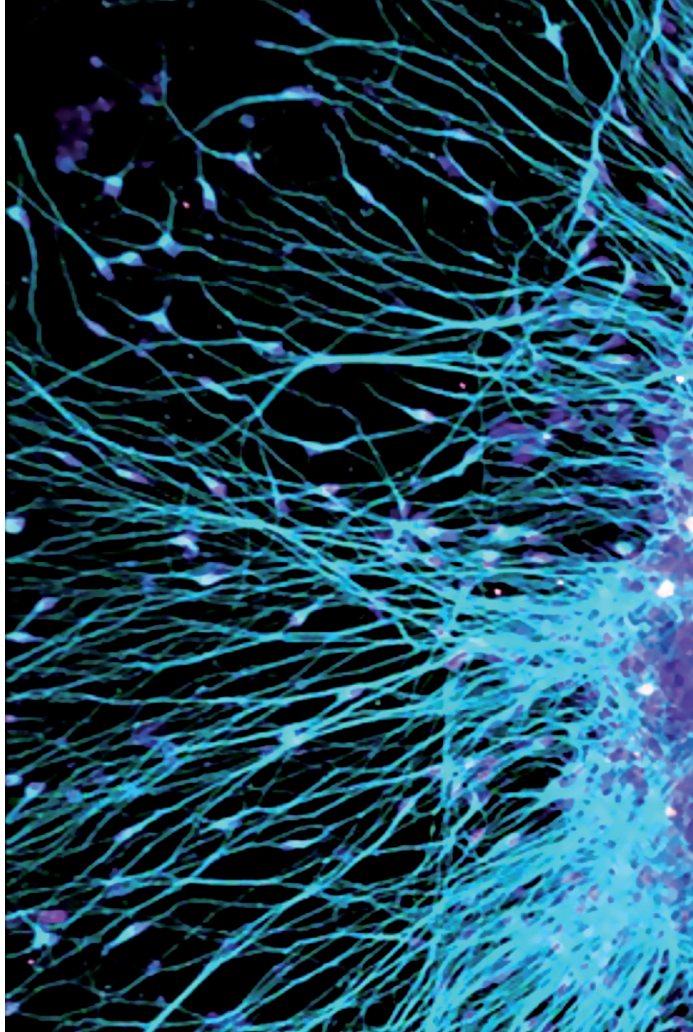
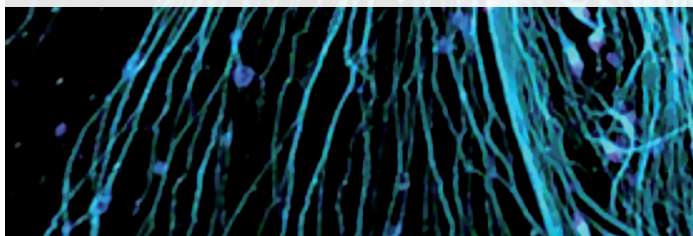


**САПАРБАЕВ С.С.
АКПОЛАТОВА Г.М.**



**«ВЛИЯНИЕ «МЕДИАТОРНЫХ ВЕЩЕСТВ» ФЕТАЛЬНЫХ
ТКАНЕЙ ПЕЧЕНИ НА ИЗМЕНЕНИЯ АДАПТИВНЫХ
РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА ПРИ СТРЕССЕ, ВЫЗВАННОМ
ИММОБИЛИЗАЦИЕЙ И ГИПОКСИЕЙ
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)»**

Нур-Султан, 2020



Сапарбаев С. С., Акполатова Г. М.

**Влияние «медиаторных веществ»
фетальных тканей печени на изменения
адаптивных реакций организма при стрессе,
вызванном иммобилизацией и гипоксией
(экспериментальное исследование)**

Нур-Султан, 2020

УДК 616
ББК 54.1
С19

Утверждено на заседании ученого совета АО «Национальный Научный медицинский центр» протокол №1 от 31 марта 2020 года.

«Влияние «медиаторных веществ» фетальных тканей печени на изменения адаптивных реакций организма при стрессе, вызванном иммобилизацией и гипоксией (экспериментальное исследование)», Сапарбаев С. С., Акпولاتова Г. М., – Нур-Султан: Типография «IndigoPrint», 2020. – 102 с.

ISBN 978-601-80817-9-8

Согласно представлениям о системных механизмах стресса, мобилизация энергетических и структурно-функциональных резервов организма при стресс-реакции достаточно сильна и обеспечивает «срочную» адаптацию организма на воздействие стрессоров. Однако в условиях затянувшейся интенсивной стресс-реакции значительная мобилизация ресурсов перестает быть адаптивным фактором. Повреждающие эффекты стресс-реакции возникают как «издержки» активации стресс-системы в ответ на сильное стрессовое воздействие и избыточный «выброс» стресс-гормонов. В свою очередь это приводит к прогрессирующему истощению организма и развитию дистресса, который сопровождается нарушением целого ряда функций организма.

Не вызывает сомнений важность понимания механизмов резистентности к стрессу для разработки методов ее коррекции и профилактики ее осложнений. При этом существенную роль в развитии этого направления исследований играет моделирование стрессорной патологии в эксперименте. Целесообразность такого моделирования обоснована наличием общих механизмов развития стресса у человека и животных. Так, например, моделирование физического стресса в эксперименте является классическим и адекватным подходом в изучении реакций организма человека на обездвиживание, гипоксию, холод, инфекцию и другие факторы.

Возвращаясь к вопросу о необходимости более детального изучения механизмов действия МВ при различных заболеваниях человека, следует упомянуть работы казахстанских ученых, которые установили их эффективность в обеспечении стресс-протекции у пациентов с высоким операционно-анестезиологическим риском. Причем авторы объясняют позитивное действие данного супернатанта наличием в нем биологически активных веществ, являющихся экзогенными аналогами стресс-лимитирующей системы организма, способными модулировать эндокринно-метаболические и системные воспалительные реакции пациентов на хирургический стресс.

В то же время, учитывая явную недостаточность сведений по экспериментальному подтверждению терапевтических эффектов суммарных компонентов надосадочной жидкости, сопутствующих приготвлению взвесей фетальных клеток на функции организма при различных заболеваниях, актуальным представляется проведение комплексных исследований по изучению влияния МВ на течение различных видов стресса. Это позволит с фундаментальных позиций приблизиться к пониманию как феноменологических проявлений, так и механизмов действия МВ фетальных тканей на больной организм. Научная новизна. В работе впервые экспериментально изучено влияние «медиаторных веществ» фетальной ткани печени на изменение общих реакций организма при повреждении, в частности, при развитии стресса, обусловленного действием стрессоров иммобилизационной и гипоксической природы.

Впервые установлено стресс-лимитирующее действие «медиаторных веществ», которое состояло в формировании наиболее благоприятного метаболического профиля, в изменении реакций клеток периферической крови, улучшении интегративной функции коры головного мозга и нормализации морфофункционального состояния коры мозга и надпочечников, являющихся органами-мишенями при действии стрессоров различного генеза.

Практическая ценность работы. Полученные в ходе исследований данные дополняют теоретический материал о влиянии «медиаторных веществ» фетальных клеток на различные звенья гомеостаза при экспериментальной патологии.

Результаты исследований могут быть использованы в качестве фундаментального обоснования протективной терапии «медиаторными веществами» фетальных клеток постстрессовых состояний.

Кроме того, они представляют теоретический и практический интерес для широкого круга исследователей в области патофизиологии, фармакологии и клеточной трансплантационной терапии.

УДК 616
ББК 54.1

ISBN 978-601-80817-9-8

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

СВИДЕТЕЛЬСТВО

О ВНЕСЕНИИ СВЕДЕНИЙ В ГОСУДАРСТВЕННЫЙ РЕЕСТР ПРАВ НА ОБЪЕКТЫ, ОХРАНЯЕМЫЕ АВТОРСКИМ ПРАВОМ

№ 9192 от «8» апреля 2020 года

Фамилия, имя, отчество, (если оно указано в документе, удостоверяющем личность) автора (ов):
САПАРБАЕВ САМАТ САГАТОВИЧ, АҚНОЛАТОВА ГҮЛЬНҮР МОМЫНОВНА

Вид объекта авторского права: **произведение науки**

Название объекта: **«ВЛИЯНИЕ «МЕДИАТОРНЫХ ВЕЩЕСТВ» ФЕТАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ ПЕЧЕНИ НА
ИЗМЕНЕНИЯ АДАПТИВНЫХ РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА ПРИ СТРЕССЕ, ВЫЗВАННОМ
ИММОБИЛИЗАЦИЕЙ И ГИПОКСИЕЙ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)»**

Дата создания объекта: **31.03.2020**



Күжат түпнұсқасын <http://www.kazpatent.kz/ru> сайтының
"Авторлық құқық" бөлімінде тексеруге болады. <https://copyright.kazpatent.kz>

Подлинность документа возможно проверить на сайте [kazpatent.kz](http://www.kazpatent.kz)
в разделе «Авторское право» <https://copyright.kazpatent.kz>

Подписано ЭЦП

Куантыров Е.С.

Содержание

Глава	Название	Стр.
	НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ.....	6
	ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ.....	7
	ВВЕДЕНИЕ.....	8
	ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ	
1	ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
2	МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	22
2.1	Характеристика материалов экспериментального исследования.....	22
2.2	Модели хронического иммобилизационного стресса и гипоксической гипоксии.....	23
2.3	Модель гипоксического стресса	24
2.4	«Медиаторные вещества» фетальных клеток.....	24
2.5	Изучение биохимических показателей крови.....	25
2.6	Изучение гематологических показателей крови.....	25
2.7	Условно-рефлекторная деятельность.....	25
2.8	Морфологические методы исследования.....	26
2.9	Статистические методы исследования.....	26
3	ВЛИЯНИЕ «МЕДИАТОРНЫХ ВЕЩЕСТВ» ФЕТАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ТЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ.....	27
3.1	Изменение биохимических показателей крови на фоне применения “медиаторных веществ” фетальных тканей при хроническом иммобилизационном стрессе.	27
3.2	Влияние «медиаторных веществ» фетальных клеток на гематологические показатели крови экспериментальных крыс после иммобилизационного стресса.....	33
3.3	Влияние «медиаторных веществ» фетальных клеток на динамику условного рефлекса пассивного избегания после иммобилизационного стресса.....	38
4	ВЛИЯНИЕ «МЕДИАТОРНЫХ ВЕЩЕСТВ» ФЕТАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ТЕЧЕНИЕ СТРЕССА, ВЫЗВАННОГО ГИПОКСИЧЕСКОЙ ГИПОКСИЕЙ.....	42

4.1	Влияние «медиаторных веществ» фетальных клеток на динамику биохимических показателей крови животных после гипоксического стресса.....	42
4.2	Влияние «медиаторных веществ» фетальных клеток на динамику гематологических показателей животных после гипоксического стресса.....	49
4.3	Влияние «медиаторных веществ» фетальных клеток на динамику условного рефлекса пассивного избегания у крыс после гипоксического стресса.....	53
5	ВЛИЯНИЕ «МЕДИАТОРНЫХ ВЕЩЕСТВ» ФЕТАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ И НАДПОЧЕЧНИКАХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ СТРЕССА.....	57
5.1	Влияние «медиаторных веществ» фетальных тканей на динамику морфологических изменений в коре головного мозга и надпочечниках крыс, перенесших иммобилизационный стресс.....	57
5.2	Влияние «медиаторных веществ» фетальных тканей на динамику морфологических изменений в коре головного мозга и надпочечниках крыс, перенесших гипоксический стресс.....	63
	ОБОБЩЕНИЕ И ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ.....	70
	ВЫВОДЫ.....	86
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	88

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 4. 180-85 СПКП. Меры массы. Номенклатура показателей.

ГОСТ 4. 365-85 СПКП. Оборудование. Номенклатура показателей.

ГОСТ 7.32-2001 Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

ГОСТ ТУ 25-11-1107-75 Сосуды лабораторные.

ГОСТ ТУ 92-11-1107-75 Колбы лабораторные.

ГОСТ 111-78 Стекла покровные.

ГОСТ 137.18-68 Весы торсионные. Методы и средства проверки.

ГОСТ 1770-74Е Посуда мерная лабораторная, стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки.

ГОСТ 1774-70 Пробирки центрифужные.

ГОСТ 4517-87 Реактивы. Методы приготовления вспомогательных реактивов и растворов. Применение при анализе.

ГОСТ 4919.2-77 Реактивы и особо чистые вещества.

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия.

ГОСТ 7328-82 Е Меры массы общего назначения и оборудование. Технические условия.

ГОСТ 14919-83 Е Электроплиты, электроплитки, жарочные электрошкафы бытовые. Общетехнические условия.

ГОСТ 19126-79 Е Инструменты медицинские, металлические. Общетехнические условия.

ГОСТ 21400-75 Цилиндры.

ГОСТ 25336-82 Стаканы лабораторные.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

TNF- α – туморнекротизирующий фактор

IL- интерлейкин

IGF-1 – инсулиноподобный фактор роста -1

TFR β – трансформирующий фактор роста

Ц-АМФ – циклический аденозинмонофосфат

ННМЦ – национальный научно-медицинский центр

ИФ – интерферон

АЛТ – аланинаминотрансферазы

АСТ – аспаратаминотрансферазы

ГГТП – гаммаглутаматтранспептидаза

ЩФ – щелочная трансфераза

ЭСК – эмбриональные стволовые клетки

ФК – фетальные клетки

МВ – медиаторные вещества

РП - регуляторные пептиды

ДСИП – дельтасонрегулирующий пептид

БАВ – биологически активные вещества

АФП – альфафетопротеин

ХЛ – холестерин

ТГ – триглицериды

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности

ЛПВП – липопротеиды высокой плотности

ПОЛ – перекисное окисление липидов

АОС – антиоксидантная система

CCl₄ – четыреххлористый углерод

ЦНС - центральная нервная системы

Введение

Актуальность проблемы

Известно, что в процессе приготовления взвесей фетальных клеток получают надосадочную жидкость, которая состоит из белково-пептидного комплекса биологически активных веществ, имеющего в своем составе интерлейкины 2, 6, 10, васкулоэндотелиальный фактор, гормоны пептидной структуры [1, 2]. Полученный супернатант принято обозначать как «медиаторные вещества» (МВ) или «медиаторы» фетальных клеток.

Обобщение результатов ранее выполненных клинических исследований позволило сформулировать предварительное заключение о комплексном терапевтическом эффекте действия «медиаторных веществ», которое обусловлено регуляцией межклеточных взаимодействий, что ведет к восстановлению обменных процессов в организме и нормализации нарушенных звеньев гомеостаза при дизрегуляторной патологии [3, 4, 5]. Считается, что МВ являются мощными регуляторами, влияющими на клетки организма реципиента, корректирующими их функциональное состояние и взаимодействие и одновременно обладающими широким, направленным воздействием на функции регуляторных систем, что способствует восстановлению нормальной жизнедеятельности организма [6].

Однако следует признать, что до настоящего момента метод терапии с использованием МВ не получил еще всестороннего изучения и патогенетического обоснования. Экспериментальных данных, посвященных изучению механизмов действия МВ, явно недостаточно и, в определенной степени, это может скомпрометировать возможность более широкого применения рекомендуемого метода при различных вариантах патологии организма. С нашей точки зрения, уточнению «вероятных» механизмов действия МВ могло бы послужить изучение их влияния на изменение общих реакций организма на повреждение, каковым, в частности, является развитие стресса.

Согласно представлениям о системных механизмах стресса, мобилизация энергетических и структурно-функциональных резервов организма при стресс-реакции достаточно сильна и обеспечивает «срочную» адаптацию организма на воздействие стрессоров. Однако в условиях затянувшейся интенсивной стресс-реакции значительная мобилизация ресурсов перестает быть адаптивным фактором. Повреждающие эффекты стресс-реакции возникают как «издержки» активации стресс-системы в ответ на сильное стрессовое воздействие и избыточный «выброс» стресс-гормонов. В свою очередь это приводит к прогрессирующему истощению организма и развитию дистресса, который сопровождается нарушением целого ряда функций организма [7, 8].

Не вызывает сомнений важность понимания механизмов резистентности к стрессу для разработки методов ее коррекции и профилактики ее осложнений. При этом существенную роль в развитии этого направления исследований играет моделирование стрессорной патологии в эксперименте. Целесообразность такого моделирования обоснована наличием общих механизмов развития стресса у человека и животных [9]. Так, например, моделирование физического стресса в эксперименте является классическим и адекватным подходом в изучении реакций организма человека на обездвиживание, гипоксию, холод, инфекцию и другие факторы [10].

Возвращаясь к вопросу о необходимости более детального изучения механизмов действия МВ при различных заболеваниях человека, следует упомянуть работы казахстанских ученых, которые установили их эффективность в обеспечении стресс-протекции у пациентов с высоким операционно-анестезиологическим риском. Причем авторы объясняют позитивное действие данного супернатанта наличием в нем биологически активных веществ, являющихся экзогенными аналогами стресс-лимитирующей системы организма, способными модулировать эндокринно-метаболические и системные воспалительные реакции пациентов на хирургический стресс [11].

В то же время, учитывая явную недостаточность сведений по экспериментальному подтверждению терапевтических эффектов суммарных компонентов надосадочной жидкости, сопутствующих приготовлению взвесей фетальных клеток на функции организма при различных заболеваниях, актуальным представляется проведение комплексных исследований по изучению влияния МВ на течение различных видов стресса [12, 13, 14]. Это позволит с фундаментальных позиций приблизиться к пониманию как феноменологических проявлений, так и механизмов действия МВ фетальных тканей на больной организм.

Цель исследования - изучить влияние «медиаторных веществ» фетальной ткани печени на течение различных видов стресса, обусловленных длительной иммобилизацией и гипоксией экзогенного происхождения.

Задачи исследования

1. Изучить влияние «медиаторных веществ» фетальной ткани печени на динамику биохимических показателей крови после моделирования у животных иммобилизационного и гипоксического стресса.

2. Исследовать влияние «медиаторных веществ» фетальных гепатоцитов на изменение гематологических показателей у животных с иммобилизационным и гипоксическим стрессом.

3. Выявить особенности воздействия «медиаторных веществ» фетальной ткани печени на динамику показателей интегративной деятельности животных после моделирования иммобилизации и экзогенной гипоксической гипоксии.

4. Определить характер влияния «медиаторных веществ» фетальных гепатоцитов на морфологические изменения в надпочечниках и коре головного мозга у крыс, испытавших иммобилизацию и экзогенную гипобарическую гипоксию.

Научная новизна. В работе впервые экспериментально изучено влияние «медиаторных веществ» фетальной ткани печени на изменение общих реакций организма при повреждении, в частности, при развитии стресса, обусловленного действием стрессоров иммобилизационной и гипоксической природы.

Впервые установлено стресс-лимитирующее действие «медиаторных веществ», которое состояло в формировании наиболее благоприятного метаболического профиля, в изменении реакций клеток периферической крови, улучшении интегративной функции коры головного мозга и нормализации морфофункционального состояния коры мозга и надпочечников, являющихся органами-мишенями при действии стрессоров различного генеза.

Практическая ценность работы. Полученные в ходе исследований данные дополняют теоретический материал о влиянии «медиаторных веществ» фетальных клеток на различные звенья гомеостаза при экспериментальной патологии.

Результаты исследований могут быть использованы в качестве фундаментального обоснования протективной терапии «медиаторными веществами» фетальных клеток постстрессовых состояний.

Кроме того, они представляют теоретический и практический интерес для широкого круга исследователей в области патофизиологии, фармакологии и клеточной трансплантационной терапии.

Использование «медиаторных веществ» фетальной ткани печени в дозе 0,3 мл/кг при иммобилизационном и гипоксическом стрессах оказывает положительное влияние на динамику биохимических показателей сыворотки крови.

При действии на организм стрессоров иммобилизационной и гипоксической природы «медиаторные вещества» фетальных тканей изменяют реакции системы крови, обеспечивая повышение активности факторов неспецифической резистентности организма.

«Медиаторные вещества» фетальных клеток нормализуют интегративную функцию мозга и улучшают выработку и сохранение УРПИ.

Эффективность «медиаторных веществ» фетальных клеток проявляется при более глубоких структурно-функциональных нарушениях в тканях коры головного мозга и надпочечников, имеющих место при гипоксическом стрессе, нежели при иммобилизационном.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Количество больных, нуждающихся по жизненным показаниям в трансплантации печени, почек, сердца, растет во всех странах, что обусловлено заметным демографическим «старением» населения планеты, увеличением количества хронических заболеваний, появлением экологических болезней. Перед специалистами, которые занимаются проблемами трансплантологии, стояла достаточно серьезная проблема огромного дефицита качественного донорского материала, что, в конечном итоге, породило идею использования клеточных трансплантаций. При этом трансплантацию соматических клеток рассматривали в качестве главной альтернативы пересадке органов [15, 16, 17, 18, 19]. В настоящий момент экспериментально-клиническое обоснование применения и усовершенствования методов клеточной терапии является одним из перспективных биотехнологических направлений развития медицины. Из данных литературы следует, что первоначально применялись пересадки специализированных соматических клеток. Однако пересадка специализированных соматических клеток не нашла в клинике достаточно широкого применения.

Так, в процессе изучения терапевтических возможностей метода клеточной трансплантации стало очевидным, что главным препятствием на пути внедрения клеточных технологий в широкую клиническую практику также служит ограничение в получении достаточных количеств биоматериала- специализированных (дифференцированных) клеток с высокой биологической активностью, которой, как известно, обладают клетки из тканей молодых развивающихся организмов [20, 21, 22, 23].

Позднее стали обосновываться принципы фетально-клеточной терапии. Использование для трансплантаций взвесей фетальных клеток обеспечивало не столько функцию временного органозамещения, сколько способствовало усилению процессов репаративной регенерации поврежденных органов. С этой целью применяли клетки из тканей поздних эмбрионов человека со сроками развития 5-8 недель гестации, когда заканчивается закладка эмбриональных зачатков тканей и органов; клетки фетальных тканей человека со сроком развития плода свыше 8-12 недель гестации, а также клетки из тканей органов новорожденных или неполовозрелых животных (при необходимости получения больших объемов клеточной массы) [24, 25, 26, 27, 28]. Клеткам из тканей развивающихся организмов, в первую очередь фетальным, отдается особое предпочтение, так как они имеют заметное биологическое преимущество перед специализированными клетками взрослых доноров. Во-первых, большинство фетальных клеток имеют слабо экспрессированные комплексы главных антигенов гистосовместимости (МНС-1 и МНС-2). Благодаря этому иммунная система взрослого человека, которому пересаживают эти клетки, не может их распознать, а значит — и отторгнуть. Фетальные клетки и ткани еще сами недостаточно зрелы, чтобы атаковать нового хозяина. Перечисленные выше свойства позволяют считать фетальные клетки и ткани уникальным материалом, который легко приживается в чужом организме и позволяет исключить при имплантации использование иммуносупрессоров, которые могут вызвать побочные эффекты действия [16, 17, 18].

Во-вторых, фетальные органы содержат наряду с уже дифференцированными клетками бластные и региональные стволовые клетки, наделенные мощным потенциалом пролиферации. В-третьих, фетальные клетки за счет стволовых и бластных популяций способны серетировать в организме реципиента уникальный комплекс цитокинов и ростовых тканеспецифических факторов, которые стимулируют регенерацию поврежденных тканей человека [29, 30, 31, 32].

Мульти- или унипотентность стволовых клеток (СК) поздних эмбрионов (фетальных клеток) и присущие им свойства хоуминга и клеточного химеризма, а также отсутствие опасности образования из них эмбриотератом при трансплантации во взрослый организм (в отличие от истинных эмбриональных СК (ЭСК), полученных на самых ранних сроках гестации) позволяет рассматривать СК плодов как разновидность региональных СК или СК взрослых организмов [21, 27].

По мнению многих исследователей, считается, что пересаженные фетальные клетки мобилизуют и стимулируют собственные защитные силы организма и, кроме того, являются мощным фактором, стимулирующим рост клеток. Вместе с тем в их действии проявляются выраженные антиоксидантные и противовоспалительные свойства [33]. Несмотря на то, что имплантация фетальных тканей и клеток не является «генной терапией», вполне возможно, что биологически активные вещества, содержащиеся в них, способствуют экспрессии «молчащих» генов.

В последние десятилетия в экспериментально-клинической медицине проводятся серьезные исследования по разработке принципов проведения, а также по определению показаний к применению методов фетально-клеточной терапии. В литературе имеются сведения о положительном влиянии трансплантации фетальных клеток на течение и исходы многих форм патологии организма [34, 35, 36, 37, 38].

Были опубликованы серьезные аналитические обзоры по применению фетальных тканей и клеток при лечении многих заболеваний ЦНС. По данным ряда авторов, при внутримозговой трансплантации стволовых клеток выявлялся высокий потенциал интеграции этих клеток с мозгом реципиента. При этом сохранялась их способность к пролиферации, миграции и терминальной дифференциации, что, в конечном итоге, могло определить перспективы применения указанных методов терапии [39, 40, 41, 42].

Начиная с 1989 года на Украине в НИИ нейрохирургии (Киев) проводятся разработки по нейротрансплантации эмбриональной аллогенной нервной ткани. Полученные результаты позволяют с успехом использовать этот уникальный метод лечения при некоторых патологических состояниях нервной системы человека [43].

Подобные исследования выполняются с 1991 года в Российском НИИ нейрохирургии (г. Санкт-Петербург) при лечении детей с врожденным церебральным параличом, тяжелыми эпилептическими припадками, психическими расстройствами, парезами и параличами. Пересаженные клетки нервной ткани в этом возрасте еще сохраняют способность делиться, выделяя нейротрофический медиатор, который благотворно влияет на весь мозг пациента [44].

Моделирование различных форм патологии ЦНС позволило установить, что в основе терапевтического эффекта внутримозговой фетотрансплантации лежит уникальная способность направленной миграции клеток не только к местам терминальной дифференциации, но и к патологическому очагу. Так, при глиомах мозга крыс трансплантированные нейральные стволовые клетки мигрируют к

опухоли и располагаются по ее периферии. Причем направленный таксис происходит не только при имплантации клеток в место локализации опухоли, но и при введении этих клеток в удаленные от нее участки ипсилатеральной коры, в противоположное полушарие или в желудочки мозга. Более того, стволовые клетки были обнаружены в месте локализации опухоли после внутривенного их введения [45].

Известно, что после эпизодов тяжелой гипоксии возникает срыв гомеостатических механизмов регуляции судорожной активности головного мозга. Так, у животных после клинической смерти, наступившей от механической асфиксии, изучали порог судорожной активности мозга, долговременную память и способность к обучению при билатеральной трансплантации в гиппокамп ткани эмбрионального неокортекса. Установлено, что нейротрансплантация в зависимости от срока ее проведения после клинической смерти предупреждает или полностью прекращает спонтанные и вызванные судорожные пароксизмы, удлиняет сохранность энграммы долговременной памяти, улучшает способность к обучению, уменьшает проявления защитно-фобического поведения у значительной части животных [46,47].

В работе, выполненной на кафедре патологической физиологии имени В.Г. Корпачева, было доказано, что полнота восстановления высших функций головного мозга реанимированных животных зависит от вида выполняемой клеточной терапии. Положительное влияние на когнитивную деятельность мозга оказывает трансплантация клеток, полученных из фетальных тканей. Автором установлен факт улучшения процессов выработки пространственно-двигательного стереотипа и зрительной дифференцировки и более длительного сохранения долговременной памяти энграммы у животных, перенесших терминальное состояние и последующую реанимацию [48].

