectrum of HRV neurohumoral regulation.

For the first time it was found that regardless of the age of animals, the use of temperature regimens of RECEs (-60°C ; -120°C ; -120°C) and (-120°C ; -120°C ; -120°C), contributed to a significant rise of the total spectral power of neurohumoral regulation (TP) due to the activation of both vegetative centers and humoral link of regulation. At the same time, on the background of the use of the RECE mode (-60°C ; -120°C ; -120°C), there was a quantitatively higher rise in the TP index in the long-term

experimental studies. Thus, one week and one month after the last cooling procedure, the level of TP in young rats increased relative to the control by 3.6 and 4.2 times, and in aged rats it did by 4.6 and 8 times, respectively.

The use of temperature regimen of RECEs (-60°C ; -60°C ; -60°C) in young and aged animals did not lead to significant changes in all the studied parameters of HRV.

It was shown that in old intact rats the content of thyroid and sex hormones in the serum due to a reduced functional activity of both the thyroid and reproductive glands was notably reduced compared to young ones.

For the first time it was found that in older animals the use of temperature regimens of RECEs (-120°C ; -120°C ; -120°C) and (-60°C ; -120°C ; -120°C) restored the hormone-synthesizing ability of the thyroid and reproductive glands in comparison with the regimen (-60°C ; -60°C ; -60°C), which indicated a rise in adaptive-compensatory potential of the body of aged experimental animals.

It was found that in aged control rats, the level of total cholesterol (CH), low-density lipoprotein cholesterol (LDL) and atherogenic factor (AF) were significantly increased compared to young ones.

For the first time, it was found that the cooling regimen (-60°C ; -120°C ; -120°C) had a "milder" effect on the serum lipid profile of young and aged rats, as it was not accompanied with a stress response in the form of hyperlipidemia. Thus, in young animals, the regimen of RECEs (-120°C ; -120°C ; -120°C) at the initial stages caused hyperlipidemia with a subsequent decrease in the concentration of atherogenic lipid fractions. On this background, the regimen (-60°C ; -120°C ; -120°C) was not accompanied with a pronounced stress response of the body in the form of hyperlipidemia. In older animals, only the cooling regimen (-60°C ; -120°C ; -120°C) led to the normalization in the ratio of useful fractions of lipids and atherogenic (normolipidemia), and the concentration of lipids in the serum and their balance almost corresponded to those of young control animals.

It was found that RECEs differently affect the intensity of LPO processes in the brain tissues of rats of various age groups depending on the temperature regimen. It was

shown for the first time that the RECE regimen (-60°C ; -120°C ; -120°C) at the initial stages of research increased the content of MDA in the brain tissues of animals regardless of their age, in contrast to the regimen (-120°C ; -120°C ; -120°C) in response to excessive accumulation of LPO products adequately activated the antioxidant system. The use of RECEs in the temperature regimen (-60°C ; -60°C ; -60°C) did not change the intensity of LPO processes in brain tissues.

Ultrastructural organization of neurons of the cerebral cortex, hypothalamus and hippocampus of young control rats showed their high structural and functional activity, which was confirmed by the presence of a large number of mitochondria and cristae in them, as well as the presence of dumbbell-shaped forms. In addition, secondary lysosomes and lipid inclusions in these animals were not detected. Electron microscopic examination of neurons of the cerebral cortex, hypothalamus and hippocampus of aged rats revealed that they developed intracellular catabolic processes. Organelles had the signs of dystrophic and destructive disorders of membrane structures.

For the first time it was revealed that the use of 9 RECE sessions with the temperature regimen (-60°C ; -120°C ; -120°C) stimulated synthetic and metabolic processes in the cell elements of the cerebral cortex, hypothalamus and hippocampus of animals of various ages. Destructively altered mitochondria, secondary lysosomes, and lipofuscin inclusions were absent in cytoplasm. Membrane hypertrophy developed in the lamellar cytoplasmic Golgi complex. The cytoplasmic membrane acquired a typical structure and did not contain the foci of loosening and lysis. There was an increase in the functional activity of neurons, which was structurally manifested in hyperplasia of membranes of the granular endoplasmic reticulum, appearance of dividing mitochondria, increased numbers of both membrane-bound and free ribosomes as well as polysomes in cytoplasm.

It has been demonstrated that in aged rats, in comparison with young ones there was a cognitive deficit, which manifested itself in a reduced speed of learning and memory formation.

It was for the first time proven that the RECE mode (-60°C ; -120°C ; -120°C), in contrast to the modes (-120°C ; -120°C ; -120°C) and (-60°C ; -60°C ; -60°C), independently from the age of experimental animals, led to a significant improvement in cognitive functions by increasing targeted motor activity and spatial orientation.

Thus, the findings concerning the investigation of the effects of different modes of rhythmic extreme cooling on the neurohumoral system structure and functions in young and aged rats reveal the orientation and level of activity of adaptive and compensatory processes occurring in homeostatic regulatory systems of animals on the background of applying the RECE regimens, especially in the age aspect. The obtained experimental data substantiate the expediency of creating new more optimal modes of rhythmic extreme cooling to correct the impaired homeostasis and will significantly expand the therapeutic range of RECEs, which in turn can improve the quality and life expectancy in the elderly people.

Key words: rhythmic extreme cold effects, lipid peroxidation, heart rate variability, brain, rats.

**СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ ТА
ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ
Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації**

Статті у фахових виданнях України

1. Кулик ВВ, Бабийчук ВГ. Влияние различных режимов экстремального охлаждения на состояние вегетативной и гуморальной регуляции сердечного ритма у молодых крыс. Вісник Луганського національного університету ім. Т.Шевченка. Біологічні науки. 2014; 12(1): 88–96.

2. Кулик ВВ, Бабийчук ВГ, Невзоров ВП, Чернявская ЕА. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C) на особенности

ультраструктурной организации нейронов коры головного мозга молодых и старых крыс. Вісник проблем біології і медицини. 2016; 1(126): 288–94.

3. **Кулик ВВ**, Бабійчук ВГ. Динамика ультраструктурных перестроек гиппокампа молодых и старых крыс до и после ритмических экстремальных холодových воздействий (-120°C). Вісник проблем біології і медицини. 2017; 2(3): 69–75.

4. **Кулик ВВ**, Бабійчук ГО, Бабійчук ВГ, Малова НГ, Сиротенко ЛА. Вплив різних режимів ритмічних екстремальних холодových впливів на вміст гормонів і ліпідів у сироватці крові молодих і старих щурів. Проблеми криобиологии и криомедицины. 2019; 29(3): 206–20 (Scopus)

5. **Кулик ВВ**, Бабійчук ГА, Сосин ИК, Мамонтов ВВ. Влияние различных режимов ритмических экстремальных холодových воздействий на интенсивность процессов перекисного окисления липидов в тканях головного мозга и содержание гормонов в сыворотке крови старых крыс. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020; 2(24): 178–84.

Статті в наукових періодичних виданнях інших країн

6. **Кулик ВВ**, Бабійчук ВГ. Состояние вегетативной регуляции сердечного ритма у молодых и старых крыс до и после применения разных режимов ритмического экстремального охлаждения. Успехи геронтологии. 2020; 33(3): 436–43. (Scopus)

Наукові праці, які засвічують апробацію матеріалів дисертації

Статті в збірках матеріалів конференцій

7. **Кулик ВВ**. Динамика изменений показателей спектрального анализа variability ритма сердца крыс при различных режимах ритмических экстремальных холодových воздействий. Variability сердечного ритма:

теоретические и прикладные аспекты: мат. Всероссийской заочн. науч.-практ. конф. г. Чебоксары, РФ, 1.11. 2014 г. Чебоксары, 2014. с. 86–90.

8. **Кулик ВВ**, Бабийчук ВГ. Влияние различных режимов ритмических экстремальных холодовых воздействий на уровень перекисного окисления липидов в тканях головного мозга старых крыс. Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды: мат. VI межд. науч.-практ. конф. г. Челябинск, РФ, 8–9.10.2016 г. Челябинск, 2016. с. 268–72.

9. **Кулик ВВ**. Ультраструктурні зміни гіпоталамусу у тварин різних вікових груп після ритмічних холодових екстремальних впливів (-120°C). Інноваційні технології в медицині: досвід Польщі та України: мат. міжнар. наук.-практ. конф. г. Люблін, Республіка Польща, 28–29.04.2017 г. Люблін, 2017. с. 130–34.

10. **Кулик ВВ**, Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ, Мамонтов ВВ, Бабийчук АВ. Влияние ритмического экстремального охлаждения на состояние липидного профиля сыворотки крови старых крыс в норме и при алиментарном ожирении. Природничі науки: історія, сучасність, майбутнє, досвід ЄС: мат. міжнар. наук.-практ. конф. м. Влоцлавек, Республіка Польща, 27–28.09.2019 м. Влоцлавек, 2019. с. 136–40.

Тези наукових доповідей конференцій

11. **Кулик ВВ**, Бабийчук ВГ. Особенности ультраструктурной организации нейронов коры головного мозга крыс после ритмических экстремальных холодовых воздействий. Actualscience. 2015; 5(5): 5–6.

12. **Кулик ВВ**. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий на некоторые показатели биоэлектрической активности головного мозга 6 и 24 месячных крыс. Біологічні дослідження – 2016: тези наук.-практ. конф. для молодих вчених і студентів. м. Житомир, Україна, 10–11.03.2016 г. Житомир. 2016. с. 274–76.

13. **Кулик ВВ**, Бабийчук ВГ. Динамика ультраструктурных перестроек эндотелиоцитов кровеносных капилляров коры головного мозга крыс после ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C). *Фундаментальні та прикладні дослідження в біології та екології: мат. IV міжнар. наук. конф. м. Вінниця, Україна, 12–14.04.2016 м. Вінниця, 2016. с. 354–55.*

14. **Кулик ВВ**, Бабийчук ВГ. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий на формирование долговременной пространственной памяти у старых крыс. *Актуальні питання розвитку біології та екології: мат. міжнар. наук.-практ. конф. м. Вінниця, Україна, 3–7.10.2016 м. Вінниця, 2016. с. 428–31.*

15. **Кулик ВВ**, Бабийчук ВГ. Ультраструктурные перестройки гипоталамуса старых крыс после ритмических экстремальных холодовых воздействий. *Проблемы криобиологии и криомедицины. 2016; (2): 185. (Scopus)*

Патент України на корисну модель

16. Патент № 115621, Україна, МПК А61В 18/02, А61F 7/00. Заявл. 17.10.2016, з.н. и 201610493. Спосіб підвищення адаптивних можливостей організму старих тварин. Публ. 25.04.2017. Бюл. №8. Заявник Г.О. Бабійчук, В.В. Мамонтов, В.В. Кулик, В.Г. Бабійчук.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
ЗМІСТ.....	16
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	19
ВСТУП.....	20
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	29
1.1. Штучне охолодження організму – важлива медико – біологічна проблема. Основні методики застосування холодових впливів.....	29
1.2. Ритмічні екстремальні холодові впливи як різновид штучного охолодження. Механізми дії екстремально низьких температур (від -120°C до -180°C) на організм людини і тварин.....	39
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ Й МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	53
2.1. Характеристика експериментальних тварин та схема експерименту.....	53
2.2. Методика ритмічного екстремального охолодження.....	56
2.3. Електрофізіологічні методи дослідження.....	57
2.4. Біохімічні методи дослідження.....	59
2.4.1 Методика визначення рівня дегідроепіандростерон-сульфату, кортикостерону, тиреоїдних і статевих гормонів в сироватці крові.....	59
2.4.2 Методика визначення ліпідного профілю в сироватці крові.....	63
2.5. Методика визначення інтенсивності перекисного окислення ліпідів в тканинах головного мозку.....	66
2.6. Електронно-мікроскопічні методи дослідження.....	66
2.7. Методика дослідження когнітивних функцій.....	67
2.8. Статистична обробка отриманих результатів.....	68
РОЗДІЛ 3. ВПЛИВ РІЗНИХ РЕЖИМІВ РИТМІЧНОГО ЕКСТРЕМАЛЬНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ НА СТАН ВЕГЕТАТИВНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ СЕРЦЕВОГО РИТМУ МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ.....	70

РОЗДІЛ 4. ОЦІНКА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП ДО І ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ РІЗНИХ РЕЖИМІВ РИТМІЧНОГО ЕКСТРЕМАЛЬНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ.....	83
4.1 Вплив різних режимів ритмічного екстремального охолодження на рівень гормонів сироватки крові молодих і старих щурів.....	85
4.2 Оцінка ліпідного профілю сироватки крові молодих і старих щурів під впливом різних режимів ритмічного екстремального охолодження.....	96
РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ РІЗНИХ РЕЖИМІВ РИТМІЧНОГО ЕКСТРЕМАЛЬНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ В ТКАНИНАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ.....	102
РОЗДІЛ 6. СУБМІКРОСКОПІЧНІ ПЕРЕБУДОВИ КЛІТИН ГОЛОВНОГО МОЗКУ МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ РИТМІЧНОГО ЕКСТРЕМАЛЬНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ.....	112
6.1. Ультрамiкроскопiчна органiзацiя нейронiв i судин кори головного мозку молодих i старих щурiв до та пiсля застосування ритмiчних екстремальних холодових впливiв при температурному режимi (-60°C; -120°C; -120°C).....	112
6.2. Ультрaструктурнi перебудови нейросекреторних клiтин гiпоталамуса молодих i старих щурiв до та пiсля застосування ритмiчних екстремальних холодових впливiв при температурному режимi (-60°C; -120°C; -120°C).....	123
6.3. Динамiка ультрaструктурних перебудов гiпокампу молодих i старих щурiв до та пiсля застосування ритмiчних екстремальних холодових впливiв при температурному режимi (-60°C; -120°C; -120°C).....	131
РОЗДІЛ 7. ЗМІНИ КОГНІТИВНИХ ФУНКЦІЙ МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ ДО І НА ТЛІ ЗАСТОСУВАННЯ РІЗНИХ РЕЖИМІВ РИТМІЧНОГО ЕКСТРЕМАЛЬНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ.....	150
УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	157

ВИСНОВКИ.....	171
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	173
ДОДАТОК А. Список публікацій здобувача за темою дисертації.....	214
ДОДАТОК Б. Відомості про апробацію результатів дисертації.....	217
ДОДАТОК В. Патент.....	218

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ВЛМ	–	водний лабіринт Морріса
ВНС	–	вегетативна нервова система
ВСР	–	варіабельність серцевого ритму
ГЕБ	–	гематоенцефалічний бар'єр
Гт	–	гіпоталамус
ДГЕА(С)	–	дегідроепіандростерон-(сульфат)
ЕКГ	–	електрокардіограма
ЕПР	–	ендоплазматичний ретикулум
Ес	–	естрадіол
ЗКТ	–	загальна кріотерапія
ЗХ	–	загальний холестерин
КА	–	коефіцієнт атерогенності
МДА	–	малоновий діальдегід
ПОЛ	–	перекисне окислення ліпідів
РЕХВ	–	ритмічні екстремальні холодкові впливи
ССС	–	серцево-судинна система
ТГ	–	тригліцериди
Т ₃	–	трийодтиронін
Т ₄	–	тироксин
Тс	–	тестостерон
ХСЛПВЩ	–	холестерин ліпопротеїнів високої щільності
ХСЛПНЩ	–	холестерин ліпопротеїнів низької щільності
ХСЛПДНЩ	–	холестерин ліпопротеїнів дуже низької щільності
ЦНС	–	центральна нервова система
HF	–	потужність високочастотного компонента спектра ВСР
LF	–	потужність низькочастотного компонента спектра ВСР
TP	–	загальна потужність спектра ВСР
VLF	–	потужність дуже низькочастотного компонента спектра ВСР

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Штучне охолодження є одним з найдавніших наукових напрямків в біології та медицині [1]. Для медичних цілей низькі температури застосовувалися ще кілька тисячоліть тому, а зараз вони з успіхом використовуються в клінічній практиці для корекції ряду патологічних станів [2, 3, 4, 5] і підвищення загальної стійкості організму до несприятливих умов існування [6, 7]. Однак перспективи використання холодових впливів розширили сферу їх клінічного застосування без детального дослідження фундаментальних механізмів дії охолодження на живий організм. Відомо, що холод як фактор навколишнього середовища з фізіологічної точки зору призводить до активації системи терморегуляції, що може супроводжуватися як позитивними, так і негативними наслідками для організму. Так для забезпечення необхідного рівня метаболічної активності органів і тканин організму при контакті з холодовим фактором відбувається послідовна активація периферичних терморецепторів, симпатичної нервової системи, скорочувального, а в разі необхідності не скорочувального термогенезу, підвищення артеріального тиску і посилення кровотоку. Все це, у сукупності зі змінами рівня вільних радикалів та гормонів збільшує навантаження як на системи, так і клітини тканин організму, що при неадекватному функціонуванні задіяних у протівідповідь систем може привести до розвитку низки патологічних станів, загострення існуючих хвороб, ускладнень з боку серцево-судинної (ССС) та центральної нервової систем (ЦНС).

За останні роки поряд із клінічними набули поширення саме фундаментальні дослідження, які стосуються вивчення механізмів дії холодових впливів на гематологічні параметри, про- і антиоксидантну систему організму [8], структурно-функціональний стан і нейрогуморальну регуляцію ССС [9, 10].

Досягнутий на сьогоднішній день значний науковий прогрес у галузі комп'ютерних технологій дозволив використовувати широкий спектр різноманітних холодових впливів, які відрізняються не тільки абсолютними показниками температури, але й режимами проведення процедур. Дослідження дії

охолодження різного рівня, тривалості та кратності на процеси терморегуляції організму, дали змогу значно розширити уявлення про внутрішні регуляторні механізми, які задіяні у відповідь на вплив низької температури оточуючого середовища [11].

Дані літератури [12, 13, 14, 15] свідчать про те, що ритмічні гіпотермічні впливи, як сенсорні і систематично діючі подразники, зумовлюють зрушення в терморегуляторних системах мозку й підвищують проникність гематоенцефалічного бар'єра (ГЕБ) для біологічно активних речовин. Резонансна дія холоду спрямована на синхронізацію активності низки функціональних систем організму. Підвищення загальної неспецифічної резистентності організму, що лежить в основі здоров'я зберігаючих технологій, можливо при модуляції температурного гомеостазу внаслідок короткочасного повторного впливу на нього холодового фактору. При цьому після використання повторних, ритмічно організованих холодкових впливів не спостерігається додаткового зростання рівня теплопродукції, напруження симпатичної і тиреоїдної функцій та зміни структури термогенезу, які характерні для гострого або довгострокового впливу.

На теперішній час відомо, що низькі [16] та наднизькі температурні впливи (-120°C), які використовуються в медичній практиці, надають специфічну, стимулюючу дію на гомеостаз [9, 17, 18, 19, 20, 21]. Активне застосування кріотерапії (-120°C) в клінічній практиці для лікування широкого спектру соматичних захворювань і психосоматичних розладів дозволяє віднести її до перспективних методів сучасної відновної медицини [21]. Встановлено [22], що позитивний вплив загального екстремального охолодження (-120°C) на організм пов'язаний з підвищенням його неспецифічної резистентності, оптимізацією нейрогуморальної регуляції, зниженням інтенсивності обмінних процесів в органах і тканинах, збільшенням їх стійкості до явищ гіпоксії і ішемії [23,24].

Попередні дослідження, виконані у відділі кріофізіології Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України дозволили експериментально обґрунтувати і розробити унікальну методику ритмічного екстремального

охолодження, яка складається з 9 сеансів при температурі (-120°C) протягом 5 днів: 3 сеанси на день із наступною одноденною перервою [9]. Було показано, що ритмічне екстремальне охолодження (-120°C), яке є модулятором активності власних ендогенних ритмів, підвищує лабільність регуляторних процесів у ЦНС і ССС, стимулює їхні прямі та зворотні зв'язки, нормалізує симпатопарасимпатичний баланс вегетативної нервової системи (ВНС) з подальшою оптимізацією механізмів гомеостазу [9]. Також була визначена ефективність застосування ритмічних екстремальних холодових впливів (РЕХВ) для корекції порушеної прооксидантно-антиоксидантної рівноваги за рахунок мобілізації антиоксидантних систем.

Однак незважаючи на високу терапевтичну ефективність застосування РЕХВ, обумовлену нормалізацією вегетативних функцій, нейрогуморальних змін, підвищенням адаптаційних можливостей, в ряді випадків їх використання, особливо у старих тварин, супроводжується яскраво вираженою стресовою реакцією організму у вигляді перенапруження симпатичної ланки вегетативної регуляції серцевого ритму на тлі суттєвого зниження тону парасимпатичного відділу ВНС та виникненням патологічної гіперліпідемії і зміщенням ліпідного профілю сироватки крові в сторону атерогенності.

Виходячи з вище наведеного, пошук і розробка нових більш оптимальних температурних режимів РЕХВ, у тому числі з використанням на ранніх етапах екстремального охолодження менш «агресивних» с точки зору дії на регуляторні системи організму температур, є дуже перспективним напрямком для медико-біологічного профілю.

Оскільки на даний час практично повністю відсутні дані стосовно вивчення впливу на організм гомойотермних тварин різних режимів ритмічного охолодження необхідним та перспективним представляється проведення подальших фундаментальних досліджень стосовно визначення дії різних режимів РЕХВ на стан систем адаптації організму експериментальних тварин з метою створення оптимальних режимів охолодження, які здатні надавати не тільки

стимулюючий вплив на гомеостаз, а і мінімізувати вірогідність розвитку негативних реакцій з боку основних функціональних систем, що особливо важливо для людей похилого віку з порушеними властивостями адаптації до дії стресових факторів навколишнього середовища.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.

Робота виконана в рамках відомчих НДР відділу кріофізіології Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України № 63: «Особливості фізіологічних і патофізіологічних механізмів регуляції гомеостазу організму гомойо- і гетеротермних тварин при різних видах охолодження» (шифр — 2.2.6.63, № державної реєстрації 0111U001195); № 103: «Формування адаптаційних реакцій організму експериментальних тварин в умовах дії штучного охолодження і 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 різних режимів ритмічного екстремального охолодження на структурно-функціональний стан нейрогуморальної системи організму молодих і старих тварин.

Для досягнення поставленої мети передбачалося вирішити такі завдання:

1. Вивчити вплив різних режимів ритмічного екстремального охолодження на стан вегетативної регуляції серцевого ритма молодих і старих щурів.

2. Оцінити рівень дегідроепіандростерон-сульфату (ДГЕАС), кортикостерону, тиреоїдних і статевих гормонів та показники ліпідного профілю сироватки крові тварин різних вікових груп під впливом різних режимів РЕХВ.

3. Визначити концентрацію малонового діальдегіду (МДА), як одного з продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), в тканинах головного мозку молодих і старих щурів до і після застосування різних режимів РЕХВ.

4. Дослідити динаміку ультраструктурних перебудов клітин кори головного мозку, гіпоталамусу і гіпокампу молодих і старих щурів до і після використання різних режимів РЕХВ.

5. Встановити особливості змін когнітивних функцій тварин різних вікових груп на тлі використання різних режимів РЕХВ.

Об'єкт дослідження – структурно-функціональний стан нейрогуморальної системи організму молодих і старих тварин до та після застосування різних режимів РЕХВ.

Предмет дослідження – електрофізіологічні, фізіологічні, біохімічні, електронно-мікроскопічні та спектрофотометричні показники функціонального стану нейрогуморальної системи організму щурів і динаміка їх змін на тлі використання різних режимів РЕХВ.

Методи дослідження. У роботі були використані кріобіологічні (ритмічне екстремальне охолодження тварин в умовах кріокамери при температурі – 60°C і – 120°C в залежності від досліджуваного режиму), електрофізіологічні (реєстрація електрокардіограми (ЕКГ) з подальшим спектральним аналізом варіабельності серцевого ритму (ВСР)), фізіологічні (оцінка когнітивних функцій у щурів), спектрофотометричні (визначення рівня МДА в тканинах ГМ), біохімічні і імуноферментні методи дослідження сироватки крові, електронно-мікроскопічні методи дослідження клітин 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 нейрогуморальній системі організму молодих і старих тварин до та після застосування різних режимів ритмічного екстремального охолодження. *Вперше з'ясована* ефективність використання комбінованого режиму РЕХВ (–60°C; – 120°C; –120°C), особливо у старих щурів, з метою підвищення не тільки власних адаптаційно-компенсаторних можливостей організму, а і для прискореної адаптації тварин до несприятливих умов життєдіяльності. За даними спектрального аналізу *показано*, що у старих щурів спостерігалися істотні порушення структури спектра нейрогуморальної регуляції ВСР. *Вперше встановлено*, що незалежно від віку тварин, застосування температурного режиму

РЕХВ (-60°C ; -120°C ; -120°C), на відміну від режимів (-120°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -60°C ; -60°C), сприяло збільшенню показника загальної спектральної потужності за рахунок активації як вегетативних центрів, так і гуморальної ланки регуляції. *Вперше виявлено*, що у старих щурів використання температурних режимів РЕХВ (-120°C ; -120°C ; -120°C) та (-60°C ; -120°C ; -120°C) відновлювало гормонсинтезуючу здатність щитоподібної і статевих залоз. При цьому режим охолодження (-60°C ; -120°C ; -120°C) надавав більш «м'який» вплив на ліпідний профіль сироватки крові молодих і старих тварин, оскільки не супроводжувався стресовою реакцією організму у вигляді гіперліпідемії. *З'ясовано*, що РЕХВ по різному впливають на інтенсивність процесів ПОЛ в тканинах ГМ щурів різних вікових груп в залежності від температурного режиму. *Вперше показано*, що режим РЕХВ (-60°C ; -120°C ; -120°C) на початкових етапах досліджень збільшував вміст МДА в тканинах ГМ тварин незалежно від їх віку, при цьому на відміну від режиму (-120°C ; -120°C ; -120°C) у відповідь на надмірне накопичення продуктів ПОЛ адекватно активував антиоксидантну систему. При електронно-мікроскопічному дослідженні нейронів кори ГМ, гіпоталамусу та гіпокампу старих щурів *встановлено*, що в них розвивалися внутрішньоклітинні катаболічні процеси. Органели мали ознаки, дистрофічних і деструктивних порушень мембранних структур. *Вперше виявлено*, що використання РЕХВ в температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C) стимулювало синтетичні і метаболічні процеси в клітинних елементах кори ГМ, гіпоталамусу та гіпокампу тварин різних вікових груп. Мало місце збільшення функціональної активності нейронів, що структурно проявлялося в появі мітохондрій, що діляться, збільшені кількості, як пов'язаних з мембранами рибосом, так і вільних рибосом та полісом в цитоплазмі. *Вперше доведено*, що режим РЕХВ (-60°C ; -120°C ; -120°C) призводив до значущого поліпшення когнітивних функцій експериментальних тварин.

Практичне значення отриманих результатів. Виявлені в ході проведення досліджень результати розкривають спрямованість і рівень активності

адаптаційних і компенсаторних процесів, які відбуваються в регуляторних системах організму тварин на тлі застосування різних режимів РЕХВ особливо у віковому аспекті. Отримані експериментальні дані обґрунтовують доцільність створення більш оптимальних режимів ритмічного екстремального охолодження з метою корекції порушеного гомеостазу та дадуть змогу значно розширити терапевтичний спектр застосування РЕХВ, що в свою чергу може привести до покращення якості і тривалості життя людей похилого віку. Встановлені особливості впливу різних режимів РЕХВ можуть бути використані в освітніх програмах кафедр фізіології, патофізіології, геронтології, неврології та кріобіології. Результати досліджень дозволили розробити спосіб підвищення адаптивних можливостей організму старих тварин, що підтверджено Патентом України (№ 115621).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійним і оригінальним науковим дослідженням. Основні результати роботи отримані здобувачем особисто. Автором проаналізована сучасна вітчизняна й зарубіжна наукова література з досліджуваної проблеми, обґрунтовано мету і завдання роботи та визначено методи їх вирішення, проведено статистичну обробку даних. Спільно з науковим керівником здійснено аналіз експериментальних даних, їх обговорення та інтерпретацію, сформульовано висновки. Електронно-мікроскопічні та біохімічні дослідження виконані за безпосередньої участі автора. Опубліковані в співавторстві наукові статті повністю відображають концепцію роботи, підтверджують ідеї і рішення поставлених дисертантом завдань. Допомога співавторів полягала у виконанні окремих методичних завдань.

В опублікованих спільно зі співавторами роботах особистий внесок здобувача полягає:

– у роботах [310, 311, 312, 313, 314] – у плануванні експериментів, проведенні РЕХВ, записі ЕКГ, спектральному аналізі ВСР, проведенні статистичної обробки даних, узагальненні отриманих даних, підготовці матеріалів до друку;

– у роботах [379, 380, 381, 382, 383, 384] – у плануванні експериментів, проведенні РЕХВ, заборі тканин, аналізі електронно-мікроскопічних фотографій клітин головного мозку, узагальненні отриманих даних, підготовці матеріалів до друку;

– у роботах [349, 350, 351] – у плануванні експериментів, проведенні РЕХВ, заборі сироватки крові щурів, участі у виконанні експериментальних досліджень із визначення вмісту гормонів і ліпідів у ній, проведенні статистичної обробки, аналізі та узагальненні отриманих даних, підготовці матеріалів до друку;

– у роботах [377, 378, 392] – у плануванні експериментів, проведенні РЕХВ, заборі тканин головного мозку, виконанні експериментальних досліджень із визначення рівня МДА та когнітивних функцій, проведенні статистичної обробки отриманих даних, підготовці матеріалів до друку.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи доповідалися і обговорювалися на наукових форумах: Всеросійській заочній науково-практичній конференції з міжнародною участю «Вариабельность сердечного ритма: теоретические и прикладные аспекты» (РФ, Чебоксары, 2014); науково-практичній конференції для молодих вчених і студентів «Біологічні дослідження – 2016» (Житомир, 2016); 40-й щорічній конференції молодих вчених ІПКіК НАН України «Холод в биологии и медицине» (Харків, 2016); IV міжнародній науковій конференції студентів, аспірантів і молодих вчених «Фундаментальні та прикладні дослідження в біології та екології» (Вінниця, 2016); міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні питання розвитку біології та екології» (Вінниця, 2016); VI міжнародній науково-практичній конференції «Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды» (РФ, Челябінськ, 2016); міжнародній науково-практичній конференції «Інноваційні технології в медицині: досвід Польщі та України» (Польща, Люблін, 2017); міжнародній науково-практичній конференції «Природничі науки: історія, сучасність, майбутнє, досвід ЄС» (Польща, Влоцлавек, 2019).

Публікація матеріалів.

Основні положення дисертації викладені в 16 наукових роботах: 5 – у фахових наукових виданнях України (1 – входить до наукометричної бази даних Scopus), 1 – у закордонному науковому періодичному виданні (входить до міжнародної наукометричної бази даних Scopus), 4 – у збірниках матеріалів науково-практичних конференцій, опубліковано 5 тез доповідей. Отримано патент на корисну модель.

Об'єм і структура дисертації.

Дисертаційна робота викладена на 218 сторінках (з яких 151 сторінка 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 397 джерел, у тому числі 165 зарубіжних, розміщених на 41 сторінці тексту. Робота ілюстрована 7 таблицями і 74 рисунками, з яких 60 – мікрофотографії.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Штучне охолодження організму – важлива медико – біологічна проблема. Основні методики застосування холодових впливів

З давніх часів наукові знання про лікувальні властивості холода вважалися чарами. Перше повідомлення про чудесні зцілення від застосування холодових впливів на організм людини переносить нас на багато століть назад до витоків стародавнього Єгипту, арабських країн. У Греції 2500 років тому успішно лікували холодними аплікаціями хворі суглоби у людей. Тибетські медики використовували лід і холодну воду при подагрі, кровотечах, травмах, ревматизмі та інших ураженнях суглобів [25, 26, 27, 28]. До теперішнього часу застосовується розроблений стародавніми слов'янами метод загартовування холодом після перебування в гарячій лазні. На цьому принципі в 1855 році в Австрії було створено спеціальну установку для загартовування організму людини [29, 30].

У військово-польових умовах вперше холод як знеболюючий засіб застосував відомий хірург І.І. Пирогов під час російсько-турецької війни. Експериментам по впливу холоду на організм тварин багато часу приділяв професор Київського університету А. П. Вальтер [31]. Ним було встановлено, що в процесі зниження температури тіла уповільнювалась частота серцевих скорочень, тварини втрачали чутливість до болю, що давало можливість оперувати їх без наркозу. Його учень А. Н. Хорват [32] вивчав реакцію серцево-судинної системи при загальному і локальному охолодженні голови. В динаміці досліджень він відзначав зміни кров'яного тиску, частоти серцевих скорочень, пригнічення рефлексорних реакцій. Дослідження Вальтера і Хорвата стали підставою для пошуку шляхів продовження життя методом введення людей в стан гіпобіозу з тим, щоб через певний час повернути їх до нормального життя. Однак цим утопічним надіям не судилося збутися оскільки як теплокровні

тварини, так і людина не витримують глибокого охолодження, а температура ядра тіла нижче 28 градусів за Цельсієм призводить до фібриляції шлуночків серця і раптової смерті.

Під час охолодження розрізняють 2 фази теплопродукції: термогенез без тремтіння й термогенез тремтіння. При першій фазі теплопродукція збільшується внаслідок підвищення м'язової напруги, заціпеніння й метаболізму. Друга фаза спостерігається після значної втрати тілом тепла і являє собою мимовільне ритмічне стиснення м'язів, яке може починатися відразу або через декілька хвилин після впливу холоду [33]. Треба зазначити, що чим більше м'язів задіяно в термогенезі тремтіння, тим вище використання кисню всім тілом [34]. Якщо температура навколишнього середовища занадто низька (особливо, якщо це холодна вода), температура ядра тіла може різко знижуватися. Таке охолодження асоційоване із широким діапазоном фізіологічних і патологічних відповідей [35, 36, 37, 38].

В численних експериментальних дослідженнях показано [39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47], що введення в стан загальної гіпотермії теплокровних без блокади терморегуляторних центрів супроводжується вираженою стресовою реакцією, емоційним перенапруженням, гіпоксією з порушенням компенсаторних реакцій. Підвищена концентрація в крові адреналіну (А) і норадреналіну (НА) при охолодженні сприяє роз'єднанню окислення і дихання мітохондрій, що призводить до енергетичного виснаження організму. При загальній гіпотермії організму впершу чергу охолоджуються органи «ядра тіла», через що збільшується недостатність постачання тканин і органів киснем, в наслідок чого наростає гіпоксія структур мозку. Значний температурний градієнт між серцем і тканинами мозку приховує в собі велику ступінь ризику для життя.

Слід враховувати, що загальне охолодження організму людини не зцілює його від хвороби, а лише пролонгує час, необхідний для лікування хворого. Встановлено [48, 49, 50, 51, 52, 53], що чим нижче температура тіла, тим менша потреба організму в кисні і тим повільніше протікають обмінні процеси. Цей факт

дозволив фахівцям розробити ефективний метод для надання допомоги хворим з важкими мозковими ускладненнями, а також при операціях на серці.

В роботі Бернштейна І.А. [54] показано, що зниження температури тіла у тварин до 25°C знижує частоту серцевих скорочень в 2 рази, зменшує хвилиний обмін крові серця на 5%, а артеріальний тиск на 45%.

Глибока локальна гіпотермія [55, 56, 57, 58, 59, 60] надає можливість зберегти функції міокарда при тривалій зупинці серця [61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71]. Проте вона, як правило, супроводжується фібриляцією шлуночків серця [72, 73]. Ступінь ризику істотно зростає при температурах нижче 29°C, що пов'язано з виникненням супутньої гіпоксії [74], рефрактерністю серця [75, 76], уповільненням провідності [77], температурною асиметрією [78]. Серед інших чинників порушення серцево-судинної діяльності при глибокій гіпотермії має значення зростаючий ацидоз [79], тканинна гіпоксія і порушення метаболізму [80, 81].

З огляду на важкі порушення в організмі після застосування загальної гіпотермії, роботами багатьох вчених [82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101] були проведені численні дослідження, що дало можливість розробити метод краніо-церебральної гіпотермії (КЦГ), який володів значними перевагами перед загальною гіпотермією, оскільки її можна порівняно легко здійснювати, а температура мозку при цьому методі охолодження знижувалася завжди швидше, ніж температура органів грудної та черевної порожнини. За рахунок цього істотно знижується ступінь ризику виникнення порушень з боку серцево-судинної системи. Вивчення методу КЦГ дозволило клініцистам переконатися в його перспективі і практичній значущості [102, 103].

На відміну від загальної гіпотермії, КЦГ дає можливість значно швидше знизити температуру структур мозку, ніж «ядра тіла», і таким чином, підвищити їх стійкість до нестачі кисню. Сама методика КЦГ виявилася технічно простішою і піддається управлінню процесом охолодження з стабілізацією температури тіла на потрібному рівні [104]. Крім того, до суттєвих переваг КЦГ слід віднести

більш швидке зниження активності нервових центрів, контролюючих терморегуляцію і вегетативні функції, особливо в разі застосування фармакологічних препаратів, що сприяють їх частковому вимкненню [105].

Мета призначення КЦГ – створення оптимальних умов для функціонування тих життєво важливих органів і тканин, які є менш стійкими до нестачі кисню. При цьому способі охолодження вплив холодового фактора на організм є набагато слабкішим, ніж при загальній гіпотермії, оскільки КЦГ впливає на меншу площу рецепторних полів, призводить до більш значного зниження температури мозку, а температура кіслородотранспортних систем залишається відносно високою [106, 107]. Температурний градієнт між мозком і внутрішніми органами в 3-5°C сприяє більш швидкому зниженню інтенсивності обмінних процесів і активності мозку з виникненням охоронного гальмування, що дає змогу зберегти адекватні умови для забезпечення організму киснем [108].

Ряд авторів [109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119], вивчаючи дію КЦГ на організм встановили закономірності зміни кислотно-лужного балансу, збільшення кисневої ємності крові, підвищення спорідненості O₂ до гемоглобіну. Однак, збереження показників кислотно-лужного балансу в фізіологічних межах при поверхневому і помірному зниженні температури тіла, так само як і функцій інших систем, можливо тільки в разі адекватної анестезії. Існують відомості про лікувальний ефект КЦГ при отруєнні окисом вуглецю, при екзогенних і ендогенних інтоксикаціях, при травмах [120], у випадках отруєння снодійними препаратами [121, 122].

Було виявлено [123], що найбільш сприятливий ефект надає помірна гіпотермія тіла (32–30°C). При таких температурах сповільнюється метаболізм серцевого м'яза, а потреба його у кисні знижується на одну третину, зменшується частота серцевих скорочень, але зростає скорочувальна здатність міокарда. В умовах експериментальної гострої коронарної недостатності гіпотермія викликає уповільнення швидкості кровотоку в коронарних судинах, відмічається зниження витрати тканинами макроергічних сполук [124], також попереджається поява

аритмії [125], зменшується кінцево-діастолічний тиск в шлуночках серця [126, 127, 128, 129].

На підставі проведеного комплексного дослідження механізмів дії КЦГ на метаболічні та фізіологічні процеси, що протікають в тканинах головного мозку і серцево-судинній системі виявлені закономірності в реалізації відповідної реакції організму на холододовий вплив. На відміну від існуючих уявлень про характер дії КЦГ на організм експериментальних тварин і людини представлені докази мультифакторної відповіді систем адаптації в умовах дії КЦГ на молекулярному, клітинному і загальносистемному рівні [130].

Обґрунтовується [131, 132], що первинним проявом відповідної реакції організму на вплив КЦГ на молекулярно-клітинному рівні є індукований викид НА з преоптичної області гіпоталамуса і уповільнення секреції серотоніну, причому відповідність медіаторів в структурах мозку змінюється в тісній залежності від інтенсивності охолодження. Так, при зниженні температури тіла до 34°C секреція НА підвищується, а серотоніну пригнічується. Подальше охолодження тварин до температури тіла 32°C викликає зниження секреції і зворотне захоплення НА і серотоніну в корі і не змінює ці процеси в гіпоталамусі головного мозку для НА. Концентрація НА в тканинах гіпоталамуса знижується при температурі тіла 34°C і ще більшою мірою при 32°C [133, 134, 135, 136, 137].

Встановлено факт [138, 139, 140], що КЦГ впливає на ступінь спорідненості до нейромедіатора і кількості β -адренорецепторів в мембранах нейросекреторних клітин, а також змінює систему центральної внутрішньоклітинної регуляції метаболізму. В той же час виявлено, що при температурі тіла 32°C не змінюється функціональна активність α_2 -адренорецепторів.

Авторами описуються закономірності молекулярно-клітинної модифікації структури мембран і локалізованих в ній білкових рецепторів, що набуває великого значення в інтерпретації впливу холоду на нейрохімічні і патофізіологічні перебудови в організмі.

Встановлена модулююча роль надповільної біологічної активності структур головного мозку в умовах КЦГ і їх взаємозв'язок з нейрохімічними процесами. При цьому визначено, що зміна дзета-ритму в центральній нервовій системі відбувається синхронно зі змінами секреції НА, що може відображати ступень реакції центральної терморегуляції [141].

Рівень синхронізації дзета-ритму в корі і гіпоталамусі головного мозку на тлі КЦГ характеризує стан терморегуляторних центрів, що дозволяє прогнозувати і управляти програмою зниження температури тіла тварин і людей. На рівні температури тіла 32°C сповільнюються процеси енергоутворення в міокарді, а в його тканинах депонуються катехоламіни, що дає змогу подовжити час настання субстратного виснаження і зміни фази серцевого циклу без впливу на характеристики його потужності [142, 143, 144, 145].

Представлені авторами численні обґрунтування оптимальних параметрів дії КЦГ на механізми адаптації серцево-судинної і центральної нервової системи організму тварин доводять перспективність проведення досліджень для подальших розробок і вдосконалення існуючих способів охолодження з метою створення нових методів лікування ряду захворювань, особливо у людей похилого віку [146, 147].

В останні роки в медицині успішно розвиваються методи неінвазивної терапії, які пов'язані із застосуванням слабких, але ритмічно організованих сенсорних впливів фізичних факторів коливально-хвильової природи [148, 149, 150, 151, 152, 153].

Роль резонансних явищ в процесі життєдіяльності, регуляції активності адаптивних систем, особливо нервових клітин і біологічних мембран організму визнається багатьма вченими [154, 155, 156, 157, 158, 159]. Підбираючи певний ритм періодичних впливів фізичними факторами, скоординованими з частотою біоритмів організму, можна спробувати управляти фізіологічними реакціями [160]. Вченими встановлено, що у людини і тварин має місце особлива чутливість до низькочастотних зовнішніх періодичних подразників [161, 162], особливо у

випадках відповідності параметрів фізичної стимуляції з індивідуальними особливостями регуляторних систем організму [163].

У зв'язку з цим ряд вчених кріобіологів обґрунтували [155] можливість застосування ритмічної гіпотермії як модулюючого фактору впливу для можливої нормалізації порушеного функціонального стану організму шляхом активації власних ендогенних ритмів, відповідних за стан гомеостазу.

Ритмічні гіпотермічні впливи можуть призвести до змін функції регуляторних систем і структури мембран, модифікації генома. Слідові реакції цих температурних впливів сприяють формуванню терморегуляторного умовного рефлексу і підвищенню можливостей адаптації. Можливо, в основі слідових реакцій організму після температурних впливів лежать механізми «вегетативної» пам'яті, що утворює зв'язки не тільки між центрами-аналізаторами і центрами ефекторами, а й елементами окремих систем, тканинними процесами, судинними реакціями, змінами гормональних функцій [152, 153, 164, 165].

Залежно від інтенсивності зовнішнього впливу, формується специфічна системна пристосувальна реакція, яка готує організм до повторного можливого впливу, реалізуючи при цьому структурні перебудови і забезпечуючи тим самим менш виражене функціональне напруження органів і тканин, які беруть у цьому адаптивному процесі безпосередню участь [166, 167].

У роботах [151, 167], проводили КЦГ, визначали вміст А і НА в тканинах, а також секрецію і проникність гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ) для нейромедіаторів методом push-pull канюлі в корі і гіпоталамусі. Одноразова КЦГ до температури тіла 32°C підвищувала стійкість щурів до дії субнулевих температур (тривале плавання в крижаній воді). Ефект стійкості найбільш виражений був через 24 години і зберігався до 48 годин, що, на думку авторів, було пов'язано з ефектом «реакції очікування» повторної гіпотермії. Ця реакція полягає в формуванні комплексу умов, що можуть забезпечувати через 24 години після КЦГ збереження в крові і гіпоталамусі НА на досить високому рівні. Після повторного сеансу КЦГ активність норадренергічної системи мозку була подібна

відповіді на перше охолодження, однак система реагувала більш економно і специфічно.

Застосовуючи повторну КЦГ, авторам вдалося збільшити холодкову стійкість організму при плаванні в холодній воді на 75% що, можливо, пов'язано з підвищенням проникності ГЕБ для біологічно активних речовин. Проникність ГЕБ мала періодичний характер, що дозволило припустити наявність у гомеостатичних механізмах ГЕБ, істотних резонансних явищ на частотах повільної біоелектричної активності мозку. При цьому відбувалося уповільнення швидкості охолодження організму на тлі підвищення функції когерентності і синхронізації секундного ритму в гіпоталамусі і сенсомоторних ділянках кори головного мозку. В цей же час в 2-3 рази збільшувалася проникність ГЕБ для НА. Зміни проникності ГЕБ мали зворотній функціональний характер. Автори роблять висновок, що як ультраструктурний так і функціональний «слід» повторних холодкових впливів необхідно шукати в терморегуляторних центрах гіпоталамуса.

При застосуванні повторної КЦГ, в порівнянні з одноразовим охолодженням, при ректальній температурі 32°C більш істотно підвищується просторова синхронізація секундних біоритмів, синхронно з підвищенням проникності ГЕБ, що свідчить про взаємозв'язок цих процесів [167, 168]. Про важливу роль активації проникності ГЕБ в процесах охолодження свідчать експерименти з вивчення впливу НА на частоту серцевих скорочень (ЧСС) після його введення тваринам [169].

Відомо, що НА і А володіють різними діями при центральному і периферичному введенні. Введення їх у кров'яне русло викликає підвищення ЧСС, а введення в гіпоталамус призводить до зменшення ЧСС. Периферичне введення нейромедіаторів на тлі КЦГ до температури тіла 32°C викликало зниження ЧСС, що може бути пов'язано з проникненням в умовах гіпотермії катехоламінів в гіпоталамус, де вони надають парасимпатичний вплив на нейрорегуляторні центри серцево-судинної системи. Про це свідчать також і зміни динамічного ряду кардіоінтервалів, що відображають різні форми процесів

регуляції. На думку авторів нейромедіатор, що проник через ГЕБ в мозок захоплюється закінченнями нейронів, секретується в синаптичну щілину і, взаємодіючи з відповідними рецепторами, активує функціональний стан мозку.

Охолодження тварин до 32°C більше, ніж в 2 рази підвищує проникність ГЕБ для НА і А, які при нормотермії, поверхневої або глибокої гіпотермії в мозок не проникають [148, 170, 171, 172 173]. Встановлено, що на 45 і 65-ій хвилині холодового впливу при системному введенні НА, останній не підвищує, а знижує ЧСС, а ацетилхолін не знижує, а прискорює ЧСС. Вочевидь, процеси, що призводять до підвищення проникності ГЕБ для НА і ацетилхоліну, рознесені в часі і просторі. Фізіологічна доцільність цього процесу при КЦГ полягає в підтримці необхідності посиленого функціонування домінуючих нейротрансмітерних процесів охолодженого мозку [174, 175].

У разі застосування ритмічних гіпотермічних впливів (РГВ) у тварин через 2 години після внутрішньочеревного введення НА відбувається поступове зниження ЧСС, починаючи з 30-40 хвилини, яке до 120 хвилини становить 70% від вихідної. У той же час, у всіх тварин, яким не застосовували РГВ, в 100% випадків спостерігалось збільшення ЧСС. РГВ, будучи сенсорним подразником, обумовлюють активний вплив на центри терморегуляції [14, 15]. На думку авторів, РГВ збуджують лімбікогіпоталамічні структури мозку. Збільшення кількості процедур РГВ активує синапси, створюючи на постсинаптичних мембранах стан деполяризації. Вірогідно, частота холодкових впливів, відповідна повільному ендogenous ритму, впливає на резонансний ефект проникності ГЕБ. Синергізм активності ряду функціональних систем створює певний стан мозку, що підвищує активність повільної керуючої системи мозку, таким чином впливаючи на центри терморегуляції, які збільшують холодову стійкість організму, та формують спеціалізовану функціональну систему – «вегетативну терморегуляторну пам'ять».

Експериментально вдалося довести, що на відміну від традиційного методу КЦГ, коли на тлі блокади центрів терморегуляції знижується температура тіла,

метод РГВ не призводить до зменшення температури тіла більше, ніж на 1-2°C, в той же час викликаючи зміни проникності ГЕБ з перших хвилин впливу. Метод РГВ не вимагає нейровегетативної блокади і медикаментозного гальмування терморегуляторних реакцій.

Таким чином, аналіз літературних даних, присвячений механізмам дії ритмічного охолодження на організм тварин, показує, що від рівня проникності ГЕБ залежать адаптивні реакції серцево-судинної і центральної нервової системи. Встановлено триггерну роль підвищеної проникності ГЕБ для нейромедіаторів. В свою чергу, функція ГЕБ залежить від адаптивних реакцій центральної нервової і серцево-судинної системи і підконтрольна їм. Крім того, РГВ істотно змінюють взаємовідносини центральних і периферичних контурів регуляції, при цьому змінюється знак хронотропного ефекту катехоламінів, нормалізується симпатопарасимпатичний баланс, що є важливим фактором, який дозволяє відновлювати фізіологічну ритміку функціонування ГЕБ і порушений гомеостаз.

На підставі наведених даних були проведені дослідження і представлений новий підхід до вирішення наукової задачі яка стосується корекції функціонального стану серцево-судинної і центральної нервової системи молодих і старих щурів при стрес індукованій гіпертензії завдяки стимуляції функціональної активності ГЕБ при ритмічних холодних впливах [14, 176].

Динаміка проникності ГЕБ у щурів, які перенесли тривалий емоційно-больовий стрес, після РГВ відновлювалась. У гіпертензивних тварин нормалізувався артеріальний тиск та спектрально-кореляційні характеристики динамічного ряду кардіоінтервалів електрокардіограми, що характеризують стан нейрогуморальної регуляції.

Відомо, що дисциркуляторна енцефалопатія виникає внаслідок хронічної прогресуючої форми церебральної патології. Етіологічним фактором її розвитку є гіпертонічна хвороба, яка супроводжується цереброваскулярними розладами. Тому в подальшому авторами були проведені дослідження з вивчення дії ритмічних холодних впливів і клітинної терапії на організм спонтанно

гіпертензивних щурів лінії SHR, які є адекватною моделлю дисциркуляторної енцефалопатії [177, 178, 179]. Ритмічну краніоцеребральну гіпотермію (рКЦГ) здійснювали шляхом впливу переривчастого потоку холодного повітря ($\approx 4-6^{\circ}\text{C}$) на зовнішні покриви голови.

Було показано, що у щурів з гіпертензивною та змішаною формами дисциркуляторної енцефалопатії застосування рКЦГ, кріоконсервованих ядромісних клітин кордової крові і їх поєднання призводило до зменшення проявів ішемії мозку за рахунок зниження нейрогліального індексу та збільшення кількості функціонуючих капілярів, а також появи морфологічних ознак поліпшення кровообігу. Спостерігалась регенерація нейроклітин, стимуляція ангиогенезу, зниження проявів дистрофічних, деструктивних і патологічно змінених компенсаторно-адаптивних процесів в тканинах головного мозку, що сприяло відновленню його мікрогемодинаміки та цитоархітекtonіки. Крім того, у спонтанно гіпертензивних тварин, незалежно від форми дисциркуляторної енцефалопатії, поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК сприяло зниженню показників артеріального тиску, активації вищих вегетативних центрів автономної нервової системи, яка є найбільш розвиненим і швидким шляхом реалізації ефектів нейрогуморальної регуляції, супроводжувалось корекцією когнітивних функцій за рахунок підвищення цілеспрямованої рухової активності і просторової орієнтації.

1.2. Ритмічні екстремальні холодові впливи як різновид штучного охолодження. Механізми дії екстремально низьких температур (-120°C – -180°C) на організм людини і тварин

З найдавніших времен відомо, що при обливанні холодною водою, особливо після парних процедур, з'являється відчуття припливу тепла. Аналогічно локальне охолодження тканин за допомогою хлоретилу викликає знеболювання. В цих умовах в залежності від рівня температури, серце здатне значно збільшувати свою

функціональну потужність. У той же час при надмірних купаннях в холодній воді у людей з'являється озноб, порушення дихання, серцебиття, запаморочення і втрата свідомості. Холоду притаманна специфічна і неспецифічна дія на організм, що при його застосуванні дає змогу отримати корисний фізіологічний результат у вигляді знеболювання, зняття запальних реакцій, відновлення бадьорості духу [25, 146]. В останні роки у світі істотно підвищився інтерес лікарів і біологів до використання наднизьких температур в медицині та сільському господарстві [180].

Кріотерапія, яка передбачає застосування наднизьких температур від -80 до -160°C протягом від 30 секунд до 4 хвилин на всю поверхню тіла людини, вперше була представлена японським лікарем Т. Ямаучи в 70-ті роки минулого століття на міжнародному ревматологічному конгресі у Вісбадені [180]. Він повідомив про результати успішного лікування ревматоїдних поліартритів в умовах кріокамери з сухим повітрям, де температура досягала -180°C [181, 182, 183]. В той же час Т. Ямаучи відвідав Харківський Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, де представив комплекс методик реабілітації пацієнтів з захворюваннями опорно-рухового апарату. З вченими ІПКіК НАН України було обговорено перспективи розвитку і удосконалення застосування цього кріотерапевтичного методу, оскільки уже на той час в інституті був створений і затверджений МОЗ до застосування в медицині автоматизований програмний комплекс апаратури, для охолодження головного мозку. Процедура, запропонована Ямаучи, здійснюється в спеціалізованому боксі – кріокамері, де температура повітря досягає -160°C . Пацієнт перебуває в камері не більше 2-3 хвилин, після чого за допомогою спеціальної апаратури розробляє рухливість в суглобах кінцівок.

Після впливу холоду на тіло людини відбуваються сприятливі зміни в крові і суглобовій рідині. На його думку, холод спонукає організм до вироблення «антиревматичних» гормонів. За даними автора, люди, які прикуті роками до ліжка, вже через тиждень починають самотійно пересуватися, в той час, як не один з існуючих методів терапії не надає такий лікувальний ефект.

Пізніше, на підставі власних досліджень в Німеччині був створений кріотерапевтичний модуль для клінічного застосування. Їх камера «КріоСпейс» знайшла широке застосування в лікувальних установах країн Європи, Америки і в Україні [184].

Проте незважаючи на значний досвід застосування кріотерапії як оздоровчого і профілактичного методу, науково-теоретичне обґрунтування механізмів його впливу на організм майже відсутнє. «Екстремальна кріотерапія – такі гасла можна зустріти в рекламі цього методу у більшості приватних медичних установ. Передбачається, що в умовах короткочасної дії екстремального охолодження температура тіла може знижуватися в незначних межах, що не впливає на зміни терморегуляції [185, 186].

Сучасний розвиток кріогенних технологій дозволив створити кріоустановки, які здатні тривалий час підтримувати низькі і наднизькі температури сухого повітря в середині камери. У країнах Західної Європи (Німеччина, Австрія, Франція), прийнято вважати, що найбільш ефективною є стаціонарна двухкамерна кріокамера «КріоСпейс» (Німеччина), яка призначена для загальної кріотерапії, що здійснюється за допомогою короткочасної дії екстремального охолодження поверхні тіла потоком сухого повітря з температурою -120°C [187, 188, 189]. Застосування в якості охолоджуючого середовища звичайного атмосферного повітря робить процедуру екологічно чистою і безпечною. Короткочасність впливу (від 1-її до 2-3 хвилин) виключає можливість появи обморожень та інших ускладнень, зменшує потребу в лікарських засобах. Загально прийнята кількість процедур за курс лікування становить 10-12 сеансів.

