

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ
НАН УКРАЇНИ**

БАБІЙЧУК ВЛАДИСЛАВ ГЕОРГІЙОВИЧ

УДК [616.1.+616.43.+616.8]-001.18.9-092.9

**МЕХАНІЗМИ ДІЇ ЕКСТРЕМАЛЬНО НИЗЬКИХ ТЕМПЕРАТУР НА
СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЦЕНТРАЛЬНОЇ
НЕРВОВОЇ І СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ СИСТЕМ У ТВАРИН РІЗНИХ
ВІКОВИХ ГРУП**

14.01.35 – кріомедицина

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Харків – 2010

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України

Науковий консультант: академік НАН України, доктор медичних наук, професор **Грищенко Валентин Іванович**,
Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, директор (м. Харків)

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор **Юрченко Тетяна Миколаївна**,
Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, завідувач відділу кріоморфології (м. Харків)

доктор медичних наук, професор **Шепітько Володимир Іванович**,
Вищий державний навчальний заклад України
«Українська медична стоматологічна академія»,
Завідувач кафедри гістології, цитології і ембріології (м. Полтава)

доктор медичних наук **Бачеріков Андрій Миколайович**,
Інститут неврології, психіатрії і наркології,
Завідувач відділу психіатрії (м. Харків)

Захист відбудеться «19» жовтня 2010 р. о 12.00 годині на засіданні спеціалізованої Вченої ради Д 64.242.01 при Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України,
61015, м. Харків, вул. Переяславська, 23.

Автореферат розіслано «3» вересня 2010 р.

Вчений секретар
Спеціалізованої Вченої ради,
доктор біологічних наук, професор

Розанов Л.Ф.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Значні досягнення науки в галузі фундаментальних і прикладних досліджень дії холоду на організм людини в значній мірі зумовили інтерес лікарів до можливого використання низьких температур в практичній медицині. З появою сучасної медичної техніки створено умови для терапевтичного застосування екстремальної кріотерапії (-120°C) [Yamauchi T., 1983, 1986; Fricke R., 1989; Чернышев И.С., 1998; Баранов А.Ю., 2005]. Екстремальна кріотерапія (ЕК) вважається однією з сучасних фізіотерапевтичних процедур, яка в поєднанні з традиційними методами може бути використана при лікуванні патологій різного генезу [Yamauchi T., 1983; Алехин А.И. и др., 2001; Миронов С.П. и др., 2005]. Проте, цей фізіотерапевтичний метод залишається нетрадиційним, екзотичним. В основі ЕК лежить використання температур нижче -100°C . Метод значно відрізняється від традиційного лікування ряду захворювань краніоцеребральною гіпотермією [Марченко В.С. и др., 1995, 1998, 2000]. При ЕК організм перш за все реагує на дію холоду не тільки системою терморегуляції, але й всіма можливими механізмами адаптації, при цьому активуються гіпоталамо-гіпофізарно-адреналова, імунна, ендокринна та інші системи. Нетривала дія екстремально низьких температур не виснажує енергетичні і функціональні резерви організму. Короткочасні холодові впливи уповільнюють процеси перекісного окислення і фосфорелювання в покривних тканинах, трансмембранне перенесення клітинних метаболітів, зменшують потребу клітин в кисні і поживних речовинах і мають зворотній характер. Явища, що розвиваються в глибоко розташованих тканинах і органах, мають вторинне, рефлекторне і нейрогуморальне походження, оскільки їх температура практично не змінюється [Барабаш Н.А., 1996; Баранов А.Ю. и др., 2000].

Особливий інтерес представляють фізіологічні механізми короткострокової дії екстремально низьких температур на діяльність вегетативних центрів і систем нейроендокринної регуляції, які безпосередньо відповідають за температурний гомеостаз, оскільки реакція цього складного «ансамблю» вищих нейроендокринних регуляторних механізмів на екстремальне охолодження не вивчена. Важливу роль в реакції організму на охолодження грає проникність гематоенцефалічного бар'єра (ГЕБ).

В існуючих нейротрансмітерних концепціях центральної терморегуляції до останнього часу не враховувався функціональний стан ГЕБ гіпоталамуса. Можливо, саме тому схеми нейромедіаторної організації температурного гомеостазу не пояснюють деякі специфічні ефекти екстремальних температурних впливів. Функціонування ГЕБ стимулюється охолодженням і не обмежується тільки впливом на стан терморегуляції. Вірогідно, ГЕБ впливає на багато адаптаційних процесів, залежних від чинника стресу і віку [Бабийчук Г.А. и др., 1989; Марченко В.С., 1997].

З віком нарастають зміни в нейрогуморальній регуляції гемодинаміки, слабшає адренергічний і холінергічний контроль за діяльністю серця.

При старінні зменшується надходження з крові в клітини поживних речовин і кисню, обмежується можливість виведення продуктів обміну. Виникаюча ацидотична альтерація клітин, особливо нервових, впливає на їх геном, призводячи до вторинних змін, зокрема до атрофії, яка супроводжується втратою не тільки клітин, але і волокон м'язової системи, відбуваються зміни вегетативної нервової системи (ВНС). Знижуються життєздатність і загальна неспецифічна резистентність організму [Фролькіс В.В., 1988, 1990].

Знання механізмів виникнення порушення діяльності функціональних систем у старіючому організмі науково обґрунтовує доцільність пошуку шляхів пролонгації часу виникнення дезінтеграції центрів регуляції гомеостазу, проведення фундаментальних досліджень щодо гальмування старіння. Вживання ритмічних короткострокових режимів охолодження підвищує лабільність регуляторних процесів у центральній нервовій і серцево-судинній системах (ЦНС і ССС), стимулює їх прямі і зворотні зв'язки, нормалізує баланс симпатичної і парасимпатичної ланки ВНС з подальшою оптимізацією механізмів гомеостазу.

Метод ритмічних екстремальних кріовпливів здійснюється в спеціальній кріокамері з температурою -120°C . Подібні пристрої зараз успішно використовуються в лікувальних закладах багатьох зарубіжних країн. Особливо перспективним є можливість модуляції активності ГЕБ за допомогою ритмічних екстремальних холодів впливів (РЕХВ) для корекції порушених функцій ЦНС і ССС, які часто супроводжують процес старіння організму. Результати дослідження можуть бути основою для створення високоефективного лікувального методу для осіб похилого віку з метою підвищення працездатності, покращення пам'яті, зменшення професійної депресії.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконувалась в рамках відомих наукових тем Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України відповідно до затвердженого Президією НАН України та виконуваним у відділу кріофізіології наукового напрямку за темою № 29 (номер державної реєстрації 0106U002162): «Фізіологічні і патофізіологічні механізми дії низьких температур на стан центральної нервової, серцево-судинної і ендокринної систем у тварин різних вікових груп». За цільовою програмою прикладних досліджень НАН України «Нові медико-біологічні проблеми і навколишнє середовище» виконана тема № 17 (номер державної реєстрації 0104U006435): «Розробка нових програм екстремальної кріотерапії (-120°C) на основі науково-експериментального обґрунтування медико-біологічної технології підвищення проникності ГЕБ і цілеспрямованого транспорту в ЦНС і інші тканини організму людини біоактивних речовин». За цільовою програмою прикладних досліджень НАН України «Нові медико-біологічні проблеми і навколишнє середовище» виконана тема № 37 (номер державної реєстрації 0109U006896): «Механізми регуляції функції гематоенцефалічного бар'єру при ритмічних холодів впливах». Автор був відповідальним виконавцем зазначених тем.

Мета і задачі дослідження. На основі експериментальних досліджень встановити механізми дії ритмічних екстремально низьких температур (-120°C) на структурно функціональні показники діяльності ЦНС і ССС у тварин різних вікових груп. Визначити роль фізіологічної системи гематоенцефалічного бар'єра в регуляції адаптаційних реакцій після застосування ритмічних екстремальних холододових впливів.

Задачі дослідження.

1. Вивчити ультраструктурні зміни тканин гіпоталамуса старих і молодих тварин залежно від кількості сеансів ритмічних екстремальних холододових впливів.
2. Провести порівняльний аналіз ультраструктурних змін тканин і судин міокарда старих і молодих тварин після стандартного охолодження і РЕХВ.
3. Дослідити особливості реакцій систем нейрогуморальної регуляції у тварин різних вікових груп в динаміці охолодження.
4. Проаналізувати стан систем нейрогуморальної регуляції тварин з аліментарним ожирінням до і після РЕХВ.
5. Дослідити перебіг змін функціонального стану ендокринної системи молодих і старих тварин до і після РЕХВ.
6. Вивчити особливості вільнорадикальних процесів в сироватці крові і міокарді щурів різних вікових груп залежно від кількості сеансів ритмічних екстремальних холододових впливів.
7. Вивчити динаміку змін вмісту кінцевих продуктів обміну оксиду азоту (NO) в тканинах головного мозку, міокарда і сироватці крові у старих і молодих щурів до і після ритмічних екстремальних холододових впливів.

Об'єкт дослідження – Структурно-функціональний стан центральної нервової та серцево-судинної систем організму тварин різних вікових груп в нормі, при ожирінні та ритмічних екстремальних холододових впливах.

Предмет дослідження – Морфофункціональні, біохімічні, цитогістохімічні, ендокринні і електрофізіологічні показники стану тварин і їх зміна при ритмічному екстремальному охолодженні.

Методи дослідження – Для проведення досліджень використовували методи морфологічного, гістохімічного, морфометричного, біохімічного, електрофізіологічного, імунноферментного та статистичного аналізу.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше обґрунтована можливість використання РЕХВ (-120°C) для стимуляції і поліпшення діяльності ЦНС і ССС за рахунок активації функціонування ГЕБ, уніфікації дії вторинних ретроградних месенджерів з метою відновлення, особливо у старих тварин, функціональної активності фізіологічних систем організму, спрямованих на активацію компенсаторних і адаптаційних можливостей, з метою підвищення стійкості організму до дії несприятливих чинників.

Вперше експериментально обґрунтована перевага запропонованого методу холододових впливів в порівнянні з традиційними. Метод РЕХВ більш швидко сприяє відновленню співвідношення функцій симпатичної і парасимпатичної ланки

ВНС, уповільненню або прискоренню серцевого ритму залежно від потреб організму, внаслідок чого значно зростають адаптаційні можливості у старих тварин. В цьому особливу роль відіграє ГЕБ як важлива ланка центральних механізмів терморегуляції.

На моделі аліментарного ожиріння у контрольних тварин відмічено значне зменшення загальної потужності спектра нейрогуморальної регуляції, яке характеризувалось низьким рівнем симпатичних та парасимпатичних впливів ВНС в модуляції серцевого ритму. Після 9 сеансів РЕХВ показники загальної спектральної потужності у цих тварин підвищувались і практично не відрізнялись від показників у тварин, яким ожиріння не моделювали. Ритмічне екстремальне охолодження сприяло відновленню функціональних резервів організму тварин з моделлю аліментарного ожиріння.

Вперше показано, що РЕХВ (-120°C) призводять до періодичної зміни структурно-фізіологічної активності ГЕБ, довгострокової активації синаптичного апарату нейронів гіпоталамуса. Встановлено феномен відновлення «молодої» геометрії структур мозку після 9-го сеансу РЕХВ, про що свідчать показники фрактальної розмірності.

Встановлено, що при РЕХВ в ультраструктурній архітектоніці кардіоміоцитів старих щурів спостерігаються перебудови компенсаторного типу: збільшення кількості мітохондрій; зменшення осередків деструкції і дегенеративних змін; підвищення метаболічної активності; активація в ендотеліоцитах компенсаторно-регенеративних процесів; підсилення трансцелюлярного обміну речовин.

Встановлено, що механізмом дії РЕХВ є активація антиоксидантної системи міокарда, внаслідок якої підвищується резистентність організму, особливо, якщо зважати, що однією із концепцій розвитку старіння є активація ПОЛ. Визначена важлива роль NO як внутрішньоклітинного посередника в регуляції вегетативних функцій шляхом підвищення активності функції ГЕБ.

За результатами проведених досліджень можна стверджувати, що метод РЕХВ підвищує адаптацію організму, мобілізуючи і відновлюючи порушений гомеостаз у старих тварин.

Отримані експериментальні дані важливі для перспективних фундаментальних і прикладних досліджень в цьому напрямку, з метою обґрунтування можливого застосування цього методу для корекції порушень функціональних систем організму у літніх людей.

Практичне значення одержаних результатів. Фундаментальні дослідження ритмічних екстремальних холодових впливів на функціональні системи організму тварин різних вікових груп показали їх перспективність для обґрунтування методу корекції порушень гомеостазу. Отримані результати досліджень поширили уявлення про механізми адаптації тварин при ритмічних кріовпливах. Застосування РЕХВ в динаміці старіння організму ссавців покращує ефективність нейрогуморальної регуляції, створює передумови для підвищення стійкості немолодого організму до дії несприятливих чинників. Результати досліджень дозволили обґрунтувати і підтвердити патентами можливість створення методу

корекції порушених функцій систем гомеостазу внаслідок старіння організму, покращити і «омолодити» вегетативну ритміку організму і в разі впровадження методу одержати високу лікувальну ефективність. Матеріали дисертації використовуються в навчальному процесі ряду факультетів Харківського національного університету ім. В.Н.Каразіна.

Особистий внесок здобувача. Отримані дані є результатом самостійної роботи автора і полягають у розробці оригінальної методики ритмічних екстремальних холодових впливів на організм тварин в умовах кріокамери. Проаналізована наукова література з даної проблеми, визначені мета та задачі дослідження, а також засоби їх вирішення. Всі експерименти по ритмічному охолодженню тварин виконані дисертантом особисто. Морфологічні, цитогістохімічні дослідження виконані за безпосередньою участю автора.

Автором самостійно проведені статистична обробка та аналіз отриманих даних, обґрунтування основних положень, висновків та практичних рекомендацій дисертаційної роботи. Зважаючи на широке використання суміжних дисциплін, дисертаційна робота виконувалась при наданні консультативної допомоги співробітниками відділів кріоморфології, кріобіохімії ІПКіК НАН України. Опубліковані в співавторстві наукові статті відображають концепцію роботи та підтверджують ідеї і рішення поставлених дисертантом задач. Допомога співавторів була спрямована на виконання окремих методичних задач.

У опублікованих в співавторстві роботах особистий внесок здобувача полягає:

- в роботах [3, 7, 8, 9, 13, 14] у розробці і постановці методики електронно-мікроскопічних досліджень, експериментів, проведенні ритмічного охолодження тварин, аналізі, статистичній обробці та обговоренні отриманих результатів;
- в роботах [11, 21, 24] у плануванні і проведенні експериментів, аналізі одержаних результатів і на їх основі висновку щодо морфо-функціонального стану структур мозку в динаміці холодових впливів. Спільно із співавторами здійснювалася постановка методики нейрогістохімічних досліджень гіпоталамуса, обговорювалися одержані результати;
- в роботі [20] спільно з науковим консультантом здійснено обговорення результатів. Постановку експериментів, статистичну обробку, узагальнення одержаних результатів автором проведено самостійно;
- в роботах [5, 6, 17, 33, 45] співавторами була надана допомога у постановці та проведенні методик визначення ПОЛ.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації доповідались і обговорювались на наукових форумах: 19 з'їзді Фізіологічного товариства ім. Павлова (Росія, Єкатеринбург, 19 вересня 2004 р.); XX Російській конференції по електронній мікроскопії (Черноголовка, 2004 р.); III конференції Українського товариства нейронаук з міжнародною участю (2005 р.); IV Національній науково-практичній конференції «Активні форми кисню, оксид азоту, антиоксиданти і здоров'я людини» (Росія, Смоленськ, 2005 р.); конференції «Актуальні проблеми функціональної морфології» (Полтава, 2005 р.); конференції «Біологія – наука XXI століття» (Росія, Пушино, 2006 р.); Міжнародній конференції «Молодь і сучасні проблеми радіотехніки і телекомунікацій» «РТ-

2006» (Севастополь, 2006 р.); науково-практичній конференції «Профілактика, діагностика та лікування – основні складові терапії» (Харків, 2006 р.); науково-практичній конференції «Щорічні терапевтичні читання: роль медичної науки в рішенні проблем внутрішніх хвороб (Харків, 28 березня 2007 р.); конференції з міжнародною участю «Нові кріобіотехнології для розв’язання фундаментальних і прикладних задач медицини» (Харків, 2008 р.); доповіді на розширеному засіданні відділення біохімії, фізіології і молекулярної біології НАН України (Київ, 2010 р.).