В клинических условиях клеточная терапия самостоятельно или в сочетании с другими методами применялась при паркинсонизме, болезни Вильсона-Коновалова, боковом амиотрофическом склерозе, первично генерализованной эпилепсии, опийной наркомании, болезни Дауна, Штрюмпелля, последствиях тяжелой спинальной и черепно-мозговой травмы. Так, для лечения демиелинизирующих заболеваний были использованы прогениторные олигодендроциты, трансплантацию ограниченных прогениторных нейральных клеток применяли при заболеваниях нервной системы с потерей фенотипа отдельных нейронов (болезнь Паркинсона); имплантацию смеси прогениторных клеток проводили при болезнях с потерей нескольких дискретных фенотипов (повреждение спинного мозга). При осуществлении нейротрансплантаций фетальных клеток у пациентов, страдающих нейродегенеративными заболеваниями (хорея Гентингтона), был установлен факт мобилизации эндогенных прогениторных клеток [49,50,51,52]. Вероятность реализации подобного механизма обусловлена тем, что в желудочках головного мозга, а также в глии обнаруживаются нейральные СК, способные трансформироваться в нейроны и клетки глии. Наконец, экспериментально было установлено, что клетки обонятельных луковиц в культуре можно программировать в нейральные СК/прогениторные клетки [53, 54, 55, 56, 57].

Анализ клинических наблюдений позволил прийти к заключению об относительной безопасности выполнения таких операций. В данном случае вопрос состоит о мерах выбора, условно говоря, о необходимости проведения терапии

«отчаяния», когда весь арсенал известных средств лечения оказался уже исчерпанным. Основной целью использования подобного метода лечения становилась активация ряда функциональных систем организма, а также модулирующее воздействие трансплантатов на пирамидную и экстрапирамидную системы, влияние на мозжечковую и вестибулярную симптоматику, смягчение некоторых сопутствующих психопатологических расстройств [20].

Таким образом, фетально-клеточная трансплантация может быть использована для замещения погибших нейронов при острой патологии и нейродегенеративных заболеваниях ЦНС. Кроме того, фетальные клетки могут применяться в качестве материала, экспрессирующего продукты, необходимые для восполнения нейрогуморальных факторов, утраченных вследствие повреждения или заболевания мозга.

Результаты использования клеточно-трансплантационной терапии (КТТ) при заболеваниях центральной нервной системы, эндокринных органов, печени, органов кроветворения, при злокачественных новообразованиях регулярно обсуждаются и освещаются в научных публикациях, завоевывая все больше приверженцев этого метода как среди специалистов, так и среди пациентов.

Следует отметить, что довольно широкое распространение получили методы клеточной терапии с использованием взвесей фетальных гепатоцитов. Изучение метаболизма при инкубации изолированных клеток печени доказало их способность конъюгировать свободный билирубин, связывать аммиак с последующим его превращением в мочевины, синтезировать и накапливать гликоген, связывать кортикостероиды и фенобарбитал с цитохромом Р-450 (т.е. осуществлять биотрансформацию ксенобиотиков), производить кетоновые тела из жирных кислот [58, 59, 60, 61]. Среди критериев оценки функциональной активности изолированных гепатоцитов большое значение имеет секреция факторов пролиферации собственной печени реципиента. В частности, обнаружен и выделен стимулятор регенерации [62], выявлены гепатотропные факторы А и В, способные стимулировать регенерацию собственной печени [63]. В дальнейшем из плазмы больных с быстротекущей печеночной недостаточностью при очищении в 600-6000 раз посредством сульфат-аммонийного осаждения и хроматографии выделен человеческий фактор роста [64].

Высокий эффект использования не целых гепатоцитов, а их ферментных микросомальных систем отмечен в ряде публикаций [65, 66]. Полученные результаты позволяют сделать вывод об отсутствии необходимости строгого подхода к результатам теста с трипановым синим, выявляющим гепатоциты с поврежденной мембраной, ввиду включения их ферментативных систем в метаболизм.

В работе, выполненной А.Н.Батановым и соавт. (2000), изучались процессы репаративной регенерации цирротически измененной печени на фоне трансплантации фетальных аллогенных гепатоцитов в эксперименте и клинике. Оказалось, что трансплантация фетальных гепатоцитов животным с экспериментальным циррозом печени способствовала восстановлению морфофункционального состояния печени. Это проявлялось уменьшением дистрофических, воспалительно-некротических и склеротических изменений, повышением содержания гликогена в цитоплазме гепатоцитов, значительной гиперплазией их ядер. Эффективность указанного способа терапии подтверждалась нормализацией биохимических показателей сыворотки крови и более ранним

восстановлением клеточной макрофагальной реакции. Учитывая положительные данные эксперимента, была выполнена трансплантация фетальных тканей человека пациентам, страдающим хроническим гепатитом и начальными формами цирроза печени. Наблюдение за ними в течение 1,5 лет позволило сделать предварительное заключение об эффективности данного метода лечения [67]. Кроме того, при изучении ультраструктуры гепатоцитов взрослых крыс с острой печеночной недостаточностью, вызванной введением CCl_4 и ее коррекции путем трансплантации фетальных тканей печени, было обнаружено уменьшение жировой дистрофии и количества некротических гепатоцитов с преобладанием популяции светлых гепатоцитов, вероятно, находящихся на стадии репарации [68].

В исследованиях К.П. Омаровой (2001), проведенных на крысах и собаках, у которых моделировали острую и хроническую печеночную недостаточность путем введения амидопирина и CCl_4 , апробировался способ терапии с использованием эмбриональных клеток печени. Автор утверждала, что чрезкожная внутripеченочная пересадка эмбриональных гепатоцитов при различных формах печеночной недостаточности вызывала усиление митотических процессов, способствовала формированию новой печеночной ткани и диффузному прорастанию материнского органа. Причем у крыс этот процесс по срокам протекал в 3 раза быстрее, чем у собак, что, по-видимому, определялось различной видовой принадлежностью животных [69].

Установлено, что трансплантация фетальных гепатоцитов при циррозе печени приводит к регрессу основных клинических синдромов: печеночной энцефалопатии, астенизации, асцита, а также уменьшению геморрагических проявлений. Кроме того, по изменению биохимических, гематологических, морфологических показателей были разработаны критерии эффективности используемых методов фетально-клеточной терапии [70, 71, 72, 73, 74].

В экспериментах, выполненных Л.В. Ульяновой (2007), показано, что терапия фетальными гепатоцитами при хроническом гепатите вызывала изменение метаболизма печеночных клеток, направленное на репарацию гепатоцитов в поврежденном органе. При этом изменялась активность ферментов, стимулировались процессы синтеза белка, уменьшалось накопление продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), увеличивался антиоксидантный потенциал и повышался уровень нуклеотидов и нуклеиновых кислот [75].

Б.Е.Абдрахманова (2008), используя фетальные гепатоциты для терапии животных с острым и хроническим токсическим поражением печени, доказала, что они обладают механизмом гемостатического действия, которое реализуется на уровне плазменной и сосудисто-тромбоцитарной систем коагуляции крови. В результате повышается свертывающий потенциал крови, что указывало на нормализацию гемокоагуляционной функции печени [76].

Особый интерес также представляют результаты работ по использованию для экстракорпорального лечения больных с эндотоксикозами различной этиологии «биококтейлей», приготовленных на основе криоконсервированных гепатоцитов (алло - или ксенопечень) и препаратов печени мертвых плодов человека [77, 78].

На сегодняшний день клеточные трансплантационные технологии были использованы при лечении болезней системы крови, в том числе апластических анемиях и лейкозах [79, 80, 81]. Более трех десятилетий в клинической практике

применяются гемопоэтические клетки, выделенные из печени плодов человека [44]. Имплантация фетальных гемопоэтических клеток используется также при лечении наследственных дефектов лизосом и пероксисом человека, при патологии крови, когда в эритроцитах присутствуют дефектные молекулы гемоглобина.

Имеются сообщения по использованию пересадок фетальных клеток при заболеваниях эндокринной и репродуктивной систем [82, 83, 84, 85, 86]. Положительные результаты были получены в практике лечения офтальмологических, оториноларингологических и стоматологических заболеваний, а также в ортопедии и камбустиологии [87, 88, 89, 90, 91]. Патогенетически обоснованным являлось применение методов клеточной терапии при тяжелых комбинированных первичных и вторичных иммунодефицитных состояниях [92].

Настоящий этап развития направления исследований по обоснованию применения фетальных клеток в патологии следует признать достаточно успешным. По крайней мере, в литературе представлен большой объем фактических материалов, свидетельствующих о позитивном эффекте действия фетально-клеточной терапии на течение и исходы многих форм патологии организма. В то же время продолжают оставаться весьма актуальными вопросы о механизмах действия рекомендуемого метода лечения.

Учитывая, что в экспериментально-клинических условиях обычно использовались различные виды фетальных клеток (фетальные гепатоциты, тиреоциты, нейроциты), которые непосредственно вводились в пораженный орган, то, соответственно, возникли представления о том, что в механизмах действия указанного метода лечения первостепенное значение имеет их специфическое органотропное действие. Выявленные саногенетические эффекты связывались либо со способностью фетальных клеток имплантироваться и размножаться, обеспечивая устранение признаков дефектов тканей, либо с локальной стимуляцией регенераторных процессов в органе и замещением поврежденных и погибших клеток.

Однако оказалось, что при осуществлении фетально-клеточной терапии может проявляться механизм общего и дистанционного действия. Так, в работе, выполненной Мухаметжановой К.М. (2007), было доказано, что у животных с ожоговой травмой при аппликации взвеси фетальных гепатоцитов (не фибробластов) на поверхности раны, а также при их внутрибрюшинном применении происходило значительное ускорение темпов сокращения площади термического поражения и более раннее полное заживление ожоговой раны. Кроме того, было установлено, что при изолированном введении в брюшную полость различных видов фетальных клеток улучшается течение заболеваний, осложненных развитием синдрома полиорганной недостаточности. Авторы проведенных исследований пришли к важному заключению о том, что при фетотрансплантации более существенную роль играют общие неорганотропные эффекты действия, обусловленные активацией факторов неспецифической, специфической реактивности и резистентности организма, которые усиливают и повышают надежность компенсаторных реакций организма [48]. Причем указанные эффекты, вполне вероятно, связаны с выделением фетальными клетками биологически активных веществ аминокислотной, пептидной, белковой структуры, которые, являясь сигнальными молекулами, регулируют процессы межклеточного взаимодействия, способствуют процессам восстановления нарушенного гомеостаза [93].

В настоящее время работы над изучением особенностей фетальной терапии проводятся в Канаде, США, России, Мексике, Японии, Кубе и других странах. При этом почти 85% из всего используемого материала уже несколько десятилетий успешно применяется в вирусологии и бактериологии. Фетальные ткани являются сырьем для получения стимуляторов, вытяжек, экстрактов, диагностикумов и т. д.

В странах Европы также используют фетальное сырье для получения биопрепаратов. Например, в Германии и Швейцарии уже почти 50 лет успешно применяют лиофилизированные экстракты ксеноорганов. С 1993 года по настоящее время в клиниках России работы с использованием препаратов клеточной тканевой терапии координирует Международный институт биологической медицины, созданный на базе Российского НИИ центра перинатологии, акушерства и гинекологии РАМН.

Известно, что образцы препаратов сердца, печени, селезенки фетуса, а также препаратов плаценты отличаются не только качественным, но и количественным содержанием отдельных фракций пептидов и белков. При этом была разработана система, позволяющая изучать динамику появления отдельных фракций пептидов в процессе развития плода, выделять индивидуальные фракции и изучать их структуру и функции. [94]. Так, в литературе был описан феномен противоопухолевой активности клеток головного мозга эмбрионов новорожденных животных, который определялся биохимической и иммунологической аналогией между супрессорными факторами, продуцируемыми злокачественной опухолью и трофобластом. Установленный факт позволил обсуждать вопрос о возможности использования естественных эмбриональных белковых веществ для противоопухолевой защиты [2].

В результате проведения многосторонних исследований было выявлено, что фетально-клеточный материал содержит большое количество различных биологически активных веществ и цитокинов, таких как фактор роста фибробластов, фактор, стимулирующий рост макрофагальных и эритроидных колоний, инсулиноподобный и эндотелиноподобный факторы роста. Эти вещества активизируют собственные клетки организма реципиента, регулируя их функциональное состояние и взаимодействие, что во многих случаях способствует восстановлению их нормальной жизнедеятельности [95, 96].

Одним из основных компонентов фетальных субстратов является α -фетопротейн (АФП). На ранних стадиях беременности АФП играет защитную роль, подавляя местные иммунные реакции антигенов, синтезирующих его клетки [97]. Этот протеин способствует стимуляции активности других цитокинов, запуская каскад цитокиновых реакций. АФП повышает эффект эпидермального фактора роста, инсулиноподобного ростового фактора и трансформирующего фактора роста альфа. Отмечается его регулирующая роль в метаболизме стероидных гормонов и способность блокировать связывание антител с ацетилхолиновым рецептором, что препятствует развитию экспериментального аутоиммунного заболевания [98, 99].

Учитывая, что в процессе выделения изолированных культур фетальных клеток, в качестве сопутствующего компонента получают супернатант, в котором содержится большое количество веществ белково-пептидной природы, условно названных «медиаторными веществами» фетальных клеток или «клеточными медиаторами», то возникла идея их использования в эксперименте и в клинической практике. Соответственно первый этап исследований был посвящен идентификации

качественного состава, получаемого в процессе приготовления взвесей фетальных клеток супернатанта. Большой вклад в разработку данного направления внесли сотрудники Национального Научно-Медицинского Центра РК. В данном случае использовалась оригинальная методика приготовления взвесей фетальных гепатоцитов и супернатанта из плода после индуцированного выкидыша при прерывании беременности по медицинским и социальным показаниям, в сроках гестации от 16 до 22 недель. При этом оказалось, что в состав «медиаторных веществ» входят белково-пептидные комплексы с молекулярной массой от 7,5 кД до 79 кД, которые включают в себя: ТТГ, ФСГ, ПРЛ, ЛГ, эстрадиол, прогестерон, тестостерон, инсулин), альфа-фетопротеин, факторы роста, пептиды, цитокины, иммуноглобулины, электролиты и др. [96, 11].

В настоящая время проводится широкий круг исследований по экспериментальному обоснованию применения «медиаторных веществ» фетальных клеток при различных вариантах патологии организма. В первую очередь, выявлено отсутствие токсичности и мутагенных свойств данного супернатанта, определены терапевтические дозы препарата, выявлено положительное влияние «медиаторных веществ» на липидный обмен и гемостаз [100, 101, 102, 103]. Сотрудниками КазГМА выявлено, что применение медиаторов при остром и хроническом экспериментальном гепатите способствует сохранению структуры печеночных балок, уменьшению воспалительной реакции, уменьшению явлений некроза [104, 105, 106, 107].

Проведенные серии биохимических и морфологических исследований позволили приблизиться к пониманию механизмов действия супернатанта [108, 109, 110]. Авторы считают, что цитокины, содержащиеся в «медиаторных веществах», такие как ИЛ2, 6, 10, фактор роста фибробластов, васкулоэндотелиальный фактор, ангиогенин, а также гормоны: кортикотропин, пролактин, прогестерон, тестостерон, инсулин, эстрадиол и другие пептиды с биологически активными свойствами, способствуют торможению активности апоптозных процессов. Они стимулируют интенсивность внутриклеточного метаболизма и ферментных систем интерфазных клеток с ускорением инактивации и элиминации токсина, а также способствуют внутриклеточной регенерации в поврежденных тканях. Немаловажным компонентом механизма действия данного супернатанта является способность стимулировать пролиферацию клеток со стволовыми потенциями, активируя процессы клеточной и тканевой регенерации [2, 111, 112].

Выполненные исследования обосновывают иммуномодулирующие, противовоспалительные, репаративные свойства «медиаторов», которые тесно связаны с их антиоксидантным действием. Важная роль отводится мембраностабилизирующему действию «медиаторов» фетальных клеток, что предотвращает явления распространенного цитолиза и обеспечивает увеличение детоксикационного потенциала органов и систем. При этом создаются условия для восстановления синтетических функций печени, подтверждающих наличие гепатопротекторного, иммуномодулирующего, репаративного, антисклеротического и других эффектов «медиаторных веществ» фетальных клеток [107, 113, 114].

В клинических условиях была предпринята попытка исследования эффективности «медиаторных веществ» фетальных клеток для обеспечения стресс-протекции у

пациентов с высоким операционно-анестезиологическим риском. В результате было высказано предположение о том, что «медиаторы» фетальных клеток являются экзогенными аналогами стресс-лимитирующей системы, которые способны модулировать эндокринно-метаболические и системные воспалительные реакции на хирургический стресс-ответ [11]. Кроме того, имеются и другие клинические подтверждения активности «медиаторных веществ» фетальных клеток человека. В работах Ж.А.Доскаalieва с соавт. (2006) доказывается положительное влияние супернатанта фетальных гепатоцитов при различной патологии хирургического профиля [115, 116, 117]. По мнению ряда авторов, данный субстрат обладает достаточно высоким потенциалом, способным усиливать механизмы регенерации тканей и повышать функции систем органов [3, 94, 118, 119].

Таким образом, наличие широкого спектра биологических эффектов фетальных тканей на организм позволяет предположить, что фетально-клеточная терапия, включая применение как изолированных клеток, так и супернатанта, получаемого в процессе приготовления взвесей фетальных клеток, является реальным и достаточно перспективным методом коррекции патологических процессов и связанных с ними нарушений гомеостаза. К сожалению, приходится констатировать, что опыт клинического применения «медиаторных веществ» фетальных тканей несколько опережает возможности экспериментального обоснования, и многие вопросы по изучению механизмов действия фетально-клеточной терапии нуждаются в дальнейшей и безотлагательной разработке и глубоком теоретическом осмыслении. При этом требуется комплексный подход к решению данной проблемы.

Мы полагаем, что экспериментальное обоснование механизмов действия «медиаторных веществ» фетальных клеток невозможно без оценки их влияния на изменение общих реакций организма на повреждение и, в частности, на развитие стресса. С этой точки зрения, представляется актуальным исследование характера воздействия суммарного экстракта биологически активных веществ, выделенных в процессе приготовления взвесей фетальных клеток, на течение различных видов стресса.

Известно, что стрессорные реакции возникают при воздействии на организм различных факторов, в том числе при насильственном обездвиживании (иммобилизации), при гипоксии, при чрезмерных физических нагрузках (особенно после иммобилизации) и множестве других ситуаций, включая психоэмоциональные конфликты [120, 121, 122, 123, 124,].

В развитие теории медицины, бесспорно, огромный вклад внес Г.Селье, с именем которого связано развитие представлений о стрессе. Было достоверно установлено, что любые повреждающие агенты способны вызвать в организме стереотипный неспецифический ответ в виде стимуляции коры надпочечников, атрофии тимико-лимфатического аппарата и изъязвлении желудочно-кишечного тракта. Ведущая роль в развитии стресс-реакции организма отводилась системе гипофиз – кора надпочечников путем изменения продукции гормонов - АКТГ, соматотропного, вазопрессина, гонадотропных гормонов, кортикостероидов. Однако это является лишь звеном значительно более сложного процесса адаптации [125, 126]. Одновременно происходит активизация системы симпатических нервов и мозгового вещества надпочечников. В свою очередь, повышение в крови содержания катехоламинов вызывает дальнейшее усиление активности гипофиза. При этом

системный стресс оценивался как сумма стандартных неспецифических биологических феноменов, возникающих в ответ на различные воздействия и вызывающих формирование общего адаптационного синдрома, который проходит три фазы развития: тревоги, резистентности, истощения. В зависимости от сопутствующих условий синдром адаптации может быть полезным (например, при перекрестной резистентности) или вредным (например, при перекрестной сенсбилизации).

Адаптационный синдром сам по себе не является патологической реакцией, наоборот, это физиологическая реакция на повреждение как таковое, имеющее защитный характер. Однако этот синдром, подобно другим биологическим реакциям, не всегда оказывается оптимально эффективным. Заболевания, при которых неадекватность синдрома адаптации имеет даже большее значение, чем специфический эффект патогенного агента, относятся преимущественно к «болезням адаптации». Воздействие стрессоров нельзя рассматривать как обязательную причину возникновения заболеваний. У человека под влиянием стресса заболевания склонны возникать только как следствие неблагоприятных кондициональных факторов, которые препятствуют адаптационному синдрому развернуться естественным образом.

В ответ на действие факторов, угрожающих благополучию организма или требующих интенсивной мобилизации его адаптационных возможностей со значительным превышением диапазона повседневных, колебаний возникает генерализованная реакция напряжения. В зависимости от характера, силы и продолжительности стрессирующего воздействия, конкретной стрессорной ситуации, исходного состояния организма и его функциональных резервов, течение генерализованной реакции варьирует. В особенности это касается степени вовлечения в процесс межсистемных связей целостного организма, в первую очередь, реализующегося между нервной, гормональной и висцеральными системами организма [127].

Считается, что патологические явления возникают при чрезмерно сильных и/или длительных воздействиях стрессора, приводящих к повреждению, а также при нарушениях работы систем, осуществляющих стресс-реакцию и формирование адаптации [128]. Изменение регуляции стресс-системы, в значительной мере связанное с недостаточностью функций стресс-лимитирующих систем, приводит не только к нарушению реакции организма на стресс, но и к возникновению психических, эндокринных заболеваний, болезней кровообращения, иммунной системы, обмена веществ. В то же время введение медиаторов соответствующих стресслимитирующих систем может корректировать эти нарушения [129, 130].

Бесспорно, что проблема изучения стресса носит более глубокий характер и требует концентрации усилий специалистов из разных областей фундаментальных и прикладных наук.

Однако при обосновании сути настоящей диссертационной работы, мы учитывали основополагающий факт о том, что на стресс организм отвечает включением адаптивных процессов, направленных на нормализацию гомеостаза и сохранение жизнедеятельности организма. В результате нами было высказано следующее предположение: реализация позитивного действия фетально-клеточной терапии

может быть связана с изменением характера протекания общих реакций на повреждение и, в первую очередь, стресс-реакции организма.

Поступивший в организм комплекс биологически активных веществ супернатанта фетальных тканей, по-видимому, способен восстанавливать механизмы нервной и гуморальной регуляции, контроля и обеспечения реакций гомеостаза, что усилит адаптивную направленность изменений при стрессе. Таким образом, мы полагали, что будут получены экспериментальные доказательства наличия у «медиаторных веществ» фетальных тканей антистрессорных свойств, которые могут обосновать их положительный системный неорганоспецифический эффект действия на течение многих форм патологии организма.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Характеристика материалов экспериментального исследования

Эксперименты выполнены на белых беспородных крысах обоего пола с соблюдением всех правил работы с лабораторными животными. Крысы содержались в обычных условиях вивария при температуре 18-20⁰ С по 4-5 крыс в клетке. Доступ к корму и воде ad libitum. Для исследования особи брались натошак. Распределение животных по группам представлено в таблице 1.

Таблица 1- Характеристика экспериментального материала

№ п/п	Название серии	Количество животных
1	2	3
1	Выработка условного рефлекса пассивного избегания: -у интактных крыс; -у крыс с гипоксической гипоксией; -у крыс с иммобилизацией; -у крыс с гипоксической гипоксией на фоне введения «медиаторных веществ»; -у крыс с иммобилизацией на фоне введения «медиаторных веществ».	10 5 5 10 10
2	Исследование состояния периферической крови: -у интактных крыс; -у крыс с гипоксической гипоксией; -у крыс с иммобилизацией; -у крыс с гипоксической гипоксией на фоне введения «медиаторных веществ»; -у крыс с иммобилизацией на фоне введения «медиаторных веществ»;	7 7 13 10 15
3	Исследование биохимических показателей сыворотки крови: - у интактных крыс; - у крыс с гипоксической гипоксией; - у крыс с иммобилизацией; -у крыс с гипоксической гипоксией на фоне введения «медиаторных веществ»; -у крыс с иммобилизацией на фоне введения «медиаторных веществ».	7 10 9 9 10

1	2	3
4	Морфологическое исследование мозга и надпочечников: - у крыс с гипоксической гипоксией; - у крыс с иммобилизацией; - у крыс с гипоксической гипоксией на фоне введения «медиаторных веществ»; - у крыс с иммобилизацией на фоне введения «медиаторных веществ».	5 5 5 5
ИТОГО		157

2.2. Модели хронического иммобилизационного стресса

В ходе выполнения работы по изучению влияния МВ фетальных тканей на течение иммобилизационного стресса нами была усовершенствована применяемая ранее экспериментальная модель, которая основывалась на достаточно жесткой фиксации на операционном столике за конечности и голову животных с помощью повязок [131].

Для моделирования хронического иммобилизационного стресса было предложено использовать устройство собственной разработки, позволившей в течение заданного времени существенным образом ограничить двигательную активность без видимых телесных повреждений животных.

Устройство представляло собой пластиковую конструкцию цилиндрической формы объемом 250 мл, один конец которого имел конусовидную форму. На всей поверхности устройства имелось множество округлых отверстий для создания свободной вентиляции воздуха. После помещения крысы головой в конусовидную часть конструкции, цилиндр плотно закрывался пластиковой крышкой с отверстием для хвоста животного.

На протяжении 5 суток исследований по 6 часов непрерывно осуществляли обездвиживание крыс. Для исключения эффектов, связанных с изменением суточных ритмов, животных подвергали иммобилизации в одно и то же время - в 8 часов утра (рисунок 1).

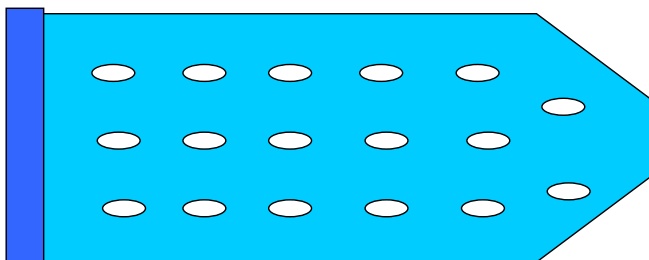


Рисунок 1 – Устройство для моделирования иммобилизационного стресса.

Таким образом, нами предложено простое в техническом отношении и удобное в применении устройство, которое создавало аналогичную модель экспериментального иммобилизационного стресса у лабораторных животных. Преимуществом рекомендуемого метода моделирования являлось исключение

дополнительных компрессионных ишемических повреждений тканей конечностей животных.

2.3. Модель гипоксического стресса

Гипоксический стресс у животных вызывали путем моделирования экзогенной гипобарической гипоксии. Для этого подопытных животных помещали в аппарат Комовского, который представляет собой приточно-вытяжную систему, вместимостью 3500 см³. С помощью аппарата Комовского в течение 1 минуты имитировали подъем животных на высоту 11500 м над уровнем моря со скоростью 107 м/сек и при разрежении атмосферы до 145 мм.рт.ст. Во время снижения барометрического давления фиксировали время появления первых судорог и агонального дыхания. После чего производили компрессию путем постепенного повышения давления в системе.

Для исключения изменений, связанные с суточными колебаниями, опыты также проводились в одно и то же время - в 8 часов утра. [132].

2.4. «Медиаторные вещества» фетальных клеток

При получении взвеси фетальных гепатоцитов в качестве надосадочной жидкости выделяют субстрат, содержащий в себе белково-пептидный комплекс. Условно данную биологическую жидкость обозначают «медиаторы» фетальных клеток или тканей, т.к. до первичного токсикологического исследования постоянного названия она не имела. «Медиаторы» фетальных клеток получали по разработанной в Национальном Научно-Медицинском Центре методике из фетальной печени плода после индуцированного выкидыша при прерывании беременности по медицинским и социальным показаниям, в сроках гестации от 16 до 22 недель (приказ № 685 от 23.05.2002г. Министерства здравоохранения РК).

В литературе имеются данные по изучению клеточного, гормонального, пептидного, цитокинового и др. состава препаратов фетальных тканей человека. Полученные разными авторами данные дают определенные представления о составе фетально-клеточных препаратов, которые необходимо учитывать при экспериментальном и клиническом изучении [96].

Так, по данным Жетимкариновой А.Д. (2008), ферментативная обработка фетальной ткани печени обеспечивает высокую жизнеспособность фетальных клеток, а также способствует выходу значительного объема супернатанта, содержащего биологически активные вещества.