У літературних джерелах останніх років поряд із терміном «кріотерапія» часто вживається термін «кріостимуляція».

Кріотерапія і кріостимуляція зараз широко застосовуються в медицині, спорті і як омолоджуючі процедури, котрі здатні відновлювати і підвищувати резистентність організму здорових людей. Багато авторів не відокремлюють

поняття кріотерапії і кріостимуляції і використовують їх як взаємозамінні [190], разом з тим ряд спеціалістів розмежовують ці поняття. Так, термін «кріостимуляція» частіше використовується для обґрунтування стимулюючого впливу наднизьких температур, тоді як термін «кріотерапія» акцентує увагу на лікувальних ефектах цієї процедури [191].

Кріотерапія здорових пацієнтів є безпечною процедурою й не спричиняє негативних змін в організмі [192], а рідкісні ускладнення можуть траплятися лише за наявності протипоказань щодо заданного впливу [2, 4, 193].

Залежно від площі тіла, що піддається охолодженню, виділяють локальну і загальну кріотерапію (ЗКТ) [7, 8, 194].

Локальна кріотерапія являє собою фізіотерапевтичний метод, який полягає у впливі твердими, рідкими або газоподібними хладоагентами для відведення тепла від окремих ділянок поверхні тіла людини так, щоб температура поверхневих тканин знижувалася в межах їх кріостійкості і не відбувалося значущих зрушень терморегуляції організму [10, 195].

ЗКТ – це метод фізіотерапії, суть якого полягає в застосуванні холодних агентів для відведення тепла від всієї поверхні тіла організму, при обов'язковій умові зниження температури поверхневих тканин в межах їх кріостійкості без значних зрушень терморегуляції [196].

Механізм лікувальної дії ЗКТ недостатньо вивчений. Встановлено [17, 198], що після процедур ЗКТ зменшується інтенсивність метаболізму в тканинах, споживання ними кисню і поживних речовин, а зниження показників транспорту біологічно активних речовин через мембрани клітин носить зворотній характер. Процеси, які розвиваються в глибоко розташованих тканинах та клітинах, непов'язані з прямим впливом холодного подразника і мають вторинне рефлекторне і нейрогуморальне походження [19, 20, 199].

Профілактичні властивості ЗКТ пов'язані з тим, що вона надає загальнотренувальну дію на організм [200]. Перш за все це проявляється в підвищенні рівня функціонування основних регуляторних і адаптаційно-

приспосувальних систем організму, як у практично здорових людей, так і у людей зі зниженими показниками цих функцій [201, 202].

Встановлено позитивну дію ЗКТ на організм як самостійного так і допоміжного методу в лікуванні різних гострих і хронічних ушкоджень, спадкових порушень, запальних і дегенеративних змін опорно-рухової системи [203, 204]. ЗКТ є ефективним лікарським засобом у разі захворювань шкіри, дихальної (бронхіальна астма, емфізема легенів) і нервової (спастичний парез після перенесеного інсульту, розсіяний склероз) систем [23]. Окрім того, сеанси ЗКТ сприятливо впливають на психо-емоційну сферу [25], застосовуються для лікування депресивних станів і вегетативних неврозів [204]. У гінекологічній практиці ЗКТ використовується як лікувальна процедура при маткових кровотечах. Кріотерапія, як загальнозміцнююча процедура була рекомендована для реабілітації спортсменів і інтенсифікації тренувального процесу з метою підвищення адаптаційних можливостей організму [25, 39, 205, 206].

Слід відмітити, що лікувальну дію ЗКТ на організм пов'язують із тим, що вона має протизапальний, анальгетичний, антиексудативний, релаксуючий та репаративний ефект [54], стимулює діяльність імунної [206,209] і ендокринної системи [69]. Проте її вплив на імунну систему залишається дискусійним питанням, так як деякі вчені заперечують імуностимулюючий ефект ЗКТ [72], а інші вважають його тимчасовим [84]. Крім того ЗКТ надає міорелаксуючу, трофікорегенераторну, десенсибілізуючу дію на організм.

За даними деяких авторів [203, 206, 208] після застосування ЗКТ у пацієнтів нормалізувався тонус кровоносних і лімфатичних судин. Напочатку охолодження має місце спазм дрібних артерій, артеріол та прекапілярних сфінктерів, уповільнення швидкості кровотоку і підвищення в'язкості крові, що є першою захисною фазою судинної реакції на охолодження, яка спрямована на запобігання проникнення холодного фактора через шкірні покриви і підшкірну клітковину до глибоко лежачих внутрішніх органів і систем організму. В подальшому відбувається збільшення периферичного кровотоку, що є компенсаторною

реакцією організму, яка сприяє посиленню теплоутворення і перешкоджає ішемії і порушенню метаболізму тканин.

ЗКТ стимулює роботу серцево-судинної системи, покращує кровопостачання і оксигенацію усіх внутрішніх органів та тканин організму [72, 90, 203], знижує гемодинамічне навантаження на серцевий м'яз. Паралельно зі змінами артеріального і капілярного кровообігу, при ЗКТ відбувається помірне поліпшення венозного і лімфатичного відтоку [208] (Дис Лена). Ці ефекти дають змогу використовувати ЗКТ в лікуванні системних захворювань, які мають місце у людей незалежно від їх віку.

За даними багатьох авторів [72, 203, 210] визначна роль в реалізації механізмів терапевтичної дії ЗКТ належить вищим вегетативним центрам і системам нейроендокринної регуляції. При цьому активуються імунологічні реакції, окремі ланки кровотворної та ендокринної систем і стан пацієнта. При проведенні ЗКТ, в організмі відмічається корекція порушень вмісту ендорфінів, нормалізуються обмінні процеси і функція імунної системи, поліпшується периферичний кровообіг, прискорюються регенеративні процеси.

Багато вчених розглядають ЗКТ як стресовий вплив, який сприяє розвитку загальної адаптаційної відповіді і підвищенню загальної стійкості організму до стресу [211]. Відомо, що малі дози стресових навантажень можуть призводити до незначних пошкоджень в організмі або не створювати їх зовсім, відіграючи водночас важливу сигнальну роль [212]. Одноразове нетривале екстремальне охолодження викликає короткострокову адаптаційну відповідь, а багаторазове супроводжується довгостроковою активацією регуляторних процесів, що призводить до нового рівня функціонування організму в несприятливих умовах довкілля [10, 213] (Дис. Юли).

За літературними даними [206, 209, 212, 214] ЗКТ відрізняється від інших видів холодних впливів, оскільки організм реагує на дію холоду не тільки завдяки системі терморегуляції, а й усіма можливими адаптаційними механізмами, зокрема через гіпоталамо-гіпофізарно-надниркову, імунну,

ендокринну та нейрогуморальну системи [23, 25], суттєво підвищуючи фізіологічні можливості організму [2, 84, 214]. Особливістю екстремальних холодових впливів є їх здатність модулювати і підвищувати активність функції ГЕБ, що особливо важливо у випадках, коли власні регуляторні системи втрачають пластичність, а рівень компенсаторних реакцій істотно знижується.

Протягом останніх 40 років в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України розробляються нові методики впливу низьких і наднизьких температур на організм людини і тварин [16, 55, 182]. На сьогоднішній день вченими відділу кріофізіології Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України обґрунтована [13, 55, 175] можливість застосування РЕХВ (-120°C), як потужного модулюючого фактору з метою нормалізації порушень функціонального стану організму власними ендогенними ритмами. Метод РЕХВ не призводить до зміни температури тіла більш ніж на $1-2^{\circ}\text{C}$, при цьому підвищує проникність ГЕБ з перших хвилин впливу [173]. РЕХВ супроводжуються оптимальним рівнем гомеостатичного регулювання, а зміни адаптивних реакцій, які спостерігаються при дії холоду відзначаються фізіологічною доцільністю, оскільки сприяють швидкій мобілізації в організмі різних функціональних систем включаючи імунну, центральну нервову і серцево-судинну. Така реакція організму, за даними вище зазначених авторів, є найбільш доцільною для корекції порушеного гомеостазу.

Особливу цінність представляє можливість визначити вплив РЕХВ на стан гомеостазу та адаптаційних реакцій у старих тварин і людей похилого віку. Проведені багаточисленні експерименти дали можливість обґрунтувати перспективність застосування РЕХВ в практичній медицині.

Так в роботі [9] показано, що застосування РЕХВ, як різновиду загального екстремального охолодження, викликає структурні перебудови в усіх ланках ГЕБ гіпоталамуса молодих і старих щурів, які призводять до підвищення його проникності. Автор припускає, що збільшення проникності ГЕБ відбувається завдяки активації процесу високо специфічного рецептор-індукованого

транскитозу. Автор зробив висновок, що РЕХВ активуючи специфічні нейротрансмітерні механізми, завдяки зміні проникності ГЕБ, можливо, стимулюють адаптаційні можливості організму.

В роботах [215, 216] встановлено, що вже після 3 сеансів РЕХВ виявляються реактивні зміни нейронів, зокрема, активується комплекс Гольджи, підвищується насиченість матриксу і багатьох органел, що призводить до утворення пухирців і гранул, з'являються численні мітохондрії і рибосоми. Синаптичний апарат знаходиться в стані підвищеної функціональної напруги: везикули між собою аглютинують і зливаються з синаптичною мембраною. Збільшується протяжність і електронна щільність зон синаптичних контактів, а також середня довжина їх активної зони. Крім того, відбувається деяке зменшення товщини базальної мембрани ендотеліоцитів, а після 6 і 9-ти процедур РЕХВ цей показник збільшується і перевищує контрольні значення. Товщина базальної мембрани в передньому відділі більша, ніж в капілярах заднього відділу гіпоталамуса. Такі варіації площі базальної мембрани, на думку авторів, можуть відображати зміни ступеня проникності ГЕБ.

При електронно-мікроскопічному дослідженні міокарда виявлено [217, 218, 219], що в кардіоміоцитах і ендотеліоцитах старих тварин після РЕХВ спостерігалися перебудови компенсаторного типу. Відзначалось збільшення кількості мітохондрій і крист, зменшення кількості ланок деструкцій і дегенеративно змінених мітохондрій, активація процесів їх розмноження, що проявлялось появою органел з перетяжками у вигляді «гантелей». В саркоплазмі з'являлись рибосоми, полісоми і гранули глікогену, що вказувало на підвищення метаболічної активності кардіоміоцитів. В ендотелії кровоносних капілярів активувались компенсаторно-регенеративні процеси, що підтверджувалось збільшенням кількості рибосом на мембрані в ендоплазматичному ретикулумі. Зростала активність трансцелюлярного обміну речовин, про що свідчило збільшення кількості мікропіноцитозних пухирців в цитоплазмі ендотеліоцитів.

Ці зміни, на думку авторів, можуть свідчити про те, що РЕХВ є методом, який підвищує скорочувальну здатність міокарда за рахунок нормалізації внутрішньоклітинної біоенергетики, яка тісно пов'язана із станом мітохондрій.

В роботах [220, 221] виявлена тенденція до підвищення тону парасимпатичного відділу вегетативної нервової системи і зниження активності гуморальної ланки регуляції у тварин після РЕХВ. Підвищення загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції у старих тварин за рахунок активації симпатичного і парасимпатичного відділів вегетативної нервової системи можливо свідчить про перехід управління серцевим ритмом з повільного гуморально-метаболического рівня регуляції на швидкий вегетативний, який не характерний для старих тварин.

У тварин, що отримували РЕХВ, дослідження вмісту гормонів у сироватці крові, а також ультраструктурних змін у наднирниках і щитоподібній залозі, свідчили про розвиток адаптаційно-компенсаторних реакцій, які супроводжуються внутрішньоклітинною репаративною активністю [22, 223]. Підвищення активності ендокринної системи структурно підтверджувались гіперплазією мембран ендоплазматичного ретикулула, збільшенням кількості рибосом і полісом у цитоплазмі, гіпертрофією цитоплазматичного комплексу Гольджі і зростанням кількості дрібних везикул і мікропіноцитозних пухирців, характерних для прискорення трансцелюлярного транспорту речовин через стінку капілярів.

В роботах [224, 225, 226, 227] визначена ступінь ефективності застосування РЕХВ для корекції порушеної прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у старих щурів і дана кількісна оцінка параметрів ПОЛ та ефективності антиоксидантних резервів як у молодих, так і у старих тварин. Встановлено, що РЕХВ у старих тварин змінює співвідношення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги за рахунок мобілізації антиоксидантних систем. Отримані результати досліджень дозволили авторам припустити, що важливим механізмом дії РЕХВ є підвищення ферментативної активності антиоксидантної системи, яка зберігається тривалий

час після ритмічного охолодження. Можливо, активація антиоксидантної системи серця в процесі процедур РЕХВ, незалежно від віку, дозволяє збільшити резистентність організму до екстремальних дій, у тому числі і до процесу старіння.

Як відомо [228, 229, 230] старіння є природним фізіологічним процесом, який супроводжується зниженням адаптаційних можливостей організму. В той же час передчасне старіння, є причиною зниження загальної життєздатності організму, [231, 232] і, як наслідок, розвитком гострих і хронічних захворювань різних органів і систем [229].

Встановлено [233, 234], що порушення функцій нервових, мозкових, проліферативних, епітеліальних, кровотворних та інших клітин, призводять до розвитку важких захворювань, зокрема хвороби Альцгеймера та Паркінсона, інфаркту міокарда, інсульту. Передчасне старіння виникає внаслідок обмеження адаптаційних реакцій при розвитку атеросклерозу, гіпертонічної хвороби.

Незважаючи на те, що існуючі геріатричні лікарські засоби здатні покращувати якість життя літніх людей [235], підвищувати регуляторні здібності і уповільнювати швидкість розвитку негативних функціональних змін [236, 238, 239], треба пам'ятати, що профілактика передчасного старіння найбільш ефективна на ранніх етапах онтогенезу. Тому пошук нових методів з метою ревіталізації організму, покращення функцій систем нейрогуморальної регуляції і вегетативних функцій на тлі прискореного старіння набуває важливого значення.

Тому в наступних експериментальних дослідженнях було вивчено вплив ритмічного екстремального охолодження в умовах кріокамери (-120°C) та кордової крові на стан систем нейрогуморальної регуляції в динаміці старіння щурів.

Авторами показана [240, 241, 242, 243, 244] ефективність самостійного й поєднаного застосування РЕХВ і кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові (кЯВК КК), починаючи з молодого віку, з метою підвищення власних адаптаційно-регуляторних можливостей організму, які істотно знижуються з

віком. Встановлено, що повторні процедури РЕХВ, введення кЯВК КК та їх поєднання протягом життєвого циклу, здатні підвищувати адаптаційно-компенсаторні можливості організму експериментальних тварин, незалежно від їхнього віку завдяки збільшенню активності всіх регуляторних ланок, тоді як у процесі природного старіння щурів спостерігається зниження всіх досліджуваних параметрів варіабельності серцевого ритму. Використання РЕХВ і кЯВК КК призводить до нормалізації рівня тироксину, тестостерону і співвідношення тестостерон/естрадіол, а також має стимулюючий вплив на синтез оксиду азота в разі його дефіциту, але не призводить до надлишку цієї молекули. Крім того, застосування РЕХВ і кЯВК КК призводить до збільшення кількості капілярів у міокарді старіючих тварин на тлі зменшення кількості та площі ядер кардіоміоцитів, підвищує активність метаболічних і синтетичних процесів у кардіоміоцитах та ендотеліоцитах кровоносних капілярів міокарда завдяки нормалізації внутрішньоклітинної біоенергетики, пов'язаної зі структурно-функціональним станом мітохондрій.

Відомо, що за оцінкою комітету експертів ВООЗ, ожиріння вважається неінфекційною «епідемією XXI століття» та одним з основних факторів ризику смертності населення планети. Ожиріння називають «хворобою хвороб», оскільки воно супроводжується захворюваннями серцево-судинної системи (артеріальна гіпертензія, атеросклероз, ішемічна хвороба серця, інсульт), опорно-рухового апарату, інсулінозалежного цукрового діабету [245, 246, 247]. Найбільш неприємним в прогностичному плані є ожиріння з первинним (аліментарним) фактором патогенезу, яке зустрічається в 70-85% випадків [248, 249]. При ожирінні в організмі відбуваються метаболічні, гормональні, гемодинамічні порушення, що викликають структурні і функціональні зміни серцевого м'яза.

Оскільки основні механізми профілактичної і терапевтичної дії РЕХВ пов'язані зі стимуляцією фізіологічних резервів організму, оптимізацією нейрогуморальної регуляції та обміну речовин, підвищенням неспецифічної резистентності, в подальшому вченими були проведені дослідження по вивченню

впливу РЕХВ на стан регуляторних систем організму щурів при аліментарному ожирінні. Експерименти виконувалися на білих безпородних щурах-самцях двох вікових груп: статевозрілих 6-місячних і старих 24-місячних. Було встановлено [249, 250, 251], що використання 9 сеансів РЕХВ, підвищувало адаптаційно-компенсаторні можливості організму тварин з моделлю аліментарного ожиріння незалежно від їх віку, за рахунок збільшення активності, як вегетативних центрів, так і гуморальної ланки регуляції, сприяло зменшенню маси тіла та нормалізації ліпідного профілю сироватки крові, відновлювало гормонсинтезуючу здатність організму, активувало метаболічні та синтетичні процеси на мікроскопічному (спостерігалися проліферація фібробластів, поява знов сформованих капілярів, що свідчило про поліпшення кровообігу і трофіки серцевого м'яза) й субмікроскопічному рівнях (зменшувалась ступень прояву дистрофічних і дегенеративних змін органел, були відсутні осередки лізису ядерної мембрани, збільшувалась кількість мітохондрій і крист в них).

Аналізуючи представлений огляд літературних даних можна прийти до висновку, що на протязі багатьох століть людство застосовувало холодіві впливи на організм людей як позитивний лікувальний засіб. Однак лише починаючи з середини ХХ сторіччя ряд вчених, в тому числі і східної Європи, зокрема України, розпочали системні експериментальні дослідження по вивченню можливих механізмів дії штучного охолодження на функціональний стан та адаптацію організму людини та тварин на вплив холодового фактору. В останні роки особливої уваги заслуговують створені методи краніоцеребральної гіпотермії, яка знайшла широке застосування в медичній практиці. Слід відмітити, що завдяки зусиллям вчених України вдалося створити метод неінвазійної терапії на основі застосування ритмічних холодівих впливів, в основі лікувального ефекту якого знаходяться резонансні сенсорні впливи з підібраними частотними параметрами, що відповідають індивідуальним осциляціям енцефалограми тварин.

В проведених фундаментальних дослідженнях представлені наукові факти, що ритмічні гіпотермічні впливи в діапазоні повільних частот, впливають на

регуляцію активності нервових клітин, кардіоміоцитів, підвищують адаптивні можливості нейрогуморальної системи організму людини і тварин. Вони відкривають шляхи та можливості для створення нових методів впливу на активність проникнення ГЕБ для різних біологічно активних речовин, які в нормальному стані через нього не проникають.

У зв'язку з цим особливо перспективним шляхом для відновлення функціонального стану організму є модуляція ритмічними холодowymi впливами власних ендогенних ритмів пацієнта. Встановлена [12, 13, 14, 15, 154, 155] властивість методу ритмічної резонансної холодової терапії обґрунтовує перспективність його застосування у людей похилого віку зі зниженими властивостями адаптації до дії негативних факторів навколишнього середовища.

На цій основі вченими було створено метод ритмічних екстремальних холодowych впливів, який був застосований у молодих та старих щурів. Показано [217], що у старих тварин, як і у людей похилого віку, виникають порушення механізмів саморегуляції найбільш ослаблених фізіологічних систем. Разом з тим при дії РЕХВ зберігається і закріплюється в центральній нервовій системі вегетативна пам'ять до впливу холодowego подразника і механізми очікування можливих повторних зустрічей з ним.

Проте нечисленні дослідження не дають можливості обґрунтувати весь спектр фізіологічних змін, що відбуваються в організмі під впливом екстремально низьких температур [13, 14].

Тому проведення подальших фундаментальних досліджень, щодо розробки нових температурних режимів РЕХВ, з метою досягнення максимальних терапевтичних ефектів на тлі зниження негативних спонтанних стресових реакцій з боку основних функціональних систем організму (перенапруження симпатичної ланки вегетативної регуляції серцевого ритму на тлі суттєвого зниження тону парасимпатичного відділу ВНС, виникнення патологічної гіперліпідемії і зміщення ліпідного профілю сироватки крові в сторону атерогенності), є дуже перспективним напрямком для медико-біологічного профілю.

Ці дослідження є важливими для вибору режиму ритмічного екстремального охолодження, при якому би сенсорні впливи призводили до найбільш оптимальних умов життєдіяльності старіючого організму, підвищення активності нейрогуморальної системи.

Оскільки на даний час практично повністю відсутні дані стосовно вивчення впливу на організм гомойотермних тварин різних режимів ритмічного охолодження необхідним та перспективним представляється визначення дії різних режимів РЕХВ на стан систем адаптації організму експериментальних тварин з метою створення оптимальних режимів охолодження, які здатні надавати не тільки стимулюючий вплив на гомеостаз, а і мінімізувати вірогідність розвитку негативних реакцій з боку основних функціональних систем, що особливо важливо для людей похилого віку з порушеними властивостями адаптації до дії стресових факторів навколишнього середовища.

З огляду на вищенаведене своєчасним і доцільним є проведення досліджень, що дозволять вивчити особливості стану регуляторних систем організму молодих і старих щурів, під впливом різних режимів ритмічного екстремального охолодження.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ Й МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Характеристика експериментальних тварин та схема експерименту

Дослідження виконані на білих безпородних щурах-самцях двох вікових груп: статевозрілих 6-місячних і старих 24-місячних. Всього в експерименті було використано 146 молодих і 146 старих тварин.

Основний обсяг 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 ПІКіК НАН України зі стандартним харчовим раціоном і вільним доступом до їжі і води. З метою виключення добових коливань маніпуляції зі щурами виконували в першій половині дня.

Кожна вікова група була розділена на чотири підгрупи (рис. 2.1):

- 1) інтактні молоді та старі тварини;
- 2) молоді та старі щури після проведення 9 процедур РЕХВ при температурі (-120°C ; -120°C ; -120°C);
- 3) молоді та старі щури на тлі застосування комбінованого режиму РЕХВ (-60°C ; -120°C ; -120°C);
- 4) молоді та старі щури після проведення 9 процедур РЕХВ при температурі (-60°C ; -60°C ; -60°C).

Вибір кількості щурів в кожній підгрупі був обумовлений необхідністю вимірювань поточних показників, визначених метою і завданнями досліджень (табл. 2.1). В ході проведення експериментів жодна тварина не загинула.

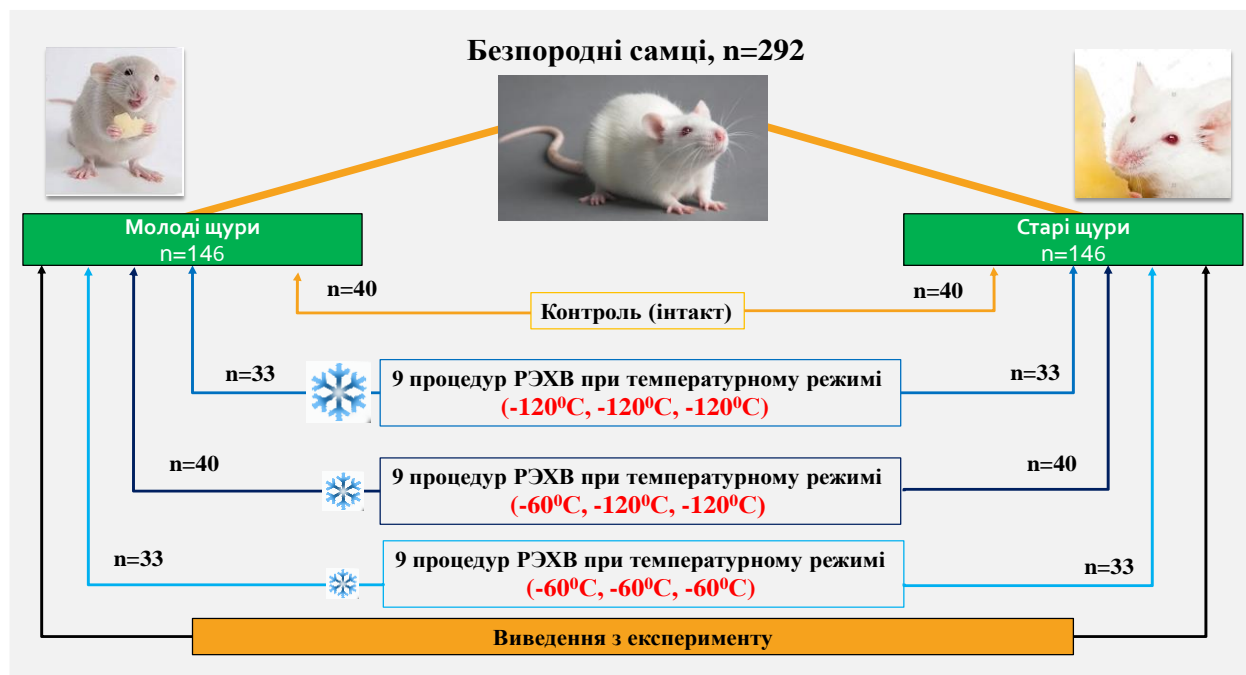


Рис. 2.1. Схема експерименту.

Таблиця 2.1

Схема розподілу молодих і старих тварин за серіями експерименту

№ п/п	Частина експерименту	Різновид впливу (група)	Вік тварин (місяці)	Кількість тварин
1.	Вивчення впливу різних режимів ритмічного екстремального охолодження на стан вегетативної регуляції серцевого ритма молодих і старих щурів. (Запис ЕКГ після 3-го, 6-го, 9-го сеансу РЭХВ, а також через тиждень і місяць після РЭХВ).	Контроль	6	7
			24	7
		Режим РЭХВ (-120°C; -120°C; -120°C)	6	7
			24	7
		Режим РЭХВ (-60°C; -120°C; -120°C)	6	7
			24	7
Режим РЭХВ (-60°C; -60°C; -60°C)	6	7		
	24	7		

2.	Оцінка рівня ДГЕАС, кортикостерону, тиреоїдних і статевих гормонів та показників ліпідного профілю сироватки крові молодих і старих щурів під впливом різних режимів РЕХВ. (Виведення з експерименту після 3-го, 6-го, 9-го сеансу РЕХВ, а також через тиждень і місяць після РЕХВ).	Контроль	6	12		
			24	12		
		Режим РЕХВ (-120°C; -120°C; -120°C)	6	12		
			24	12		
		Режим РЕХВ (-60°C; -120°C; -120°C)	6	12		
			24	12		
		Режим РЕХВ (-60°C; -60°C; -60°C)	6	12		
			24	12		
		3.	Визначення інтенсивності перекисного окислення ліпідів в тканинах головного мозку молодих і старих щурів до і після застосування різних режимів РЕХВ. (Виведення з експерименту на наступну добу, через тиждень і місяць після РЕХВ).	Контроль	6	7
					24	7
				Режим РЕХВ (-120°C; -120°C; -120°C)	6	7
					24	7
Режим РЕХВ (-60°C; -120°C; -120°C)	6			7		
	24			7		
Режим РЕХВ (-60°C; -60°C; -60°C)	6			7		
	24			7		
4.	Динаміка ультраструктурних перебудов клітин кори головного мозку, гіпоталамусу і гіпокампу молодих і старих щурів до і після використання РЕХВ. (Виведення з експерименту через місяць після РЕХВ).			Контроль	6	7
					24	7
				Режим РЕХВ (-120°C; -120°C; -120°C)	6	7
					24	7
		Режим РЕХВ (-60°C; -120°C; -120°C)	6	7		
			24	7		
		Режим РЕХВ (-60°C; -60°C; -60°C)	6	7		
			24	7		

5.	Особливості змін когнітивних функцій тварин різних вікових груп на тлі використання різних режимів РЕХВ. (Виведення з експерименту через місяць після РЕХВ).	контроль	6	7
			24	7
		Режим РЕХВ (-120°C; -120°C; -120°C)	6	7
			24	7
		Режим РЕХВ (-60°C; -120°C; -120°C)	6	7
			24	7
		Режим РЕХВ (-60°C; -60°C; -60°C)	6	7
			24	7

2.2. Методика ритмічного екстремального охолодження

РЕХВ виконували в метрологічно атестованій кріокамері для охолодження експериментальних тварин (рис. 2.2) [252].



Рис. 2.2. Камера для охолодження експериментальних тварин

Пристрій містить у собі такі вузли: термоізований корпус із робочою камерою, у якій розташовані теплообмінник зі заливним клапаном і каналом відводу холодоагенту; робочий відсік із герметичною шторкою, усередині якого розміщено пристрій для фіксації тварини, датчики реєстрації температури й

датчики контролю функціонального стану тварини; шлюзовий відсік із герметичною кришкою, наявність якого дозволяє уникнути значного градієнта температур між робочою камерою й робочим відсіком.

Температура в кріокамері контролювалася за допомогою платинових метрологічно атестованих термометрів опору виробництва фірми «Гера».

Після виходу пристрою на робочий режим (-60°C) або (-120°C) в залежності від досліджуваного режиму, щури поміщалися в кріокамеру через шлюзовий в основний відсік. У кріокамері щури знаходилися протягом 2 хвилин (в цей час за ними здійснювався постійний візуальний контроль через спеціальне вікно), потім їх виймали і тримали 5 хвилин при кімнатній температурі ($22-24^{\circ}\text{C}$) поза камерою. Далі процедуру охолодження повторювали: тварин зігрівали на протязі 5 хвилин при кімнатній температурі, після чого за аналогічною схемою проводили охолодження. Таким чином, тварини отримували три процедури РЕХВ на добу. Під час відігрівання стежили за поведінкою тварин. На 3 і 5 добу сеанси РЕХВ повторювали. Всього тварини охолоджувались 9 разів по 2 хвилини при температурі (-60°C) або (-120°C) протягом 5 днів [253, 254].

Після охолодження щурам за допомогою цифрового інфрачервоного термометра «microlife 1DE1» вимірювали температуру на поверхні шкіри, яка змінювалася в межах $3-5^{\circ}\text{C}$ від початкової ($36,4\pm 0,8$) $^{\circ}\text{C}$. Ректальна температура статистично значуще не змінювалась і була на рівні ($37,2\pm 0,6$) $^{\circ}\text{C}$.

2.3 Електрофізіологічні методи дослідження

Реєстрацію ЕКГ у ненаркотизованих іммобілізованих тварин проводили після 3, 6, 9-го сеансу РЕХВ, а також через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження на електрокардіографі серії «Полі-Спектр» («Нейро-софт», Росія) у шести стандартних відведеннях. Тривалість запису становила 5 хвилин. Спектральний аналіз варіабельності серцевого ритму здійснювали за допомогою програми «Полі-Спектр-Ритм» («Нейро-софт», Росія) у діапазонах

частот, рекомендованих для щурів [255, 256, 257, 258]. Для тварин контрольної групи запис і спектральний аналіз виконувалися в аналогічні терміни.

Зміни серцевого ритму – це універсальна оперативна реакція цілісного організму у відповідь на будь-яку дію факторів зовнішнього середовища [259, 260, 261]. Вони обумовлені впливами на серце вегетативної нервової системи (ВНС), медіатори якої змінюють електролітні співвідношення і електрофізіологічні властивості клітин міокарду, а також ряда гуморальних факторів. Нерівна тривалість інтервалів RR відображає активність різних відділів ВНС.

Аналіз варіабельності серцевого ритму (VCP) останнім часом привертає значну увагу як дослідників, так і практичних лікарів. Це пов'язано, перш за все, з визнанням VCP одним з індикаторів стану регуляторних систем організму, що має важливе прогностичне значення [262, 263, 264]. VCP – це найбільш інформативний метод, який дає змогу оцінити стан механізмів регуляції фізіологічних функцій організму, а саме – загальної активності регуляторних механізмів, нейрогуморальної регуляції серця, а також співвідношення між симпатичним та парасимпатичним відділами ВНС.

У свою чергу спектральний аналіз VCP дозволяє отримати інформацію про розподіл потужності коливань серцевого ритму залежно від їх частоти. Застосування спектрального аналізу дає змогу кількісно оцінити різні частотні складові коливань ритму серця і наочно графічно представити співвідношення його компонентів, що відображають активність певних ланок регуляторного механізму [265].

Потужність хвиль в області високих частот спектра VCP – HF (high frequencies) пов'язана з дихальною аритмією і переважно характеризує активність парасимпатичного відділу ВНС. HF підвищується у стані спокою, під час сну, при гіпервентиляції, знижується – при фізичному навантаженні, стресі, різноманітних захворюваннях серцево-судинної системи. Коливання низькочастотного компонента спектра VCP – LF (low frequencies) відображають більш повільні

коливання частоти серцевих скорочень (ЧСС), які відбуваються протягом триваліших проміжків часу (наприклад, кількох годин або доби) і зумовлені зміною активності вазомоторного центру довгастого мозку. Потужність дуже низькочастотного компонента спектра ВСР – VLF (very low frequencies) є індикатором активності повільно діючих гуморальних механізмів регуляції серцевого ритму, що зумовлюють закономірні зміни ЧСС протягом тривалих проміжків часу (дні, тижні). Одним із найбільш важливих показників, у частотному аналізі функціональної адаптації серцево-судинної системи у відповідь на дію стресів різного генезу є загальна (сумарна) потужність спектра ВСР (total power – TP).

Керуючись рекомендаціями для проведення спектрального аналізу ВСР у щурів [257, 260, 261] нами були виділені і проаналізовані наступні показники:

TP (m^2) – загальна потужність спектра коливань кардіоритму (0,015–3 Гц);

HF (m^2) – потужність високочастотних коливань у діапазоні (0,8–3 Гц);

LF (m^2) – потужність низькочастотних коливань у діапазоні (0,05–0,79 Гц);

VLF (m^2) – потужність спектра кардіоритму в області дуже низьких частот (0,015–0,04 Гц).

2.4. Біохімічні методи дослідження

2.4.1. Методика визначення рівня дегідроепіандростерон-сульфату, кортикостерону, тиреоїдних і статевих гормонів в сироватці крові

Щитоподібна залоза (ЩЗ) – непарний ендокринний орган, що має часточкову будову та активність якого регулюється ЦНС і тиреотропним гормоном (ТТГ) передньої долі гіпофіза [266]. Функціональною одиницею ЩЗ є фолікул, який має сферичну форму. До його складу входить один шар епітелію, що оточує центральну частину, утворену білковою речовиною – колоїдом [267]. Фібозна тканина (каркас для фолікулів) визначає форму і структуру ЩЗ. До складу колоїду входить особливий йодовмісний глікопротеїн із високою

молекулярною масою приблизно 650000 Да – тиреоглобулін. Він є ключовим білком ЩЗ і служить як матриця для синтезу тиреоїдних гормонів (тироксину – T_4 і трийодтироніну – T_3) [268, 269, 270, 271]. Гормони ЩЗ – тироксин (T_4) і трийодтиронін (T_3) є йодованими похідними амінокислоти тирозину, що мають у своїй молекулі чотири або три атома йоду. Вони синтезуються в клітинах фолікулярного епітелію (тиреоцитах) ЩЗ в складі білка тиреоглобуліна і в такій формі надходять у внутріфолікулярний колоїд. При секреторному стимулі (в основному під дією ТТГ) клітини фолікулів здійснюють ендоцитоз колоїду і його лізосомальний протеоліз з вивільненням тиреоїдних гормонів, які за рахунок своєї ліпофільності проникають через клітинну мембрану і надходять в системний кровотік.

Тироксин є малоактивним тиреоїдним гормоном і слабо зв'язується з відповідними рецепторами в тканинах, тому часто розглядається як прогормон трийодтироніну [272]. У здорової людини секреція T_4 ЩЗ в 5-10 разів перевищує секрецію T_3 . Проте трийодтиронін істотно більш активний гормон, здатний додатково утворюватися з тироксину в тканинах-мішенях за рахунок відщеплення атома йоду дейодиназою певного типу. Саме T_3 в основному визначає біологічні ефекти тиреоїдних гормонів.

Статеві залози – парні органи, представлені сім'яниками (у чоловіків) та яєчниками (у жінок). Вони належать до залоз змішаної секреції, оскільки в яєчниках синтезуються яйцеклітини та стероїдні гормони – естрогени та прогестини, а в сім'яниках – сперматозоїди та андрогени.

Статеві гормони, забезпечуючи репродуктивну функцію, володіють також потужним анаболічним ефектом, впливаючи на обмін речовин у шкірі, кістках і м'язах. Синтез і секреція чоловічих статевих гормонів – андрогенів: тестостерон (T_c), дигідротестостерон, андростерон відбувається в клітинах Лейдіга сім'яників, передміхуровій залозі, корі надниркових залоз [272]. До жіночих статевих гормонів відносять естрогени (C18-стероїди) і прогестини (C21-стероїди). Естрогени утворюються шляхом ароматизації андрогенів [273, 274, 275].

Тс – це стероїд з молекулярною масою 288,4 Да. Його біологічна роль в чоловічому організмі в основному пов'язана з диференціюванням і функціонуванням репродуктивної системи [276, 277, 278]. Секреція тестостерону має певний циркадний ритм. Найвищий рівень гормону в людей відзначається о 6 годині ранку, найменший – о 20 годині.

Ес – це найбільш активний стероїдний гормон з молекулярною масою 272,4 Да. Він відноситься до естрогенів, які, забезпечують ріст і нормальний стан жіночих статевих органів, розвиток вторинних статевих ознак, прискорюють біосинтез білків і ліпідів [276].

Дегідроепіандростерон (ДГЕА), як стероїд наднирників з молекулярною масою 288,4 Да, не має класичних особливостей гормонів, властивих андрогенам та естрогенам. На молекулярному рівні ДГЕА впливає на біосинтез глюкокортикоїдів і статевих гормонів. Виконуючи функцію гормону адаптації, він здійснює нейропротекторну і стресопротекторну дію завдяки своїм антиглюкокортикоїдним особливостям регуляції негативного впливу кортизолу на мозок. У гризунів ДГЕА в тканинах мозку утворюється в значних кількостях, що з урахуванням важливої ролі ДГЕА в нейрогенезі, дозволило віднести його до нейростероїдів. В організмі людини та інших ссавців він присутній в основному у вигляді сульфатного похідного – дегідроепіандростерон-сульфату (ДГЕАС).

Кортикостерон у людини являє собою малоактивний глюкокортикоїдний гормон кори надниркових залоз. Однак у щурів він є основним і найбільш активним глюкокортикоїдом, подібним кортизолу у людини.

Тварин контрольних і дослідних груп виводили з експерименту шляхом декапітації після 3-го, 6-го, 9-го сеансу РЕХВ, а також через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження, далі робили забір крові для визначення рівня гормонів в сироватці. Зразки крові центрифугували на центрифугузі MPW – 311 (Mechanika Precyzyjna, Poland) зі швидкістю 1500 об/хв за кімнатної температури протягом 15 хвилин, потім відокремлювали сироватку яку зберігали за температури -120°C до проведення аналізу.

Концентрацію T_4 , T_3 , ДГЕАС, кортикостерону, T_c і E_c визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу [275, 276, 277] за допомогою стандартних комерційних наборів для конкурентного ІФА («ХЕМА Со. Ltd.», Росія): « T_4 -ІФА», « T_3 -ІФА», «ДГЕАС-ІФА», «КОРТИКОСТЕРОН-ІФА», «ТЕСТОСТЕРОН-ІФА» й «ЕСТАРДІОЛ-ІФА», відповідно, за методиками фірми виробника.

Вимірювання величини оптичної щільності вмісту лунок планшета здійснювали на фотометрі вертикального сканування – планшетному імуноферментному аналізаторі StatFax 3200 («Awareness Technology Inc.», США) за довжини хвилі 450 нм.

Протягом 5–10 хвилин вносили до відповідних лунок планшета (у двох повторях) по 25 мкл (для визначення T_3 – 50 мкл) калібрувальної проби й контрольної сироватки, а в інші лунки (у двох повторях) вносили досліджувані зразки сироватки крові в тому ж обсязі. Вносили по 100 мкл кон'югату (для визначення T_3 – 50 мкл), заклеювали планшет папером для заклеювання планшета й інкубували за температури 37°C . Час інкубації залежав від конкретного гормону й був таким: для визначення T_3 – 30 хвилин, T_4 , ДГЕАС і кортикостерону – 60 хвилин, T_c і E_c – 120 хвилин. По закінченню інкубації видаляли вміст лунок і відмивали лунки 5 разів. Під час кожного відмивання в усі лунки додавали по 250 мкл відмивочного розчину, струшували планшет круговими рухами по горизонтальній поверхні, забирали надосадову рідину пастерівської піпеткою. Частина надосадової рідини зливали (декантували), ретельно видаляючи залишки рідини з лунок постукуванням планшета в перевернутому положенні по фільтрувальному паперу. Потім в усі лунки протягом 2–3 хвилин вносили по 100 мкл розчину субстрату тетраметилбензидину, після чого інкубували планшет у темряві за кімнатної температури (18 – 25°C), час інкубації визначався ступенем розвитку синього забарвлення (10–20 хвилин).

Після закінчення інкубації в усі лунки з тією ж швидкістю й у тій же послідовності, як і розчин субстрату тетраметилбензидину, вносили по 100 мкл

стоп-реагенту – вміст лунок забарвлювалося в яскраво-жовтий колір. У наступні 15 хвилин проводили вимір оптичної щільності вмісту лунок планшета (концентрація гормону в зразку обернено пропорційна щільності вмісту лунки).

2.4.2. Методика визначення ліпідного профілю в сироватці крові

Ліпіди – це жири, які синтезуються в печінці або надходять в організм з їжею. У плазмі крові людини присутні 4 основні класи ліпідів: холестерин і його ефіри, тригліцериди, фосфоліпіди і жирні кислоти. Біохімічний аналіз ліпідного складу крові (ліпідограмма), дає можливість об'єктивно оцінити рівень жирового обміну в організмі. Відхилення показників ліпідограмми, вказують на ймовірність розвитку захворювань серцево-судинної системи, печінки, жовчного міхура і т.д., а також спрогнозувати ризик виникнення даних патологій.

Тригліцериди (ТГ) – являють собою нейтральні жири, що циркулюють в плазмі крові у вигляді ліпопротеїдів. Продукуються жировими клітинами, печінкою, кишечником, а також надходять в організм з харчовими продуктами. Є головним енергетичним джерелом в адипоцитах і м'язових клітинах [278].

Загальний холестерин (ЗХ) – це основний ліпід, який є обов'язковим компонентом клітинних мембран, стероїдів, жовчних кислот і сигнальних молекул. В основній масі він продукується печінковими клітинами, хоча може надходити в організм з продуктами тваринного походження. Кількісний показник даного ліпиду служить інтегральним маркером жирового обміну. В процесі старіння його рівень підвищується, досягаючи максимуму в літньому віці [279, 280].

Ліпіди нерозчинні у воді тому кров'ю вони транспортуються у вигляді складних комплексів – ліпопротеїнів (ЛП). Основною функцією ЛП є транспорт ліпідів від місця їх утворення до місця утилізації з подальшим видаленням їх надлишку з тканин в печінку. ЛП створюють кругообіг ліпідів, транспортують жиророзчинні гормони і вітаміни [281].

Методом ультрацентрифугування ЛП, в залежності від їх щільності, діляться на наступні фракції: хіломікрони – найлегші частки, ліпопротеїни низької щільності, ліпопротеїни дуже низької щільності, ліпопротеїни проміжної щільності, ліпопротеїни високої і дуже високої щільності.

Холестерин ліпопротеїнів високої щільності (ХСЛПВЩ) («корисний холестерин») – єдині ліпіди, які перешкоджають формуванню атеросклеротичних бляшок в судинах. Ця особливість обумовлена їх активною участю в транспортуванні холестерину в печінку, де той піддається утилізації.

Холестерин ліпопротеїнів низької щільності (ХСЛПНЩ) («поганий холестерин») – найбільш атерогенні ліпіди, що транспортують холестерин з печінки в периферичні тканини. Затримуючись в судинній стінці, вони сприяють формуванню атеросклеротичних бляшок.

Холестерин ліпопротеїнів дуже низької щільності (ХСЛПДНЩ) – високоатерогенні ліпіди, які продукуються печінкою і кишечником. Є попередниками ХСЛПНЩ і здійснюють транспорт тригліцеридів з печінки в периферичні тканини, де активно беруть участь у формуванні атеросклеротичних бляшок.

Важливе діагностичне значення має визначення коефіцієнта атерогенності (КА), який характеризує співвідношення «поганого» і «корисного» холестерину в сироватці крові [278].

Тварин контрольних і дослідних груп виводили з експерименту шляхом декапітації після 3-го, 6-го, 9-го сеансу РЕХВ, а також через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження, забирали кров, з якої отримували сироватку для визначення ліпідного профілю.

Рівень ЗХ, ТГ, ХСЛПВЩ в сироватці крові визначали за допомогою стандартних комерційних наборів фірми «DAS-SpectoMed» (Молдова) відповідно до загальноприйнятої методики фірми виробника. Вимірювання оптичної щільності проводили на біохімічному аналізаторі «Stat Fax 1904 plus» (Awareness

Technology inc., USA) [282]. Розрахунок показників ХСЛПНЩ, ХСЛПДНЩ і КА здійснювали за допомогою формули Friedwald W. [282].

$$\text{ХСЛПДНЩ}_{\text{ммоль/л}} = 0,45 * \text{ТГ};$$

$$\text{ХСЛПНЩ}_{\text{ммоль/л}} = 3\text{Х} - \text{ХСЛПВЩ} - (0,45 * \text{ТГ});$$

$$\text{КА} = (\text{ХСЛПНЩ} + \text{ХСЛПДНЩ}) / \text{ХСЛПВЩ}.$$

Методика визначення рівня 3Х в сироватці крові базується на використанні ензимного реагенту, до складу якого входять холестеринестераза, холестериноксидаза та пероксидаза. В процесі інкубації даний реагент перетворює ефіри холестерину і вільні жирні кислоти зразка в холестен3-ОН і в присутності 4-амінофеназону і хромогену утворюється хінонімін. Внаслідок цього аналізований розчин набуває рожево-червоного забарвлення, яке прямо пропорційно концентрації холестерину в пробі.

Принцип методу визначення рівня ТГ у сироватці крові полягає в тому, що тригліцериди зразка при додаванні ензимного реагенту, до складу якого входять 4-амінофеназон, ліпаза, гліцерокіназа, гліцерофосфатоксидаза і пероксидаза, переходять в хінонімін в результаті чого зразки набувають червоно-коричневого забарвлення. Концентрацію хіноніміна визначають фотометрично при довжині хвилі 505 нм, при цьому інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації тригліцеридів в дослідному зразку.

Визначення рівня ХСЛПВЩ в сироватці крові, базується на використанні ензимного реагенту, до складу якого входять холестеринестераза, холестериноксидаза і пероксидаза. Спочатку до зразка додають фосфорновольфрамову кислоту в присутності іонів магнію та центрифугують зразок. У супернатанті залишається тільки ХСЛПВЩ, а хіломікони, ХСЛПДНЩ та ХСЛПНЩ осідають. Далі проводять інкубацію супернатанта з ензимним реагентом. В процесі цього в присутності 4-амінофеназону і хромогену утворюється хінонімін і розчин набуває рожево-червоне забарвлення, яке прямо пропорційно концентрації ХСЛПВЩ в пробі.

2.5. Методика визначення інтенсивності перекисного окислення ліпідів в тканинах головного мозку

Тварин контрольних і дослідних груп виводили з експерименту шляхом декапітації після 9-го сеансу РЕХВ, а також через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження і забирали тканини головного мозку для проведення досліджень.

Інтенсивність процесів ПОЛ в тканинах головного мозку визначали за допомогою спектрофотометричного методу 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 тканинах головного мозку контрольних і експериментальних тварин обчислювали в присутності прооксидантів (солі Мора і аскорбінової кислоти) (індуковане ПОЛ) і в їх відсутності (спонтанне ПОЛ) [283, 284].

2.6. Електронно-мікроскопічні методи дослідження

Для оцінки динаміки ультраструктурних перебудов клітин кори головного мозку, гіпоталамусу і гіпокампу молодих і старих щурів до і після використання різних режимів РЕХВ був використаний метод трансмісійної електронної мікроскопії [285, 286].

Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації на 30 добу після застосування РЕХВ і здійснювали забір шматочків тканин кори головного мозку, гіпоталамусу та гіпокампу для електронно-мікроскопічного дослідження. Забір здійснювали методом висічення й занурення тканини у фіксатор без попередньої загальної васкулярної реперфузії [287].

Попередню фіксацію проводили в глютарово-формальдегідному фіксаторі Карновського [288]. Шматочки тканини опускали у фіксуючий попередньо охолоджений розчин і зберігали в холодильнику за температури 4°C протягом 5–6 годин [289].

Для остаточної фіксації зразки переносили в 1% забуферений розчин (рН 7,2–7,4) тетраоксиду осмію (OsO_4) на 3–4 години за температури 4°C [290]. Після закінчення часу фіксації проводили зневоднення тканин в спиртах зростаючої концентрації й ацетоні, просочували й укладали в блоки епоксидних смол (епон-аралдіт) за стандартними методиками [289, 290, 291]. Полімеризацію блоків проводили в термостаті за 60°C протягом двох діб.

З отриманих блоків, на ультрамікросомі УМТП–3М («SELMІ», Україна), виготовляли ультратонкі зрізи, монтували їх на електролітичні сіточки і, після контрастування цитратом свинцю, вивчали під трансмісійним електронним мікроскопом ЕМВ–100 БР («SELMІ», Україна) за напруги 75 кВ.

Ідентифікацію органоїдів і інтерпретацію результатів проводили згідно з посібником [292].

2.7. Методика дослідження когнітивних функцій

Найпоширенішим тестом, що дозволяє оцінити порушення просторової пам'яті, є водний лабіринт Морріса (ВЛМ) [293, 294, 295]. 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 $(26 \pm 2)^\circ\text{C}$.

Принцип методу полягає в наступному. Щура поміщали в ВЛМ, з якого немає виходу, але є невидима підводна платформа, яка може служити притулком: відшукавши її, тварина може вибратися з води.

Арена басейну була віртуально розділена на 4 сектори, в один з яких, що на 1,0 см нижче поверхні води, поміщали платформу діаметром 10 см. В якості візуального орієнтиру на внутрішню стінку сектора, в якому розташовувалася платформа, приклеювали темний прямокутник 15x10 см. Дослідник завжди знаходився на фіксованій позиції щодо басейну. Розташування платформи не змінювали протягом фази навчання, а сектор, в якому вона перебувала називали «цільовим». Басейн був яскраво підсвічений.

Тестування включало два протоколи: навчання та перевірку. Навчання проходило протягом трьох днів, кожен день включав три тестування. В процесі експерименту щура навчали знаходити платформу і вибиратися з води, використовуючи ближні орієнтири, далекі орієнтири або запам'ятовуючи послідовність рухів. На початку кожного тестування тварину поміщали в басейн в середині одного з секторів, але нецільового, і дозволяли вільно шукати платформу протягом 60 секунд. Після знаходження платформи, щура залишали сидіти на ній до закінчення тестування, але не менше 20 секунд. Якщо тварина не знаходила платформу по закінченню часу, то її поміщали на платформу примусово і утримували, при необхідності, протягом 20 секунд. Далі фіксували латентний час знаходження платформи.

В ході перевіркового тестування тваринам в день пред'являли по 7 навігацій в воді з додаванням сухого молока для непрозорості з інтервалом 1 годину. Після кожної навігації щура виймали з басейну, просушували і через 1 годину знову випускали плавати, поміщаючи його в одну з 4-х фіксованих стартових точок. Реєстрували час плавання щура до знаходження платформи. На платформі щур залишався 20 секунд. Максимальний час перебування тварини в басейні становив 120 секунд за 1 спробу. Всі сеанси проводили в один і той же час доби.

2.8. Статистична обробка отриманих результатів

При статистичній обробці отриманих результатів перевіряли характер розподілу цифрового матеріалу в вибірках за допомогою W-критерію Шапіро-Уїлка. Порівняння середніх арифметичних значень проводили за допомогою параметричного t-критерію Стьюдента для незалежних вибірок [296, 297, 298]. Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$ (для рівня гормонів в сироватці крові $p \leq 0,05$). Розрахунки здійснювали за допомогою комп'ютерних програм Excel, «НейроСтат», «Past3».

РОЗДІЛ 3

ВПЛИВ РІЗНИХ РЕЖИМІВ РИТМІЧНОГО ЕКСТРЕМАЛЬНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ НА СТАН ВЕГЕТАТИВНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ СЕРЦЕВОГО РИТМУ МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ

Ритм серця обумовлений здатністю спеціалізованих клітин синусового вузла спонтанно формувати імпульси збудження серцевих скорочень. Він містить у собі інформацію про функціональний стан всіх ланок регулювання життєдіяльності людини в нормі і при різних патологічних станах [299, 300, 301, 302]. Регуляція серцевого ритму здійснюється багатьма факторами, котрі дублюються, або діють паралельно забезпечуючи пристосування роботи серця до умов зовнішнього та внутрішнього середовища. Зовнішні регулюючі впливи на серцевий ритм здійснює ВНС, через подвійну парасимпатичну і симпатичну іннервацію та ендокринна система [301]. Загальноприйнятим є те, що симпатичний відділ ВНС стимулює діяльність серця, а парасимпатичний – пригнічує. При цьому ЦНС контролює рівень активності симпатичного та парасимпатичного відділів, звичайно реципрочно, за механізмом зворотного зв'язку. ЦНС не керує окремими параметрами кровообігу, а створює типи інтегративних реакцій, одночасно включаючи активність всіх необхідних для цього структур від кори великих півкуль до спинного мозку. Тісний симбіоз симпатичного, парасимпатичного відділів ВНС, а також гуморальних впливів на роботу серця у великій мірі забезпечують його адаптивну функцію до потреб організму [303, 304].

Методика аналізу серцевого ритму полягає в тому, щоб на підставі вивчення активності синусового вузла по послідовності кардіоінтервалів, за варіаціями їх тривалості зробити висновок про стан системи управління серцевим ритмом в цілому і по окремих її рівнях. При цьому синусовий вузол розглядається не тільки

в аспекті автоматизму серцевої діяльності, але і як індикатор діяльності всього організму [305, 306, 307, 308, 309].

Аналіз варіабельності (мінливості) серцевого ритму (ВСР) використовується для оцінки як стану ВНС (так званого симпатовагусного балансу), так і функціонального стану організму в цілому [299]. Зміна ритму серця в різних умовах довкілля розглядається як досить об'єктивний індикатор адаптаційних реакцій організму. Аналіз ВСР має велике діагностичне значення для прогнозу тривалості життя пацієнтів після перенесеного інфаркту міокарда [256], оцінки ступеня важкості депресивних станів [258], діагностики та лікування посттравматичних стресових розладів [257] тощо. Із впровадженням комп'ютерних технологій у методику реєстрації ВСР з'явилася можливість вивчати її прогностичну цінність для оцінки механізмів адаптації людини до різноманітних фізіологічних чинників.

На даний час існує декілька методів оцінки ВСР. Серед них виділяють три групи:

методи часової області – спираються на статистичні методи та направлені на дослідження загальної варіабельності;

методи частотної області – дослідження періодичних складових ВСР;

інтегральні показники ВСР – автокореляційний аналіз та кореляційна ритмографія [259, 260].

В останні роки для оцінки коротких записів електрокардіограми (від 2 до 5 хвилин) набули широкого поширення спектральні методи аналізу ВСР. Аналіз спектральної щільності потужності коливань дає інформацію про розподіл потужності залежно від частоти коливань. Виділені методами частотної області спектральні компоненти ВСР традиційно пов'язують з потужностями відповідних регуляторних ланок [305].

Так еферентна вагусна активність вважається важливою складовою високочастотних коливань (HF) і характеризує відповідно тонус парасимпатичного кардіоінгібіторного центру довгастого мозку [303].