Результати основних положень дисертації викладені в 45 друкованих працях, з яких 10 написані одноосібно.

Публікації. Основні положення дисертації викладено в 45 наукових працях: в наукових фахових виданнях – 21, в інших наукових виданнях – 7, тезах доповідей на наукових форумах – 12. Отримано 5 патентів України на винахід.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 335 сторінках друкованого тексту і складається з вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, результатів та обговорення власних досліджень, заключної частини, висновків, списку літератури, що містить 360 джерел.

Дисертація ілюстрована 47 рисунками і 87 електронограмами.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. У роботі використано 484 щурів-самців лінії Вістар масою 160-180 г, та 250-280 г, які знаходились в віварії ІПКіК НАН України в стандартних умовах з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1985р). Для виключення сезонних і добових коливань температури на досліджувані показники усі експерименти проводились в осінній період у ранковий час. Моделлю дослідження були старі щури (2-річні), а контролем – молоді, статевозрілі.

Ритмічні екстремальні холодові впливи на тварин виконували в кріокамері «Кріо-Спейс» (Німеччина), покращеної конструкції ЗАТ «Холод» (Київ). Дослідні групи тварин, по 10 щурів в кожній, одночасно розміщувались в кріокамері і охолоджувались за наступною програмою.

У першій камері з температурою повітря -10°C щури знаходилися 10 с, після чого через герметичні двері їх поміщали в другу камеру на 15 с з температурою повітря -60°C , далі тварин швидко переміщали на 2 хв. в третю камеру з сухим повітрям, охолодженим до -120°C . Після процедури охолодження щурів виймали з камери і тримали при кімнатній температурі ($+24^{\circ}\text{C}$) 5 хв., далі процедуру охолодження повторювали і знову тримали 5 хв. при кімнатній температурі, після чого за аналогічною схемою їх знову поміщали послідовно в кріокамери. Таким чином, протягом короткого періоду тварини одержували три процедури ритмічних екстремальних холодових впливів. Через добу РЕХВ повторювали, а через добу після другого сеансу РЕХВ повторювали ще раз. Всього тварини охолоджувались 9 разів по 2 хв. при температурі -120°C . При загальноприйнятій методиці, яка використовується на цей час в медичній практиці, щурів поміщали в кріокамеру с температурою -120°C на 2 хв., після чого процедуру охолодження повторювали впродовж декількох наступних днів. До і після процедури щурам записували електрокардіограму.

Моделювання аліментарного ожиріння у щурів здійснювали по методу [Баранов В.Г. и др., 1972]. Наявність ожиріння встановлювали по факту збільшення індексу Лі, який є вірогідним математичним показником ступеня ожиріння. Для електронно-мікроскопічних досліджень робили ультра тонкі зрізи на ультра мікротомі УМПТ-4, їх огляд і фотографування виконували на мікроскопах ПЕМ-125К і ЕВМ-100БР. В якості маркерного ферменту для вивчення процесів проникливості ГЕБ і ендотеліального транспорту речовин використовували пероксидазу хрону. Її активність визначали за методом [Graham R.C., Karnovsky M.J., 1966]. Для виявлення аденілатциклази використовували гістохімічний метод [Гаер Г., 1974]. Морфометричну обробку даних виконували за допомогою комп'ютерної системи [Марченко Н.В. и др., 2007]. Спектральний аналіз варіабельності серцевого ритму проводили за допомогою програми «Полі-Спектр-Ритм» [Михайлов В.М., 2002]. Результати спектрального аналізу представляли у вигляді графіка розподілу частот, за яким судили про баланс ланок ВНС.

Стан в організмі процесів ПОЛ і утворення активних форм кисню оцінювали за допомогою хемілюмінесценції [Серкис Я.И. и др., 1989; Фартхутдинов Р.Р. и др., 1998]. Рівень ТБК-активних продуктів в сироватці крові вимірювали за методом [Андреева Л.М., 1998], який полягає в колориметричному вимірі інтенсивності поглинання комплексу МДА з тіобарбітуровою кислотою. Активність індукованого ПОЛ визначали за методом [Владимиров Ю.А. и др., 1972]. Каталазну активність в гомогенатах м'яза серця вивчали спектрофотометричним методом за зменшенням H_2O_2 при довжині хвилі 240 нм [Королюк М.А. и др., 1998]. Глутатіонпероксидазну активність визначали спектрофотометричним методом на Cary-50 за приростом вмісту окисленого глутатіону [Тертюєва А.Б. та ін., 2001]. Глутатіонредуктазну активність вивчали, застосовуючи спектрофотометр Cary-50, аналізуючи зменшення НАДФН відносно буферного розчину [Чернов Н.Н., 1979].

Кількісну величину вмісту T_3 і T_4 в сироватці крові для оцінки функціонального стану щитоподібної залози щурів вивчали за допомогою імуноферментного аналізу, застосовуючи реагенти «Ифа-Бест» (Росія).

Дослідження вмісту кінцевих продуктів обміну NO в сироватці крові і тканинах міокарду оцінювали фотометричним методом за реакцією Грисса [Ванханен В.Д. и др., 1983].

Статистичну обробку отриманих експериментальних даних проводили за допомогою IBM-сумісного комп'ютера за програмою «Excel». Зміни показників вважали вірогідними при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вплив ритмічного екстремального охолодження ($-120^{\circ}C$) на структурно-функціональний стан гіпоталамуса молодих та старих щурів. Пошуки шляхів впливу на порушений функціональний стан різних систем організму, що забезпечують гомеостаз, особливо, при прискореному старінні, є однією із найважливіших задач сучасної біології та медицини. Одним з таких методів є короткострокове охолодження в умовах спеціальної кріокамери при температурі $-120^{\circ}C$. Позитивна дія ритмічних холодкових процедур пов'язана з підвищенням

лабільності регуляторних процесів в ЦНС і ССС; «розхитуванням» симпато-парасимпатичних перемикачів; оптимізацією центральної і периферичної дії (А, НА, АХ), вторинних (цАМФ, цГМФ) і ретроградних (NO) месенджерів; відновленням фрактальних властивостей біоритмів мозку; ультраструктурними перебудовами основних елементів, які є морфологічною основою ГЕБ та забезпечують проникність в ЦНС біологічно активних речовин.

На перших етапах РЕХВ спостерігаються структурно-функціональні зміни гіпоталамуса молодих тварин, що пов'язані з підсиленням процесів неспецифічного піноцитозу і трансцитозу, активацією мітохондрій. Пероксидаза хрому, яка є маркером піноцитозу, виявляється за базальною мембраною (рис. 1).

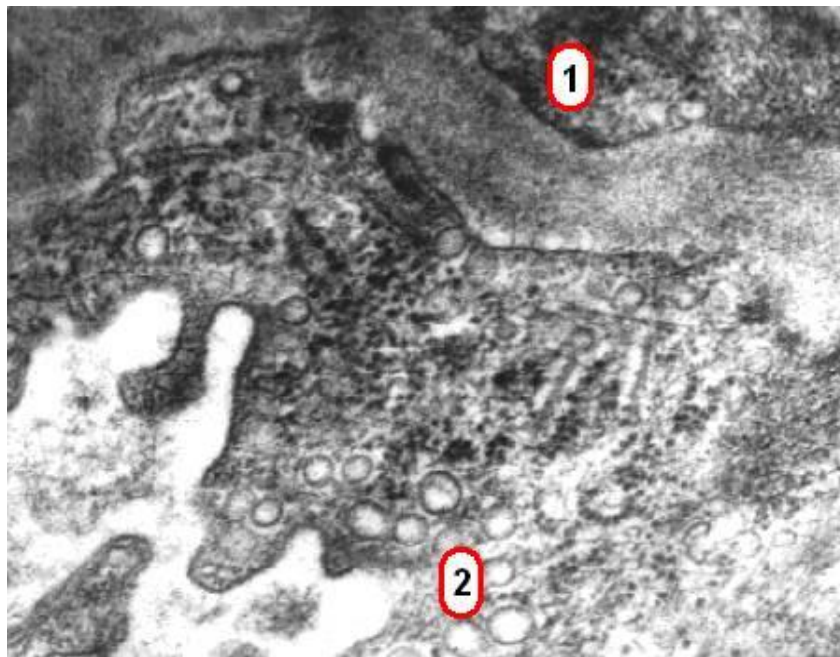


Рис. 1 Активація піноцитозу в капілярному ендотелії гіпоталамуса молодого щура. х 30000. 1 – маркер піноцитозу; 2 – піноцитозні везикули.

Згодом нарівні з неспецифічним піноцитозом активується специфічний рецептор-індукований трансцитоз, про що свідчить збільшення кількості везикул, що покриті клатріновою капсулою (рис. 2).

При посиленні піноцитозу підвищується реактивність судинного ендотелію, яка регулюється гуморальними і нейротрансмітерними механізмами. Вже після 3-х сеансів РЕХВ у частини нейронів синаптичний апарат знаходиться в стані підвищеної функціональної напруги, в постсинаптичних ділянках спостерігається утворення субповерхневих цистерн, які характерні для явища довгострокової потенціації.

Критерієм старіння, в тому числі тварин, є зменшення кількості нейронів, підвищення гліального індексу.

Спостерігається тенденція до зменшення кількості ендотеліоцитів. Змінюються об'єм, форма і структура нейронів. Має місце зменшення ядер нейронів. Як правило, спостерігається багато рибосом, що свідчить про посилений

синтез білка в клітинах. Ці зміни можна розглядати як реакції, що спрямовані на підтримку певного рівня метаболізму і компенсації вікових змін.

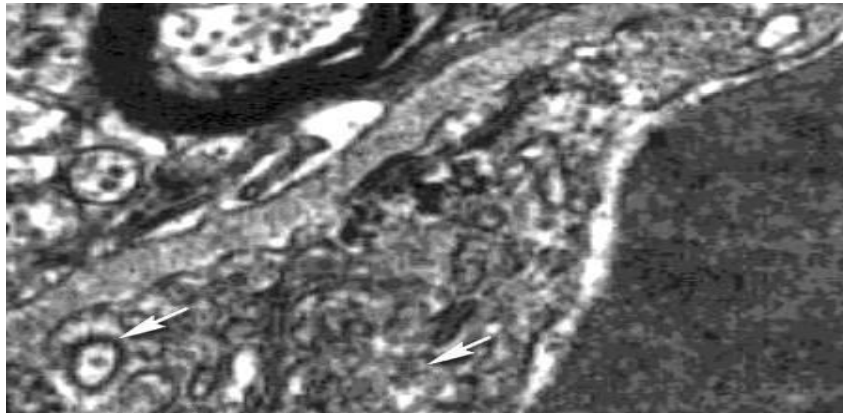


Рис. 2 Ультраструктура фрагмента цитоплазми ендотеліоцита молодого щура з «опушеними» ендцитозними везикулами (стрілки). х 50000.

Характерним проявом старіючого мозку вважається поява внутрішньоядерних включень, які є морфологічно і функціонально неоднозначними і можуть свідчити про розвиток деструктивних процесів. Мітохондрії характеризуються різким набуханням і руйнуванням кріст, утворенням великих вакуолей, ущільненням матриксу.

В клітинах переднього (ПВГ) і заднього (ЗВГ) гіпоталамуса спостерігаються включення ліпофусцину, накопичення якого в старості є проявом і результатом деструктивних і дистрофічних процесів, пов'язаних з порушенням внутрішньоклітинного метаболізму. Збільшення кількості та утворення значних його скупчень можна вважати проявом незворотних процесів у клітині.

При старінні спостерігаються зменшення кількості синапсів та синаптичних везикул, а також і загальної протяжності зон синаптичних контактів.

Після 3-х сеансів РЕХВ виявляються реактивні зміни нейронів, зокрема, активується комплекс Гольджі, 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 (рис. 3).

Виявлені зміни більш виражені в ПВГ, де розташовані нервові клітини, що активуються при температурних впливах. Після 3-х сеансів РЕХВ відбувається деяке зменшення товщини базальної мембрани ендотеліоцитів. 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 нашу думку, можуть відображати зміни ступеня проникності ГЕБ.

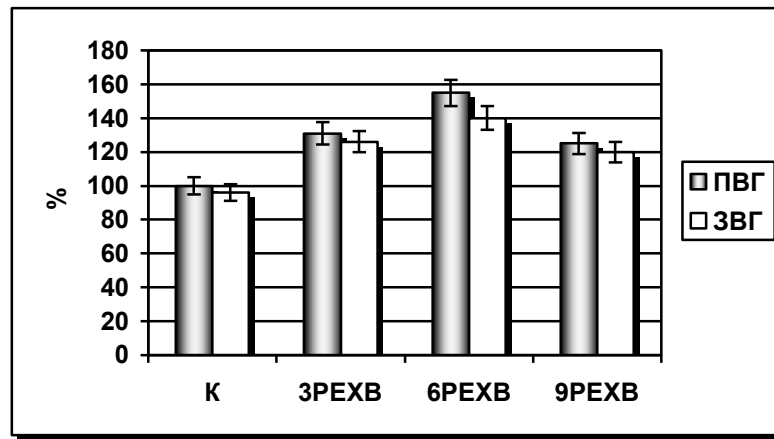


Рис. 3 Середня довжина активної зони синаптичного контакту гіпоталамуса 24-місячних щурів у динаміці РЕХВ. Тут і далі: К – контроль; 3, 6, 9 РЕХВ; ПВГ – передній відділ гіпоталамуса; ЗВГ – задній відділ гіпоталамуса. Морфометричні показники ПВГ в контролі прийняті за 100%.

Примітка: усі показники після 3, 6, 9 РЕХВ достовірні ($p < 0,05$) відносно контролю.

РЕХВ змінюють площу ендотеліальних клітин (рис. 4) по відношенню до контролю, причому в ПВГ більш, ніж в ЗВГ. Після 9 РЕХВ цей показник повертався до норми. Необхідно відзначити, що при РЕХВ відносна довжина люмінальної мембрани капілярів значно зростає (рис. 5), збільшується кількість мікровілей на люмінальній поверхні капілярів.

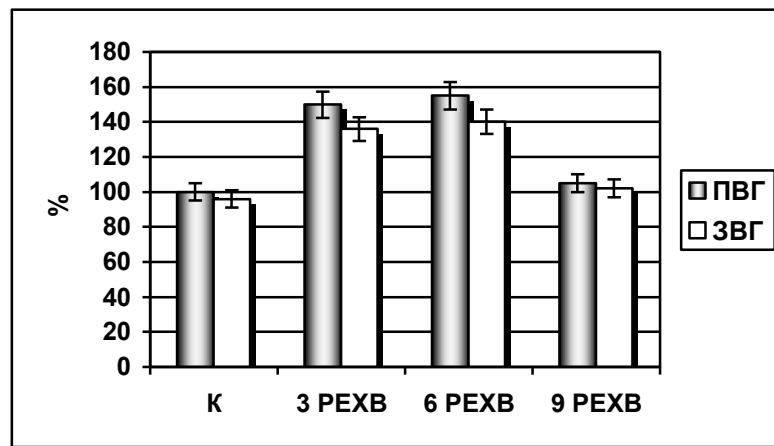


Рис. 4 Відносна площа ендотеліоцитів капілярів гіпоталамуса 24-місячних щурів в динаміці РЕХВ.

Примітка: показники після 3, 6 РЕХВ достовірні ($p < 0,05$) відносно контролю.