«Медиаторы» - это биомолекулярная масса, отражающая биохимическую специфику, соответствующую здоровой ткани человека. Она содержит гормоны (ТТГ, ФСГ, ПРЛ, ЛГ, эстрадиол, прогестерон, тестостерон, инсулин), альфа-фетопротеин, факторы роста, пептиды, цитокины, иммуноглобулины, электролиты и другие компоненты [11].

В наших опытах при изучении влияния «медиаторов» на течение общих реакций организма на повреждение, к которым относят стресс-реакцию организма, использовали внутрибрюшинный способ введения препарата. При этом за 1 час до ежедневного моделирования иммобилизации и гипоксии, а также с интервалом в 3 дня до 12-х суток после моделирования стресса крысам вводили «медиаторные вещества» фетальных клеток в дозе 0,3 мл/кг [133].

2.5. Биохимические исследования

Биохимические исследования проводились на базе клинико-диагностической лаборатории ННМЦ РК с использованием полианализатора «Flexor vitalab PC AVL» производства Австрии.

Во всех группах в сыворотке крови изучали уровень активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), содержание триглицеридов, холестерина, гамма-глутаматтранспептидазы (ГГТП), общего белка, альбуминов, общего билирубина, показатель тимоловой пробы, креатинин, мочевины и мочевая кислота, амилаза крови и глюкоза.

Изменения биохимических показателей сыворотки крови изучали на 6-й, 9-й и 12-й дни эксперимента.

2.6 Гематологические исследования

Гематологические методы исследования проводились в клинико-диагностической лаборатории городской поликлиники №2 на гематологическом анализаторе «Flexor vitalab PC AVL» производства Австрии.

Во всех группах изучали общее количество лейкоцитов, лимфоцитов, эритроцитов, концентрацию гемоглобина, гематокрит, средний эритроцитарный объем, среднее содержание гемоглобина в эритроците, среднюю эритроцитарную концентрацию гемоглобина, ширину распределения эритроцитов, содержание тромбоцитов. Кроме того, в периферической крови исследовались ретикулоциты - молодые формы эритроцитов, содержащие в своей протоплазме тонкую нитевидную сетчатость или зернистость, которая обычной окраской не выявляется. Выявить эту ретикулярную субстанцию удастся с помощью витальной окраски. Принцип метода заключается в том, что зернисто-сетчатая субстанция молодых эритроцитов видна только при прижизненной окраске, то есть без высушивания и фиксации. В качестве реактива мы использовали азур II по И.А. Алексееву.

Метод окраски. 0,05 мл раствора краски Алексеева помещали в пробирку и добавляли 0,2 мл крови исследуемых животных. Пробирку закрывали и осторожно перемешивали ее содержимое. Через 1-1,5 часа готовили мазки. Ретикулоциты подсчитывали на 1000 эритроцитов, результаты выражали в % [134].

Изучение гематологических показателей осуществлялось на 6-й, 9-й и 12-й дни эксперимента.

2.7. Исследование условно-рефлекторной деятельности

Условный рефлекс пассивного избегания (УРПИ) вырабатывали на основе однократного электрического раздражения по модифицированной методике Bures J., Buresova O. (1963) [135]. Установка состояла из двух смежных камер – большой освещенной (безопасной) площадью 30×30 см и малой, темной камеры площадью 15×15 см с электрифицированным полом. Для выработки рефлекса крысу помещали в светлый отсек хвостом к отверстию в темную камеру. Животное, исследовав большую освещенную камеру, дойдя до отверстия, соединяющего два отсека, проникало в малую. Через 180 с наблюдения проводили обучение: отверстие между камерами закрывали и на пол темного отсека, где находилась крыса, в течение 60 с подавали переменный импульсный ток (20 импульсов в одну

минуту, длительность импульса 10 мс). Сила электрокожного ноцицептивного раздражения из-за индивидуальных различий в пороге реакций животных к току составила от 1 до 5 мА. Коррекцию силы тока производили с учетом выраженности двигательной активности и вокализации животного. Перед последней подачей импульса отверстие открывали, и крыса перебежала в безопасный освещенный отсек, в котором находилась еще 180 с. Прочность выработанного навыка проверяли через 24 ч после обучения.

Через 7 дней после моделирования иммобилизационного и гипоксического стресса у крыс контрольной и опытной групп исследования вырабатывали УРПИ. Критерием выработки рефлекса пассивного избегания после нанесения болевого электрокожного раздражения было пребывание животных в светлом отсеке камеры 80% (144 с) и более от общего времени наблюдения (180 с) [136]. Сохранность энграммы долговременной памяти проверяли в течение 30 суток исследования. УРПИ считался утраченным, если время пребывания в светлом отсеке камеры было меньше критерия выработки УРПИ, соответствовавшего 144 с нахождения в безопасной части экспериментальной камеры. Фиксировали также количество животных с полным сохранением следа памяти.

2.8. Морфологические методы исследования

Патоморфологические исследования проводились на базе ННМЦ. Помощь при проведении морфологических исследований была оказана кандидатом медицинских наук, доцентом зав. отделением патоморфологии ННМЦ - к.м.н. Шармайдановой Г.М.

Изучение срезов тканей коры головного мозга и надпочечников, которые были получены у животных на 6-е, 9-е и 12-е сутки от начала эксперимента. Эвтаназию подопытных животных осуществляли в указанный срок под эфирным наркозом. Ткани животных извлекали во время аутопсии, фиксировали в 10%-ном растворе нейтрализованного мелом формалина. После фиксации материал обезживали в спиртах восходящей концентрации. Дальнейшую обработку и заливку материала в парафин осуществляли по общепринятой патогистологической методике [137,138]. Из парафиновых блоков изготавливали микроскопические срезы толщиной 5-7 микрон и окрашивали гематоксилин-эозином. Микроскопию гистологических препаратов производили на микроскопе Laboval-4 (Carl Zeiss Iena).

2.9. Статистические методы исследования

Результаты исследований обработаны статистически с использованием параметрического t-критерия Стьюдента [139]. Цифровая обработка материала производилась на компьютере (Pentium 4) с помощью набора стандартных программ Microsoft Excel.

3 ВЛИЯНИЕ «МЕДИАТОРНЫХ ВЕЩЕСТВ» ФЕТАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ТЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

3.1 Изменение биохимических показателей крови на фоне применения “медиаторных веществ” фетальных тканей при хроническом иммобилизационном стрессе

Исходя из цели исследования, а также на основании феноменологических (внешних) проявлений различных видов стресса на фоне применения МВ, ex adverso, мы можем судить о механизмах действия на организм суммарных компонентов надосадочной жидкости, сопутствующей приготовлению взвесей фетальных клеток. Согласно выдвинутой нами рабочей гипотезе, полагаем, что комплекс биологически активных веществ, который определяется в супернатанте фетальных тканей, обладает антистрессорным действием. При этом реализация указанных эффектов, вероятно, опосредуется через изменение функций систем контроля, регуляции адаптивных приспособительных реакций организма. Однако высказанное предположение требует выполнения комплексных исследований в данном направлении и нуждается в более детальном обосновании механизмов действия «медиаторов» фетальных клеток в эксперименте. В этой связи представляется актуальным проведение исследований по изучению характера воздействия МВ фетальных тканей на течение стресс-реакции организма, вызванной действием различных этиологических факторов. В свою очередь, полученные результаты позволят решить задачи практического плана, связанные с поиском терапевтических средств, способных восстанавливать функции органов и систем при стрессовых состояниях.

Учитывая нашу позицию о необходимости изучения влияния МВ фетальных тканей на изменение общих реакций организма при повреждении, каковым является стресс, то использование экспериментальной модели хронического иммобилизационного стресса представляется методологически вполне обоснованным.

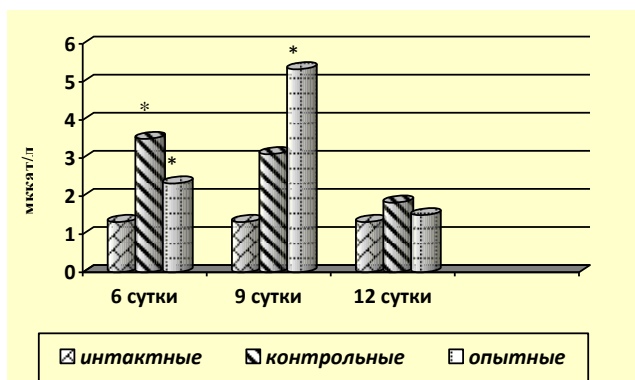
Целью данной серии экспериментов было изучение влияния МВ фетальных тканей на динамику биохимических показателей сыворотки крови экспериментальных крыс после хронического иммобилизационного стресса.

В опытах использовано 26 белых беспородных крыс обоего пола массой 200-220 грамм. Моделирование хронического иммобилизационного стресса осуществлялось по ранее описанной методике с использованием устройства собственной разработки, позволившей в течение заданного времени существенным образом ограничить двигательную активность без видимых телесных повреждений организма животных.

Для проведения исследований экспериментальные животные были разделены на 3 группы: 1-я группа - интактная (n=7); 2-я группа - контрольная с моделированием у животных хронического иммобилизационного стресса (n=9); 3-я группа - опытная с применением у животных с хроническим иммобилизационным стрессом «медиаторов» в дозе 0,3 мл/кг (n=10). В опытной группе крыс на 2-е, 5-е и 8-е сутки после моделирования хронической иммобилизации вводили указанную дозировку МВ. У всех животных для проведения биохимических исследований в сроки, соответствующие 6-м, 9-м и 12-м суткам после иммобилизации, осуществляли забор

крови из хвостовой вены. Результаты исследований представлены на рисунке 2 и в таблице 2.

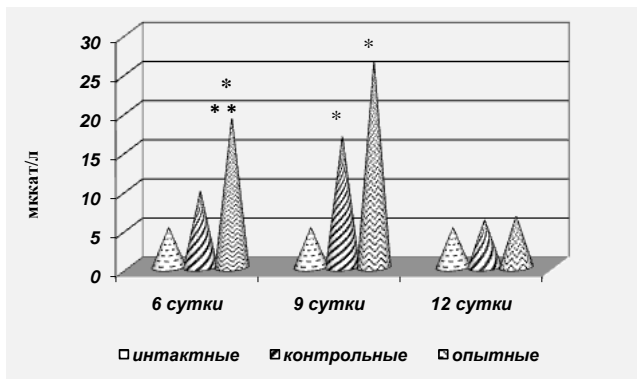
Анализ данных биохимических исследований позволил установить, что в контрольной группе крыс после моделирования стресс-реакции организма, вызванной хронической иммобилизацией в крови, существенным образом изменяется каталитическая активность трансаминазных ферментов АЛТ и АСТ. Если у животных интактной группы уровень активности АЛТ составлял $1,32 \pm 1,00$ мккат/л, то на 6-е и 9-е сутки течения хронического иммобилизационного стресса он был соответственно равным $3,50 \pm 1,44$ мккат/л и $3,10 \pm 1,01$ мккат/л ($p < 0,05$), превышая исходные показатели более чем в 2 раза. Только лишь через 12 суток изучаемый показатель перестал иметь различия по сравнению с исходными данными.



* - достоверность различий в сравнении с интактными животными

Рисунок 2 - Динамика изменений АЛТ в сыворотке крови при иммобилизационном стрессе

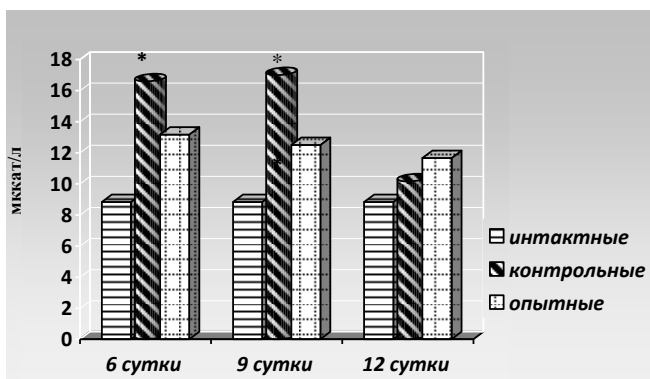
Примерно аналогичная динамика изменений была выявлена со стороны АСТ. Повышение каталитической активности фермента также имело место на 6-е и 9-е сутки постстрессорного периода, когда изучаемый биохимический параметр определялся на уровне $9,66 \pm 3,52$ мккат/л и $16,66 \pm 4,26$ мккат/л против $5,01 \pm 2,35$ мккат/л у интактных животных ($p < 0,05$). К 12-м суткам ферментативная активность АСТ снизилась и уже не отличалась от таковой в группе интактных крыс.



* - достоверность различий в сравнении с интактными животными
 ** - достоверность различий в сравнении с контрольными животными

Рисунок 3 - Динамика изменений АСТ в сыворотке крови при иммобилизационном стрессе

Кроме того, в сыворотке крови контрольных животных (2-я группа) в ходе развития стресс-реакции отмечалось достоверное увеличение уровня активности ЩФ на 6-е и 9-е сутки в 1,8 и 1,9 раза по сравнению с исходными нормативными



* - достоверность различий в сравнении с интактными животными

Рисунок 4 - Динамика изменений ЩФ в сыворотке крови у крыс при иммобилизационном стрессе

данными ($16,60 \pm 3,00$ мккат/л и $17,00 \pm 4,78$ мккат/л против $8,83 \pm 3,76$ мккат/л в группе интактных крыс, $p < 0,05$). Лишь к 12-му дню исследований он снизился до $10,16 \pm 5,68$ мккат/л и достоверно не отличался от показателей нормы.

В контрольной группе при изучении гаммаглутаматтранспептидазы - ГГТП и амилазы, определяемых в сыворотке крови, каких либо заметных колебаний уровня их активности выявлено не было. Без изменений оставалась и тимоловая проба.

Вместе с тем обращало на себя внимание увеличение концентрации билирубина у животных, испытывавших стресс в результате хронической иммобилизации. Причем содержание метаболита превышало нормативные данные на 6-й день эксперимента в 2 раза, а на 9-й в 2,7 раза ($p < 0,05$). Значения изучаемого показателя стали составлять $6,79 \pm 1,10$ ммоль/л и $8,83 \pm 1,04$ ммоль/л соответственно, тогда как у интактных животных оно было равным $3,33 \pm 1,43$ ммоль/л. На 12-й день эксперимента уровень билирубинемии вернулся к исходному.

При проведении экспериментальной терапии хронического иммобилизационного стресса МВ фетальных тканей у опытных животных (3-я группа) были установлены следующие закономерности. Так, применение МВ в соответствующем дозовом режиме и кратностью введения (см. главу «Материалы и методы исследования») обеспечивало сохранение высокого уровня каталитической активности АЛТ. Причем в период с 6-х по 9-е сутки развития иммобилизационного стресса исследуемый параметр превышал контрольные данные (2-я группа) в 1,6 раза ($5,33 \pm 2,79$ мккат/л против $3,10 \pm 1,01$ мккат/л, $p_1 < 0,05$). Однако к 12-м суткам наблюдений различия по данному показателю между интактной и опытной группами нивелировались.

Кроме того, постстрессорный период опытных животных характеризовался существенно более выраженной ферментемией по АСТ. По сравнению с контролем (2-я группа) на 6-й день исследования уровень активности АСТ увеличился в 1,8 раз, а на 9-й день в 1,5 раза ($p_1 < 0,05$) составив $19,00 \pm 4,93$ мккат/л и $26,16 \pm 3,02$ мккат/л соответственно.

У крыс опытной группы на фоне терапии МВ, несмотря на некоторое снижение активности ЩФ по сравнению с контрольной группой, тем не менее, в разные дни проведения исследований ее уровень был выше в 1,4 раза, чем у интактных крыс.

На 6-й день эксперимента содержание билирубина в крови опытных животных не отличалось от данных, полученных в контроле, но было достоверно больше исходных показателей, которые определялись у интактных животных ($6,83 \pm 2,03$ ммоль/л против $3,33 \pm 1,43$, $p < 0,05$). Однако на 9-й день после моделирования иммобилизации на фоне терапии МВ концентрация изучаемого метаболита снизилась в 1,8 раза по сравнению с аналогичным днем исследования в контроле ($p_1 < 0,05$). В дальнейшем уровень билирубинемии не претерпевал каких-либо изменений.

Таблица 2 - Динамика биохимических показателей крови крыс с иммобилизационным стрессом на фоне терапии «медиаторными веществами» фетальных тканей

Изучаемый показатель	Группы исследования/сроки исследования									
	1-я группа n=7	2-я группа, n=9			3-я группа, n=10			9 день	12 день	12 день
		6 день	9 день	12 день	6 день	9 день	12 день			
I	2	3	4	5	6	7	8			
Мочевина ммоль/л	4,65±1,55	5,83±2,52	4,33±0,34	5,16±1,39	5,16±1,22	3,66±0,54	4,50±0,70			
Креатинин ммоль/л	35,50±9,59	31,66±4,60	32,16±2,70	46,16±9,90	30,33±2,20	32,81±3,10	34,47±2,90			
Мочев. к-та ммоль/л	257,5±43,81	290,66±139,70	405,33±90,0	307,00±149,0	264,83±103,0	204,33±81,40	362,33±161,70			
Билирубин ммоль/л	3,33±1,43	6,79±1,10 p<0,05	8,83±1,04 p<0,05	4,32±2,06	6,83±2,03	4,84±0,79	5,25±1,32			
Глюкоза ммоль/л	3,00±0,66	4,0±0,49	3,24±0,44	2,98±0,21	2,51±0,14 p1<0,05	3,7±0,38	2,63±0,1			

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6	7	8
Общий белок г/л	70,50±9,54	78,10±3,32	70,16±7,60 p ₂ <0,05	63,83±5,50 p ₂ <0,001	75,50±4,63	70,33±4,38	72,50±5,73 p ₁ <0,05
Альбумин г/л	29,66±0,85	34,67±9,80	30,00±2,30	29,10±4,09	34,50±3,55 p <0,01	32,66±2,63 p <0,05	33,66±3,40 p <0,05 p ₁ <0,05
Холестерин ммоль/л	1,16±0,42	1,33±0,54	1,16±0,42	1,16±0,42	1,60±0,41	1,33±0,54	1,03±0,53
Триглицериды ммоль/л	0,34±0,17	0,32±0,21	0,51±0,27	0,54±0,16	0,52±0,23	0,83±0,42	1,23±0,34 p <0,05

Примечания:
1 p – достоверность различий в сравнении с интактными животными
2 p₁ – достоверность различий в сравнении с контрольными животными

Анализ результатов опытной группы показал, что на фоне применения МВ у животных опытной группы во все сроки наблюдений концентрация глюкозы не изменялась и оставалась в пределах исходных значений, определяемых у интактных крыс. В то же время по сравнению с контрольными показателями, полученными на 6-е сутки исследования данный параметр оказался ниже на 37,2% ($p_1 < 0,05$).

При изучении показателей липидного обмена было установлено, что уровень холестерина, как в опытной, так и в контрольной группах животных, не отличался от интактных крыс во все дни эксперимента. В то же время при использовании МВ у крыс с иммобилизационным стрессом на 12-й день исследований содержание триглицеридов оказалось больше, чем у интактных животных в 3,6 раз ($p < 0,05$).

Другие показатели, характеризующие биохимический состав крови, такие как мочевины, мочевиная кислота, креатинин, общий белок и альбумин, холестерин, а также амилаза крови и тимоловая проба во всех группах исследования оставались относительно стабильными и достоверно не отличались друг от друга.

Таким образом, использование МВ у крыс с хроническим иммобилизационным стрессом способствовало изменению уровня ферментации с повышением активности, как трансаминазных энзимов со значительным изменением соотношения АЛТ и АСТ в сторону последнего, так и ЩФ в период с 6-го по 9-й день выполнения экспериментов. На фоне терапии МВ у животных опытной группы в более ранние сроки, чем в контроле нормализовывалось содержание билирубина.

3.2 Влияние «медиаторных веществ» фетальных клеток на гематологические показатели крови экспериментальных крыс после иммобилизационного стресса

Известно, что характер и направленность изменений морфологического состава периферической крови несут в себе информацию как о состоянии реактивности, так и о состоянии эндогенных механизмов, обеспечивающих резистентность организма к действию различных патогенных факторов [140]. Гематологические показатели легко доступны для исследования, относятся к числу обязательных для всего контингента больных и не требуют серьезных материальных затрат. Вместе с тем оценка гематологических показателей часто служит дифференциально-диагностическим критерием заболевания, по отклонениям от нормативных показателей можно судить о тяжести развиваемого патологического процесса, о правильности избранной тактики ведения больных и эффективности применяемых лечебных мероприятий.

Исходя из сказанного выше, мы полагали, что проведение подобных исследований являлось обоснованным и позволяло объективизировать результаты опытов. Таким образом, в этой части экспериментов было изучено влияние МВ фетальных тканей на динамику гематологических показателей у животных с иммобилизационным стрессом. Результаты анализировались у интактных (1-я группа, $n=7$), контрольных (2-я группа, $n=13$) и опытных (3-я группа, $n=15$) крыс. Данные лабораторных исследований представлены в таблице 3.

В исследованиях, выполненных в группе животных, которым моделировали хронический иммобилизационный стресс (2-я группа), с 6-го по 12-й день эксперимента выявлялась динамика устойчивого снижения общего количества лейкоцитов.

Таблица 3 - Динамика гематологических показателей крыс с иммобилизационным стрессом на фоне терапии «медиаторными веществами» фетальных тканей

Показатель	1-я группа, n=6	2-я группа, n=13			3-я группа, n=15		
		6 день	9 день	12 день	6 день	9 день	12 день
1	2	3	4	5	6	7	8
Лейкоциты ($10^9/л$)	14,60±1,30	12,16±2,24	11,66±2,06	9,16±1,22 p<0,05	11,50±3,02	8,50±1,28 p<0,05	6,00±1,20 p<0,05 p ₂ <0,05
Лимфоциты ($10^9/л$)	9,83±3,28	7,05±2,20	8,16±1,68	8,31±2,40	8,10±1,48	4,35±1,70 p<0,05 p ₁ <0,05	4,16±1,80 p<0,05 p ₁ <0,05
Эритроциты ($10^{12}/л$)	5,50±0,37	5,81±0,43	5,40±1,45	5,66±0,39	5,33±1,26	4,83±1,43	4,32±1,61
Ретикулоциты (%)	7,83±1,92	8,50±1,45	7,28±1,27	10,35±1,60	9,66±1,08	8,16±3,20	12,50±1,40 p<0,05
Гемоглобин (г/л)	129,33±1,90	133,23±9,57	129,17±17,94	130,16±10,31	132,33±11,24	127,66±15,40	138,32±19,20

Продолжение таблицы 3

1	2	3	4	5	6	7	8
Средний эритроцитарный объем (fl)	48,42±10,32	52,10±2,65	51,16±1,92	53,16±2,92	50,31±2,45	49,66±2,28	50,50±1,10
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (г/л)	21,16±1,03	22,10±5,31	21,50±2,90	20,50±1,10	22,43±2,26	21,50±1,70	35,16±6,16 p<0,05 p1<0,
Эритроцитарная концентрация гемоглобина (p/g)	411,5±5,81	396,83±14,04	408,83±16,24	401,16±14,43	442,83±13,64 p<0,05 p1<0,05	426,35±11,67	443,66±12,69 p<0,05 p1<0,05
Ширина распределения эритроцитов (%)	14,36±1,08	15,49±1,44	14,16±1,22	16,83±1,54	16,34±1,83	16,07±0,93	16,16±0,43
Тромбоциты (10 ⁹ /л)	539,83±132,8 3	513,44±116,4 8	306,33±,107, 53	352,24±120,0 5	501,50±116,3 8	283,11±99,74	325,50±20,25
Примечания:							
1 p – достоверность различий в сравнении с интактными животными							
2 p1 – достоверность различий в сравнении с контрольными животными							

К концу эксперимента количество лейкоцитов уменьшилось с $12,16 \pm 2,24 \times 10^9/\text{л}$ до $9,16 \pm 1,22 \times 10^9/\text{л}$, что было достоверно меньше ($p < 0,05$), чем у животных интактной группы. В то же время содержание лимфоцитов у крыс контрольной группы на этапах развития постстрессового периода не претерпевало существенных изменений и колебалось в пределах $7,05 \pm 2,20 \times 10^9/\text{л}$ – $8,31 \pm 2,40 \times 10^9/\text{л}$ ($p > 0,05$).

Все показатели, характеризовавшие состояние красной крови, не имели существенных отличий в сравнении с таковыми в группе интактных крыс.

Анализ данных, полученных в опытной группе животных, где для лечения иммобилизационного стресса вводили МВ фетальных тканей, позволил выявить признаки развиваемой лейкопении. Если на 6-й день после моделирования стресса общее количество лейкоцитов составляло $11,50 \pm 3,02 \times 10^9/\text{л}$, то на 12-й - $6,00 \pm 1,20 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$; $p_1 < 0,05$). В то же время существенным образом изменился морфологический состав клеток белой крови. Об этом свидетельствовало снижение количества лимфоцитов на 9-й день до $4,35 \pm 1,70 \times 10^9/\text{л}$, а на 12-й день до $4,16 \pm 1,80 \times 10^9/\text{л}$, что было достоверно меньше, чем в обеих группах сравнения ($p < 0,05$ и $p_1 < 0,05$).

Несмотря на то, что в опытной группе в течение всего периода проводимых исследований количество эритроцитов существенным образом не изменялось, тем не менее к 12-му дню эксперимента было отмечено увеличение содержания ретикулоцитов до $12,50 \pm 1,40\%$. Данный показатель превышал результаты, наблюдаемые у крыс интактной группы ($p < 0,05$). Также обращало на себя внимание увеличение значений среднего содержания гемоглобина в эритроците до $35,16 \pm 6,16$ г/л ($p < 0,05$; $p_1 < 0,05$) на 12-е сутки исследования. Вместе с тем было выявлено возрастание эритроцитарной концентрации гемоглобина на 6-е и 12-е сутки развития постстрессорного периода до $442,83 \pm 13,64$ п/г и $443,66 \pm 12,69$ п/г ($p < 0,05$; $p_1 < 0,05$). Из результатов, приведенных в таблице 3, следует, что по показателю ширины распределения эритроцитов все исследуемые группы не имели существенных различий.

Согласно полученным данным, в динамике постстрессорного периода в крови животных как контрольной, так и опытной групп со стороны тромбоцитов выявлялись единообразные изменения, которые сопровождались уменьшением содержания данного вида клеток. Однако при этом установленные изменения не выходили за рамки вариативных показателей нормы.

Таким образом, анализ результатов показал, что к моменту завершения экспериментов, соответствовавшем 12-м суткам наблюдений, у животных, перенесших хронический иммобилизационный стресс, на фоне применения «медиаторных веществ» фетальных тканей со стороны белой крови отмечались признаки умеренно выраженной лейкопении с одновременным изменением морфологического состава периферической крови. Для опытных животных в период с 9-х по 12-е сутки постстрессорного периода стало характерным достоверное уменьшение количества лимфоцитов. Кроме того, применение «медиаторных веществ» способствовало увеличению содержания ретикулоцитов, а также улучшению показателей, свидетельствующих о степени насыщения эритроцитов

гемоглобином. Соответственно это могло свидетельствовать об усилении регенераторной способности костного мозга крыс с иммобилизационным стрессом, для лечения которого использовали МВ фетальных тканей.

3.3. Влияние «медиаторных веществ» фетальных клеток на динамику условного рефлекса пассивного избегания после иммобилизационного стресса

Данная серия экспериментов была посвящена изучению характера воздействия суммарного экстракта биологически активных веществ, выделенных в процессе приготовления взвесей фетальных клеток, на функциональное состояние центральной нервной системы, в частности, коры головного мозга животных при иммобилизационном стрессе. В наших экспериментах для оценки интегративной деятельности животных использовали УРПИ. Выбор данной методики изучения функционального состояния головного был обусловлен не только простотой его исполнения и отсутствием необходимости в технически сложной аппаратуре, но в первую очередь, высокой информативностью регистрируемых параметров условнорефлекторной деятельности. Так, изучение показателей УРПИ позволяет оценить способность животных к обучению, а также к сохранению и воспроизведению ранее приобретенных навыков рефлекторной деятельности, что дает возможность судить о состоянии когнитивной функции мозга и других проявлениях интегративной деятельности ЦНС.