У свою чергу хвильові коливання серцевого ритму в низькочастотному діапазоні спектру (LF) одні автори розглядають як маркер активності симпатичних центрів довгастого мозку і барорефлекторного контролю, а інші вважають його показником, що залежить одночасно від симпатичних і вагусних впливів [255, 268].

Формування хвиль в дуже низькочастотному діапазоні спектра (VLF) пов'язують з терморегуляторними системами та гуморально-метаболічними механізмами регуляції серцевого ритму [262, 265].

Одним з найбільш важливих показників спектрального аналізу ВСР є загальна потужність спектра коливань кардіоритму – TP, яка характеризує сумарну активність всіх регуляторних ланок організму і відображає функціональну адаптацію ССС у відповідь на дію стресів різного генезу. Зниження значень TP свідчить про зменшення адаптаційних можливостей і низьку стійкість організму до стресу [302, 303].

Згідно даним літератури відомо [304, 305], що одним з провідних чинників старіння організму є розвиток функціональних порушень ВНС. В процесі старіння слабшають вегетативні впливи на міокард, перш за все парасимпатичні, а це в свою чергу призводить до погіршення загальної регуляції серцевого ритму та зміщення балансу симпато-парасимпатичних впливів у бік відносного переважання перших. Крім того, в процесі старіння відбувається зменшення функціональної активності залоз внутрішньої секреції, що супроводжується вираженими метаболічними порушеннями в організмі і підвищує ризик розвитку серцево-судинних захворювань.

На сьогоднішній день профілактика багатьох захворювань, які часто асоціюються зі старінням, можлива за рахунок підвищення власних адаптаційно-регуляторних можливостей літнього організму [299]. Холодові впливи – це один з методів, в основі якого лежить здатність холоду активувати процеси саморегуляції і збільшувати адаптаційні резерви організму.

Попередні дослідження [12, 13, 14, 15, 172, 173, 174, 178, 214], що були проведені у відділі кріофізіології ІПКіК НАН України, показали що ритмічні екстремальні холодові впливи (-120°C) підвищують лабільність регуляторних процесів в ЦНС і ССС, стимулюють їх прямі і зворотні зв'язки, нормалізують симпато-парасимпатичний баланс ВНС з подальшою оптимізацією механізмів гомеостазу.

Однак, незважаючи на високу терапевтичну ефективність РЕХВ [215, 249, 250], обумовлену нормалізацією вегетативних функцій, підвищенням адаптаційних можливостей старіючого організму, в ряді випадків застосування 9 сеансів ритмічного екстремального охолодження при температурному режимі (-120°C ; -120°C ; -120°C), особливо у літніх людей, супроводжується виникненням побічних ефектів, таких як підвищення артеріального тиску, виражена тахікардія, нетривалі порушення просторової пам'яті і т.д. Тому пошук оптимальних температурних режимів застосування РЕХВ є надзвичайно перспективним напрямком для геронтологічної медичної практики.

У зв'язку з вищевикладеним, доцільним було оцінити особливості стану вегетативної та гуморальної регуляції серцевого ритму молодих і старих щурів на тлі використання різних режимів РЕХВ.

Важливою функцією ВНС є контроль вікових змін в ЦНС і ССС, функціональні порушення яких стають провідним фактором старіння організму. При цьому ВНС є нестабільною структурою, яка сама трансформується в процесі розвитку і старіння організму. Сучасні методи аналізу хвильової структури серцевого ритму дають можливість за даними ВСР оцінити функціональний стан ВНС, а також вплив різних ланок нейрогуморальної регуляції на скоротливу здатність міокарда. Спектральний аналіз ВСР дозволяє виявити періодичні складові в коливаннях серцевого ритму і оцінити їх кількісний вклад в динаміку ритму.

Аналіз хвильової структури серцевого ритму у молодих контрольних тварин показав наявність у них швидкої (рефлекторної) системи регуляції серцевого

ритму (рис. 3.1). У структурі загальної потужності спектра нейрогуморальної регуляції переважала активність вегетативних центрів (LF- і HF-компонент), причому парасимпатичні впливи на міокард превалювали над симпатичними.

При спектральному аналізі ВСР у молодих щурів після застосування 9 сеансів РЕХВ в температурному режимі (-120°C ; -120°C ; -120°C) встановлено (рис. 3.1), що після 6 і 9 процедури охолодження, а також через тиждень після РЕХВ, показники ТР статистично значуще збільшувалися щодо контрольних значень (в 2,2, 2,7 і 2,9 рази відповідно) за рахунок підвищення тонуусу як симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС, так і гуморально-метаболічної ланки регуляції (VLF- компонент).

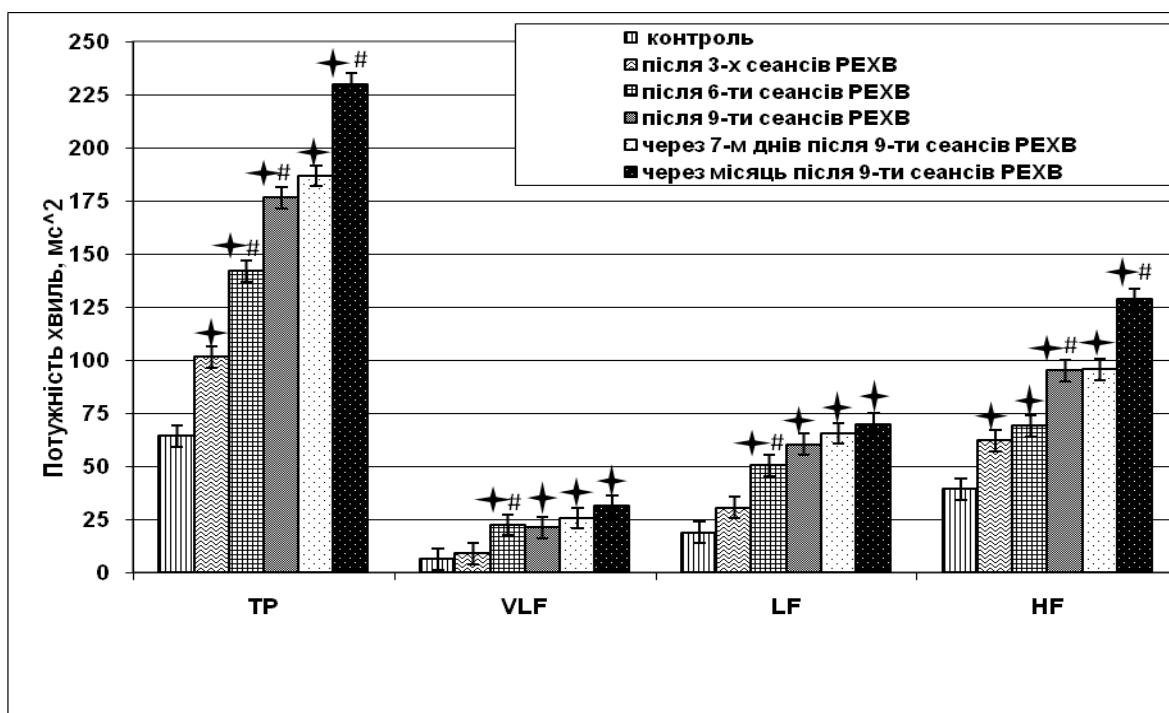


Рис. 3.1. Показники спектрального аналізу ВСР у молодих щурів до і після 3-го, 6-го, 9-го сеансу РЕХВ, а також через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження при температурі (-120°C ; -120°C ; -120°C).

Примітка: * – статистично значущі відмінності від контрольних показників ($p < 0,05$); # – статистично значущі відмінності від попереднього терміну спостереження ($p < 0,05$).

У віддалені терміни спостережень (через місяць після останньої процедури охолодження) ще більш істотне зростання загальної спектральної потужності

нейрогуморальної регуляції (в 3,6 рази) було наслідком активації парасимпатичного відділу ВНС.

Позитивним, на нашу думку, є той факт, що на тлі застосування даного температурного режиму РЕХВ підйом ТР у молодих тварин, був результатом активації діяльності як гуморальної ланки регуляції, так і вегетативних центрів, які представляють найвищий рівень автономної нервової системи, а вона є найбільш розвиненим і швидким шляхом реалізації ефектів нейрогуморальної регуляції. Крім того, вегетативні центри виконують важливу функцію вегетосоматичної і вегетомотиваційної інтеграції.

У молодих щурів на тлі застосування 9 сеансів РЕХВ при температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C) нами відзначена аналогічна динаміка змін основних показників спектрального аналізу ВСР (рис. 3.2).

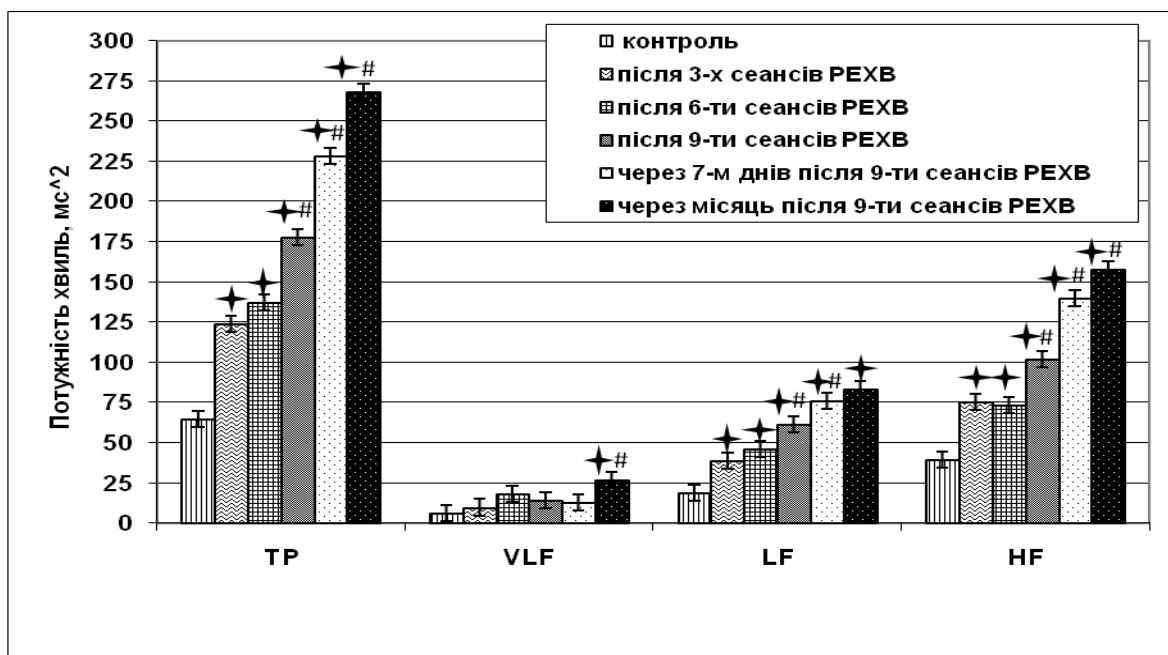


Рис. 3.2. Показники спектрального аналізу ВСР у молодих щурів до і після 3-го, 6-го, 9-го сеансу РЕХВ, а також через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження при температурі (-60°C ; -120°C ; -120°C).

Примітка: * – статистично значущі відмінності від контрольних показників ($p < 0,05$); # – статистично значущі відмінності від попереднього терміну спостереження ($p < 0,05$).

Однак на відміну від попереднього режиму охолодження рівень загальної потужності спектра нейрогуморальної регуляції кількісно більш істотно зростав у віддалені терміни експериментальних досліджень (практично в 3,6 рази через тиждень і в 4,2 рази через місяць після останньої процедури охолодження). Крім того, активність гуморально-метаболічної ланки регуляції статистично значуще збільшувалася в порівнянні з контрольними показниками (в 4,3 рази) тільки через місяць після 9-ої процедури РЕХВ.

Використання температурного режиму РЕХВ (-60°C ; -60°C ; -60°C) у молодих тварин не приводило до достовірних змін всіх досліджуваних параметрів ВСР (рис. 3.3). Виявлялася лише тенденція до підвищення значень ТР після 6-го і 9-го впливу, а також через тиждень і місяць після останнього сеансу РЕХВ.

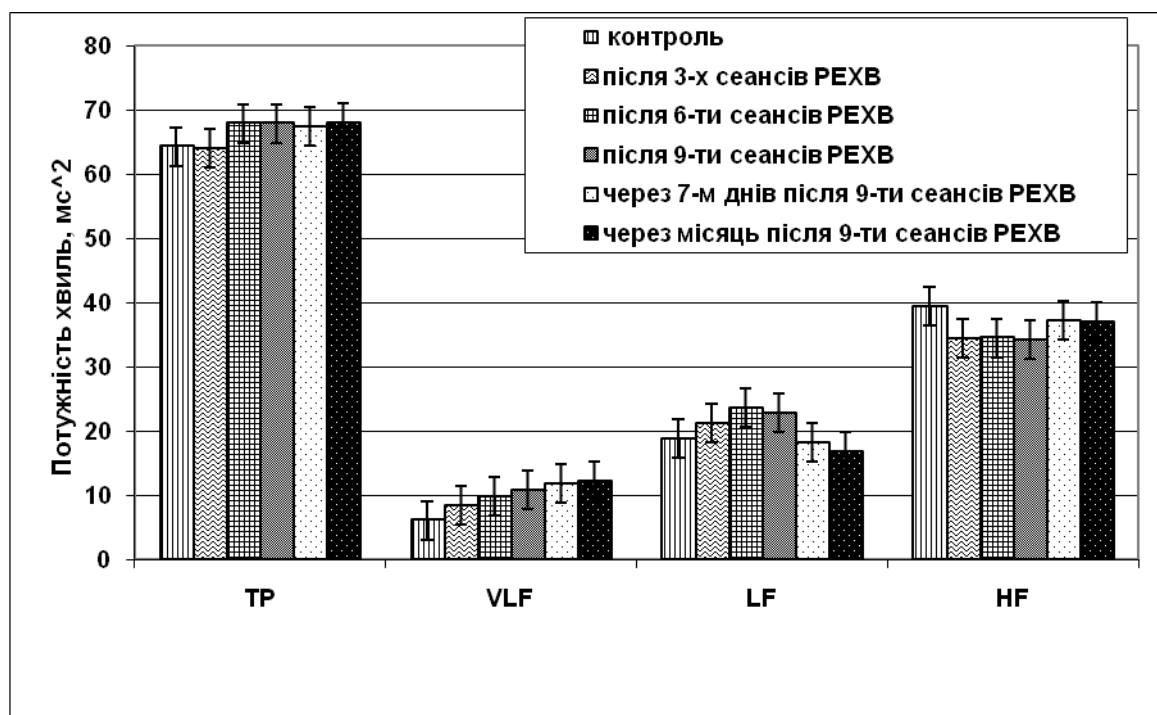


Рис. 3.3. Показники спектрального аналізу ВСР у молодих щурів до і після 3-го, 6-го, 9-го сеансу РЕХВ, а також через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження при температурі (-60°C ; -60°C ; -60°C).

Таким чином, проведені експериментальні дослідження свідчать про те, що у молодих щурів застосування температурних режимів РЕХВ (-120°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -120°C ; -120°C) здатне значно підвищувати адаптаційні

можливості організму за рахунок активації власних гомеостатичних регуляторних систем.

Встановлено (рис. 3.4), що в групі старих інтактних щурів спостерігалися істотні порушення структури спектра нейрогуморальної регуляції серцевого ритму. Підвищувався рівень гуморально-метаболических впливів на міокард на тлі зменшення тону симпатичного і парасимпатичного відділів ВНС. На спектрограмі це проявлялося переважанням VLF-хвиль над LF- і HF-хвилями.

Отримані нами експериментальні дані підтверджуються літературними [240], які свідчать про те, що при старінні організму значення загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції знижуються внаслідок зменшення тону вегетативних центрів, а основний внесок в структуру ТР вносить гуморально-метаболическа система, яка є найбільш повільною системою регуляції серцевого ритму. Отже, організм, у якого переважає активність даної ланки регуляції, не може забезпечувати швидку адаптивну відповідь, на відміну від особин з розвинутою швидкою вегетативною регуляцією.

Аналіз хвильової структури серцевого ритму старих тварин після застосування 9 сеансів РЕХВ при температурному режимі (-120°C ; -120°C ; -120°C) показав (рис. 3.4), що після 3 і 6 процедури охолодження значення загальної потужності спектра нейрогуморальної регуляції статистично значуще зростали щодо контролю (в 1,5 і 2 рази відповідно) за рахунок збільшення тону симпатичного відділу ВНС, в той час як активність парасимпатичного відділу і гуморально-метаболическої ланки регуляції достовірно не змінювалася.

Оцінюючи показники спектрального аналізу ВСР в дані терміни досліджень можна припустити, що використаний режим РЕХВ супроводжується компенсаторною активацією симпатичного відділу ВНС, що не є сприятливою основою для нормальної життєдіяльності організму, оскільки надмірний тонус симпато-адреналової системи розглядається як один з можливих патогенетичних механізмів розвитку хронічної серцевої недостатності.

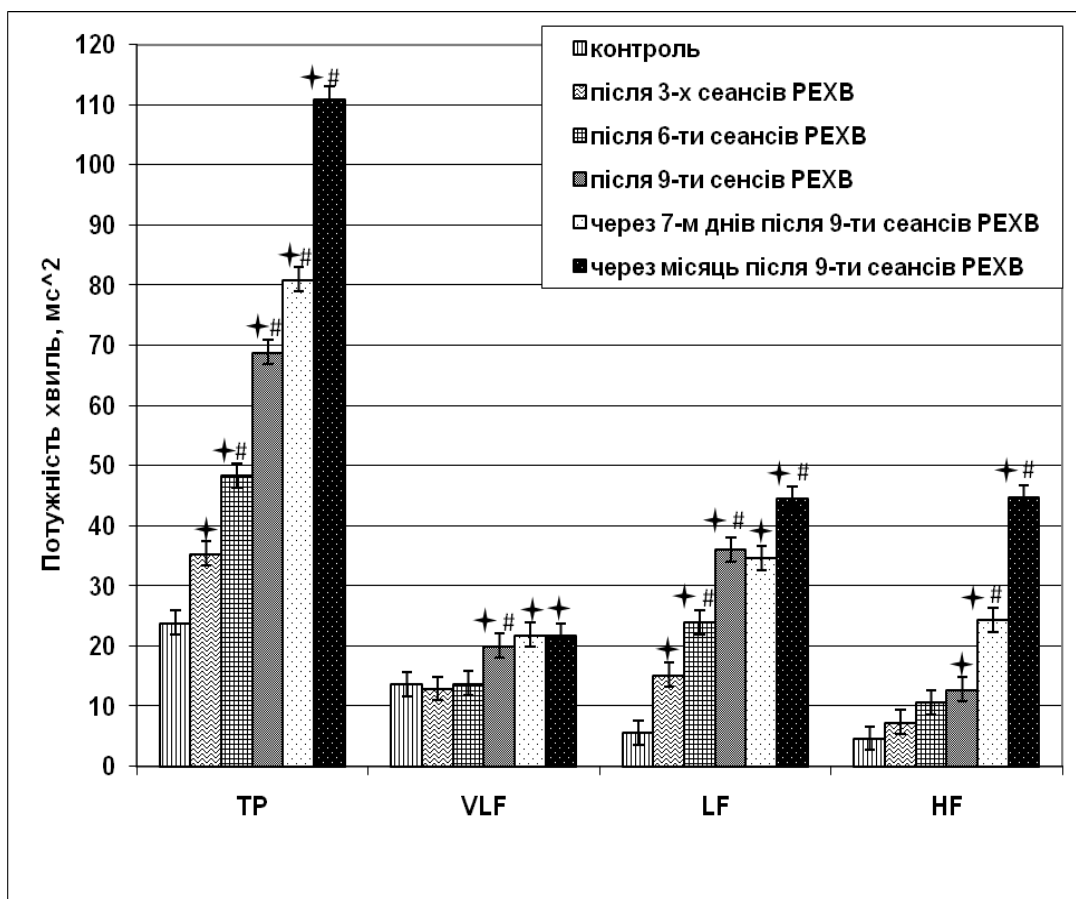


Рис. 3.4. Показники спектрального аналізу ВСР у старих щурів до і після 3-го, 6-го, 9-го сеансу РЕХВ, а також через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження при температурі (-120°C; -120°C; -120°C).

Примітка: * – статистично значущі відмінності від контрольних показників ($p < 0,05$); # – статистично значущі відмінності від попереднього терміну спостереження ($p < 0,05$).

Після 9 сеансу РЕХВ (рис. 3.4) і у віддалені терміни спостережень (через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження) зростання ТР, як щодо попередніх етапів експериментальних досліджень, так і по відношенню до контрольних показників (у 2,9, 3,4 і 4,6 рази відповідно) було результатом активації не тільки симпатичного, але і парасимпатичного відділу ВНС (в 5,3 рази через тиждень і в 9,6 рази через місяць після охолодження), а також гуморальної ланки регуляції.

Оскільки переважання парасимпатичної ланки регуляції більшою мірою характерно для молодого організму і не властиво старіючому, можна припустити,

що застосування РЕХВ в даному температурному режимі здатне короткочасно підвищувати функціональний стан регуляторних систем організму старих тварин.

При спектральному аналізі ВСР у старих тварин на тлі використання 9 сеансів РЕХВ при температурному режимі (-60°C; -120°C; -120°C) нами встановлено (рис. 3.5), що на відміну від попереднього режиму в усі терміни експериментальних досліджень показник ТР статистично значуще збільшувався щодо контрольних значень в основному завдяки підвищенню тону вегетативних центрів (на спектрограмі відзначалося збільшення LF- і HF-компонента). У структурі ТР переважав вплив парасимпатичного відділу ВНС. Через місяць, в порівнянні з контрольними показниками, зафіксовано збільшення ТР в 8, LF в 11,9, HF в 21,1 рази.

При цьому активність гуморальної ланки регуляції значуще збільшувалася тільки у віддалені терміни спостережень (через тиждень і місяць після 9-ої процедури охолодження), що ймовірно можна пояснити впливом ендокринних і гуморальних факторів на синусовий вузол, а також зв'язком хвиль цієї частоти з ритмами терморегуляції.

Сприятливим, на нашу думку, є той факт, що підйом ТР відбувався не стільки за рахунок підвищення активності гуморально-метаболічної ланки регуляції, переважання якої характерно для літнього віку, скільки завдяки збільшенню тону вегетативних центрів, причому парасимпатичні впливи на міокард превалювали над симпатичними.

Отримані експериментальні дані, такі як високий рівень вагальних, симпатичних впливів на динаміку серцевого ритму, свідчать про наявність у старих щурів на тлі застосування даного режиму РЕХВ розвиненою вегетативної регуляції, невластивої старіючому організму.

Застосування 9 сеансів РЕХВ при температурному режимі (-60°C; -60° C; -60°C) у старих тварин не супроводжувалося статистично значущими змінами показників спектрального аналізу ВСР (рис. 3.6). Спостерігалася тенденція до незначного збільшення значень ТР після 3, 6, 9 процедури охолодження, а також у

віддалені терміни досліджень, в результаті підвищення тонузу симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС.

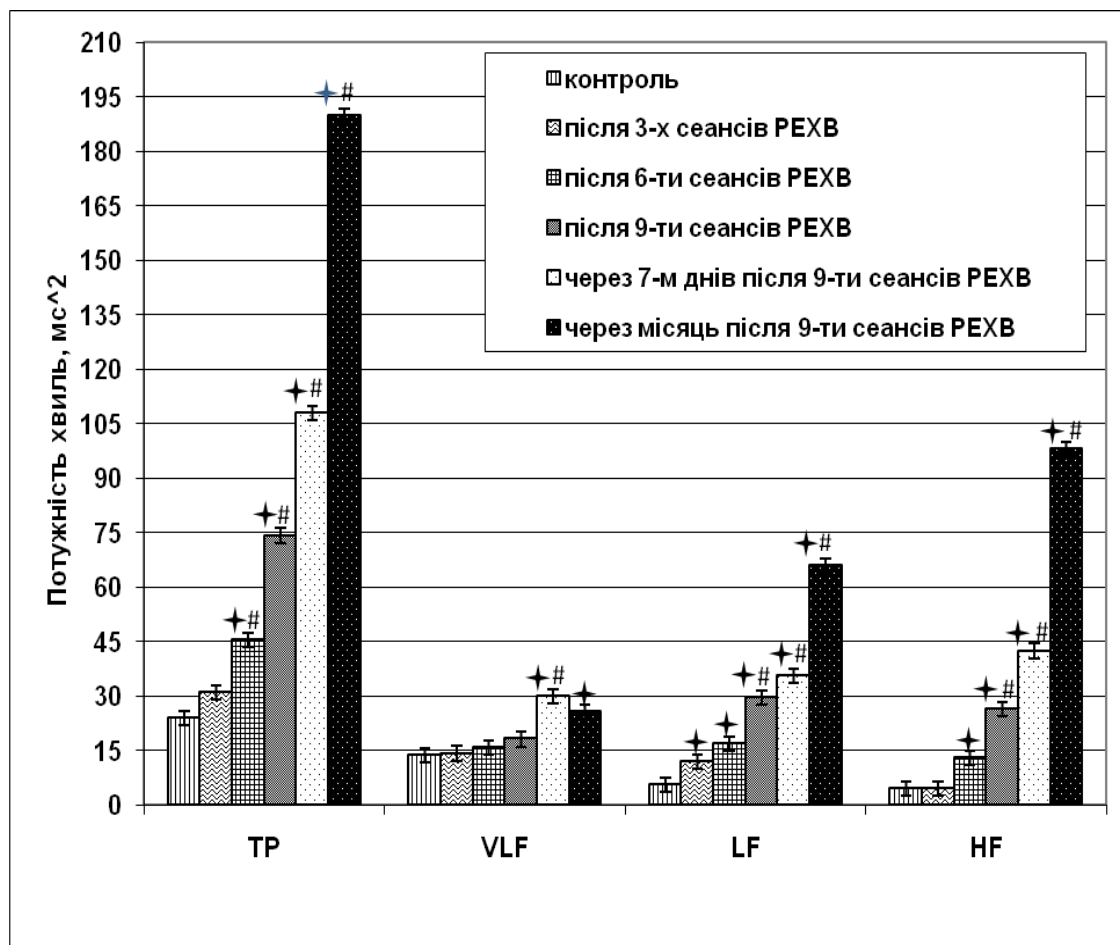


Рис. 3.5. Показники спектрального аналізу ВСП у старих щурів до і після 3-го, 6-го, 9-го сеансу РЕХВ, а також через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження при температурі (-60°C; -120°C; -120°C).

Примітка: * – статистично значущі відмінності від контрольних показників ($p < 0,05$); # – статистично значущі відмінності від попереднього терміну спостереження ($p < 0,05$).

Аналізую дані спектрального аналізу ВСП у старих щурів після використання різних режимів ритмічного екстремального охолодження можна зробити висновок, що комбінований режим РЕХВ (-60°C; -120°C; -120°C) надає найбільш виражений позитивний вплив на стан регуляторних систем, оскільки здатний тривалий час зберігати «молоду» ритміку нейрогуморальних впливів на організм експериментальних тварин і не супроводжується надмірною активацією

симпато-адреналової системи на ранніх етапах експериментальних досліджень, на відміну від режиму (-120°C; -120°C; -120°C).

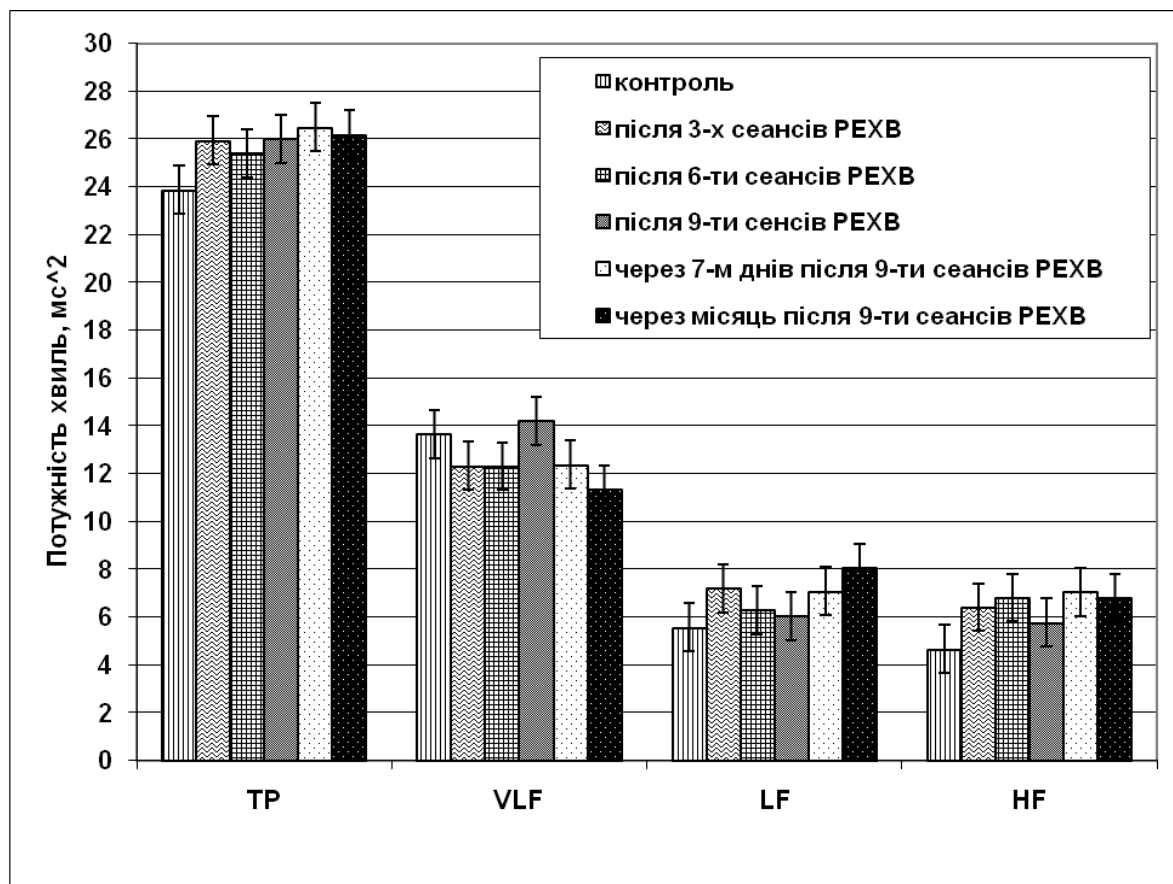


Рис. 3.6. Показники спектрального аналізу ВСР у старих щурів до і після 3-го, 6-го, 9-го сеансу РЕХВ, а також через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження при температурі (-60°C; -60°C; -60°C).

Таким чином, в проведених дослідженнях дана оцінка стану вегетативної регуляції серцевого ритму у молодих і старих щурів до і після застосування різних режимів ритмічного екстремального охолодження. Аналіз хвильової структури серцевого ритму показав, що використання температурних режимів РЕХВ (-120°C; -120°C; -120°C) і (-60°C; -120°C; -120°C) сприяє підвищенню адаптаційних можливостей організму молодих тварин за рахунок активації як вегетативних центрів, так і гуморально-метаболічної ланки регуляції.

Встановлено, що в групі старих інтактних тварин спостерігалися істотні порушення структури спектра нейрогуморальної регуляції серцевого ритму.

Зростає рівень гуморально-метаболических впливів на міокард на тлі зменшення тону симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС.

У старих щурів використання РЕХВ в температурному режимі (-60°C; -120°C; -120°C), в порівнянні з режимом охолодження (-120°C; -120°C; -120°C), в усі терміни експериментальних досліджень супроводжувалося статистично значущим збільшенням загальної потужності спектра нейрогуморальної регуляції не тільки за рахунок активації однієї ланки регуляції, а завдяки збалансованому підвищенню тону всіх регуляторних ланок.

Можна зробити висновок, що температурний режим РЕХВ (-60°C; -120°C; -120°C) є найбільш оптимальним для старих тварин, що обґрунтовує перспективність його застосування в геронтологічній практиці для підвищення власних адаптаційно-регуляторних можливостей літнього організму, з метою профілактики розвитку захворювань часто супутніх старінню.

За матеріалами розділу 3 опубліковані роботи [310, 311, 312, 313].

Отримано патент на корисну модель [314].

РОЗДІЛ 4

ОЦІНКА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП ДО І ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ РІЗНИХ РЕЖИМІВ РИТМІЧНОГО ЕКСТРЕМАЛЬНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ

В даний час виявлено тісний взаємозв'язок між віковими змінами ендокринної системи, метаболічними порушеннями і розвитком захворювань внутрішніх органів, характерних для людей похилого віку [281, 315].

Важливою роллю гормонів щитоподібної залози є регуляція і координація основних функцій організму, що забезпечують гомеостаз.

Вони активно впливають на стан вегетативної нервової системи, при різних стресових ситуаціях, тим самим реалізуючи адаптивну функцію, посилюють або пригнічують при необхідності білковий, ліпідний і вуглеводний обмін, забезпечують енергоутворення [280, 316]. Настільки різноманітний спектр дії на біохімічні та функціональні процеси організму пояснюється наявністю рецепторів до тиреоїдних гормонів практично у всіх внутрішніх органах [266, 267, 279, 317].

В процесі старіння відбувається зменшення функціональної активності щитоподібної залози, що супроводжується вираженими метаболічними порушеннями в організмі [318, 319, 320]. Внаслідок пригнічення тиреотропної функції знижується тиреоїдна регуляція обмінних процесів, змінюється чутливість органів-мішеней до дії гормонів [268, 270].

З віком істотно слабшає функціональна активність не тільки щитоподібної залози, а й кори наднирників і статевих залоз. На різних етапах онтогенезу рівень стероїдних гормонів в сироватці крові є характерним маркером енергетичного і пластичного забезпечення організму [281]. Вікові порушення секреції і впливу гормонів призводять до таких метаболічних наслідків як гіперхолестеринемія і атерогенна дисліпідемія. Визначається тісний взаємозв'язок між метаболічними

порушеннями і дисфункцією внутрішніх органів (головного мозку, серця, печінки, нирок і т.д.), які характерні для людей похилого віку [321, 322].

В результаті виникнення дисліпідемії відбуваються суттєві зміни концентрації ліпідів сироватки крові в бік атерогенності, в результаті чого підвищується ризик розвитку серцево-судинної патології [323]. Встановлено прямий зв'язок між вмістом загального холестерину і смертністю від серцево-судинних захворювань [324], показана залежність виникнення стрес-індукованої артеріальної гіпертензії у молодих і старих щурів при порушенні ліпідного профілю [272].

На сьогоднішній день профілактика багатьох захворювань, які часто асоціюються зі старінням, можлива за рахунок підвищення власних адаптаційно-регуляторних можливостей літнього організму [325]. Корекція порушень адаптаційних механізмів повинна, перш за все, здійснюватись через відновлення функції адрено-тиреоїдної системи. Для посилення адаптаційних можливостей і формування гнучкості контрольованих і неконтрольованих стрес-реакцій необхідно нормалізувати в організмі рівень природних біорегуляторів адаптаційних процесів – тиреоїдних гормонів і медіаторів симпато-адреналової системи.

Тому надзвичайно актуальним для медико-біологічних цілей є пошук нових способів впливу на організм здатних надавати стимулюючий вплив на гомеостатичні регуляторні системи. Одним з таких методів є холодові впливи [9, 326, 327, 328].

Клінічні та експериментальні дослідження довели, що короткочасний загальний вплив наднизьких температур (-120°C) активує адаптаційні резерви організму включаючи терморегуляторну, імунну, ендокринну та нейрогуморальну системи.

Проте незважаючи на високу терапевтичну ефективність застосування РЕХВ (-120°C) в ряді випадків використання екстремального охолодження, особливо у літніх людей, супроводжується виникненням побічних ефектів, таких

як підвищення артеріального тиску, виражена тахікардія, нетривалі порушення просторової пам'яті і т.д.

У зв'язку з вище викладеним доцільним було дослідити вплив різних режимів ритмічного екстремального охолодження на вміст гормонів і ліпідів в сироватці крові молодих і старих щурів.

4.1. Вплив різних режимів ритмічного екстремального охолодження на рівень гормонів сироватки крові молодих і старих щурів

Ендокринна система організму людини представлена тканинами і органами, клітини яких продукують гормони. Їй належить провідне місце в спеціалізованому управлінні різноманітними процесами життєдіяльності на рівні цілісного організму. Ендокринна система за допомогою гормонів, що нею продукуються, а також у взаємодії з іншими системами, впливає на метаболізм, фізіологію та морфологію клітин, тканин і органів [322]. В першу чергу гормони визначають інтенсивність синтезу білка і ДНК, розміри клітин, їх мітотичну активність, ростові процеси, диференціювальну активність генів, формування клітинного фенотипу, і, як наслідок, диференціювання клітин та тканин, розвиток організму, формування статі та розмноження, різноманітні форми адаптації та підтримки гомеостазу, поведінку та розумову діяльність [319].

Згідно фізіологічної класифікації ендокринних органів, в основу якої покладено принцип функціональної взаємозалежності, виділяють наступні групи залоз: група аденогіпофізу (щитоподібна залоза, кора наднирників, яєчка й яєчники), діяльність яких залежить від гормонів аденогіпофіза; група залоз, що незалежні від аденогіпофізу (паращитоподібні залози, панкреатичні острівці, вилочкова залоза); група ендокринних органів нервового "походження" (нейросекреторні клітини з відростками, що створюють ядра гіпоталамуса, нейроендокринні клітини, що не мають відростків, парафолікулярні, або С-клітини щитоподібної залози, аргирофільні і ентерохромафінні клітини в

стінках шлунку і кишечника); група ендокринних залоз нейрогліального походження (епіфіз, нейрогіпофіз).

Основною функцією щитоподібної залози є синтез і виділення в кров специфічних гормонів: тироксину (T_4) та трийодтироніну (T_3) [329, 330]. T_4 і T_3 , є йодовмісними амінокислотами, що синтезуються фолікулами. Високомолекулярний білок тироглобулін (містить велику кількість залишків амінокислоти тирозину) синтезується на гранулах цитоплазматичної сітки клітин фолікулів, а звідти транспортується у пластинчастий комплекс, де до нього приєднуються моносахариди. Цей глікопротеїн складається з двох субодиниць і має молекулярну масу 660000, причому близько 10% його маси становлять вуглеводи. Тироглобулін накопичується в апікальній частині тироцита у вигляді міхурців, звідти шляхом піноцитозу вивільняється в порожнину фолікула, де депонується як колоїд. Йодування тироглобуліну здійснюється за допомогою ферментів апікальної частини тироцита. У клітинах фолікулів тироглобулін приєднує йод – відбувається синтез основного гормону щитоподібної залози – тироксину. При цьому утворюються також невеликі кількості іншого гормону – трийодтироніну.

Функції гормонів щитоподібної залози численні. Вони регулюють рівень основного обміну, інтенсивність і якість обміну білків, жирів і вуглеводів, ріст, теплопродукцію та диференціювання тканин організму. Тиреоїдні гормони змінюють діяльність серцево-судинної системи й органів дихання, скорочувальну здатність і стомлюваність м'язів, збудливість і лабільність нервової системи, стійкість організму до інфекції та його здатність адаптуватися до різних факторів зовнішнього середовища [272]. Така багатогранна дія гормонів щитоподібної залози виявляється як при зниженні, так і при підвищенні її функцій, що підтверджується фізіологічними експериментами і клінічними спостереженнями. Характер змін, що відбуваються в організмі під впливом надлишку чи нестачі гормонів, залежить від віку і статі [331, 332].

Синтез і секреція тиреоїдних гормонів залежить від статевих гормонів. Статеві відмінності у функції залози виявляються як до народження, так і після, але особливо – в період статевого дозрівання. Статеві гормони тестостерон і естроген впливають на щитоподібну залозу безпосередньо, а також через гіпоталамус і гіпофіз. Естроген здійснює переважно стимулюючий вплив на активність залози, а тестостерон – гальмуючий [333, 334, 335, 336].

Основний гормон з андрогенною активністю – тестостерон (Тс). Утворюється він в інтерстиціальних клітинах сім'яників (клітинах Лейдіга). Синтезується Тс, як і інші стероїдні гормони, із холестерину. Сім'яники виробляють і секретують також невелику кількість дигідротестостерону й естрогенів.

Тс, як і інші жиророзчинні гормони, транспортується в крові специфічним білком, що синтезується в печінці. Він також зв'язує і переносить естрогени. Понад 97% Тс зв'язано з білком у крові та менше 3% припадає на вільну, біологічно активну форму гормону. Концентрація тестостерону в плазмі крові чоловіків складає 3–10 мкг/л, а у жінок – 0,2–0,8 мкг/л. Тестостерон разом з фолікулостимулювальним гормоном гіпофіза підтримує сперматогенез [337, 338].

Андрогени беруть участь в ембріогенезі, розвитку первинних статевих ознак, формуванні вторинних статевих ознак (розподіл волосся на тілі, тембр голосу, тип відкладання жиру в організмі), рості скелета і скелетної мускулатури. Вони мають виражену анаболічну дію, стимулюють синтез білків, нуклеїнових кислот, фосфоліпідів мембран [272, 319, 339].

До жіночих статевих гормонів відносяться естрогени і прогестерон. Естрогени утворюються в яєчниках та за хімічною природою являють собою С18-стероїди із ароматичним кільцем А. Основний, найбільш активний, естроген, β-естрадіол, секретується фолікулами яєчників. Естрон та естріол утворюються, в основному, при метаболізмі естрадіолу (Ес) в печінці та плаценті. Ес синтезується, як і всі стероїдні гормони, з холестерину, причому його проміжним продуктом є тестостерон.

Естрогени контролюють ріст і розвиток органів репродуктивної системи у процесі статевого дозрівання жінки та здатність до розмноження у репродуктивному періоді. У період дитинства естрогени секретуються у настільки малій кількості, що не індукують розвитку репродуктивних органів. У цілому, естрогени діють як гормони росту на ті тканини, які прямо чи опосередковано зв'язані з процесом розмноження.

Анаболічна дія естрогенів значно слабша, ніж андрогенів [340]. Естрогени впливають на мінеральний обмін у кістках, гальмують резорбцію кісток, про що свідчить розвиток остеопорозу в період після менопаузи. Вважають, що естрогени діють на мінеральний обмін опосередковано через кальцитонін і вітаміни D. Естрогени впливають на синтез білків у печінці, зокрема синтез білків-переносників гормонів, факторів згортання крові, ангіотензиногену, білків, що входять до складу ліпопротеїнів високої щільності.

Одним із найбільш відомих і загальноприйнятих маркерів старіння вважається зниження вмісту дегідроепіандростерона (ДГЕА) й, особливо, дегідроепіандростерон-сульфату (ДГЕАС) [341].

ДГЕАС, як стероїд наднирників, не має класичних особливостей гормонів, властивих андрогенам, естрогенам і ін. [342]. На молекулярному рівні ДГЕАС впливає на біосинтез глюкокортикоїдів і статевих гормонів. Виконуючи функцію гормону адаптації, він здійснює нейропротекторну і стресопротекторну дію завдяки своїм антиглюкокортикоїдним особливостям регуляції негативного впливу кортизолу на мозок.

У гризунів ДГЕАС в тканинах мозку утворюється в значних кількостях [343, 345, 346], що з урахуванням важливої ролі ДГЕАС в нейрогенезі, дозволило віднести його до нейростероїдів [346].

Зважаючи на вищезазначене, та те, що гормони щитоподібної залози, зокрема, беруть участь у регуляції додаткового, індукованого холодом термогенезу [331] та запуску механізмів адаптації [347, 348], особливий інтерес викликає з'ясування відображених у вмісті тиреоїдних та статевих гормонів у

сироватці крові щурів гормональних перебудов, які відбуваються в організмі експериментальних тварин під дією різних режимів РЕХВ, оскільки застосування ритмічного екстремального охолодження розглядається як перспективний фактор впливу на перебіг і наслідки ендокринних порушень організму загалом.

У зв'язку з вищевикладеним нами було вивчено вплив РЕХВ, зокрема з використанням температурних режимів (-120°C ; -120°C ; -120°C), (-60°C ; -120°C ; -120°C) та (-60°C ; -60°C ; -60°C) на рівень ДГЕАС, кортикостерону, тиреоїдних і статевих гормонів в сироватці крові молодих і старих щурів.

Нами встановлено, що на наступну добу і через тиждень після проведення 9 сеансів РЕХВ з використанням температурного режиму (-120°C ; -120°C ; -120°C) (табл. 4.1) вміст трийодтироніну (T_3) і тироксину (T_4) в сироватці крові молодих щурів зменшувався щодо показників контрольних тварин. Зниження рівня T_3 і T_4 хоча і було достовірним, однак коливання їх вмісту знаходилися в рамках фізіологічної норми. Через місяць після останньої процедури охолодження спостерігалася динаміка відновлення концентрації гормонів щитоподібної залози до рівня контрольних значень. Застосування РЕХВ в температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -60°C ; -60°C) не супроводжувалося статистично значущими змінами рівня тиреоїдних гормонів.

Існують дані про можливий зв'язок тиреоїдної активності і дегідроепіандростероном (ДГЕА). ДГЕА є стероїдним гормоном, який циркулює в крові, а його концентрація знижується з віком. Він є загальноприйнятим маркером старіння. У літніх людей встановлена позитивна кореляція між високим рівнем ДГЕА і проявами «здорової старості», такими як хороший фізичний і психологічний стан людини. На відміну від інших стероїдів, специфічні рецептори до ДГЕА не ідентифіковано, а його біологічна дія має широкий діапазон і визначається характером порушення гомеостазу в залежності від специфіки конкретного впливу на організм.

В наших дослідженнях показано (табл. 4.1), що застосування 9 процедур РЕХВ в температурному режимі (-120°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -120°C ; $-$

120°C) приводило до достовірного підвищення вмісту ДГЕАС в сироватці крові молодих щурів на наступну добу і через тиждень після останнього сеансу охолодження. Збільшення концентрації ДГЕАС в дані терміни спостережень можна імовірно розглядати як компенсаторну реакцію організму експериментальних тварин у відповідь на зниження активності тиреоїдної системи викликаній екстремальним охолодженням. Через місяць після РЕХВ рівень цього гормону відповідав показникам контролю. Використання РЕХВ в режимі (-60°C; -60°C; -60°C) не приводило до статистично значущих змін вмісту ДГЕАС в усі терміни експериментальних досліджень.

Даний факт свідчить про те, що температурні режими РЕХВ (-120°C; -120°C; -120°C) і (-60°C; -120°C; -120°C) для молодих щурів є найбільш сприятливими для підтримки необхідної концентрації в крові гормонів щитоподібної залози.

У людини кортикостерон є малоактивним глюкокортикоїдним гормоном кори надниркових залоз. Однак у щурів він є основним і найбільш активним глюкокортикоїдом, подібним до кортизолу у людини.

Встановлено (табл. 4.1), що після 3-го, 6-го і 9-го сеансу РЕХВ в режимі (-120°C; -120°C; -120°C) у молодих щурів мала місце тенденція до достовірного збільшення вмісту кортикостерону в сироватці крові по відношенню до контролю, яка зберігалася і у віддалені терміни спостережень (через тиждень і місяць після 9-го впливу). Аналогічна динаміка відзначалася й у молодих тварин, яких охолоджували, використовуючи режим (-60°C; -60°C; -60°C). Такі зміни рівня кортикостерону можуть пояснюватися розвитком стрес-реакції гормональної системи організму у відповідь на екстремальне охолодження.

Застосування 9 процедур РЕХВ в температурному режимі (-60°C; -120°C; -120°C) супроводжувалося статистично значущим підвищенням рівня кортикостерону лише на ранніх етапах експериментальних досліджень (після 3-го і 6-го сеансу РЕХВ), в той час як на наступну добу, через тиждень і місяць після

охолодження його концентрація знижувалася і практично відповідала показникам контролю.

Рівень тестостерону (Тс) в крові є одним із маркерів адаптаційних можливостей організму. Використання РЕХВ в режимі (-120°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -120°C ; -120°C) приводило до достовірного збільшення вмісту Тс в сироватці крові молодих щурів після 3-го, 6-го, а також на наступну добу і через тиждень після 9-го сеансу охолодження з подальшою нормалізацією його концентрації через місяць після останнього холодого впливу (табл. 4.1). Застосування режиму РЕХВ (-60°C ; -60°C ; -60°C) не супроводжувалося статистично значущими змінами вмісту Тс. Коливання рівня естрадіолу в сироватці крові молодих тварин при застосуванні досліджуваних режимів РЕХВ (табл. 4.1) знаходилися в межах контрольних значень.

Можна припустити, що використання РЕХВ у молодих щурів в описаних температурних режимах істотно підвищує функціональну активність андрогенів, що є сприятливим фактором, оскільки рівень Тс характеризує анаболічні ефекти в клітинні, а збільшення його концентрації підсилює в ній біосинтез білків, впливає на обмін ліпідів, збільшує споживання кисню тканинами, що сприяє нормальному розвитку організму в період дозрівання.

Старіння організму супроводжується прогресивним зниженням інтенсивності секреції статевих стероїдів і тиреоїдних гормонів, зменшенням їх концентрації в крові. При цьому зміст альдостерону і кортикостерону істотно не змінюється.

З віком змінюються не тільки окремі системи гормональної регуляції, але і міжендокринні зв'язки в єдиній системі нейрогормонального контролю. Змінюється вплив катехоламінів на гіпоталамус і гіпофіз, статевих стероїдів на функцію кори надниркових залоз, гормонів щитоподібної залози на обмін катехоламінів.

Нами встановлено (табл. 4.2), що у старих інтактних щурів вміст тиреоїдних гормонів у сироватці крові істотно знижувався в порівнянні з молодими.

Таблиця 4.1

Рівень гормонів в сироватці крові молодих тварин до і після застосування різних режимів РЕХВ

Група тварин	T ₃ , нмоль/л	T ₄ , нмоль/л	T _c , нмоль/л	Ес, нмоль/л	ДГЕАС, нмоль/л	Кортикост., нг/мл
Контроль	2,88±0,08	62,4±5,69	13,9±1,21	0,2±0	2,68±0,05	51,6±1,68
Режим РЕХВ (-120°C; -120°C; -120°C)						
3 сеанса	1,9±0,48	58,6±4,28	46,4±3,35*	0,28±0,16	2,9±0,14	66,5±1,32*
6 сеансів	2,24±0,76	60±5,16	48,2±4,52*	0,32±0,07	2,86±0,12	63,2±2,15*
9 сеансів	1,3±0,1*	45,55±7,2*	50,4±6,58*	0,35±0,15	3,4±0,2*	73,5±5,1*
тиждень після РЕХВ	1,35±0,15*	46,08±7,4*	54,3±3,8*	0,25±0,05	3,45±0,25*	71,2±1,25*
місяць після РЕХВ	2,83±0,07	55,20±4,87	15,77±1,03	0,2±0	2,67±0,07	62,37±1,49*
Режим РЕХВ (-60°C; -120°C; -120°C)						
3 сеанса	1,9±0,31	59,60±3,20	54,43±7,63*	0,2±0	2,85±0,15	69,5±1,15*
6 сеансів	2,73±0,87	57,9±5,57	51,60±3,37*	0,3±0	2,7±0,05	69,1±5,65*
9 сеансів	2,07±0,39	61,8±4,57	45,97±6,73*	0,2±0	2,95±0,05*	57,95±2,15
тиждень після РЕХВ	1,93±0,64	52,40±2,77	45,97±8,09*	0,27±0,03	3,00±0,12*	45,8± 4,79
місяць після РЕХВ	1,80±0,45	53,23±1,79	16,3±1,06	0,3±0,1	2,73±0,23	55,73±1,45
Режим РЕХВ (-60°C; -60°C; -60°C)						
9 сеансів	1,75±0,35	53,95±3,35	18,55±0,65	0,25±0,05	2,85±0,05	61,8±3,4*
тиждень після РЕХВ	1,73±0,17	50,77±8,07	18,9±1,7	0,2±0	2,85±0,15	67,7±4,4*
місяць після РЕХВ	1,83±0,07	58,5±0,20	19,6±1,30	0,25±0,05	2,9±0,20	60,3±5,10*

Примітка: * – статистично значущі відмінності від групи контролю, $p \leq 0,05$.

Використання РЕХВ в температурних режимах (-120°C; -120°C; -120°C) і (-60°C; -120°C; -120°C) призводило до стимуляції функції тиреоїдної системи. У

сироватці крові тварин даної вікової групи відзначалося статистично значуще збільшення рівня трийодтироніну і тироксину.

Підвищення концентрації T_3 і T_4 відбувалося синхронно зі збільшенням кількості процедур охолодження і досягало максимальних значень після 9 сеансів РЕХВ (практично в два рази по відношенню до контролю). У віддалені терміни спостережень (через тиждень і місяць після холодкових впливів) вміст тиреоїдних гормонів достовірно перевищував показники контролю.

Аналогічна динаміка збільшення рівня T_3 і T_4 мала місце при проведенні РЕХВ в режимі (-60°C ; -60°C ; -60°C), однак при використанні даного режиму охолодження підвищення концентрації гормонів щитоподібної залози було менш виражено.

Можна припустити, що активація функції тиреоїдної системи у старих тварин на тлі застосування різних температурних режимів РЕХВ є важливим фактором, спрямованим на створення умов для більш інтенсивного енергоутворення в клітинах. На нашу думку, основним механізмом підтримки нормального рівня тиреоїдних гормонів в старіючому організмі у відповідь на холодкові впливи служить збільшення кількості кисню в клітинах.

При старінні організму секреція гормону ДГЕАС динамічно знижується. Гострі і хронічні захворювання, стресові впливи прискорюють процес зменшення його продукції залозами. Це призводить до дисбалансу циркулюючих гормонів і тим самим до порушення регуляції співвідношення катаболічного і анаболічного векторів обміну. При цьому, на думку багатьох дослідників, з віком вміст кортикостерону незначно зменшується або не змінюється.

Застосування РЕХВ, причому у всіх температурних режимах (табл. 4.2), супроводжувалося достовірним підвищенням концентрації ДГЕАС в сироватці крові старих тварин (в порівнянні з контролем), як після 3-го, 6-го, 9-го сеансу охолодження, так і в віддалені терміни досліджень (через тиждень і місяць після останньої процедури РЕХВ).

На цьому тлі відзначалася динаміка до зменшення рівня кортикостерону після 3, 6 і 9-ої процедури РЕХВ, але вже через тиждень і місяць після холодкових впливів його вміст у сироватці крові відповідав показникам контролю.

В наших експериментальних дослідженнях встановлено (табл. 4.2), що у старих щурів концентрація статевих стероїдів, зокрема тестостерону, знижувалася в порівнянні з молодими тваринами. Використання РЕХВ в температурних режимах (-120°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -120°C ; -120°C) надавало стимулюючий вплив на секрецію статевих гормонів. Так на наступну добу після 9 сеансів охолодження рівень Тс в сироватці крові старих щурів достовірно збільшувався щодо інтактних тварин, причому через тиждень і місяць після холодкових впливів його вміст в 3 рази перевищував контрольні значення.

Застосування режиму РЕХВ (-60°C ; -60°C ; -60°C) також сприяло статистично значущому підвищенню концентрації Тс, однак не настільки значному. При цьому рівень естрадіолу достовірно не змінювався.

На нашу думку, збільшення вмісту Тс в сироватці крові старих тварин на тлі використання різних режимів ритмічного екстремального охолодження фізіологічно доцільно, оскільки статеві гормони в старіючому організмі мають виражену анаболічну активність. Впливаючи на генетичний апарат клітини, вони підсилюють в ній біосинтез білків, впливають на обмін ліпідів, підвищують споживання кисню в присутності тиреоїдних гормонів. Таким чином, застосування РЕХВ особливо з використанням температурних режимів (-120°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -120°C ; -120°C) створювало сприятливі умови для відновлення гормонсинтезуючої здатності щитоподібної і статевих залоз старих щурів. У сироватці крові збільшувалася концентрація гормонів щитоподібної залози і гормону «адаптації» ДГЕАС, а зниження рівня кортикостерону на різних етапах РЕХВ (після 3-го, 6-го і 9-го сеансу охолодження) може пояснюватися компенсаторною реакцією на зростання ДГЕАС.