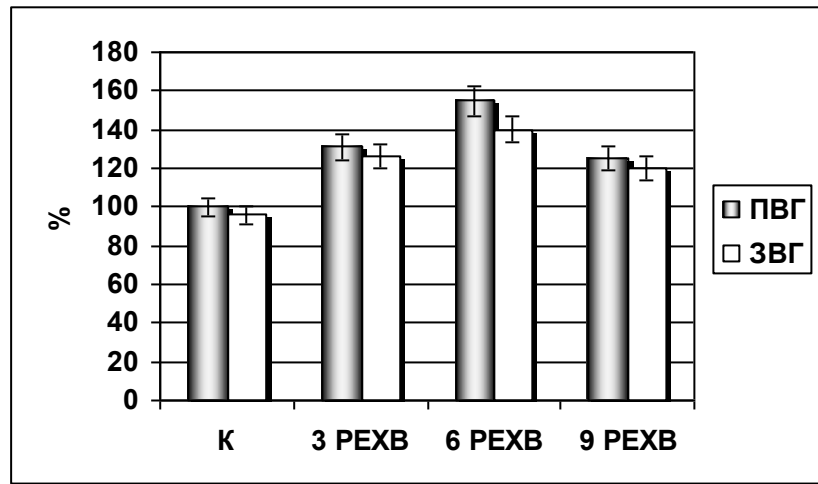


Рис. 5 Відносна довжина люмінальної мембрани ендотеліоцитів капілярів гіпоталамуса 24-місячних щурів в динаміці РЕХВ.

Примітка: усі показники після 3, 6, 9 РЕХВ достовірні ($p < 0,05$) відносно контролю.

Характерною особливістю є поява в капілярному ендотелії гіпоталамуса великої кількості ендоцитозних везикул різних розмірів, кількість яких підвищується в 2-3 рази в порівнянні з контролем. Зміни поверхні ендотеліоцитів разом із збільшенням кількості і відносної площі ендоцитозних везикул свідчать про розвиток процесів піноцитозу в ендотеліоцитах капілярів гіпоталамуса.

Після 9 сеансів РЕХВ (рис. 6) ми спостерігали всі етапи формування піноцитозних везикул, починаючи з інвагінації люмінальної мембрани, утворення відкритої і потім замкнутої везикули, яка прикріплена до люмінальної мембрани, поява вільних піноцитозних пухирців, злиття їх між собою, формування каналів з везикул, які злилися.

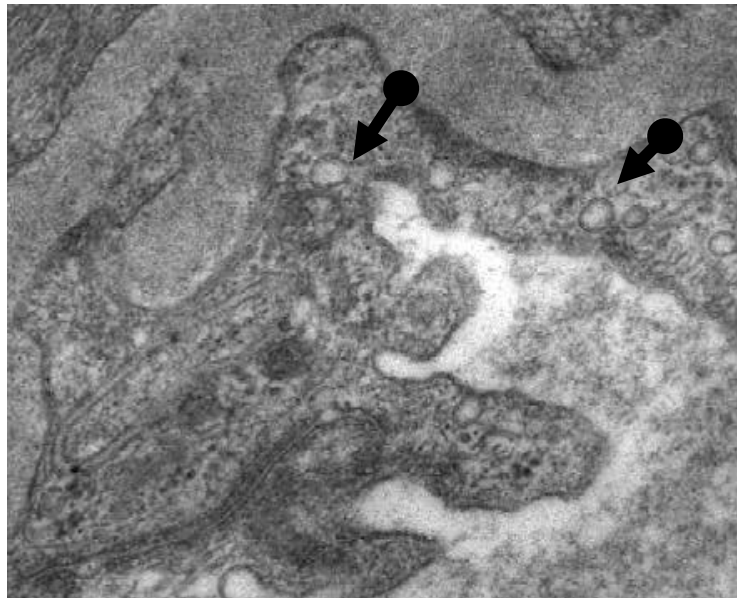


Рис. 6 Ендоцитозні везикули в цитоплазмі ендотеліоцита капіляра гіпоталамуса 24-місячного щура після 9 сеансів РЕХВ (стрілки). х 30000.

Для оцінки зміни проникності ГЕБ при РЕХВ ми провели дослідження з використанням пероксидази хрому, яка є маркером піноцитозу і яка мала вигляд електронно-щільних включень в складі везикул і цитоплазматичних каналах, які утворені злиттям таких везикул. Електронно-щільний осад, що утворений пероксидазою хрому, виявлявся за базальною мембраною. Крім того, в 30% досліджених просвітів капілярів спостерігали розбіжність контактів між ендотеліальними клітинами.

Таким чином, при РЕХВ виникають структурні перебудови у всіх ланках ГЕБ гіпоталамуса, що призводять до збільшення його проникності. Відзначені зміни є фізіологічно значущими для процесів центральної терморегуляції і, можливо, стимулюють адаптаційні механізми, а пероксидаза хрому тільки візуалізує процес трансендотеліального перенесення біологічно активних речовин.

Ми вважаємо, що при РЕХВ активуються норадренергічні синапси, оскільки адренергічних синапсів в гіпоталамусі дуже мало, а секреція серотоніну при охолодженні не змінюється.

Отже, можна припустити, що підвищення проникності ГЕБ для норадреналіну обумовлено процесом рецептор-індукованого трансцитозу.

«Одягнені» або «опушені» везикули виявляються в цитоплазмі ендотеліоцитів після 3 і 6 РЕХВ і зустрічаються в 70% досліджених просвітів капілярів, причому в передньому відділі гіпоталамуса їх в 2,5 рази більше, ніж в задньому (рис. 7). «Одягнені» везикули варіабельні за своїми розмірами в одній і тій же клітині. По мірі проникнення в цитоплазму везикули зливаються.

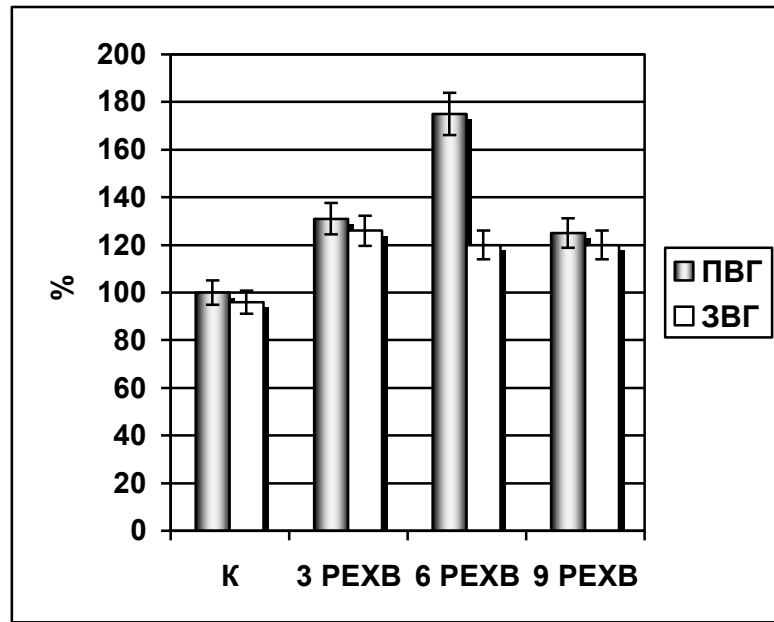


Рис. 7 Відносна кількість «одягнених» ендоцитозних везикул в цитоплазмі ендотеліоцитів капілярів гіпоталамуса 24-місячних щурів в динаміці РЕХВ.

Примітка: усі показники після 3, 6, 9 РЕХВ достовірні ($p < 0,05$) відносно контролю.

Дозоване ритмічне екстремальне охолодження є могутнім засобом стимуляції функціональної активності ГЕБ. На різних етапах РЕХВ відбуваються швидкі адаптаційні перетворення як на субклітинному рівні в ендотелії капілярів (везикуляція, трансцитоз), так і в нейрон-глія-капілярних взаємовідносинах (активація базального шару, розгалуження і збільшення поверхні мембран капілярів).

Підвищення структурно-функціональної активності ГЕБ супроводжується довгостроковою активацією синаптичного апарату нейронів гіпоталамуса, оптимізацією вмісту ретроградних месенджерів.

Ультраструктурні зміни міокарда щурів після ритмічних екстремальних холодових впливів. Дослідження кардіоміоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів міокарда контрольних старих щурів показало наявність дистрофічних і деструктивних порушень органел, частина мітохондрій була сильно набряклою з просвітленим матриксом і розширенням міжкрістних просторів. Зустрічалися мітохондрії в різних стадіях дегенерації, що супроводжується лізисом кріст і формуванням мієліноподібних структур, спостерігається висока активність катаболічних процесів, що структурно виявляється у включенні в саркоплазму ліпідів і ліпофусцину. Виявлені особливості свідчать про порушення скорочувальної здатності кардіоміоцитів.

Після РЕХВ у старих тварин електронно-мікроскопічне дослідження кардіоміоцитів виявило перебудови компенсаторного типу.

Відзначено збільшення кількості мітохондрій і кріст, зменшення кількості ланок деструкцій і дегенеративно змінених мітохондрій, активація процесів їх розмноження, що виявляється появою органел з перетяжками у вигляді «гантелей» (рис. 8).

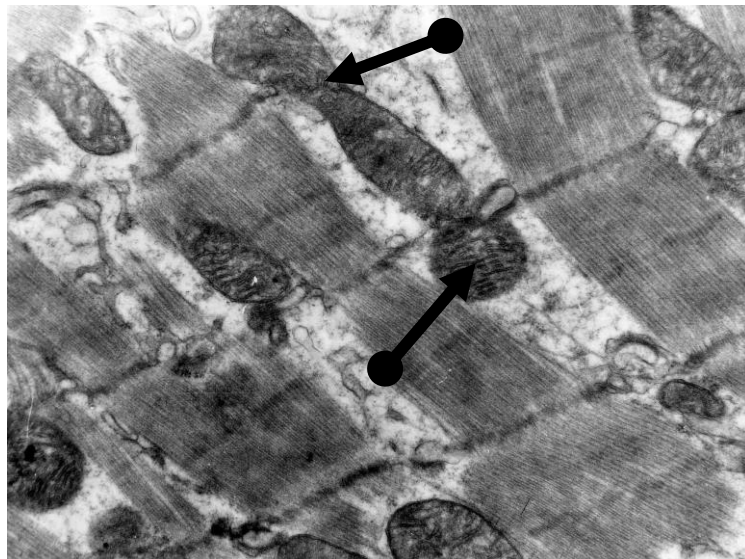


Рис. 8 Ультраструктура кардіоміоцитів старих щурів після 9 сеансів РЕХВ. Мітохондрії з перетяжками і дрібнозернистим матриксом. $\times 55000$. Контрастовано цитратом свинцю.

В саркоплазмі з'являються рибосоми, полісоми і гранули глікогену, що вказує на підвищення метаболічної активності кардіоміоцитів. В ендотелії кровоносних капілярів активуються компенсаторно-регенеративні процеси, що підтверджується збільшенням кількості рибосом на мембрані в ендоплазматичному ретикулумі. Зростає активність трансцелюлярного обміну речовин, про що свідчить збільшення кількості мікропіноцитозних пухирців в цитоплазмі ендотеліоцитів.

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

Вплив ритмічного екстремального охолодження на функціональний стан систем нейрогуморальної регуляції молодих та старих щурів. Структурно-функціональна організація ВНС визначає процес інтегрування функцій організму, забезпечує пристосовні реакції, що спрямовані на підтримання на необхідному рівні гомеостазу. Не викликає сумніву, що з віком відбуваються кількісні і якісні зміни різних координуючих ланок ВНС [Фролькіс В.С., 1991]. Завдяки появі сучасних методів аналізу хвильової структури серцевого ритму створені передумови та виникла можливість аналізувати стан ВНС [Михайлов В.М., 2002].

Як видно із рис. 9, вже після 3-го сеансу PEXB у молодих щурів незначно підвищується загальна потужність спектра нейрогуморальної регуляції, зменшується питома вага хвиль дуже повільного періоду (VLF), збільшується питома вага низькочастотних (LF) і у меншій мірі високочастотних (HF) хвиль. Отже, після 3-го сеансу PEXB вегетативне забезпечення серцевої діяльності характеризується активацією симпатичного відділу ВНС у відповідь на дію «м'якого» холодового стресу.

Після 6-го сеансу PEXB значних змін в питомій вазі хвиль дуже повільного і високого періоду (VLF- і HF- хвилі) знайдено не було, аналогічно достовірно не змінювалась загальна потужність спектру (TP), в той час, як активність симпатoadреналової системи знизилася, що може свідчити про емоційну адаптацію тварин до дії наднизьких температур.

Після 9-ти сеансів PEXB збільшуються значення загальної спектральної потужності, підвищується активність симпатичного і парасимпатичного відділів ВНС, що виявляється в збільшенні низько- і високочастотних хвиль.

Збільшення компонентів хвиль дуже низької частоти може бути наслідком гормональних впливів на міокард, ендокринних і гуморальних чинників, а також їх зв'язком з ритмами терморегуляції.

Впродовж тижня і місяця після холодкових впливів відзначено зниження показників спектральної потужності, проте її значення залишалися вище контрольних (рис. 9).

Підвищення спектральної потужності є результатом активації діяльності як вегетативних центрів, так і гуморальної ланки регуляції, що свідчить про наявність у молодих щурів розвиненої збалансованої вегетативної регуляції.

Після 3-го сеансу PEXB у старих тварин (рис. 10) має місце значний підйом загальної спектральної потужності за рахунок активації гуморальної ланки

регуляції (збільшення питомої ваги VLF хвиль), в той час як активність симпатичного і парасимпатичного відділів ВНС практично не змінювалася.

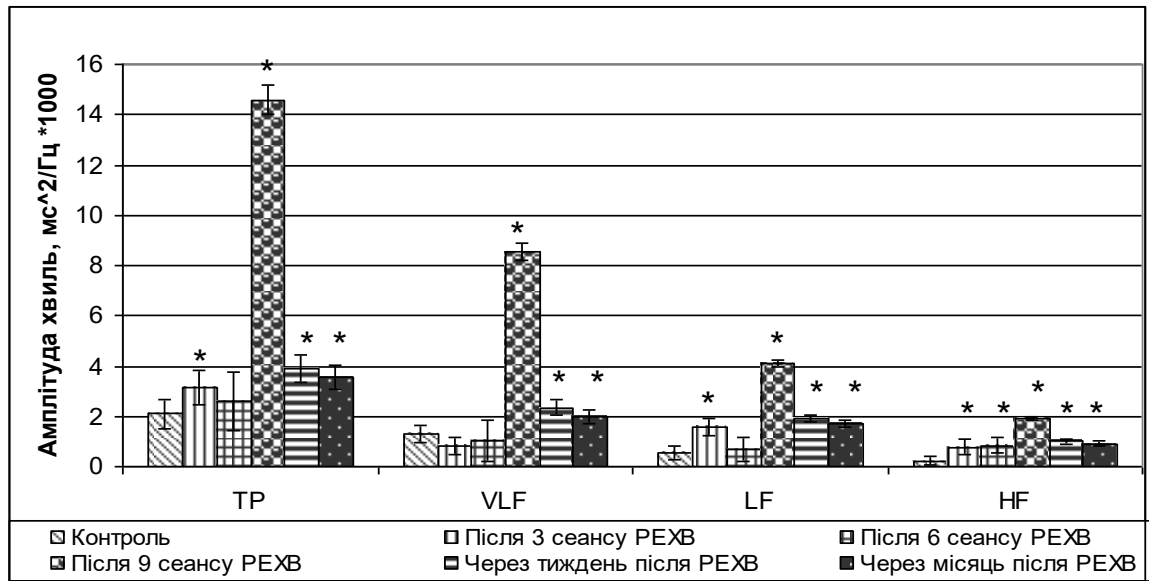


Рис. 9 Показники спектрального аналізу ВСР у молодих щурів після 3-, 6-, 9-го впливів, а також через тиждень і місяць після останнього сеансу PEXB.

Примітка: * – достовірно ($p < 0,05$) відносно контролю.