Для проведения исследований экспериментальные животные были разделены на 3 группы: 1-я группа - интактная (n=15); 2-я группа - контрольная с моделированием у животных хронического иммобилизационного стресса (n=5); 3-я группа - опытная с применением у животных с хроническим иммобилизационным стрессом «медиаторных веществ» в дозе 0,3мл/кг (n=5).

Выработку условного рефлекса пассивного избегания у крыс контрольной и опытной групп впервые начинали через 7 суток после прекращения действия факторов хронического иммобилизационного стресса. Данные проведенных опытов представлены на рисунке 5 и таблице 4.

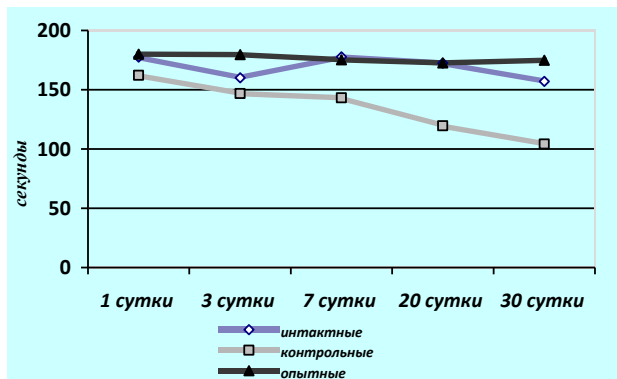


Рисунок 5 - Динамика изменения УРПИ у крыс, перенесших иммобилизационный стресс

Анализ результатов показал, что у интактных животных (1-я группа) через сутки после нанесения электрошокового раздражителя время пребывания животных в светлом отсеке камеры существенно превышало фоновые показатели ($177,5 \pm 7,43$ с, $p < 0,05$). Кроме того, оно оказалось достоверно больше 144 с, принятых нами в качестве критерия выработки рефлекса. Полученные данные свидетельствовали об успешной выработке интактными крысами УРПИ. Дальнейшие наблюдения позволили установить, что длительность сохранения навыка пассивного избегания составляла 30 и более дней, то есть полного угасания рефлекса не произошло в течение заданного периода исследований. Во все исследуемые дни обученные крысы демонстрировали показатели, превышавшие критерий выработки рефлекса, равный 144 с. В данной группе регистрировалось наибольшее число крыс с максимальным временем пребывания (180 с) в светлом отсеке камеры. Так, начиная с 1-го дня и до конца наблюдений после проведенной процедуры обучения количество крыс, полностью воспроизводивших УРПИ, колебалось от 90% до 60%.

Таблица 4 - Количество крыс, полностью воспроизводивших рефлекс пассивного избегания после хронической иммобилизации на фоне терапии «медиаторными веществами» фетальных тканей

Исследуемые группы, n- количество крыс	Количество крыс, полностью воспроизводивших рефлекс пассивного избегания (%) / сроки наблюдений (сутки)							
	1-е	2-е	3-и	5-е	7-е	15-е	25-е	30-е
1-я группа – интактная, n=15	90%	80%	80%	80%	90%	77%	60%	70%
2-я группа – контрольная, n=5	20%	-	-	-	-	-	-	-
3-я группа – опытная, n=5	80% p<0,05	60% p<0,05	40%	20%	20%	20%	40%	40%
Примечание: p - достоверность различий по сравнению с контролем								

У животных контрольной группы (2-я), подвергшихся хронической иммобилизации, было выявлено, что уже на 7-е сутки после проведения процедуры обучения время пребывания в светлом отсеке камеры было достоверно меньше, чем у интактных крыс. Начиная с 10-го дня наблюдений крысы контрольной группы перестали воспроизводить навык пассивного избегания. В исследуемый период длительность нахождения в освещенной части камеры стала составлять $138,80 \pm 11,44$ с, что было меньше 144-секундного критерия выработки рефлекса. Кроме того, в данной группе значительно уменьшилось количество животных, полностью воспроизводивших навык пассивного избегания ($p < 0,05$). Лишь только 20% крыс на 1-е сутки после обучения оказались способными в течение 180 секунд пребывать в безопасной части экспериментальной установки. В другие сроки наблюдений таких животных не выявлялось вовсе.

В опытной группе животных (3-я группа) применение МВ оказало благоприятное действие на процессы формирования и сохранения энграммы долговременной памяти. Так, на протяжении всего периода исследований животные успешно воспроизводили УРПИ. При этом время пребывания в светлой части экспериментальной установки оказалось выше показателя, характеризующего выработку рефлекса пассивного избегания. По сравнению с контрольной группой животные из опытной группы в безопасном отсеке камеры проводили достоверно больше времени на 1-й, 15-й, 20-й, 25-й и 30-й день наблюдений. Использование МВ также способствовало увеличению количества крыс, полностью воспроизводивших УРПИ. В разные периоды наблюдений этот показатель изменялся от 80% до 20%, достоверно превышая данные, полученные в контроле ($p < 0,05$).

Таким образом, результаты проведенных экспериментов показали, что применение «медиаторных веществ» фетальных клеток способствовало как улучшению процессов выработки и воспроизведения, так и увеличению сроков сохранения УРПИ, что служило свидетельством нормализации когнитивных функций ЦНС у животных, подвергшихся хроническому иммобилизационному стрессу. Можно предположить, что реализация указанных эффектов, вероятно, связана с общей активизацией функций головного мозга под влиянием дополнительных стимулов, обусловленных введением МВ фетальных тканей. В свою очередь, это обеспечивало улучшение состояния систем контроля и регуляции адаптивных реакций организма в ЦНС.

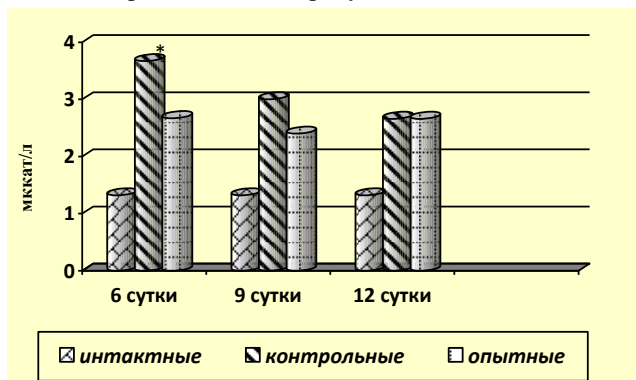
4 ВЛИЯНИЕ «МЕДИАТОРНЫХ ВЕЩЕСТВ» ФЕТАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ТЕЧЕНИЕ СТРЕССА, ВЫЗВАННОГО ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПОКСИЕЙ

4.1. Влияние «медиаторных веществ» фетальных клеток на динамику биохимических показателей крови животных после гипоксического стресса

В настоящих исследованиях была использована другая модель стресса, обусловленная действием на организм животных факторов гипобарической гипоксии. Мы полагали, что проведение данной серии экспериментов позволит уточнить характер влияния МВ фетальных тканей на изменение общих реакций организма на повреждение, к которым относится развитие стресса.

В опытах было использовано 26 белых беспородных крыс, разделенных на 3 группы исследования. Из них 1-я группа была представлена интактными крысами (7 крыс). 2-ю группу – контрольную - составили животные, у которых моделировали гипоксическую гипоксию по ранее описанной методике (10 крыс). 3-я группа - опытная - состояла из животных, которым на фоне гипоксического стресса внутривенно вводили МВ фетальных тканей МВ с принятой в наших экспериментах дозой и кратностью используемого препарата (9 крыс).

Для более системного исследования характера влияния МВ фетальных тканей на особенности метаболизма животных нами проведено изучение биохимических показателей крови в разные сроки после перенесенного гипоксического стресса. Результаты исследований представлены на рисунке 6 и в таблице 5.

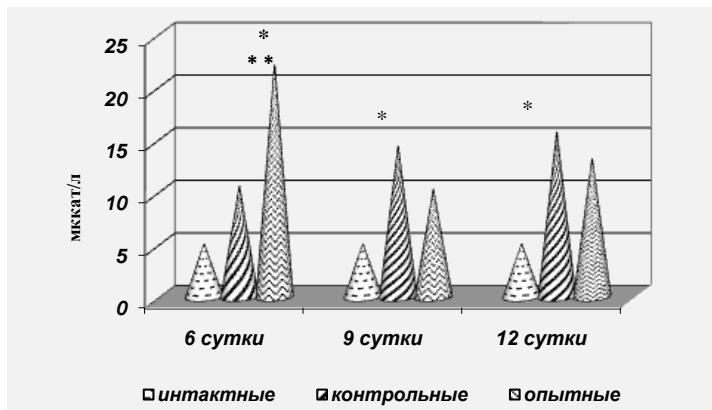


* - достоверность различий в сравнении с интактными животными

Рисунок 6 - Динамика изменений АЛТ в сыворотке крови при гипоксическом стрессе

Анализ результатов, прежде всего, позволил установить повышение уровня трансаминазной активности крови животных контрольной группы. Оказалось, что после моделирования гипоксического стресса значения АЛТ стали превышать

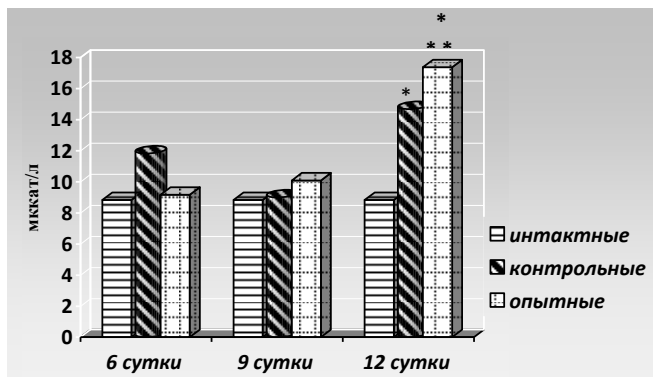
исходные данные в 2-2,5 раза. При этом пиковый уровень ферментемии по АЛТ определялся на 6-е сутки проведения исследований ($3,67 \pm 0,54$ мккат/л, $p < 0,05$). Параллельно с выявленными изменениями отмечалось прогрессирующее нарастание ферментативной активности АСТ. В период с 6-х по 12-е сутки наблюдений значения исследуемого показателя изменились от $10,50 \pm 4,07$ мккат/л до $15,66 \pm 3,61$ мккат/л и были в 2-3 раза выше ($p < 0,05$), чем у интактных животных.



- * - достоверность различий в сравнении с интактными животными
- ** - достоверность различий в сравнении с контрольными животными

Рисунок 7 - Динамика изменений активности АСТ в сыворотке крови при гипоксическом стрессе

Кроме того, у крыс контрольной группы выявлялось повышение активности ЩФ, которое приобрело характер достоверного к 12-м суткам наблюдений. При этом значения исследуемого параметра были выше, чем у интактных крыс, и составляли $14,68 \pm 0,46$ мккат/л ($p < 0,05$).



* - достоверность различий в сравнении с интактными животными
 ** - достоверность различий в сравнении с контрольными животными

Рисунок 8 - Динамика изменений ЩФ в сыворотке крови при гипоксическом стрессе

Изучение энзимограмм животных опытной группы, в которой с терапевтической целью внутрибрюшинно вводили МВ фетальных тканей, позволило установить следующий факт. Активность АЛТ на протяжении всего периода наблюдений имела относительно стабильный уровень и находилась в пределах от $2,67 \pm 0,16$ мккат/л до $2,40 \pm 0,45$ мккат/л.

Таблица 5- Динамика биохимических показателей крови крыс после гипоксического стресса на фоне терапии «медиаторными веществами» фетальных тканей

Изучаемый показатель	Группы исследования/сроки исследования									
	1-я группа n=7			2-я группа, n=9			3-я группа, n=10			
	6 день	9 день	12 день	6 день	9 день	12 день	6 день	9 день	12 день	12 день
I										
Мочевина ммоль/л	4,65±1,55	5,16±1,22	4,00±0,92	5,33±1,08	5,16±1,22	4,00±0,92	7,10±1,48 p<0,05	7,30±1,32 p<0,05	7,30±1,32 p<0,05	3,66±0,85
Креатинин ммоль/л	35,50±9,59	29,33±5,48	35,83±1,22	27,50±2,63 p<0,05	29,33±5,48	35,83±1,22	29,33±2,26	28,33±2,79	28,33±2,79	34,5±6,98
Мочев. к-та ммоль/л	257,5±43,81	219,5±103,30	151,16±15,40 p<0,05	169,66±22,80 p<0,05	219,5±103,30	151,16±15,40 p<0,05	215,0±73,54	188,66±53,52	188,66±53,52	162,83±22,41 p<0,05
Билирубин ммоль/л	3,33±1,43	2,50±0,57	3,83±1,39	8,83±0,42 p<0,05	2,50±0,57	3,83±1,39	7,08±1,40 p<0,05	2,16±1,03	2,16±1,03	4,34±1,07
Глюкоза ммоль/л	3,00±0,66	3,2±0,93	2,01±0,32	7,21±1,87 p<0,05	3,2±0,93	2,01±0,32	3,83±0,42 p<0,05	2,83±0,42	2,83±0,42	2,75±1,03

Продолжение таблицы 5

1	2	3	4	5	6	7	8
Общий белок г/л	70,50±9,54	71,00±7,82	74,3±4,03	57,83±3,34	72,83±5,28	70,83±9,34	62,33±5,50
Альбумин г/л	29,66±0,85	28,67±3,09	29,83±1,29	29,5±1,72	30,0±3,31	28,1±4,3	31,33±3,01
Холестерин ммоль/л	1,16±0,42	1,00±0,50	1,23±0,61	1,10±0,43	2,30±0,74	1,83±0,42	1,00±0,52
Триглицериды ммоль/л	0,34±0,17	0,50±0,37	1,00±0,22 p<0,05	1,00±0,31 p<0,05	0,50±0,32	0,66±0,43	0,83±0,42
Амилаза (u/l)	30,0±7,24	41,5±2,54	28,16±2,77	21,33±3,16	36,5±11,45	31,33±8,28	29,66±4,43
Тимоловая проба (ед)	1,16±0,79	1,66±0,54	2,50±0,87	1,32±0,54	1,65±0,85	1,51±0,57	1,21±0,43
Примечания:							
1 p – достоверность различий в сравнении с интактными животными							
2 p1 – достоверность различий в сравнении с контрольными животными							

В то же время выявлялось более значительное повышение каталитической активности АСТ.

Так, на 6-е сутки наблюдений показатель АСТ-емии опытных крыс соответствовал $22,02 \pm 3,82$ мккат/л и превосходил данные, полученные у интактных животных в 4,4 раза ($p < 0,05$), а группы контроля - в 2,1 раза ($p_1 < 0,05$). Кроме того, по сравнению с контролем МВ способствовали увеличению уровня активности ЩФ к 12-м суткам на 18-20% ($17,37 \pm 1,20$ мккат/л, $p_1 < 0,05$).

В настоящем эксперименте, как и в предыдущей серии опытов, посвященной изучению влияния МВ на течение иммобилизационного стресса, каких-либо заметных изменений со стороны ГГТП, амилазы сыворотки крови и тимоловой пробы обнаружено не было.

При изучении других параметров, отражающих состояние обменных процессов в организме животных после перенесенной гипоксической гипоксии в режиме хронического воздействия, была выявлена общая тенденция к уменьшению уровня образования мочевой кислоты. Соответствующие показатели урикемии были в 1,5-1,7 раза ниже, чем в группе условно здоровых крыс ($p < 0,05$). Эти различия носили достоверный характер на 6-й и 12-й день исследования в контрольной группе и на 12-й день - в опытной.

Во всех группах исследований по содержанию креатинина крови существенной динамики изменений не обнаруживалось.

За весь период проводимых наблюдений у животных контрольной и опытной групп содержание общего белка и белковых фракций крови, в частности, альбумина также не претерпело существенных изменений. Между тем при анализе данных, характеризующих конечные этапы белкового обмена организма в группе животных, где использовались МВ фетальных тканей, отмечалось существенное увеличение уровня мочевины крови, которое достоверно превышало исходные показатели, зарегистрированные у интактных крыс ($p < 0,05$). Содержание изучаемого метаболита на 6-й и 9-й день выполнения опытов стало соответствовать значениям, равным $7,10 \pm 1,48$ ммоль/л и $7,30 \pm 1,32$ ммоль/л.

Из результатов, представленных в таблице, следовало, что применение МВ не оказывало своего влияния на обмен желчных пигментов у животных, перенесших гипоксический стресс. Как в контрольной, так и в опытной группах на 6-й день проводимых исследований уровень билирубинемии превышал показатели интактных животных в 2-2,6 раза ($p < 0,05$). В последующие дни в обеих группах концентрация общего билирубина снизилась и стала определяться в границах установленной нормы.

После моделирования стресс-реакции организма, обусловленной воздействием факторов гипоксической агрессии, на у животных контрольной группы на 6-й день проведения экспериментов был установлен факт кратковременного повышения уровня гликемии до $7,21 \pm 1,87$ ммоль/л. При этом содержание глюкозы крови оказалось в 2,4 раза выше, чем у интактных крыс ($p < 0,05$). Вместе с тем на фоне применения МВ у животных опытной группы в аналогичные сроки наблюдений

концентрация глюкозы не изменялась и оставалась в пределах исходных значений, определяемых у интактных крыс.

Согласно результатам, полученным в наших опытах, ни одна из сравниваемых групп не отличалась друг от друга по содержанию холестерина крови. Однако в контрольной группе в период с 9-го по 12-й день исследования было отмечено повышение уровня триглицеридов крови в 3 раза ($p < 0,05$) по сравнению с данными интактной группы. При использовании МВ фетальных тканей в опытной группе этот показатель был стабильно ниже и не имел достоверных различий по сравнению с исходными показателями, которые были зарегистрированы у здоровых крыс.

Таким образом, «медиаторные вещества» фетальных клеток, используемые при стрессе, обусловленном действием факторов гипобарической гипоксии, в первую очередь оказывают влияние на формирование характерной динамики ферментемии. Это проявилось изменением соотношения трансаминазных ферментов со значительным превышением активности АСТ по сравнению с АЛТ, а также увеличением каталитической активности ЩФ к моменту завершения наблюдений. Кроме того, у животных опытной группы отмечалось повышение уровня мочевины крови. Вместе с тем использование МВ фетальных тканей способствовало нормализации обмена глюкозы и содержания триглицеридов.

4.2. Влияние «медиаторных веществ» фетальных клеток на динамику гематологических показателей животных после гипоксического стресса

Задача выполненной серии опытов состояла в изучении влияния «медиаторных веществ» фетальных клеток на динамику качественных и количественных изменений гематологических показателей животных, у которых моделировали стресс, обусловленный действием факторов экзогенной гипобарической гипоксии. Учитывая, что кровь является той средой, где в первую очередь возникают изменения, характеризующие как степень выраженности повреждений, так и направленность патогенетических и саногенетических механизмов, то проведение настоящих исследований нам представлялось вполне обоснованным и необходимым.

Анализ гематологических показателей был проведен на животных, разделенных на 3 группы исследования. 1-я группа была представлена интактными крысами (7 крыс). 2-я группа – контрольная, состояла из животных, которым моделировали гипоксическую гипоксию (7 крыс). 3-я группа – опытная, где животным на фоне гипоксического стресса вводили МВ фетальных тканей по апробированной нами в других экспериментах методике (10 крыс). Всего было использовано 24 белых беспородных крыс. Результаты опытов представлены в таблице 6.

Изучение данных, полученных в ходе выполнения настоящих исследований, показало, что наиболее существенные изменения отмечались со стороны клеток белой крови. Так, в контрольной группе крыс на 6-е сутки после моделирования стресса, вызванного дозированным и многократным воздействием на организм факторов гипоксической гипоксии, выявлялись признаки абсолютного лейкоцитоза. В этот период общее количество лейкоцитов крови было равным $21,35 \pm 0,42 \times 10^9/\text{л}$, что было достоверно больше, чем у интактных крыс ($p < 0,05$). В последующем содержание лейкоцитов крови критически снижалось, и на 9-е сутки проведения экспериментов оно стало составлять $9,93 \pm 0,94 \times 10^9/\text{л}$. При этом общее число лейкоцитов крови оказалось существенно меньшим, чем в группе интактных животных ($p < 0,05$). Однако к 12-м суткам изучаемый показатель уже перестал иметь различия с нормативными данными, которые были определены у интактных крыс ($12,90 \pm 0,46 \times 10^9/\text{л}$ против $14,60 \pm 0,90 \times 10^9/\text{л}$, $p > 0,05$). Вместе с тем на фоне установленных изменений у крыс контрольной группы на 6-е сутки исследований обнаруживались явления абсолютной лимфоцитопении. При этом количество лимфоцитов крови составляло $6,86 \pm 0,55 \times 10^9/\text{л}$ и было достоверно меньше показателей нормы ($p < 0,05$). В дальнейшем количество лимфоцитов крови несколько увеличивалось, хотя на 12-е сутки исследований оно по-прежнему оставалось ниже ($7,83 \pm 0,67 \times 10^9/\text{л}$, $p < 0,05$), чем у животных 1-й группы.

Таблица 6- Динамика гематологических показателей крыс с гипоксическим стрессом на фоне терапии «медиаторными веществами» фетальных тканей

Показатель	1-я группа, n=7		2-я группа, n=7			3-я группа, n=10		
			6 день	9 день	12 день	6 день	9 день	12 день
1		2	3	4	5	6	7	8
Лейкоциты (10 ⁹ /л)	14,60±0,90	21,35±0,42 p<0,05	6,86±0,55 p<0,05	8,70±1,10	7,83±0,67 p<0,05	14,30±3,09 p ₃ <0,05	11,18±2,08	12,20±1,65
Лимфоциты (10 ⁹ /л)	9,83±0,63	6,15±0,24	6,02±0,12	8,70±1,10	7,83±0,67 p<0,05	4,57±1,10 p<0,05	5,20±0,97 p<0,05 p ₁ <0,05	7,77±1,59
Эритроциты (10 ¹² /л)	5,96±0,11	6,15±0,24	6,02±0,12	6,02±0,12	6,00±0,24	5,21±0,24	5,96±0,32	6,95±0,33 p<0,05 p ₁ <0,05
Ретикулоциты % ₀	7,83±0,92	9,26±0,62	10,96±0,49 p<0,05	10,96±0,49 p<0,05	6,36±0,98	7,18±0,37	8,26±1,71	11,24±0,17 p<0,05 p ₁ <0,05
Гемоглобин г/л	129,33±1,90	122,5±2,84	127,0±1,34	127,0±1,34	126,33±6,9 3	116,33±8,7 9	117,5±5,88	131,66±1,90
Средний эритроцитарный объем (fl)	52,82±1,21	55,00±0,63	51,13±0,49	51,13±0,49	50,93±1,26	49,58±0,95 p ₁ <0,05	48,93±0,83 p ₁ <0,05	50,50±0,66

Продолжение таблицы 6

1	2	3	4	5	6	7	8
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (г/л)	21,76±0,39	20,30±0,56	21,00±0,31	19,35±0,72	20,45±0,75	19,96±0,42	20,90±0,42
Эритроцитарная концентрация гемоглобина (p/g)	411,4±2,27	396,50±14,23	411,00±9,67	392,00±19,60	402,00±6,46	406,80±3,00	398,00±5,68
Ширина распределения эритроцитов (%)	14,32±0,54	13,45±0,72	13,86±0,20	14,07±0,46	14,06±0,76	14,41±0,79	13,98±0,51
Тромбоциты (10 ⁹ /л)	539,83±132,83	475,24±113,38	396,42±104,75	415,98±119,73	483,61±106,83	465,33±109,54	374,87±85,25
Примечания:							
1 p – достоверность различий в сравнении с интактными животными							
2 p1 – достоверность различий в сравнении с контрольными животными							

В 3-й группе животных при использовании МВ фетальных тканей была выявлена иная картина изменений лейкоцитарного состава периферической крови. На всех этапах проводимых исследований общее количество лейкоцитов не отличалось от данных, полученных в группе интактных крыс. В то же время по сравнению с исходными показателями у опытных крыс на 6-е и 9-е сутки исследований достоверно снизилось число лимфоцитов до значений $4,57 \pm 1,10 \times 10^9/\text{л}$ и $5,20 \pm 0,97 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$). Установленные изменения морфологического состава периферической крови были характерны для развития относительной лимфоцитопении.

Анализ результатов также показал, что у крыс контрольной и опытной групп в постгипоксическом периоде отмечалась тенденция к увеличению кислородной емкости крови. Об этом свидетельствовали признаки формируемого вторичного эритроцитоза. При этом у животных контрольной группы на 9-е сутки исследований было отмечено достоверное возрастание количества ретикулоцитов до $10,96 \pm 0,49\%$ ($p < 0,05$). Однако содержание эритроцитов, количество гемоглобина в единице объема крови, показатели степени насыщения гемоглобином эритроцитов, объем и ширина распределения эритроцитов во все изучаемые сроки существенно не изменялись по сравнению с исходными данными.

Между тем после применения МВ фетальных тканей в опытной группе животных (3-я группа) к моменту завершения экспериментов содержание эритроцитов крови стало составлять $6,95 \pm 0,33 \times 10^{12}/\text{л}$, что превышало аналогичный показатель интактных и контрольных животных ($p < 0,05$ и $p_1 < 0,05$). Кроме того, у крыс из данной группы на фоне проводимой терапии выявлялся более выраженный ретикулоцитоз. Так, на 12-й день наблюдений процентное содержание предшественников зрелых эритроцитов равнялось $11,24 \pm 0,17\%$. Это было больше показателей, зарегистрированных в группах сравнения ($p < 0,05$ и $p_1 < 0,05$). Другие параметры, характеризующие физико-химические свойства клеток красной крови (ширина распределения эритроцитов, среднее содержание гемоглобина в эритроците, эритроцитарная концентрация гемоглобина), а также концентрация гемоглобина в единице объема крови оставались без изменений. Исключение составил лишь показатель среднего эритроцитарного объема, который на 6-е, 9-е сутки исследований стал меньше, чем у крыс контрольной группы, составляя $49,58 \pm 0,95 \text{ fl}$ и $48,93 \pm 0,83 \text{ fl}$ против $55,00 \pm 0,63 \text{ fl}$ и $51,13 \pm 0,49 \text{ fl}$ ($p_1 < 0,05$).

Наконец, при моделировании гипоксического стресса и применении у таких животных МВ фетальных тканей нарушений со стороны тромбоцитов не было установлено.

Таким образом, из результатов выполненных экспериментов следует, что в контрольной группе животных при хроническом воздействии факторов гипоксической гипоксии возникали характерные изменения со стороны клеток белой крови. Так, если в ранние сроки после моделирования хронического гипоксического стресса развивался абсолютный лейкоцитоз, то на последующих этапах течения постстрессорного периода общее количество лейкоцитов крови, напротив, критически снижалось, и на этом фоне были зарегистрированы явления

абсолютной лимфоцитопении. С нашей точки зрения, подобные нарушения со стороны белой крови следует расценивать как выраженную патогенную реакцию организма, возникшую на действие факторов хронической экзогенной гипоксии. Наряду с этим, как закономерный ответ организма на гипоксию, у животных данной группы определялись признаки повышения эритропоэтической функции костного мозга. Об этом свидетельствовала тенденция к повышению содержания эритроцитов крови и достоверное увеличение числа ретикулоцитов на 9-е сутки исследования.