Можна припустити, що використання РЕХВ в зазначених температурних режимах, сприяє зміні чутливості органів мішеней до регуляторної дії гормонів,

тим самим істотно підвищуючи активність функціональних систем старіючого організму, наближаючи їх до рівня молодих тварин.

Таблиця 4.2

Рівень гормонів в сироватці крові старих тварин до і після застосування різних режимів РЕХВ

Група тварин	T ₃ , нмоль/л	T ₄ , нмоль/л	T _с , нмоль/л	Ес, нмоль/л	ДГЕАС, нмоль/л	Кортикост., нг/мл
Контроль	1,00±0	31,00±2,6	2,05±0,65	0,25±0,05	2,17±0,38	168,45±3,85
Режим РЕХВ (-120°C; -120°C; -120°C)						
3 сеанса	1,5±0,10*	51,55±1,85*	2,5±0,3	0,25±0,05	4,35±0,45*	158,20±1,00*
6 сеансів	1,45±0,15*	58,25±10,15*	2,1±0,4	0,2±0	4,30±0,60*	140,30±2,10*
9 сеансів	1,9±0,20*	60,35±2,05*	4,05±0,4*	0,15±0,05	4,65±0,45*	131,00±7,00*
тиждень після РЕХВ	1,4±0,20*	44,5±1,5*	7,1±0,8*	0,25±0,05	3,95±0,15*	173,00±3,00
місяць після РЕХВ	1,30±0,20*	47,00±5,30*	6,10±0,2*	0,20±0	4,05±0,15*	164,8±1,10
Режим РЕХВ (-60°C; -120°C; -120°C)						
3 сеанса	1,55±0,1*	43,55±1,95*	2,4±0,3	0,25±0,05	3,85±0,35*	154±1,23*
6 сеансів	1,43±0,15*	45,5±1,85*	2,6±0,4	0,15±0,03	4,2±0,4*	148±2,3*
9 сеансів	1,88±0,18*	56,33±4,35*	3,13±0,67*	0,20±0	3,90±0,22*	156,4±7,58*
тиждень після РЕХВ	1,38±0,09*	53,70±3,86*	6,30±1,07*	0,15±0,03	3,98±0,10*	171,6±3,20
місяць після РЕХВ	1,30±0,09*	49,93±2,85*	6,65±1,04*	0,13±0,03	3,35±0,18*	176,53±4,05
Режим РЕХВ (-60°C; -60°C; -60°C)						
9 сеансів	1,13±0,06*	46,50±2,87*	3,00±0,67*	0,18±0,03	4,35±0,26*	154,7±5,75*
тиждень після РЕХВ	1,20±0,10*	48,55±1,95*	3,50±0,90*	0,20±0,00	4,00±0,10*	175,25±2,65
місяць після РЕХВ	1,15±0,05*	48,48±1,96*	4,45±0,39*	0,15±0,03	3,43±0,37*	170,53±7,68

Примітка: * – статистично значущі відмінності від групи контролю, $p \leq 0,05$.

4.2. Оцінка ліпідного профілю сироватки крові молодих і старих щурів під впливом різних режимів ритмічного екстремального охолодження

Регуляція енергетичних процесів в організмі здійснюється через симпатичну нервову систему шляхом активації ферментів, які каталізують ліполіз [280, 281]. Переважання одного з джерел енергії диктується станом організму і необхідністю його адаптації при порушенні гомеостазу [266, 279]. Зміни вмісту ліпідів дозволяють оцінити діяльність відповідних регуляторних систем і їх ефективність в кожному конкретному випадку.

Не викликає сумніву той факт, що ліпіди відіграють важливу роль в життєдіяльності як людини, так і тварин, оскільки дисліпідемія є фактором ризику, який визначає наявність і ступінь тяжкості ряду захворювань [315]. Згідно зі статистичними даними порушення ліпідного обміну у людей з серцево-судинною патологією зустрічаються в 40–85% випадків [266, 278].

При тривалій дії на організм низьких температур виникає гострий холодний стрес, який супроводжується виникненням гіпоксії, виснаженням резервів вуглеводів, мобілізацією тригліцеридів з жирових депо і як наслідок розвитком гіперліпідемії. Відбувається переключення з вуглеводного на ліпідний тип енергозабезпечення клітини.

Встановлено (табл. 4.3), що використання РЕХВ в температурних режимах (-120°C ; -120°C ; -120°C), (-60°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -60°C ; -60°C) призводило до змін ліпідного складу сироватки крові молодих щурів.

Так застосування режиму РЕХВ (-120°C ; -120°C ; -120°C) супроводжувалося достовірним збільшенням рівня ЗХ, ТГ, ХСЛПНЩ і відповідно КА після 3-ої, 6-ої і 9-ої процедури охолодження (табл. 4.3).

Розвиток гіперліпідемії у відповідь на холодові впливи можливо обумовлений компенсаторною реакцією організму молодих тварин, що пов'язана з необхідністю додаткового енергоутворення в клітинах за рахунок ліпідів. У віддалені терміни спостережень (через тиждень і місяць після РЕХВ) вміст даних

фракцій ліпідів знижувався і відповідав показникам контролю. При цьому рівень ХСЛПВЩ, ХСЛПДНЩ на всіх етапах експериментальних досліджень не змінювався.

Таблиця 4.3

Ліпідний профіль сироватки крові молодих щурів до і після застосування різних режимів РЕХВ

Група тварин	ЗХ ммоль/л	ХСЛПВЩ ммоль/л	ТГ ммоль/л	ХСЛПНЩ ммоль/л	ХСЛПДНЩ ммоль/л	КА
Контроль	4,41±0,29	1,77±0,11	0,64±0,02	2,34±0,21	0,3±0,01	1,49±0,09
Режим РЕХВ (-120°C; -120°C; -120°C)						
3 сеанса	5,95±0,16*	1,45±0,08	1,25±0,22*	3,88±0,34*	0,45±0,06	3,25±0,32*
6 сеансів	6,12±1,2*	1,32±0,12	1,3±0,24*	4,22±0,25*	0,35±0,1	3,43±0,4*
9 сеансів	6,75±0,13*	1,21±0,19	1,22±0,29*	4,98±0,20*	0,49±0,13	3,83±0,35*
тиждень після РЕХВ	4,19±1,71	1,35±0,10	0,78±0,09	2,48±1,59	0,36±0,05	1,77±1,06
місяць після РЕХВ	3,68±0,18	1,14±0,02	0,66±0,02	1,38±0,14	0,3±0,01	1,09±0,35
Режим РЕХВ (-60°C; -120°C; -120°C)						
3 сеанса	5,36±1,43	1,52±0,20	0,70±0,02	2,51±1,31	0,32±0,01	2,16±0,82
6 сеансів	6,68±1,31*	1,55±0,26	0,89±0,07*	4,69±1,09*	0,38±0,03	2,98±0,67*
9 сеансів	4,15±1,06	1,25±0,05	0,80±0,03	2,55±1,07	0,35±0,01	1,93±0,83
тиждень після РЕХВ	3,91±0,31	1,40±0,16	0,82±0,17	2,13±0,08	0,38±0,08	1,79±0,09
місяць після РЕХВ	4,13±0,76	1,66±0,05	0,81±0,05	2,07±0,77	0,40±0,03	1,51±0,51
Режим РЕХВ (-60°C; -60°C; -60°C)						
9 сеансів	5,38±0,38	1,71±0,21	0,82±0,09	3,26±0,26	0,37±0,03	2,34±0,66
тиждень після РЕХВ	3,21±0,39	1,96±0,11	0,71±0,03	2,23±0,49	0,33±0,02	1,65±0,29
місяць після РЕХВ	3,91±0,16	1,18±0,02	0,74±0,02	2,29±0,15	0,34±0,01	1,89±0,3

Примітка: * – статистично значущі відмінності від групи контролю, $p \leq 0,05$.

Використання режиму РЕХВ (-60°C ; -120°C ; -120°C) надавало більш «м'який» вплив на ліпідний профіль сироватки крові молодих щурів. Статистично значуще підвищення концентрації ЗХ, ТГ, ХСЛПНЩ і КА мало місце тільки після 6 сеансів РЕХВ (табл. 4.3). На наступну добу, через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження показники ліпідогамми відповідали контрольним значенням.

Можна припустити, що застосування РЕХВ в даному температурному режимі не викликає виражених стресових реакцій організму молодих тварин у вигляді гіперліпідемії.

Проведення 9 процедур РЕХВ в режимі (-60°C ; -60°C ; -60°C) практично не впливало на рівень ліпідів в сироватці крові молодих щурів.

Таким чином, РЕХВ по-різному змінюють ліпідний профіль сироватки крові молодих тварин в залежності від температурного режиму і кількості впливів. Режим (-120°C ; -120°C ; -120°C) досить «агресивний» як на початкових етапах досліджень, так і у віддалені терміни спостережень, оскільки викликає стресову гіперліпідемію з подальшим зниженням рівня атерогенних фракцій ліпідів. На цьому тлі режим (-60°C ; -120°C ; -120°C) надає більш «м'яку» дію на ліпідний профіль сироватки крові, оскільки не супроводжується вираженою стресовою реакцією організму у вигляді гіперліпідемії.

З віком вміст ліпідів і їх співвідношення в організмі змінюється. В процесі старіння відбувається уповільнення загального метаболізму, накопичення жирів в органах і тканинах за рахунок збільшення концентрації ЗХ і ТГ. У наших дослідженнях встановлено, що у старих інтактних щурів рівень ЗХ, ХСЛПНЩ і КА істотно підвищувався в порівнянні з молодими.

Ми припустили, що використання РЕХВ здатне привести до нормалізації ліпідного профілю у старих тварин, ступінь якої може залежати від обраного температурного режиму охолодження.

Так застосування РЕХВ в температурному режимі (-120°C ; -120°C ; -120°C) (табл. 4.4) супроводжувалося зниженням вмісту в сироватці крові ЗХ, ТГ і

практично всіх фракцій ліпопротеїнів, як після 3-го, 6-го і 9-го сеансу, так і через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження. Однак співвідношення корисних фракцій ліпідів і атерогенних було неоднозначно, оскільки рівень ХСЛПВЩ («корисного» холестерину) також зменшувався. Такі зміни ліпідогамми у старих щурів можуть свідчити про використання ліпідів як джерела енергії, а оскільки з віком печінка в меншій мірі бере участь в загальному метаболізмі, то і транспортна роль ХСЛПВЩ також знижується.

У старих тварин, які охолоджувалися при використанні температурного режиму (-60°C ; -120°C ; -120°C) (табл. 4.4), рівень ЗХ, ХСЛПНЩ і КА в сироватці крові статистично значуще знижувався щодо показників контролю в усі терміни експериментальних досліджень (після 3-го, 6-го, 9-го сеансу, а також через тиждень і місяць після останньої процедури РЕХВ). При цьому на відміну від попереднього режиму, вміст ТГ та ХСЛПВЩ достовірно не змінювався.

Можна припустити, що застосування РЕХВ в даному температурному режимі призводить до активізації метаболічних процесів в печінці, оскільки співвідношення корисних фракцій ліпідів і атерогенних наближається до нормоліпідемії, а концентрація ліпідів в сироватці крові і їх баланс практично відповідали показникам молодих контрольних тварин.

Після застосування режиму РЕХВ (-60°C ; -60°C ; -60°C) в сироватці крові старих щурів спостерігалось статистично значуще зниження рівня ЗХ, ТГ і ХСЛПНЩ в усі терміни досліджень (табл. 4.4). На цьому тлі також відзначалось зменшення вмісту ХСЛПВЩ («корисного» холестерину), в результаті чого КА залишався підвищеним.

Можна зробити висновок, що описаний температурний режим за характером змін ліпідного профілю сироватки крові старих щурів можна порівняти з режимом (-120°C ; -120°C ; -120°C), оскільки дані ліпідогамми свідчать про використання ліпідів як джерела енергії при охолодженні, без активації печінкового метаболізму.

Таблиця 4.4

Ліпідний профіль сироватки крові старих щурів до і після застосування
різних режимів РЕХВ

Група тварин	ЗХ ммоль/л	ХСЛПВЩ ммоль/л	ТГ ммоль/л	ХСЛПНЩ ммоль/л	ХСЛПДНЩ ммоль/л	КА
Контроль	6,56±0,66	1,46±0,01	0,70±0,07	4,79±0,63	0,32±0,03	3,51±0,47
Режим РЕХВ (–120°С; –120°С; –120°С)						
3сеанса	2,98±0,02*	0,93±0,02*	0,53±0,01*	1,71±0,08*	0,34±0,01	1,49±0,06*
6 сеансів	3,30±0,10*	0,67±0,04*	0,57±0,04*	2,37±0,15*	0,26±0,01	1,20±0,4*
9 сеансів	3,08±0,12*	1,00±0,05*	0,44±0,08*	1,88±0,03*	0,20±0,04	1,69±0,09*
тиждень після РЕХВ	3,10±0,10*	0,82±0*	0,57±0,03*	1,64±0,09*	0,26±0,01	1,15±0,06*
місяць після РЕХВ	3,65±0,05*	0,98±0,04*	0,58±0,04*	2,40±0,10*	0,26±0,02	2,18±0,21
Режим РЕХВ (–60°С; –120°С; –120°С)						
3сеанса	3,95±0,18*	1,43±0,05	0,68±0,05	2,5±0,4*	0,33±0,07	1,81±0,4*
6 сеансів	3,54±0,3*	1,31±0,12	0,57±0,09	2,18±0,38*	0,28±0,05	1,44±0,34*
9 сеансів	3,79±0,25*	1,23±0,14	0,64±0,04	2,26±0,34*	0,29±0,02	1,73±0,47*
тиждень після РЕХВ	2,51±0,10*	1,21±0,08	0,51±0,08	1,46±0,13*	0,24±0,03	1,61±0,28*
місяць після РЕХВ	3,27±0,16*	1,24±0,09	0,69±0,02	2,01±0,22*	0,32±0,01	1,92±0,39*
Режим РЕХВ (–60°С; –60°С; –60°С)						
9 сеансів	2,36±0,08*	0,69±0,18*	0,54±0,05*	1,37±0,16*	0,30±0,02	2,17±0,79
тиждень після РЕХВ	3,17±0,09*	0,81±0,06*	0,58±0,02*	2,09±0,14*	0,27±0,01	2,31±0,33
місяць після РЕХВ	3,16±0,13*	0,9±0,23*	0,56±0,04*	1,81±0,29*	0,26±0,02	2,82±0,61

Примітка: * – статистично значущі відмінності від групи контролю, $p \leq 0,05$.

Таким чином, в проведених експериментальних дослідженнях встановлено, що температурні режими РЕХВ (–120°С; –120°С; –120°С) і (–60°С; –120°С; –120°С) є найбільш сприятливими для тиреоїдної та статеві системи організму

молодих тварин в порівнянні з режимом (-60°C ; -60°C ; -60°C). Використання PEXB в описаних температурних режимах сприяє підтримці необхідної концентрації в крові гормонів щитоподібної залози, збільшує функціональну активність андрогенів, що необхідно для нормального розвитку організму в період дозрівання.

Застосування PEXB особливо в температурних режимах (-120°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -120°C ; -120°C) призводило до відновлення гормонсинтезуючої здатності щитоподібної і статевих залоз, тим самим істотно підвищуючи активність функціональних систем старіючого організму, наближаючи їх до рівня молодих тварин.

Показано, що PEXB по-різному впливають на ліпідний профіль сироватки крові молодих і старих щурів в залежності від температурного режиму і кількості впливів. У молодих тварин режим (-120°C ; -120°C ; -120°C) на початкових етапах викликає гіперліпідемію з подальшим зниженням рівня атерогенних фракцій ліпідів. На цьому тлі режим (-60°C ; -120°C ; -120°C) надає більш «м'яку» дію на ліпідний профіль сироватки крові, оскільки не супроводжується вираженою стресовою реакцією організму у вигляді гіперліпідемії. У старих тварин тільки режим охолодження (-60°C ; -120°C ; -120°C) призводить до нормалізації співвідношення корисних фракцій ліпідів і атерогенних (нормоліпідемія), а концентрація ліпідів в сироватці крові і їх баланс практично відповідають показникам молодих контрольних тварин.

Можна зробити висновок, що температурний режим PEXB (-60°C ; -120°C ; -120°C) є найбільш оптимальним для старих тварин, так як його використання супроводжувалось відновленням гормонсинтезуючої здатності щитоподібної і статевих залоз, а також активацією метаболічних процесів в печінці і досягненням нормоліпідемії.

За матеріалами розділу 4 опубліковані роботи [349, 350, 351].

РОЗДІЛ 5

ВПЛИВ РІЗНИХ РЕЖИМІВ РИТМІЧНОГО ЕКСТРЕМАЛЬНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ В ТКАНИНАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ

Гомеостаз або сталість основних фізіологічних функцій організму включає механізми адаптації та координації фізіологічних процесів, що забезпечують єдність організму не тільки в нормі, але і при змінливих умовах його існування. Ця стабільна система здійснює активний пошук найбільш оптимального стану організму, що виражається в адаптації, котра регулюється декількома взаємодіючими між собою керуючими системами.

Однією з систем, яка активно впливає на гомеостаз, є неферментативне перекисне окислення ліпідів (ПОЛ), що виступає як універсальний модифікатор і важливий фізіологічний регулятор метаболічних процесів і функції клітин [352, 353]. Вільнорадикальне окислення ліпідів в клітинах супроводжується утворенням активних форм кисню, ненасичених жирних кислот, гидропероксидів, альдегідів, кетонів і торкається багатьох сторін процесів розвитку старіння і загибелі організму тварин і людини. Було встановлено, що підвищена кількість активних форм кисню веде до патофізіологічних механізмів деструкції клітинних мембран і загибелі клітин [354, 355, 356, 357, 358, 359].

При цьому клітини організму мають у своєму розпорядженні ефективний «набор» різноманітних захисних механізмів, які протидіють активації ПОЛ. У стані, коли механізми антиоксидантної системи ефективно функціонують, показником інтенсивності ПОЛ є швидкість витрачання антиоксидантних резервів. Отже, визначати ступінь порушення життєдіяльності можна за допомогою обліку компонентів окисного гомеостазу в їх взаємодії – стан оксидантно–антиоксидантної рівноваги.

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 [360, 361].

Особливий інтерес до ПОЛ і систем, його контролюючих, викликаний однією з існуючих теорій старіння організму, згідно з якою збільшення інтенсивності процесів ПОЛ розглядається в якості основної причини пошкодження мембран і загибелі клітин [362]. У літньому віці клітини організму менш ефективно протидіють активації ПОЛ, що пов'язано, вочевидь, з пригніченням активності антиоксидантної системи.

Головний мозок особливо чутливий до вільнорадикальних процесів, оскільки містить велику кількість субстрату для активації ПОЛ і низьку кількість вітаміну А, каталази і церулоплазміну, що є природними антиоксидантами [363]. Швидкість окислення системою Fe^{2+} – аскорбат в гомогенаті тканин мозку значно більше, ніж у внутрішніх органах, і як наслідок зміст малонового діальдегіду (МДА) досягає високих значень [364].

У старіючому організмі, як правило, придушення інтенсивності ПОЛ лімітується зниженням активності центральних стрес–систем, до яких відноситься ГАМК–ергічна гальмівна система, що володіє як пре–, так і постсинаптичною гальмівною дією. Метаболіт цієї системи – гамма–оксималяна кислота – в нормальних умовах, впливаючи на центри регуляції вегетативної нервової та ендокринної систем, здатна істотно обмежувати продукцію стрес–реалізуючих систем. З огляду на здатність ГАМК проникати через гематоенцефалічний бар'єр, її властивості можна використовувати для зменшення активації ПОЛ [365] і, таким чином, зменшити ступінь небезпеки пошкодження органів і загибелі клітин, а в кінцевому рахунку, збільшити можливості виживання організму в умовах виснаження.

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

Утворений в процесі ПОЛ малоновий альдегід є мутагеном і має виражену цитотоксичність [360, 361]. Модифікуючий ефект вторинних та третинних продуктів ПОЛ реалізується вазоконстрикцією артеріол і підвищенням загального периферичного опору [367].

У зв'язку з цим, на нашу думку, перспективним шляхом для нормалізації функціонального стану організму є застосування різних температурних режимів РЕХВ з урахуванням його індивідуальних та вікових особливостей. Такий підхід є надзвичайно актуальним для корекції порушень функціональних систем старіючого організму, коли рівень компенсаторних реакцій стає вельми індивідуальним.

РЕХВ можуть індукувати в організмі систему ПОЛ, змінюючи співвідношення прооксидантно–антиоксидантної рівноваги, збільшуючи кількість активних продуктів ПОЛ, які, виступаючи як фактор неблагополуччя, з іншого боку, запускають ланцюг реакцій в організмі, що формують загальну адаптаційну реакцію.

Тому на наступному етапі експериментальних досліджень нами було вивчено вплив різних режимів ритмічного екстремального охолодження на інтенсивність процесів ПОЛ в тканинах головного мозку щурів різних вікових груп.

Результати експериментів показали, що у молодих щурів на наступну добу після застосування 9 сеансів РЕХВ при температурному режимі (-120°C ; -120°C ; -120°C) рівень МДА в тканинах головного мозку значуще не змінювався ні в

одній з трьох досліджених реакціях ПОЛ (вихідній, індукованій та спонтанній) (рис. 5.1).

При цьому через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження (рис. 5.1) вміст МДА в тканинах головного мозку молодих тварин у вихідній реакції ПОЛ значуще знижувався по відношенню до показників контролю (в 3,5 рази).

У присутності прооксидантів (солі Мора та аскорбінової кислоти) (індуковане ПОЛ) і в їх відсутності (спонтанне ПОЛ) процес ПОЛ в мозковій тканині щурів також характеризувався статистично нижчими показниками МДА в порівнянні з контрольними тваринами. Рівень МДА знижувався в 1,1 і 1,4 рази у індукованій та в 1,2 і 1,5 рази у спонтанній реакціях ПОЛ.

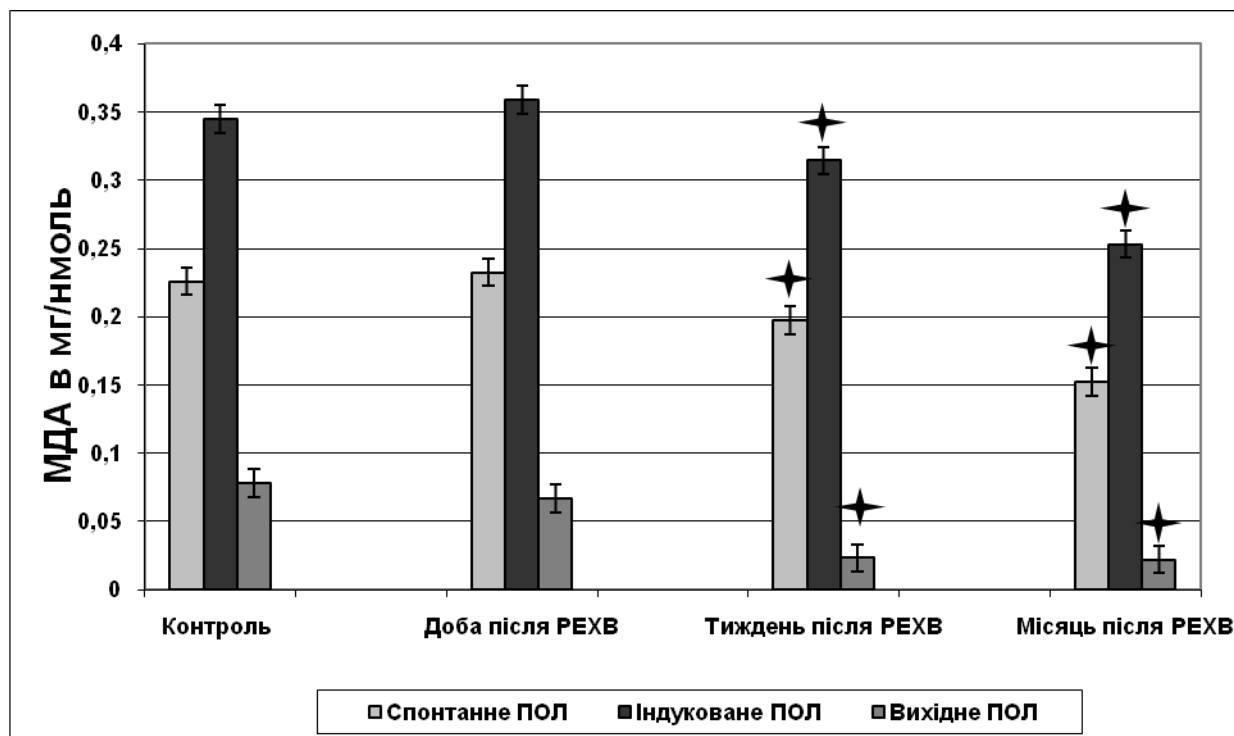


Рис. 5.1. Рівень МДА в тканинах головного мозку молодих щурів на наступну добу, через тиждень і місяць після 9 сеансів РЕХВ при температурі (-120°C ; -120°C ; -120°C).

Примітка: * – статистично значущі відмінності від контрольних показників ($p \leq 0,05$).

Схожа динаміка змін вмісту МДА в тканинах головного мозку молодих щурів спостерігалася нами на тлі використання РЕХВ в температурному режимі

(-60°C ; -120°C ; -120°C) (рис. 5.2). Мало місце статистично значуще зменшення рівня МДА в усіх досліджуваних реакціях ПОЛ (вихідна, індукована та спонтанна). Проте на відміну від попереднього режиму через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження, в порівнянні з контрольними тваринами, вміст МДА в тканинах головного мозку зменшувався в 2,5 і 3,5 рази у вихідній, в 1,4 і 1,6 рази у індукованій та в 1,5 і 2 рази у спонтанній реакціях ПОЛ (рис. 5.2).

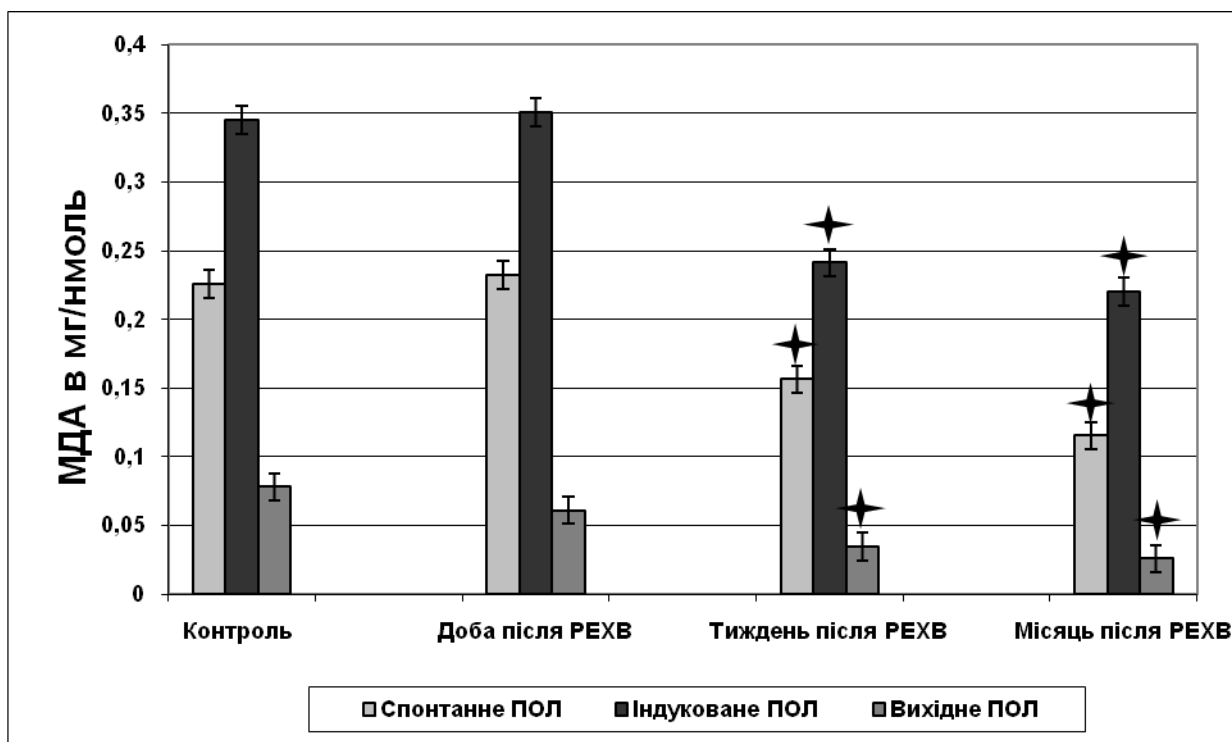


Рис. 5.2. Рівень МДА в тканинах головного мозку молодих щурів на наступну добу, через тиждень і місяць після 9 сеансів РЕХВ при температурі (-60°C ; -120°C ; -120°C).

Примітка: * – статистично значущі відмінності від контрольних показників ($p \leq 0,05$).

Застосування 9 сеансів РЕХВ в температурному режимі (-60°C ; -60°C ; -60°C) не супроводжувалось значущими змінами інтенсивності процесів ПОЛ в тканинах головного мозку молодих щурів (рис. 5.3). Рівень МДА у вихідній, індукованій та спонтанній реакціях ПОЛ практично відповідав показникам контролю.

Таким чином, в проведених дослідженнях встановлено, що температурні режими РЕХВ (-120°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -120°C ; -120°C) є найбільш

сприятливими для молодих тварин оскільки на відміну від режиму (-60°C ; -60°C ; -60°C) проявляють виражені антиоксидантні властивості, активізуючи систему антиоксидантного захисту, яка стримує надмірний прояв прооксидантних факторів.

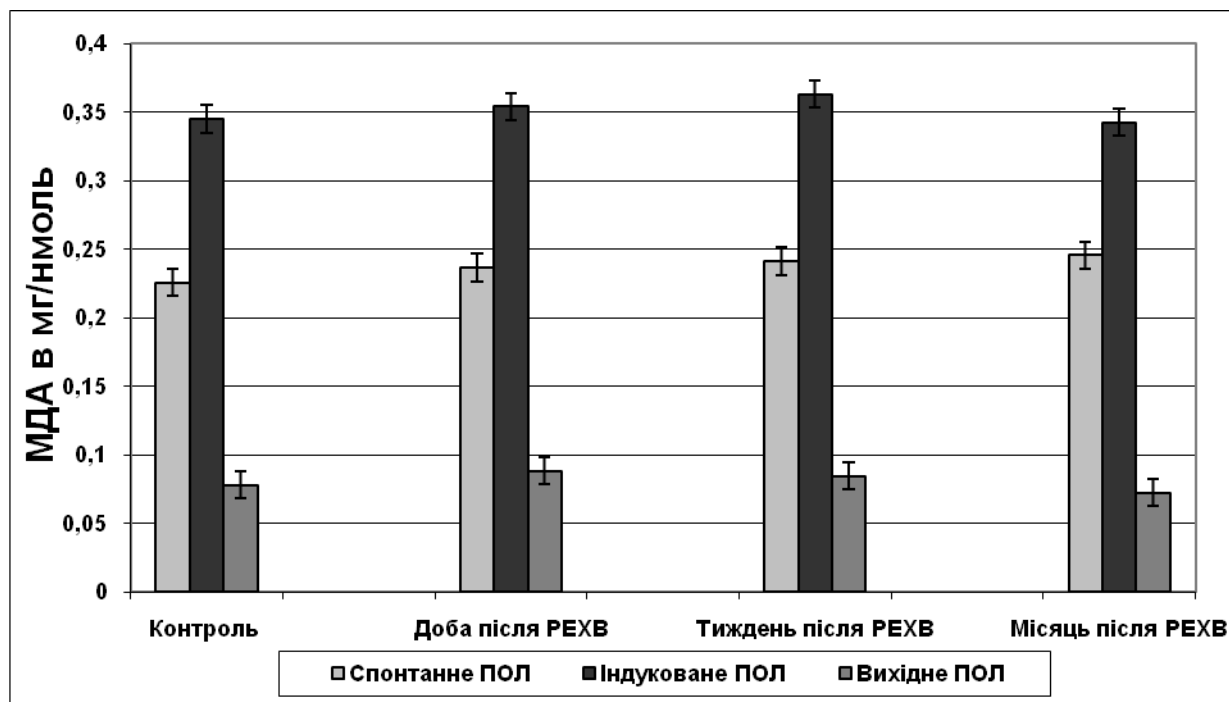


Рис. 5.3. Рівень МДА в тканинах головного мозку молодих щурів на наступну добу, через тиждень і місяць після 9 сеансів РЕХВ при температурі (-60°C ; -60°C ; -60°C).

Встановлено, що в групі старих інтактних щурів вміст МДА в тканинах головного мозку збільшувався в порівнянні з молодими (рис. 5.4), що свідчило про інтенсифікацію процесів ПОЛ.

Виявлена нами інтенсифікація процесів ПОЛ (за рівнем МДА) в тканинах головного мозку старих тварин (в порівнянні з молодими) може свідчити про зниження в них антиоксидантної системи захисту. Подібні зміни інтенсивності ПОЛ можуть бути одним з чинників ушкодження головного мозку і спричиняти порушення мозкового кровообігу і різних ланок метаболізму нервової тканини, що підтверджується рядом робіт [368, 369].

Крім того, отримані дані підтверджують одну з існуючих теорій старіння організму, відповідно до якої підвищення рівня МДА, як одного з продуктів ПОЛ,

є причиною зношування і пошкодження клітинних мембран і клітин в цілому [370].

На наступну добу і через тиждень після застосування 9 сеансів РЕХВ при температурному режимі (-120°C ; -120°C ; -120°C) в тканинах головного мозку старих тварин зазначалося статистично значуще збільшення швидкості накопичення МДА в індукованій реакції ПОЛ (рис. 5.4), а через місяць після останньої процедури охолодження дані показники відповідали контрольним значенням. У той же час вміст МДА в спонтанній і вихідній реакціях ПОЛ достовірно не змінювався в усі терміни експериментальних досліджень.

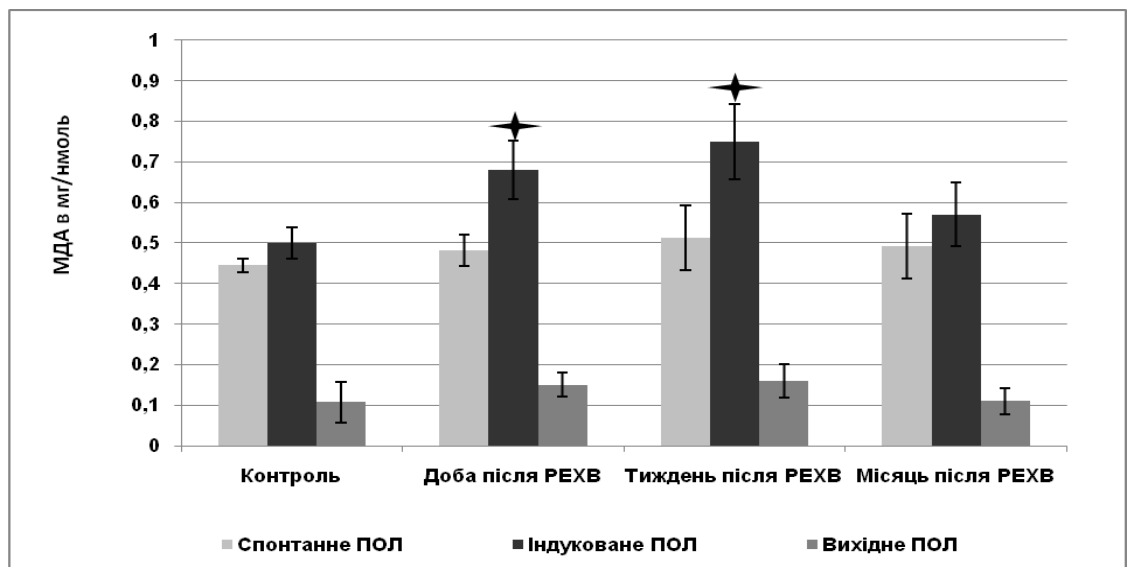


Рис. 5.4. Рівень МДА в тканинах головного мозку старих щурів на наступну добу, через тиждень і місяць після 9 сеансів РЕХВ при температурі (-120°C ; -120°C ; -120°C).

Примітка: * – статистично значущі відмінності від контрольних показників ($p \leq 0,05$).

У старих тварин, використання 9 сеансів РЕХВ в температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C) супроводжувалося найбільш вираженими змінами швидкості накопичення МДА в тканинах головного мозку (рис. 5.5). На наступну добу після останньої процедури охолодження (рис. 5.5), в порівнянні з контрольними показниками, спостерігалось статистично значуще збільшення рівня МДА у спонтанній і індукованій реакціях ПОЛ (на 49%).

Через тиждень після РЕХВ дана динаміка зростання зберігалася, причому швидкість накопичення МДА в вихідній і індукованій реакціях ПОЛ, в порівнянні з контролем, підвищувалася на 74 і 62% відповідно. Через місяць після 9 сеансів РЕХВ, в присутності прооксидантів і в їх відсутності, процес ПОЛ характеризувався значним зниженням рівня МДА в тканинах головного мозку (на 41 і 49% відповідно). При цьому вміст МДА у вихідній реакції ПОЛ достовірно не відрізнявся від показників інтактних щурів.

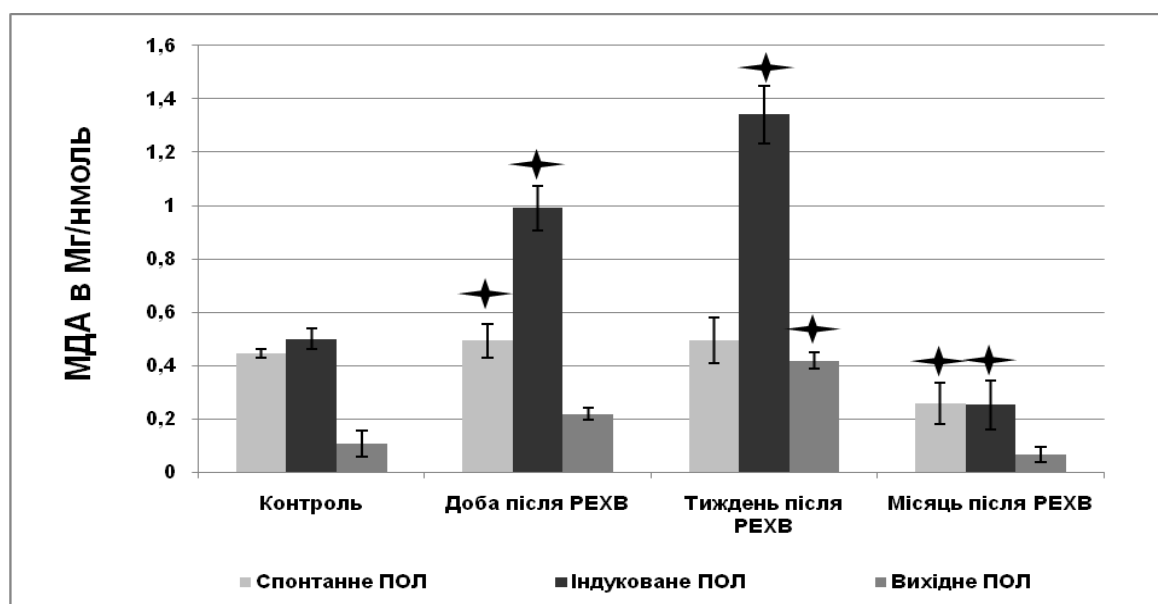


Рис. 5.5. Рівень МДА в тканинах головного мозку старих щурів на наступну добу, через тиждень і місяць після 9 сеансів РЕХВ при температурі (-60°C ; -120°C ; -120°C).

Примітка: * – статистично значущі відмінності від контрольних показників ($p \leq 0,05$).

Можна припустити, що даний температурний режим РЕХВ надає найбільш виражений позитивний вплив на інтенсивність процесів ПОЛ в тканинах головного мозку старих щурів через місяць після останньої процедури охолодження, оскільки дозволяє нормалізувати прооксидантно–антиоксидантний баланс, за рахунок підвищення антиоксидантного захисту тканин головного мозку.

У старих щурів застосування РЕХВ в температурному режимі (-60°C ; -60°C ; -60°C), як і у молодих не впливало на інтенсивність процесів ПОЛ в

тканинах головного мозку (рис. 5.6). Рівень МДА в спонтанній, індукованій та вихідній реакціях ПОЛ статистично значуще не змінювався в порівнянні з інтактними тваринами.

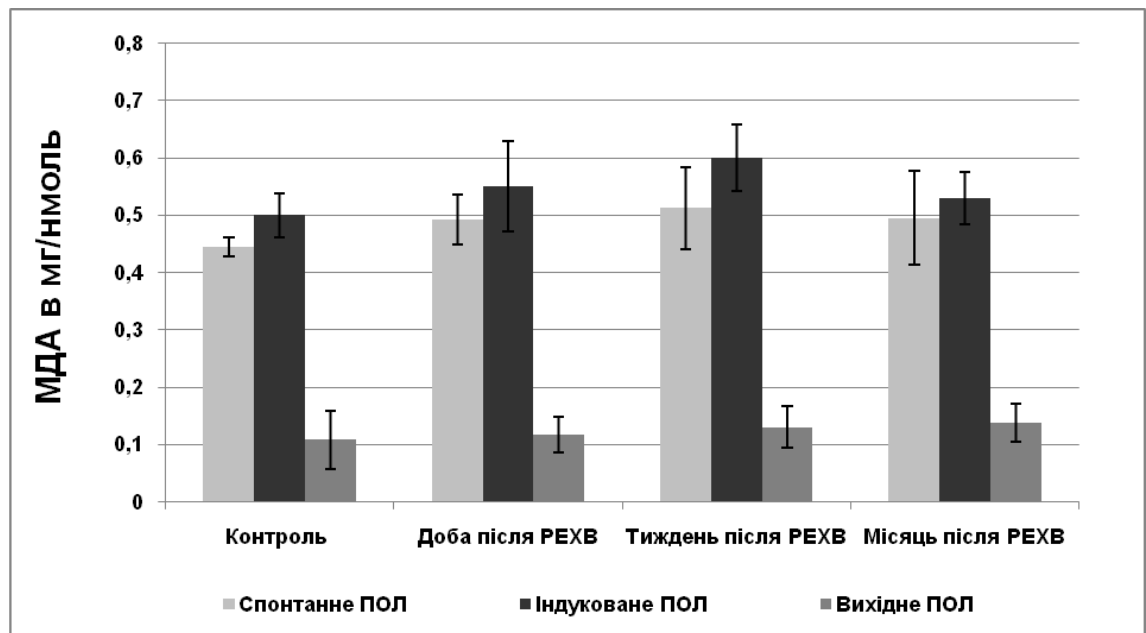


Рис. 5.6. Рівень МДА в тканинах головного мозку старих щурів на наступну добу, через тиждень і місяць після 9 сеансів РЕХВ при температурі (-60°C ; -60°C ; -60°C).

Аналізуючи отримані експериментальні дані можна зробити висновок, що температурний режим РЕХВ (-60°C ; -120°C ; -120°C) на початкових етапах досліджень збільшував вміст МДА в тканинах головного мозку старих щурів, при цьому на відміну від режиму (-120°C ; -120°C ; -120°C), у відповідь на надмірне накопичення продуктів ПОЛ адекватно активував антиоксидантну систему з метою нормалізації порушеного гомеостазу. Таким чином, даний режим за рахунок використання на першому етапі охолодження температури (-60°C), підвищує адаптаційні можливості літнього організму і дозволяє «підготувати» його до подальшого охолодження при температурі (-120°C).

Отримані результати узгоджуються з даними літератури [371, 372, 373, 374, 375, 376], які підтверджують той факт, що після проведення першої процедури загальної повітряної кріотерапії у відповідь на холодний стрес відбувається активація процесів вільнорадикального окислення, а стимуляція адаптивного

потенціалу організму у вигляді активації антиоксидантного захисту спостерігається лише після 10-го сеансу охолодження.

Підсумовуючи отримані в ході експериментальних досліджень дані можна зробити висновок, що РЕХВ по-різному впливали на інтенсивність процесів ПОЛ в тканинах головного мозку молодих і старих щурів в залежності від температурного режиму. У молодих тварин температурні режими РЕХВ (-120°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -120°C ; -120°C) виявилися найбільш сприятливими, оскільки на відміну від режиму (-60°C ; -60°C ; -60°C) проявляли виражені антиоксидантні властивості, активізуючи систему антиоксидантного захисту. Режим РЕХВ (-60°C ; -120°C ; -120°C) на початкових етапах досліджень збільшував вміст МДА в тканинах головного мозку старих щурів, при цьому на відміну від режиму (-120°C ; -120°C ; -120°C), у відповідь на надмірне накопичення продуктів ПОЛ адекватно активував антиоксидантну систему. Застосування РЕХВ в температурному режимі (-60°C ; -60°C ; -60°C) у тварин незалежно від їх віку не впливало на інтенсивність процесів ПОЛ в тканинах головного мозку.

За матеріалами розділу 5 опубліковано роботи [377, 378].

РОЗДІЛ 6

СУБМІКРОСКОПІЧНІ ПЕРЕБУДОВИ КЛІТИН ГОЛОВНОГО МОЗКУ МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ РИТМІЧНОГО ЕКСТРЕМАЛЬНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ

6.1. Ультрамiкроскопiчна органiзацiя нейронiв i судин кори головного мозку молодих i старих щурiв до та пiсля застосування ритмiчних екстремальних холодкових впливiв при температурному режимi (-60°C ; -120°C ; -120°C)

Електронно–мiкроскопiчне дослiдження нейронiв кори головного мозку молодих контрольних щурiв пiдтвердило наявнiсть в них високої структурно–функцiональної активностi. В нейронах розташовувалося свiтле ядро, заповнене деконденсованим хроматином, ядерна мембрана була чiтко контурована i мiстила дрiбнi вогнища деформацiї. В цитоплазми, були присутнi рiзної форми i розмiрiв мiтохондрiї, якi мали безлiч крист i дрiбно гранулярний матрикс. У препаратах зустрiчалися мiтохондрiї в стадiї подiлу, про що свiдчила їх «гантелевидна» форма i перетяжки.

На мембранах шорсткого ендоплазматичного ретикулуму (ЕПР) розташовувалися численнi рибосоми. В окремих нейронах спостерiгалася гiперплазiя мембран гранулярної ендоплазматичної мережi. Цитоплазма мiстила безлiч вiльних рибосом i полiсом. Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджi був представлений паралельно орiєтованими, зiбраними в стопки, гладкими мембранами, оточеними безлiччю дрiбних везикул, заповнених речовиною рiзної електронної щiльностi. Цитоплазматична мембрана мала типову для цих клiтин структуру i електронну щiльнiсть. В аксоплазми концентрувалися мiтохондрiї рiзної форми i розмiрiв (рис. 6.1). В саркоплазми виявлялися пучки мiкротрубочок.

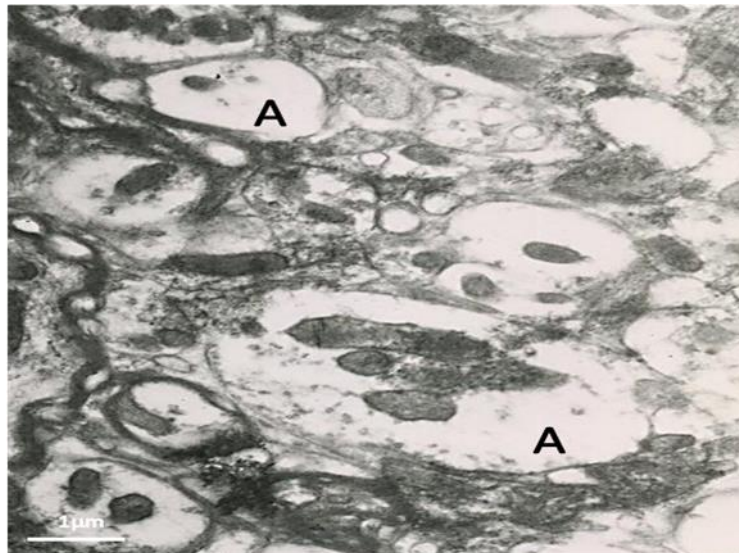


Рис. 6.1. Ультраструктура нейронів кори головного мозку молодих контрольних щурів. Скупчення мітохондрій в аксоплазмі. Контрастовано цитратом свинцю. *Примітка:* А – аксон; М – мітохондрії.

Ендотеліоцити кровоносних капілярів не мали деструкцій внутрішньоклітинних мембран. Ядра ендотеліоцитів містили переважно конденсований хроматин і мали видовжену форму. У цитоплазмі були присутні поодинокі мітохондрії, які містили невелику кількість крист та дрібно гранулярний матрикс, що володів середньою електронною щільністю. Гранулярний ЕПР був розвинений слабо і представлений у вигляді окремих сплюснених цистерн.

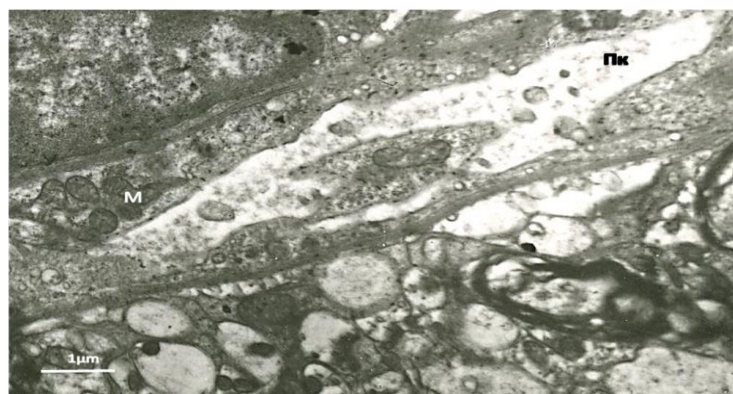


Рис. 6.2. Ультраструктура ендотеліоцитів кровоносних капілярів кори головного мозку молодих контрольних щурів. Незмінені мітохондрії і мікропіноцитозні бульбашки в цитоплазмі. *Примітка:* ПК – просвіт капіляра; М – мітохондрії ендотеліоцита.

В цитоплазмі відростків ендотеліоцитів розташовувалися численні мікропіноцитозні бульбашки. Цитоплазматична мембрана мала дрібні вогнища розпушення. В просвіті кровоносних капілярів виявлялися скупчення дегенеративно змінених мембранних структур (рис. 6.2).

В ультраструктурній організації пірамідних нейронів кори головного мозку молодих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ при температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C), виявлялися гіперпластичні перебудови органел і внутрішньоклітинних мембранних систем. Ступінь їх вираженості свідчила про збільшення синтетичних, метаболічних і репаративних внутрішньоклітинних резервів.

Ядра пірамідних нейронів мали округлу форму. Невелика кількість грудочок конденсованого хроматину концентрувалася переважно на внутрішній поверхні мембрани ядра. У деяких нейронах вони мали вигляд щільного кільця що складається з скупчень осміофільної гранулярної речовини високої електронної щільності. У центральній частині матриксу ядра утворювалися області, заповнені прозорою субстанцією і дифузно розсіяними гранулами деконденсованого хроматину та рибосом (рис. 6.3, А).

Ядерна мембрана володіла середньою електронною щільністю і була помірно потовщена і дрібновогнищево розпушена. Зустрічалися нейрони, ядра яких мали розширені перинуклеарні простори.

У препаратах спостерігалось збільшення кількості різних за розміром мітохондрій, заповнених дрібно гранулярним матриксом середньої електронної щільності. Частина з них містила безліч крист. Виявлялися мітохондрії з електронно-прозорим матриксом і поодинокими кристами.

Більшість мітохондрій, мали округлу і циліндричну форми. Для матриксу була характерна дрібнозерниста структура і середня електронна щільність (рис. 6.3, Б). Іноді виявлялися помірно набряклі мітохондрії, які знаходилися в стадії розподілу та мали «гантелевидну» форму і перетяжки.

У деяких нейронах кори головного мозку цитоплазма в перинуклеарній області містила невелику кількість цитоплазматичних органел і внутрішньоклітинних включень. У цій області цитоплазми розташовувалася аморфна субстанція, що складалась з осміофільної і тонко філаментозної речовини, різної електронної щільності.

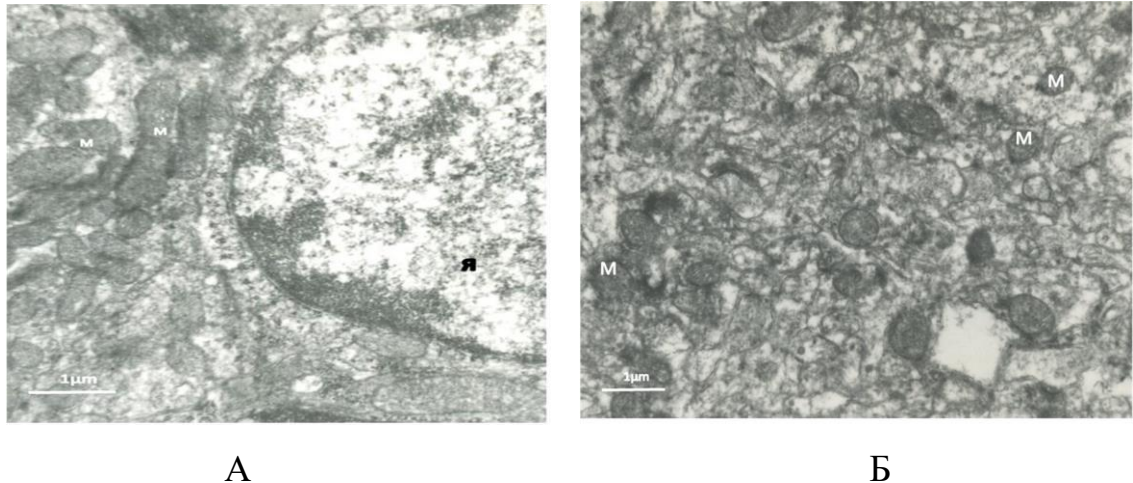


Рис. 6.3. Ультраструктура нейронів кори головного мозку молодих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ: А – дифузно розсіяні гранули деконденсованного хроматину і рибосоми в центральній області матриксу; Б – дрібнозернистий матрикс мітохондрій. *Примітка:* Я – ядро нейрона; М – мітохондрії.

Цистерни шорсткого ЕПР кілька розширювалися і заповнювалися дрібно гранулярною речовиною середньої електронної щільності. На його мембранах виявлялася велика кількість рибосом (рис. 6.4, А).

Мембрани шорсткого ЕПР, що формували тільця Нісля були добре розвинені і набували чітко контурованої структури. У цитоплазмі пірамідних нейронів мали місце мітохондрії з великою кількістю крист, а також спостерігалася істотне збільшення вільних рибосом і полісом.

Зовнішні мембрани мітохондрій мали велику кількість дрібних деформацій і чітко контуровану структуру, властиву елементарної мембрані. Зрідка в цитоплазмі виявлялися дрібні вторинні лізосоми, в структурі яких спостерігалися дегенеративно змінені органели, фрагменти мембранних структур і аморфна субстанція різної електронної щільності.

Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі був помірно гіпертрофований. Його паралельно орієнтовані, зібрані в стопки, гладкі мембрани були оточені великою кількістю дрібних і великих, як електронно–прозорих, так і заповнених дрібно гранулярною субстанцією середньої електронної щільності везикул.

Цитоплазматична мембрана тіла нейронів піддавалася дрібним деформаціям. Вона помірно товщала і володіла підвищеним ступенем осміофільії. Вогнища деструкцій цитоплазматичної мембрани не виявлялися.

На поперечних зрізах аксонів (рис. 6.4, Б), мали місце мітохондрії з кристами, орієнтовані уздовж короткої осі цих органел. Матрикс мітохондрій в більшості випадків був дрібнозернистий і осміофільний.