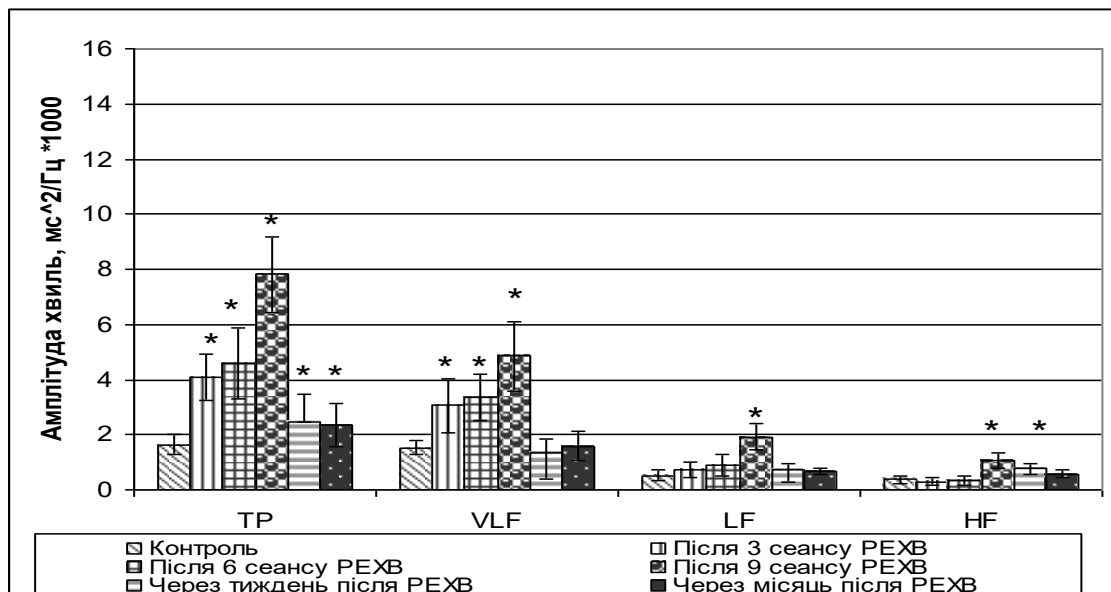


Рис. 10 Показники спектрального аналізу ВСР у старих щурів після 3-, 6-, 9-го впливів, а також через тиждень і місяць після останнього сеансу PEXB.

Примітка: * – достовірно ($p < 0,05$) відносно контролю.

Це свідчить про те, що в похилому віці процес модуляції ритму серця за допомогою нервових структур замінюється на менш специфічний гуморальний

спосіб регулювання, тобто відбувається перехід з швидкого вегетативного, або рефлекторного, рівня регуляції на більш повільний – гуморально-метаболічний.

Після 6-и сеансів РЕХВ активність симпатичного і парасимпатичного відділів ВНС залишалася незмінною. Простежувався ще більш значний підйом загальної спектральної потужності за рахунок гуморальної ланки регуляції (VLF хвилі).

Після 9-и сеансів РЕХВ відзначено факт зростання спектральної потужності нейрогуморальної регуляції за рахунок активації не тільки гуморальної ланки регуляції, але і симпатичної та парасимпатичної ланок ВНС (збільшується питома вага низькочастотних LF- і високочастотних HF-хвиль). У віддалені терміни спостереження, тобто через тиждень і місяць після охолодження, в порівнянні з 3-, 6- і 9-м впливами чітко відстежується тенденція до підвищення тону парасимпатичного відділу ВНС і зниження активності гуморальної ланки регуляції.

Збільшення загальної спектральної потужності у старих тварин за рахунок активації ВНС може свідчити про перехід процесу регуляції серцевим ритмом з повільного, гуморально-метаболічного рівня регуляції на швидкий, вегетативний рівень, не властивий старому організму. Ці явища можуть бути пов'язані з тим, що організм реагує на РЕХВ не тільки системою терморегуляції, але і всіма можливими адаптаційними механізмами, тим самим активуючи фізіологічні резерви організму.

Вплив ритмічного екстремального охолодження на показники спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму у щурів з аліментарним ожирінням. Досліджуючи патофізіологічні механізми у тварин нам вдалося встановити, що реакції їх організму на старіння знаходяться в нерозривному зв'язку з їх структурою, а швидкість і спрямованість реакцій гомеостазу забезпечують усунення або мінімальну дію патологічних чинників. Це припущення виправдовується при порівняльному аналізі дії РЕХВ на системи нейрогуморальної регуляції і ультраструктурні зміни міокарда. Для визначення неспецифічності впливу РЕХВ, у тварин для порівняння ми обрали модель аліментарного ожиріння, яке часто зустрічається у людей і пов'язане з порушенням жирового і вуглеводного обміну [Баранов В.Г. и др., 1972].

Чинниками ризику розвитку захворювань внутрішніх органів у людей як молодого, так і похилого віку, є нераціональна їжа, алкоголізм, паління. В основі розвитку даної нозології лежить енергетичний дисбаланс, що полягає в невідповідності між кількістю калорій, які надходять з їжею, і енергетичними витратами організму. Ожиріння є наслідком неадекватної взаємодії багатьох ендо- і екзогенних чинників, вплив яких реалізується через нервову і ендокринну системи. Гіпоталамус є центром енергетичного балансу в організмі людини, що регулює витрату енергії через ВНС, гіпоталамо-гіпофізарно-адреналову і інші системи.

Як видно з рис. 11, у контрольних тварин з моделлю аліментарного ожиріння відзначається істотне зниження загальної потужності спектра нейрогуморальної регуляції, порівняно з контрольною групою щурів без ожиріння. Стан нейрогуморальної регуляції цих тварин характеризується низьким рівнем як парасимпатичних, так і симпатичних впливів у модуляції серцевого ритму. Слід зазначити, що у щурів цієї групи має місце відносне збереження потужності в діапазоні дуже повільних коливань (тобто VLF-компонент домінує над

коливаннями LF і HF), що імовірно може бути пов'язане впливом ендокринних чинників на синусний вузол.

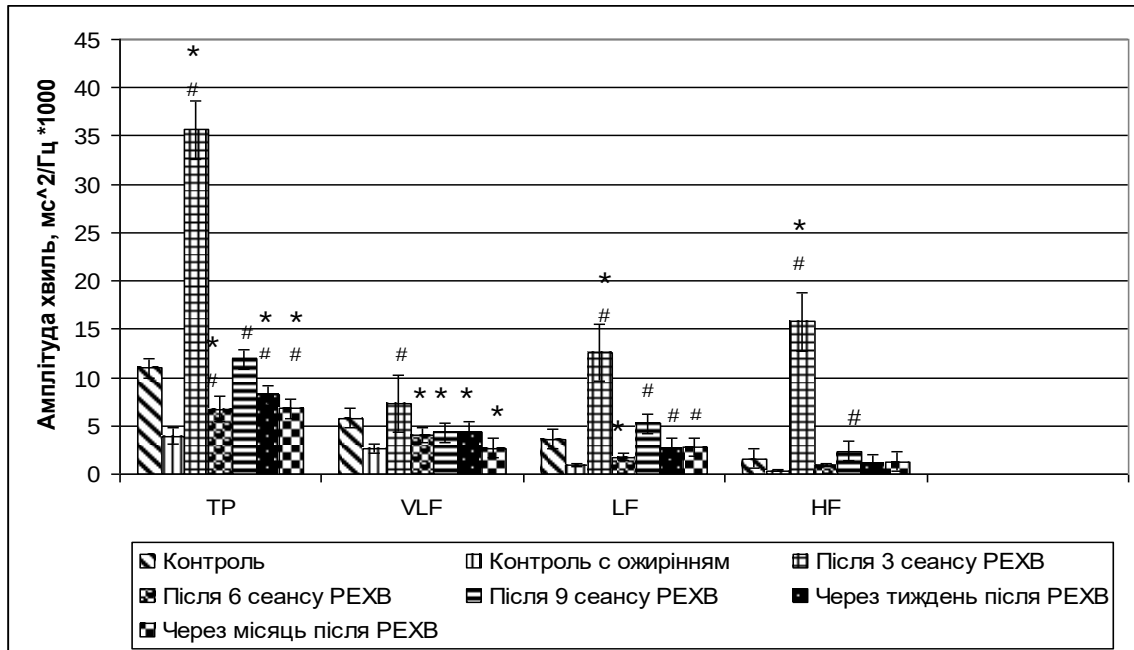


Рис. 11 Показники спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму у щурів із ожирінням після 3-, 6-, 9-го впливів, а також через тиждень і місяць після останнього сеансу PEXB.

Примітка: *, # – достовірно ($p < 0,05$) відносно контролю та контролю з ожирінням, відповідно.

Проте, у експериментальних тварин після 3 сеансів PEXB загальна спектральна потужність зростає (в порівнянні з 1 і 2 контрольними групами) за рахунок значного збільшення питомої ваги високо- і низькочастотних хвиль і незначного збільшення VLF-коливань.

Це свідчить про підвищення активності як симпатичного, так і парасимпатичного відділів ВНС в регуляції серцевого ритму, у відповідь на дію холоду, причому парасимпатичний відділ трохи превалює над симпатичним.

У тварин, які отримали 6 сеансів PEXB, в порівнянні з тими, що одержали 3 сеанси PEXB, стан нейрогуморальної регуляції характеризувався зниженням рівня як парасимпатичних, так і симпатичних впливів на серцевий ритм, а також зменшенням активності гуморальної ланки регуляції. Відповідно знижується загальна потужність спектра нейрогуморальної регуляції. Порівнюючи показники спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму (BCP) у щурів цієї експериментальної групи (6 сеансів PEXB) з аналогічними показниками контрольної групи тварин з ожирінням, можна відстежити, що загальний функціональний стан організму щурів після 6 сеансів PEXB значно змінився за рахунок підвищення загальної потужності спектра нейрогуморальної регуляції, активації симпатичних і парасимпатичних впливів на ритм серця. Проте, показники спектрального аналізу BCP у групі контролю без ожиріння (TP, VLF, LF, HF), а,

відповідно, і функціональні резерви організму були вище, ніж у щурів з ожирінням, після 6 сеансів РЕХВ.

Цікаво, що показники спектрального аналізу ВСР у тварин з ожирінням, які одержали 9 сеансів РЕХВ (рис. 11), достовірно не відрізнялися від таких в групі контролю без ожиріння. Значення загальної спектральної потужності збільшуються, зростає активність як симпатичного, так і парасимпатичного відділів ВНС. Збільшення питомої ваги хвиль дуже низької частоти, ймовірно, обумовлено зв'язком дуже низькочастотних хвиль із ритмами терморегуляції, які підконтрольні гіпоталамусу, і в першу чергу, активацією повільної керуючої системи, основною ланкою якої є ГЕБ.

Проведений аналіз по вивченню впливу РЕХВ на функціональний стан систем нейрогуморальної регуляції щурів з моделлю аліментарного ожиріння через тиждень і місяць після охолодження, продемонстрував значне зростання загальної спектральної потужності порівняно з контрольними значеннями (рис. 11). Активність симпатичного і парасимпатичного відділів ВНС практично відповідають аналогічним показникам групи контролю без ожиріння. Це надає можливості припустити, що РЕХВ сприяють відновленню функціональних резервів організму тварин з моделлю аліментарного ожиріння.

Представлені результати динамічного дослідження ВСР молодих щурів із ожирінням дозволяють зробити висновок, що короткочасна дія екстремально низьких температур не тільки не спустошує функціональні резерви організму досліджуваних тварин, а значно підвищує його фізіологічні резерви завдяки генералізованій специфічній дії на гомеостатичні регуляторні системи.

Метаболічні порушення і захворювання у осіб з ожирінням, обумовлені «метаболічним синдромом», який поєднує комплекс вегетативних, гормональних, метаболічних змін, що значно прискорює прогресування судинних захворювань.

Ожиріння провокує ендотеліальну дисфункцію, формує оксидативний стрес судинної стінки, призводить до атеросклеротичних змін, розвитку інсуліно-резистентності. Порушення в організмі, пов'язані з ожирінням, взаємопов'язані і подібні ланкам «порочного кола», коли несприятлива зміна одного може привести до посилення іншого. На нашу думку, РЕХВ є чинником, здатним патогенетично впливати на основні ланки розвитку ожиріння і розірвати таку взаємообумовленість.

Зміни гормональних функцій у молодих та старих щурів після ритмічного екстремального холодового впливу. Реакції організму на охолодження протікають при участі гіпоталамо-гіпофізарно надниркової системи (ГГНС), яка одна із перших реагує на холодний стрес, оскільки є важливою ланкою відновлення порушеного гомеостазу. У старих тварин та людей похилого віку гормональна функція значно знижується [Канунго М., 1982; Чеботарева Д.Ф., 1982; Макар Р.Д. и др., 2007].

Зокрема, від рівня в організмі тиреоїдних гормонів залежить реактивність діяльності гіпоталамуса, тонус ВНС. В фізіологічних умовах трийодтиронин (T_3) має більш високі специфічні властивості, ніж тетраіодтиронин (T_4). Йодовані гормони стимулюють дихання тканин, підвищують при необхідності розпад жирів,

вуглеводів, білків, в результаті вивільняється велика кількість енергії [Валуєва Г.В., 1980; 1984].

В наших дослідженнях виявлено (рис. 12, 13), що вміст у контрольних молодих тварин (МТ) T_3 в сироватці крові був значно вищим, ніж у старих тварин (СТ). Після 3-, 6- і 9-го сеансів РЕХВ рівень трийодтиронину в сироватці крові у МТ значно знижувався по відношенню до контролю.

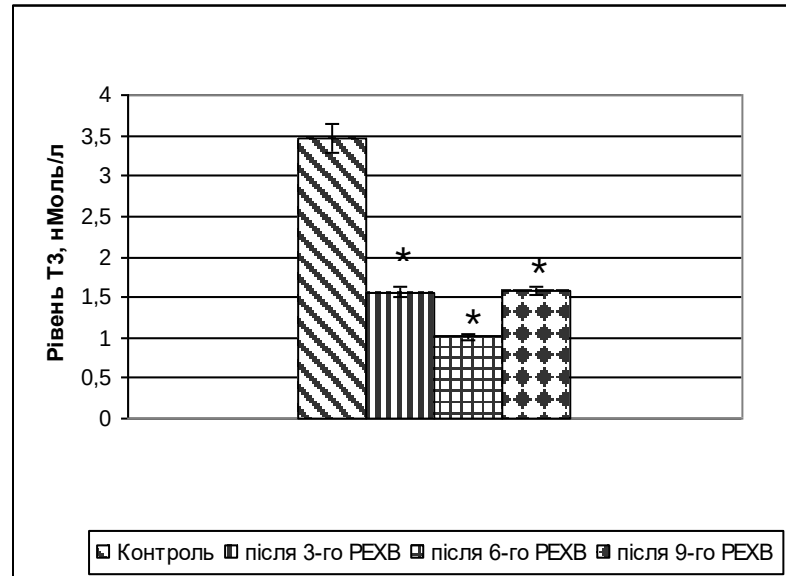


Рис. 12. Вміст T_3 в сироватці крові молодих щурів.

Примітка: * – достовірно ($p < 0,05$) відносно контролю.

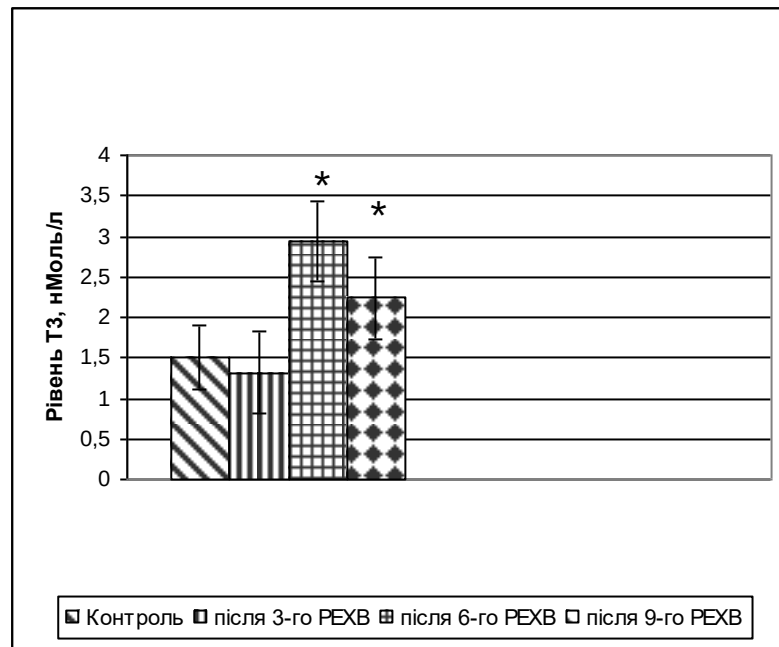


Рис. 13 Вміст T_3 в сироватці крові старих щурів.