В то же время использование МВ фетальных тканей в опытной группе способствовало модификации ответных реакций с стороны клеток периферической крови. При этом было установлено, что общее количество лейкоцитов существенно не отличалось от показателей интактной группы крыс и оставалось стабильным на протяжении всего периода проводимых исследований. Вместе с тем изменилось соотношение форменных элементов крови с развитием лимфоцитопении, которая имела относительный характер. Выявляемый в данной группе ретикулоцитоз и вторичный эритроцитоз оказался значительно более выраженным, чем в контроле. В свою очередь, это позволило нам высказать предположение о том, что МВ фетальных тканей повышали регенераторную функцию костного мозга, усиливая адаптационные возможности и восстановительные реакции организма при действии стрессора гипоксической природы. Отсутствие изменений со стороны тромбоцитов крови мы расцениваем в качестве позитивного факта, в противном случае, при проведении терапии МВ можно было бы ожидать развития гемостазиологических нарушений.

4.3 Влияние «медиаторных веществ» фетальных клеток на динамику условного рефлекса пассивного избегания у крыс после гипоксического стресса

При комплексной оценке характера влияния МВ фетальных тканей на изменение общих реакций организма при повреждении нам представлялось важным исследовать динамику показателей условнорефлекторной деятельности животных, перенесших хроническую гипоксию. Мы полагали, что в этом случае могут быть установлены закономерности, которые обосновывали бы возможность и целесообразность применения МВ фетальных тканей при стрессовых состояниях. Учитывая, что ЦНС является наиболее чувствительной к действию гипоксии, то изучаемые параметры условнорефлекторной деятельности могут служить достаточно чувствительными индикаторами для определения эффективности используемого метода терапии.

В данной части исследований изучение интегративной деятельности крыс после моделирования хронической экзогенной гипобарической гипоксии осуществлялось также с помощью условного рефлекса пассивного избегания. Общее условие при проведении настоящих исследований состояло в том, что у крыс контрольной и опытной групп условные рефлексы впервые начинали вырабатывать через 7 суток после прекращения действия факторов гипоксической агрессии. Функциональное состояние коры головного мозга экспериментальных животных оценивалось по их

способности к выработке, сохранению и воспроизведению ранее приобретенных навыков рефлекторной деятельности, основанных на эмоционально-негативном (электроболевым) подкреплении. Критерием выработки и сохранения рефлекса пассивного избегания было пребывание животных в светлом отсеке камеры 80% (144 с) и более от общего времени наблюдения (180 с). Продолжительность наблюдений составляла 30 суток. УРПИ считался утраченным, если время пребывания в светлом отсеке камеры было меньше 144 с нахождения в безопасной части экспериментальной камеры. В различные сроки проведения исследований также учитывалось количество животных, пребывавших в безопасной части камеры в течение 180 секунд, то есть полностью воспроизводивших рефлекс пассивного избегания.

В опытах было использовано 25 белых беспородных крыс. При этом 1-ю группу составили интактные крысы (n=10). 2-я группа – контрольная - была представлена крысами (n=5), которым моделировали хроническую гипоксическую гипоксию. 3-я группа - опытная (n=10), в которой для экспериментальной терапии гипоксического стресса МВ фетальных тканей вводили по методике, подробно представленной в главе «Материалы и методы». Результаты исследований представлены на рисунке 9 и в таблице 7.

Анализ данных, полученных при выполнении настоящей серии экспериментов, свидетельствовал о том, что способность к приобретению навыков условнорефлекторной деятельности у животных контрольной группы (2-я группа) сохранялась. Несмотря на то, что время пребывания в безопасной части камеры было меньше, чем в группе интактных крыс, тем не менее оно оказалось больше критерия выработки рефлекса, равного 144 с ($p < 0,05$). Так, через 24 часа после нанесения электроболевого стимула животные находились в светлом отсеке установки $159,40 \pm 7,15$ с.

У крыс контрольной группы признаки угасания УРПИ были отмечены уже на 3-и сутки наблюдений, когда время пребывания в светлой части камеры стало соответственно составлять $104,80 \pm 5,81$ с. Изучаемый показатель был достоверно меньше, чем у интактных животных в аналогичный период исследования ($p < 0,05$), а кроме того, он оказался ниже порогового критерия выработки рефлекса.

Из результатов, полученных в наших опытах, следовало, что при использовании МВ фетальных тканей значительно улучшались практически все показатели, характеризовавшие условнорефлекторную деятельность крыс, которые были подвержены действию факторов экзогенной гипобарической гипоксии. При этом животные проводили в безопасной части камеры больше времени, чем контрольные крысы (2-я группа) начиная с первого дня и до конца исследований.

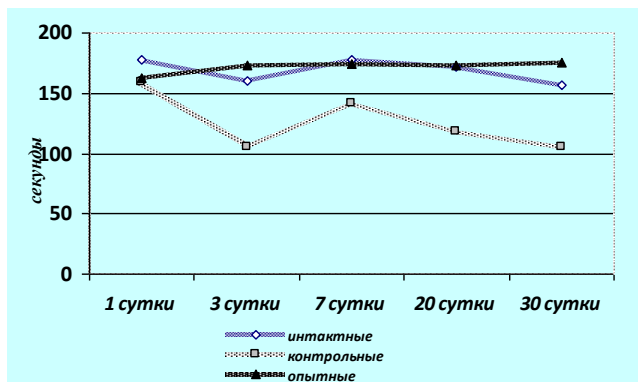


Рисунок 9 - Динамика изменений УРПИ при гипоксическом стрессе

Достоверные различия между сравниваемыми группами по данному показателю были зарегистрированы на 3-и, 15-е, 25-е и 30-е сутки наблюдений ($p < 0,05$). Лишь дважды за весь период проведения экспериментов крысы из указанной группы находились в светлой части камеры меньше критерия выработки рефлекса, равного 144. Эти эпизоды совпадали с 7-ми и 20-ми сутками исследований.

Кроме того, МВ фетальных тканей оказали положительное влияние и на увеличение количества крыс, полностью воспризводивших рефлекс пассивного избегания. Если в контрольной группе через 24 часа после выработки рефлекса количество крыс, способных находиться в светлой части камеры в течение 180 с, составляло 20%, то в опытной группе таких животных было в 2 раза больше.

На последующих этапах проведения экспериментов крысы контрольной группы утратили способность полностью воспризводить навык пассивного избегания. В то же время в опытной группе изучаемый показатель в текущие сроки наблюдений изменялся от 20% до 60%.

Таблица 7. Количество крыс, полностью воспроизводивших рефлекс пассивного избегания в постгипоксическом периоде на фоне применения «медиаторных веществ» фетальных тканей

Исследуемые группы, n- количество крыс	Количество крыс, полностью воспроизводивших рефлекс пассивного избегания (%) / сроки наблюдений (сутки)							
	1-е	2-е	3-и	5-е	7-е	15-е	25-е	30-е
1-я группа – интактная, n=10	90%	80%	80%	80%	90%	77%	60%	70%
2-я группа – контрольная, n=5	20%	-		-	-	-	-	-
3-я группа – опытная, n=10	40%	60% p<0,0 5	20%	20%	-	20%	40% p<0,0 5	40% p<0,0 5
Примечание: p – достоверность различий по сравнению с контролем								

Таким образом, использование МВ фетальных тканей оказывало позитивное влияние на интегративную деятельность животных, у которых моделировали стресс путем многократного воздействия факторов экзогенной гипобарической гипоксии. У животных опытной группы значительно увеличивались сроки сохранения условного рефлекса пассивного избегания. В течение всего периода исследований время пребывания в безопасной части экспериментальной установки было практически большим, чем в контроле и, наконец, оказался выше процент животных, полностью воспроизводивших навыки условнорефлекторной деятельности. Учитывая, что в экспериментальных исследованиях показатели условного рефлекса пассивного избегания служат для оценки состояния кратковременной и долгосрочной памяти, мы имеем возможность высказать предположения следующего характера. Улучшение мнестической функции головного мозга, вероятно, связано с трофическим влиянием на нервную систему, поступающего в организм в составе МВ фетальных тканей комплекса биологически активных веществ. Вполне допустимо, что при введении МВ нормализация функций ЦНС происходит путем изменения метаболических процессов, которые носили адаптивный тип направленности, о чем свидетельствовали представленные ранее результаты исследований.

5 ВЛИЯНИЕ «МЕДИАТОРНЫХ ВЕЩЕСТВ» ФЕТАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ И НАДПОЧЕЧНИКАХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ СТРЕССА

5.1. Влияние “медиаторных веществ” фетальных тканей на динамику морфологических изменений в коре головного мозга и надпочечниках крыс, перенесших иммобилизационный стресс

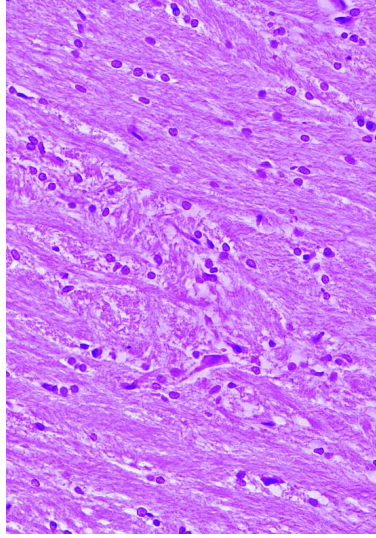
В задачу настоящих исследований входила оценка характера морфологических изменений в органах-мишенях, возникающих в ответ на введение МВ фетальных тканей животным, перенесшим различные виды стресса. Объектами для исследований служили фронтальные серийные срезы ткани коры головного мозга и надпочечников экспериментальных крыс.

При анализе срезов ткани коры головного мозга крыс контрольной группы, которым моделировали хронический иммобилизационный стресс, были обнаружены лишь единичные диапедезные кровоизлияния и плазморрагии, а также незначительно выраженный периваскулярный и перицеллюлярный отек. Отек белого вещества в виде разволокнения его глиоретикулома также носил незначительный характер. В то же время обращало на себя внимание интенсивное сморщивание крупных пирамидных нервных клеток, которое сопровождалось незначительной глиальной реакцией (рисунок 10).

Исследования показали, что на 12-е сутки эксперимента периваскулярный и перицеллюлярный отек в коре больших полушарий крыс, испытавших хронический иммобилизационный стресс, усиливался. При этом определялись участки воспалительной инфильтрации из лимфоцитов и гистиоцитов (рисунок 11).

При использовании МВ фетальных тканей для профилактики и лечения последствий иммобилизационного стресса в срезах коры больших полушарий животных были обнаружены единичные сморщенные большие пирамидные клетки коры больших полушарий с небольшим расширением перицеллюлярных пространств (рисунок 12). Практически отсутствовали признаки субэпендимарного отека и плазматического пропитывания этих отделов головного мозга. Кровенаполнение сосудов было умеренным, выявлялись отдельные участки небольших диапедезных кровоизлияний. На более поздних этапах исследований было отмечено усиление глиальной реакции тканей (рисунок 13).

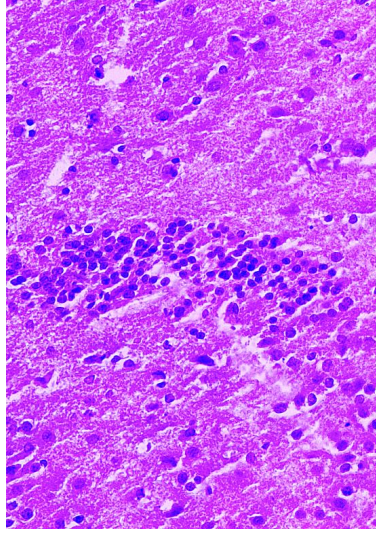
На 6-е сутки выполнения опытов у животных, перенесших иммобилизационный стресс, в надпочечниках была отмечена незначительная делипоидизация коркового вещества. При этом часть сетчатой зоны была лишена липидов. В клубочковой, пучковой и сетчатой зоне коры надпочечников наблюдались минимальные дистрофические изменения, которые характеризовались признаками белковой гиалиново-капельной дистрофии коркового слоя (рисунок 14).



Периваскулярный и перикеллолярный отек незначительно выражен. Отек белого вещества в виде разволокнения его глиоретикулума. Сморщивание крупных пирамидных нервных клеток и незначительная глиальная реакция.

Окраска гематоксилином и еозином. Увеличение x 400.

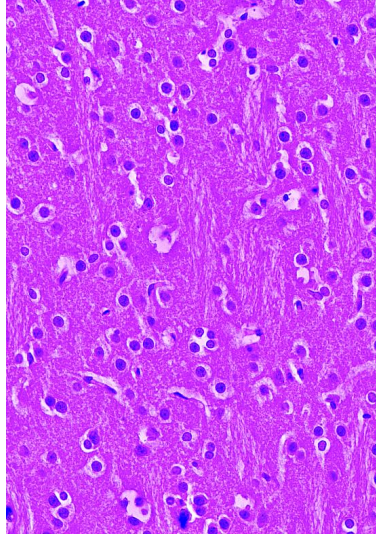
Рисунок 10 - Ткань головного мозга крыс на 6-е сутки после иммобилизации



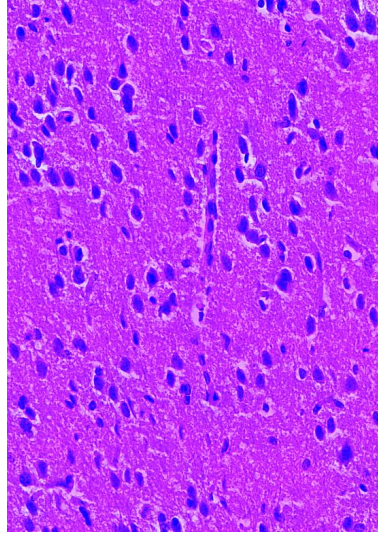
Умеренно выраженный периваскулярный и перикеллолярный отек. Участки воспалительной инфильтрации из лимфоцитов и эозинофилов.

Окраска гематоксилином и еозином. Увеличение x 400.

Рисунок 11 - Ткань головного мозга крыс на 12-е сутки после иммобилизации



Незначительное расширение перичеслюлярных пространств.
Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.



Усиление глиальной реакции ткани.
Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

Рисунок 12 - Ткань головного мозга крыс на 6-е сутки
после иммобилизации и применения «медиаторных
веществ» фетальных тканей

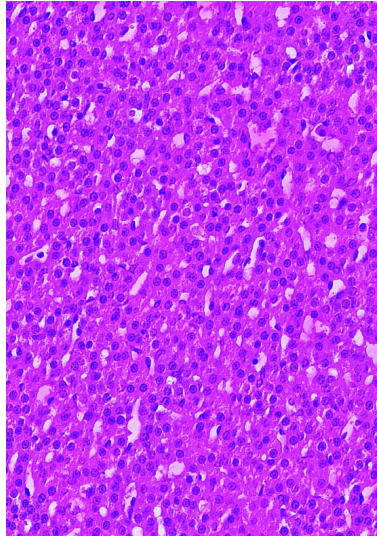
Рисунок 13 - Ткань головного мозга крыс на 12-е сутки
после иммобилизации и применения «медиаторных
веществ» фетальных тканей

Сопоставление объема ядер и цитоплазмы не выявило изменений в пучковой зоне коры надпочечников, объемы клеток и ширина мозгового вещества также оставались без изменений. Однако к 12-м суткам наблюдалось усиление степени повреждения надпочечников, что проявилось увеличением количества дистрофически измененных клеток (рисунок 15). Количество спонгиоцитов, содержащих липиды, не уменьшалось, а, напротив, имело тенденцию к увеличению.

На 6-е сутки исследований в опытной группе животных, где были использованы МВ фетальных тканей в надпочечниках, были также отмечены явления незначительной делипоидозации коркового слоя. Кроме того, были обнаружены незначительные признаки дистрофических процессов в клубочковой, пучковой и сетчатой зоне (рисунок 16). При сопоставлении объема ядер и цитоплазмы отмечено, что объемы клеток и ширина пучковой зоны коры существенно не изменялись. Без изменений оставались объемы клеток и ширина мозгового вещества. При сравнении результатов, полученных на 6-е сутки, существенных отличий между контрольной и опытной группами обнаружено не было.

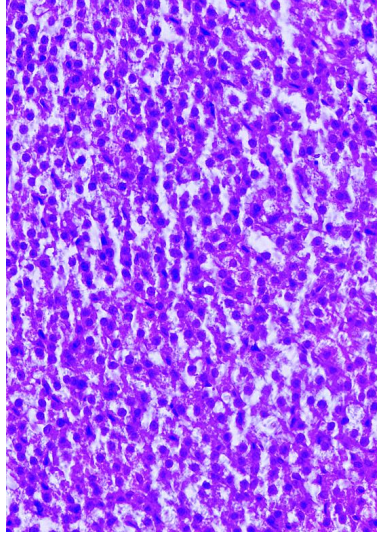
В то же время у опытных крыс на фоне применения МВ фетальных тканей на 12-е сутки в надпочечниках была выявлена положительная динамика морфологических изменений, которая заключалась в уменьшении признаков дистрофии, а также и значительном увеличении количества липидсодержащих клеток (рисунок 17).

Таким образом, применение «медиаторных веществ» фетальных тканей у животных, перенесших длительную иммобилизацию, способствовало улучшению структурно-функционального состояния коры больших полушарий, что подтверждалось морфологическими признаками усиления репаративных процессов, стимуляции процессов синаптической передачи и нормализацией состояния сосудов микроциркуляторного русла. Кроме того, к 12-м суткам происходило улучшение состояния надпочечников, о чем свидетельствовали изменения гистологической картины срезов надпочечников.



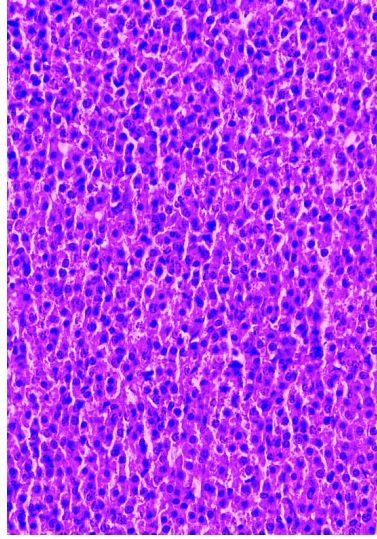
Признаки белковой гиалиново-капельной дистрофии коркового слоя. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

Рисунок 14 - Морфологическая картина надпочечников животных на 6-е сутки после моделирования иммобилизационного стресса



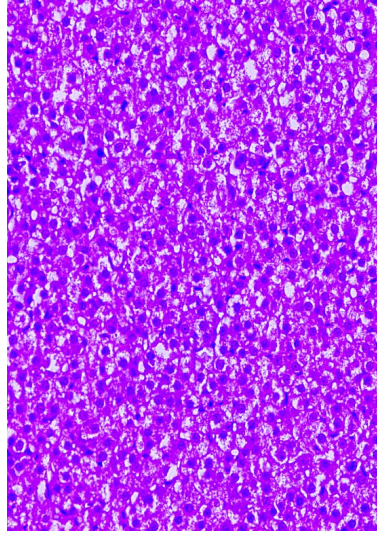
Признаки белковой гиалиново-капельной дистрофии коркового слоя, увеличение количества липидосодержащих клеток. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

Рисунок 15 - Морфологическая картина надпочечников животных на 12-е сутки после моделирования иммобилизационного стресса



Признаки белковой глииново-капельной дистрофии коркового слоя. Увеличение x 400.
Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

Рисунок 16 - Морфологическая картина надпочечников на 6-е сутки после моделирования иммобилизационного стресса и применения «медиаторных веществ» фетальных тканей.



Признаки белковой дистрофии коркового слоя, увеличение количества липидосодержащих клеток. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

Рисунок 17 - Морфологическая картина надпочечников на 12-е сутки после моделирования иммобилизационного стресса и применения «медиаторных веществ» фетальных тканей.

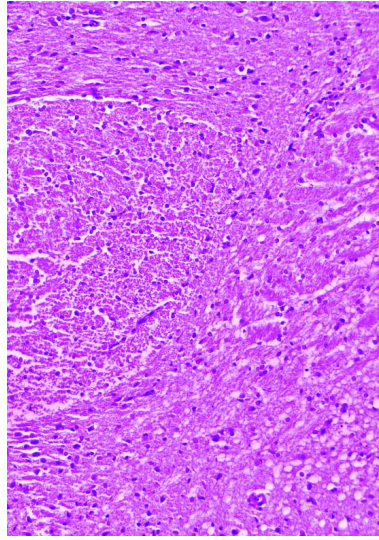
5.2. Влияние “медиаторных веществ” фетальных тканей на динамику морфологических изменений в коре головного мозга и надпочечниках крыс, перенесших гипоксический стресс

В задачу данного этапа исследований входило изучение характера влияния «медиаторных веществ» фетальных тканей на динамику морфологических изменений в коре больших полушарий мозга и надпочечниках при действии на организм животных стрессора гипоксической природы. Анализ гистологических срезов коры головного мозга и надпочечников был проведен у крыс из контрольной и опытной групп. Принцип распределения животных по группам был таким же, как и в других сериях проведенных экспериментов.

Исследования показали, что в срезах коры больших полушарий мозга крыс контрольной группы имелись достаточно выраженные морфологические изменения. Так, на 6-е сутки исследований отмечалось резкое полнокровие сосудов с явлениями диапедезных кровоизлияний. Внутримозговая сосудистая система была также полнокровной, в крупных сосудах выявлялись признаки сепарации плазмы от форменных элементов крови. Во многих артериях и капиллярах наблюдались плазморрагии и фолликуляты белка в периваскулярных пространствах. Кроме того, определялся не резко выраженный отек ткани мозга, выявлялись участки перичеллюлярного и периваскулярного отека с формированием многочисленных «округлых пустот». В указанные сроки обнаруживалось незначительное сморщивание пирамидных клеток, которое не сопровождалось заметной глиальной реакцией (рисунок 18).

Изучение гистологических срезов на 12-е сутки исследований позволило установить усиление морфологических изменений в головном мозге. Так, сосуды продолжали оставаться резко полнокровными. При этом определялись зоны диапедезных кровоизлияний. Внутримозговая сосудистая система также была полнокровна, в крупных сосудах наблюдалось отщивание плазмы от форменных элементов крови. Сморщивание пирамидных клеток приобрело более выраженный характер, усиливалась глиальная реакция, имел место перичеллюлярный и периваскулярный отек. Вокруг некробиотических масс определялись участки воспалительной инфильтрации из нейтрофильных лейкоцитов и лимфоцитов (рисунок 19).

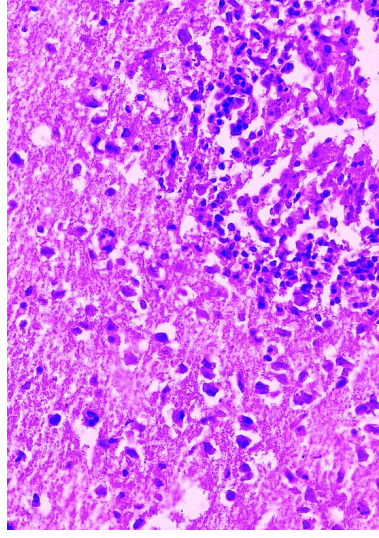
В опытной группе животных, которым вводили МВ фетальных тканей, морфологические изменения коры мозга носили менее выраженный характер. По данным изучения гистологических препаратов, оказалось, что на 6-е и 12-е сутки исследований сосуды поверхности мозга были гиперемированы в незначительной степени. Во внутримозговой сосудисто-капиллярной системе наблюдались единичные диапедезные кровоизлияния, явлений плазморрагии обнаружено не было. Признаки гидратации мозга, а также степень расширения перикапиллярных и перичеллюлярных пространств оказались меньше, чем в контроле (рисунок 20,21).



Участки периваскулярного и периваскулярного отека с формированием многочисленных «округлых пустот». В крупных сосудах - отсмешивание форменных элементов крови.

Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

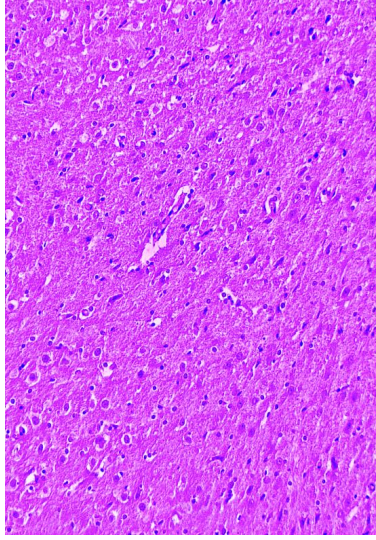
Рисунок 18 - Ткань головного мозга крыс на 6-е сутки после гипоксии



Периваскулярный и периваскулярный отек с незначительной глиальной реакцией ткани. Зоны воспалительной инфильтрации из нейтрофильных лейкоцитов, гистиоцитов и лимфоцитов вокруг некробиотических масс.

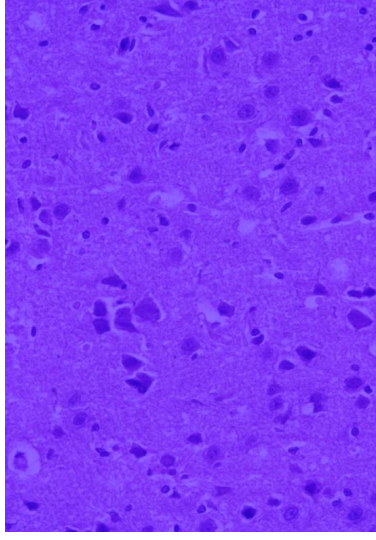
Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

Рисунок 19 - Ткань головного мозга крыс на 12-е сутки после гипоксии



Признаки отека головного мозга незначительно выражены. Расширение перикапиллярных и перичеселлюлярных пространств выражено не резко. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

Рисунок 20 - Ткань головного мозга крыс на 6-е сутки после гипоксии и применения «медиаторных веществ» фетальных тканей

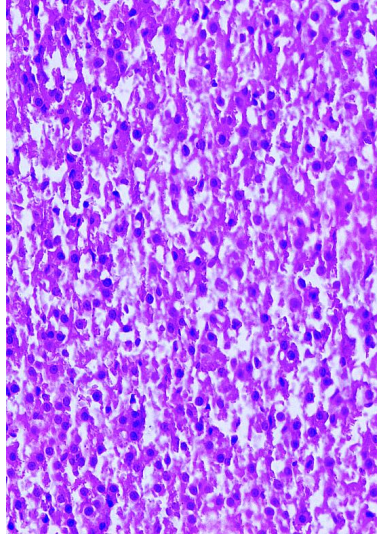


Признаки отека головного мозга незначительно, выражена глиальная реакция ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

Рисунок 21 - Ткань головного мозга крыс на 12-е сутки после гипоксии и применения «медиаторных веществ» фетальных тканей

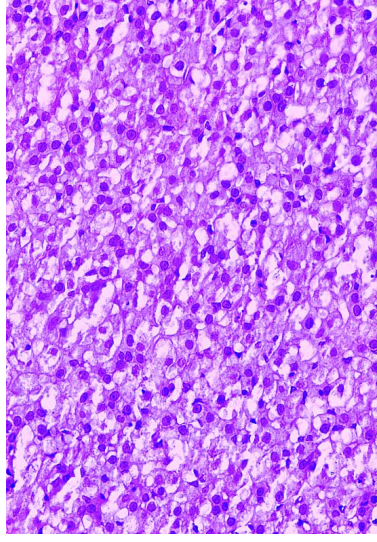
Вместе с тем прослеживались дендриты коры головного мозга, более выраженной была глиальная реакция (рисунок 21).

При изучении морфологии надпочечников в контрольной группе крыс, испытавших действие факторов гипобарической гипоксии отмечали делипидизацию коркового вещества. В этом случае сетчатая зона и часть пучковой зоны оказались частично лишены липидов. В клубочковой, пучковой и сетчатой зоне коры надпочечников наблюдались выраженные дистрофические процессы. При изучении ядерно-цитоплазматических соотношений отмечено, что в основном изменялись объемы клеток и ширина пучковой зоны коры, в то время как объемы клеток и ширина мозгового вещества достоверно не изменялись (рисунок 22,23).