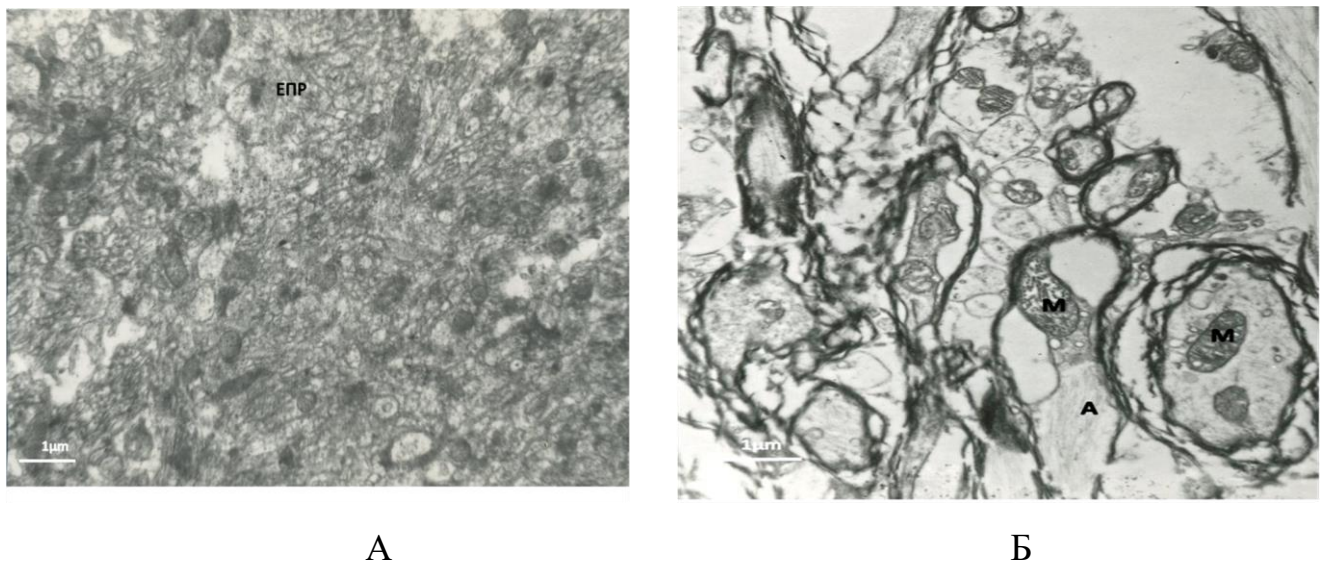


Рис. 6.4. Ультраструктура нейронів кори головного мозку молодих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ: А – помірне розширення цистерн гранулярної ендоплазматичної мережі; Б – на поперечних зрізах аксонів чітко контуровані зовнішні мембрани мітохондрій і численні кристи. *Примітка:* ЕПР – ендоплазматичний ретикулум; М – мітохондрії; А – аксони.

Синаптичні пухирці, рівномірно розподілялися по аксоплазмі. У великій кількості аксонів, аксоплазма мала електронно–прозорий вигляд, в ній були присутні поодинокі мітохондрії, групи синаптичних пухирців і пучки мікротрубочок орієнтованих вздовж напрямку аксонів. Через місяць після 9

сеансів PEXB істотним поліморфним субмікроскопічним перебудовам піддавалися ендотеліоцити кровоносних капілярів кори головного мозку молодих щурів.

Значна кількість ендотеліоцитів, містила ядра неправильної форми. Спостерігались глибокі інвагінації ядерної мембрани і конденсація хроматину, розташованого у вигляді осміофільних грудочок уздовж ядерної оболонки. Центральна частина матриксу ядра виглядала електронно–прозорою. Ядерна мембрана набувала підвищеної електронної щільності, однак при цьому зберігалася її чітко контурована структура.

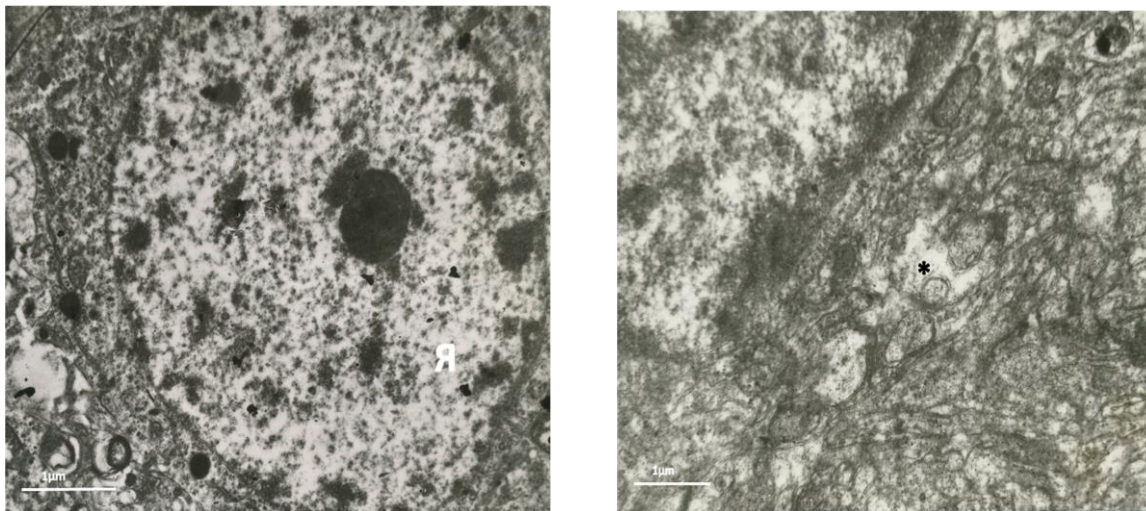
У перинуклеарній області цитоплазми були присутні незмінні дрібні мітохондрії, з помірно просвітленим матриксом. Кристи були вкорочені, нечисленні і локалізувалися, переважно, поблизу зовнішньої мембрани. Вогнища деструкції зовнішніх мембран і крист в мітохондріях не виявлялися.

В групі старих контрольних тварин виявлялися субмікроскопічні зміни пірамідних нейронів кори головного мозку, характерні для розвитку дистрофічного процесу, що супроводжується зниженням функціональної, метаболічної та репаративної активності внутрішньоклітинних процесів.

Ядра нейронів кори головного мозку мали розпушену, гладку, без деформацій, осміофільну ядерну мембрану, яка іноді утворювала глибокі інвагінації. Хроматин перебував, як в деконденсованій, так і в конденсованій формах. Грудочки конденсованого хроматину концентрувалися, як по периферії матриксу ядра, так і були більш–менш рівномірно розсіяні по матриксу. Центральна область зрізу ядра мала електронно–прозорий вигляд. Ядерна мембрана була зруйнована. У цій області матриксу ядра розташовувалися в невеликій кількості гранули деконденсованого хроматину і рибосоми. Окремі ядра пірамідних нейронів містили щільні осміофільні включення (рис. 6.5, А).

Цитоплазма пірамідних нейронів містила невелику кількість мітохондрій, форма і розміри яких варіювали в широких межах. Переважали мітохондрії сферичної форми. Зовнішні мембрани і кристи були не тільки розпушені, але і

зруйновані (рис. 6.5. Б). Кількість крист в мітохондріях істотно зменшувалася, в порівнянні з групою молодих контрольних тварин.



А

Б

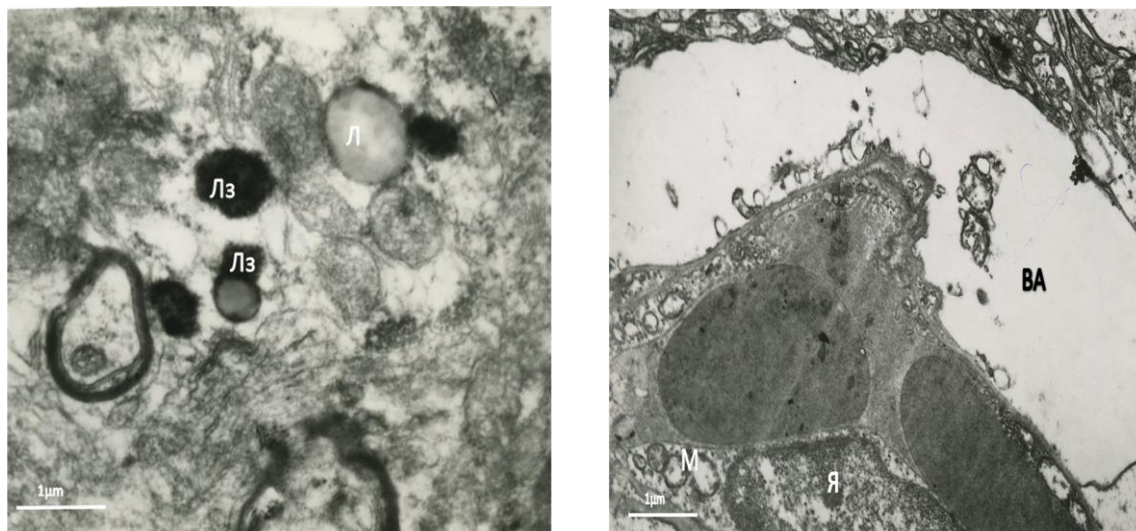
Рис. 6.5. Ультраструктура нейронів кори головного мозку старих контрольних щурів: А – дифузно розсіяні грудочки конденсованого хроматину і осміюфільні вclusions в центральній області матриксу ядра; Б – розпушення зовнішніх мембран і крист мітохондрій, вогнищевий лізис мембран (*).
Примітка: Я – ядро нейрона.

Гіалоплазма нейронів мала низьку електронну щільність, в ній розташовувалася невелика кількість рибосом і полісом.

Гранулярний ендоплазматичний ретикулум був слабо розвинений, його цистерни сильно розширювалися, а на мембранах виявлялося невелике число рибосом. Нерідко зустрічалися осередки розпушення і деструкції мембран. Найчастіше спостерігалася фрагментація мембран гранулярної ендоплазматичної мережі.

Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі був істотно скорочений і представлений невеликою кількістю хаотично орієнтованих, гладких мембран, оточених одиничними великими електронно–прозорими вакуолями. Дуже часто в цитоплазмі виявлялися вclusions ліпідів, ліпофусцину і вторинні лізосоми, що містили конгломерати дегенеративно змінених мембран (рис. 6.6, А).

Аналогічні деструктивні зміни мали місце в ультраструктурній організації ендотеліоцитів кровоносних капілярів (рис. 6.6, Б)



А

Б

Рис. 6.6. Ультраструктура нейронів (А) і ендотеліоцитів (Б) кровоносних капілярів кори головного мозку старих контрольних щурів. А – включення ліпідів і вторинні лізосоми в цитоплазмі; Б – набухання мітохондрій з просвітленням матриксу. *Примітка:* Л – ліпідні включення; Лз – лізосоми; ВА – відростки астроцитів; Я – ядро; М – мітохондрії.

У цитоплазмі ендотеліоцитів спостерігалася істотна вакуолізація цистерн ендоплазматичної мережі з втратою пов'язаних з її мембранами рибосом. Кількість крист в мітохондріях знижувалась, щодо групи молодих контрольних щурів. Мітохондрії знаходились в різних стадіях набухання, що супроводжувалось просвітленням матриксу.

Цитоплазматична мембрана ендотеліоцитів, звернена в просвіт капілярів, була сильно розпушена, осміофільна і мала ділянки руйнування. У просвіті капілярів іноді зустрічалися агрегати еритроцитів. В місці контактів еритроцитів між собою і еритроцитів з цитоплазматичною мембраною ендотеліоцитів спостерігалось розплавлення елементарних мембран. В цитоплазмі відростків ендотеліальних клітин практично були відсутні мікропіноцитозні бульбашки.

Через місяць після застосування 9 сеансів РЕХВ в температурному режимі (–60°C; –120°C; –120°C) у старих тварин спостерігалися помірно виражені

перебудови ультраструктурної організації пірамідних нейронів кори головного мозку.

У цитоплазмі окремих нейронів виявлялися мітохондрії гантелевидної форми з перетяжками, що свідчило про процес їх розподілу. Ядра мали звичайну форму і розміри. Ядерна мембрана була помірно розпушена без вогнищ деструкції. Перинуклеарні простори не розширювалися.

Кілька розширеними залишалися цистерни гранулярної ендоплазматичної мережі. Значно збільшувалася кількість пов'язаних з мембранами гранулярної ендоплазматичної мережі рибосом, а також число вільно лежачих в цитоплазмі полісом і рибосом. Значно зменшувалася кількість вогнищ деструкції мембран шорсткого ЕПР.

У переважної більшості нейронів були відсутні осередки лізису мембран шорсткого ЕПР. Часто виявлялася гіперплазія мембран гранулярної ендоплазматичної мережі.

Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі був помірно гіпертрофований. Зберігалася дезорганізація його гладких мембран, оточених дрібними електронно-прозорими везикулами. В області його локалізації збільшувалася кількість первинних лізосом, а вторинні лізосоми практично були відсутні. У цитоплазмі зменшувалася кількість включень ліпідів і ліпофусцину, з'являлися облямовані везикули (рис. 6.7).

Через місяць після 9 сеансів РЕХВ також істотним субмікроскопічним перебудовам піддавалися кровоносні капіляри кори головного мозку старих щурів.

Значна частина ендотеліоцитів містила мітохондрії з щільною осміофільною зовнішньою мембраною і електронно-щільним матриксом. Найбільша кількість мітохондрій мала перетяжки. У цитоплазмі були присутні численні рибосоми і полісоми, а в цитоплазмі відростків ендотеліоцитів велика кількість мікропіноцитозних бульбашок (рис. 6.8).

Гранулярний ендоплазматичний ретикулум був представлений у вигляді окремих цистерн, заповнених волокнистою субстанцією, яка мала середню електронну щільність. На мембранах шорсткого ЕПР була присутня велика кількість пов'язаних рибосом.

Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі виявлявся у вигляді окремих гладких мембран і електронно–прозорих везикул.



Рис. 6.7. Ультраструктура нейронів кори головного мозку старих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ. Облямовані везикули в цитоплазмі.

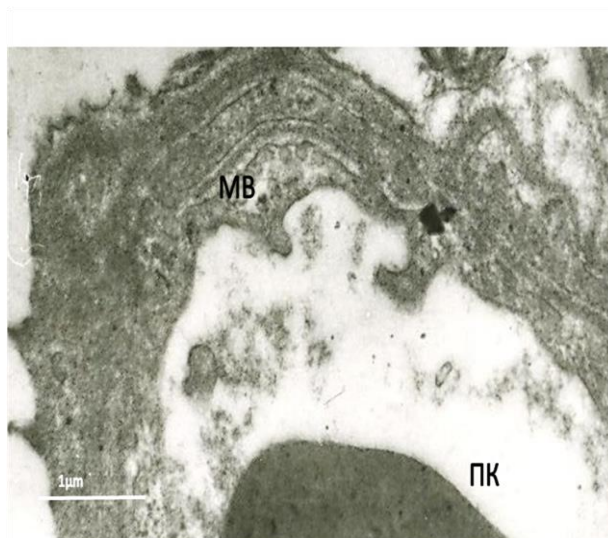


Рис. 6.8. Ультраструктура ендотеліоцитів кровоносних капілярів кори головного мозку старих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ. Збільшення кількості мікропіноцитозних бульбашок в цитоплазмі. *Примітка:* ПК – просвіт капіляра; МВ – мікропіноцитозні везикули.

Таким чином, субмікроскопічна організація пірамідних нейронів і ендотеліоцитів кори головного мозку молодих контрольних щурів свідчила про їх

високу структурно–функціональну активність, що підтверджувалось просвітленням матриксу ядра, в якому переважно містилися гранули деконденсованого хроматину, дрібні вогнища деформації ядерної мембрани. У цитоплазмі виявлявся добре розвинений гранулярний ендоплазматичний ретикулум, з численними, пов'язаними з його мембранами рибосомами. Деструкції внутрішньоклітинних мембранних структур і органел клітин в цій групі тварин практично були відсутні. Електронно–мікроскопічне дослідження пірамідних нейронів і ендотеліоцитів кори головного мозку старих контрольних тварин встановило наявність яскраво виражених дистрофічних і деструктивних змін їх органел. Розвивалися катаболічні процеси.

На наш погляд провідним фактором, який призводить до цих змін, є прогресування мітохондріальної дисфункції, що супроводжується вогнищевим лізисом зовнішніх мембран, набуханням мітохондрій з просвітленням матриксу і зменшенням кількості крист. Спостерігалися порушення структури шорсткого ЕПР. З'являлися вогнища деструкції мембран, що є характерною ознакою різкого зниження синтетичної активності внутрішньоклітинних процесів.

В ультраструктурній організації пірамідних нейронів і ендотеліоцитів кори головного мозку молодих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ при температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C) спостерігалися зміни, що свідчать про помірно виражену активацію біоенергетики, за рахунок збільшення, як числа мітохондрій, так і крист в них. Крім того, підвищення функціонального стану мітохондрій підтверджувалося наявністю в препаратах форм мітохондрій, що діляться. У старих тварин через місяць після використання даного режиму РЕХВ зберігались дистрофічні і деструктивні зміни вікового характеру. Поряд з цим, можна говорити про збільшення функціональної активності нейронів, що структурно проявлялося в гіперплазії мембран шорсткого ЕПР, появі форм мітохондрій, що діляться і збільшенні кількості, як пов'язаних з мембранами рибосом, так і вільних рибосом і полісом в цитоплазмі.

Отримані експериментальні дані свідчать про те, що РЕХВ в зазначеному температурному режимі стимулюють синтетичні, біоенергетичні та метаболічні функції клітин і судин кори головного мозку молодих і старих тварин.

6.2. Ультраструктурні перебудови нейросекреторних клітин гіпоталамуса молодих і старих щурів до та після застосування ритмічних екстремальних холодових впливів при температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C)

Електронно-мікроскопічне дослідження субмікроскопічної архітекtonіки секреторних нейронів гіпоталамуса молодих контрольних щурів, показало повне збереження структури їх мембран і органел.

Ядра нейронів мали округлу форму і центральне розташування в цитоплазмі. Слід зазначити різний ступінь просвітлення матриксу ядра, що ймовірно, пов'язано з неоднаковою активністю внутрішньоклітинних синтетичних процесів. У значної кількості нейронів матрикс ядра мав дрібно гранулярну структуру і середню електронну щільність, створювану дифузно розподіленими гранулами деконденсованого хроматину (рис. 6.9, А).

Ядерна мембрана була гладка, осміофільна і мала чітко контуровану структуру. Перинуклеарні простори мали рівномірну ширину, без вогнищ розширення. Каріолема іноді утворювала численні глибокі і дрібні інвагінації.

У перинуклеарній області цитоплазми нейросекреторних нейронів гіпоталамуса головного мозку молодих контрольних щурів спостерігалася велика кількість внутрішньоклітинних органел. Гіалоплазма була заповнена великою кількістю рибосом і полісом.

Гранулярний ендоплазматичний ретикулум знаходився в метаболічно активному стані, його цистерни представляли собою дрібні сплющені вакуолі, вміст яких мав різну електронну щільність і дрібно гранулярну структуру. На мембранах гранулярної ендоплазматичної мережі виявлялося безліч рибосом. В

окремих секреторних нейронах гіпоталамуса спостерігалася гіперплазія мембран гранулярного ЕПР.

Численні мітохондрії мали різну величину і форму. У матриксі мітохондрій розташовувалась велика кількість укорочених крист. Зовнішні мембрани мітохондрій володіли чітко контурованою структурою. Матрикс мітохондрій мав дрібнозернисту структуру і середню електронну щільність. Нерідко виявлялися форми мітохондрій, які свідчили про їх поділ (рис. 6.9, Б).

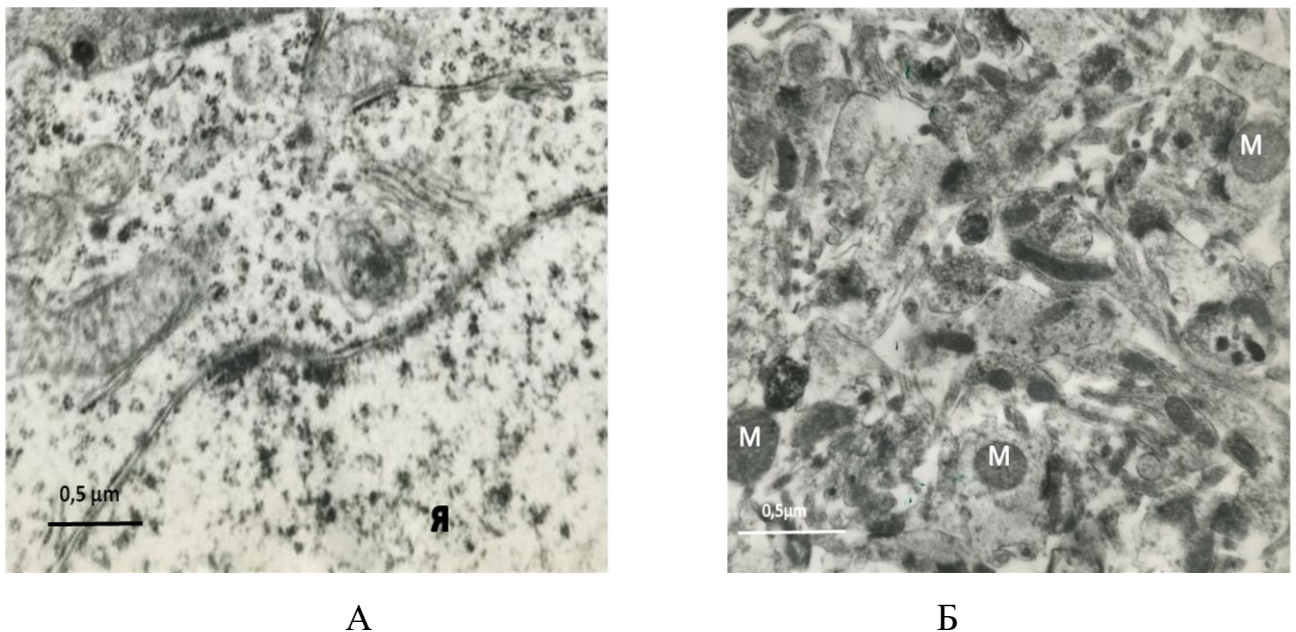


Рис. 6.9. Ультраструктура нейронів гіпоталамуса головного мозку молодих контрольних щурів: А – дифузно розподілені гранули деконденсованого ядерного хроматину; Б – дрібнозернистий матрикс мітохондрій. *Примітка:* Я – ядро; М – мітохондрії.

Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі був помірно гіпертрофований і представляв собою стопки паралельно орієнтованих гладких мембран, оточених великою кількістю дрібних і великих електронно-прозорих вакуолей. В області його локалізації виявлялися первинні лізосоми. У цитоплазмі нейронів розташовувалися численні секреторні гранули, що мали різну електронну щільність (рис. 6.10), а ліпофусцинові включення практично були відсутні. Цитоплазматична мембрана не змінювалась.

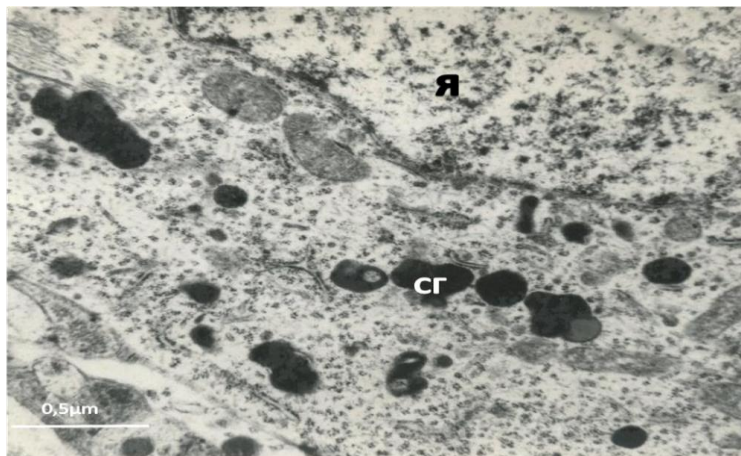


Рис. 6.10. Ультраструктура нейронів гіпоталамуса головного мозку молодих контрольних шурів. Скупчення секреторних гранул в цитоплазмі. *Примітка:* Я – ядро; СГ – секреторні гранули.

Ультраструктурна організація секреторних нейронів гіпоталамуса головного мозку молодих шурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ при температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C), свідчила про те, що субмікроскопічна будова їх структурних складових не містила пошкоджень мембран і органел.

Ядра секреторних нейронів мали округлу форму. Гранули деконденсованого хроматину нерівномірно розподілялися по площі зрізу ядра. У перинуклеарній області цитоплазми виявлялися скупчення рибосом і полісом (рис. 6.11, А). Ядерна мембрана мала підвищену електронну щільність і була помірно потовщеною і розпушеною. В препаратах були відсутні нейрони, які схильні до осередкового розпушення і руйнування.

Спостерігалось рівномірне розширення перинуклеарних просторів. Цитоплазма в перинуклеарній області була заповнена безліччю цитоплазматичних органел, внутрішньоклітинними включеннями і секреторними гранулами. В цитоплазмі секреторних нейронів істотно збільшувалась кількість вільно лежачих рибосом, полісом і секреторних гранул.

Цистерни гранулярного ЕПР були сплюснені. На його мембранах виявлялися численні рибосоми. Вміст цистерн гранулярної ендоплазматичної мережі мав дрібно гранулярну будову і середню електронну щільність. Мембрани гранулярного ЕПР, мали чітко контуровану структуру, іноді спостерігалась

гіперплазія гранулярного ЕПР (рис. 6.11, Б). Окремі мембрани оточували мітохондрії.

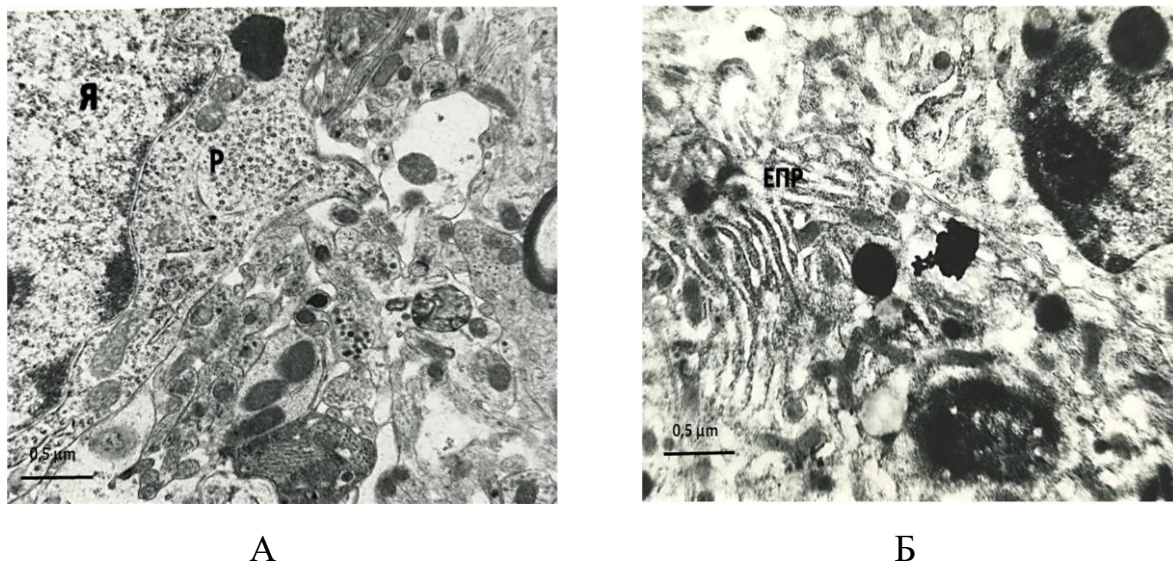


Рис. 6.11. Ультраструктура нейронів гіпоталамуса головного мозку молодих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ: А – скупчення рибосом і полісом в перинуклеарній області цитоплазми; Б – гіперплазія мембран ендоплазматичної мережі. *Примітка:* Я – ядро; Р – рибосоми; ЕПР – ендоплазматичний ретикулум.

В цитоплазмі були присутні в досить великій кількості поліморфні мітохондрії, розміри яких варіювали в широких межах. Матрикс мітохондрій володів високою електронною щільністю та мав тонко волокнисту структуру. Зовнішні мембрани і кристи мітохондрій були помірно розпушені. Досить часто спостерігалися мітохондрії «гантелевидної» форми з перетяжками. Деструктивно змінених мітохондрій в цитоплазмі секреторних нейронів не спостерігалось.

Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі був істотно гіпертрофований і представляв собою скупчення паралельно орієнтованих гладких мембран, оточених великою кількістю дрібних і великих електронно-прозорих вакуолей і секреторних гранул. Включення ліпідів і ліпофусцину не виявлялися.

Цитоплазматична мембрана тіла нейронів піддавалася помірному розпушенню. Вона була дещо потовщена і володіла підвищеним ступенем осміофільії. Цитоплазма, прилегла до плазматичної мембрани, заповнювалася

дрібно гранулярною субстанцією. Деструкції цитоплазматичної мембрани не спостерігалися.

У старих контрольних тварин виявлялися субмікроскопічні перебудови секреторних нейронів гіпоталамуса, характерні для розвитку деструктивного і дистрофічного процесу.

Ядра нейронів мали типову форму і розміри. Гранули деконденсованого хроматину локалізувалися на внутрішньому листку мембрани ядра, у вигляді скупчень електронно-щільної гранулярної речовини. Центральна область матриксу ядра містила електронно-прозору речовину, в якій розташовувалися хаотично розподілені гранули деконденсованого хроматину і рибосоми.

Ядерна мембрана була потовщена, розпушена і володіла високою електронною щільністю. Нерідко спостерігалися вогнища лізису ядерної мембрани. Розширення перинуклеарних просторів мали вигляд вакуолей, заповнених електронно-прозорою речовиною. У матриксі ядер окремих секреторних нейронів гіпоталамуса контрольних старих щурів зустрічалися осміофільні включення (рис. 6.12, А).

Цистерни гранулярного ЕПР мали вигляд вакуолей різної форми і розмірів. На мембранах виявлялася невелика кількість рибосом. Вміст цистерн гранулярної ендоплазматичної мережі був електронно-прозорим. В окремих нейронах мембрани гранулярного ЕПР були схильні до фрагментації.

У порівнянні з групою молодих контрольних тварин, в цитоплазмі секреторних нейронів гіпоталамуса суттєво зменшувалась кількість вільно лежачих рибосом і полісом.

В цитоплазмі визначалася невелика кількість набряклих мітохондрій, різних розмірів. Вони зберігали округлу і циліндричну форми, проте їх матрикс мав низьку електронну щільність і грубоволокнисту структуру. Кристи розташовувалися нерівномірно в матриксі мітохондрій і були орієнтовані паралельно короткій осі цих органел.

Зустрічалися мітохондрії з гомогенізованим матриксом і тотально зруйнованими зовнішніми мембранами і кристами, які мали вигляд вакуолей з сильно розпушеною оболонкою і містили конгломерати аморфної речовини високого ступеня осміофілії (рис. 6.12, Б).

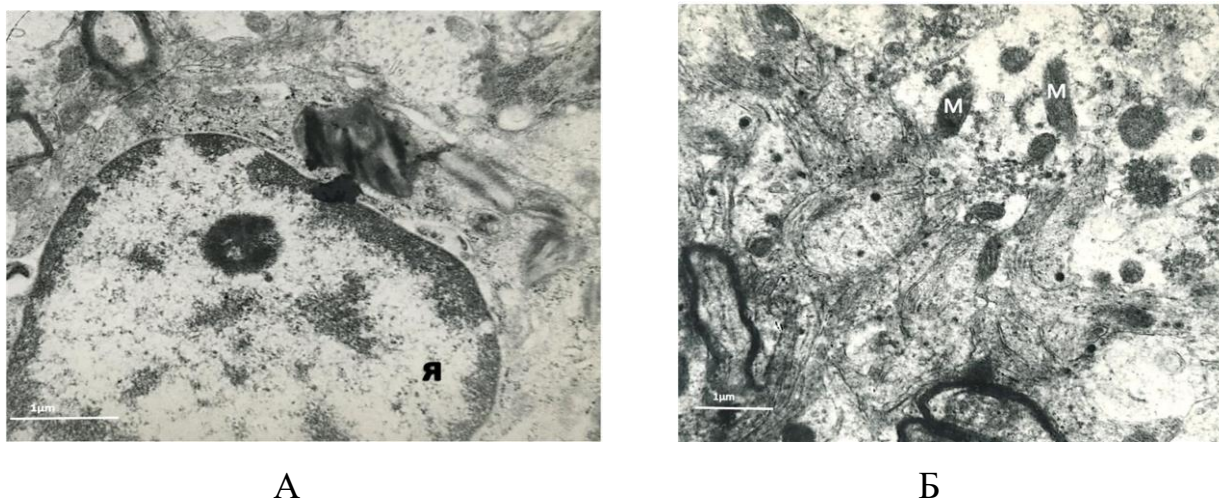


Рис. 6.12. Ультраструктура нейронів гіпоталамуса головного мозку старих контрольних щурів: А – осміофільні включення в цитоплазмі; Б – тотально зруйновані зовнішні мембрани мітохондрій. *Примітка:* Я – ядро; М – мітохондрії.

Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі представляв собою скупчення хаотично орієнтованих розпушених гладких мембран, оточених одиничними дрібними і великими електронно-прозорими вакуолями. В області його локалізації спостерігалися включення ліпідів і ліпофусцину. Секреторні гранули в цитоплазмі практично були відсутні.

Цитоплазматична мембрана тіла секреторних нейронів містила осередки деструкції, була розпушена, сильно потовщена і володіла високою електронною щільністю.

Електронно-мікроскопічне дослідження секреторних нейронів гіпоталамуса головного мозку старих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ при температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C), виявило помірно виражені перебудови органел і внутрішньоклітинних мембранних систем.

Значно зменшувалася ступінь конденсації ядерного хроматину. У центральній області матриксу ядра розташовувалися гранули деконденсованого

хроматину і рибосоми, які були рівномірно розсіяні по матриксу. Ядерна мембрана набувала середню електронну щільність та не містила осередки деструкції.

Цистерни гранулярного ЕПР залишалися помірно розширеними, на його мембранах істотно зростало число рибосом. На мембранах гранулярної ендоплазматичної мережі з'являлась безліч рибосом і були відсутні осередки її лізису (рис. 6. 13, А).

Матрикс мітохондрій залишався просвітленим і мав дрібно гранулярну структуру. Вогнищевий лізис зовнішніх мембран і крист мітохондрій не виявлявся. У цитоплазмі були відсутні деструктивно змінені мітохондрії, вторинні лізосоми і включення ліпофусцину. У пластинчастому цитоплазматичному комплексі Гольджі розвивалась гіпертрофія мембран (рис. 6.13, Б).

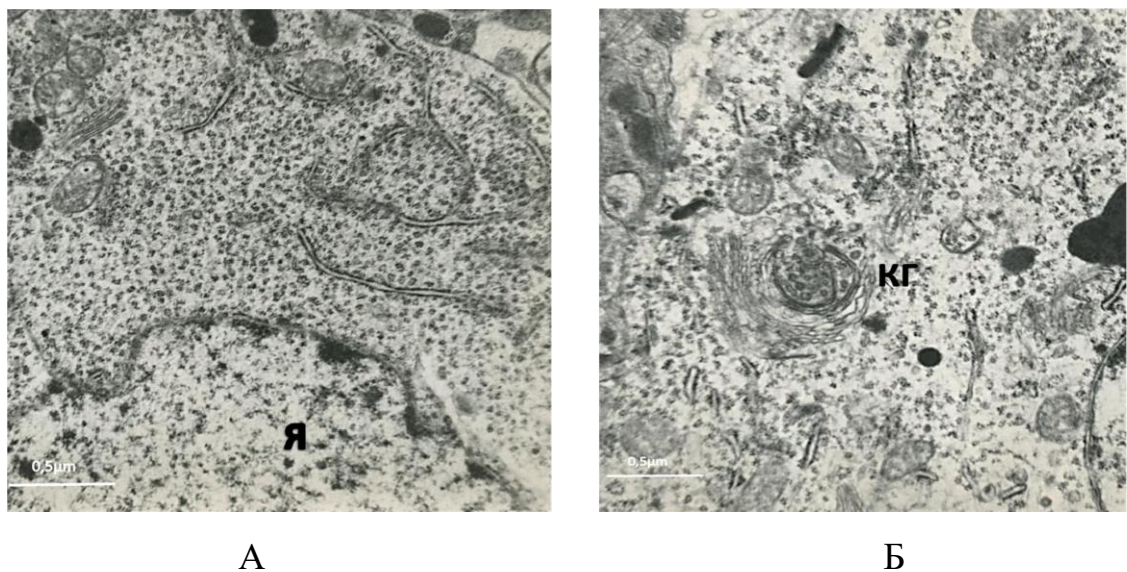


Рис. 6.13. Ультраструктура нейронів гіпоталамуса головного мозку старих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ: А – численні вільні рибосоми і пов'язані з мембранами гранулярного; Б – гіпертрофія пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі, численні дрібні везикули поблизу гладких мембран. *Примітка:* Я – ядро; КГ – комплекс Гольджі.

Цитоплазматична мембрана набувала типову будову і не містила вогнищ розпушення і лізису. У цитоплазмі виявлялися скупчення секреторних гранул різної електронної щільності (рис. 6.14).

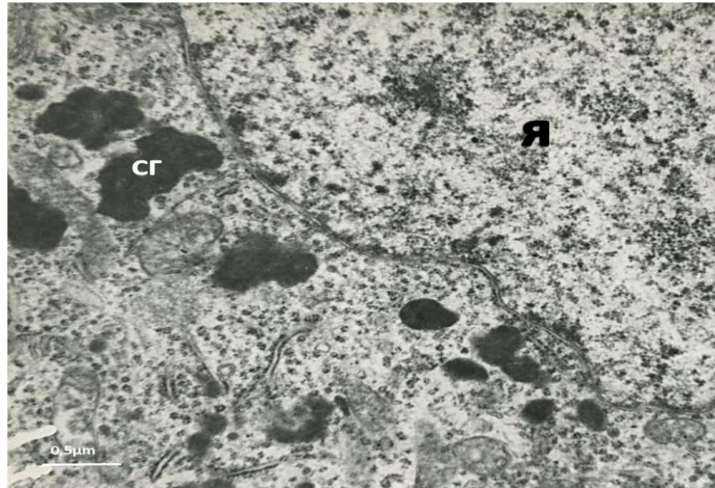


Рис. 6.14. Ультраструктура нейронів гіпоталамуса головного мозку старих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ. Численні скупчення секреторних гранул в цитоплазмі. *Примітка:* Я – ядро; СГ – секреторні гранули.

Таким чином, ультраструктурна організація секреторних нейронів гіпоталамуса головного мозку молодих контрольних щурів свідчила про їх високу структурно–функціональну активність, що підтверджувалось наявністю великої кількості мітохондрій і крист у них, а також присутністю гантелеподібних форм, які свідчили про їх поділ. Крім того, вторинні лізосоми і включення ліпідів у цих тварин не виявлялися. Електронно–мікроскопічне дослідження секреторних нейронів гіпоталамуса головного мозку старих контрольних тварин показало наявність виражених дистрофічних і деструктивних змін їх органел. Ядерна мембрана була потовщена, розпушена і володіла високою електронною щільністю. Нерідко спостерігалися вогнища її лізису. У матриксі ядер окремих нейронів зустрічалися осміофільні включення. В цитоплазмі визначалася невелика кількість набряклих мітохондрій, різних розмірів. Зустрічалися мітохондрії з тотально зруйнованими зовнішніми мембранами і кристами. У цитоплазмі виявлялися великі вторинні лізосоми, в структурі яких містилися деструктивно змінені органели і мембрани.

Субмікроскопічна будова секреторних нейронів гіпоталамуса головного мозку молодих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ при температурному режимі (–60°C; –120°C; –120°C) не містила структурних ознак пошкоджень їх мембран і органел. Ядра нейронів мали округлу форму. В цитоплазмі істотно

збільшувалась кількість вільно лежачих рибосом, полісом і секреторних гранул. Часто спостерігалися мітохондрії «гантелевидної» форми з перетяжками. Деструктивно змінених мітохондрій в цитоплазмі не спостерігалося. У старих тварин через місяць після застосування даного режиму РЕХВ в ультраструктурній архітектоніці секреторних нейронів гіпоталамуса спостерігалися перебудови компенсаторного типу, такі як збільшення кількості мітохондрій і крист в них. У цитоплазмі були відсутні деструктивно змінені мітохондрії, вторинні лізосоми і включення ліпофусцину. У пластинчастому цитоплазматичному комплексі Гольджі розвивалась гіпертрофія мембран. Цитоплазматична мембрана набувала типову будову і не містила вогнищ розпушення і лізису.

6.3. Динаміка ультраструктурних перебудов гіпокампу молодих і старих щурів до та після застосування ритмічних екстремальних холодкових впливів при температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C)

При електронно-мікроскопічному дослідженні гіпокампу молодих контрольних щурів встановлено, що основні його клітинні елементи були представлені типовими пірамідними нейронами з довгими апікальними дендритами, орієнтованими перпендикулярно площині клітинного шару і відходили в протилежному напрямку розгалуженим базальним дендритам. В полі СА 1 щільно розташовані клітини утворювали два шари – поверхневий і глибокий. Розміри їх складалі близько 15 мкм. Плазматичні мембрани клітин не мали спеціалізованих з'єднань.

Крім пірамідних клітин в гіпокампі визначався шар поліморфних нейронів з коротким аксоном – корзинчаті клітини, що мали широко розгалужені горизонтальні дендрити і утворювали потужні корзинчаті сплетіння навколо тіл пірамідних клітин. У гіпокампі виявлялися також різні типи горизонтальних нейронів, аксони яких гілкувалися в горизонтальній площині, об'єднуючи однакові дендритні рівні ряду пірамідних клітин. Тіла пірамідних клітин поля СА

І містили звичайні органели в невеликій кількості. Мітохондрії мали округлу форму з матриксом середньої електронної щільності і чітко вираженими кристами (рис. 6. 15, А).

Іноді зустрічалися щільні мітохондрії з везикулярними кристами. Гранулярний ендоплазматичний ретикулум був представлений вузькими каналцями, на мембранах яких розташовувалися рибосоми. У цитоплазмі спостерігались поодинокі полісоми і лізосоми. Основний обсяг ядер займав еухроматин, а гетерохроматин невеликими острівцями розташовувався по всьому ядру і вздовж внутрішньої ядерної мембрани (рис. 6. 15, Б).

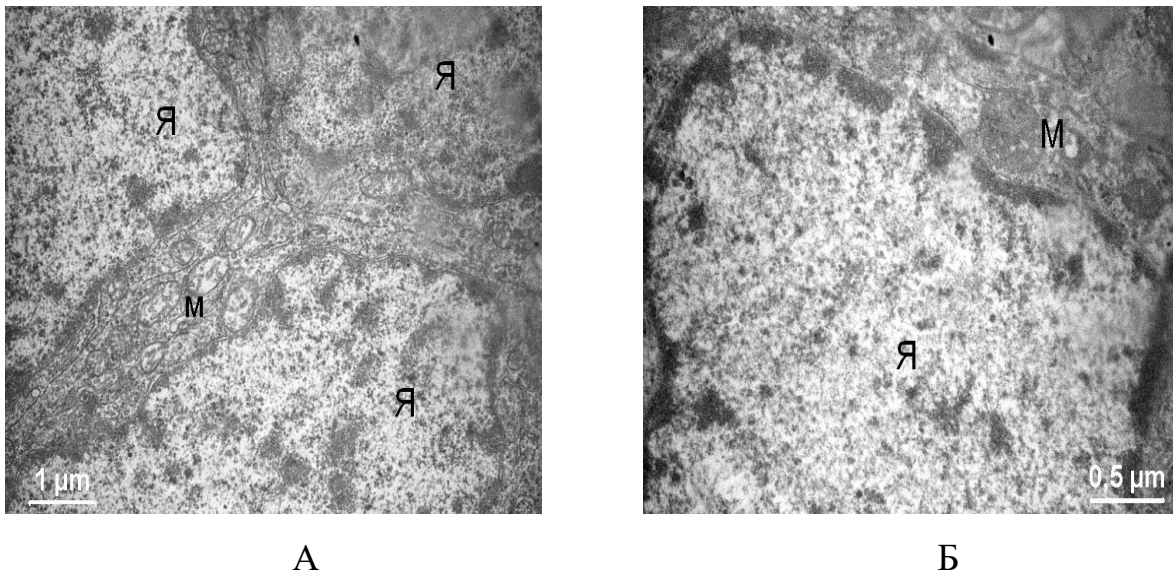


Рис. 6.15. Ультраструктура нейронів (А) і фрагменту ядра та цитоплазми пірамідного нейрона (Б) поля СА 1 гіпокампу молодих контрольних щурів.
Примітка: Я – ядро; М – мітохондрії.

В полі СА 3 ультраструктура нейронів характеризувалася високою структурно–функціональною активністю, на що вказувало наявність великої кількості мітохондрій з виразними кристами, які перебували в різних областях цитоплазми. Гранулярний ЕПР був добре виражений у вигляді цистерн і каналців (рис. 6.16, А).

Виявлялося багато полісом, що свідчило про активний нуклеопротеїновий синтез. Комплекс Гольджі був представлений витягнутими цистернами, середніми і дрібними везикулами, оточеними мембранами. Міжнейронні контакти

здійснювалися за допомогою інвагінацій гілочок дендрита в аксон, а також синапсів на шипики апікальних дендритів. Частина шипиків містила шипіковий апарат, представлений стопкою мембран. Велика частина синапсів мала електронно–світлі синаптичні пухирці, оточені мембраною (рис. 6.16, Б).

Значно рідше зустрічалися синапси з гранулярними синаптичними бульбашками та осміюфільним центром. Синаптичні бульбашки мали різноманітну форму від округлих до подовжених або витягнутих. Вони формували невеликі скупчення у пресинаптичній мембрані. В міру віддалення від неї щільність їх розташування поступово зменшувалася.

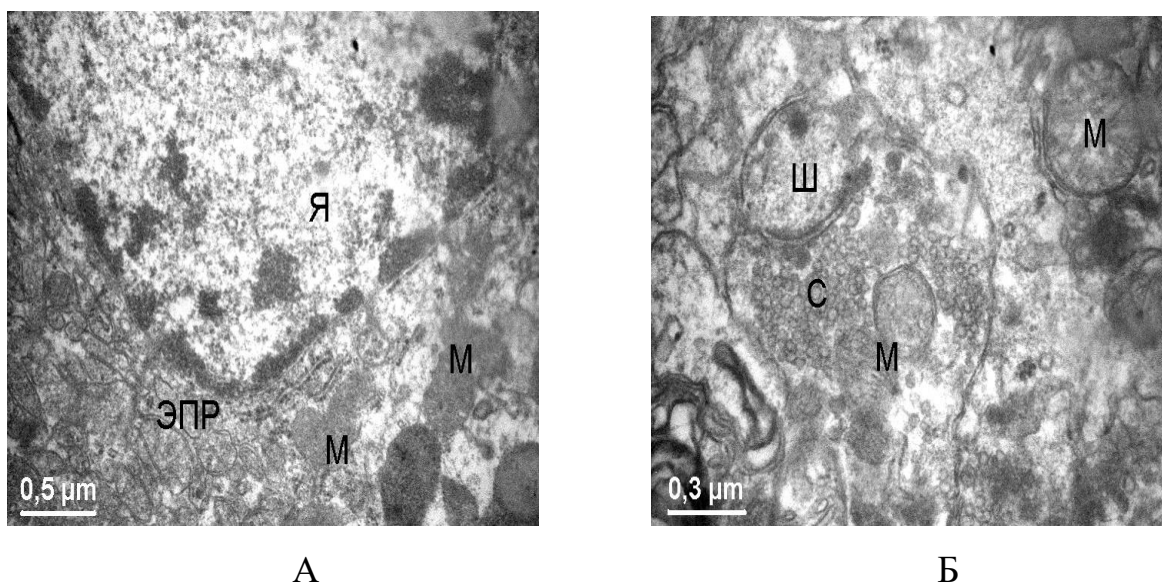


Рис. 6.16. Ультраструктура фрагменту нейрона (А) і аксодендрітного синапсу (Б) поля СА 3 гіпокампу молодих контрольних щурів. *Примітка:* Я – ядро; М – мітохондрії; ЭПР – ендоплазматичний ретикулум; Ш – шипик; С – синаптичні бульбашки.

Крім синаптичних бульбашок в пресинаптичній частині міжнейронного контакту зустрічалися нечисленні мітохондрії, мультивезикулярні тільця, нейрофіламенти. Мікрогемодіфузорне русло було представлено мережею капілярів і дрібних артеріол. Ендотеліоцити мали типову будову, утворювали щільні контакти периферичних відростків, деякі з яких містили численні органели (рис. 6.17).

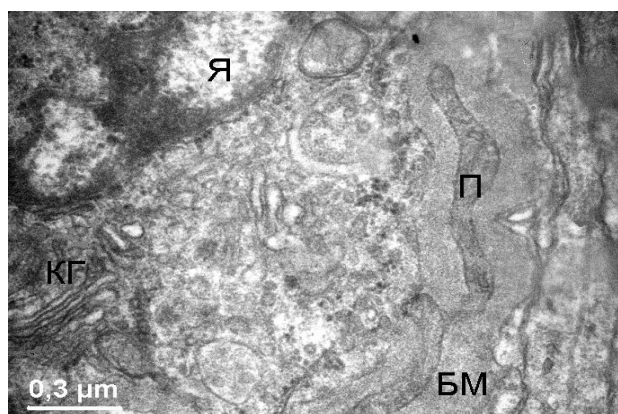


Рис. 6.17. Ультраструктура ендотеліоцита поля СА 3 гіпокампу молодих контрольних щурів. *Примітка:* Я – ядро; КГ – комплекс Гольджі; БМ – базальна мембрана; П – відросток перицита.

Через місяць після застосування 9 сеансів РЕХВ в температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C) у молодих тварин в ультраструктурі пірамідних нейронів полів СА 1 і СА 3 гіпокампу також виявлялися ознаки їх високої структурно–функціональної активності. Про це свідчили переважання ядер з електроннопрозорим матриксом, заповненим, головним чином еухроматином, а також примембрана локалізація ядерця (рис. 6.18, А) і розширення ядерних пор (рис. 6.18, Б).

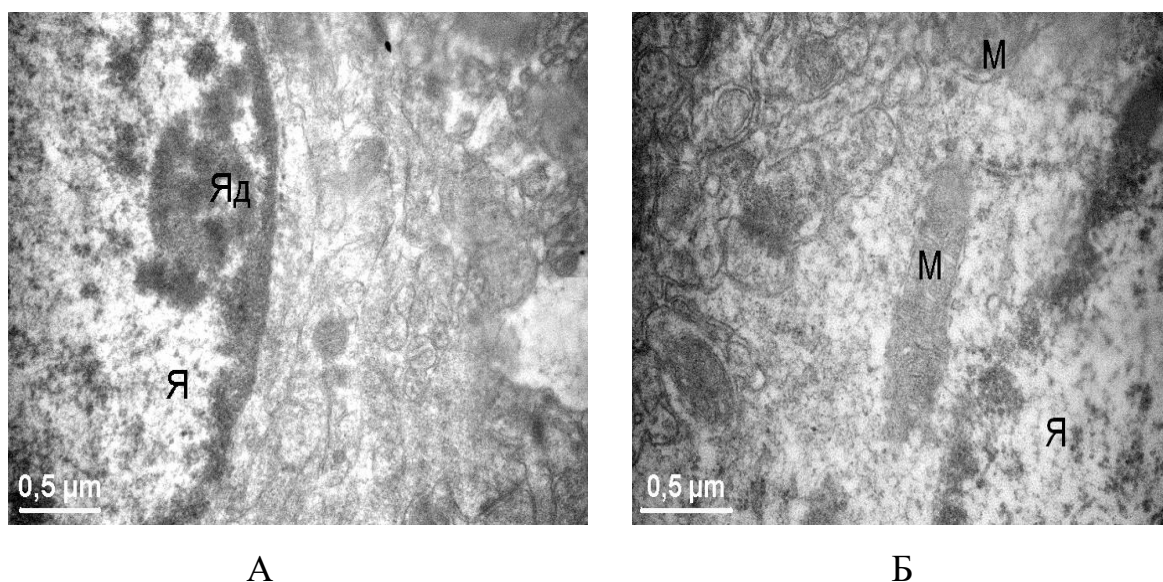


Рис. 6.18. Ультраструктура фрагменту нейрона поля СА 1 гіпокампу молодих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ: А – примембрана локалізація ядерця; Б – розширення ядерних пор. *Примітка:* Я – ядро; Яд – ядерце; М – мітохондрії.

У деяких нейронів спостерігалось розрідження цитоплазми і утворення вакуолей в перинуклеарній зоні.

Виявлялися мітохондрії з ущільненим матриксом і множинними кристами (рис. 6.19, А). Ущільнення матриксу мітохондрій спостерігалось також і у відростках астроцитів. Зустрічалися ознаки мітохондріальної дисфункції у вигляді гомогенізації матриксу та дезорганізації крист цих органел. У той же час визначалися мітохондрії які діляться, що свідчило про активний енергетичний метаболізм нейронів (рис. 6.19, Б).

Кількість синапсів в обох полях гіпокампу збільшувалась. У деяких ділянках кількість синаптичних везикул і пресинаптичних бутонів зменшувалась при збереженні активних зон синапсів (рис. 6.20).

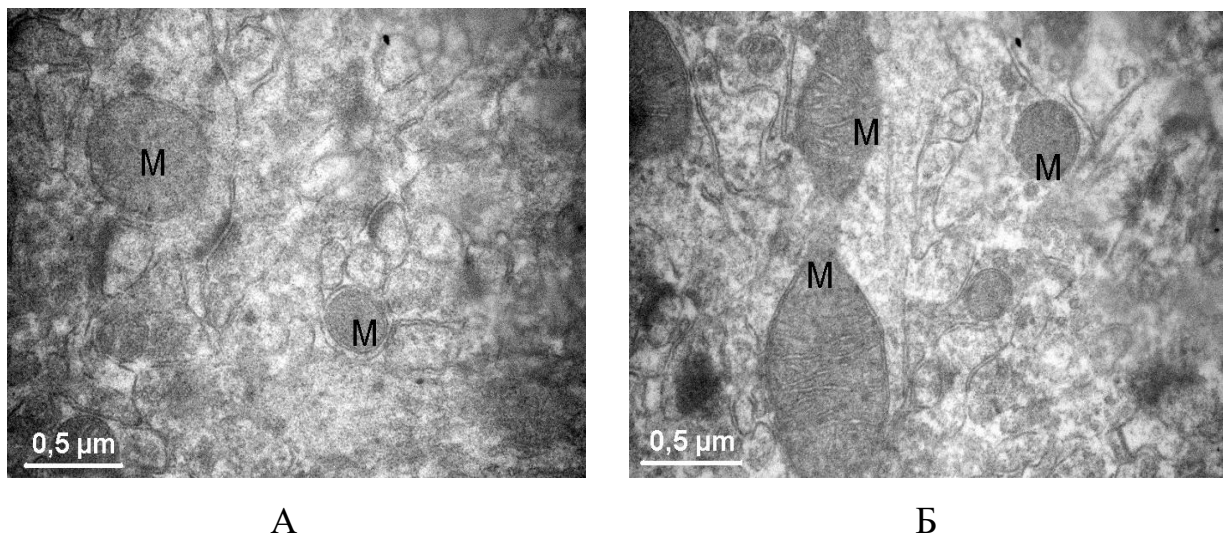


Рис. 6.19. Ультраструктура нейронів поля СА 1 і СА 3 гіпокампу молодих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ: А – гомогенізація крист мітохондрій в ділянці нейропіля (поле СА 1); Б – мітохондрії які діляться в цитоплазмі нейрона (поле СА 3). *Примітка:* М – мітохондрії.

Ультраструктура мікрогемоциркуляторного русла гіпокампу молодих тварин через місяць після використання 9 сеансів РЕХВ відрізнялася ознаками реактивності ендотелію, які проявлялися в наявності вакуолей і мікропіноцитозних везикул в цитоплазмі цих клітин, а також в утворюванні мікрівілей люмінальною поверхнею (рис. 6.21, А, Б).