Примітка: * – достовірно ($p < 0,05$) відносно контролю.

Вірогідно, збільшення концентрації T_3 в сироватці крові СТ лімітується необхідністю підвищення його синтезу з метою забезпечення органів та тканин адекватною кількістю кисню для більш інтенсивної продукції енергії в клітинах, як відповідної реакції організму на дію холоду. Такі зміни, на наш погляд, є важливим механізмом, спрямованим на підтримку необхідного для організму рівня трийодтиронину.

Рівень T_4 в сироватці крові контрольних молодих тварин був значно вищим, ніж у старих (рис. 14, 15).

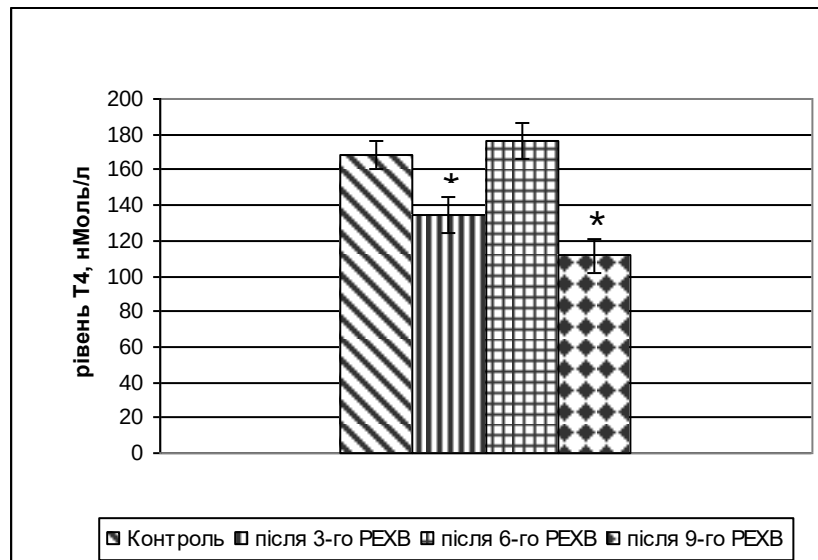


Рис. 14 Вміст T_4 в сироватці крові молодих щурів.

Примітка: * – достовірно ($p < 0,05$) відносно контролю.

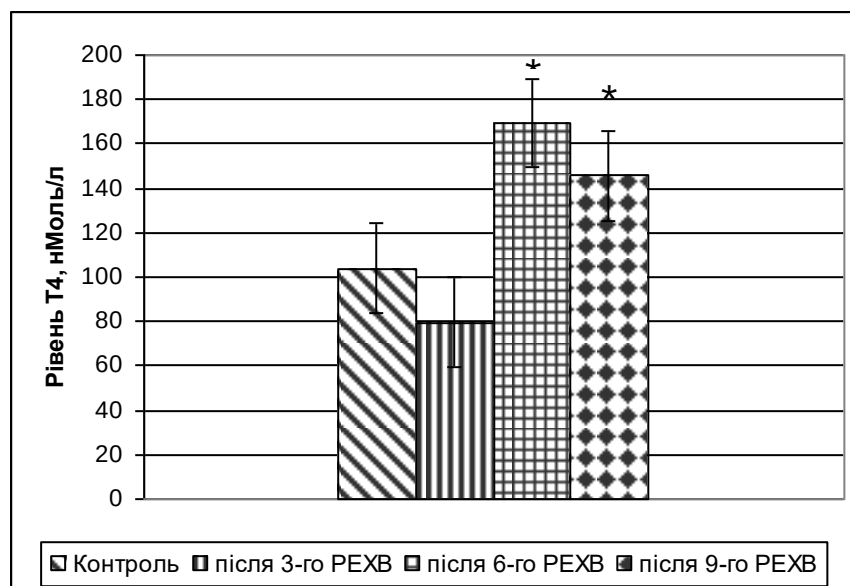


Рис. 15 Вміст T_4 в сироватці крові старих щурів.

Примітка: * – достовірно ($p < 0,05$) відносно контролю.

Для динаміки охолодження МТ характерне зниження концентрації T_4 в сироватці крові після 3- та 9-го сеансів РЕХВ. У той же час вміст досліджуваного гормону у СТ значно збільшувався в сироватці крові як після 6-ї, так і після 9-ї процедур охолодження.

Таким чином, виявлено підвищення у СТ концентрації T_3 і T_4 при охолодженні. Це може бути пов'язано з підсиленням функціональної активності щитовидної залози, що спрямовано на підвищення стійкості старіючого організму до порушень діяльності функціональних систем [Rodondi N. et al., 2005; Schmidt-Ott U.M. et al., 2006].

Як свідчать результати експериментів, концентрація 11-оксикортикостерону (11-ОКС) в сироватці крові молодих і старих щурів достовірно не відрізнялась (рис. 16, 17).

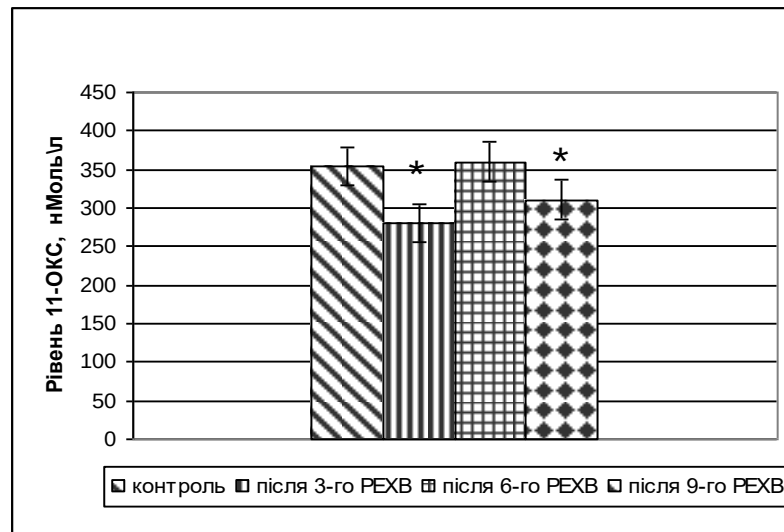


Рис. 16 Вміст 11-ОКС в сироватці крові молодих щурів.

Примітка: * – достовірно ($p < 0,05$) відносно контролю.

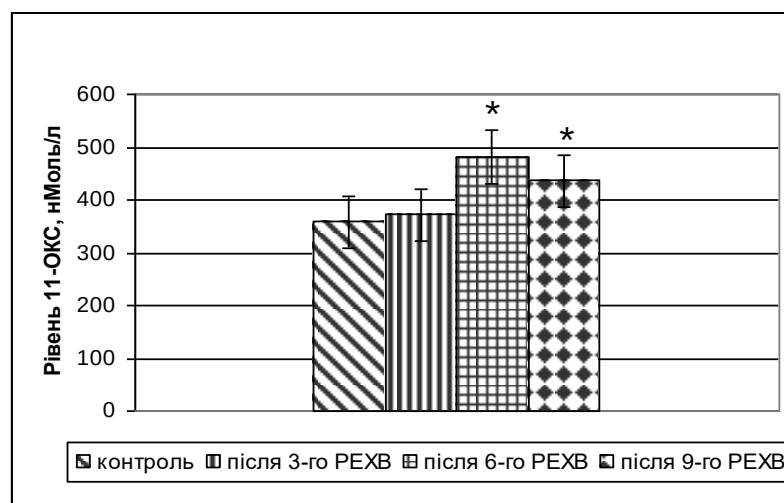


Рис. 17 Вміст 11-ОКС в сироватці крові старих щурів.

Примітка: * – достовірно ($p < 0,05$) відносно контролю.

Встановлені зменшення вмісту в крові 11-ОКС у МТ після 3-го сеансу РЕХВ та повернення його концентрації до контрольних значень після 6-ї процедури охолодження. У СТ виявлено системне зростання рівня гормону 11-ОКС протягом ритмічного охолодження (рис. 17). Як свідчать експериментальні дані, вміст 11-ОКС в сироватці крові СТ після 6-ї та 9-ї процедур РЕХВ був вищий, ніж у молодих. Це обумовлено властивостями РЕХВ для створення передумов для кращої реакції механізмів компенсації у СТ на характерні порушення старіючого організму.

Вікові особливості перикисного окислення ліпідів у молодих та старих щурів після ритмічних екстремальних холодових впливів. В старіючому організмі, ПОЛ відіграє одну з провідних ролей у порушенні гомеостазу [Голованова Е.Д. и др., 2005; Белостоцкая Л.И. и др., 2005]. Нами встановлено, що рівень ТБК-активних продуктів у сироватці крові контрольних молодих тварин був значно нижчим, ніж у контрольних старих (рис. 18).

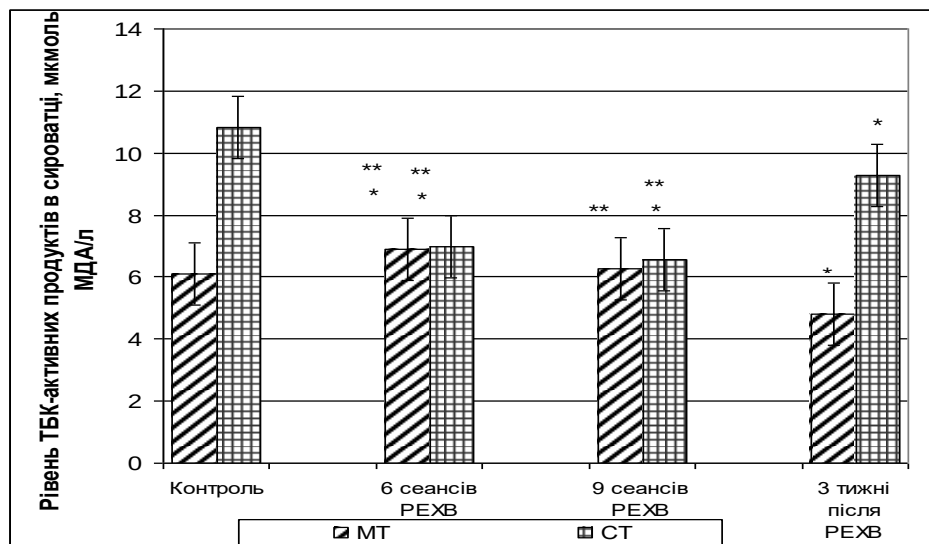


Рис. 18. Вміст ТБК-активних продуктів в сироватці крові молодих і старих щурів. Примітка: *,** – достовірно ($p < 0,05$) відносно контролю та 3-х тижнів після охолодження, відповідно.

Рівень ТБК-активних продуктів у МТ після 6-ї холодової процедури достовірно підвищувався в порівнянні з контролем, тоді як у СТ ми спостерігали істотне зниження вмісту ТБК-активних продуктів, які практично досягали рівня у МТ. Після 9-го РЕХВ мало місце зниження рівня ТБК-активних продуктів у МТ і СТ, причому їх значення були на одному рівні. Через 3 тижні після РЕХВ кількість ТБК-активних продуктів зменшувалась у МТ і підвищувалась у СТ, хоча їх рівень був нижче, ніж в контролі.

Звертає увагу той факт, що у МТ отримані результати обумовлені переважанням прооксидантного ефекту у відповідь на РЕХВ, проте надалі включається система антиоксидантного захисту як результат неспецифічної реакції організму на холодові впливи, що призводить до значного зниження вмісту ТБК-активних продуктів в сироватці крові.

У СТ короточасний холодний стрес сприяв більш ранньому і істотному прояву антиоксидантного ефекту, внаслідок чого ТБК-активні продукти у них визначалися на рівні молодих, тобто холодів впливи сприяли вибору старим організмом найдоцільнішої функції прооксидантно-антиоксидантної системи. Як видно із рис. 19, вміст ТБК-активних продуктів в тканинах міокарда МТ був вищий, ніж у СТ.

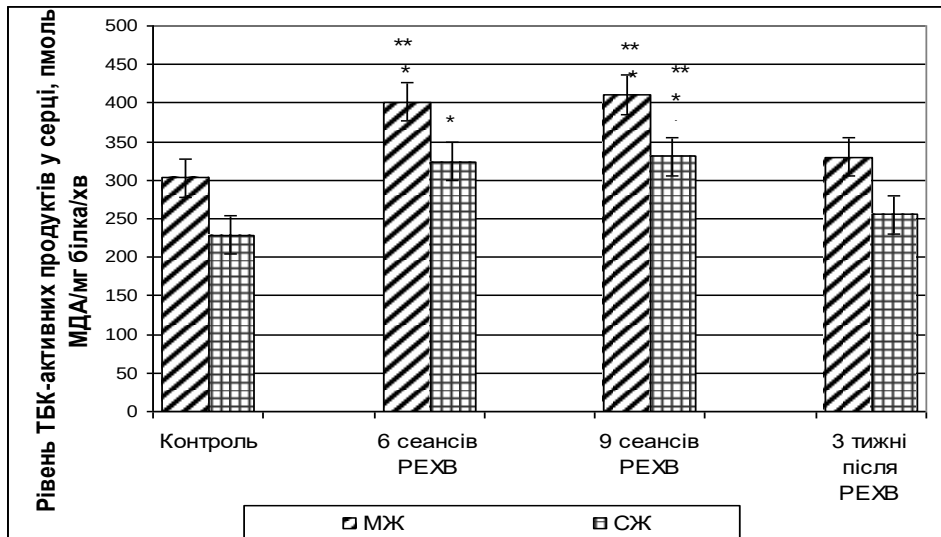


Рис. 19 Вміст ТБК-активних продуктів в тканинах міокарда молодих і старих шурів.

Примітка: *, ** – достовірно ($p < 0,05$) відносно контролю та 3-х тижнів після охолодження, відповідно.

В динаміці РЕХВ спостерігається збільшення їх рівня як у молодих, так і у старих тварин і лише через 3 тижні після кріопроцедур їх значення практично поверталися до контрольних. В процесі розвитку ішемії міокарда істотно обмежується доступ кисню і спонтанний процес ПОЛ повинен гальмуватися, а кількість його активних продуктів у крові і тканинах - зменшуватися.

Можна припустити, що РЕХВ підвищують функціональні можливості серця у старих шурів, покращують його гемодинаміку, а підвищення активності ПОЛ можна розглядати як збереження механізмів можливості міокарда в мобілізації систем для стабілізації і забезпечення його функції.

Підтвердженням цьому є встановлений нами факт сприятливого впливу РЕХВ на ВНС, їх здатність вирівнювати баланс симпатичної і парасимпатичної ланок. Характерною є тотожність вмісту ТБК-активних продуктів у молодих і старих шурів через 3 тижні після кріопроцедур, що може бути пов'язано з мобілізацією механізмів, спрямованих на поліпшення функціональних властивостей клітин міокарда і серця в цілому. Відомо, що іони Fe^{2+} мають виражені прооксидантні властивості і можуть стимулювати процеси ПОЛ [Владимиров Ю.А., 1972; Арутюнян А.В., 2000]. Нами встановлено, що інтенсивність індукованого Fe^{2+} ПОЛ в серці МТ значно знижувалась після 6-го сеансу РЕХВ, а після 9-и холодів

процедур відповідала рівню контролю. Через 3 тижні після останньої процедури РЕХВ інтенсивність індукованого Fe^{2+} ПОЛ в серці значно зменшувалась (рис. 20).