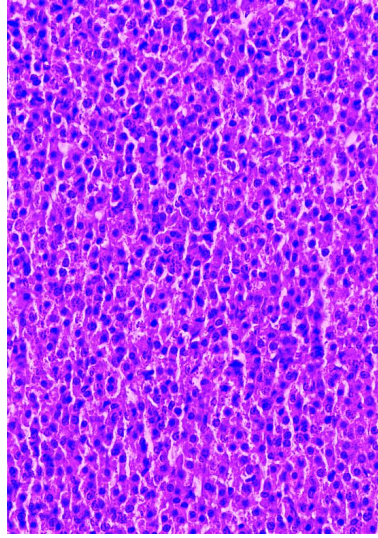
Дистрофические изменения в корковом веществе. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

Рисунок 22 - Морфологическая картина надпочечников животных на 6-е сутки после моделирования гипоксического стресса



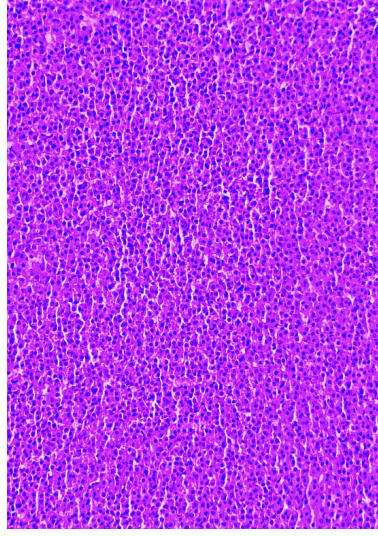
Выраженные изменения в корковом веществе. Цитоплазма спонгиозитов светлая, ядра оттеснены к периферии. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

Рисунок 23 - Морфологическая картина надпочечников животных на 12-е сутки после моделирования гипоксического стресса



Незначительные признаки дистрофии коркового слоя.
Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

Рисунок 24 - Морфологическая картина надпочечников на 6-е сутки после моделирования гипоксического стресса и применения «медиаторных веществ» фетальных тканей.



Незначительные признаки дистрофии коркового слоя.
Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

Рисунок 25 - Морфологическая картина надпочечников на 6-е сутки после моделирования гипоксического стресса и применения «медиаторных веществ» фетальных тканей.

Результаты исследований позволили установить, что степень морфологических изменений в надпочечниках на фоне введения МВ фетальных клеток животным, которые испытали воздействие стрессора гипоксической природы, была минимальной. Это проявлялось отсутствием признаков гипертрофии клеток коры, уменьшением делипоидизации коркового вещества. Одновременно снижалась выраженность дистрофических процессов в клубочковой, пучковой и сетчатой зонах. Без изменений оставались ядерно-цитоплазматические соотношения. Объемы клеток и ширина пучковой зоны коры, а также мозгового вещества не имели достоверных изменений (рисунок 24,25).

Таким образом, при воздействии гипоксии на животных были обнаружены морфологические нарушения в коре больших полушарий мозга и надпочечниках, которые при развитии стресса принято считать органами-мишенями. Однако использование МВ фетальных клеток способствовало минимизации структурных повреждений, что, вероятно, свидетельствует о наличии антистрессорных свойств у данного субстрата.

Обобщение и оценка результатов исследования

Ведущей концепцией современной медицины является необходимость более широкого внедрения в повседневную практику врача новых биотехнологических методов терапии, потенциально способных привести к излечению даже тех заболеваний человека, которые ранее считались практически безнадежными. Одним из подобных способов, безусловно, является метод фетально-клеточной терапии. В последние десятилетия проводятся серьезные исследования по разработке принципов проведения, а также по определению показаний к применению фетально-клеточной терапии, и настоящий этап характеризуется как период накопления сведений о влиянии трансплантации фетальных клеток на течение и исходы многих форм патологии организма [34, 35, 36, 37, 39].

В экспериментальных и клинических исследованиях наиболее часто введение взвесей фетальных клеток осуществлялось непосредственно в пораженный орган. Так, в работе, выполненной Мухаметжановой К.М. (2007), были получены данные по использованию аппликаций взвесей фетальных клеток на поверхности ожоговой раны. Согласно опубликованным результатам, темпы сокращения площади термического поражения возрастали в значительной степени, установлено более раннее полное заживление ожоговой раны, что служило прямым доказательством ускорения процесса репаративной регенерации при альтерации тканей. Соответственно возникли представления о том, что фетально-клеточная терапия в большей степени оказывает органотропное действие. Выявленные саногенетические эффекты связывались со способностью фетальных клеток локально стимулировать регенерацию поврежденных клеток и вызывать замещение погибших клеток в соответствующем органе. По мнению других авторов, при фетотрансплантации более существенную роль играют общие неорганотропные эффекты действия, обусловленные активацией факторов неспецифической, специфической реактивности и резистентности организма, которые усиливают и повышают надежность компенсаторных реакций организма [48].

Однако следует признать, что единых патогенетически обоснованных представлений о механизмах действия фетально-клеточной терапии до сих пор еще нет. В известной степени ряд вопросов возник после опубликования в печати данных по использованию в эксперименте и клинике надосадочной жидкости, сопутствующей приготовлению взвесей фетальных клеток. Данный супернатант состоит из белково-пептидного комплекса, в составе которого имеются интерлейкины 2, 6, 10, васкулоэндотелиальный фактор, гормоны пептидной структуры [112, 116, 117]. Полученную смесь биологически активных веществ принято обозначать как «медиаторные вещества» (МВ) или «медиаторы» фетальных клеток.

Впервые МВ фетальных тканей в экспериментальных условиях использовала Р.К. Стикеева (2006-07), которая установила, что они оказывают терапевтическое действие при печеночной недостаточности, обладают противовоспалительным действием и не оказывают мутагенного и токсического эффектов действия [1, 100, 103].

В работе Ж.К. Букеевой (2007) было показано, что у животных с острым и хроническим токсическим гепатитом на фоне применения МВ фетальных тканей улучшались показатели морфофункционального состояния печени. Это позволило рекомендовать включение МВ в комплексную терапию острых и хронических гепатитов [133].

Попытка применения МВ фетальных тканей в послеоперационном периоде у пациентов с хирургическими заболеваниями, осложненными множественным эхинококкозом, была предпринята Б.К. Конакбаем (2007). Автор проведенного исследования утверждал, что у этих больных улучшались клиничко-лабораторные показатели, уменьшалось не только время пребывания в отделении анестезии, реанимации и интенсивной терапии (ОАРИТ), но и сроки послеоперационной реабилитации [4].

Кроме того, С.Ж. Кушеновой (2007) было установлено позитивное влияние МВ на систему гемостаза у больных, находившихся в ОАРИТ ННМЦ РК. При этом доказано, что после проведения у пациентов различных видов и объемов оперативных вмешательств медиаторы фетальных тканей способствовали снижению частоты возникновения некомпенсированных коагулопатических нарушений [93].

Наконец, в клинических условиях была определена эффективность МВ в обеспечении стресс-протекции у пациентов с высоким операционно-анестезиологическим риском. По мнению автора, позитивное действие данного супернатанта было обусловлено наличием в нем биологически активных веществ, которые оказались способными модулировать эндокринно-метаболические и системные воспалительные реакции пациентов на хирургический стресс [11].

В то же время направление исследований по изучению влияния МВ фетальных тканей на течение и исходы многих форм патологии организма находится лишь на начальном этапе разработки. Многие вопросы о возможностях применения указанного метода терапии продолжают оставаться открытыми и требуют серьезной экспериментальной базы исследований, а также получения результатов необходимых для теоретического осмысления. С этой точки зрения, актуальным являлось проведение комплексных исследований по изучению влияния МВ фетальных тканей на изменение общих реакций организма на повреждение и, в частности, на развитие стресса. Известно, что стресс включает новые мощные факторы в изначально многофакторный, но глубоко интегрированный процесс жизнеобеспечения и переводит организм в иное качественное состояние – экстремальное состояние. При этом срыв адапционно-компенсаторных процессов в период затянувшегося стресса приводит к функциональной недостаточности органов и систем, вызывая за собой закономерную последовательность нарушений жизнедеятельности [141]. В свою очередь, изучение влияния МВ на развитие стрессовых состояний позволило бы с фундаментальных позиций приблизиться к пониманию как феноменологических проявлений, так и механизмов действия фетально-клеточной терапии на больной организм. Другим не менее важным аспектом озвученной проблемы становится патогенетическое обоснование и

разработка методов повышения резистентности к стрессу, что позволит предотвратить развитие дистресса и болезней адаптации.

Нами было принято во внимание, что существенную роль в развитии этого направления исследований играет моделирование стрессорной патологии в эксперименте, а целесообразность такого моделирования была обоснована наличием общих механизмов развития стресса у человека и животных [9].

Поэтому для выполнения цели и задач исследования были использованы известные экспериментальные модели стресса, вызванные иммобилизацией и действием факторов экзогенной гипобарической гипоксии [131, 132].

Исходя из вышесказанного, была сформулирована цель настоящего исследования, которая состояла в изучении влияния МВ фетальных тканей на течение различных видов стресса, в частности, обусловленных длительной иммобилизацией и гипоксией экзогенного происхождения. При этом в задачи исследования входило:

1) изучение влияния «МВ» фетальных тканей печени на динамику биохимических показателей крови после моделирования у животных иммобилизационного и гипоксического стресса;

2) исследование влияния «МВ» фетальных гепатоцитов на изменение гематологических показателей у животных с иммобилизационным и гипоксическим стрессом;

3) выявление особенностей воздействия «МВ» фетальных тканей печени на динамику показателей интегративной деятельности животных после моделирования иммобилизации и экзогенной гипоксической гипоксии;

4) определение характера влияния «МВ» фетальных гепатоцитов на морфологические изменения в надпочечниках и коре головного мозга у крыс, испытывавших иммобилизацию и экзогенную гипобарическую гипоксию.

Таким образом, первая часть наших исследований была посвящена изучению влияния МВ на изменение общих реакций организма при повреждении с использованием модели хронического иммобилизационного стресса. Выполнение подобных исследований нам представлялось принципиально важным, поскольку гиподинамия и гипокинезия являются наиболее распространенными причинами развития стресс-реакции организма, являющейся расплатой перед цивилизацией и техногенным развитием общества. При этом длительное лишение возможности свободного движения и использования физических усилий вызывает в органах и системах и, особенно, в головном мозге глубокие изменения, нарушающие адаптивные возможности организма, что является предпосылкой для развития выраженной соматической патологии [131].

Для более системного изучения особенностей метаболизма организма, перенесшего хроническую иммобилизацию, на фоне применения МВ фетальных тканей на различных этапах постстрессорного периода исследовались биохимические показатели сыворотки крови.

Одним из этапов наших исследований было выявление динамики изменений ферментативной активности сывороточных АЛТ, АСТ и ЩФ. При анализе

результатов мы, безусловно, учитывали то, что биохимический статус условно здоровых крыс отличается крайней вариативностью показателей. Вместе с тем, несмотря на существенные отличия исходных ферментативных механизмов у крыс, тем не менее, следует признать, что они имеют общее назначение, обеспечивающее в конечном итоге схожесть основных биосинтетических и биоэнергетических процессов с таковыми у человека [142].

Известно, что при тяжелом стрессе включается целый комплекс факторов, связанных с формированием дисрегуляторной нервной, эндокринной и иммунной патологии, вызывающей повреждение клеток с повышением проницаемости мембранных структур клетки, что создает условия для выхода ферментов в кровь [143, 144, 145, 146, 147].

В аналитических обзорах Рослого И.М. и соавт. (2002, 2003) представлены важные сведения о возможных причинах, механизмах и путях появления ферментов в крови. Основываясь на результатах клинических и экспериментальных исследований, они пришли к заключению о биологической целесообразности развития ферментемии в патологии. Авторы исследования полагали, что изменение ключевых ферментов основных метаболических путей организма отражают биоэнергетические стрессорные механизмы. В то же время соотношение трансаминаз определяет степень надежности адаптивных механизмов соответствующих функциональных систем [148, 149].

При обобщении результатов собственных исследований мы обнаружили, что у животных, перенесших стресс, отмечалось существенное повышение активности трансаминазных ферментов - АЛТ и АСТ, которое стало особенно заметным на 6-е и 9-е сутки после моделирования у животных хронической иммобилизации. В этом случае уровень каталитической активности АЛТ превышал исходные показатели условно здоровых крыс более чем в 2 раза ($p < 0,05$), а АСТ – в 1,9 и 3,3 раз ($p < 0,05$). Однако к 12-м суткам проведения опытов изучаемые показатели перестали иметь различия по сравнению с данными, полученными в группе интактных крыс.

В эти же сроки параллельно с установленными нарушениями со стороны трансаминазных ферментов в сыворотке крови крыс, испытавших хронический иммобилизационный стресс, в 1,8 и 1,9 раза увеличивался уровень активности ЩФ ($16,60 \pm 3,00$ у/л и $17,00 \pm 4,78$ у/л против $8,83 \pm 3,76$ у/л в группе интактных крыс, $p < 0,05$).

В энзимограммах опытных крыс, у которых использовались МВ фетальных тканей, обнаруживались изменения ферментативной активности по АЛТ, АСТ и ЩФ, отличающие их от результатов контрольных групп наблюдения. В первую очередь обращало на себя внимание не только увеличение активности трансаминаз, но и изменение соотношения между ними в пользу значительно более выраженного повышения уровня активности АСТ, чем это было отмечено у крыс из группы сравнения. Так, на 6-й день исследования уровень активности АСТ увеличился до $19,00 \pm 4,93$ у/л ($p_1 < 0,05$), а на 9-й день соответственно до $26,16 \pm 3,02$ у/л ($p_1 < 0,05$), в то время как в контроле аналогичные показатели составляли $9,66 \pm 3,52$ у/л и $16,66 \pm 4,26$ у/л.

Кроме того, у крыс опытной группы на фоне терапии МВ, несмотря на некоторое снижение активности ЩФ по сравнению с контрольной группой, тем не менее, в разные дни проведения исследований ее уровень был выше в 1,4 раза, чем у интактных крыс.

Таким образом, использование МВ у крыс с хроническим иммобилизационным стрессом способствовало повышению активности как трансаминазных энзимов со значительным изменением соотношения АЛТ и АСТ в сторону последнего, так и ЩФ в период с 6-го по 9-й день выполнения экспериментов. Следовательно, у нас появились основания высказать предположение о том, что более высокий уровень активности АСТ, обнаруживаемый в наших экспериментах является признаком доминирования обменов за счет «более конечных» путей катаболизма через щавелевоуксусную кислоту (ЩУК), аспарагин (Асп) и АСТ. С точки зрения биологической целесообразности или эффективности начальные метаболические пути через пировиноградную кислоту (ПВК) и аланин (Ала) при участии АЛТ не столь надежны, так как этот путь катаболизма менее интенсивен, чем конечный. Поэтому различную степень выраженности гиперферментемии по АСТ у крыс, вероятно, можно расценивать как положительное явление, связанное с эффектом применения МВ фетальных тканей. Наконец, установленная нами гиперферментемия по ЩФ может также иметь метаболическую целесообразность. Следует учесть, что ЩФ ответственна за дефосфорилирование глюкозы, за ее выход из тканей и за образование значительных количеств неорганического фосфата, пул которого существенно влияет на биоэнергетику в клетке и в организме в целом, а, следовательно, и на активацию систем жизнеобеспечения [148, 149].

В целом следует заключить, что обнаруживаемая в нашем эксперименте характерная динамика ферментемии в большей степени отражает метаболические изменения адаптивного типа, а не реакции истинного цитолиза.

Другие параметры, характеризующие биохимический состав крови, такие как мочевины, мочевиная кислота, креатинин, общий белок и альбумин, холестерин, а также амилаза крови и тимоловая проба во всех группах исследования оставались относительно стабильными и достоверно не отличались друг от друга. Кроме того, в опытной группе на фоне применения МВ во все сроки исследований на уровне нормативных показателей оставались значения глюкозы крови.

Исключение составили лишь показатели билирубинемии. У животных опытной группы, в которой использовались МВ фетальных тканей, раньше нормализовалось содержание общего билирубина крови. Концентрация изучаемых метаболитов была в 1,8 раза ($p < 0,05$) меньше, чем в контроле уже на 9-й день исследования.

Комплексный подход в изучении влияния МВ на течение хронического иммобилизационного стресса логически обосновывал необходимость изучения гематологических показателей животных. Анализ данных, полученных в контрольной группе, выявил динамику устойчивого снижения общего количества лейкоцитов, тогда как лимфоциты крови оставались без изменений. Начиная с 6-го дня по 12-й день исследования число лейкоцитов крови снизилось с $12,16 \pm 2,24 \times 10^9/\text{л}$ до $9,16 \pm 1,22 \times 10^9/\text{л}$, что было достоверно меньше ($p < 0,05$), чем у животных

интактной группы. Все показатели, характеризовавшие состояние красной крови, не имели существенных отличий в сравнении с таковыми в группе интактных крыс.

На фоне проводимой терапии МВ фетальных тканей были также обнаружены явления лейкопении. Если на 6-й день после моделирования стресса общее количество лейкоцитов составляло $11,50 \pm 3,02 \times 10^9/\text{л}$, то на 12-й - $6,00 \pm 1,20 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$; $p_1 < 0,05$). Однако в отличие от контроля у животных опытной группы изменился состав клеток белой крови. В дополнение к развившейся лейкопении присоединились признаки лимфоцитопении. Об этом свидетельствовало снижение количества лимфоцитов на 9-й день до $4,35 \pm 1,70 \times 10^9/\text{л}$, а на 12-й день до $4,16 \pm 1,80 \times 10^9/\text{л}$, что было достоверно меньше, чем у крыс интактной и контрольной групп ($p < 0,05$ и $p_1 < 0,05$).

Одновременно у опытных животных при изучении показателей, характеризующих состояние красной крови, было отмечено увеличение содержания ретикулоцитов до $12,50 \pm 1,40\%$, которое на 12-й день проведения экспериментов превышало результаты, наблюдаемые у крыс интактной группы ($p < 0,05$), хотя в течение всего периода проводимых исследований количество эритроцитов существенным образом не изменялось. Также обращало на себя внимание увеличение значений среднего содержания гемоглобина в эритроците до $35,16 \pm 6,16$ г/л ($p < 0,05$; $p_1 < 0,05$) на 12-е сутки исследования. Вместе с тем было выявлено возрастание эритроцитарной концентрации гемоглобина на 6-е и 12-е сутки развития постстрессорного периода до $442,83 \pm 13,64$ п/г и $443,66 \pm 12,69$ п/г ($p < 0,05$; $p_1 < 0,05$).

Таким образом, у животных, перенесших хронический иммобилизационный стресс, на фоне применения «медиаторных веществ» фетальных тканей развивалась умеренно выраженная лейкопения и лимфоцитопения. Кроме того, применение «медиаторных веществ» способствовало увеличению содержания ретикулоцитов, а также улучшению показателей, характеризующих степень насыщения эритроцитов гемоглобином. Соответственно это могло свидетельствовать об усилении регенераторной способности костного мозга крыс с иммобилизационным стрессом, для лечения которого использовали МВ фетальных тканей.

Из сведений, представленных в литературных источниках, развитию информационного невроза способствует ограничение двигательной активности животных. При удлинении эксперимента до нескольких часов изменяется характер биоэлектрической активности головного мозга, вначале в структурах лимбической системы, а затем в коре головного мозга [150, 151, 152, 153].

Сложный регуляторный комплекс, который помогает обеспечивать поддержание гомеостаза и играет ключевую роль в активации и координации всех изменений в организме, составляющих адаптивную реакцию на стрессоры, называют стресс-системой. Центральной частью этой системы является головной мозг, который получает информацию от окружающей среды и организма через разнообразные сенсорные системы и кровоток, от «думающего» мозга – через амигдалу и гипокамп и «эмоционального» мозга – через мезокортико-лимбическую систему [154].

Основным звеном в процессе передачи ответного на стресс импульса, проходящего по кортико-стволовому пути к органам, регулирующем гомеостаз, является гипоталамус, который собирает информацию от вышележащих отделов головного мозга, а также с периферии. Из гипоталамуса информация при участии ствловых ядер поступает в нейроны ядер продолговатого и спинного мозга, осуществляющих симпатическую и парасимпатическую иннервацию внутренних органов [155]. Возросшая импульсация по симпатическим нервам вызывает истощение тканевых запасов норадреналина. Предполагается, что этому предшествует усиленный выброс катехоламинов. Дизрегуляция в парасимпатической иннервации приводит к изменениям функций внутренних органов, участвующих в обмене веществ.

Известно также, что важную роль в патогенезе стрессорной патологии играют активность стресс-реализующей и стресс-лимитирующей систем. Реакции стресс-реализующих систем опосредуются взаимодействием между нервной, иммунной, гормональной и другими регулирующими гомеостаз системами. Согласно концепции Г.Селье, стресс-система активируется в ответ на любой стрессор неспецифически, то есть продуцирует одинаковый набор гормонов и медиаторов независимо от вида стрессора. Физиологическим спутником стресс-реализующей системы является стресс-лимитирующая, основная задача которой заключается в модуляции эффектов регулирующих систем посредством восстановления информационных межклеточных каналов, опосредуемых системой цитокинов, пептидов, гормонов, простагландинов и других биологически активных веществ [8, 125, 126].

Нарушение регуляции стресс-системы, в значительной мере связанное с недостаточностью функции стресс-лимитирующих систем, приводит не только к нарушению реакции организма на стресс, но и к возникновению патологических изменений в гомеостазе. Соответственно возникающий дисбаланс обмена вызывает изменения в показателях гомеостаза, реализация которых по большей части определяется уровнем активности стресс-лимитирующих систем [153].

Экспериментально доказано, что при тяжелых стрессах у животных возникают нарушения микрогемодинамики в сосудах головного мозга, повышается гидрофобность мембран клеток головного мозга, снижается отношение холестерина к продуктам перекисного окисления липидов. Одновременно нарушается упорядоченность липидных молекул бислоя синаптических мембран и транспорт нейромедиаторов, а в поздние сроки стрессов повышается активность моноаминоксидаз, дезаминирующих дофамин и серотонин, и снижается активность моноаминоксидаз, дезаминирующих серотонин [127, 156]. В результате возникают изменения функций ЦНС, которые существенным образом могут ограничить адаптивные и компенсаторные возможности организма при стрессовых состояниях.

В этом контексте справедливо полагать, что в патогенезе стресса особое место занимают возникшие нарушения функций ЦНС. Очевидно, что нормализация гомеостатических показателей организма возможна только при условии наиболее полноценного восстановления функций головного мозга, что обеспечит

«совершенный» контроль и регуляцию деятельности органов, участвующих в стресс-лимитирующих процессах, от которых зависят окончательные результаты восстановительного периода после стресса.

Учитывая вышеперечисленные данные, нами была обоснована необходимость проведения исследований по изучению влияния МВ фетальных тканей на показатели условнорефлекторной деятельности крыс, перенесших иммобилизацию в режиме хронического воздействия. Основываясь на результатах экспериментов, Боброва Н.А. и соавт. (2000) пришли к выводу о том, что при иммобилизационном стрессе степень изменений в органах и системах зависит от характера и продолжительности действия стрессорного фактора. Одним из звеньев в реакции организма на стресс является нарушение функционирования пептидергической системы и ее взаимодействия с другими нейрогуморальными регуляторными механизмами [157]. Следует также отметить, что наиболее систематизированные данные по изучению влияния острой и хронической иммобилизации (гипокинезии) на организм животных были получены Т.П.Ударцевой (2001). Оригинальность взгляда автора на проблему состоит в том, что гипокинезия расценивается как состояние с относительной недостаточностью механизмов адаптации и возможными вариантами (два варианта) последствий. В первом случае гипокинезия сопровождается снижением функциональных и структурных возможностей высшей нервной деятельности, а также возникновением стрессовой и специфической перестройкой гормонально-метаболического статуса. Однако при благоприятном стечении обстоятельств, а именно, при восстановлении нормального объема мышечной работы организм вновь вернется к исходному состоянию здоровья. В другом случае, при неблагоприятном развитии событий длительное перенапряжение механизмов адаптации при условии воздействия дополнительных внешних факторов и соответствующей генетической предрасположенности переходит в болезнь (сахарный диабет, гипертоническая болезнь и другие) [158].

Оценка результатов, полученных нами в контрольной группе, позволила установить достоверное снижение времени пребывания в светлом отсеке камеры уже на 7-е сутки после проведения процедуры обучения животных. Начиная с 10-го дня наблюдений крысы контрольной группы, перестали воспроизводить навык пассивного избегания. В данной группе значительно уменьшилось количество животных, полностью воспроизводивших навык пассивного избегания ($p < 0,05$). Только лишь 20% крыс через 1-е сутки после обучения оказались способными в течение 180 секунд пребывать в безопасной части экспериментальной установки. В целом установленные закономерности согласуются с ранее опубликованными данными [158].

На фоне применения МВ у животных опытной группы были отмечены изменения, характеризовавшие улучшение процессов формирования и сохранения энграммы долговременной памяти. Так, на протяжении всего периода исследований животные более успешно воспроизводили УРПИ. По сравнению с контрольной группой опытные животные в безопасном отсеке камеры проводили достоверно

больше времени на 1-й, 15-й, 20-й, 25-й и 30-й день наблюдений. Кроме того, увеличивалось количество крыс, пребывавших в светлом отсеке камеры в течение 180 с. В разные периоды наблюдений этот показатель полного сохранения УРПИ изменялся от 80% до 20%, достоверно превышая данные полученные в контроле ($p < 0,05$).

Таким образом, результаты проведенных экспериментов показали, что «медиаторные вещества» фетальных клеток улучшали выработку и воспроизведение УРПИ, а также увеличивали сроки сохранения приобретенного навыка пассивного избегания, что служило свидетельством нормализации когнитивных функций ЦНС у животных, подвергшихся хроническому иммобилизационному стрессу. Можно предположить, что при использовании МВ фетальных тканей, в организм привносится уникальный комплекс биологически активных веществ, способных проявлять системный механизм действия, улучшающих, в том числе, и морфофункциональное состояние нейронов головного мозга. В свою очередь, это обеспечивало более оптимальный уровень функционирования систем контроля и регуляции гомеостатических и адаптивных реакций организма в ЦНС.

Во второй серии экспериментов была использована другая модель стресса, обусловленная действием на организм животных факторов гипобарической гипоксии. Мы полагаем, что проведение данной серии экспериментов позволит уточнить характер влияния МВ фетальных тканей на изменение общих реакций организма на повреждение, к которым относится развитие стресса.

В данной серии экспериментов для выявления характера действия МВ фетальных тканей на особенности метаболизма животных нами также проведено изучение биохимических показателей крови в разные сроки после перенесенного гипоксического стресса.

Известно, что при патогенезе гипоксической гипоксии первостепенное значение имеет понижение напряжения кислорода в крови (гипоксемия). [8]. Поэтому полученные в нашем эксперименте изменения биохимических показателей являются закономерными и свидетельствуют о наличии изменений в гомеостазе экспериментальных животных, вызванных гипоксическим стрессом.

Анализ результатов, прежде всего, позволил установить повышение уровня трансаминазной активности крови животных контрольной группы. Оказалось, что после моделирования гипоксического стресса значения АЛТ стали превышать исходные данные в 2-2,5 раза ($p < 0,05$). Причем пиковый уровень ферментемии по АЛТ определялся на 6-е сутки проведения исследований. Параллельно происходило повышение активности АСТ. Так, в период с 6-х по 12-е сутки наблюдений значения исследуемого показателя были в 2-3 раза выше ($p < 0,05$), чем у интактных животных.

Кроме того, у крыс контрольной группы выявлялось повышение активности ЩФ, которое приобрело характер достоверного к 12-м суткам наблюдений. При этом значения исследуемого параметра были выше, чем у интактных крыс и составляли $14,68 \pm 0,46$ u/l ($p < 0,05$).