Базальна мембрана кровоносних капілярів була тонкою і характеризувалася підвищеною електронною щільністю середнього шару.

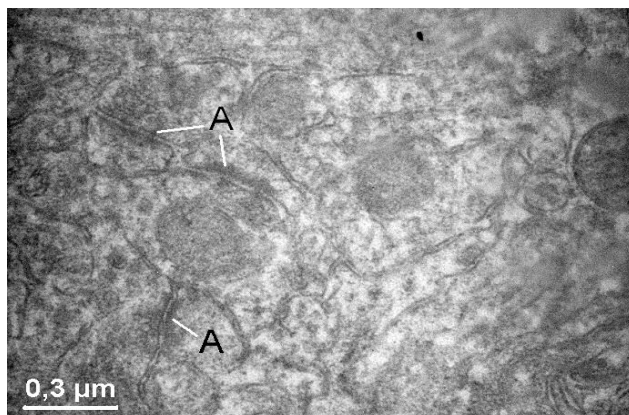


Рис. 6.20. Ультраструктура синапсів поля СА 1 гіпокампу молодих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ. Зменшення кількості синаптичних везикул при збереженні активних зон. *Примітка:* А – активні зони синапсів.

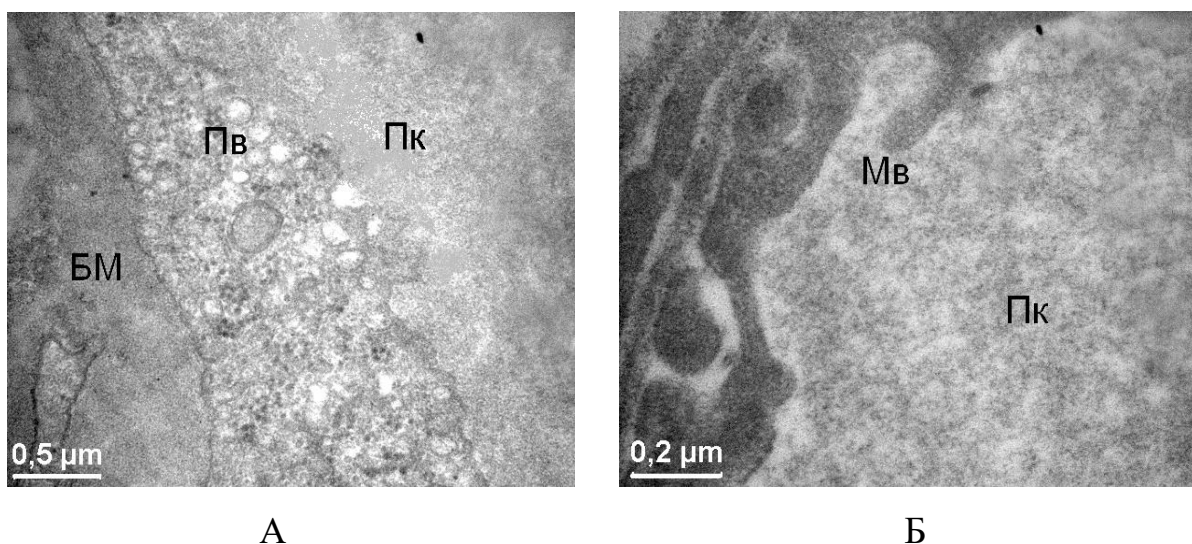


Рис. 6.21. Ультраструктура ендотеліюцита поля СА 1 і СА 3 гіпокампу молодих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ: А – піноцитозні везикули в цитоплазмі (поле СА 1); Б – утворювання мікрівілей люмінальною поверхнею (поле СА 3). *Примітка:* БМ – базальна мембрана; Пк – просвіт капіляра; Пв – піноцитозні везикули; Мв – мікрівілі.

Ультраструктура пірамідних нейронів поля СА 1 гіпокампу старих контрольних щурів характеризувалася наявністю дегенеративно змінених клітин різного ступеня вираженості (рис. 6.22, А).

Визначалися великі ядра нейронів з дрібногранулярним хроматином, в яких іноді спостерігалось розширення перинуклеарного простору і збільшення кількості ядерних пор. Іноді виявлялися ядра з просвітленими ділянками в каріоплазмі. У цитоплазмі нейронів були присутні нечисленні мітохондрії з матриксом середньої електронної щільності і укороченими кристами. У той же час мали місце набряклі мітохондрії з просвітленим матриксом і скороченими кристами (рис. 6.22, Б). Зазначалося також наявність гігантських мітохондрій.

Гранулярний ЕПР складався з системи сполучених каналців і цистерн, до поверхні яких були прикріплені рибосоми.

Спостерігалась невелика кількість вільних рибосом. Частина каналців були зігнуті і різко розширені. У цитоплазмі виявлявся комплекс Гольджі у вигляді стопки сплюснених цистерн, вакуолей і дрібних везикул, що часто піддавалися набуханню (рис. 6.23, А). У цитоплазмі нейронів визначалися гранули ліпофусцину, множинні вакуолі, лізосоми і ліпідні включення (рис. 6.23, Б).

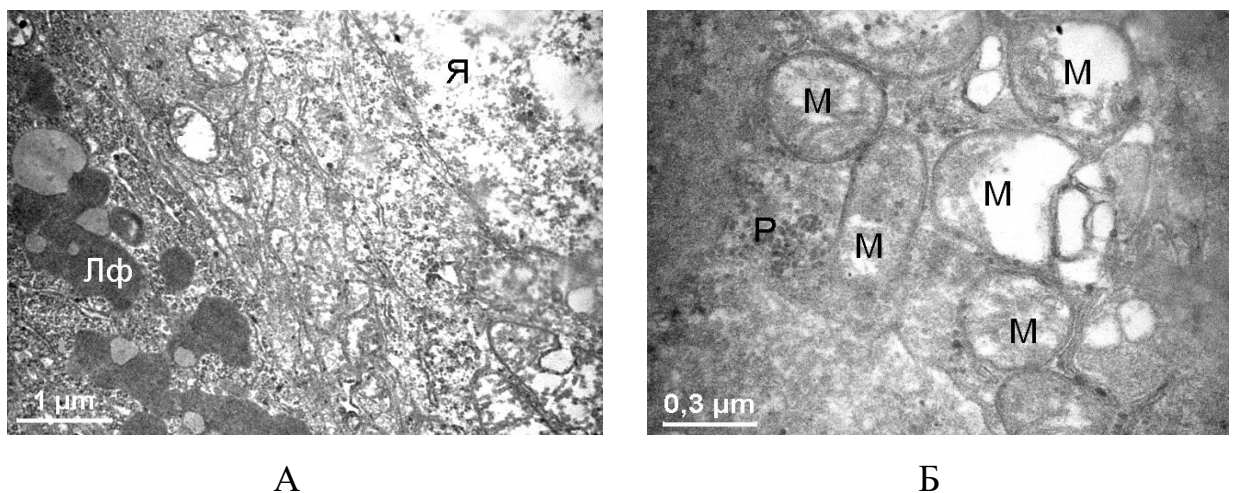


Рис. 6.22. Ультраструктура пірамідних нейронів поля СА 1 гіпокампу старих контрольних щурів: А – дегенеративні зміни нейронів; Б – редукція крист і набухання мітохондрій в цитоплазмі пірамідного нейрона. *Примітка:* Я – ядро; М – мітохондрії; Лф – ліпофусцинові гранули в цитоплазмі; Р – рибосоми.

Синаптичні створення гіпокампу розрізнялися за структурою і рівнем розміщення на соматодендритній мембрані основних нейронів. У деяких спостерігалась велика кількість синаптичних пухирців, які щільно прилягали один

до одного, а також виявлялася аглютинація везикул. У інших синапсів синаптичні пухирці були нечисленні і розподілялися хаотично.

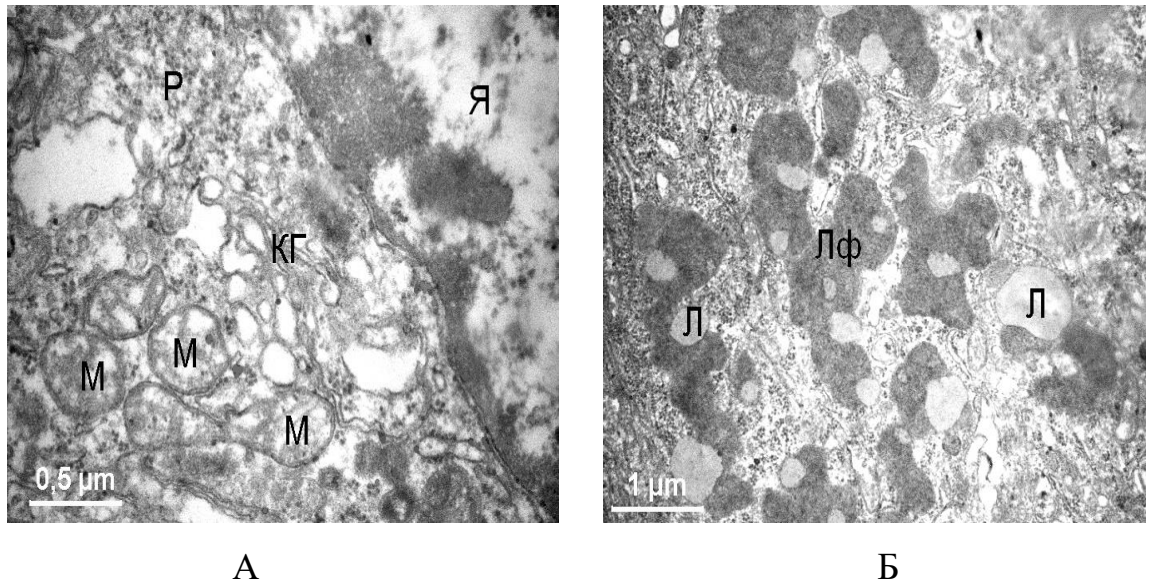


Рис. 6.23. Ультраструктура пірамідних нейронів поля СА 1 гіпокампу старих контрольних щурів: А – вакуолізація і набухання цистерн комплексу Гольджі; Б – скупчення гранул ліпофусцину і ліпідних включень в цитоплазмі пірамідного нейрона. *Примітка:* Я – ядро; М – мітохондрії; КГ – комплекс Гольджі; Р – рибосоми; Лф – ліпофусцинові гранули; Л – ліпідні включення.

Часто зустрічалися синапси з активною зоною, набуханням везикул і аксоплазми пресинапса (рис. 6.24, А), що є ознакою їх дегенерації по світлому типу. У пресинаптичних бутонах мали місце сильно набряклі мітохондрії з повною редуцією крист (рис. 6.24, Б). Ендотелій капілярів був представлений ендотеліоцитами, в яких визначалися набряклі, просвітлені мітохондрії. Іноді спостерігався піноцитоз.

Для ультраструктурної організації пірамідних нейронів поля СА 3 гіпокампу старих контрольних щурів було характерно зниження чисельності пірамідних нейронів. Вони мали більші розміри і розташовувалися не так щільно, як в зоні СА 1. Їхні потужні апікальні дендрити утворювали біфуркацію недалеко від клітинного тіла.

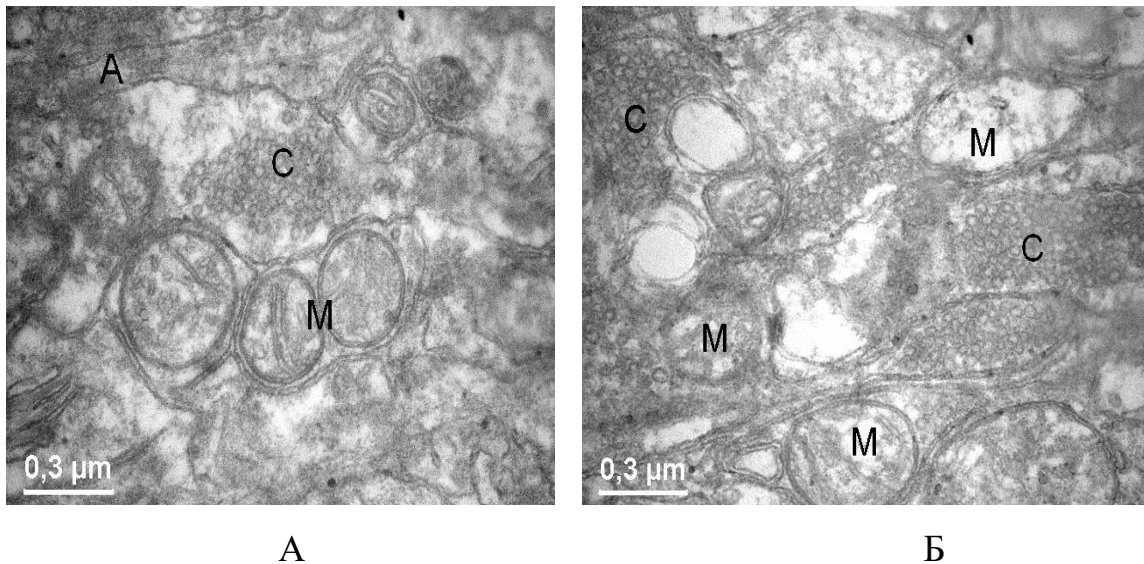


Рис. 6.24. Ультраструктура синапсів поля СА 1 гіпокампу старих контрольних щурів: А – набухання аксоплазми пресинапса; Б – набряклі мітохондрії у пресинаптичних бутонах. *Примітка:* А – активна зона; С – синаптичні пухирці; М – мітохондрії.

Крім того, виявлялися ознаки їх вікової дегенерації такі як внутрішньоядерні включення у вигляді пучків філаментів, а також оточені однією мембраною вакуолеобразні структури (рис. 6.25, А). Спостерігалось багато полісом і мітохондрій, які характеризувалися частковою деструкцією внутрішніх мембран. В цитоплазмі часто мали місце скупчення ліпофусцинових гранул і ліпідних включень (рис. 6.25, Б).

Поряд з явищами дистрофії і дегенерації нейронів спостерігалися компенсаторні зміни клітин. Комплекс Гольджі містив гіпертрофовані цистерни, що свідчило про його активність.

Синаптична система гіпокампу старих контрольних щурів була представлена гігантськими синапсами на складних шипіках проксимального сегмента апікальних дендритів пірамід СА 3.

Виявлялося багато синапсів з осміюфільними бульбашками. У нейропілі визначалися синаптичні закінчення з ознаками деструкції і дегенерації, в тому числі і у вигляді аглютинації синаптичних везикул (рис. 6.26, А), деструкції і

дезорганізації мітохондрій, вакуолізації дендритних гілочок (рис. 6.26, Б), порушенні впорядкованості мембран шипікового апарату (рис. 6.26, Б).

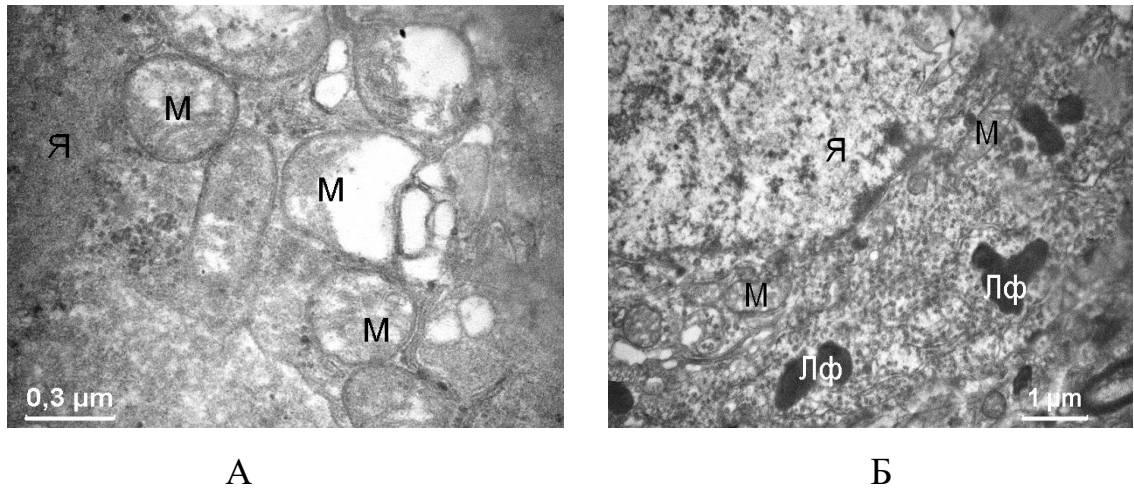


Рис. 6.25. Ультраструктура пірамідних нейронів поля СА 3 гіпокампу старих контрольних щурів: А – філаментозні і вакуолеобразні внутрішньоядерні включення; Б – ліпофусцинові гранули в цитоплазмі. *Примітка:* Я – ядро; М – мітохондрії; Лф – ліпофусцинові гранули.

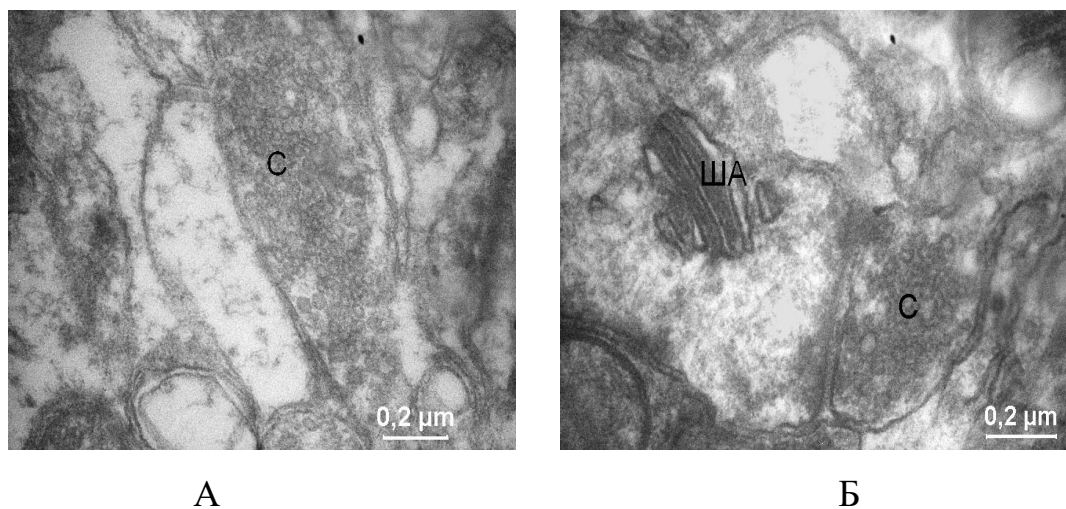


Рис. 6.26. Ультраструктура синапсів поля СА 3 гіпокампу старих контрольних щурів: А – аглютинація синаптичних везикул; Б – порушення впорядкованості мембран шипікового апарату. *Примітка:* С – синаптичні пухирці; ША – шипіковий апарат.

Також визначалися облямовані везикули округлої форми на мембранах ЕПР і комплексу Гольджі, яким відводиться важливе значення в регенераційному процесі і виконанні транспортних функцій в метаболізмі клітини.

В ультраструктурі елементів гематоенцефалічного бар'єру гіпокампу старих контрольних щурів спостерігалися ознаки реактивності ендотелію кровоносних капілярів: вакуолізація цитоплазми (рис. 6.27, А), трансформація мітохондрій з утворенням мієліноподібних структур, а також їх вакуольна трансформація. Перицити відрізнялися високою активністю піноцитоза, розвиненим ЕПР, скупченням великих ліпідних включень в їхніх тілах і відростках, що свідчило про їхню активну фагоцитарну функцію, спрямовану на утилізацію ліпофусцину (рис. 6.27, Б). Кількість гліальних клітин була дещо збільшена, серед них зустрічалися зруйновані клітини мікроглії.

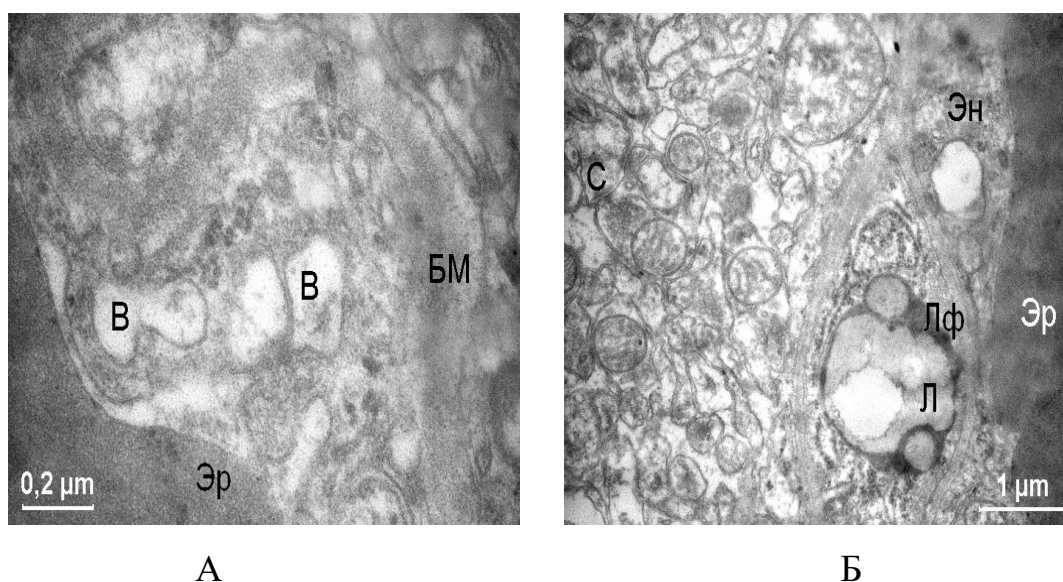


Рис. 6.27. Ультраструктура ендотеліоцита поля СА 3 гіпокампу старих контрольних щурів: А – вакуолізація цитоплазми; Б – скупчення ліпофусцинових і ліпідних включень в цитоплазмі перицита. *Примітка:* БМ – базальна мембрана; Эр – еритроцит в просвіті капіляра; В – вакуолі; Лф – ліпофусцинові гранули; Л – ліпідні включення; Эн – ендотелій.

В клітинних елементах, структурі синапсів, а також мікрогемодиркуляторного русла гіпокампу старих щурів у зонах СА 1 і СА 3 через місяць після застосування 9 сеансів РЕХВ в температурному режимі (–60°C; –120°C; –120°C) спостерігалися явища як дегенеративних, так і репаративних процесів.

Однією з ознак структурних змін нейронів було збільшення складчастості ядерної поверхні за рахунок інвагінацій каріолеми. У інвагінірованих ділянках цитоплазми виявлялися мітохондрії, рибосоми і полісоми. На зовнішній ядерній мембрані, пов'язаній з гранулярним ЕПР, знаходилося багато рибосом, що свідчило про активний синтез білка в цих клітинах.

Такі зміни конфігурації ядер вважаються проявом адаптаційних реакцій, які призводять до збільшення площі контакту ядра і цитоплазми для підтримки певного рівня метаболізму. Більшість ядер не містило великих ядерців, проте в деяких з них виявлялися ядерця примембранної локалізації, що можна розглядати як прояв адаптаційних перебудов, спрямованих на підтримку синтезу білка (рис. 6.28).

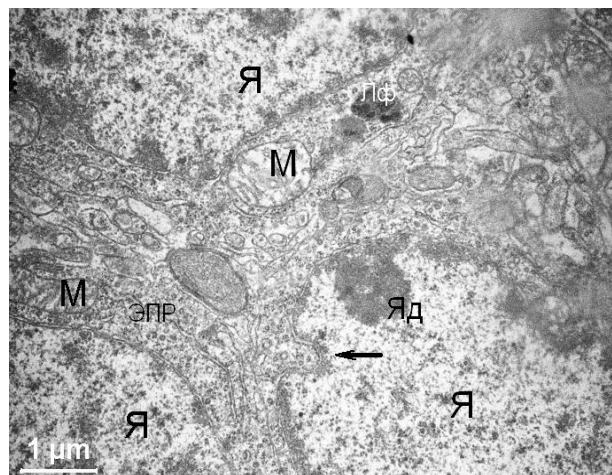


Рис. 6.28. Ультраструктура фрагменту нейрона поля СА 3 гіпокампу старих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ. *Примітка:* Я – ядро; Яд – ядерце; М – мітохондрії; Лф – ліпофусцинові гранули; ЕПР – ендоплазматичний ретикулум.

Кількість внутрішньоядерних включень, що часто зустрічалися в ядрах нейронів контрольних старих щурів, кілька зменшувалася після РЕХВ. Зустрічалися клітини з добре розвиненим гранулярним ЕПР, зв'язаним з мітохондріями.

Однак мало місце і перетворення гранулярного ЕПР в агранулярний з розширенням і вакуолізацією цистерн, що свідчило про розвиток застійних процесів в цитоплазмі нейронів (рис. 6.29, А). В ультраструктурі мембранних і везикулярних елементів комплексу Гольджі переважали адаптаційні перебудови

такі як його гіперплазія і гіпертрофія (рис. 6.29, Б). У цитоплазмі багатьох нейронів перебудови ультраструктури мітохондрій носили адаптаційний характер, які проявлялися в невеликому просвітлінні матриксу зі збереженням крист, що свідчило про їх високу активність. У той же час в деяких клітинах і їх відростках спостерігалось значне набухання мітохондрій з утворенням оптично світлих вакуолеобразних структур і редукцією крист (рис. 6.30).

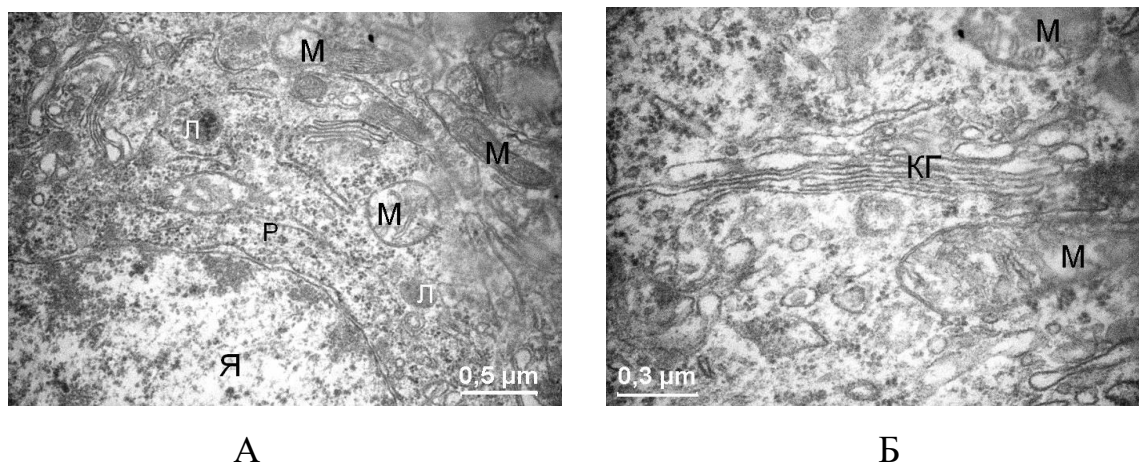


Рис. 6.29. Ультраструктура пірамідного нейрона поля СА 3 гіпокампу старих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ: А – перетворення гранулярного ЕПР в агранулярний; Б – гіпертрофія комплексу Гольджи. *Примітка:* Я – ядро; М – мітохондрії; Л – лізосоми; Р – рибосоми; КГ – комплекс Гольджі.

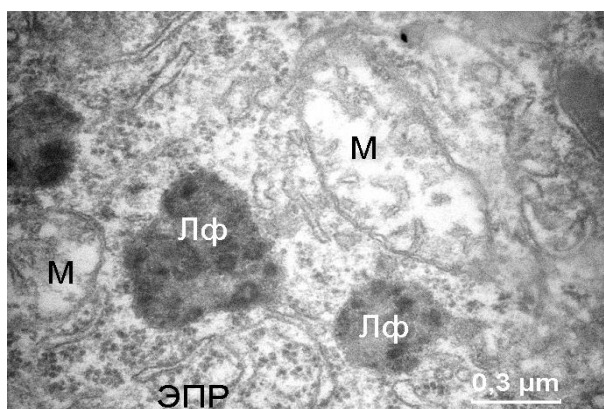


Рис. 6.30. Ультраструктура пірамідного нейрона поля СА 3 гіпокампу старих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ. Набухання мітохондрій в цитоплазмі. *Примітка:* М – мітохондрії; Лф – ліпофусцинові гранули; ЕПР – ендоплазматичний ретикулум.

Крім того, виявлялися мітохондрії з ущільненням матриксу, вакуольною трансформацією і початковими стадіями мієлінізації мембран (рис. 6.31, А, Б). Така нерівномірність змін мітохондрій може бути функціонально обумовлена і відображає гетерогенність структурних проявів старіння нейронів.

Видозмінені мітохондрії часто розташовувалися поблизу гранул ліпофусцину, які були основною ланкою клітинної дегенерації. В нейронах полів СА 1 і СА 3 гіпокампу старих щурів, також визначалися ліпофусцинові скупчення різних розмірів. Вони включали електроннощільні частки, вакуолярний і ламеллярний компоненти, оточені однічною мембраною (рис. 6.32, А). Ліпофусцинові гранули виявлялися і в відростках гліальних клітин (рис. 6.32, Б).

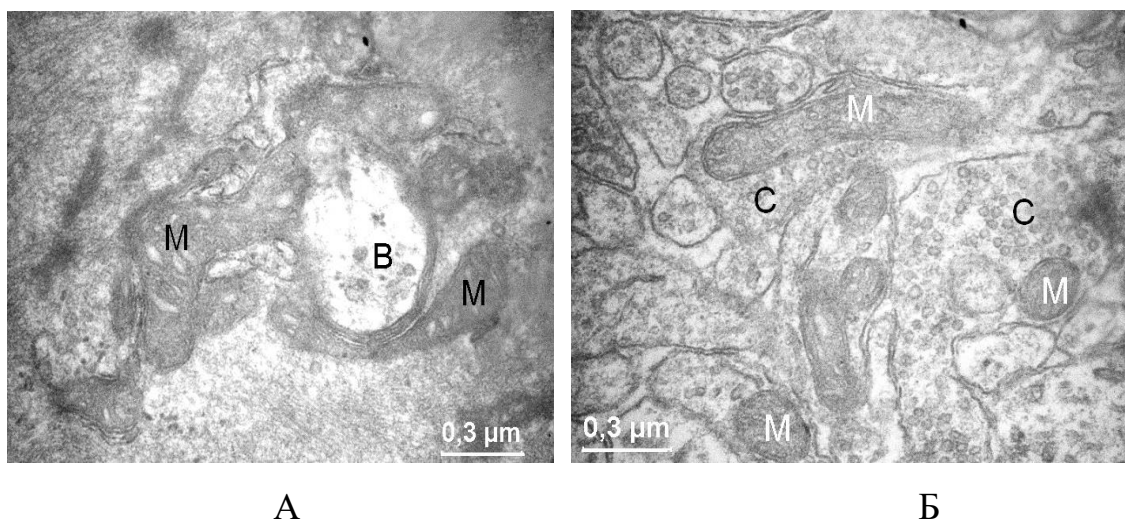


Рис. 6.31. Ультраструктура пірамідного нейрона поля СА 1 і СА 3 гіпокампу старих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ: А – вакуольна трансформація мітохондрій (поле СА 1); Б – мієлінізації мембран мітохондрій (поле СА 3).
Примітка: М – мітохондрії; В – вакуоль; С – синаптичні везикули.

В ультраструктурі аксонів і дендритів відзначалися зміни у вигляді просвітлення аксоплазми, розшарування мієлінових оболонок аксонів. Пресинаптичні бутони мали світлу цитоплазму, порушувався розподіл синаптичних пухирців, спостерігалася їх аглютинація (рис. 6.33), іноді помітно зменшувалася їх кількість. Часто залишалися лише скупчення бульбашок у пресинаптичній мембрані.

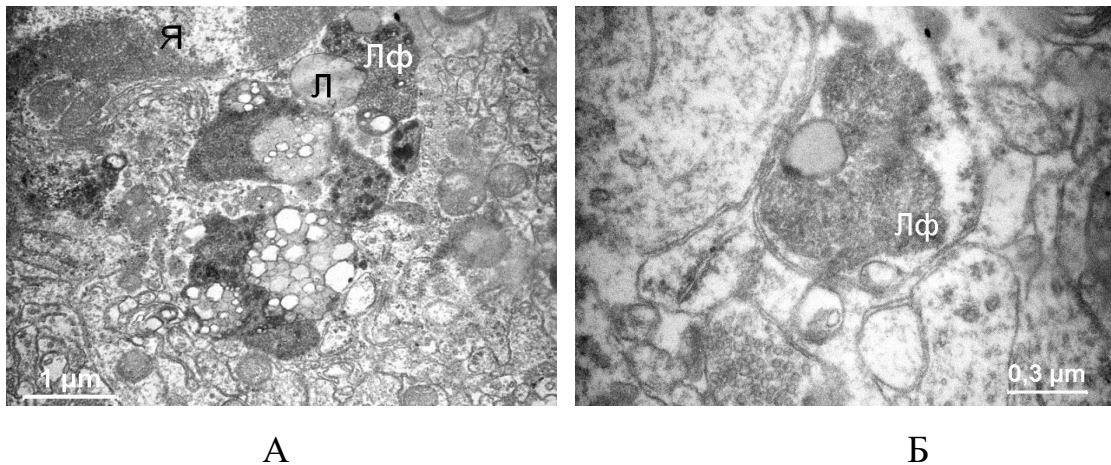


Рис. 6.32. Ультраструктура пірамідного нейрона поля СА 3 гіпокампу старих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ: А – скупчення ліпофусцинових і ліпідних включень в цитоплазмі; Б – ліпофусцинові гранули у відростках астроциту. *Примітка:* Я – ядро; Лф – ліпофусцинові гранули; Л – ліпідні включення.

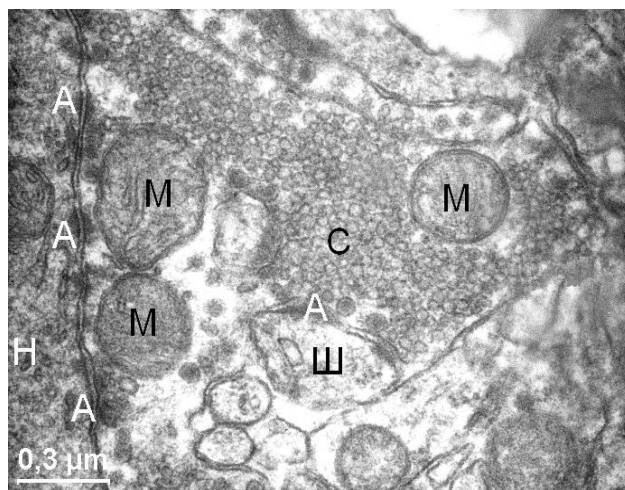


Рис. 6.33. Ультраструктура складного аксосоматичного перфорованого і аксодентрітного синапсу поля СА 3 гіпокампу старих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ. *Примітка:* С – синаптичні везикули; А – активна зона; М – мітохондрії; Н – нейрон; Ш – шипик.

Змінам піддавалися пресинаптичні закінчення як з округлими, так і з плоскими синаптичними бульбашками. У пресинаптичній мембрані синаптичні бульбашки не виявлялися, а визначалися вакуолі і скупчення дрібногранулярного матеріалу. Спостерігалися також зміни в постсинаптичній області, в шипіковому апараті, де чітко була видна його деструкція і дезінтеграція, що вказувало на

тимчасове порушення інформаційного потоку (рис. 6.34, А). У той же час відзначалася і наявність шипікових апаратів з утворенням мембранних комплексів із великою протяжністю (рис. 6.34, Б).

Вікова втрата синапсів, можливо, пов'язана з нездатністю пресинаптичних елементів підтримувати структурну цілісність синаптичного апарату, що в свою чергу обумовлено порушенням транспортних систем аксонів.

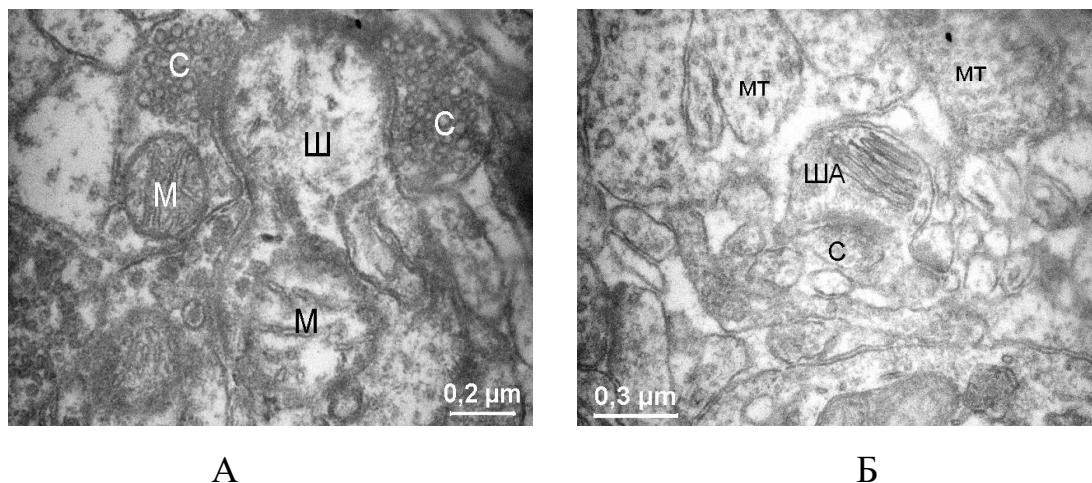


Рис. 6.34. Ультраструктура синапсів поля СА 3 гіпокампу старих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ: А – деструкція і дезінтеграція шипікового апарату; Б – шипіковий апарат з утворенням мембранних комплексів із великою протяжністю. *Примітка:* С – синаптичні везикули; М – мітохондрії; Ш – шипик; ША – шипіковий апарат; МТ – мікротрубочки.

В ендотеліальних клітинах капілярів гіпокампу старих щурів після РЕХВ розвивалися деструктивні зміни, що приводили до зниження числа органел (в тому числі мітохондрій), накопичення залишкових тілець. В результаті зменшувалася кількість клітин і площа їх обмінної поверхні. Крім того, спостерігалось потовщення базального шару внаслідок гідратації базальної мембрани і збільшення числа перицитів, що може призводити до порушення як транспортних, так і бар'єрних функцій стінки капілярів (рис. 6.35).

Кровопостачання клітин порушувалося також внаслідок набряку відростків астроцитів (рис. 6.36, А). Однак при цьому в сусідніх ділянках елементи нервової тканини близько прилягали до стінок судин. До компенсаторних змін судинної

стінки можна також віднести збільшення обмінної поверхні ендотелію за рахунок утворення мікроворсинок (рис. 6.36, Б).

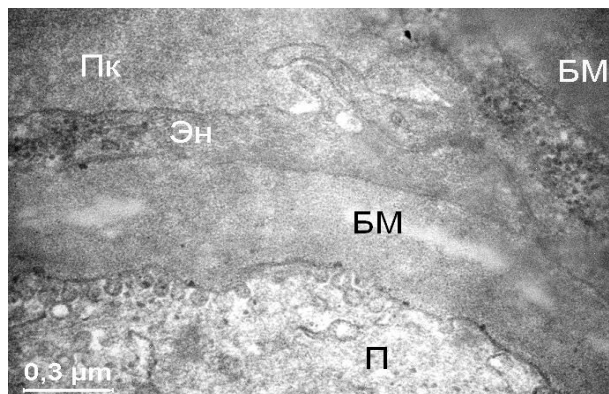
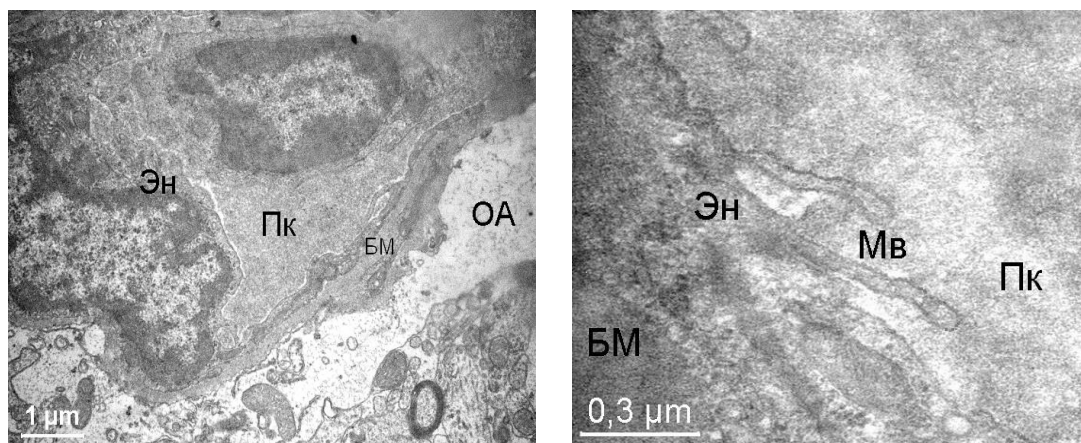


Рис. 6.35. Ультраструктура стінки кровоносного капіляра поля СА 1 гіпокампу старих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ. *Примітка:* Пк – просвіт капіляра; Эн – ендотелій; БМ – базальна мембрана; П – перицит.



А

Б

Рис. 6.36. Ультраструктура стінки кровоносного капіляра поля СА 1 і СА 3 гіпокампу старих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ: А – набухання відростків астроцитів (поле СА 3); Б – утворення мікроворсинок (поле СА 1). *Примітка:* Пк – просвіт капіляра; Эн – ендотелій; БМ – базальна мембрана; ОА – відросток астроциту; Мв – мікровілі.

Таким чином, при електронно-мікроскопічному дослідженні гіпокампу молодих контрольних щурів встановлено, що основні його клітинні елементи були представлені типовими пірамідними нейронами. В полі СА 1 щільно розташовані клітини утворювали два шари – поверхневий і глибокий, а в полі СА 3 ультраструктура нейронів характеризувалася високою структурно-

функціональною активністю, на що вказувало наявність великої кількості мітохондрій з виразними кристами, які перебували в різних областях цитоплазми. Ультраструктура пірамідних нейронів поля СА 1 гіпокампу старих контрольних щурів характеризувалася наявністю дегенеративно змінених клітин. У цитоплазмі нейронів були присутні нечисленні мітохондрії з матриксом середньої електронної щільності і укороченими кристами, мали місце набряклі мітохондрії з просвітленим матриксом і скороченими кристами, зазначалась також наявність гігантських мітохондрій. Для ультраструктурної організації пірамідних нейронів поля СА 3 гіпокампу було характерно зниження їх чисельності. Виявлялися ознаки вікової дегенерації такі як внутрішньоядерні включення у вигляді пучків філаментів, а також оточені одиначною мембраною вакуолеобразні структури.

Через місяць після застосування 9 сеансів РЕХВ в температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C) у молодих тварин в ультраструктурі пірамідних нейронів полів СА 1 і СА 3 гіпокампу виявлялися ознаки їх високої структурно-функціональної активності. Про це свідчили переважання ядер з електроннопрозорим матриксом, заповненим, головним чином еухроматином, а також примембрана локалізація ядерця. Субклітинні процеси в нейронах полів СА 1 і СА 3 гіпокампу старих щурів через місяць після РЕХВ характеризувалися різним рівнем структурно-функціональної активності, пов'язаної з віковими та адаптаційними змінами. Зменшувалася кількість внутрішньоядерних включень в ядрах нейронів, зустрічалися клітини з добре розвиненим гранулярним ЕПР, зв'язаним з мітохондріями. Однак мало місце і перетворення гранулярного ЕПР в агранулярний з розширенням і вакуолізацією цистерн, що свідчило про розвиток застійних процесів в цитоплазмі нейронів. В ультраструктурі мембранних і везикулярних елементів комплексу Гольджі переважали адаптаційні перебудови такі як його гіперплазія і гіпертрофія. У цитоплазмі багатьох нейронів перебудови ультраструктури мітохондрій носили також адаптаційний характер, що проявлялося в невеликому просвітлінні матриксу зі збереженням крист.

Можна зробити висновок, що у молодих і старих тварин використання РEXB в зазначеному температурному режимі стимулює синтетичні, біоенергетичні та метаболічні функції клітин і судин головного мозку, тим самим підвищуючи їх адаптаційний потенціал.

За матеріалами розділу 6 опубліковано роботи [379, 380, 381, 382, 383, 384].

РОЗДІЛ 7

ЗМІНИ КОГНІТИВНИХ ФУНКЦІЙ МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ ДО І НА ТЛІ ЗАСТОСУВАННЯ РІЗНИХ РЕЖИМІВ РИТМІЧНОГО ЕКСТРЕМАЛЬНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ

Незважаючи на збільшення тривалості життя на тлі старіння населення в ряді країн планети частота нейродегенеративних захворювань не зменшується. Так, за даними ВООЗ, зараз цими хворобами в світі страждає близько 35 млн. людей з наміченою тенденцією до збільшення [385, 386, 387]. Серед них найпоширенішою є хвороба Альцгеймера, що служить причиною слабоумства. Якість життя людей похилого віку в значній мірі залежить, від ступеня збереження їх психічних функцій [388, 389].

Когнітивні або пізнавальні функції являють собою найбільш складні функції головного мозку, за допомогою яких здійснюється процес раціонального пізнання світу і забезпечується цілеспрямована взаємодія з ним. Вони включають процес сприйняття, обробки, аналізу, запам'ятовування, зберігання, обміну інформацією, а також побудови та здійснення програми дій [385, 386]. До них відносяться: пам'ять, увага, орієнтація в місці і часі, мова, кмітливість, сприйняття, здатність до засвоєння і збереження рухових навичок [386].

Пам'ять це складна психічна функція, що залежить від багатьох психічних властивостей: установок, соціальних факторів, настрою і фізичного здоров'я організму, яке, в свою чергу, страждає в літньому віці [389]. Вченими відзначений той факт, що в процесі старіння організму відбувається нерівномірний спад функції пам'яті. Так оперативна пам'ять має більшу тенденцію до зниження, а короточасна і обсяг безпосередньої пам'яті знижується не так стрімко [390].

Нормальне або фізіологічне старіння при проходженні всіх етапів похилого віку, характеризується змінами, яких зазнає перший блок мозку в своїй роботі. Відбувається зсув балансу нейродинамічних параметрів психічної активності

людини, і починають переважати гальмівні процеси [391]. Як правило, проявляється це помітною загальною сповільненістю у виконанні діяльності, знижується обсяг пам'яті, відзначаються зміни в мнестичних функціях, з'являється загальна сповільненість і латентність при виконанні діяльності на початкових етапах.

Відомо, що при старінні організму виникають порушення в фізіології процесів пам'яті, мислення, поведінкових реакцій, які супроводжуються морфологічними змінами структури в певних ділянках центральної нервової системи, зокрема сенсомоторних ділянках кори головного мозку, зонах CA1, CA3 гіпокампу. Ці зміни призводять до порушення зв'язків між різними відділами ЦНС, дисбалансу в синтезі і виділенні необхідних нейромедіаторів. З віком також знижуються процеси нейрогенезу, що сприяє порушенню функції гіпокампа і підвищенню ризику розвитку нейродегенеративних захворювань.

Таким чином, когнітивна недостатність, наростаюча тяжкість когнітивного дефіциту, що розвивається на тлі старіння, є однією з основних проблем сучасної медико-біологічної практики. Тому пошук адекватних і обґрунтованих способів профілактики та корекції порушень когнітивних здібностей набуває особливої актуальності.

У зв'язку з тим, що структурні зміни гіпокампу корелюють з порушеннями когнітивних функцій в процесі старіння на наступному етапі експериментальних досліджень нами було вивчено вплив різних режимів ритмічного екстремального охолодження на стан когнітивних функцій молодих і старих щурів.

В ході проведення досліджень нами було виявлено (табл. 7.1), що у молодих контрольних тварин вже після другої спроби час який знадобився їм для знаходження платформи в ВЛМ скорочувався в 1,5 рази, з третьої і четвертої практично в 1,9 рази, з п'ятої в 4,1 рази, а з шостої і сьомої в 8,2 і 7,2 рази відповідно.

У молодих щурів через тиждень після застосування РЕХВ в температурному режимі (-120°C ; -120°C ; -120°C) (табл. 7.1) ми не спостерігали

статистично значущих відмінностей в часових показниках знаходження платформи в ВЛМ на всіх етапах тестування. Лише через місяць після ритмічного екстремального охолодження в зазначеному режимі в другій та третій спробах мало місце зниження часу пошуково-поведінкових реакцій у порівнянні з контрольними тваринами. Однак, починаючи з четвертого етапу, час знаходження платформи не скорочувався і практично відповідав контрольним показникам.

Таблиця 7.1

Динаміка змін когнітивних функцій молодих щурів, за часом знаходження платформи в ВЛМ, до та після застосування різних режимів РЕХВ

Молоді щури	Спроби						
	1	2	3	4	5	6	7
	Час знаходження платформи, секунди						
1 – контроль	57±2	39±3	31±2	12±3	14±4	7±2	8±2
тиждень після РЕХВ (-120°C; -120°C; -120°C)	59±6	38±2	29±4	13±4	15±4	9±2	7±4
місяць після РЕХВ (-120°C; -120°C; -120°C)	58±6	34±2 ¹	22±4 ¹	11±4	12±4	9±2	10±2
тиждень після РЕХВ (-60°C; -120°C; -120°C)	56±2	33±2 ¹	26±2 ¹	13±3	12±2	8±2	10±4
місяць після РЕХВ (-60°C; -120°C; -120°C)	46±4 ¹	31±2 ¹	24±4 ¹	8±3 ¹	9±2 ¹	8±4	8±3
тиждень після РЕХВ (-60°C; -60°C; -60°C)	60±6	41±4	32±2	10±4	16±2	10±3	9±2
місяць після РЕХВ (-60°C; -60°C; -60°C)	60±4	40±4	33±2	11±2	15±3	7±2	10±2

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

У молодих щурів через тиждень після використання температурного режиму PEXB (-60°C ; -120°C ; -120°C) (табл. 7.1) динаміка зменшення часових параметрів пошуку платформи в ВЛМ виявлялася після другої і третьої спроби (в 1,2 рази). Проте через місяць після останньої процедури охолодження вже с першої, другої та третьої спроби час якій витрачали тварини на пошук платформи скорочувався практично в 1,3 рази, з четвертої в 1,5 рази, а з п'ятої в 1,6 рази, що свідчило про формування у них уявлення про просторове розташування платформи на основі зовнішніх по відношенню до басейну орієнтирів. На шостому і сьомому етапі тестування зазначений час не відрізнявся від контролю.

У молодих тварин режим PEXB (-60°C ; -60°C ; -60°C) (табл. 7.1) не приводив к статистично значущим відмінностям в часових показниках знаходження платформи в ВЛМ на всіх етапах тестування.

Нами встановлено, що у старих щурів, в порівнянні з молодими, процес навчання проходив значуще складніше і повільніше. Відзначалися значні труднощі в придбанні навичок пошуку платформи в ВЛМ (табл. 7.2), оскільки час, який проходив від запуску тварин в ВЛМ до знаходження ними платформи, подовжувався, а траєкторія руху при цьому ускладнювалась. Якщо у молодих щурів вже після другої спроби час знаходження платформи скорочувався і не перевищував 40 секунд то старим потрібно було практично в двічі більше часу на пошук платформи в ВЛМ. Крім того, на відміну від молодих у старих щурів цей час зменшувався лише після п'ятої, шостої та сьомої спроби, що свідчить про суттєве зниження у них оперативної пам'яті, контролю уваги і прийняття рішень, можливо за рахунок змін їх локомоторної активності.

Настільки яскраво виражені відмінності в показниках когнітивних функцій між молодими і старими тваринами також можуть бути обумовлені виявленими нами в попередніх розділах дистрофічними і деструктивними змінами органел пірамідних нейронів кори головного мозку, гіпоталамуса та гіпокампу, переважаням гуморально-метаболічної ланки регуляції серцевого ритму і симпатичної спрямованості вегетативних реакцій, яке має своє відображення у

формуванні афективної складової формування поведінкових реакцій. В першу чергу це стосується підвищеної тривожності, страху і непродуктивної (безцільної) рухової активності. В кінцевому рахунку цей стан відображається на еферентній частині функціональних систем організму, що відповідає прихованій домінанті формування довготривалої просторової пам'яті.

Використання температурного режиму РЕХВ (-120°C ; -120°C ; -120°C) у старих щурів, як через тиждень, так і через місяць після останньої процедури охолодження (табл. 7.2), не змінювало тимчасові параметри пошукових поведінкових реакцій в порівнянні з контролем. Спостерігалось статистично значуще зменшення часу знаходження платформи в ВЛМ при третій та четвертій спробах, при цьому на наступних етапах тестування ці відмінності не відрізнялись.

Отримані експериментальні дані тісно корелюють с попередніми, які свідчать про те, що застосування РЕХВ в зазначеному температурному режимі супроводжується симпатикотонічною спрямованістю регуляторних систем за рахунок активації симпатичного відділу ВНС, що і визначало особливості поведінкових реакцій старих тварин.

Використання РЕХВ в температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C) викликало якісно-кількісні зміни пошукових поведінкових реакцій (табл. 7.2). Якщо у контрольних тварин пошукова реакція при першій спробі перевищувала хвилину, то на тлі зазначеного режиму охолодження (особливо через місяць після РЕХВ) час пошуку платформи в ВЛМ статистично значуще скорочувався та наближався до показників молодих щурів. Аналогічна динаміка покращення когнітивних функцій у старих тварин спостерігалась і в інших спробах. Так через тиждень і місяць після РЕХВ у другій спробі час пошуку платформи зменшувався в 1,2 і 1,4 рази, у третій в 2,8 і 3,9 рази, у четвертій в 3,4 і 4,1 рази, у п'ятій в 1,9 і 2,7 рази, у шостій в 1,9 і 2,1 рази, а у сьомій в 1,5 і 2,1 рази відповідно.

Таблиця 7.2

Динаміка змін когнітивних функцій старих щурів, за часом знаходження платформи в ВЛМ, до та після застосування різних режимів РЕХВ

Старі щури	Спроби						
	1	2	3	4	5	6	7
	Час знаходження платформи, секунди						
контроль	80±3	78±4	67±6	61±4	24±2	23±2	21±4
тиждень після РЕХВ (-120°C; -120°C; -120°C)	60±4	60±2	46±4 ¹	47±2 ¹	22±2	21±4	20±2
місяць після РЕХВ (-120°C; -120°C; -120°C)	60±2	59±2	45±2 ¹	31±2 ¹	21±2	24±2	25±2
тиждень після РЕХВ (-60°C; -120°C; -120°C)	60±4	55±4 ¹	24±4 ¹	18±2 ¹	13±2 ¹	12±2 ¹	14±2 ¹
місяць після РЕХВ (-60°C; -120°C; -120°C)	57±2 ¹	47±2 ¹	17±4 ¹	15±2 ¹	9±2 ¹	11±2 ¹	10±2 ¹
тиждень після РЕХВ (-60°C; -60°C; -60°C)	62±4	61±4	66±4	65±4	26±4	24±2	22±2
місяць після РЕХВ (-60°C; -60°C; -60°C)	60±6	63±4	67±2	62±2	25±2	19±2	20±2

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

Застосування РЕХВ при температурному режимі (-60°C; -60°C; -60°C) не викликало значущих відмінностей в поведінкових реакціях, у порівнянні з контролем (табл. 7.2). Вочевидь встановлене при спектральному аналізі ВСР погіршення стійкості регуляторних систем і зниження компенсаторних можливостей організму старих тварин відбивалося на механізмах висхідних активуючих впливів підкіркових утворень на кору головного мозку і характеристиках мотиваційних збуджень.

Можна зробити висновок, що у старих щурів мав місце когнітивний дефіцит, який проявлявся в зниженні швидкості навчання і формування пам'яті. Застосування РЕХВ в температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C), на відміну від режимів (-120°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -60°C ; -60°C), в поведінкових тестах сприяло зменшенню часу знаходження платформи в ВЛМ, що свідчило про збільшення адаптаційно-компенсаторних можливостей організму даної групи тварин.