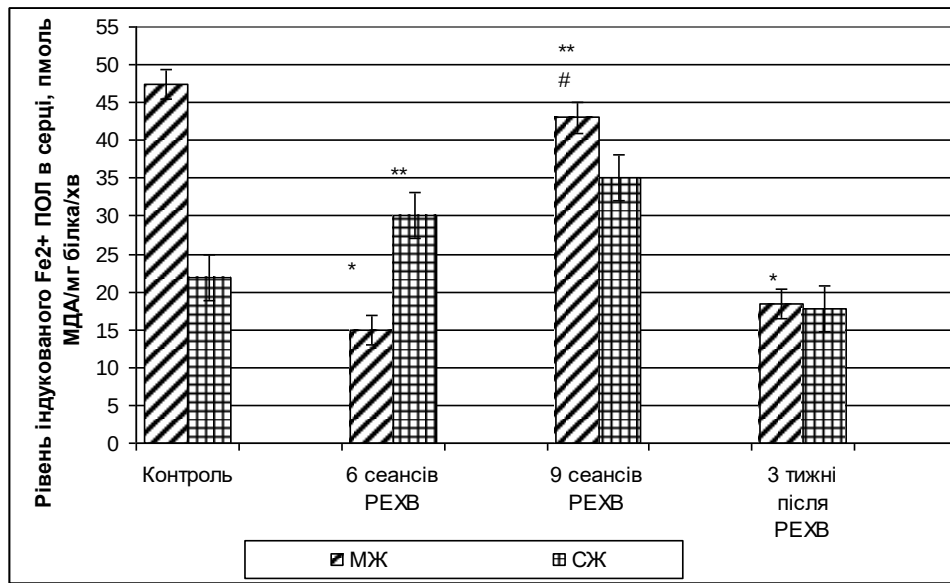


Рис. 20 Вміст індукованого Fe^{2+} ПОЛ в тканинах міокарда молодих і старих щурів.

Примітка: *, **, # – достовірно ($p < 0,05$) відносно контролю, 3-х тижнів після охолодження та 6-го впливу, відповідно.

У СТ вміст індукованих продуктів ПОЛ як після 6-ї, так і після 9-ї ритмічної холодової процедури дещо зростав. Через 3 тижні після РЕХВ у СТ рівень індукованого Fe^{2+} ПОЛ достовірно знижувався по відношенню до їх рівня після 6-ї та 9-ї холодкових процедур і відповідав в цей термін досліджень рівню МТ. Якщо вважати, що підвищена активність ПОЛ при старінні є важливим патогенетичним фактором розвитку серцево-судинної патології, то, вірогідно, що РЕХВ пригнічують активність ПОЛ, в тому числі і індукованого Fe^{2+} ПОЛ, і активують антиоксидантні системи, що стабілізує функцію прооксидантно-антиоксидантної системи організму тварин.

Регуляція прооксидантно-антиоксидантної системи здійснюється ферментативною і неферментативною системами.

Каталаза як фермент має високу здатність розкласти пероксид водню, знешкоджувати активні форми кисню в умовах підвищеної активності ПОЛ.

У контрольних СТ каталазна активність в тканинах міокарда була вище, ніж у МТ (рис. 21). РЕХВ призводять до достовірного підвищення каталазної активності в серці у МТ після 6- та 9-го сеансів РЕХВ, дещо знижуючись через 3 тижні після охолодження.

У СТ каталазна активність достовірно збільшувалась після 9-го сеансу РЕХВ (рис. 21). Ця динаміка зберігалась і через 3 тижні після дії холоду.

Глутатіонпероксидаза, функція якої полягає в знешкодженні H_2O_2 , після 6-и сеансів РЕХВ у МТ і СТ зменшувалась в 1,3 рази, тоді як глутатіонредуктазна

активність у МТ не змінювалася (рис. 22). Після 9-го сеансу охолодження глутатіонпероксидазна активність підвищувалася у молодих і старих тварин. Динаміка підвищення активності ферменту була характерною для молодих і старих тварин і через 3 тижні після останнього сеансу РЕХВ.

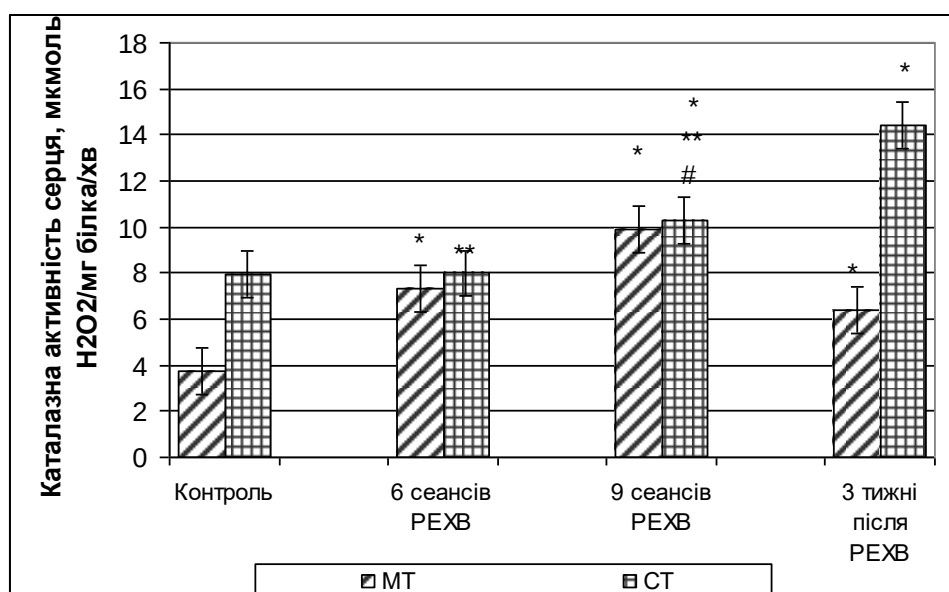


Рис. 21. Каталазна активність в тканинах міокарда молодих і старих щурів
Примітка: *, **, # – достовірно ($p < 0,05$) відносно контролю, 3-х тижнів після охолодження та 6-го впливу, відповідно.

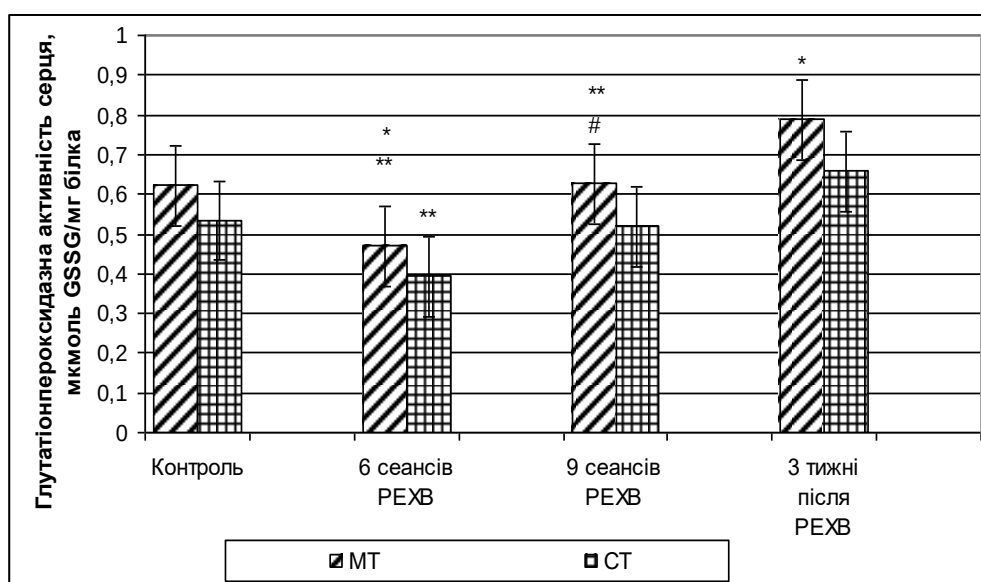


Рис. 22 Глутатіонпероксидазна активність в тканинах міокарда молодих і старих щурів.
Примітка: *, **, # – достовірно ($p < 0,05$) відносно контролю, 3-х тижнів після охолодження та 6-го впливу, відповідно.

Істотно зростала в міокарді СТ глутатіонредуктазна активність після 6-го сеансу РЕХВ, знижуючись після 9-го сеансу, проте, вміст ферменту був достовірно вище за контрольні показники і через 3 тижні після холодових процедур (рис. 23).

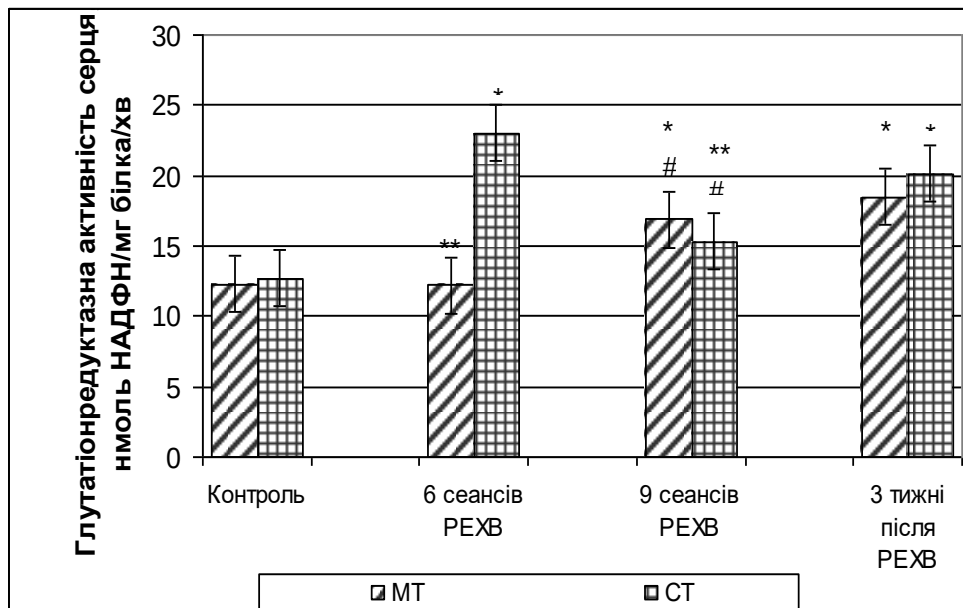


Рис. 23 Глутатіонредуктазна активність в тканинах міокарда молодих і старих щурів.

Примітка: *, **, # – достовірно ($p < 0,05$) відносно контролю, 3-х тижнів після охолодження та 6-го впливу, відповідно.

Отримані результати досліджень дозволяють 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.

Вміст кінцевих продуктів обміну NO в сироватці крові і тканинах міокарду молодих і старих тварин до і після ритмічних екстремальних холодових впливів. В сучасних умовах стрес і відповідні йому реакції організму неминучі і можуть бути причиною розвитку хвороб, особливо, у людей похилого віку. Встановлено [Реутов В.П., 1995; Раевский К.С., 1997], що NO як біологічний медіатор, унікальний за своєю природою, в механізмах пам'яті, вазодилатації, діяльності імунної системи, регуляції тону м'язів. Дія NO здійснюється завдяки його здатності швидко проникати через мембрану синтезуючої його клітини в міжклітинний простір і без участі відповідних рецепторів проникати в клітини-мішені, де він активує необхідні ензими. Важлива роль NO – здатність проникати в міокардіальні клітини, знижувати внутрішньоклітинну концентрацію кальцію, викликати вазодилатацію і розслаблення гладком'язових клітин і тканин, регулювати тонус судин і скорочувальну функцію міокарда. Оксид азоту надзвичайно впливає на розвиток старості. Встановлено [Марченко В.С., 2005], що

при ритмічній гіпотермії NO сприяє підвищенню проникності ГЕБ для нейротрансмітерів. В наших експериментах у контрольній групі молодих тварин концентрація кінцевих продуктів NO в сироватці крові була вища, ніж в міокарді. У старих тварин вміст NO в міокарді був понижений в порівнянні з молодими тваринами, що можливо пов'язано з необхідністю забезпечення однієї з головних функцій серця – насосної, а також скороченням міокарда, оскільки NO посилює релаксацію шлуночків, збільшує протяжність діастолі і є необхідним компонентом у здійсненні β -адренергічного іно- і хронотропного ефектів. Більш низький вміст продуктів обміну NO в міокарді щурів, особливо старих, в порівнянні з їх вмістом в сироватці крові може пояснюватися інтенсивним споживанням оксиду азоту для підтримки внутрішньоклітинного метаболізму в міоцитах.

Після 6 сеансів РЕХВ базальний рівень кінцевих продуктів NO в сироватці крові МТ був вищим, ніж в контролі (рис. 24).

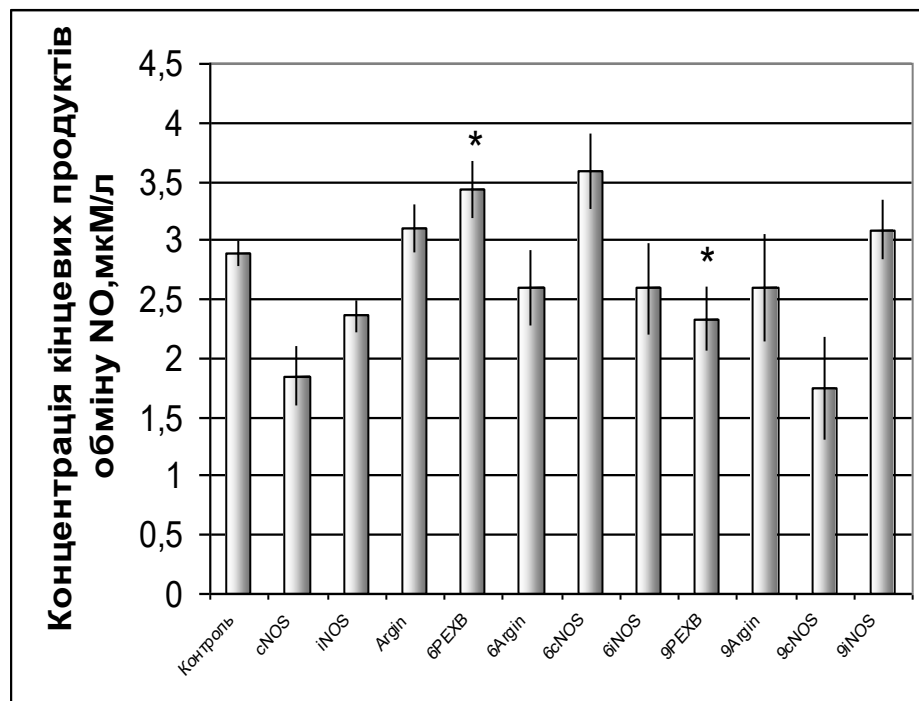


Рис. 24 Вміст кінцевих продуктів обміну NO в сироватці крові молодих щурів.

cNOS – після вживання специфічного блокатора конститутивної NOS;

iNOS – після вживання специфічного блокатора індукцибельної NOS;

Arginin – після вживання стимулятора NOS;

6PEXB – шоста холодова ритмічна дія;

9PEXB – дев'ята холодова ритмічна дія.

Примітка: * – достовірно ($p < 0,05$) відносно контролю.

Застосування специфічних блокаторів замість очікуваного, як в контролі пригноблення, приводило до посилення активності ферменту cNOS. В той же час, в сироватці крові цих тварин не знайдено достовірних відмінностей у вмісті кінцевих продуктів обміну NO після блокади iNOS в порівнянні з контролем. Після 9-го сеансу РЕХВ відзначена динаміка зниження нітритів як по відношенню до

попереднього етапу охолодження, так і до контролю. На відміну від попереднього етапу, використання блокаторів знижувало активність cNOS.

В сироватці крові СТ після 6- і 9-го сеансів PEXB рівень NO підвищувався по відношенню до контролю (рис. 25). В ці терміни введення специфічних блокаторів cNOS і iNOS супроводжувалось підвищенням їх активності в сироватці крові СТ. Введення L-аргініну знижувало вміст нітриту.