При изучении энзимограмм животных опытной группы, где использовались МВ фетальных тканей установлено, что выраженность АЛТ-емии колебалась в пределах $2,67 \pm 0,16$ u/l - $2,40 \pm 0,45$ u/l на протяжении всего периода наблюдений. В то же время каталитическая активность АСТ повышалась более значительно. Уровень АСТ-емии на 6-е сутки проведения экспериментов превосходил данные, полученные у интактных животных в 4,4 раза ($p < 0,05$), а группы контроля в 2,1 раза ($p_1 < 0,05$).

По сравнению с контролем МВ способствовали увеличению уровня активности, ЩФ к 12-м суткам на 18-20% ($17,37 \pm 1,20$ u/l, $p_1 < 0,05$).

Обращало на себя внимание однонаправленное изменение трансаминазной активности, как в группе животных с моделированием иммобилизации, так и в группе животных, которые перенесли эпизоды внешних гипоксических воздействий. Причем «медиаторные вещества» фетальных клеток, используемые при стрессе, обусловленном действием факторов гипобарической гипоксии, также оказывали влияние на формирование характерной динамики ферментемии. Это проявилось изменением соотношения трансаминазных ферментов со значительным превышением активности АСТ по сравнению с АЛТ, а также увеличением каталитической активности ЩФ к моменту завершения наблюдений. По-видимому, и в данном случае мы можем сделать заключение о том, что выявленную динамику трансаминазных ферментов следует расценивать не как реакцию повреждения и истинного цитолиза, а как положительное явление, характеризующее изменение направленности обмена веществ адаптивного типа. Установленная нами гиперферментемия по ЩФ может также иметь метаболическую целесообразность, поскольку ЩФ существенно влияет на биоэнергетику в клетке и в организме в целом [148, 149, 159].

В настоящем эксперименте, как и в предыдущей серии опытов, посвященной изучению влияния МВ на течение иммобилизационного стресса, каких-либо заметных изменений со стороны ГГТП, амилазы сыворотки крови и тимоловой пробы обнаружено не было.

У животных опытной группы из данной серии экспериментов отмечалось повышение уровня мочевины крови. По сравнению с показателями интактных животных достоверное увеличение содержания метаболита отмечалось на 6-й и 9-й день наблюдений ($7,10 \pm 1,48$ ммоль/л и $7,30 \pm 1,32$ ммоль/л, $p < 0,05$).

Следует принять во внимание тот факт, что нарастание мочевины крови обычно сочетается с увеличением содержания креатинина. Однако в наших экспериментах признаки нарастания в крови креатинина не были зарегистрированы. В этом случае становится очевидным, что увеличение концентрации мочевины крови обусловлено не столько ретенцией, сколько усилением процессов мочевинообразования. В конечном итоге это может свидетельствовать о степени надежности органов и систем, принимающих участие в обеспечении конечного этапа белкового обмена организма.

Наконец, использование МВ фетальных тканей способствовало нормализации обмена глюкозы, предотвращая переход организма на альтернативные источники

получения энергии. Об этом также свидетельствовали данные по изменению содержания триглицеридов, характеризовавшие некоторые стороны липидного обмена организма. Так, на фоне применения МВ у животных опытной группы в наблюдаемые сроки концентрация глюкозы не изменялась и оставалась в пределах исходных значений, определяемых у интактных крыс. [160, 161, 162].

Из результатов, полученных в наших опытах следовало, что ни одна из сравниваемых групп не отличалась друг от друга по содержанию холестерина крови. Однако в контрольной группе в период с 9-го по 12-й день исследования было отмечено повышение уровня триглицеридов крови в 3 раза ($p < 0,05$) по сравнению с данными интактной группы. По-видимому, причиной, приведшей к гипертриглицеридемии при гипоксическом стрессе, является значительное усиление процессов липолиза. Стрессорная дислипидотеинемия вызывается чрезмерным усилением первоначально адаптивного липотропного эффекта стресс-реакции. Но в то же время у животных нейрогенный, по существу стрессорный, атеросклероз можно получить частой сменой условно-рефлекторных стереотипов, с помощью эмоционального возбуждения, вызываемого прерывистым голоданием или длительной электростимуляцией вентромедиального гипоталамуса, а также созданием психосоциального стресса [163]. В противоположность этому МВ фетальных тканей способствовали уменьшению концентрации триглицеридов крови, которая оказалась стабильно ниже, чем в контроле и не имела достоверных различий по сравнению с исходными результатами, зарегистрированными у здоровых крыс.

Согласно нашим результатам, полученным в контрольной группе животных при хроническом воздействии факторов гипоксической гипоксии, возникали характерные изменения со стороны клеток белой крови. Так, если в ранние сроки после моделирования хронического гипоксического стресса развивался абсолютный лейкоцитоз, то на последующих этапах течения постстрессорного периода общее количество лейкоцитов крови, напротив, критически снижалось, и на этом фоне были зарегистрированы явления абсолютной лимфоцитопении. При этом в контрольной группе крыс на 6-е сутки после моделирования стресса общее количество лейкоцитов крови составляло $21,35 \pm 0,42 \times 10^9/\text{л}$, что было достоверно больше, чем у интактных крыс ($p < 0,05$). Однако на 9-е сутки оно снизилось до $9,93 \pm 0,94 \times 10^9/\text{л}$ и стало существенно меньше, чем у интактных животных ($p < 0,05$). Вместе с тем, у крыс контрольной группы на 6-е сутки исследований количество лимфоцитов крови соответствовало значениям равным $6,86 \pm 0,55 \times 10^9/\text{л}$. Это было достоверно меньше, чем у животных из интактной группы и характеризовало явления абсолютной лимфоцитопении. В дальнейшем количество лимфоцитов крови несколько увеличивалось, хотя на 12-е сутки исследований оно по-прежнему оставалось ниже ($7,83 \pm 0,67 \times 10^9/\text{л}$, $p < 0,05$), чем у животных 1-й группы. С нашей точки зрения, подобные нарушения со стороны белой крови следует расценивать как выраженную патогенную реакцию организма, возникшую на действие факторов хронической экзогенной гипоксии. Наряду с этим, как закономерный ответ организма на гипоксию, у животных контрольной группы определялись признаки

повышения эритропоэтической функции костного мозга. Об этом свидетельствовала тенденция к повышению содержания эритроцитов крови и достоверное увеличение числа ретикулоцитов на 9-е сутки исследования.

Использование МВ фетальных тканей в опытной группе способствовало модификации ответных реакций с стороны клеток периферической крови. При этом было установлено, что общее количество лейкоцитов существенно не отличалось от показателей интактной группы крыс и оставалось стабильным на протяжении всего периода проводимых исследований. Вместе с тем изменилось соотношение форменных элементов крови с развитием лимфоцитопении, которая имела относительный характер. Так, по сравнению с исходными показателями у опытных крыс на 6-е и 9-е сутки исследований число лимфоцитов достоверно снизилось и стало составлять $4,57 \pm 1,10 \times 10^9/\text{л}$ и $5,20 \pm 0,97 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$).

Выявленные изменения внушили нам определенный оптимизм, поскольку наши результаты согласуются с ранее проведенными исследованиями. Так, было доказано, что у крыс, испытывавших гипоксический стресс, вызванный остановкой кровообращения в организме, изменения морфологического состава белой крови носили фазный характер. При этом сразу после воздействия стрессора у животных были отмечены явления лимфоцитопении, которые сочетались с увеличением содержания зернистых лейкоцитов [164]. Указанные изменения лейкоцитарной формулы и отношений клеточных компонентов вполне могли носить как перераспределительный, так и истинный характер.

Аналогичные данные были получены в исследованиях, проведенных Ж.Б.Айтбаевой [165], которые также трактовались с точки зрения развития стресс-реакции организма. Причем реакции со стороны белой крови расценивались как наиболее динамичный ответ организма на перенесенную тотальную гипоксию. Автор выполненного исследования, наряду с другими, патогенез нарастающей лимфоцитопении связывала с усиленным лимфоцитоллизом, обусловленным постстрессовым гиперглюкокортицизмом [166] и подавлением пролиферативных процессов в костном мозге [167]. В свою очередь, повышенный выброс глюкокортикоидных гормонов увеличивал лизис лимфоцитов, ограничивал их поступление из лимфатических узлов в лимфу грудного протока, а оттуда в кровь [168]. Кроме того, еще одним, но достаточно вероятным механизмом развития лимфоцитопении, по-видимому, является усиленная миграция лимфоцитов в костный мозг [166, 168], чему может способствовать гиперкатехоламинемия путем воздействия на β -адренорецепторы этих агранулоцитов [169]. В этом случае вполне закономерным ответом со стороны клеток крови может стать нейтрофилез, который, по-видимому, может приобрести компенсаторное значение.

Определяемые однотипные изменения со стороны клеток белой крови во всех опытных группах (с моделированием иммобилизации и гипоксии), где проводилась терапия МВ фетальных тканей, возможно, характеризует активацию факторов неспецифической реактивности и резистентности организма. По мнению Айтбаевой Ж.Б. [165], после стресса смещение клеточных популяций по данным

лейкоцитарной формулы следует расценивать как реакцию активации общих механизмов адаптации организма на повреждение.

Анализ результатов показал, что к моменту завершения экспериментов в опытной группе, где применялись МВ содержание эритроцитов крови превышало аналогичный показатель интактных и контрольных животных ($p < 0,05$ и $p_1 < 0,05$) и было равным $6,95 \pm 0,33 \times 10^{12}/л$. На фоне проводимой терапии выявлялся более выраженный ретикулоцитоз. Так, на 12-й день наблюдений процентное содержание предшественников зрелых эритроцитов равнялось $11,24 \pm 0,17\%$. Это было больше показателей, зарегистрированных в группах сравнения ($p < 0,05$ и $p_1 < 0,05$).

Другие параметры, характеризующие физико-химические свойства клеток красной крови (ширина распределения эритроцитоз, среднее содержание гемоглобина в эритроците, эритроцитарная концентрация гемоглобина), а также концентрация гемоглобина в единице объема крови оставались без изменений.

Таким образом, выявляемый в данной группе ретикулоцитоз и вторичный эритроцитоз оказался значительно более выраженным, чем в контроле. В свою очередь, это позволило нам высказать предположение о том, что МВ фетальных тканей повышали регенераторную функцию костного, усиливая адаптационные возможности и восстановительные реакции организма при действии стрессора гипоксической природы.

Наконец, отсутствие изменений со стороны тромбоцитов крови мы расценивали в качестве позитивного факта, в противном случае, при проведении терапии МВ можно было бы ожидать развития гемостазиологических нарушений.

Применение МВ фетальных тканей также оказывало позитивное влияние на интегративную деятельность животных, у которых моделировали стресс путем многократного воздействия факторов экзогенной гипобарической гипоксии. У животных опытной группы значительно увеличивались сроки сохранения условного рефлекса пассивного избегания. В течение всего периода исследований время пребывания в безопасной части экспериментальной установки было практически большим, чем в контроле, выше оказался процент животных, полностью воспроизводивших навыки условнорефлекторной деятельности. Так, результаты исследований показали, что опытные животные проводили в безопасной части камеры больше времени, чем контрольные крысы начиная с первого дня и до конца исследований. Достоверные различия между сравниваемыми группами по данному показателю были зарегистрированы на 3-и, 15-е, 25-е и 30-е сутки наблюдений ($p < 0,05$). МВ фетальных тканей способствовали увеличению количества крыс, полностью воспризводивших рефлекс пассивного избегания. Если в контрольной группе через 24 часа после выработки рефлекса количество крыс, способных находится в светлой части камеры в течение 180 с составляло 20%, то в опытной группе таких животных было в 2 раза больше. На последующих этапах проведения экспериментов крысы контрольной группы утратили способность полностью воспризводить навык пассивного избегания. В то же время в опытной группе изучаемый показатель в текущие сроки наблюдений изменялся от 20% до 60%.

Как выяснилось в последние годы, помимо прямых продуктов стресс-системы, в стресс-реакцию вовлечены также вещества, потенцирующие или опосредующие эффекты стресс-системы, механизм действия которых пока мало изучен. К этим веществам в первую очередь относят цитокины, нейропептиды, субстанция Р и др. [150, 151, 152]. Кроме того, есть данные о снижении уровня стволовых клеток в ЦНС при стрессе. В потомстве крыс, подвергавшихся стрессорным воздействиям с 15-го дня беременности и до родов (иммобилизация в течение 45 минут 3 раза в день), обнаружено снижение пролиферативной активности и уменьшение числа нейронов в зубчатой фасции гиппокампа, что приводило к более низкой обучаемости крыс [170].

В свете современных представлений о патогенезе стресса очевидна целесообразность сочетанного применения средств, обладающих способностью восстанавливать физиологические функции центральной нервной системы и поддерживать активность биохимических процессов организма [171].

Одним из путей коррекции негативных последствий гипоксии является использование регуляторных пептидов, в частности трипептид семейства глипролинов PGP. Данный трипептид обладает антигипоксическим действием, высокой нейропротективной активностью, а также положительно влияет на нарушенный гомеостаз организма [132].

Во многих работах указываются факты, свидетельствующие о том, что в регуляторном влиянии нейропептидов на нервную систему важную роль играет нейромодуляция, механизм которой требует дальнейшего изучения. К основным механизмам нейромодуляции следует отнести регуляцию нейропептидами активности ферментов синаптического звена путем прямого взаимодействия пептидного лиганда с макромолекулой фермента [172, 173, 174, 175, 176].

Помимо этого, нейропептиды были способны регулировать ионную проницаемость мембраны, взаимодействуя непосредственно с молекулой ионного канала или образуя ионный канал при непосредственном внедрении молекулы нейропептида в липидный матрикс, что также приводит к модуляции реакции нервной клетки на нейротрансмиттер. И, наконец, мишенью действия пептидного модулятора может быть молекула как «классического», так и пептидного нейротрансмиттера, с которой нейропептиды могут образовывать нековалентный комплекс, что ведет к изменению реакции постсинаптической клетки [177, 178].

Экспериментально установлено, что аналог эндогенного нейролептика нейротензина дилепт способствует улучшению условного рефлекса пассивного избегания в условиях его исходного дефицита, а также снижает выраженность амнестического действия электрошока. Указывается на перспективность лечения негативных симптомов шизофрении и психотических расстройств при болезни Альцгеймера [179].

Пептиды костного мозга оказывают стресс-лимитирующее действие при некоторых видах стресса, реализуемое через опиоидные рецепторы. При этом обнаружены 2 группы опиоидных пептидов. Первая включает прометэнкефалин,

метэнкефалин и семейство эндорфинов. Во вторую входят лейэнкефалин и более крупные – неозндорфин и динорфинсодержащие пептиды [180, 181, 182, 183, 184].

В то же время сведения, представленные во многих литературных источниках, говорят в пользу применения фетально-клеточных препаратов в лечении заболеваний нервной системы. Фетальные клетки за счет стволовых и бластных популяций секретируют в организме реципиента уникальный комплекс цитокинов и ростовых тканеспецифических факторов, которые стимулируют регенерацию поврежденных тканей человека [29, 30, 31, 32].

При получении взвеси фетальных гепатоцитов в качестве надосадочной жидкости выделяют субстрат, содержащий в себе белково-пептидный комплекс. Установлено, что в состав «медиаторных веществ» входят белково-пептидные комплексы с молекулярной массой от 7,5 кД до 79 кД, которые включают в себя: ТТГ, ФСГ, ПРЛ, ЛГ, эстрадиол, прогестерон, тестостерон, инсулин), альфа-фетопротеин, факторы роста, пептиды, цитокины, иммуноглобулины, электролиты и др. [11]. В этой связи представляется перспективным применение суммарного экстракта биологически активных веществ, выделенных в процессе приготовления взвесей фетальных клеток на функциональное состояние центральной нервной системы, в частности коры головного мозга, при различных видах стресса.

Учитывая, что в экспериментальных исследованиях показатели условного рефлекса пассивного избегания служат для оценки состояния кратковременной и долгосрочной памяти, мы имеем возможность высказать предположения следующего характера. Улучшение мнестической функции головного мозга, вероятно, связано с трофическим влиянием на нервную систему поступающего в организм в составе МВ фетальных тканей комплекса биологически активных веществ. Вполне допустимо, что при введении МВ нормализация функций ЦНС происходит путем изменения метаболических процессов, которые носили адаптивный тип направленности, о чем свидетельствовали представленные ранее результаты исследований.

Таким образом, терапия «медиаторными веществами» фетальных клеток способствует во восстановлению условнорефлекторной активности экспериментальных животных, что говорит о положительном влиянии МВ на течение адаптивных процессов в головном мозге. Как известно, адаптивные процессы в мозге позволяют организму функционировать зачастую в абсолютно новых, неизвестных ему условиях. Это в свою очередь требует «дестабилизации» существующих на данный момент гомеостатических и детерминистских церебральных систем. В любой неоднозначной или новой ситуации мозг благодаря способности к самоорганизации генерирует паттерны новой активности (новые формы поведения). При этом существует механизм, который готовит сенсорные и моторные системы к реакциям на новые воздействия окружающей среды за счет хаотического прерывания паттернов «старой» привычной активности и детерминистского образования «акцептора результатов действия» (по П.К.Анохину) [153]. Изучение морфологической картины в органах-мишенях, которые, в первую очередь, подвергаются изменениям при действии стрессоров различного

происхождения, послужило еще одним доказательством тому, что МВ фетальных тканей позитивно влияют на течение стресс-реакции организма.

Несмотря на то, что степень выраженности нарушений в коре больших полушарий и надпочечниках оказалась более значительной при развитии гипоксического стресса, нежели при иммобилизации, тем не менее, в обоих случаях МВ способствовали минимизации повреждений тканей в исследуемых органах. Так, при использовании МВ в группе животных, которые испытали действие стрессора гипоксической природы на 6-е и 12-е сутки исследований обнаруживали лишь незначительное полнокровие сосудов поверхности мозга. Во внутримозговой сосудисто-капиллярной системе наблюдались единичные диapedезные кровоизлияния, явлений плазморрагии обнаружено не было. Признаки гидратации мозга, а также степень расширения перикапиллярных и перичеллюлярных пространств оказались меньше, чем в контроле. Кроме того, отсутствовали явления гипертрофии клеток коры и делипоидизации коркового вещества надпочечников. Одновременно снижалась выраженность дистрофических процессов в клубочковой, пучковой и сетчатой зонах. Без изменений оставались ядерно-цитоплазматические соотношения. Объемы клеток и ширина пучковой зоны коры, а также мозгового вещества не имели достоверных изменений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резюмируя результаты собственных исследований и критически оценивая литературные данные, можно прийти к заключению о том, что МВ фетальных тканей способны уменьшать выраженность общих реакций на повреждение, а следовательно, облегчать протекание стресса, в частности, вызываемого иммобилизацией или воздействием факторов экзогенной гипоксии. Мы полагаем, что реализация позитивного эффекта суммарного экстракта биологически активных веществ, выделенных в процессе приготовления взвесей фетальных клеток, может осуществляться двумя путями. При этом одним из действенных механизмов, вероятно, становится изменение направленности метаболизма, а также модификация реакций неспецифической реактивности и резистентности, что выражается активацией адаптивных процессов организма. В свою очередь, это благоприятно сказывается на восстановлении интегративных функций ЦНС. Допустим, с нашей точки зрения, и другой характер включения и развертывания адаптивных реакций организма, подвергшегося действию различных видов стрессоров. Так, под влиянием поступившего в организм комплекса биологически активных веществ супернатанта фетальных тканей первично происходит нормализация функции ЦНС. При этом восстанавливаются механизмы нервной регуляции, контроля и обеспечения гомеостаза, которые, в силу возникших потребностей, специфически изменяют направленность метаболических процессов, тем самым повышают степень надежности компенсаторных и приспособительных реакций организма.

В целом выявленные свойства МВ фетальных тканей можно обозначить как антистрессорные. По-видимому, антистрессорная активность МВ обусловлена действием комплекса биологически активных белков и пептидов (гормонов,

цитокинов и др.), гармонично созданных природой для защиты развивающегося плода от внешних стрессовых воздействий, а доказанные ранее иммуномодулирующие, противовоспалительные, антиоксидантные, мембраностимулирующие свойства МВ указывают на их способность комплексно воздействовать на различные звенья гомеостаза [5, 6, 11,110, 111].

Установленные нами закономерности лишь подтверждают факт необходимости развития исследований по двум направлениям, одно из которых состоит в патогенетическом обосновании применения клеточных масс фетальных тканей, а другое - в определении терапевтических возможностей МВ фетальных тканей. В дальнейшем, при условии решения многих фундаментальных проблем, связанных с использованием фетально-клеточной терапии, можно было бы определить практически неограниченные источники получения биогенных стимуляторов с полипотентными свойствами.

Исходя из всего вышеизложенного, нами сделаны следующие выводы:

1. «Медиаторные вещества» фетальной ткани печени способствовали однонаправленному изменению общих реакций организма на повреждение путем повышения степени надежности адаптивных механизмов, что обеспечивало более благоприятное течение стресса, вызванного иммобилизацией и гипоксией.

2. Применение «медиаторных веществ» фетальных клеток печени у животных, перенесших длительную иммобилизацию, повышало активность ЩФ и трансаминазных энзимов со значительным изменением соотношения АЛТ и АСТ в сторону последнего в период с 6-го по 9-й день выполнения экспериментов, улучшало показатели обмена триглицеридов, способствовало нормализации содержания лейкоцитов крови с развитием лимфоцитопении, увеличению содержания ретикулоцитов, а также степени насыщения эритроцитов гемоглобином к 12-м суткам наблюдений.

3. «Медиаторные вещества» фетальных клеток при действии стрессоров гипоксической природы обеспечивали формирование характерной динамики ферментемии со значительным превышением активности АСТ по сравнению с АЛТ, а также увеличение активности ЩФ к моменту завершения наблюдений (12-е сутки эксперимента), способствовали нормализации концентрации глюкозы, триглицеридов, билирубина и других метаболитов крови. При этом на фоне нормального содержания лейкоцитов изменилось соотношение форменных элементов крови с развитием лимфоцитопении и более выраженными явлениями вторичного эритроцитоза и ретикулоцитоза.

4. У животных, подвергшихся различным видам стресса, «медиаторные вещества» фетальных клеток улучшали выработку и воспроизведение УРПИ, а также увеличивали сроки сохранения приобретенного навыка пассивного избегания, повышали процент животных, полностью воспроизводивших навыки условнорефлекторной деятельности, что служило свидетельством нормализации когнитивных функций ЦНС.

5. Эффективность «медиаторных веществ» фетальных клеток подтверждалась улучшением морфофункционального состояния коры больших полушарий мозга и надпочечников животных, в которых при стрессе гипоксической природы были обнаружены более грубые признаки повреждений тканей, нежели при иммобилизации. При этом «медиаторные вещества» фетальной ткани печени способствовали развитию незначительного полнокровия сосудов поверхности мозга, появлению единичных диапедезных кровоизлияний во внутримозговой капиллярной сети, снижению степени гидратации мозга, а также уменьшали признаки гипертрофии клеток и делипоидизации коркового вещества надпочечников и снижали выраженность дистрофических процессов в коре надпочечников.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Доскалиев Ж.А., Стикеева Р.К., Букеева Ж.К. Биологическая активность медиаторов фетальных гепатоцитов //Астана медициналык журналы. - 2006. №3 (35).- С. 128-130
- 2 Стикеева Р.К. Дозазависимость терапевтического действия «медиаторов» фетальных клеток человека //Тезисы 1 евразийского конгресса по фармакоэкономике и управлению качеством медицинской помощи.-Астана 2007.-С.60
- 3 Доскалиев Ж.А., Мустафин А.Х., Жетимкаринова А.Д., Стикеева Р.К., Конакбай Б.К., Сексембаева К.К. Состояние симпатико-адреналовой системы после обширных резекций печени с трансплантацией медиаторов фетоткани //Астана мед. журн.- 2006.- №2.- С.154-155.
- 4 Конакбай Б.К. Роль клеточных медиаторов в комплексном лечении синдрома эндогенной интоксикации у больных с осложненными формами эхинококкоза //Автореферат на соиск. ст. канд. мед. наук.- Астана, 2007.- 20с.
- 5 Жетимкаринова А.Д., Стикеева Р.К., Каюпов Б.А., Кушенова С.Ж. Биологически активные медиаторы фетальных органопрепаратов в стресс-протекции послеоперационной печеночной недостаточности //Росс. журн. гастроэнтер., гепатол., колопрокт.- 2007.- №29.- С..
- 6 Доскалиев Ж.А., Асабаев А.Ш., Жетимкаринова А.Д., Стикеева Р.К. и др. Медиаторные вещества фетальной печени в иммуноориентированной терапии послеоперационной печеночной недостаточности //Росс. журн. гастроэнтер., гепатол., колопрокт.- 2007.- №29.- С.4.
- 7 Селье Г. Стресс без дистресса //Пер. с англ. - М.: Прогресс,1979. - 124 с.
- 8 Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии (продолжение) //Патол. физиол. и эксперим. терапия.- 2000.- №3.- С.20-26.
- 9 Ведяев Ф.П., Воробьева Т.М. Модели и механизмы эмоциональных стрессов //Здоровья, Киев, 1983. - 135 с.
- 10 Юматов Е.А. Моделирование конфликтного зоосоциального поведения у крыс в лабиринте //Модель и методы изучения экспериментальных стрессов.- Волгоград, 1977.-С.32-33.
- 11 Жетимкаринова А.Д. Антистрессорная защита клеточными медиаторами при высоком операционно-анестезиологическом риске (экспериментально-клиническая работа) //Автореферат на соиск. уч. степ.докт. мед. наук.- Астана, 2008.- 40 с.
- 12 Лобов В.В., Поспелов В.С., Конвай В.Д., Казакова А.В. Изменение инкреторной функции поджелудочной железы и сопряженных с ней метаболических процессов при нарушении регуляции секреции кортикостероидов в постреанимационном периоде //Патофизиология терминальных состояний. – Омск, 1989.- С. 57-65.

- 13 Miles Philip D.G., Yamatani Keiichi, Lavina H. et al. Mechanism of glucoregulatory responses to stress and their deficiency in diabetes //Proc. Nat. Acad. Sci. USA.-1988.-Vol.88,№4.-P.1296-1300.
- 14 Волков А.В., Трубина И.Е., Новодержкина И.С. и др. Изменения некоторых гемодинамических и эндокринно-метаболических показателей в раннем постреанимационном периоде //Бюл. эксперим. биол. и медицины. – 1979. – Т.87, №1.- С. 3-6.
- 15 Репин В.С. Трансплантация клеток: новые реальности в медицине //Бюл. Эксперим. Биол. И медицины.- 1998.- Т.126. приложение 1.- С.14-27.
- 16 Трансплантация криоконсервированных эмбриональных клеток – новые реальности в медицине: //alex. Webest. Com.
- 17 Репин В.С., Сухих Г.Т. Медицинская клеточная биология //М. Медицина.- 1998.- 200 с.
- 18 Сухих Г.Т. Трансплантация фетальных клеток в медицине: настоящее и будущее //Бюл. Эксперим. Биол. и медицины.- 1998.- Т. 126. Приложение 1.- С. 3-13.
- 19 Кулаков В.И., Сухих Г.Т., Молнар Е.М. Трансплантация фетальных клеток человека.- М., 1996.- С. 5-9.
- 20 Волошин П.В., Грищенко В.И., Черненко В.Г. и др. Предварительная оценка результатов метода трансплантации эмбриональных тканей в неврологии //Бюлл. эксперим. биол. и мед.- 1998.- Т126.- Приложение 1.- С.126-127.
- 21 Jacob Francois. Le monde des cellules souches: Докл. [Reu de l'Academie des sciences "Cellules et therapie cellulaire". Paris. 25-27 mars, 2002] //Acad.sci., Paris. - 2002.- 325.N10 .- С.999-1002.- Франц.
- 22 Молдавская А.А., Федорова Н.Н. Современные тенденции в развитии эмбриологии //Морфология.- 2000.- №3.- С.84.
- 23 Holiday R. Senescence of dividing somatic cells //Stem Cell Biology. -2001. - С.95-109. - Англ.
- 24 Руденко В.А., Лисянный Н.И., Цымбалюк В.И. и др. Динамика показателей клеточного иммунитета и нейроаутоиммунных реакций у больных детским церебральным параличом на этапах восстановительного лечения с использованием эмбриональной нервной ткани //Бюлл. эксперим. биол. и мед.- 1998.- Т126.- Приложение 1.- С.59-60
- 25 Репин В.С., Ржанинова А.А., Шаменков Д.А. Эмбриональные стволовые клетки: фундаментальная биология и медицина.- М., «Реметэкс»- 2002.- С.180.
- 26 Лобынцева Г.С., Вотякова И.А., Климова Е.М. Обоснование и практические результаты применения эмбриональных препаратов в клинической практике: Докл. [Всеукраинская научная конференция «Успехи и перспективы развития криобиологии криомедицины», Харьков, 27-29 нояб., 2001 //Пробл. криобиол. - 2001.-№3.- С.33, 129.
- 27 Чертков И.Л., Дризе Н.И. Дифференцировочный потенциал стволовых клеток (проблема пластичности) //Вестн. РАМН.- 2005.- №10.- Р.37-44.