Таким чином, режим ритмічного екстремального охолодження (-60°C ; -120°C ; -120°C), як у молодих так і у старих щурів супроводжувався підвищенням цілеспрямованої рухової активності і просторової орієнтації, що в сукупності з раніше зазначеними нами змінами рівня нейрогуморальної регуляції, свідчить про активацію когнітивних процесів у тварин незалежно від їх віку.

Підсумовуючи отримані в ході експериментальних досліджень дані можна дійти до висновку, що у щурів різних вікових груп саме режим ритмічного екстремального охолодження (-60°C ; -120°C ; -120°C), на відміну від режимів (-120°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -60°C ; -60°C), сприяє істотному поліпшенню когнітивних функцій, оновленню ритміки нейрогуморальних впливів на організм, відновленню гормонсинтезуючої здатності щитоподібної і статевих залоз, активації метаболічних процесів в печінці, поліпшенню антиоксидантної системи, синтетичних, біоенергетичних, метаболічних функцій клітин і судин головного мозку.

За матеріалами розділу 7 опубліковано роботи [392].

УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Старіння являє собою послідовний природний фізіологічний процес, який супроводжується виснаженням захисних і регуляторних механізмів [393, 394, 395], зменшенням пластичності адаптаційних процесів [228, 2229, 230], зниженням загальної життєздатності організму [393], і, як наслідок, розвитком гострих і хронічних захворювань різних органів і систем.

Одним з провідних чинників старіння організму є розвиток функціональних порушень ВНС. В процесі старіння слабшають вегетативні впливи на міокард, перш за все парасимпатичні [396], що призводить до погіршення загальної регуляції серцевого ритму і до зміщення балансу симпато–парасимпатичних впливів у бік відносного переважання перших.

Крім того, з віком спостерігаються розлади загального метаболізму, що викликає такі метаболічні наслідки як гіперхолестеринемія і атерогенна дисліпідемія. Встановлено прямий зв'язок між вмістом загального холестерину і смертністю від серцево–судинних захворювань [323], показана залежність виникнення стрес–індукованої артеріальної гіпертензії у молодих і старих щурів при порушенні ліпідного профілю [328].

На сьогоднішній день профілактика безлічі захворювань, асоційованих зі старінням, можлива завдяки підвищенню власних адаптаційно–регуляторних можливостей літнього організму [397]. Тому актуальним для медико–біологічних цілей є пошук нових способів впливу на організм, здатних надавати генералізований, стимулюючий вплив на гомеостатичні регуляторні системи з метою збереження і поліпшення якості життя літніх людей.

Холодові впливи – це один з методів, в основі якого лежить здатність холоду активувати процеси саморегуляції і збільшувати адаптаційні резерви організму [144]. Активне застосування ЗКТ (-120°C) в клінічній практиці для лікування широкого спектру соматичних захворювань і психосоматичних розладів дозволяє віднести її до перспективних методів сучасної відновної

медицини [20, 102]. Вплив кріотерапії на організм являє собою системний фізіологічний процес, який протікає на різних організаційних і регуляторних рівнях [18].

Відомо [37, 55, 142, 146, 182, 210], що ритмічне екстремальне охолодження (-120°C) підвищує лабільність регуляторних процесів в ЦНС і ССС, стимулює їх прямі і зворотні зв'язки, нормалізує симпато–парасимпатичний баланс ВНС з подальшою оптимізацією механізмів гомеостазу.

Однак, незважаючи на високу терапевтичну ефективність РЕХВ [220], обумовлену нормалізацією вегетативних функцій, підвищенням адаптаційних можливостей старіючого організму, в ряді випадків використання екстремального охолодження, особливо у літніх людей, супроводжується виникненням побічних ефектів, таких як підвищення артеріального тиску, виражена тахікардія, нетривалі порушення просторової пам'яті і т.д. У зв'язку з вище наведеним перспективним представляється проведення подальших фундаментальних досліджень стосовно визначення дії різних режимів РЕХВ на стан нейрогуморальної системи організму експериментальних тварин з метою створення оптимальних режимів охолодження, які здатні надавати не тільки стимулюючий вплив на гомеостаз, а і мінімізувати вірогідність розвитку негативних реакцій з боку його основних функціональних систем.

В роботі нами були вивчені особливості впливу різних режимів ритмічного екстремального охолодження на структурно–функціональний стан нейрогуморальної системи організму молодих і старих тварин.

Аналіз хвильової структури серцевого ритму у молодих контрольних тварин показав наявність у них швидкої (рефлекторної) системи регуляції серцевого ритму. У структурі загальної потужності спектра нейрогуморальної регуляції переважала активність вегетативних центрів (LF– і HF–компонент), причому парасимпатичні впливи на міокард превалювали над симпатичними.

У молодих щурів на тлі застосування 9 сеансів РЕХВ в температурному режимі (-120°C ; -120°C ; -120°C) встановлено, що після 6 і 9 процедури

охолодження, а також через тиждень після РЕХВ, показники ТР статистично значуще збільшувалися щодо контрольних значень (в 2,2, 2,7 і 2,9 рази відповідно) за рахунок підвищення тонуусу як симпатичного і парасимпатичного відділу ВНС, так і гуморально–метаболическої ланки регуляції (VLF– компонент).

У віддалені терміни спостережень (через місяць після останньої процедури охолодження) ще більш істотне зростання загальної спектральної потужності нейрогуморальної регуляції (в 3,6 рази) було наслідком активації парасимпатичного відділу ВНС.

Виявлено, що у молодих щурів використання 9 сеансів РЕХВ при температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C) супроводжувалось аналогічною динамікою змін основних показників спектрального аналізу ВСР. При цьому, на відміну від попереднього режиму охолодження, рівень загальної потужності спектра нейрогуморальної регуляції кількісно більш істотно зростав у віддалені терміни експериментальних досліджень (практично в 3,6 рази через тиждень і в 4,2 рази через місяць після останньої процедури охолодження), а активність гуморально–метаболическої ланки регуляції статистично значуще збільшувалася в порівнянні з контрольними показниками (в 4,3 рази) тільки через місяць після 9–ої процедури РЕХВ.

Показано, що у старих інтактних щурів спостерігалися істотні порушення структури спектра нейрогуморальної регуляції серцевого ритму. Підвищувався рівень гуморально–метаболических впливів на міокард на тлі зменшення тонуусу симпатичного і парасимпатичного відділів ВНС.

Аналіз хвильової структури серцевого ритму старих тварин після застосування 9 сеансів РЕХВ при температурному режимі (-120°C ; -120°C ; -120°C) встановив, що після 3 і 6 процедури охолодження значення загальної потужності спектра нейрогуморальної регуляції статистично значуще зростали щодо контролю (в 1,5 і 2 рази відповідно) за рахунок збільшення тонуусу симпатичного відділу ВНС, в той час як активність парасимпатичного відділу і гуморально–метаболическої ланки регуляції достовірно не змінювалася.

Після 9 сеансу РЕХВ і у віддалені терміни спостережень зростання ТР, як щодо попередніх етапів експериментальних досліджень, так і по відношенню до контрольних показників (у 2,9, 3,4 і 4,6 рази відповідно) було результатом активації не тільки симпатичного, але і парасимпатичного відділу ВНС (в 5,3 рази через тиждень і в 9,6 рази через місяць після охолодження), а також гуморальної ланки регуляції.

При спектральному аналізі ВСР у старих тварин на тлі використання 9 сеансів РЕХВ при температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C) нами доведено, що на відміну від попереднього режиму в усі терміни експериментальних досліджень показник ТР статистично значуще збільшувався щодо контрольних значень в основному завдяки підвищенню тону вегетативних центрів. У структурі ТР переважав вплив парасимпатичного відділу ВНС. Через місяць, в порівнянні з контрольними показниками, зафіксовано збільшення ТР в 8, LF в 11,9, HF в 21,1 рази. При цьому активність гуморальної ланки регуляції значуще збільшувалася тільки у віддалені терміни спостережень, що ймовірно можна пояснити впливом ендокринних і гуморальних факторів на синусовий вузол, а також зв'язком хвиль цієї частоти з ритмами терморегуляції.

Застосування температурного режиму РЕХВ (-60°C ; -60°C ; -60°C) у молодих і старих тварин не приводило до достовірних змін всіх досліджуваних параметрів ВСР.

Таким чином, дані спектрального аналізу ВСР свідчать про те, що використання температурних режимів РЕХВ (-120°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -120°C ; -120°C) сприяє підвищенню адаптаційних можливостей організму молодих тварин за рахунок активації як вегетативних центрів, так і гуморально-метаболическої ланки регуляції. У старих щурів використання РЕХВ в температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C), в порівнянні з режимом охолодження (-120°C ; -120°C ; -120°C), в усі терміни експериментальних досліджень супроводжувалося статистично значущим збільшенням загальної потужності спектра нейрогуморальної регуляції не тільки за рахунок активації

однієї ланки регуляції, а завдяки збалансованому підвищенню тонусу всіх регуляторних ланок. Можна зробити висновок, що температурний режим РЕХВ (-60°C ; -120°C ; -120°C) є найбільш оптимальним для старих тварин, що обґрунтовує перспективність його застосування в геронтологічній практиці для підвищення власних адаптаційно–регуляторних можливостей літнього організму, з метою профілактики розвитку захворювань часто супутніх старінню.

Ендокринна система організму людини представлена тканинами і органами, клітини яких продукують гормони. Їй належить провідне місце в спеціалізованому управлінні різноманітними процесами життєдіяльності на рівні цілісного організму. Виходячи з того, що з віком істотно слабшає функціональна активність щитоподібної залози, кори наднирників і статевих залоз, що супроводжується вираженими метаболічними порушеннями в організмі [319, 320], нами була дана оцінка рівня ДГЕАС, кортикостерону, тиреоїдних і статевих гормонів та показників ліпідного профілю сироватки крові тварин різних вікових груп під впливом різних режимів РЕХВ.

Виявлено, що на наступну добу і через тиждень після проведення 9 сеансів РЕХВ з використанням температурного режиму (-120°C ; -120°C ; -120°C) вміст T_3 і T_4 в сироватці крові молодих щурів зменшувався щодо показників контрольних тварин. Через місяць після останньої процедури охолодження спостерігалася динаміка відновлення концентрації гормонів щитоподібної залози до рівня контрольних значень. Застосування РЕХВ в температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -60°C ; -60°C) не супроводжувалося статистично значущими змінами рівня тиреоїдних гормонів.

Існують дані про можливий зв'язок тиреоїдної активності і дегідроепіандростероном. В наших дослідженнях показано, що застосування 9 процедур РЕХВ в температурному режимі (-120°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -120°C ; -120°C) приводило до достовірного підвищення вмісту ДГЕАС в сироватці крові молодих щурів на наступну добу і через тиждень після останнього сеансу охолодження. Збільшення концентрації ДГЕАС в дані терміни спостережень

можна імовірно розглядати як компенсаторну реакцію організму експериментальних тварин у відповідь на зниження активності тиреоїдної системи викликаній екстремальним охолодженням. Через місяць після РЕХВ рівень цього гормону відповідав показникам контролю. Використання РЕХВ в режимі (-60°C ; -60°C ; -60°C) не приводило до статистично значущих змін вмісту ДГЕАС в усі терміни експериментальних досліджень.

Кортикостерон у щурів є основним і найбільш активним глюкокортикоїдом, подібним до кортизолу у людини. Встановлено, що після 3-го, 6-го і 9-го сеансу РЕХВ в режимі (-120°C ; -120°C ; -120°C) у молодих щурів мала місце тенденція до достовірного збільшення вмісту кортикостерону в сироватці крові по відношенню до контролю, яка зберігалася і у віддалені терміни спостережень. Аналогічна динаміка відзначалася й у молодих тварин, яких охолоджували, використовуючи режим (-60°C ; -60°C ; -60°C).

Застосування 9 процедур РЕХВ в температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C) супроводжувалося статистично значущим підвищенням рівня кортикостерону лише на ранніх етапах експериментальних досліджень (після 3-го і 6-го сеансу РЕХВ), в той час як на наступну добу, через тиждень і місяць після охолодження його концентрація знижувалася і практично відповідала показникам контролю.

Рівень тестостерону (Тс) в крові є одним із маркерів адаптаційних можливостей організму. Використання РЕХВ в режимі (-120°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -120°C ; -120°C) приводило до достовірного збільшення вмісту Тс в сироватці крові молодих щурів після 3-го, 6-го, а також на наступну добу і через тиждень після 9-го сеансу охолодження з подальшою нормалізацією його концентрації через місяць після останнього холодового впливу. Застосування режиму РЕХВ (-60°C ; -60°C ; -60°C) не супроводжувалося статистично значущими змінами вмісту Тс.

Нами виявлено, що у старих інтактних щурів вміст тиреоїдних гормонів у сироватці крові істотно знижувався в порівнянні з молодими. Використання

РЕХВ в температурних режимах (-120°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -120°C ; -120°C) призводило до стимуляції функції тиреоїдної системи. У сироватці крові тварин даної вікової групи відзначалося статистично значуще збільшення рівня трийодтироніну і тироксину.

Підвищення концентрації T_3 і T_4 відбувалося синхронно зі збільшенням кількості процедур охолодження і досягало максимальних значень після 9 сеансів РЕХВ (практично в два рази по відношенню до контролю). У віддалені терміни спостережень вміст тиреоїдних гормонів достовірно перевищував показники контролю. Аналогічна динаміка збільшення рівня T_3 і T_4 мала місце при проведенні РЕХВ в режимі (-60°C ; -60°C ; -60°C), однак при використанні даного режиму охолодження підвищення концентрації гормонів щитоподібної залози було менш виражено.

Застосування РЕХВ, причому у всіх температурних режимах, супроводжувалося достовірним підвищенням концентрації ДГЕАС в сироватці крові старих тварин (в порівнянні з контролем), як після 3-го, 6-го, 9-го сеансу охолодження, так і в віддалені терміни досліджень.

На цьому тлі відзначалася динаміка до зменшення рівня кортикостерону після 3, 6 і 9-ої процедури РЕХВ, але вже через тиждень і місяць після холодових впливів його вміст у сироватці крові відповідав показникам контролю.

Показано, що у старих щурів концентрація статевих стероїдів, зокрема тестостерону, знижувалася в порівнянні з молодими тваринами. Використання РЕХВ в температурних режимах (-120°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -120°C ; -120°C) надавало стимулюючий вплив на секрецію статевих гормонів. Так на наступну добу після 9 сеансів охолодження рівень T_c в сироватці крові старих щурів достовірно збільшувався щодо інтактних тварин, причому через тиждень і місяць після холодових впливів його вміст в 3 рази перевищував контрольні значення. Застосування режиму РЕХВ (-60°C ; -60°C ; -60°C) також сприяло статистично значущому підвищенню концентрації T_c , однак не настільки значному.

Коливання рівня естрадіолу в сироватці крові молодих і старих тварин при застосуванні досліджуваних режимів РЕХВ знаходилися в межах контрольних значень.

Ліпіди відіграють важливу роль в життєдіяльності як людини, так і тварин, оскільки дисліпідемія є фактором ризику, який визначає наявність і ступінь тяжкості ряду захворювань [315]. Встановлено, що використання РЕХВ в температурних режимах (-120°C ; -120°C ; -120°C), (-60°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -60°C ; -60°C) призводило до змін ліпідного складу сироватки крові молодих щурів. Так застосування режиму РЕХВ (-120°C ; -120°C ; -120°C) супроводжувалося достовірним збільшенням рівня ЗХ, ТГ, ХСЛПНЩ і відповідно КА після 3-ої, 6-ої і 9-ої процедури охолодження. У віддалені терміни спостережень вміст даних фракцій ліпідів знижувався і відповідав показникам контролю. При цьому рівень ХСЛПВЩ, ХСЛПДНЩ на всіх етапах експериментальних досліджень не змінювався.

Використання режиму РЕХВ (-60°C ; -120°C ; -120°C) надавало більш м'який вплив на ліпідний профіль сироватки крові молодих щурів. Статистично значуще підвищення концентрації ЗХ, ТГ, ХСЛПНЩ і КА мало місце тільки після 6 сеансів РЕХВ. На наступну добу, через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження показники ліпідограми відповідали контрольним значенням.

В процесі старіння відбувається уповільнення загального метаболізму, накопичення жирів в органах і тканинах за рахунок збільшення концентрації ЗХ і ТГ. У наших дослідженнях виявлено, що у старих інтактних щурів рівень ЗХ, ХСЛПНЩ і КА істотно підвищувався в порівнянні з молодими. Застосування РЕХВ в температурному режимі (-120°C ; -120°C ; -120°C) супроводжувалося зниженням вмісту в сироватці крові ЗХ, ТГ і практично всіх фракцій ліпопротеїнів, як після 3-го, 6-го і 9-го сеансу, так і через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження. Однак співвідношення корисних фракцій ліпідів і атерогенних було неоднозначно, оскільки рівень ХСЛПВЩ («корисного»

холестерину) також зменшувався. Такі зміни ліпідогамми у старих щурів можуть свідчити про використання ліпідів як джерела енергії, а оскільки з віком печінка в меншій мірі бере участь в загальному метаболізмі, то і транспортна роль ХСЛПВЩ також знижується.

У старих тварин, які охолоджувалися при використанні температурного режиму (-60°C ; -120°C ; -120°C), рівень ЗХ, ХСЛПНЩ і КА в сироватці крові статистично значуще знижувався щодо показників контролю в усі терміни експериментальних досліджень. При цьому на відміну від попереднього режиму, вміст ТГ та ХСЛПВЩ достовірно не змінювався.

Після застосування режиму РЕХВ (-60°C ; -60°C ; -60°C) в сироватці крові старих щурів спостерігалось статистично значуще зниження рівня ЗХ, ТГ і ХСЛПНЩ в усі терміни досліджень. На цьому тлі також відзначалось зменшення вмісту ХСЛПВЩ («корисного» холестерину), в результаті чого КА залишався підвищеним.

Таким чином, температурний режим РЕХВ (-60°C ; -120°C ; -120°C) є найбільш оптимальним для молодих і старих тварин, так як його використання супроводжувалось відновленням гормонсинтезуючої здатності щитоподібної і статевих залоз, а також активацією метаболічних процесів в печінці і досягненням нормоліпідемії.

Оскільки однією з систем, яка активно впливає на гомеостаз, є неферментативне ПОЛ, що виступає як універсальний модифікатор і важливий фізіологічний регулятор метаболічних процесів і функції клітин [372, 373], нами було визначено вплив різних режимів ритмічного екстремального охолодження на інтенсивність процесів ПОЛ в тканинах головного мозку щурів різних вікових груп.

Встановлено, що у молодих щурів на наступну добу після застосування 9 сеансів РЕХВ при температурному режимі (-120°C ; -120°C ; -120°C) рівень МДА в тканинах головного мозку значуще не змінювався ні в одній з трьох досліджених реакціях ПОЛ (вихідній, індукованій та спонтанній).

При цьому через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження вміст МДА в тканинах головного мозку молодих тварин у вихідній реакції ПОЛ значуще знижувався по відношенню до показників контролю (в 3,5 рази). У присутності прооксидантів (солі Мора та аскорбінової кислоти) (індуковане ПОЛ) і в їх відсутності (спонтанне ПОЛ) процес ПОЛ в мозковій тканині щурів також характеризувався статистично нижчими показниками МДА в порівнянні з контрольними тваринами. Рівень МДА знижувався в 1,1 і 1,4 рази у індукованій та в 1,2 і 1,5 рази у спонтанній реакціях ПОЛ.

Схожа динаміка змін вмісту МДА в тканинах головного мозку молодих щурів спостерігалася нами на тлі використання РЕХВ в температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C). Проте на відміну від попереднього режиму через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження, в порівнянні з контрольними тваринами, вміст МДА в тканинах головного мозку зменшувався в 2,5 і 3,5 рази у вихідній, в 1,4 і 1,6 рази у індукованій та в 1,5 і 2 рази у спонтанній реакціях ПОЛ.

Встановлено, що в групі старих інтактних щурів вміст МДА в тканинах головного мозку збільшувався в порівнянні з молодими, що свідчило про інтенсифікацію процесів ПОЛ і зниження в них антиоксидантної системи захисту.

На наступну добу і через тиждень після застосування 9 сеансів РЕХВ при температурному режимі (-120°C ; -120°C ; -120°C) в тканинах головного мозку старих тварин зазначалося статистично значуще збільшення швидкості накопичення МДА в індукованій реакції ПОЛ, а через місяць після останньої процедури охолодження дані показники відповідали контрольним значенням. У той же час вміст МДА в спонтанній і вихідній реакціях ПОЛ достовірно не змінювався в усі терміни експериментальних досліджень.

У старих тварин, використання 9 сеансів РЕХВ в температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C) супроводжувалося найбільш вираженими змінами швидкості накопичення МДА в тканинах головного мозку. На наступну добу після останньої процедури охолодження, в порівнянні з контрольними

показниками, спостерігалось статистично значуще збільшення рівня МДА у спонтанній і індукованій реакціях ПОЛ (на 49%).

Через тиждень після РЕХВ дана динаміка зростання зберігалася, причому швидкість накопичення МДА в вихідній і індукованій реакціях ПОЛ, в порівнянні з контролем, підвищувалася на 74 і 62% відповідно. Через місяць після 9 сеансів РЕХВ, в присутності прооксидантів і в їх відсутності, процес ПОЛ характеризувався значним зниженням рівня МДА в тканинах головного мозку (на 41 і 49% відповідно). При цьому вміст МДА у вихідній реакції ПОЛ достовірно не відрізнявся від показників інтактних щурів.

Застосування 9 сеансів РЕХВ в температурному режимі (-60°C ; -60°C ; -60°C) не супроводжувалось значущими змінами інтенсивності процесів ПОЛ в тканинах головного мозку молодих і старих щурів.

Можна зробити висновок, що РЕХВ по-різному впливали на інтенсивність процесів ПОЛ в тканинах головного мозку молодих і старих щурів в залежності від температурного режиму. У молодих тварин температурні режими РЕХВ (-120°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -120°C ; -120°C) виявилися найбільш сприятливими, оскільки на відміну від режиму (-60°C ; -60°C ; -60°C) проявляли виражені антиоксидантні властивості, активізуючи систему антиоксидантного захисту. Режим РЕХВ (-60°C ; -120°C ; -120°C) на початкових етапах досліджень збільшував вміст МДА в тканинах головного мозку старих щурів, при цьому на відміну від режиму (-120°C ; -120°C ; -120°C), у відповідь на надмірне накопичення продуктів ПОЛ адекватно активував антиоксидантну систему.

Електронно-мікроскопічні дослідження нейронів і ендотеліоцитів кори головного мозку, гіпоталамусу та гіпокампу молодих контрольних щурів свідчили про їх високу структурно-функціональну активність, що підтверджувалось наявністю великої кількості мітохондрій і крист у них, присутністю гантелеподібних форм, відсутністю деструкцій внутрішньоклітинних мембранних структур і органел цих клітин. Крім того, вторинні лізосоми і включення ліпідів у цих тварин не виявлялися. У старих контрольних тварин субмікроскопічна

організація нейронів і ендотеліоцитів кори головного мозку, гіпоталамусу та гіпокампу характеризувалася наявністю яскраво виражених дистрофічних і деструктивних змін їх органел. Ядерна мембрана була потовщена, розпушена і володіла високою електронною щільністю. Спостерігалися вогнища її лізису. В цитоплазмі визначалася невелика кількість набряклих мітохондрій, різних розмірів. Зустрічалися мітохондрії з тотально зруйнованими зовнішніми мембранами і кристами. У цитоплазмі виявлялися великі вторинні лізосоми, в структурі яких містилися деструктивно змінені органели і мембрани.

В ультраструктурній організації нейронів і ендотеліоцитів кори головного мозку, гіпоталамусу та гіпокампу молодих щурів через місяць після 9 сеансів РЕХВ при температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C) мали місце зміни, що свідчили про помірно виражену активацію біоенергетики, за рахунок збільшення, як числа мітохондрій, так і крист в них. Деструктивно змінених мітохондрій в цитоплазмі не спостерігалось. Крім того, підвищення функціонального стану мітохондрій підтверджувалося наявністю в препаратах форм мітохондрій, що діляться. В цитоплазмі істотно збільшувалась кількість вільно лежачих рибосом, полісом і секреторних гранул.

У старих тварин через місяць після використання даного режиму РЕХВ в субмікроскопічній будові нейронів кори головного мозку, гіпоталамусу та гіпокампу зберігались дистрофічні і деструктивні зміни вікового характеру. Поряд з цим, збільшувалась їх функціональна активність, що структурно проявлялося в появі форм мітохондрій, що діляться і збільшенні кількості, як пов'язаних з мембранами рибосом, так і вільних рибосом і полісом в цитоплазмі. У цитоплазмі були відсутні вторинні лізосоми і включення ліпофусцину. У пластинчастому цитоплазматичному комплексі Гольджі розвивалась гіпертрофія мембран. Цитоплазматична мембрана набувала типову будову і не містила вогнищ розпушення і лізису.

Відомо, що при старінні організму виникають порушення в фізіології процесів пам'яті, мислення, поведінкових реакцій, які супроводжуються

морфологічними змінами структури в певних ділянках центральної нервової системи. У зв'язку з тим, що структурні зміни гіпокампу корелюють з порушеннями когнітивних функцій в процесі старіння на заключному етапі експериментальних досліджень нами було вивчено вплив різних режимів ритмічного екстремального охолодження на стан когнітивних функцій молодих і старих щурів.

Виявлено, що у молодих контрольних тварин вже після другої спроби час який знадобився їм для знаходження платформи в ВЛМ скорочувався в 1,5 рази, з третьої і четвертої практично в 1,9 рази, з п'ятої в 4,1 рази, а з шостої і сьомої в 8,2 і 7,2 рази відповідно. У старих щурів мав місце когнітивний дефіцит, який проявлявся в зниженні швидкості навчання і формування пам'яті. Відзначалися значні труднощі в придбанні навичок пошуку платформи в ВЛМ, оскільки час, який проходив від запуску тварин в ВЛМ до знаходження ними платформи, подовжувався, а траєкторія руху при цьому ускладнювалась.

У молодих тварин через місяць після використання температурного режиму РЕХВ (-60°C ; -120°C ; -120°C) вже с першої, другої та третьої спроби час якій витрачали тварини на пошук платформи скорочувався практично в 1,3 рази, з четвертої в 1,5 рази, а з п'ятої в 1,6 рази, що свідчило про формування у них уявлення про просторове розташування платформи на основі зовнішніх по відношенню до басейну орієнтирів.

У старих щурів застосування РЕХВ в температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C), на відміну від режимів (-120°C ; -120°C ; -120°C) і (-60°C ; -60°C ; -60°C), в поведінкових тестах сприяло зменшенню часу знаходження платформи в ВЛМ, що свідчило про збільшення адаптаційно-компенсаторних можливостей організму даної групи тварин.

Таким чином, можна зробити висновок, що застосування 9 сеансів РЕХВ при температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C), особливо у старих щурів, сприяє підвищенню адаптаційно-компенсаторного потенціалу організму за рахунок нормалізації нейрогуморальної регуляції, стимуляції тиреоїдної, і

статевої системи, активації метаболічних процесів в печінці і досягненням нормоліпідемії, поліпшення когнітивних функцій, а також структури нейронів кори головного мозку, гіпоталамусу та гіпокампу на ультрамікроскопічному рівні.

Отримані експериментальні дані обґрунтовують доцільність створення нових більш оптимальних режимів ритмічного екстремального охолодження з метою корекції порушеного гомеостазу та дадуть змогу значно розширити терапевтичний спектр застосування РЕХВ, що в свою чергу може привести до покращення якості і тривалості життя людей похилого віку.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукового завдання, що дозволяє виявити спрямованість та рівень активності адаптаційних і компенсаторних процесів, які відбуваються в нейрогуморальній системі організму молодих і старих тварин на тлі використання різних режимів РЕХВ. Отримані експериментальні дані обґрунтовують доцільність розробки нових більш оптимальних режимів ритмічного екстремального охолодження для корекції порушеного гомеостазу та дадуть змогу розширити терапевтичний спектр застосування РЕХВ, з метою покращення якості і тривалості життя людей похилого віку.

1. За допомогою спектрального аналізу ВСР виявлено, що у старих контрольних щурів мали місце істотні порушення структури спектра нейрогуморальної регуляції ВСР. З'ясовано, що незалежно від віку тварин, застосування температурних режимів РЕХВ (-60°C ; -120°C ; -120°C) і (-120°C ; -120°C ; -120°C), сприяло збільшенню показника ТР за рахунок активації як вегетативних центрів, так і гуморальної ланки регуляції. Водночас на тлі використання режиму РЕХВ (-60°C ; -120°C ; -120°C) рівень ТР кількісно більш зростав щодо контролю через тиждень і місяць після останньої процедури охолодження (у молодих щурів в 3,6 і 4,2 рази, а у старих в 4,6 і 8 рази).

2. Показано, що у старих інтактних щурів вміст тиреоїдних і статевих гормонів у сироватці крові зменшувався в порівнянні з молодими. Застосування температурних режимів РЕХВ (-120°C ; -120°C ; -120°C) та (-60°C ; -120°C ; -120°C) у старих тварин, в порівнянні з режимом (-60°C ; -60°C ; -60°C), супроводжувалось відновленням гормонсинтезуючої здатності щитоподібної та статевих залоз (через місяць після охолодження рівень загального T_3 і T_4 , щодо контролю, збільшувався в 1,3 та 1,5 рази відповідно, а T_c в 3 рази).

3. У старих контрольних щурів рівень ЗХ, ХСЛПНЩ і КА підвищувався в порівнянні з молодими. Використання режиму РЕХВ (-120°C ; -120°C ; -120°C) у

молодих тварин на початкових етапах досліджень викликало гіперліпідемію з подальшим зниженням рівня атерогенних фракцій ліпідів. На цьому тлі режим (-60°C ; -120°C ; -120°C) не супроводжувався вираженою стресовою реакцією організму у вигляді гіперліпідемії. У старих тварин тільки режим охолодження (-60°C ; -120°C ; -120°C) призводив до нормалізації співвідношення корисних фракцій ліпідів і атерогенних, а концентрація ліпідів в сироватці крові і їх баланс практично відповідали показникам молодих тварин.

4. В групі старих інтактних щурів вміст МДА в тканинах ГМ значуще збільшувався в порівнянні з молодими (в 1,5 рази), що свідчило про інтенсифікацію процесів ПОЛ. Виявлено, що режим РЕХВ (-60°C ; -120°C ; -120°C) на початкових етапах досліджень збільшував рівень МДА в тканинах ГМ тварин незалежно від їх віку, при цьому на відміну від режиму (-120°C ; -120°C ; -120°C) у відповідь на надмірне накопичення продуктів ПОЛ активував антиоксидантну систему.

5. При електронно-мікроскопічному дослідженні нейронів кори ГМ, гіпоталамусу та гіпокампу старих щурів показано, що в них розвивалися внутрішньоклітинні катаболічні процеси. Органели мали ознаки, дистрофічних і деструктивних порушень мембранних структур. Використання 9 сеансів РЕХВ в температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C) стимулювало синтетичні і метаболічні процеси в клітинних елементах кори ГМ, гіпоталамусу та гіпокампу тварин різних вікових груп. У цитоплазмі були відсутні деструктивно змінені мітохондрії, вторинні лізосоми і включення ліпофусцину.

6. Виявлено, що у старих щурів відзначалися труднощі в придбанні навичок знаходження платформи в ВЛМ. Застосування РЕХВ в температурному режимі (-60°C ; -120°C ; -120°C) призводило до нормалізації когнітивних функцій старих тварин за рахунок підвищення просторової орієнтації і цілеспрямованої рухової активності.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Чернявська ОО. Дія ритмічних екстремальних кровопливів і кордової крові на стан регуляторних систем організму щурів при аліментарному ожирінні: дис. ... кандидата біологічних наук: 03.00.19 «Кріобіологія». Інститут проблем кріобіології і кріомедицини. Харків. 2019. 236 с.
2. Kuczynski AM, Ospe JM, Demchuk AM, Mitha AP, Almekhlafi M.A. Therapeutic Hypothermia in Patients with Malignant Ischemic Stroke and Hemispherectomy – A Systematic Review and Meta-analysis. *World Neurosurgery*. 2020; 141: 677–85.
3. Wu L, Wu D, Yang T, Xu J, Chen J, Wang L, Xu S, Zhao W, Wu C, Ji X. Hypothermic neuroprotection against acute ischemic stroke: The 2019 update. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2020; 40(3): 461–81.
4. Karnatovskaia LV, Wartenberg KE, Freeman WD. Therapeutic hypothermia for neuroprotection: history, mechanisms, risks, and clinical applications. *The Neurohospitalist*. 2014; 4(3): 153–163. doi: 10.1177/1941874413519802.
5. Kuczynski AM, Demchuk AM, Almekhlafi MA. Therapeutic hypothermia: Applications in adults with acute ischemic stroke. *Brain Circulation*. 2019; 5(2): 43–54.
6. Mäkinen TM. Different types of cold adaptation in humans. *Frontiers in Bioscience (Scholar Edition)*. 2010; 2: 1047–067. DOI: 10.2741/s117. PMID: 20515840.
7. Tang XN, Liu L, Yenari MA. Combination therapy with hypothermia for treatment of cerebral ischemia. *J Neurotrauma*. 2009; 26(3): 325–31. doi: 10.1089/neu.2008.0594. PMID: 19216635.
8. Lubkowska A, Dołęgowska B, Szyguła Z. Whole-Body Cryostimulation – Potential Beneficial Treatment for Improving Antioxidant Capacity in Healthy Men – Significance of the Number of Sessions. *PLoS One*. 2012; 7(10): e46352. doi: 10.1371/journal.pone.0046352.
9. Бабийчук ВГ. Механизмы действия экстремально низких температур на структурно-функциональное состояние центральной нервной и сердечно-

сосудистой систем у животных различных возрастных групп: дис. ... доктора мед. наук: 14.01.35 «Криомедицина». Институт проблем кприобиологии и криомедицины. Харьков. 2010. 335с.

10. Тетюра СМ, Антонова ВО. Вплив екстремальної кріотерапії на функціональний стан серцево-судинної системи людини. Питання експериментальної та клінічної медицини. 2009; 2(13): 72–79.

11. Панченко ОА, Оныщенко ВО, Лях ЮЄ. Реакція поверхневої та внутрішньої температури тіла людини під впливом екстремального охолодження. ФФізіологічний журнал. 2011; 57(6): 85–92.

12. Марченко ЛН, Бабийчук ГА, Марченко ВС и др. К механизмам регуляции проницаемости гематоэнцефалического барьера охлажденного мозга. Сообщение 4. Ультраструктурные особенности и функциональная активность гематоэнцефалического барьера при ритмических холодových воздействиях. Проблемы кприобиологии. 1995; 4: 10–19.

13. Марченко ВС, Бабийчук ВГ. Кардиорегуляторная функция гематоэнцефалического барьера при резонансной гипотермии. Проблемы кприобиологии. 2001; 4: 17–29.

14. Бабийчук ГА, Марченко ВС, Марченко ЛН, Полищук ЛВ. К концепции экзистозэнцефалической системы охлажденного мозга. Часть 2. Биоритмы холодového стресса. Проблемы кприобиологии. 2000; 36: 21–7.

15. Бабийчук ГА, Марченко ВС. Триггерная функция гематоэнцефалического барьера в нейротрансмиттерных механизмах терморегуляции при гипотермии и гибернации. Проблемы кприобиологии. 1997. 1–2: 72–77.

16. Шило АВ, Венцовская ЕА, Бабийчук ГА. Сон в структуре адаптивного ответа организма на холодové воздействия. Проблемы кприобиологии. 2012; 22(3): 296.

17. Rymaszewska J, Tulczynski A, Zagrobelny Z et al. Influence of whole body cryotherapy on depressive symptoms—preliminary report. *Acta Neuropsychiatrica*. 2003; 15: 122–28.
18. Портнов ВВ, Григорьева ВД, Дашина ТА и др. Воздушная криотерапия. Новые технологии в медицине: сборник докл. первой междунар. дистанцион. науч.-практ. конф. (г. Санкт-Петербург, 15–30 марта 2004 г.). СПб., 2004. с. 44–5.
19. Агаджанян НА, Медалиева РХ. Теоретические основы и практическое применение общей воздушной криотерапии в восстановительной медицине. *Вестник восстановительной медицины*. 2008; 4: 4–7.
20. Альтман ДШ, Давыдова ЕВ. Мукозальные эффекты общей аэрокриотерапии при ранних формах хронической ишемии мозга у ветеранов современных военных конфликтов. *Вестник уральской медицинской академической науки*. 2012; 2: 78–79.
21. Быков АТ. Восстановительная медицина и экология человека: руководство. Москва: ГЭОТАР–Медиа. 2009. с. 688.
22. Выхованец ЮГ, Тетюра СМ, Черняк АН, Алёшечкин ПА. Сравнительная характеристика изменений показателей гемодинамики в разных возрастных группах при воздействии экстремально низкой температуры. *Вестник Ивановской медицинской академии*. 2017; 22(1): 30–3.
23. Бочаров МИ. Терморегуляция организма при холодových воздействиях (обзор). Сообщение II. *Журнал медико-биологических исследований*. 2015; (1): 5–15.
24. Bouzigon R, Grappe F, Ravier G, Dugue B. Whole– and partial–body cryostimulation/cryotherapy: Current technologies and practical applications. *J Therm Biol*. 2016; 61:67–81. doi: 10.1016/j.jtherbio.2016.08.009.
25. Баранов АЮ. Криогенная физиотерапия. *Физиотерапия, бальнеология и реабилитация*. 2005; (3): 25–31.

26. Волотовская АВ, Колтович ГК, Козловская ЛЕ, Мумин АН. Криотерапия: учеб.-метод. пособие. Минск: БелМАПО. 2010. с. 26.
27. Аралова МВ, Глухов АА. Общая и местная криотерапия в комплексном лечении ран. Вестник новых медицинских технологий. 2015; 22(2): 111–5.
28. Кузнецов ДС, Ивахненко ДВ, Кетова ЕС, Дорохов ЕВ. Влияние тотальной криотерапии на динамику сердечного ритма и артериального давления здорового человека. Здоровье и образование. 2017; 19(2): 59–60.
29. Горбунова НИ, Тибекина ЛМ. Криотерапия в лечении больных с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями позвоночника. Вестник СПбГУ. Медицина. 2018; 13 (1): 58–71.
30. Вакуленко ОЮ, Рассулова МА, Разумов АН. Обоснованность применения криотерапии и радонотерапии у пациентов с остеоартритом. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2017; (5): 58–66. <https://doi.org/10.17116/kurort201794558-66>.
31. Вальтер АП. О влиянии холода на живые существа. К.: Совр. Медицина. 1863. с. 843.
32. Хорват АН. Об охлаждении поперечно-полосатых мышц лягушки. Работа, представленная для получения степени д-ра медицины. СПб. 1874. с. 29.
33. Bell DG, Tikuisis P, Jacobs I. Relative intensity of muscular contraction during shivering. *J Appl Physiol*. 1992; (72): 2336–42.
34. Castellani JW, Young AJ, Ducharme MB. American College of Sports Medicine position stand: Prevention of cold injuries during exercise. *Med Sci in Sports & Exercise*. 2006; 38 (11): 2012–29.
35. Parsons KC. Human thermal environments: the effects of hot, moderate, and cold environments on human health, comfort and performance. 2nd ed. London and New York: Taylor and Francis. 2003. p. 560.
36. Олисова ОЮ, Каюмова ЛН, Смирнов КВ, Шуппо ОА, Арсентьев НС. Общая криотерапия с использованием криокапсулы icequeen при различных

дерматозах. Russian journal of skin and venereal diseases. 2017; 20(1): 15–20. <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9588-2017-20-1-15-20>.

37. Руденко ВН, Емельянова ЕГ. Криотерапия. Главный врач юга России. 2015; 2(43): 69–71.

38. Dulian K, Laskowski R, Grzywacz T, Kujach S, Flis DJ, Smaruj M, Ziemann E. The whole body cryostimulation modifies irisin concentration and reduces inflammation in middle aged, obese men. Cryobiology. 2015; 71(3): 398–404. doi: 10.1016/j.

39. Майстрах ЕВ, Иванов КП, Минут-Сорохтина ОП. Физиология острого охлаждения организма. Физиология терморегуляции. 1984; (3): 181–222.

40. Осташков КВ. Современные проблемы гипотермии. Физиологический журнал СССР им. И.М.Сеченова. 1979; 25 (5): 585–92.

41. Понугаева АП. Физиологические исследования инстинктов у млекопитающих. М.–Л., Изд-во Акад. наук СССР (Ленингр. отд-ние). 1960.с. 180.

42. Погребнякова ИС, Хаскин ВВ. Сезонные изменения интенсивности и температурная зависимость тканевого дыхания у краснощеких сусликов. Циркадные ритмы человека и животных. 1975; (5): 253–56.

43. Bartholomew GA, Tucker VA. Size body temperature thermal conductance, oxygen consumption, and heart rate in Australian varanid lizards. Physiol. Zool. 1964; (37): 341–54.

44. Black EC. Blood levels hemoglobin and lactic acid in some freshwater fishes following exercise. J. Fish. Res. Bd. Canada. 1955; (12): 917–20.

45. Cabanac M. Le comportment thermoregulateur. J. Physiol. Paris. 1979. (75): 115–78.

46. Brattstrom ВН. The evolution of reptilian social behavior. Amer. Zool. 1974; (14): 35–49.

47. Эмирбеков ЭЗ, Львова СП, Мукайлов МИ и др. Влияние гипотермии на метаболизм мозга. Вопросы биохимии нервной системы. 1973; (2): 3–10.

48. Baker RV, Hope DV. The effect of gradual changes in temperature on the release of hormones from nerve endings isolated from bovine neural lobes. *J. Neurochem.* 1976; (2): 197–202.
49. El-Fakchany E, Richelson E. Temperature dependence of muscarinic acetylcholine receptor activation, desensitization, and resensitization. *J. Neurochem.* 1980; 34 (5): 1288–95.
50. Adolph EF. Oxygen consumption of hypothermic rats and acclimatization to cold. *Amer. J. Physiol.* 1950; 161 (3): 359–73.
51. Bigelow WG, Collaghan JC. General hypothermia for experimental intracardiac surgery. *Ann. Surg.* 1950; 132 (3): 531–39.
52. Gordon AS, Jones JS, Suddington LJ et al. Deep hypothermia for intracardiac surgery: experimental and clinical use with an oxygenator. *Amer. J. Surg.* 1960; 100 (2): 332–7.
53. Kameya S, Oz M, Neville WE et al. A study of oxygen consumption during profound hypothermia induced by perfusion of the entire body. *Surg. Forum.* 1960; 19 (4): 692–7.
54. Бернштейн ИА. Гипотермия и мозг. *Успехи физиологических наук.* 1971; 2 (2): 49–67.
55. Грищенко ВИ. Достижения криобиологии и криомедицины во имя здоровья нации. *Проблемы криобиологии.* 2008; 18(3): 269–74.
56. Singh M. Topical myocardial cooling. An intensive laboratory investigation. *Arch. Surg.* 1975; (110): 1368–74.
57. Laschinger JC, Catinella FP, Cunningham JN. Myocardial cooling: beneficial effect of topical hypothermia. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1983; 84 (6): 807–14.
58. Floyd RD, Sabiston D, Kerry LL. The effect of duration of hypothermic cardioplegia on ventricular function. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1983; (85): 606–11.

59. Nayler WJ. Protection of the myocardium against postischemic reperfusion damage. The combined effect of myocardial and nifedepine. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1982; 34 (6): P. 897–905.
60. Chitwood WR, Sink JD, Rill RS. The effect of hypothermia on myocardial oxygen consumption and transmural coronary blood flow in the potassium-arrested hearts. *Ann. Surg.* 1979; (190): 106–16.
61. Chitwood WR. Transmural myocardial flow distribution during myocardia. Effects of coronary inflow restriction. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1983; 86 (1): P. 61–9.
62. Tamura M. Intracellular oxygen concentration in myocardium during hypothermic potassium cardioplegia. *Assac. Thorac.Surg.* 1982; 30 (6): 1121–34.
63. Pupello DF, Blanc RH, Nessone BL. Local deep hypothermia for combined vascular and coronary heart disease. *Ann. Thorac. Surg.* 1976; 21 (6): 508–13.
64. Griep RB, Stinson EB, Shumway NE. Profound local hypothermia for myocardial protection during open-heart surgery. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1973; (66): 731–38.
65. Lamberti JJ, Cohn LH, Lake H. Local cardiac hypothermia for myocardial protection during correction of congenital heart disease. *Ann. Thorac. Surg.* 1975; 20 (4): 446–53.
66. Nelson RL, McConnell DY, Goldstein SV et al. Effects of profound topical cardiac hypothermia on myocardial blood flow, metabolism compliance and function. *Surg. Forum.* 1975; (26): 261–3.
67. Brody WR, Reitz BA, Andrews ML. Long-term morphologic and hemodynamic evaluation of the left ventricle after cardiopulmonary bypass. A comparison of normothermic anoxic arrest, coronary artery perfusion, and profound topical cardiac hypothermia. *Cardiovasc. Surg.* 1975; 70 (6): 1073–87.
68. Zoia P, Allaria B, Brunetti B et al. Study of temperature changes of the blood in various phases of subrenal aortic surgery and of the existing relations between

hypothermia and metabolic and hemodynamic changes. *Minerva Anesthesiol.* 1983; 49 (1–2): 27–40.

69. Волколаков ЯВ. Экспериментальное обоснование применения методики глубокой гипотермии. *Экспериментальная хирургия и анестезиология.* 1973; (6): 53–7.

70. Goor B, Mohr R, Lavee J. Enhanced protection of myocardial function by systemic deep hypothermia during cardioplegic arrest in multiple coronary bypass grafting. *J.Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1982; 84 (2): 237–42.

71. Swain JA. Regulation of pH during hypothermia: (letter). *J.Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1983; 85 (1): 147–9.

72. Петров ИР, Гублер ДВ. Искусственная гипотермия. Л.: Медгиз. 1961. с. 228.

73. Berne R. Cardiodynamics and coronary circulation in hypothermia. *Ann. N.Y.Acad.Sci.* 1959; 80 (2): 365–82.

74. Гурвич НЛ. Фибрилляция и дефибрилляция сердца. М.: Медгиз. 1957. с. 252.

75. Singh V. Nature of ventricular fibrillation during hypothermia. *Ind. Med. J.* 1968; 20 (4): 393–6.

76. Фельд БН. Нарушения распространения возбуждения по сердцу при экспериментальном инфаркте миокарда и их роль в возникновении экстрасистолии и фибрилляции желудочков: автореф. дис. на соиск. ученой степ. канд. мед. наук. Москва. 1971. 27 с.

77. Табак ВЯ. Изменения фибриллярных осцилляций желудочков сердца при умирании и оживлении организма: автореф. дис. на соиск. ученой степ. канд. мед. наук. Москва. 1969. 26 с.

78. Lloyd EL, Mitchell B. Factors affecting the onset of ventricular fibrillation during hypothermia. *Lancet.* 1974; 2 (7892): 1294–96.

79. Покровский ВМ, Шейх-Заде ЮР, Воверайдт ВВ. Сердце при гипотермии. Л.: Наука. 1984. 143 с.

80. Belliveau R, Covino B. Cardiac metabolism during hypothermia. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 1969; 180 (2): 333–40.
81. Mouritzen C, Andersen M. Myocardial temperature gradients and ventricular fibrillation during hypothermia. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1965; 49 (6): 937–44.
82. Буков ВА, Гобков БИ, Виноградов ВИ. Определение температуры головного мозга при охлаждении головы. *Вестник хирургии им. И.И.Грекова.* 1970; 104 (5): 113–4.
83. Буков ВА, Бобков ИГ, Смирнов ОА. Методика и термодинамика кранио-церебральной гипотермии при операции на открытом сердце. *Кардиология.* 1970; (11): 138–42.
84. Бураковский ВИ. Сухое сердце в условиях гипотермии в хирургии врожденных и приобретенных пороков. М.: Медгиз. 1961. 215 с.
85. Глузман ФА. Проблема гипотермии в современной медицине. *Вопросы гипотермии и патологии: тр. каф. пат. Физиологии.* Под ред. Н.Н.Сиротинина. К.: Госмедиздат УССР. 1959. 45 с.
86. Грищенко ВИ. Гипотермия и криохирurgia в акушерстве и гинекологии. М: Медицина. 1974. 279 с.
87. Майстрах ЕВ. Гипотермия и анабиоз. М.-Л.: Наука. 1964. 327 с.
88. Майстрах ЕВ, Шейнис ВН. Патогенез и клиника замерзания. Л.: Наука. 1967. 32 с.
89. Малыгин АМ. Функциональное состояние миокарда при кранио-церебральной гипотермии: автореф. дис. на соиск. ученой степ. канд. мед. наук. Иваново. 1964. 27 с.
90. Мешалкин ЕИ, Мезенцев ГД, Азбель ДИ. Наш опыт применения краниоцеребральной гипотермии при операциях на сердце. *Грудная хирургия.* 1971; (5): 12–5.

91. Мурский ЛИ. Формирование инфаркта миокарда в условиях кранио-церебральной гипотермии. Экспериментальный инфаркт миокарда в условиях гипотермии: сб.ст. – Владимир. 1974; (3): 204–18.
92. Мурский ЛИ. Кранио-церебральная гипотермия (в эксперименте). М.: Медицина. 1975. 247 с.
93. Неговский ВИ. Оживление организма и искусственная гипотермия. М.: Медицина. 1960. 302 с.
94. Пионтковский ГИ. Регионарная сократительная способность миокарда при гипотермии и экспериментальном инфаркте: автореф. дис. на соиск. ученой степ. канд. биол. Наук. Махачкала. 1972. 23 с.
95. Гурин ВН. Терморегуляция и симпатическая нервная система. Минск: Наука и техника. 1989. 231 с.
96. Сааков БА. Электрофизиологические изменения нервной системы при гипотермии. Материалы XIV конф. физиологов юга РСФСР. 4-9 июня 1962. Краснодар. 1962. 284 с.
97. Смит О. Биологическое действие замораживания и пере-охлаждения: [Пер. с англ.]. М.: Изд-во иностр.лит. 1963. 503 с.
98. Сумбатов ЛА, Лехтман АМ, Руденко МВ. Антигипоксическое защитное действие гипотермии. Советская медицина. 1981; (10): 19–20.
99. Тимофеев НН. Искусственный гипобиоз. М.: Медицина. 1983. 292 с.
100. Чепкий ЛП, Трещинский АИ. Лечебная гипотермия. К.: Здоров'я. 1969. 201 с.
101. Swan H. Hypothermia for general and cardiac surgery. J. Clin. N. Amer. 1956; 36 (4): 1009–24.
102. Szygula Z, Lubkowska A, Giemza C et al. Hematological Parameters, and Hematopoietic Growth Factors: Epo and IL-3 in Response to Whole-Body Cryostimulation (WBC) in Military Academy Students. PLoS ONE: Electronic source. 2014; 9 (4). 7 p.: e93096. DOI: 10.1371/journal.pone.0093096.

103. Lubkowska A. Cryotherapy: Physiological Considerations and Applications to Physical Therapy. Edited by Dr. Josette Bettany-Saltikov. Physical Therapy Perspectives in the 21st Century—Challenges and Possibilities. InTech. 2012; (7): 155–76. DOI: 10.5772/35055.
104. Macauley DC. Ice therapy: how good is the evidence? Int J Sports Med. 2001; (22): 379–84.
105. McDowell JH, McFarland EG, Nalli BJ. Use of cryotherapy for orthopaedic patients. Orthopaedic Nursing. 1994; (13): 21–30.
106. Swenson C, Sward L, Karlsson J. Cryotherapy in sports medicine. Scand J Med Sci Spor. 1996; (6): 193–200.
107. Westerlund T. Thermal, circulatory, and neuromuscular responses to wholebody cryotherapy: Academic dissertation D. Medica. University of Oulu. 2009. 76 p.
108. Metzger D, Zwingmann C, Protz W, Jackel Wh. Whole-body cryotherapy in rehabilitation of patients with rheumatoid diseases—pilot study. Rehabilitation. 2000; (39): 93–100.
109. Березовский ВА. Напряжение кислорода в тканях животных и человека. К.: Здоров'я. 1975. 279 с.
110. Дарбинян ТМ. Современный наркоз и гипотермия в хирургии врожденных пороков сердца. М.: Медицина. 1964. 236 с.
111. Вайнер ЭМ, Вишневский ВА. Некоторые стороны кислородного режима при гипотермии мозга. Физиология гипотермии: Сб. ст. – Владимир. 1975. 67 с.
112. Иванов КП. Биоэнергетика и температурный гомеостаз. Л.: Наука. 1972. 172 с.
113. Подробинек ПА. Анализ некоторых изменений кислородного баланса при гипотермии. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 1971; (4): 20–4.

114. Тверской АЛ. Температурная коррекция показателей КЩР при гипотермии. Экспериментальная хирургия и анестезиология. 1965; (5): 56–60.

115. Тверской АЛ. Исследование КЩС крови больных с врожденными пороками сердца, оперированных в условиях гипотермии: автореф. дис. на соиск. ученой степ. канд. мед. наук. Москва. 1966. – 23 с.

116. Шнейдер ВК. Анестезия с гиперкапнической ИВЛ при операциях на открытом сердце в условиях умеренной гипотермии: автореф. дис. на соиск. ученой степ. канд. мед. наук. Красноярск. 1979. 21 с.

117. Brooks DK. Acid-base balance in hypothermia. Modern trends in anesthesia. 1962; (2): 102–22.

118. Holobut W, Mardzzyewski E, Starka W. Irrigation sanguine et consommation d'oxygène de divers organes en température normale. J. Physiol. 1969; (61): 507–17.

119. Lewis DG, MacKenzie A. The effect of mild hypothermia and hyperventilation on acid/base balance in major vascular surgery. British J. Anaesthes. 1972; 4 (10): 1085–88.

120. Сумбатов ЛА, Новодержкина ЛВ. Экспериментальная терапия с использованием глубокой гипотермии в токсикологии и иммуноагрессологии. Механизмы повреждения, резистентности, адаптации и компенсации: тез. науч. сообщ. Ташкент. 1976. 555 с.

121. Гадоев РИ. Интенсивная терапия при отравлении снотворными препаратами. Сб. науч. тр. Ростовского мед. ин-та. 1979; (97): 107.

122. Milleran J. Hypothermia par intoxication barbiturique et immersion. Can. Anaesthesiol. 1980; 28 (4): 479–81.

123. Мурский ЛИ, Русских АП. Фазовая структура сердечного цикла при ишемии миокарда в условиях кранио-церебральной гипотермии. Биологические науки. 1973; (1): 29–33.

124. Щербакова ЕИ, Русских АП. Метаболизм миокарда при экспериментальном инфаркте миокарда. Экспериментальный инфаркт миокарда в условиях гипотермии. 1974; (3): 153–62.

125. Пономарев ЮЕ. Усвоение сердцем ритмов разной частоты стимуляции при кранио-церебральной гипотермии. Матер. конф. по возрастной и экспериментальной кардиологии. Владимир. 1968. 315–19 с.

126. Salisbury PF, Gross CE, Rieben PA. Integrative study of the circulation in moderate hypothermia. *Am. J. Cardiol.* 1963; (12): 184–93.

127. Ганнушкина ИВ, Храпов ВС, Сухорукова ЛИ. К вопросу об изменении мозгового кровотока и отека мозга при травме (патофизиологическая и электронномикроскопическая корреляция). *Вестник АМН СССР.* 1974; (12): 48–53.

128. Суворов ВВ. Кровоснабжение головного мозга в условиях кранио-церебральной гипотермии. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 1964; (2): 41–4.

129. Суворов ВВ. Изменение мозгового кровообращения при гипотермии. *Физиологический журнал СССР им. И.М.Сеченова.* 1972; 58 (9): 1425–29.

130. Баклаваджян ОГ. Центральные механизмы гомеостаза. *Частная физиология нервной системы*. Л.: Наука. 1983. 312 с.