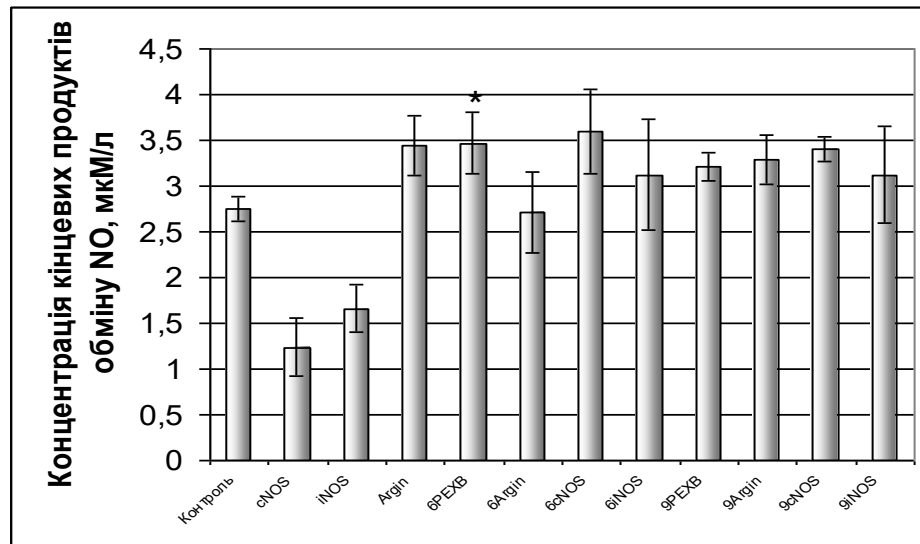


Рис. 25 Вміст кінцевих продуктів обміну NO в сироватці крові старих щурів.

Примітка: * – достовірно ($p < 0,05$) відносно контролю.

Після 6- та 9-го сеансів PEXB в міокарді МТ відмічено зниження рівня нітриту по відношенню до контролю (рис. 26). Специфічні блокатори призводили до пригнічення синтезу cNOS і iNOS.

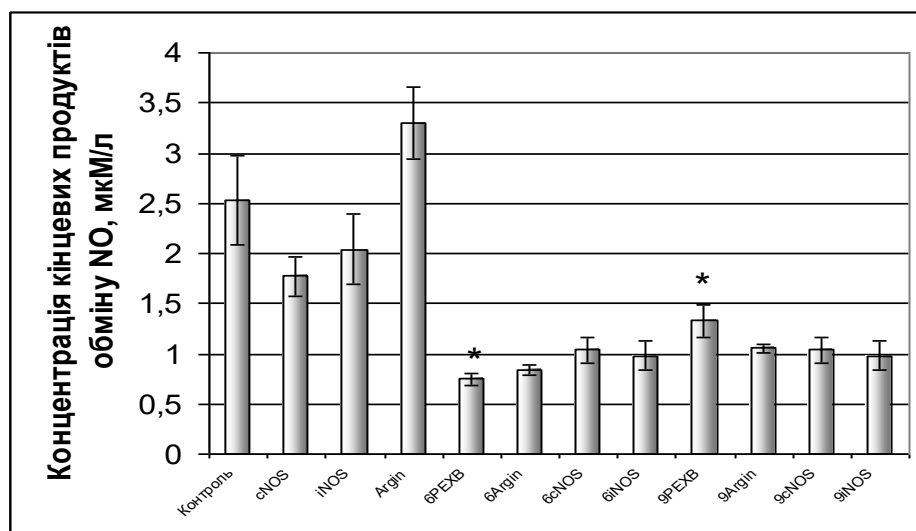


Рис. 26 Вміст кінцевих продуктів обміну NO в міокарді молодих щурів.

Примітка: * – достовірно ($p < 0,05$) відносно контролю.

В міокарді СТ вміст нітритів у відповідь на РЕХВ статистично достовірно знижувався після 6- та 9-го сеансів РЕХВ (рис. 27).

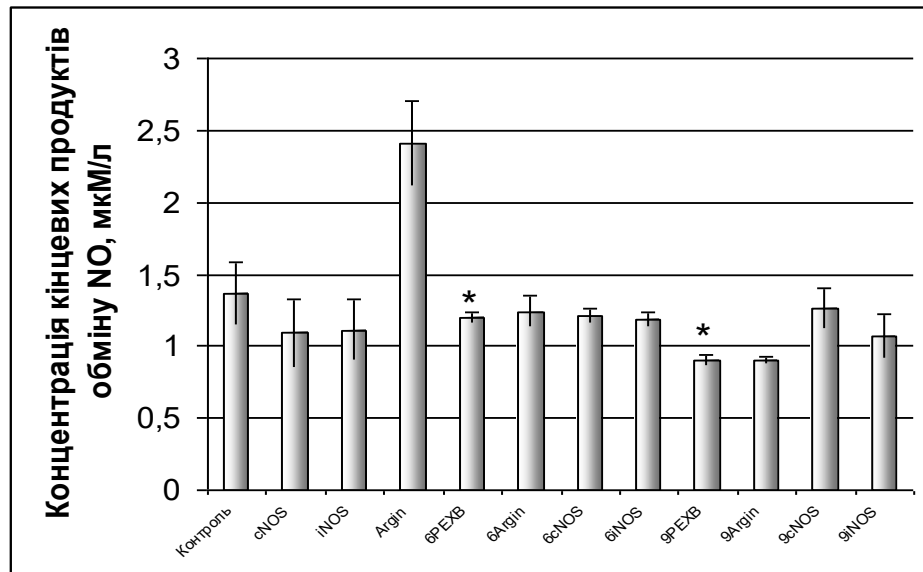


Рис. 27 Вміст кінцевих продуктів обміну NO в міокарді старих щурів.
Примітка: * – достовірно ($p < 0,05$) відносно контролю.

Грунтуючись на припущенні, що активність NO відіграє роль регуляторного чинника, функція якого знижується з віком, цікавим є факт підвищення вмісту кінцевих продуктів обміну NO у молодих і старих щурів.

Підвищення вмісту NO в крові старих щурів може свідчити про активацію конститутивної NO-синтази, що доцільно, оскільки спрямовано на покращення трофіки судин і серцевого м'яза, перешкоджає агрегації кров'яних пластинок і лейкоцитів до стінок судин, тобто утворенню тромбів. Зменшення вмісту кінцевих продуктів NO в міокарді СТ у порівнянні з вмістом в сироватці крові, можливо, пов'язано з їх інтенсивним використанням для покращення трофіки клітин серцевого м'язу та його скорочувальної властивості.

Отже, дія нітриту під впливом РЕХВ спрямована на підвищення резистентності організму, що сприяє покращенню трофіки, міжклітинній комунікації, збалансованій функції окисидантно-антиоксидантної системи. Недостатній синтез NO призводить до вільно-радикального пошкодження мембран, а надмірний синтез NO спричиняє апоптозну гибель клітин [Раевский К.С., 1997]. Зниження концентрації NO є одним з механізмів старіння організму, причиною розвитку артеріальної гіпертензії, атеросклерозу, зниження протипухлинної активності імунної системи, пригнічення сексуальної функції.

ВИСНОВКИ.

Сучасний стан експериментальних досліджень стосовно короточасних впливів низьких температур в умовах кріокамери ($-100\text{ }^{\circ}\text{C}$ – $-160\text{ }^{\circ}\text{C}$) на організм людей і тварин не дозволяє обґрунтувати широкомасштабне застосування

кріотерапії в практичній медицині. Тому в дисертаційній роботі, на підставі детального аналізу морфофункціональних, ультраструктурних, біохімічних, електрофізіологічних, гістохімічних характеристик, визначений вплив ритмічного екстремального холодового впливу (-120°C) на стан гомеостазу у тварин різних вікових груп. На основі досліджень механізмів адаптації функціональних систем організму тварин різних вікових груп до короткочасної дії екстремально низьких температур наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення медико-біологічної проблеми використання РЕХВ для корекції порушених функцій організму у старих тварин. Впровадження методу в медичну практику може бути ефективним для комплексного лікування захворювань у людей похилого віку за рахунок уповільнення процесів передчасного старіння, підвищення стійкості організму до дії факторів, які призводять до порушення гомеостазу.

1. Експериментально обґрунтована можливість застосування ритмічних екстремальних холодових впливів для стимуляції і покращення функцій центральної нервової, серцево-судинної, ендокринної систем з метою відновлення функціональної активності гомеостазу, спрямованого на підвищення стійкості організму до дії несприятливих чинників, особливо у старих щурів.

2. Виявлено феномен «затримки» виникнення негативного хронотропного ефекту частоти серцевих скорочень на системне введення норадреналіну у щурів, які охолоджувались за традиційною методикою. Системно введений НА на тлі РЕХВ викликав центральний ефект дії медіатора (уповільнення ЧСС) значно скоріше, що може свідчити про більш ефективний вплив РЕХВ на центральні механізми вегетативної регуляції серцевого ритму.

3. Встановлено, що ритмічні екстремальні холодові впливи є могутнім фактором стимуляції функціональної активності ГЕБ. На різних етапах РЕХВ відбуваються швидкі адаптаційні пристосування як на субклітинному рівні в ендотелію капілярів (підвищена активність синаптичного апарату, везикуляція, транцитоз), так і у відносинах нейрон-глія-капіляр. При РЕХВ активуються специфічні нейротрансмітерні механізми, які змінюють проникність ГЕБ, що підвищує активність нейрорегуляторних гіпоталамічних центрів.

4. У групі експериментальних молодих тварин після РЕХВ на електронограмах м'яза серця виявлені зміни, які характерні для активності внутрішньоклітинних метаболічних процесів. У міокарді старих щурів відмічаються перебудови компенсаторного типу, про що свідчить збільшення кількості мітохондрій, зменшення кількості осередків деструкції і дегенеративних змін, наявність в саркоплазмі рибосом, полісом і гранул глікогену.

5. Спектральний аналіз варіабельності серцевого ритму у тварин дозволив виявити періодичні складові в його коливанні і оцінити їх кількісний вклад у динаміку ритма серця після сеансів РЕХВ, які завдяки генералізованому специфічному впливу на регуляторні системи підвищують функціональні резерви організму.

6. 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 свідчить про перехід управління серцевим ритмом з повільного гуморально-метаболічного рівня регуляції на швидкий вегетативний, який не характерний для старих тварин.

7. У тварин, які отримували РЕХВ, дослідження ультраструктурних змін у наднирках і щитоподібній залозі, а також вмісту гормонів у сироватці крові свідчать про розвиток адаптаційно-компенсаторних реакцій, які супроводжуються внутрішньоклітинною репаративною активністю. Підвищення активності ендокринної системи структурно підтверджувались гіперплазією мембран ендоплазматичного ретикулума, 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.

8. Визначена ступінь ефективності застосування РЕХВ для корекції порушеної прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у старих щурів і 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.

9. Активність NO, який є патогенетичним регуляторним фактором, знижується у старих інтактних тварин і значно підвищується під впливом РЕХВ. Визначено, що ритмічні холодові впливи (-120°C) підвищують вміст нітритів у сироватці крові молодих та старих тварин, що є позитивним фактором, оскільки направлено на підвищення резистентності організму. Виявлені зміни є фізіологічно обґрунтованими, оскільки необхідні для покращення функції і трофіки судин і міокарда.

10. Короткочасна ритмічна дія екстремально низьких температур на організм тварин з моделлю аліментарного ожиріння призводить до покращення функції вегетативної нервової системи, значно підвищує його фізіологічні резерви, завдяки генералізованому впливу на регуляторні системи гомеостазу. У тварин РЕХВ здатні патогенетично впливати на основні ланки розвитку ожиріння.

ПЕРЕЛІК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБОТ

1. Бабийчук В.Г. Структурно-функціональні механізми действия екстремального охлаждения на терморегуляторные центры гипоталамуса / В.Г.Бабийчук, В.С.Марченко, Г.А.Бабийчук, Л.Н.Марченко, Т.Н. Бондар // Проблемы криобиологии. – 2004. – № 2. – С. 62-70.

2. Механізми лікувальної дії інтенсивної кріотерапії / В.С.Марченко, В.Г.Бабийчук, І.І.Ломакін и др. // Клінічна та експериментальна патофізіологія. – 2004. – Т. 3, № 2. – Ч. 2. – С. 491-493.

3. Бабийчук В.Г. Ультраструктурные изменения миокарда молодых крыс после криовоздействия / В.Г.Бабийчук, В.П.Невзоров // Харківська хірургічна школа. – 2005. – № 1. – С. 57-60.
4. Бабийчук В.Г. Влияние экстремальной криотерапии на морфофункциональное состояние центральной нервной и сердечно-сосудистой систем / В.Г.Бабийчук // Проблемы криобиологии. – 2005. – Т. 15, № 3. – С. 458-464.
5. Кузбеков Р.С. Влияние экстремальной криотерапии на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы у крыс с моделью алиментарного ожирения / Р.С.Кузбеков, А.В.Гаевой, В.Г.Бабийчук // Проблемы криобиологии. – 2005. – Т. 15, № 3. – С. 483-486.
6. Коцарь В.Л. Влияние экстремальных криовоздействий на свободнорадикальное окисление липидов сыворотки крови / В.Л.Коцарь, В.Г.Бабийчук, А.В.Гаевой // Проблемы криобиологии. – 2005. – Т. 15, № 3. – С. 496-498.
7. Бабийчук В.Г. Ультраструктурные изменения миокарда старых крыс после проведения криотерапии / В.Г.Бабийчук, В.П.Невзоров // Харківська хірургічна школа. – 2005. – Т. 16, № 2. – С.67-70.
8. Бабийчук В.Г. Ультраструктура клеток надпочечников крыс, подвергшихся экстремальному воздействию / В.Г.Бабийчук, В.П.Невзоров, А.В.Гаевой // Харківська хірургічна школа. – 2005. – Т. 19, № 4. – С. 59-61.
9. Бабийчук В.Г. Структурно-функциональное состояние гематоэнцефалического барьера гипоталамуса старых крыс при действии экстремального охлаждения / В.Г.Бабийчук, В.С.Марченко // Світ медицини та біології. – 2005 – № 3. – С. 91-94.
10. Бабийчук В.Г. Ультраструктурные изменения щитовидной железы крыс после нескольких сеансов нахождения в камере при температуре -120 °С. / В.Г.Бабийчук, В.П.Невзоров, А.В.Гаевой // Харківська хірургічна школа. – 2006. – № 1. – С. 176-178.
11. Бабийчук В.Г. Возрастные особенности перекисного окисления липидов у крыс после экстремального криовоздействия / В.Г.Бабийчук // Проблемы криобиологии. – 2006. – Т. 16, № 1. – С. 32-44.
12. Бабийчук В.Г. Ультраструктурные перестройки миокарда молодых и старых крыс после экстремальной криотерапии / В.Г.Бабийчук // Проблемы криобиологии. – 2006. – Т. 16, № 3. – С. 292-302.
13. Бабийчук В.Г. 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 / В.Г.Бабийчук // Проблемы криобиологии. – 2006. – Т. 16, № 4. – С. 377-389.
14. Кузбеков Р.С. Электронно-микроскопические изменения миокарда крыс с моделированным алиментарным ожирением после экстремальной криотерапии / Р.С.Кузбеков, В.Г.Бабийчук, В.П.Невзоров, А.В.Гаевой // Харківська хірургічна школа. – 2006. – Т. 23, № 4. – С. 49-52.
15. Бабийчук Г.А. Ультраструктура скелетных мышц крыс с алиментарным ожирением после экстремального криовоздействия / Г.А.Бабийчук, Р.С.Кузбеков,

В.П.Невзоров, В.Г.Бабійчук // Харківська хірургічна школа. – 2007. – № 1. – С. 63-67.

16. Бабійчук В.Г. Пероксидное окисление липидов при экстремальном охлаждении крыс / В.Г.Бабійчук // Український біохімічний журнал. – 2007. – Т. 79, № 1. – С. 112-123.