131. Баженов ЮИ, Михайлова ЛР. Участие норадренергических структур мозга в терморегуляции при адаптации к холоду. *Физиол.журн. СССР им. Сеченова.* 1990; 76 (4): 523–7.

132. Беленков НЮ. Принцип целостности в деятельности мозга. М.: Медицина. 1980. 310 с.

133. Бабийчук ГА, Марченко ВС, Шифман МИ. Роль норадренергической системы в сверхмедленных процессах головного мозга при кранио-церебральной гипотермии. *Криобиология.* 1985; (2): 43–7.

134. Лупандин ЮВ, Минут-Сорохтина ОП, Майстрах ЕВ и др. Медиаторные механизмы терморегуляции. Физиология терморегуляции. Л. 1984. 377 с.
135. Фельдберг В. Новые перспективы в изучении механизма регуляции температуры тела. Достижения современной фармакологии: сб. посвящен 80-летию со дня рождения С.В.Аничкова. Л. 1976. 234 с.
136. Bligh J. Neuronal of hypothermic temperature regulation: hypothalamus in thermoregulation. Recent studies of hypothalamus functions. Basel: S.Karger. 1974. 327 p.
137. Myers RD. An integrative model of monoamine and ionic mechanisms in the hypothalamic control of body temperature. Temperature regulation and drug action: Proc. Symp. Paris. 1975. 42 p.
138. Зубкова ЛЕ, Лукьянов ИЮ. Влияние адренергических веществ на устойчивость белых крыс к охлаждению. Важнейшие теоретич. и практич. проблемы терморегуляции: Тез.докл. Минск. 1986. 109 с.
139. Иванов ЕМ, Потапов ВН, Лучанинова ВН. Медицинские аспекты миграционных процессов в Дальневосточном регионе. Вестник РАМН. 1993; (8): 35–7.
140. Иванов КП. Гомойотермия и энергетика гомойотермного организма. Физиология терморегуляции. Л.: Наука. 1984. 7–28 с.
141. Швецова ЕИ. Следовые эффекты кратковременных охлаждений и их значение в адаптации к холоду: автореф. дис. ... к.б.н. Ашхабад. 1978.16 с.
142. Vykov AT, Rybkina VA, Kovalenko VV. Hemodynamics state at different modes of systemic air cryogenic exposure. European Researcher. 2012; 34(11): 1929–34.
143. Hauton D, May S, Sabharwal R et al. Cold-impaired cardiac performance in rats is only partially overcome by cold acclimation. The Journal of Experimental Biology. 2011; (214): 3021–31.

144. Bleakley CM, Bieuzen F, Davison GW, Costello JT. Whole-body cryotherapy: empirical evidence and theoretical perspectives. *Open Access Journal of Sports Medicine*. 2014; (5): 25–36.

145. Апрелева АВ, Баранов АЮ. Общая криотерапия как новый метод интенсификации тренировочного процесса. *Ученые записки*. 2007; 8(30): 8–14.

146. Баранов АЮ, Кидалов ВН. Лечение холодом. *Криомедицина*. СПб: Изд-во Атон. 1999. 272с.

147. Медалиева РХ. Особенности реакций организма с различной криогенной болевой чувствительностью на курс ритмических общих холодových воздействий. *Современные проблемы науки и образования: электронный ресурс*. 2014; 4: 7с. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=14179> (дата обращения: 30.05.2016).

148. Бабийчук ГА, Марченко ВС, Пастухов ЮФ и др. К механизмам регуляции проницаемости гематоэнцефалического барьера охлажденного мозга. Сообщение 1. Системное введение бомбезина повышает проницаемость гематоэнцефалического барьера для нейромедиаторов. *Проблемы криобиологии*. 1995; (1): 3–9.

149. Бабийчук ГА, Марченко ВС, Шило АВ. и др. К механизмам регуляции проницаемости гематоэнцефалического барьера охлажденного мозга. Сообщение 2. Ритмические холодovые воздействия повышают проницаемость гематоэнцефалического барьера для терморегуляторных нейромедиаторов. *Проблемы криобиологии*. 1995; (2): 3–8.

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

151. Бабийчук ГА, Марченко ВС, Ломакин ИИ. и др. *Нейрофизиологические процессы охлажденного мозга*. К: Наукова думка. 1992. 208 с.

152. Бабийчук ГА. Реакции организма на кранио-церебральную гипотермию. *Проблемы криобиологии*. 1998; (2): 3–8.

153. Бабийчук ГА, Чижевская ИВ, Марченко ВС. Моноаминергические механизмы пространственной синхронизации биоэлектрической активности охлажденного мозга. Лечебная гипотермия: Сб.науч.тр. Харьков. 1992. 22–29 с.

154. Марченко ВС, Полищук ЛВ, Бабийчук ВГ. Влияние ритмического охлаждения на проницаемость гематоэнцефалического барьера для экзогенного норадреналина. Проблемы криобиологии. 2000; (1): 36–40.

155. Бабийчук ГА, Марченко ВС, Шило АВ и др. К механизмам регуляции проницаемости гематоэнцефалического барьера охлажденного мозга. Сообщение 3. Оксид азота (П) – один из триггеров проницаемости гематоэнцефалического барьера в структуре сверхмедленной управляющей системы организма. Проблемы криобиологии. 1995; (3): 10–9.

156. Basar-Eroglu C, Basar E, Demiralp T et al. P300-response: possible psychophysiological correlates in delta and theta frequency channels. A review. Int.J. Psychophysiol. 1992; 13 (2): 161–79.

157. Жгенти ТГ, Кеванишвили ГШ. О воздействии низкочастотного электромагнитного поля на биологическую метку. Биофизика. 1991; 36 (3): 483–8.

158. Маркевич НИ, Сельков ЕЕ, Маркевич НИ. Математическая модель резонансного усиления внешних проявлений на мембраны. Биофизика. 1986; 31 (4): 662–6.

159. Дмитриева НВ. Явление резонанса в кардиореспираторно-гемодинамической системе человека. Известия АН СССР. Серия биологическая. 1990; (4): 579–89.

160. Первушин ЮВ. Резонансные механизмы смены биологических состояний. Биофизика. 1991; 36 (3): 534–6.

161. Барабаш НА, Двуречанская ГЯ. Адаптация к холоду. Физиология адаптационных процессов. М.: Наука. 1986. 283–93 с.

162. Барабаш НА. Периодическое действие холода на устойчивость организма. Успехи физиологических наук. 1996; 27 (4): 116–32.

163. Федотчев АИ, Бондарь АТ. Неспецифические механизмы адаптации ЦНС к прерывистым раздражениям, спектральная структура ЭЭГ и оптимальные параметры ритмических сенсорных воздействий. Успехи физиологических наук. 1996; 27 (4): 44–61.
164. Марченко ВС. К концепции экзистоэнцефалической системы охлажденного мозга. Часть 1. Проблемы криобиологии. 1997; (4): 14–20.
165. Марченко ВС, Бабийчук ВГ, Ломакин ИИ и др. Проницаемость гематоэнцефалического барьера для кардиотропных лекарственных веществ при краниocereбральной гипотермии. Проблемы криобиологии. 1998; (2): 42–5.
166. Реушкин ВН. Механизмы адаптации в биоритмологическом аспекте. Вестник АМН СССР. 1981; (12): 50–3.
167. Ломако ВВ, Бабийчук ГА, Марченко ВС и др. Норадренергические процессы в гипоталамусе крыс после двукратного воздействия краниocereбральной гипотермии. Проблемы криобиологии. 1994; (4): 11–7.
168. Слоним АИ. Эволюция терморегуляции. Л.: Наука Ленинград.отд. 1986. 76 с.
169. Бабийчук ВГ. Сравнительная характеристика частоты сердечных сокращений у крыс при различных методах холодовых воздействий. Проблемы криобиологии. 2007; 17 (3): 229–36.
170. Блинов ДВ. Современные представления о роли нарушения резистентности гематоэнцефалического барьера в патогенезе заболеваний ЦНС. Часть 1: Строение и формирование гематоэнцефалического барьера. Эпилепсия и пароксизмальные состояния. 2013; 5(3): 65–75.
171. Блинов ДВ. Современные представления о роли нарушения резистентности гематоэнцефалического барьера в патогенезе заболеваний ЦНС. Часть 2: функции и механизмы повреждения гематоэнцефалического барьера. Эпилепсия и пароксизмальные состояния. 2014; 6(1): 70–84.
172. Мартинова ЮВ, Бабийчук ВГ. Вплив екстремального охолодження (–120°C) на функціональний стан організму молодих та старих щурів. VIII МАК

2017: тези VIII Міжнар. Антарктичн. Конф., присвяч. 25-ій річниці приєднання України до Договору про Антарктику (17 вересня 1992 р.) (м. Київ, 16–18 травня 2017 р.). Київ. 2017: 71–73.

173. Мартинова ЮВ. Гематоенцефалічний бар'єр та його зміни в умовах ритмічних холодових впливів. Біологічні дослідження – 2015: зб. наук. праць наук.-практ. конф. для молодих учених і студентів (м. Житомир, 11–12 березня 2015 р.). Житомир. 2015: 390–394.

174. Марченко ВС, Марченко ЛН, Говоруха ТП и др. Фрактальная ультраструктура гематоэнцефалического барьера при непрерывной, ритмической и хаотической гипотермии. Таврический медико-биологический вестник. 2012; 15(3): 216–9.

175. Бабийчук ВГ, Марченко ВС, Бабийчук ГА. Холодовой стресс как фактор коррекции функциональной архитектоники гематоэнцефалического барьера старых крыс. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2012; 22(2): 107–17.

176. Бабийчук ВГ, Ершова ОВ, Малышева ГВ, Козлов АВ, Ломакин ИИ, Марченко ВС. Клиническое применение ритмической гипотермии. Проблемы криобиологии. 2002; (1): 85–91.

177. 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.

178. 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 криобиології і криомедицини. 2018; 28 (3): 224–36.

179. 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 2. Структурные изменения в ткани головного мозга. Проблемы кріобіології і кріомедицини. 2019; 29 (1): 58–72.

180. Yamauchi T. Whole body cryotherapy is method of extreme cold -175°C treatment, initially used for reumathoid arthritis. *Z Phys Medical Baln Klim*. 1986; (19): 311.

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

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

183. Кудокоцева ОВ, Ломакин ИИ. Общая экстремальная аэрокриотерапия. Провизор. 2006; (3): 14–6.

184. Панченко ОА. Криотерапия. Киев: КВИЦ; 2013. 188 с.

185. Marion DW, Leonov Y, Ginsberg M. Resuscitative hypothermia. *Critical Care Medicine*. 1996; 24 (2): 81–9.

186. Maier CM, Steinberg GK. Hypothermia and cerebral ischemia: Mechanisms and Clinical Applications. NY: Humana Press Inc. 2004. 188 p.

187. 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>

188. 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.

189. 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.

190. 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.

191. 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.

192. Harris DT. Experience in autologous and allogeneic cord blood banking. *J. Hematother*. 1996; 5 (2): 123–8.

193. 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>

194. 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.

195. Choi HA, Badjatia N, Mayer SA. Hypothermia for acute brain injury—mechanisms and practical aspects. *Nature Rev. Neurol*. 2012; (8): 214–22.

196. Dietrich WD, Bramlett HM. The evidence for hypothermia as a neuroprotectant in traumatic brain injury. *Neurotherapeutics*. 2010; (7): 43–50.

197. Dine CJ, Abella BS. Therapeutic hypothermia for neuroprotection. *Emerg. Med. Clin. N. Am*. 2009; (27): 137–49.

198. 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.

199. Peterson K, Carson S, Cairney N. Hypothermia treatment for traumatic brain injury: a systematic review and meta-analysis. *J. Neurotrauma*. 2008;25:62–71.

200. 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.

201. 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.

202. 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.

203. 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.

204. 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.

205. Sinclair HL, Andrews PJ. Bench-to-bedside review: Hypothermia in traumatic brain injury. *Crit. Care.* 2010; 14: 204 p.

206. 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.

207. Drury PP, Bennet L, Gunn AJ. Mechanisms of hypothermic neuroprotection. *Semin. Fetal Neonatal Med.* 2010; (15): 287–92.

208. 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.

209. 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.

210. Бабийчук ГА, Бабийчук ВГ, Мамонтов ВВ. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий на показатели вегетативной регуляции сердечного ритма и содержание цитокинов в сыворотке крови у людей пожилого возраста. *Буковинський медичний вісник.* 2009; 13 (4): 17–20.

211. Беридзе ЛР, Кацитадзе АГ, Кацитадзе ТГ. Криотерапия в лечении демодекоза кожи. *Georgian medical news.* 2009; 5 (170): 43–5.

212. Быков АТ, Медалиева РХ, Денисенко ВА. Психоэмоциональное состояние и церебральный гомеостаз на фоне кратковременных общих воздействий сверхнизких температур. Современные проблемы науки и образования: электрон. версия журн. 2013; 3. 9 с. URL : <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=9307> (дата обращения: 14.12.2015).

213. Чугуй ЕВ, Воропаев ВН, Илюшенко ЮК и др. Влияние локальной криотерапии на иммунологические процессы у детей первого года жизни при коррекции врожденной косолапости. Український морфологічний альманах. 2010; 8 (2): 228–32.

214. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ, Руднева ЮВ и др. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C) и кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечного ритма в динамике старения крыс. Теоретические и практические аспекты современной криобиологии : материалы междунар. заочн. науч.-практ. конф. (Россия – Украина, 24 марта 2014 г.). Сыктывкар, 2014. 392–8 с.

215. Бабийчук ВГ, Марченко ВС. Структурно-функциональное состояние гематоэнцефалического барьера гипоталамуса старых крыс при действии экстремального охлаждения. Світ медицини та біології. 2005; (3): 91–94.

216. Бабийчук ВГ, Марченко ВС, Марченко ЛМ. Структурно-функціональний стан гематоенцефалічного бар'єра при ритмічній дії позитивних (12°C) і екстремально низьких (-120°C). Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти. 2008; 4 (1): 68–74.

217. Марченко ВС., Бабийчук ВГ, Ломакін ІІ та ін. Механізми лікувальної дії інтенсивної криотерапії. Клінічна та експериментальна патофізіологія. 2004; 3 (2): 491–3.

218. Бабийчук ВГ. Ультроструктурные перестройки миокарда молодых и старых крыс после экстремальной криотерапии. Проблемы криобиологии. 2006; 16 (3): 292–302.

219. Бабійчук ВГ, Грищенко ВИ. Функциональные изменения миокарда у крыс под влиянием ритмических холодовых воздействий. Експериментальна і клінічна медицина. 2008; (2): 8–12.

220. Бабійчук ВГ. Вплив екстремальної кріотерапії на функціональний стан систем нейрогуморальної регуляції старих щурів. Науковий вісник НМУ ім. О.О. Богомольця. 2007; (1): 60–62.

221. Бабійчук ВГ, Козлов ОВ. Вплив екстремального охолодження на показники вегетативної регуляції серцевого ритму у щурів різних вікових груп. Проблемы криобиологии. 2008; (3): 374–8.

222. Бабійчук ВГ, Невзоров ВП, Гаевой АВ. Ультраструктурные изменения щитовидной железы крыс после нескольких сеансов нахождения в камере при температуре -120°C . Харківська хірургічна школа. 2006; (1): 176–8.

223. Бабійчук ВГ, Невзоров ВП, Гаевой АВ. Ультраструктура клеток надпочечников крыс, подвергшихся экстремальному воздействию. Харківська хірургічна школа. 2005; 19 (4): 59–61.

224. Бабійчук ВГ, Черкашина ДА, Коцарь ВЛ, Лебединский АС. Свободнорадикальные процессы в тканях мозга крыс после экстремальных криовоздействий. Биологический вестник. 2007; 11 (2): 23–6.

225. Коцар ВЛ, Бабійчук ВГ, Бабійчук ГА. Особливості хемілюмінесценції в тканинах щурів після екстремальних холодових впливів. Науковий вісник НАУ. 2008; (126): 103–7.

226. Бабійчук ВГ. Пероксидное окисление липидов при экстремальном охлаждении крыс. Український біохімічний журнал. 2007; 79 (1): 112–23.

227. Коцарь ВЛ, Бабійчук ВГ. Особенности хемилюминесценции в тканях головного мозга крыс после экстремальных криовоздействий. Клінічна та експериментальна патологія. 2007; 6 (1): 60–6.

228. Коркушко ОВ, Шатило ВБ. Ускоренное старение и пути его профилактики. Буковинський медичний вісник. 2009; 13 (4): 153–8.

229. Деев АИ, Бухарова ЕВ. Проблемы определения темпа старения человека. Пробл. старения и долголетия. 2009; 18 (1): 8–19.
230. Кульчицкий ОК, Потапенко РИ, Новикова СН и др. Возрастные особенности влияния иммобилизационного стресса на состояние системы монооксида азота у крыс. Пробл. старения и долголетия. 2009; 18 (1): 51–9.
231. Фролькис ВВ. Старение и увеличение продолжительности жизни Ленинград: Наука. 1988. 239 с.
232. Анисимов ВН. Приоритетные направления фундаментальных исследований в геронтологии: вклад России. Успехи геронтологии. 2003; (12): 9–27.
233. Руднева ЮВ, Бабийчук ВГ, Чернявская ЕА, Кулик ВВ. Вариабельность сердечного ритма в динамике старения крыс на фоне повторных сеансов ритмических экстремальных криовоздействий. Холод в биологии и медицине. Актуальные проблемы криобиологии, трансплантологии и биотехнологии: тезисы 38-ой ежегодн. конф. молодых ученых (г. Харьков, 21–22 мая 2014 г.). Проблемы криобиологии и криомедицины. 2014; 22 (2): 169.
234. Березов ТТ, Коровкин БФ. Биологическая химия : учебник 3-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина. 1998. 704 с.
235. Kendall KL., Fairman CM. Women and exercise in aging. Journal of Sport and Health Science. 2014; (3): 170–8.
236. Shiogai Y, Stefanovska A, McClintock PV. Nonlinear dynamics of cardiovascular ageing. Physics Reports. 2010; (488): 51–110.
237. Анисимов ВН. Молекулярные и физиологические механизмы старения : в 2 т. СПб : Наука, 2008; 1. 481 с.
238. Воробьев КП, Паламарчук ЕА. Результаты независимого тестирования трех программ вычисления показателей вариабельности сердечного ритма. Укр. мед. часопис. 2007; 3 (59): 45–51.
239. Коркушко ОВ, Чеботарев ДФ, Калиновская ЕГ. Гериатрия в терапевтической практике. К. : Здоров'я, 1993. 840 с.

240. Руднева ЮВ, Бабийчук ВГ, Чернявская ЕА, Кулик ВВ. Состояние вегетативной и гуморальной регуляции сердечного ритма молодых и старых крыс на фоне ритмического экстремального охлаждения в сочетании с введением ядродержащих клеток кордовой крови. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2013; 23 (4): 318–25.

241. Руднева ЮВ, Невзоров ВП, Бабийчук ВГ, Чернявская ЕА, Кулик В В. Особенности изменений ультраструктурной организации кардиомиоцитов и эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда крыс в динамике старения //Вісник проблем біології і медицини. 2014; 2 (114): 253–8.

242. Мартынова ЮВ, Невзоров ВП, Бабийчук ВГ, Чернявская ЕА, Кулик ВВ. Особенности изменений ультраструктурной организации кардиомиоцитов и эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда крыс в динамике старения после сочетанного применения кордовой крови и экстремального охлаждения (–120°C). Вісник проблем біології і медицини. 2015; 1 (118): 244–50.

243. Martynova YuV, Babiychuk VG, Sirotenko LA, Malova NG, Babiychuk LV. Neurohumoral changes in rats of different age groups on the background of injection of cryopreserved cord blood nucleated cells. *Advances in Gerontology*. 2016; 6 (4): 304–10.

244. Martynova YuV, Babiychuk LV, Babiychuk VG, Sirotenko LA, Malova NG. Impact of Frozen-Thawed Cord Blood Nucleated Cells Combined with Extreme Whole Body Cooling on Rat's Neurohumoral Regulation in Dynamics of Aging.. *Cold Applications in Life Sciences: proceedings of the IIR Workshop (Dresden, 08–09 September 2016)*. P. 40–44. DOI: 10.18462/iir.cals.2016.0010

245. Соловьёва НА, Совершаева СЛ, Ишекова НИ. Физиологические аспекты избыточной массы тела и ожирения. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2011; (10): 69–70.

246. Романцова ТИ. Эпидемия ожирения: очевидные и вероятные причины. *Ожирение и метаболизм*. 2011; (1): 5–17.

247. Витебская АВ. Влияние перинатальных факторов на развитие ожирения во взрослом возрасте. Ожирение и метаболизм. 2010; (1): 11–3.

248. Hesketh K, Campbell K. Interventions to prevent obesity in 0–5 year olds: an updated systematic review of the literature. Obesity (Silver Spring). 2010; 18(1): 27–35. doi: 10.1038/oby.2009.429.

249. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ. Особенности состояния вегетативной регуляции сердечным ритмом у крыс с алиментарным ожирением на фоне ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C). Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды: материалы V междунар. науч.-практ. конф. (г. Челябинск, 2–3 окт. 2014 г.). Челябинск. 2014. с. 239–44.

250. Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ. Особенности влияния ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C) на состояние вегетативной нервной и сердечно-сосудистой систем у молодых крыс с алиментарным ожирением. Специфические и неспецифические механизмы адаптации во время стресса и физической нагрузки: материалы II Республиканской науч.-практ. интернет-конференции с международным участием (г. Гомель, 30 ноября 2016 г.). Гомель. 2016. с. 63–66.

251. Руднева ЮВ, Бабийчук ВГ, Чернявская ЕА, Кулик ВВ, Бабийчук ЛВ. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий и кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечным ритмом у животных различных возрастных групп в норме и при алиментарном ожирении. Крיוконсервация генетических ресурсов. Современное состояние, проблемы и перспективы: материалы науч.-практ. конф. с междунар. участ. (г. Пушино, 28–30 окт. 2014 г.). Биофизика живой клетки. 2014; (10): 171–3.

252. Крיוкамера для экстремального охолодження лабораторних тварин: пат. 40168 Україна, МПК А61В 18/00. № u200812930; заявл. 06.11.2008; опубл. 25.03.2009. Бюл. №6. 4с.

253. Мельниченко ГА, Романцова ТИ. Ожирение: эпидемиология, классификация, патогенез, клиническая симптоматика и диагностика. Ожирение: этиология, патогенез, клинические аспекты: рук. для врачей. М: МИА; 2004. 255с.

254. Михалева ОГ, Бардымова ТП, Березина МВ. Моногенные формы ожирения. Сибирский медицинский журнал. 2014; (6): 5–11.

255. 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.

256. Чиж НА. Параметры спектрального анализа variability сердечного ритма у крыс. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2015; 25 (3): 235–45.

257. Чиж НА. Особенности влияния дыхания и сосудистого тонуса на variability сердечного ритма у крыс. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2016; 26 (3): 260–70.

258. 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.

259. Baevskii RM. Analysis of Heart Rate Variability in Spase Medicine. Human Phisi-ology. 2002; 28(2): 70–82.

260. Бабунц ИВ, Мириджанян ЭМ, Машаех ЮА. Азбука анализа variability сердечного ритма. Ставрополь: Принтмастер. 2002. 111с.

261. Яблучанский НИ, Мартыненко АВ. Variability сердечного ритма в помощь практическому врачу. Для настоящих врачей. Харьков. 2010. 131с.

262. Barutcu I, Esen AM, Kaya D et al. Cigarette smoking and heart rate variability: Dynamic influence of parasympathetic and sympathetic maneuvers. Ann. Noninvasive Electrocardiol. 2005; (10): 324–9.

263. Воробьев КП, Паламарчук ЕА. Результаты независимого тестирования трех программ вычисления показателей variability сердечного ритма. Укр. мед. часопис. 2007; 3(59): 45–51.
264. Михайлов ВМ. Variability ритма сердца: опыт практического применения метода. 2-е изд. Иваново: Иван. гос. мед. Академия. 2002. 290с.
265. Karim N, Hasan JA, Ali SS. Heart rate variability - a review. Journal of Basic and Applied Sciences. 2011; 7 (1): 71–7.
266. Физиология человека: учебник. Под ред. В.М. Покровского, Г.Ф. Коротько. М.: Медицина. 2003. 656с.
267. Марри Р, Греннер Д, Мейес П, Родуэлл В. Биохимия человека. В 2-х томах. Т. 2. М.: Мир. 1993. 415с.
268. Kararli TT. Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. Biopharmaceutics & Drug Disposition. 1995; 16(5): 351–80.
269. Friedewald W, Levy R, Fredrickson D. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. Clin. Chem. 1972; 18(6): 499–502.
270. Тица НУ. Энциклопедия клинических лабораторных тестов (пер. с англ. под редак. В.В. Меньшикова). Москва.: «Лабинформ». 1997. 128с.
271. Щитовидная железа. Фундаментальные аспекты. Под ред. проф. А.И. Кубарко и проф. S.Yamashita. Минск – Нагасаки. 1998. 368с.
272. Верин ВК, Иванов ВВ. Гормоны и их эффекты : справочник. СПб. : Фолиант. 2012. 136 с.
273. Николаев АЯ. Биологическая химия. М: Мед. информ. Агентство. 2004. 559 [427–430] с.
274. Лелевич ВВ. Биологическая химия [Электронный ресурс].: https://www.ereading.club/bookreader.php/1042632/Lelevich_Biologicheskaya_himiya.html#label0

275. Cooper DS. Subclinical thyroid disease a clinicians perspective. *Ann Intern Med.* 1998; (129): 135–8.
276. Helfand M, Redfern CC. Screening for thyroid disease an update. *Ann Intern Med.* 1998; 129): 140–3.
277. Physiology of thyroid hormones. *Drug Evaluations Annual 1995.* Division of Drugs and Toxicology, American Medical Association. Chicago. 1995; (47): 1039–40.
278. Зайчик АШ, Чурилов ЛП. Основы патохимии. СПб.: ЭЛБИ-СПб. 2000. 677с.
279. Абрашова ТВ, Соколова АП, Селезнева АИ, Хуттунен ОЭ, Макарова МН, Макаров ВГ. Вариабельность биохимических и гематологических показателей у лабораторных крыс в зависимости от линии и возраста. *Международный вестник ветеринарии.* 2010; (4): 55–60.
280. Абрашова ТВ, Гущин ЯА, Ковалева МА, Рыбакова АВ, Селезнева АИ, Соколова АП, Ходько СВ. Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных. Под. ред. Макарова В.Г., Макаровой М.Н. СПб.: Изд-во «ЛЕМА», 2013. 116с.
281. Lupinskaya ZA, Zarifyan AG, Gurovich TC, Shleifer SG. Эндотелий: функция и дисфункция. Б.: КРСУ; 2008. 373с.
282. Friedewald W, Levy R, Fredrickson D. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 1972; 18(6): 499–502.
283. Федорова ТН, Коршунова ТС, Ларский ЭГ. Реакция с ТБК для определения малонового диальдегида крови методом флуоресценции. *Лаб. Дело.* 1983;3:25–7.
284. Владимиров ЮА, Арчаков АИ. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. Москва: Наука; 1972. 235 с.
285. Власов АИ, Есуков КА, Косолапов ИА. Электронная микроскопия: учеб. пособие. М.: Изд-во МГТУ им. Н. Э. Баумана. 2011. 168 с.

286. Морозова КН. Электронная микроскопия в цитологических исследованиях: методическое пособие. Новосибирск. 2013. 85 с.
287. Maunsbach AB, Afzelius BA. Biomedical electron microscopy. Academic press. 1999. 552 p.
288. Karnovsky MJ. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. J. Cell. Biol. 1965;(27): 137–8.
289. Кравченко СА. Фиксирующие растворы в электронно-микроскопическом исследовании тканей легких. Український журнал клінічної та лабораторної медицини. 2011; 6 (2): 139–43.
290. Electron microscopy: methods and protocols: 2nd ed. by John Kuo. Totowa, New Jersey. 2007. 625 p.
291. Robinson DG, Ehlers U, Herken R et al. Methods of Preparation for Electron Microscopy: An Introduction for the Biomedical Sciences. Springer-Verlag, 1987. 203 p.
292. Струков АИ, Серов ВВ. Патологическая анатомия. М.: Медицина. 1993. 688с.
293. Morris R. Spatial localization does not require the presence of local cues. Learning and Motivation. 1981;12(2):239–60.
294. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. J. Neurosci. Methods. 1984;11:47–60.
295. Шекунова ЕВ, Кашкин ВА, Макарова МН, Макаров ВГ. Экспериментальные модели когнитивных нарушений. Международный вестник ветеринарии, 2016;(1):105–16.
296. Атраментова ЛА, Утевская ОМ. Статистические методы в биологии. Горловка: «Видавництво ліхтар». 2008. 248 с.
297. Лакин ГФ. Биометрия. М.: Высш.школа. 1990. 350 с.
298. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Москва: Практика. 1998. 459 с.

299. Баевский РМ, Иванов ГГ, Чирейкин ЛВ и др. Анализ variability сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем. Вестник аритмологии. 2001; (24): 66–85.
300. Хаспекова НБ. Диагностическая информативность мониторинга variability ритма сердца. Вестник аритмологии. 2003; (32): 15–27.
301. Рябыкина ГВ, Соболев АВ. Анализ variability ритма сердца. Кардиология. 1996; (10): 87–97.
302. Алейникова ТВ. Variability сердечного ритма (обзор литературы). Проблемы здоровья и экологии. 2012; 1 (31): 17–23.
303. Chizh NA. Parameters of Spectral Analysis of Heart Rate Variability in Rats. Probl. Cryobiol. Cryomed. 2015; 25(3): 235–45. doi.org/10.15407/cryo25.03.235
304. Yukinaka M, Nomura M, Saijyo T et al. Evaluation of autonomic nervous function in patients with essential hypertension complicated with peptic ulcer. J. Gastroenterol. Hepatol. 2000; 15(1): 40–4.
305. Boveda S, Galinier M, Pathak A et al. Prognostic value of heart rate variability in time domain analysis in congestive heart failure. Interv. Card. Electrophysiol. 2001; (5): 181–187.
306. Carney RM, Blumenthal JA, Freedland KE, Stein PK, Howells WB, Berkman LF et al. Low heart rate variability and the effect of depression on post-myocardial infarction mortality. Arch Intern Med. 2005; 165 (13): 1486–91.
307. Koschke M, Boettger MK, Schulz S, Berger S, Terhaar J, Voss A et al. Autonomy of autonomic dysfunction in major depression. Psychosom Med. 2009; 71(8): 852–60.
308. Zucker TL, Samuelson KW, Muench F, Greenberg MA, Gevirtz RN. The effects of respiratory sinus arrhythmia biofeedback on heart rate variability and posttraumatic stress disorder symptoms: A pilot study. Appl Psychophysiol Biofeedback. 2009; (34): 135–43.
309. Кузнецов СВ, Дмитриева ЛЕ, Стонов ВА. Сердечная, дыхательная и моторная деятельность в норме и после активации катехоламинергических систем

у новорожденных крысят. Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2012; 48 (4): 367–79.

310. Кулик ВВ, Бабийчук ВГ. Влияние различных режимов экстремального охлаждения на состояние вегетативной и гуморальной регуляции сердечного ритма у молодых крыс. Вестник луганского национального университета имени Тараса Шевченка. Часть 1: Биологические науки. 2014; 2 (295): 88–96.

311. Кулик ВВ, Бабийчук ВГ. Состояние вегетативной регуляции сердечного ритма у молодых и старых крыс до и после применения разных режимов ритмического экстремального охлаждения. Успехи геронтологии. 2020; 33 (3): 436–443.

312. Кулик ВВ. Динамика изменений показателей спектрального анализа variability ритма сердца крыс при различных режимах ритмических экстремальных холодовых воздействий. Variability сердечного ритма: теоретические и прикладные аспекты: мат. Всероссийской заочн. науч.-практ. конф. г. Чебоксары, РФ, 1.11. 2014 г. Чебоксары, 2014. С. 86–90.

313. Кулик ВВ. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий на некоторые показатели биоэлектрической активности головного мозга 6 и 24 месячных крыс. Біологічні дослідження – 2016: тези наук.-практ. конф. для молодих вчених і студентів. м. Житомир, Україна, 10–11.03.2016 г. Житомир. 2016. С. 274–276.

314. Спосіб підвищення адаптивних можливостей організму старих тварин: пат. 115621 Україна, МПК А61В 18/02, А61F 7/00 / Г.О. Бабійчук, В.В. Мамонтов, В.В. Кулик, В.Г. Бабійчук; заявник та патентовласник ІПКіК НАН України. № u201610493, заяв. 17.10.2016. Опубл. 25.04.2017. Бюл. №8.

315. Franssen R, Monajemi H, Stroes E, Kastelein J. Obesity and dyslipidemia. *Endocrinol. Metab. Clin. N. Am.* 2008; (37): 623–33.

316. Yamamoto Y, Hirose H, Saito I et al. Correlation of the adipocytederived protein adiponectin with insulin resistance index and serum high-density lipoprotein-

cholesterol, independent of body mass index, in the Japanese population. *Clin. Science*. 2002; (103): 137–42.

317. Климов АН, Никульчева НГ. Обмен липидов и липопротеинов и его нарушения. СПб.: Питер Ком. 1999. 152с.

318. Abdulrazzak H, Moschidou D, Jones G, Guillot PV. Biological characteristics of stem cells from foetal, cord blood and extraembryonic tissues. *J. R. Soc. Interface: [Electronic source]*. 2010; 689–706. DOI: 10.1098/rsif.2010.0347.focus.

319. Пальцев МА, Кветной ИМ, Полякова ВО и др. Нейроиммуноэндокринные механизмы старения. *Успехи геронтологии*. 2009; 22 (1): 24–36.

320. Thorner MO. Endocrinology of aging: the convergence of reductionist science with systems biology and integrative medicine. *Frontiers in Endocrinology: Electronic source*. 2010. Vol. 1. 1p. – DOI: 10.3389/fendo.2010.00002.

321. Reaven GM. Insulin resistance/compensatory hyperinsulinemia, essential hypertension, and cardiovascular disease. *J. Clin. Endocrin*. 2003; 88 (6): 2399–403.

322. Feldman HA, Longcope C, Derby CA et al. Age trends in the level of serum testosterone and other hormones in middle-aged men: longitudinal results from the Massachusetts male aging study. *J. clin. Endocr. Metab*. 2002; 87 (2): 589–98.

323. Чазова ИЕ. Лечение дислипидемий у больных артериальной гипертензией. *Терапевтический архив*. 2007; 79 (4): 53–7.

324. Шилов АМ., Чубаров МВ, Мельник МВ и др. Артериальная гипертензия и метаболический синдром. *Международный медицинский журнал* 2002; 11 (21): 1145–9.

325. Sans S, Kesteloor H, Kromhout D et al. The burden of cardiovascular diseases mortality in Europe. Task Force of the European Society of Cardiology on Cardiovascular Mortality and Morbidity Statistics in Europe. *Eur. Heart J* 1997; 18 (8): 1231–48.

326. Бабийчук ВГ. Возрастные особенности роли оксида азота в механизмах адаптации животных к ритмическим холодовым воздействиям.

Сообщение 1. Содержание конечных продуктов обмена NO в сыворотке крови и миокарде молодых и старых животных после ритмических холодовых воздействий. Проблемы криобиологии. 2006; 16 (4): 377–89.

327. Бабийчук ВГ, Марченко ВС, Бабийчук ГА, Марченко ЛН, Бондар ТН. Структурно-функциональные механизмы действия экстремального охлаждения на терморегуляторные центры гипоталамуса. Проблемы криобиологии. 2004; (2): 62–70.

328. Бабийчук ЛВ., Сиротенко ЛА, Малова НГ. Уровни липидов и глюкозы в сыворотке крови крыс на фоне стресс индуцированной артериальной гипертензии и после введения криоконсервированной кордовой крови. Проблеми ендокринної патології. 2014; (3): 89–96.

329. Galofé J, Frühbeck G, Salvador J. Obesity and thyroid function: pathophysiological and therapeutic implications. *Hot Thyroidol*. 2010; (6): 2075–202.

330. Bastemir M, Akin F, Alkis E. et al. Obesity is associated with increased serum TSH level, independent of thyroid function. *Swiss. Med. Wkly*. 2007; (137): 29–30.

331. Нарыжнева ЕВ. Сезонная и возрастная динамика содержания тиреоидных гормонов в сыворотке крови бычков. Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2014; (3): 90–2.

332. Соловьёв РМ, Козловский ВЮ, Леонтьев АА. Возрастная динамика тиреоидных гормонов в крови ремонтных тёлоч голштинской породы. Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2011; 4 (32): 301–3.

333. Guzzardi MA. Maternal adiposity and infancy growth predict later telomere length: a longitudinal cohort study. *J Obes*. 2016; 40(7): 1063–69.

334. Pigeyre M, Yazdi FT, Kaur Y et al. Recent progress in genetics, epigenetics and metagenomics unveils the pathophysiology of human obesity. *Clin Sci (Lond)*. 2016; 130(12): 943–86.

335. Hodson L. Adipose tissue oxygenation: Effects on metabolic function. *Adipocyte*. 2014; 3(1): 75–80.

336. Kulecka M, Paziewska A, Zeber-Lubecka N et al. Prolonged transfer of feces from the lean mice modulates gut microbiota in obese mice. *Nutr Metab (Lond)*. 2016; 13(1): 57–63.
337. Bates GW, Whitworth NS. Effect of body weight reduction on plasma androgens in obese, infertile women. *Ferl. Sten.* 2009; 38: 406.
338. Григорян ОР, Андреева ЕН. Ожирение и репродуктивная система. *Трудный пациент*. 2011; 9(8–9): 21–4.
339. Князькова ИИ. Факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний у мужчин: фокус на дефицит андрогенов. *Медицинские аспекты здоровья мужчины*. 2012; (4): 18–25.
340. Ahima RS, Osei SY. Adipokines in obesity. *Front.Horm. Res.* 2008; (36): 182–97.
341. Menni Cr, Kastenmüller G, Kr.Petersen A et al. Metabolomic markers reveal novel pathways of ageing and early development in human populations. *International Journal of Epidemiology: Electronic source*. 2013. P. 1–9. DOI: 10.1093/ije/dyt094.
342. Cutler GB, Glenn M, Bush M et al. Adrenarche: a survey of rodents, domestic animals, and primates. *Endocrinology: Electronic source*. 1978; (103): 2112–8. DOI: 10.1210/endo-103-6-2112.
343. Goncharov NP, Katsiya GV, Dzhokua AA et al. Effect of neurosteroid dehydroepiandrosterone on the higher nervous activity of old non-human primates. *Hum Physiol*. 2014; 40(2): 149–55.
344. Labrie F, Bélanger A, Simard J et al. DHEA and peripheral androgen and estrogen formation: intracrinology. *Ann NY Acad Sci*. 1995; (774): 16–28.
345. Kimonides VG, Spillantini MG, Sofroniew MV et al. Dehydroepiandrosterone antagonizes the neurotoxic effects of corticosterone and translocation of stress-activated protein kinase 3 in hippocampal primary cultures. *Neuroscience*. 1999; (2): 429–36.

346. Pluchino N, Drakopoulos P, Bianchi-Demicheli F et al. Neurobiology of DHEA and effects on sexuality, mood and cognition. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*. 2015; (145): 273–80. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2014.04.012.

347. Mete F, Kilic E, Somay A, Yilmaz B. Effects of heat stress on endocrine functions & behaviour in the pre-pubertal rat. *The Indian Journal of Medical Research: Electronic source*. 2012; 135 (2): 233–9. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3336856> (Last accessed: 12.05.2017).

348. Шило АВ, Венцковская ЕА, Семенченко АЮ, Бабийчук ГА. Влияние холодových воздействий на тиреоидную активность и спектр полипептидов средней массы у крыс. *Проблемы криобиологии*. 2012; 22 (1): 3–13.

349. Кулик ВВ, Бабийчук ГО, Бабийчук ВГ, Малова НГ, Сиротенко ЛА. Вплив різних режимів ритмічних екстремальних холодových впливів на вміст гормонів і ліпідів у сироватці крові молодих і старих щурів. *Проблемы криобиологии и криомедицины*. 2019; 29 (3): 206–20.

350. Кулик ВВ., Бабийчук ГА., Сосин ИК., Мамонтов ВВ. Влияние различных режимов ритмических экстремальных холодových воздействий на интенсивность процессов перекисного окисления липидов в тканях головного мозга и содержание гормонов в сыворотке крови старых крыс. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2020; 2 (24): 178–84.

351. Кулик ВВ, Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ, Мамонтов ВВ, Бабийчук АВ. Влияние ритмического экстремального охлаждения на состояние липидного профиля сыворотки крови старых крыс в норме и при алиментарном ожирении. *Природничі науки: історія, сучасність, майбутнє, досвід ЄС: мат. міжнар. наук.-практ. конф. м. Влоцлавек, Республіка Польща, 27–28.09.2019 м. Влоцлавек, 2019*. С. 136–140.

352. Илюхина ВА. *Нейрофизиология функциональных состояний человека*. Л.: Наука, 1986. 171 с.

353. Журавлев КИ. Развитие идей Б.Н.Тарусова о роли цепных процессов в биологии. Биоантиокислители и регуляция метаболизма в норме и патологии. М.: Наука, 1982. С. 3–37.
354. Griffit OW. Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutastion synthesis. *Free Radic.Biol.Med.* 1999; 27 (9–10): 922–35.
355. Барабой ВА, Брахман ИИ, Гологин ВГ и др. Перекисное окисление и стресс. СПб: Наука, 1992. 148 с.
356. Дубинина ЕЕ. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса. *Вопросы медицинской химии.* 2001; 47 (6): 561–81.
357. Тарусов БН. Первичные процессы лучевого поражения. М.: Госатомиздат, 1962. 96 с.
358. Барабой ВА, Жадько СИ, Кордюм ЕЛ и др. Перекисное окисление липидов растений различного уровня организации при микрогравитационном стрессе. *Известия АН СССР, сер. Биологическая.* 1991; (3): 368–75.
359. Барабой ВА, Сутковой ДА. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и при патологии. СПб: Наука, 1997. 167 с.
360. 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>.
361. 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 (3): 2552–60.
362. Юрченко ТН, Белоножко АП, Говоруха ТП и др. Влияние охлаждения на структуру клетки. К.: Наукова думка, 1992. 145 с.

363. Гольцев АН, Бабенко НН. Обоснование возможности использования эмбриональных нервных клеток при лечении органоспецифических аутоиммунных заболеваний. Проблемы криобиологии. 2003; (2): 49–61.
364. Гордієнко ЄО, Товстяк ВВ. Фізика біомембран. К.: Наукова думка, 2009. 268 с.
365. Никитченко ЮВ. Регуляция свободнорадикального окисления липидов в процессе старения организма. Биологические механизмы старения. Харьков. 2002. 38–9 с.
366. Нестеров ЮИ, Тепляков АТ. Возможность коррекции перекисного окисления липидов комбинированной антигипертензивной терапией у больных артериальной гипертензией. Артериальная гипертензия. 2004; 10 (1): 36–8.
367. 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.
368. 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.
369. 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.
370. 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.
371. 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.

372. Борискин ПВ, Гуленко ОН, Девяткин АА, Каримова РГ, Леонов В.В. Корреляция распределения активности глутатионредуктазы в сыворотки крови тканях белых беспородных крыс. Вестник медицинского института «РЕАВИЗ». 2019; (1): 208–10.

373. Колесникова ЛВ. Стресс–индуцированные изменения жизнедеятельности организма. Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2018; 17 (4): 30–6.

374. Кальцидинова ОВ, Десятиркина ИА, Срослова ТА. Молекулярные механизмы окислительного стресса при старении (материалы конференции). Вестник ВолГУ. Серия 11. Естественные науки. 2018; 8 (2): 61–4.

375. Кострова ТА, Батоцыренова ЕГ, Кашуро ВА, Долго–Сабуров ВБ, Степанова СВ. Оценка биохимических показателей в тканях головного мозга крыс в отдаленный период после тяжелого отравления тиопенталом натрия. Медицина экстремальных ситуаций. 2019; 21 (3): 429–35.

376. Ходарев НВ, Жемчужнова НЛ, Олемпиева БВ, Жинко МН, Нешин СГ. Влияние общей воздушной криотерапии на антиоксидантный статус крови. Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. 2012; (1): 32–5.

377. Кулик ВВ, Бабийчук ГА, Сосин ИК, Мамонтов ВВ. Влияние различных режимов ритмических экстремальных холодových воздействий на интенсивность процессов перекисного окисления липидов в тканях головного мозга и содержание гормонов в сыворотке крови старых крыс. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020; 2 (24): 178–84.

378. Кулик ВВ, Бабийчук ВГ. Влияние различных режимов ритмических экстремальных холодových воздействий на уровень перекисного окисления липидов в тканях головного мозга старых крыс. Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды: мат. VI межд. науч.-практ. конф. г. Челябинск, РФ, 8–9.10.2016 г. Челябинск, 2016. С. 268–272.

379. Кулик ВВ, Бабийчук ВГ, Невзоров ВП, Чернявская ЕА. Влияние ритмических экстремальных холодových воздействий (–120°C) на особенности

ультраструктурной организации нейронов коры головного мозга молодых и старых крыс. Вісник проблем біології і медицини. 2016; 1 (126): 288–94.

380. Кулик ВВ, Бабийчук ВГ. Динамика ультраструктурных перестроек гиппокампа молодых и старых крыс до и после ритмических экстремальных холодových воздействий (-120°C). Вісник проблем біології і медицини. 2017; 2 (3): 69–75.

381. Кулик ВВ. Ультраструктурні зміни гіпоталамусу у тварин різних вікових груп після ритмічних холодových екстремальних впливів (-120°C). Інноваційні технології в медицині: досвід Польщі та України: мат. міжнар. наук.-практ. конф. г. Люблін, Республіка Польща, 28–29.04.2017 г. Люблін, 2017. С. 130–134.

382. Кулик ВВ, Бабийчук ВГ. Особенности ультраструктурной организации нейронов коры головного мозга крыс после ритмических экстремальных холодových воздействий. Actualscience. 2015; 1 (5): 5–6.

383. Кулик ВВ, Бабийчук ВГ. Динамика ультраструктурных перестроек эндотелиоцитов кровеносных капилляров коры головного мозга крыс после ритмических экстремальных холодových воздействий (-120°C). Фундаментальні та прикладні дослідження в біології та екології: мат. IV міжнар. наук. конф. м. Вінниця, Україна, 12–14.04.2016 м. Вінниця, 2016. С. 354–355.

384. Кулик ВВ, Бабийчук ВГ. Ультраструктурные перестройки гипоталамуса старых крыс после ритмических экстремальных холодových воздействий. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2016; 26 (2): 185.

385. Grundman M, Petersen RC, Ferris SH et al. Mild cognitive impairment can be distinguished from Alzheimer disease and normal aging for clinical trials. Arch. Neurol. 2004; 61 (1): 59–66.

386. Смирнов ВМ, Будылина СМ. Физиология сенсорных систем и высшая нервная деятельность: учеб. пособие для студ. вузов. М.: Изд. центр «Академия», 2003. 304 с.

387. Бауман У, Перре М. Клиническая психология. СПб, 2003. 568с.

388. Штернберг ЭЯ. Геронтологическая психиатрия. М.: Медицина, 1977. 205 с.
389. Baltes PB. et al. Psychological perspectives on successful aging: The model of selective optimization with compensation. *Successful Aging: Perspectives From the Behavioral Sciences*. 1990; 1 (1): 1–34.
390. Марцинковская ТД, Марютина ТМ, Стефаненко ТГ и др. Психология развития: учебник для студ. высших психологических учебных заведений. М.: 2008. 211с.
391. Денисова ТП, Малинова ЛИ. Клиническая геронтология “Избранные лекции”. М.:ООО Медицинское информационное агентство, 2008. 256 с.
392. Кулик ВВ, Бабийчук ВГ. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий на формирование долговременной пространственной памяти у старых крыс. Актуальні питання розвитку біології та екології: мат. міжнар. наук.-практ. конф. м. Вінниця, Україна, 3–7.10.2016 м. Вінниця, 2016. С. 428–431.
393. Голованова ЕД, Федоров ГН, Григорьева ВН и др. Биологические ритмы и возраст. *Клиническая геронтология*. 2011; 17 (11–12): 16–20.
394. Герасимов ИГ. Возрастная динамика качества функционирования организма человека (анатомо-морфологические показатели). *Проблемы старения и долголетия*. 2012; 21 (1): 3–13.
395. Carro A, Kaski JC. Myocardial infarction in the elderly. *Aging and Disease*. 2011; 2 (1): 116–37.
396. Никитин ВС, Азин АЛ, Азьев АЛ, Смирнов АВ. Дисфункция вегетативной нервной системы при преждевременном старении организма. *Успехи геронтологии*. 2007; 20 (2): 66–9.
397. Anisimov VN. Experimental research on ageing in Russia. *Experimental Gerontology*. 2001; (36): 935–45.

ДОДАТОК А

Список публікацій здобувача за темою дисертації та відомості про апробацію результатів дисертації

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

Статті у фахових виданнях України

1. **Кулик ВВ**, Бабійчук ВГ. Влияние различных режимов экстремального охлаждения на состояние вегетативной и гуморальной регуляции сердечного ритма у молодых крыс. Вісник Луганського національного університету ім. Т.Шевченка. Біологічні науки. 2014; 12(1): 88–96.

2. **Кулик ВВ**, Бабійчук ВГ, Невзоров ВП, Чернявская ЕА. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C) на особенности ультраструктурной организации нейронов коры головного мозга молодых и старых крыс. Вісник проблем біології і медицини. 2016; 1(126): 288–94.

3. **Кулик ВВ**, Бабійчук ВГ. Динамика ультраструктурных перестроек гиппокампа молодых и старых крыс до и после ритмических экстремальных холодовых воздействий (-120°C). Вісник проблем біології і медицини. 2017; 2(3): 69–75.

4. **Кулик ВВ**, Бабійчук ГО, Бабійчук ВГ, Малова НГ, Сиротенко ЛА. Вплив різних режимів ритмічних екстремальних холодових впливів на вміст гормонів і ліпідів у сироватці крові молодих і старих щурів. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2019; 29(3): 206–20 (Scopus)

5. **Кулик ВВ**, Бабійчук ГА, Сосин ИК, Мамонтов ВВ. Влияние различных режимов ритмических экстремальных холодовых воздействий на интенсивность процессов перекисного окисления липидов в тканях головного мозга и содержание гормонов в сыворотке крови старых крыс. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020; 2(24): 178–84.

Статті в наукових періодичних виданнях інших країн

6. **Кулик ВВ**, Бабийчук ВГ. Состояние вегетативной регуляции сердечного ритма у молодых и старых крыс до и после применения разных режимов ритмического экстремального охлаждения. Успехи геронтологии. 2020; 33(3): 436–43. (Scopus)

Наукові праці, які засвічують апробацію матеріалів дисертації:

Статті в збірках матеріалів конференцій

7. **Кулик ВВ**. Динамика изменений показателей спектрального анализа variability ритма сердца крыс при различных режимах ритмических экстремальных холодовых воздействий. Variability сердечного ритма: теоретические и прикладные аспекты: мат. Всероссийской заочн. науч.–практ. конф. г. Чебоксары, РФ, 1.11. 2014 г. Чебоксары, 2014. с. 86–90.

8. **Кулик ВВ**, Бабийчук ВГ. Влияние различных режимов ритмических экстремальных холодовых воздействий на уровень перекисного окисления липидов в тканях головного мозга старых крыс. Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды: мат. VI межд. науч.–практ. конф. г. Челябинск, РФ, 8–9.10.2016 г. Челябинск, 2016. с. 268–72.

9. **Кулик ВВ**. Ультраструктурні зміни гіпоталамусу у тварин різних вікових груп після ритмічних холодових екстремальних впливів (-120°C). Інноваційні технології в медицині: досвід Польщі та України: мат. міжнар. наук.–практ. конф. г. Люблін, Республіка Польща, 28–29.04.2017 г. Люблін, 2017. с. 130–34.

10. **Кулик ВВ**, Чернявская ЕА, Бабийчук ВГ, Мамонтов ВВ, Бабийчук АВ. Влияние ритмического экстремального охлаждения на состояние липидного профиля сыворотки крови старых крыс в норме и при алиментарном ожирении. Природничі науки: історія, сучасність, майбутнє, досвід ЄС: мат. міжнар. наук.–практ. конф. м. Влоцлавек, Республіка Польща, 27–28.09.2019 м. Влоцлавек, 2019. с. 136–40.

Тези конференцій

11. **Кулик ВВ**, Бабийчук ВГ. Особенности ультраструктурной организации нейронов коры головного мозга крыс после ритмических экстремальных холодовых воздействий. Actualscience. 2015; 5(5): 5–6.

12. **Кулик ВВ**. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий на некоторые показатели биоэлектрической активности головного мозга 6 и 24 месячных крыс. Біологічні дослідження – 2016: тези наук.–практ. конф. для молодих вчених і студентів. м. Житомир, Україна, 10–11.03.2016 г. Житомир. 2016. с. 274–76.

13. **Кулик ВВ**, Бабийчук ВГ. Динамика ультраструктурных перестроек эндотелиоцитов кровеносных капилляров коры головного мозга крыс после ритмических экстремальных холодовых воздействий (–120°C). Фундаментальні та прикладні дослідження в біології та екології: мат. IV міжнар. наук. конф. м. Вінниця, Україна, 12–14.04.2016 м. Вінниця, 2016. с. 354–55.

14. **Кулик ВВ**, Бабийчук ВГ. Влияние ритмических экстремальных холодовых воздействий на формирование долговременной пространственной памяти у старых крыс. Актуальні питання розвитку біології та екології: мат. міжнар. наук.–практ. конф. м. Вінниця, Україна, 3–7.10.2016 м. Вінниця, 2016. с. 428–31.

15. **Кулик ВВ**, Бабийчук ВГ. Ультраструктурные перестройки гипоталамуса старых крыс после ритмических экстремальных холодовых воздействий. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2016; (2): 185. (Scopus)

Патент України на корисну модель

16. Патент № 115621, Україна, МПК А61В 18/02, А61F 7/00. Заявл. 17.10.2016, з.н. и 201610493. Спосіб підвищення адаптивних можливостей організму старих тварин. Публ. 25.04.2017. Бюл. №8. Заявник Г.О. Бабійчук, В.В. Мамонтов, В.В. Кулик, В.Г. Бабійчук.

ДОДАТОК Б

Апробація матеріалів дисертації

Апробація результатів дисертації. Результати роботи були представлені на наступних наукових конференціях:

– «Вариабельность сердечного ритма: теоретические и прикладные аспекты» всеросійська заочна міжнародна науково–практична конференція (2014 р., Чебоксары, РФ);

– «Біологічні дослідження – 2016» науково–практична конференція для молодих вчених і студентів (10–11.03.2016 р., Житомир, Україна);

– «Холод в біології та медицині – 2016. Актуальні питання кріобіології, трансплантології та біотехнології» 40-й щорічна конференція молодих вчених (2016 р., Україна, Харків);

– «Фундаментальні та прикладні дослідження в біології та екології» міжнародна науково–практична конференція студентів, аспірантів і молодих вчених, (12–14.04.2016 р., Вінниця, Україна);

– «Актуальні питання розвитку біології та екології» міжнародна науково–практична конференція (3–7.10.2016 р., Вінниця, Україна);

– «Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды» VI міжнародна науково–практична конференція (8–9.10.2016 р., Челябінськ, РФ);

– «Інноваційні технології в медицині: досвід Польщі та України» міжнародна науково–практична конференція (28–29.04.2017 р., Республіка Польща, Люблін);

– «Природничі науки: історія, сучасність, майбутнє, досвід ЄС» міжнародна науково–практична конференція (27–28.09.2019 р., Влоцлавек, Республіка Польща).

УКРАЇНА



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 115621

СПОСІБ ПІДВИЩЕННЯ АДАПТИВНИХ МОЖЛИВОСТЕЙ
ОРГАНІЗМУ СТАРИХ ТВАРИН

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі 25.04.2017.

В.о. Голови Державної служби
інтелектуальної власності України

А.А.Малиш