17. Бабійчук В.Г. Вплив екстремальної кріотерапії на функціональний стан систем нейрогуморальної регуляції старих щурів / В.Г.Бабійчук // Науковий вісник НМУ ім. О.О. Богомольця. – 2007. – № 1. – С. 60-62.

18. Коцарь В.Л. Особенности хемилюминесценции в тканях головного мозга крыс после экстремальных криовоздействий / В.Л.Коцарь, В.Г.Бабійчук // Клінічна та експериментальна патологія. – 2007. – Т. 6, № 1. – С. 60-66.

19. Бабійчук В.Г. Возрастные особенности роли оксида азота в механизмах адаптации животных к ритмическим холодовым воздействиям. Сообщение 2. Содержание конечных продуктов обмена NO в коре и гипоталамусе головного мозга молодых и старых животных после ритмических холодовых воздействий / В.Г.Бабійчук // Проблемы криобиологии. – 2007. – Т. 17, № 1. – С. 25-37.

20. Бабійчук В.Г. Свободнорадикальные процессы в тканях мозга крыс после экстремальных криовоздействий / В.Г.Бабійчук, Д.А.Черкашина, В.Л.Коцарь, А.С. Лебединский // Биологический вестник. – 2007. – Т. 11, № 2. – С. 23-26.

21. Бабійчук В.Г. Сравнительная характеристика частоты сердечных сокращений у крыс при различных методах холодовых воздействий / В.Г. Бабійчук // Проблемы криобиологии. – 2007. – Т. 17, № 3. – С. 229-236.

22. Бабійчук В.Г. Функциональные изменения миокарда у крыс под влиянием ритмических холодовых воздействий / В.Г.Бабійчук, В.И.Грищенко // Експериментальна і клінічна медицина. – 2008. – № 2. – С. 8-12.

23. Бабійчук В.Г. Структурно-функціональний стан гематоенцефалічного бар'єра при ритмічній дії позитивних (12 °С) і екстремально низьких (-120 °С) температур / В.Г.Бабійчук, В.С.Марченко, Л.М.Марченко // Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти. – 2008. – Т. 4, № 1. – С. 68-74.

24. Бабійчук В.Г. Вплив екстремального охолодження на показники вегетативної регуляції серцевого ритму у щурів різних вікових груп / В.Г.Бабійчук, О.В.Козлов // Проблемы криобиологии. – 2008. – №. 3. – С. 374-378.

25. Коцар В.Л. Ритмічний вплив низьких температур на особливості вільнорадикального окислення тканин структур мозку / В.Л.Коцар, В.Г.Бабійчук // Проблемы криобиологии. – 2008. – № 4. – С. 547-549.

26. Бабійчук В.Г. Вплив екстремального охолодження на показники вегетативної регуляції серцевого ритму у щурів різних вікових груп / В.Г.Бабійчук // Науковий вісник НАУ. – 2008. – № 126. – С. 34-41.

27. Коцар В.Л. Особливості хемилюмінесценції в тканинах щурів після екстремальних холодових впливів / В.Л.Коцар, В.Г.Бабійчук, Г.А.Бабійчук // Науковий вісник НАУ. – 2008. – № 126. – С. 103-107.

28. Патент на корисну модель № 30426, заяв. 06.11.2007, опубл. 25.02.2008. Україна. Експериментальна кріокамера / Бабійчук Г.О., Козлов О.В., Ломакін І.І., Бабійчук В.Г // МПК⁷ А61 F 7/00 БИ № 4, С.

29. Патент на корисну модель № 32207, заяв. 17.12.2007, опубл. 12.05.2008. Україна. Спосіб корекції вегетативних функцій організму людей похилого віку / Бабійчук В.Г., Бабійчук Г.О., Грищенко В.І., Козлов О.В., Ломакін І.І. // МПК⁷ А61 В 18/02 А61 F 7/00 БІ № 9, С. 5.26.

30. Патент на корисну модель № 38894, заяв. 01.08.2008, опубл. 26.01.2009. Україна. Кріокамера для екстремального охолодження лабораторних тварин / Козлов О.В., Бабійчук В.Г., Ломакін І.І. // МПК⁷ А61 F 7/00 БІ № 2, С. 5.19.

31. Патент на корисну модель № 26920, заяв. 04.06.2007, опубл. 10.10.2007. Україна. Пристрій для екстремального охолодження / Бабійчук Г.О., Козлов О.В., Ломакін І.І., Бабійчук В.Г., Шило О.В., Марченко В.С. // МПК⁷ А61 F 7/00 БІ № 16, С.

32. Патент на корисну модель № 40168, заяв. 06.11.2008, опубл. 25.03.2009. Україна. Кріокамера для екстремального охолодження лабораторних тварин / Бабійчук Г.О., Козлов О.В., Ломакін І.І., Бабійчук В.Г. // МПК⁷ А61 В 18/00 БІ № 6, С. 5.19.

33. Бабійчук В.Г. Роль гематоэнцефалического барьера в стресс-индуцированных изменениях сердечно-сосудистой системы при экстремальных холодовых воздействиях / В.Г.Бабійчук, Р.С.Кузбеков // Клінічна та експериментальна патофізіологія. – 2004. – № 2. – Ч. 2. – С. 354-356.

34. Бабійчук В.Г. Гематоэнцефалический барьер гипоталамуса в нейротрансмиттерных механизмах терморегуляции при гипотермии / В.Г.Бабійчук, В.С.Марченко, Л.Н.Марченко // Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. – 2004. – Т. 90, № 8. – С. 124.

35. Марченко В.С. Метод фрактальной морфометрии ультраструктуры элементов гематоэнцефалического барьера в норме и при патологиях ЦНС / В.С.Марченко, В.Г.Бабійчук, Р.С.Кузбеков, Л.Н.Марченко // Мат. XX Российской конф. по электронной микроскопии. - Черноголовка, 2004. – С. 36.

36. Марченко В.С. Гематоэнцефалический барьер во фрактальных механизмах адаптации при гипотермии и гибернации / В.С.Марченко, В.И.Грищенко, В.Г.Бабійчук, Л.Н.Марченко // Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. – 2004. – Т. 90, № 8. – С. 257.

37. Бабійчук В.Г. Центральные структурно-функциональные механизмы действия экстремальной криотерапии / В.Г.Бабійчук, Л.Н.Марченко // Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти. – 2005. – Т. 1, № 1 (Додаток). – С. 80.

38. Марченко В.С. Гематоэнцефалический барьер во фрактальных механизмах терморегуляции при гипотермии и гибернации / В.С.Марченко, В.Г.Бабійчук, Г.А.Бабійчук // Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти. – 2005. – Т. 1, № 1 (Додаток). – С. 71.

39. Марченко В.С. Нейрональные газы (NO,CO) в терморегуляторной нейротрансмиттерной системе гематоэнцефалического барьера охлажденного организма / В.С.Марченко, Г.А.Бабійчук, Д.Г.Луценко и др. // Сборник трудов IV Национ. научно-практ. конф. «Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека». – Смоленск, 2005. – С. 281-283.

40. Бабійчук В.Г. Особенности влияния экстремального криовоздействия на интенсивность перекисного окисления липидов сыворотки крови крыс

различных возрастных групп / В.Г.Бабийчук, В.Л.Коцарь, Д.В.Черкашина, А.С.Лебединский // Сб. тр. IV Национ. научно-практ. конф. «Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека». – Смоленск, 2005. – С. 351-352.

41. Марченко Н.В. Фрактальная размерность охлажденного мозга стареющего организма / Н.В.Марченко, В.Г.Бабийчук, Д.Г.Луценко и др. // Биология – наука XXI века: Сб. тезисов. – Пущино, 2006 – С. 346.

42. Марченко Н.В. Метод фрактальной морфометрии ультраструктуры синапсов головного мозга при моделировании процесса обработки термосенсорной информации в НС / Н.В.Марченко, В.С.Марченко, Л.Н.Марченко, В.Г.Бабийчук // Молодежь и современные проблемы радиотехники и телекоммуникаций «РТ-2006»: Матер. Междунар. конф. – Севастополь: Изд-во СевНТУ, 2006. – С. 188.

43. Коцар В.Л. Особливості перебігу вільнорадикального окиснення в структурах мозку після дії екстремальних кріовпливів / В.Л.Коцар, В.Г.Бабійчук // “Профілактика, діагностика та лікування – основні складові терапії”: Матер. науково-практич. конф. – Харків, 2006 – С. 43.

44. Бабийчук В.Г. Влияние экстремального охлаждения на показатели вегетативной регуляции сердечного ритма у людей различных возрастных групп / В.Г.Бабійчук // Матери. научно-практич. конф. ”Щорічні терапевтичні читання: роль медичної науки в рішенні проблем внутрішніх хвороб” (28 марта 2007 г.). – Харьков, 2007. – С. 8.

45. Lutsenko D.G. Post-Hypothermic Effect and Aspects of the Neuro- and Angioarchitecture of Rat’s Brain at Different Ages / D.G.Lutsenko, V.G.Babijchuk // Cell Preservation Technology. – 2008. – V. 6, № 1. – P. 98-99.

АНОТАЦІЯ

Бабійчук В.Г. Механізми дії екстремально низьких температур на структурно-функціональний стан центральної нервової і серцево-судинної систем у тварин різних вікових груп. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.35 – кріомедицина. – Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків, 2010.

Дисертація присвячена вивченню дії ритмічних екстремальних холодових впливів (-120°C) на структурно-функціональні та біохімічні показники діяльності центральної нервової, серцево-судинної, ендокринної систем організму тварин різних вікових груп. Визначено роль гематоенцефалічного бар’єра в регуляції адаптації до екстремальних температурних впливів. Встановлено факт відновлення порушених структурних і нейрорегуляторних функцій мозку старих тварин. Експериментально обґрунтовано переваги запропонованої методики охолодження в порівнянні з традиційною. Показано, що ритмічне охолодження значно швидше призводить до відновлення фізіологічного співвідношення симпатичних і парасимпатичних ланок вегетативної нервової системи, суттєво впливає на серцеву діяльність в залежності від віку та потреби організму. Показано, що NO відіграє важливу роль у регуляції вегетативних функцій організму тварин під впливом дії низьких температур. Експериментально доведено, що ритмічні екстремальні

холодові впливи у старих тварин та у тварин з аліментарним ожирінням підвищують тонус парасимпатичного відділу вегетативної нервової системи, знижують активність гуморальної ланки регуляції серцевого ритму.

Вперше встановлено, що ритмічне екстремальне охолодження в умовах кріокамери (-120°C) підвищує резистентність організму до процесів порушення гомеостазу при старінні за рахунок підвищення активності антиоксидантної системи. Ритмічні екстремальні холодкові впливи є перспективним методом корекції порушеного гомеостазу у старих тварин.

Ключові слова: ритмічні екстремальні холодкові впливи, гематоенцефалічний бар'єр, гомеостаз, центральна нервова, серцево-судинна та ендокринна системи.

АННОТАЦИЯ

Бабийчук В.Г. Механизмы действия экстремально низких температур на структурно-функциональное состояние центральной нервной и сердечно-сосудистой систем у животных различных возрастных групп. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.35. – криомедицина. Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков, 2010.

В работе определены оптимальные условия и временные параметры действия ритмического экстремального холодового воздействия (-120°C) в условиях кріокамеры на структурно-функциональную организацию ВНС, значение функции ГЭБ в механизмах адаптации и интегрирования ряда функций организма. Экспериментально обоснованы преимущества ритмического охлаждения организма теплокровных животных в сравнении с общепринятым методом. Установлено, что ритмические экстремальные холодовые воздействия значительно быстрее создают условия для восстановления физиологического соотношения симпатических и парасимпатических звеньев ВНС в зависимости от возраста и потребностей организма, в том числе и у животных, которым моделировали алиментарное ожирение.

Изучены структурно-функциональное состояние ГЭБ в условиях действия на организм ритмического охлаждения, его проницаемость для биологически активных веществ. На разных этапах РЭХВ происходят быстрые адаптационные преобразования как на субклеточном уровне в эндотелии капилляров, так и в нейрон-глия-капиллярных взаимоотношениях ЦНС.

Показано, что при РЭХВ в ультраструктурной архитектонике кардиомиоцитов старых крыс наблюдаются перестройки компенсаторного типа, повышается метаболическая активность. РЭХВ активизирует антиоксидантную систему, что особенно важно для динамики старения, так как в патогенезе старения активации ПОЛ отводится важная роль.

После РЭХВ нарушенное соотношение прооксидантно-антиоксидантного равновесия у старых крыс приближается к показателям молодых животных.

Установлено, что содержание конечных продуктов обмена NO изменяется синхронно с ЧСС. РЭХВ способствуют повышению содержания нитритов в сыворотке крови, что является благоприятным фактом, так как NO играет важную

роль в проницаемости ГЭБ для нейромедиаторов и регуляции вегетативных функций. Приведенные данные показывают зависимость выявленных изменений от особенностей функционирования структур мозга и центров интеграции вегетативных функций в условиях старения и действия РЭХВ.

Под влиянием РЭХВ регуляция вегетативными функциями, в частности нейрогуморальной регуляции сердца, соотношения симпатического и парасимпатического звеньев существенно улучшаются. Увеличивается общая спектральная мощность вариабельности сердечного ритма у старых крыс за счет активности ВНС, что свидетельствует о переходе процесса регуляции на быстрый вегетативный уровень, не присущий пожилому организму. РЭХВ через систему регуляторных механизмов осуществляет мобилизацию источников энергии, тем самым приспособлявая организм комплексом нервных, эндокринных, гемодинамических и обменных процессов к адекватному физиологическому ответу для оптимизации нарушенного гомеостаза.

Впервые установлено, что ритмическое охлаждение в условиях криокамеры (-120°C) повышает резистентность организма к процессам старения за счет повышения активности антиоксидантной, эндокринной и вегетативной нервной систем организма, в том числе и у людей пожилого возраста. Обосновано положение о том, что ритмические холодовые воздействия являются перспективным методом для коррекции нарушенного гомеостаза у старых животных и у людей.

Ключевые слова: ритмические экстремальные холодовые воздействия, гематоэнцефалический барьер, гомеостаз, центральная нервная, сердечно-сосудистая, эндокринная системы.

ANNOTATION

Babiychyk V.G. Mechanisms of effect of extremely low temperatures on structural and functional state of central nervous system and cardiovascular systems in animals of different age groups. – A Manuscript.

Dissertation for the doctor of medical science degree in specialty 14.01.35 – cryomedicine. – Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, 2010.

The dissertation is devoted to the studying the rhythmic experimental cold effects (-120°C) on structural-functional and biochemical indices of the activity of central nervous, cardiovascular, endocrine systems of the animals of different age groups. The role of blood brain barrier in regulation of adaptation to extreme temperature effects was examined. Of special attention is the established fact of recovery of impaired structural and neuroregulatory functions of aged animals' brain. The advantages of proposed cooling methods if compared with the traditional one have been experimentally stipulated. It has been shown that rhythmic cooling much more rapid results in the recovery of physiological ratio of sympathetic and parasympathetic effects of vegetative nervous system on cardiac activity depending on the age and demand of animal's organism functions under low temperature influence. It has been demonstrated that NO plays an important role in regulation of vegetative functions of organism of the animals

under low temperature effect. It has been experimentally proved that rhythmic extreme cold effects in aged animals increase the tonus of parasympathetic branch of CNS, reduce the activity of humoral link of cardiac rhythm regulation.

For the first time it has been established that rhythmic cooling under the conditions of cryochamber (-120 °C) increases the resistance of an organism to homeostasis processes during aging due to the rise in activity of antioxidative system. Rhythmic cold effects are perspective methods to correct the impaired homeostasis in aged animals.

Key words: rhythmic extreme cold effects, blood brain barrier, homeostasis, central nervous, cardiovascular and endocrine systems.

Відповідальний за випуск Гольцев А.М.

Підписано до друку 21.06.2010. Формат 60х90 1/16

Тираж 100 прим. Авт.арк. 1,9

ПП Консалтингвий центр «Райдер»

61060, м. Харків, вул. Танкопія, 7/2 кв. 99