- 28 Грачев С.В., Городонова Е.А., Олферьев А.М. Научные исследования в биомедицине //М. «Мед. информ. агентство». – 2005.
- 29 Шевченко Ю.Л. Медико-биологические и физиологические основы клеточных технологий в сердечно-сосудистой хирургии //С-Петербург. «Наука».- 2006. - 238 с.
- 30 Накатоми Х. Стволовые клетки как метод лечения //В мире науки. - 2003.- №12.- С.24-28..
- 31 Сухих Г.Т., Богданова И.М., Малайцев В.В., Фисенко А.П. Иммунологические аспекты трансплантации фетальных клеток //Бюллетень эксперим. биол. и мед.- 1998.- Т.126, прил.1.- С.178-181.
- 32 Грищенко В.И., Гольцев А.Н. Трансплантация продуктов эмбриофетального комплекса. От понимания механизмов действия к повышению эффективности применения //Проблемы криобиологии.- 2002.- №1.- С.54-84.
- 33 Суббота Н. П. Проблемы современной биологической медицины //Проблемы криобиологии.- 1997.- № 4.- С. 3-14.
- 34 Цымбалюк В.И., Васильева И.Г., Пичкур Л.Д. и др. Содержание нейромедиаторов в субарахноидальном ликворе больных с детским церебральным параличом и влияние на него трансплантации эмбриональной нервной ткани //Бюлл. эксперим. биол. и мед.- 1998.- Т126.- Приложение 1.- С.53-54.
- 35 Голдобина А.В., Колесникова Л.И., Никифоров С.Б. Сравнительная оценка антиоксидантного препарата диквертина и комплекса фетальных тканей при лечении больных коронарным атеросклерозом //Бюлл. эксперим. биол. и мед.- 1998.- Т126.- Приложение 1.- С.165-166
- 36 Hogan V. Primordial germ cells as stem clls //Stem Cell Biology.- Cold Spring Harbor, 2001.- С.189-204.- Англ.
- 37 Bishop A.E., Butteri Lee D.K. Embrionic stem cells //J. Pathol.- 2002.- 197. N4.-С. 424-429.- Англ.
- 38 Тажибаева Д.С., Кабдуалиева Н.Б., Айтбаева Ж.Б. и др. Патогенетическое обоснование применения клеточной терапии //Материалы Российской межрегиональной конференции с международным участием «Морфофункциональные аспекты нормы и патологии».- Уфа. 2008.- С.-25-28.
- 39 Полежаев Л.В., Александрова М.А., Витвицкий В.Н., Черкасова М.В. //Трансплантация ткани мозга в биологии и медицине – М., 1993.- 342 с.
- 40 Waschek J., Lelievre V.,Hu Z. et al PACAP action in nervous system development and Re-generation //Neuropeptides.- 2002.- N5.- С.375.- Англ.
- 41 Тажибаева Д.С., Кабдуалиева Н.Б., Айтбаева Ж.Б. и др. Клеточные биотехнологии в лечении нейродегенеративных заболеваний //Валеология.- 2007.- №1.- С. 81-86;
- 42 Тажибаева Д.С., Кабдуалиева Н.Б., Айтбаева Ж.Б. и др. Клеточные биотехнологии в неврологии //Валеология.- 2007.

- 43 Суббота Н. П., Грищенко В. И. Кримоконсервированные клетки и ткани плодов человека как источник трансплантационного материала //Кримобиология.- 1991.- № 1.- С. 3-8.
- 44 Грищенко В. И., Лобынцева Г. С., Вотякова И. А., Шерешков С. И. Гемопоэтические клетки эмбриональной печени.- Киев: Наук. думка.- 1988.- 192 с.
- 45 Александрова М.А., Сабурова И.Н., Полтавцева Р.А. и др. Миграция и развитие нейральных стволовых клеток человека при трансплантации в мозг крыс //Цитология .- 2001.- №2.- С. 838-840.
- 46 Семченко В.В., Еренев С.И., Маковецкий К.К. Порог судорожной активности мозга и показатели высшей нервной деятельности в постреанимационном периоде при внутримозговой аллотрансплантации ткани эмбрионального неокортекса //Бюлл.эксперим.биол.и мед.- 1996.- №2.- С. 234-237
- 47 Сапронов Н.С. Федотова Ю.О. Влияние гемизекстирпации половых желез на условно-рефлекторное поведение избегания у крыс обоего пола //Патол. физиол. и эксперим. терапия.- 2002.- №1.- С.8-12.
- 48 Тажибаева Д.С. Патогенетическое обоснование клеточной терапии для профилактики и лечения постреанимационной болезни (экспериментальное исследование) //Диссертация на соискание ученой степени доктора мед. наук. Астана, 2005.
- 49 Станков Д.С., Катунян П.И., Крашенинников М.Е., Онищенко Н.А. Нейротрансплантация в лечении травмы спинного мозга //Вестн. трансплант. и искусств. органов. - 2003.- №1. - С.44-52.
- 50 Урюмов М.В., Коновалов А.Н., Гусев Е.И. Итоги и перспективы клеточных технологий в лечении неврологических заболеваний //Вестн. РАМН. - 2004.- №11.- С.8-11.
- 51 Cesaro P. The design of clinical trials for cell transplantation into the central nervous system //J. Am. Soc. Exp. Neuro Ther.- 2004.- V.1.- P.492-499.- Англ.
- 52 Lindvall O., Bjorklund A. Cell therapy in Parkinson's disease //J. Am. Soc. Exp. Neuro Ther. - 2004.- V.1.- V.382-393. - Англ.
- 53 Яблонская М.И., Алферова В.В., Гребенникова Н.В. и др. Изменение психофизиологических функций у детей раннего возраста с синдромом Дауна под влиянием терапии фетальными тканями человека //Бюлл. эксперим. биол. и мед.- 1998.- том 126.- Прил 1.- С.47-53.
- 54 Островская Т.И., Артишевский А.А., Гайдук В.С. и др. Информационные характеристики популяций клеток нервной и эндокринной систем в эмбриогенезе человека и млекопитающих //Морфология. - 2003.- №2-3.- С.118.
- 55 Корочкин Л.И. Стволовые клетки в нейрогенетике //Генетика.- 2004.- №6.- С.767-793.
- 56 Reier P.J. Cellular transplantation strategies for spinal cord injury and transplantation neurobiology //J.Am.Soc.Exp.Neuro Ther. - 2004.- V.1.- V.424-451. - Англ.

- 57 Rossi F., Cattaneo E. Neural stem cell therapy for neurological diseases: dreams and reality //Nature Neurosci.- 2002. - V.3 - P.401-409. - Англ.
- 58 Бруслик В.Г. Трансплантация изолированных клеток аллогенной печени в лечении острой печеночной недостаточности //Дис. д-ра мед. наук.-М., 1984.
- 59 Корухов Н.Ю. Создание аппарата “вспомогательная печень” и его применение в комплексном интенсивном лечении острой печеночной недостаточности: //Дис. ... д-ра мед. Наук.-М., 1989.
- 60 Kane R.E. et al. //Ibid.- P.30.
- 61 Nose J. et al. //Artificial Liver Support.- London, 1975.- P. 342
- 62 Eiseman B. et al. //Surg. Gynec. Obstet.- 1966.-Vol. 123. N 3.-P.522
- 63 La Bregue D.R. et al. //G. Physiol.(Lond).-1975.- Vol.248.-P.273
- 64 Jamomoto T. et al. //Ibid.- 1989.- Vol.13.- N 2.-P.103
- 65 Nose J //Art Organs 1989 Vol 13 N P 415
- 66 Sep P. //Surqery.-1966.- Vol. 59. N 5.- P. 774
- 67 Батанов А.Н., Эберт Л.Я., Димов П.Г. и др. Влияние трансплантации фетальных тканей на репаративные процессы при экспериментальном циррозе печени //Бюл. Эксперим. Биол. и медицины.- 2000.- №8.- С. 216-219.
- 68 Грищенко В.И., Суббота Н.П., Питько В.А. Имплантация фетальных препаратов как альтернатива трансплантации органов и тканей: //Тезисы докл. II росс. Конгресса по патофизиологии.- Москва, 9-12 октября 2000.-С. 315-316.
- 69 Омарова К.П. Патогенетическое обоснование пересадки эмбриональных гепатоцитов при различных формах печеночной недостаточности: //автореф. Дис. Докт мед. Наук: 30.03.01.- Актобе: ЗКГМА, 2001.- 37с.
- 70 Калиаскарова К.С. опыт применения фетальных гепатоцитов при циррозе печени //Астана медициналык журналы. №1, 2004, С.111-113.
- 71 Доскалиев Ж.А., Ескараев Б.Ш., Калиаскарова К.С. Трансплантация эмбриональных печеночных клеток в цирротическую печень в условиях хирургического отделения 2 городской больницы г. Астаны //Сб. науч. трудов, посвященных 70-летию профессора Н.В. Мун. Проблемы хирургической патологии. Астана, 2001, 21с.
- 72 Доскалиев Ж.А., Ескараев Б.Ш., Калиаскарова К.С.Опыт трансплантации эмбриональных гепатоцитов больным циррозом печени //Материалы Седьмой Российской конф. “Гепатология сегодня”. Москва, 2002. 40 с.
- 73 Доскалиев Ж.А., Ескараев Б.Ш., Калиаскарова К.С.Случай ближайшего наблюдения за больным в терминальной стадии цирроза печени после трансплантации эмбриональных гепатоцитов в цирротическую печень //Сб. науч. трудов, посвященных 70-летию профессора Н.В.Мун. Проблемы хирургической патологии. Астана, 2001, 20 с.
- 74 Жусупова А.С., Жумабекова Ш.К., Сыздыкова Б.Р., Умербаева С.М., Идрисова С.Ш., Калиев Е.Н., Даржуманова К.М. Перспективы развития неврологической службы //Клиническая медицина Казахстана. - 2004. - №1(1). - С.14-15.
- 75 Ульянова Л.В. Особенности метаболизма печеночной ткани крыс под

- влиянием трансплантации фетальных гепатоцитов при диффузных поражениях печени //автореф. канд.мед.наук: 16.12.2006.- Астана: КазГМА, 2006.- 22 с.
- 76 Абдрахманова Б.Е. Влияние трансплантации фетальных гепатоцитов на систему гемостаза при остром и хроническом токсическом гепатите // автореф. канд.мед.наук: 28.05.2008.- Астана: КазГМА, 2008.- 26 с.
- 77 Алиев М.А., Доскалиев Ж.А., Омарова К.П. и др. Первые результаты пересадки эмбриональных гепатоцитов в эксперименте //Казакстан медицина журналы. -2000.-№2. - С.85-88.
- 78 Доскалиев Ж.А. и др. Исследование динамики ферментных индикаторов цитолиза на модели острого токсического гепатита, регулируемого трансплантацией фетальных медиаторов // X/Международной конференции хирургов-гепатологов России и стран СНГ.- Алматы.-2006.
- 79 Подгорный О.В., Хейцеф И.В., Александрова М.А. и др. Нормализация поведения крыс после гипоксии нейральными стволовыми клетками человека //Бюл. эксперим. биол. и медицины.- 2004.- Т.137, №4.-С. 394-398.
- 80 Кулаков В.И., Барашнев Ю.И., Рымарева О.Н. и др. Фетальные ткани мозга человека в лечении гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных и детей раннего возраста //Бюл. эксперим. биол. и медицины.- 1998.- Т.126. Приложение 1.- С.36-46.
- 81 Ерениев С.И., Селедцов В.И., Синюков В.В. и др. Трансплантация эмбриональной нервной ткани при коматозных состояниях после тяжелой черепно-мозговой травмы //Нейрореанимация и нейрореабилитация.- Омск, 1999.- С. 21-22.
- 82 Рабинович С.С., Тарабан В.Я., Самарин Д.М. и др. Опыт лечения коматозных состояний методом трансплантация клеток фетальной нервной ткани //Бюл. эксперим. биол. и медицины.- 1998.- Т.126. Приложение 1.-С. 166-167.
- 83 Масчан А.А., Скоробогатова Е.В., Кравченко Е.Г. и др. Результаты трансплантация стволовых клеток у детей с анемией Фанкони //Гематол. и трансфузиол.-2002.- Т. 47.-№6.-С.3-6.
- 84 Селедцова Г.В., Селедцов В.И., Авдеев И.В. и др. Эффект «трансплантат против лейкемии» в условиях смешанного химерного кроветворения //Бюл. эксперим. биол. и медицина.- 1997.-№5.- С. 562-565.
- 85 Дризе Н.И., Чертков И.Л. Влияние введения мышам цитокинов (Г-КСФ и ФСК) на клетки-предшественники кроветворной стромы //Бюл. Эксперим. Биол. и медицины.-1998.- Т.125, №2.-204-206.
- 86 Вавилов А.Г., Галибин О.В., Махновский А.И. Успешная трасплантация эмбриональной надпочечниковой недостаточностью после двухсторонней супраренэтомии //Вестник интенсивной терапии.- 1998.- №1.- С. 17-18.
- 87 Кулаков В.И., Алиханова З.М. Клинический опыт применения фетальных тканей у женщин репродуктивного возраста с синдромом после двухсторонней овариэктомии //Бюл. эксперим. биол. и медицины.- 1998.- Т.126. Приложение 1.- С. 131.

- 88 Моисеева А.Я., Самарин Д.М., Кустов С.М. и др. Опыт применения трансплантационной фетальной терапии в гинекологической практике при лечении рубцовоспаечных процессов //Бюл. эксперим. биол. и медицины.- 1998.- Т.126. Приложение 1.- С. 129.
- 89 Яковлева А.Ф., Гриценко В.И., Губина-Вакулик Г.И. и др. Влияние имплантации плацентарной ткани на морфофункциональное состояние плаценты крысы //Бюл. эксперим. биол. и медицины.- 1998.-№8.- 225-227.
- 90 Кулаков В.И., Адамян Л.В., Аскольская С.И. Терапия фетальными тканями больных после гистерэктомии // Бюл. эксперим. биол. и медицины.- 1998.- Т.126. Приложение 1.- С. 171-173.
- 91 Ченцова Е.В., Петриашвили Г.Г., Арутюнова И.Р. и др. Трансплантация фетальных клеток роговицы человека при различных заболеваниях переднего отрезка глаза //Бюл. эксперим. биол. и медицины.- 1998.- Т.126. Приложение 1.- С. 132-133.
- 92 Малахов О.А., Блидченко Ю.А., Кожевников О.В. и др. Опыт применения гомогената эмбриональной костной ткани для стимуляции остеорепарации при хирургической коррекции врожденного укорочения конечностей у детей //Бюл. эксперим. биол. и медицины.- 1998.- Т.126. Приложение 1.- С. 149-153.
- 93 Кушенова С.Ж. Клеточные медиаторы в комплексной терапии послеоперационного синдрома ДВС: //автореф.канд.мед.наук: Астана-2007г.
- 94 Шваб О.В., Тришкин С.В., Демушкин В.П. Хроматографический анализ пептидов фетальных тканей //Бюлл. эксперим. биол. и мед.- 1998.- Т.126, прил.1.- С.191-192.
- 95 Родионов С.Ю., Татьков С.И., Пак Н.А. Исследование влияния гомогената куриных эмбрионов на рост и метастазирование саркомы Плиса у крыс //Вопр. онкол. – 1996.- №2.- С.197-199.
- 96 Дисюкеева Е.П. Изучение состава и молекулярной массы белково-пептидных фракций «медиаторов» фетальных клеток человека //Астана мед. журн.- 2008.- №2.- С.56-58.
- 97 Терентьев А.А., Молдогазиева Н.Т. Структурно-функциональное картирование α -фетопротеина //Биохимия.- 2006.- Т.71, вып.2.- С.157-172.
- 98 Keel B. A., Eddy K.B., Cho S., May J.V. Human α -fetoprotein purified from amniotic fluid enhances growth factor-mediated cell proliferation in vitro //Mol. Reprod. Dev. - 1991. - V.30. - N2.- P.112.-118.- Англ.
- 99 Leal J.A., May J.V., Keel B. A. Human α -fetoprotein enhances epidermal growth factor proliferative activity upon porcine granulosa cells in monolayer culture //Endocrinol. - 1990. - V.126 – N1.- P.669-671.- Англ.
- 100 Стикеева Р.К. Противовоспалительное действие «медиаторных веществ» фетальных клеток //Вестник ЮКГМА-№3(36).
- 101 Стикеева Р.К. Функциональные особенности и механизмы действия цитокинов (обзор литературы) //Вестник науки-2007.-№4-С.156-160.
- 102 Сткеева Р.К. Возможности биологической регуляции гомеостаза (обзор литературы) //Вестник ЮКГМА-№3(36).

- 103 Доскалий Ж.А., Стикеева Р.К., Жетимкаринова А.Д., Букеева Ж.К. Терапевтическое действие медиаторов фетальных клеток при лечении экспериментального токсического гепатита у крыс //Валеология.- 2007.- №1.- С. 36-38.
- 104 Тажибаева Д.С., Стикеева Р.К., Букеева Ж.К. Влияние «медиаторных веществ» фетальных клеток на уровень маркеров цитолиза при хронической печеночной недостаточности у крыс //В материалах Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» 23 мая 2007г. -№3 (39).- С. 96-98.
- 105 Букеева Ж.К. Морфофункциональные изменения в печени под влиянием «медиаторов» фетальных клеток при парацетамоловом гепатите //«Вестник науки» КазГАТУ им. С.Сейфуллина. -2007 г. - №1 (44).-С.89-94.
- 106 Доскалий Ж.А., Стикеева Р.К., Букеева Ж.К. Исследование динамики ферментных индикаторов цитолиза на модели острого токсического гепатита, коррегируемого трансплантацией фетальных медиаторов //В материалах XIII Международной конференции хирургов-гепатологов России и стран СНГ.- Алматы.- 2006.- С. 44.
- 107 Доскалий Ж.А., Хамзина Н.К., Стикеева Р.К., Дисюкеева Е.П., Акполатова Г.М., Букеева Ж.К., Таржанова Д.Ш. Механизм действия «медиаторов» фетальных клеток //Валеология,-2008.-№1.-С.53-55.
- 108 Доскалий Ж.А., Стикеева Р.К., Букеева Ж.К. Биологическая активность медиаторов фетальных гепатоцитов //Астана медициналык журналы.- 2006.№3(35).- С. 128-130.
- 109 Стикеева Р.К. Влияние «медиаторов» фетальных клеток на состояние антиоксидантной системы организма при печеночной недостаточности //Валеология.- 2007.- №4.- С.57-59.
- 110 Стикеева Р.К., Дисюкеева Е.П., Букеева Ж.К. Цитокины и факторы роста играют важную роль в развитии печеночной недостаточности //Валеология.- 2007.- №4.- С.18-19.
- 111 Стикеева Р.К. «Медиаторы» фетальных клеток - новый класс гепатопротекторов //Клиническая медицина Казахстана – Астана. - 2007.- №2.- С.72.
- 112 Стикеева Р.К. Влияние «медиаторов» фетальных клеток на состояние липидного обмена при печеночной недостаточности //Астана медициналык журналы.- 2007. №9.- С. 179-181.
- 113 Доскалий Ж.А., Асабаев А.Ш., Жетимкаринова А.Д., Стикеева Р.К., Попова Н.В., Каюпов Б.А., Конакбай Б.К. Опыт применения клеточных медиаторов в иммунокоррекции панкреонекроза //Матер. XIV междунар. Конгресса хирургов-гепатологов стран СНГ.- С.-Петербург, 2007.- С.63.
- 114 Жетимкаринова А.Д., Стикеева Р.К., Каюпов Б.А., Кушенова С.Ж. Биологические активные медиаторы фетальных органопрепаратов в стресс-протекции послеоперационной печеночной недостаточности //Матер. XII Российской конфер. «Гепатология сегодня» - Москва, 2007.- С.19.

- 115 Zh.A. Doskhaliev, R.K.Stikeeva, A.D.Zhetimkarinova, Zh.K.Bukeeva Hepatoprotection effects of fetal cells mediators (тезисы) //The Fourth International Scientific Teleconference «New technology in medicine - 2007» - Saint-Petersburg.- 2007. Vol. 2. – № 1.-С. 34-35.
- 116 Доскалиев Ж.А., Григоревский В.П., Асабаев А.Ш., Жетимкаринова А.Д., Стикеева Р.К., Букеева Ж.К. и др.- Изменение ферментной системы печени крыс, при обширной ее резекции с трансплантацией супернатанта фетальной гепатоткани //Наука и здравоохранение.- 2006.-№2.- С.42.
- 117 Жетимкаринова А.Д. Клеточные медиаторы в стресс-протекции у пациентов с высоким операционно-анестезиологическим риском //Валеология-2007.-№2.- С.84-85.
- 118 Горохова В.Г., Кузнецова Э.Э., Горохов А.Г., Рунович А.А. Исследование состава белково-пептидного комплекса фетальных тканей человека и ювенильных тканей кролика //Бюлл. эксперим. и мед.- 2004.- №4.- С.423-425.
- 119 Рябчиков О.П., Кузнецова Л.В., Назимова С.В. и др. Гормональный и клеточный состав препаратов фетальных тканей человека //Бюлл. эксперим. биол. и мед.- 1998.- Т.126, прил.1.- С.156-157.
- 120 Судаков К.В. Системные механизмы эмоционального стресса.- М.- Мед.- 1981.- С.232.
- 121 Панин Л.Е. Биохимические механизмы стресса. – Новосибирск, Наука.- 1983.- 234 с.
- 122 Тарасенко Л.М., Непорада К.С., Скрыпник И.Н. и др. Зависимость реакции соединительной ткани на стресс от типологических свойств организма //Патол. физиол. и эксперим. терапия.- 2000.- №2.- С.17-19.
- 123 Ганнушкина И.В., Конорова И.Л., Вейко Н.Н. Длиннофрагментарная ДНК плазмы крови как один из критериев индивидуальной чувствительности к эмоциональному стрессу и церебральной ишемии //Психосоматическая и психическая патология как необходимые и взаимосвязанные части общей патологии человека //Патол. физиол. и эксперим. терапия.- 2006.- №3.- С.8-11.
- 124 Davidson R.J., Irwin W. The functional neuroanatomy of emotion affective style //Trends in Cognitive Sciences.- 1999.- Vol.3- N1.- P.112-124. - Англ.
- 125 Меерсон Ф.З., Заяц И.В., Белкина Л.М. Предупреждение нарушений сократительной функций сердца при инфаркте миокарда с помощью предварительной адаптации к коротким стрессорным воздействиям. //Патологическая физиология и экспериментальная терапия.-1985.-3.С.9-13.
- 126 Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика.-М.,1981.-202с.
- 127 Хитров Н.К., Салтыков А.Б. Психосоматическая и психическая патология как необходимые и взаимосвязанные части общей патологии человека //Патол. физиол. и эксперим. терапия.- 2003.- №3.- С.2-8.
- 128 Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии //Патол. физиол. и эксперим. терапия.- 2000.- №2.- С.24-31.
- 129 Крыжановский Г.Н. Дизрегуляторная патология. //Патол. физиол. изэксперим. тер.-2004.-№3-С.2-18.

- 130 Парохонский А.П. Нейроэндокриноиммунные механизмы боли и иммунитета //Паллиативная медицина и реабилитация. - 2005.- №1- С.55-57.
- 131 Имашева Б.С. Функциональное состояние головного мозга и клеточные реакции после раздельного и сочетанного влияния иммобилизации и гипертермии //Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Астана, 1998.
- 132 Граф А.В., Маклакова А.С., Крушинская Я.В., Соколова Н.А. Пептидергическая коррекция поведения половозрелого потомства белых крыс, перенесших острую гипоксию в период раннего органогенеза //Бюлл.экспер.биологии и медицины, 2006. Том 142, №7.- С.38-41.
- 133 Букеева Ж.К. Влияние «медиаторных веществ» фетальных клеток на течение острого и хронического гепатита у крыс (экспериментальная работа) //Диссертация на соиск. уч. степ. канд. мед. наук.- Астана, 2007.
- 134 Жантуреева А.А. Влияние нитритной интоксикации на течение постреанимационного периода (экспериментальная работа) //Диссертация на соиск. уч. степ. канд. мед. наук.- Астана, 2008.
- 135 Bures J., Buresova O. The use of cortical spreading depression as a memory disturbing factor //J. Comp. and physiol. Psychol.-1963.-Vol.52.-N2.-P.286-272.
- 136 Ширяева Н.В. Некоторые физиологические и биохимические особенности формирования условного рефлекса пассивного избегания: //автореф. канд. биол. наук. – Л., 1974. – С. 22.
- 137 Пиз Д. Гистологическая техника в электронной микроскопии.- Москва, 1963.- 159с.
- 138 Лири Р. «Гистологическая техника и практическая гистохимия» Москва, 1969. - 645с.
- 139 И.А. Ойвин Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований //Патологическая физиология и экспериментальная терапия 1960 -№ 4- С. 76-85.
- 140 Горизонтов П.Д., Белоусова О.И., Федотова М.И. Стресс и система крови.- М.Медицина, 1983.- 240 с.
- 141 Ерюхин И.А. Элементы теории экстремального состояния организма //Физиол. журн. им. Сеченова И.М.- 1993.- №9.- С.98-105.
- 142 Хочачка П., Сомеро Д. Биохимическая адаптация.- М., 1988.- 375 с.
- 143 Долгих В.Т. Повреждение и защита сердца при острой смертельной кровопотере //Механизмы патологических реакций. – Омск, 1988.- Т. 6.- С. 18-21.
- 144 Долгих В.Т., Кочетов А.М., Еремеев С.И. и др. Роль нарушений процессов перекисного окисления липидов в постреанимационном повреждении организма: //Тезисы докл. IV Всесоюзного съезда патофизиологов. – Москва, 1989. – Т.2. – С. 721.
- 145 Евтушенко А.Я. Этапы формирования постреанимационных нарушений кровообращения и проблемы их коррекции //Механизмы патологических реакций.- Омск, 1988.- С. 21-23.

- 146 Тажибаева Д.С., Хамзина Н.К., Кабдуалиева Н.Б. и др. Патология реперфузионного синдрома. Методические указания для студентов. – Астана, 2003.- 18с.
- 147 Долгих В.Т. Влияние острой смертельной кровопотери на постреанимационные нарушения фосфолипидов сердца и их предупреждение //Вопросы мед. химии.- 1991.- Т. 37.- №3.- С. 9-11.
- 148 Рослый И.М., Абрамов С.В., Покровский В.И. Ферментемия – адаптивный механизм или маркер цитолиза //Вест. РАМН.-2002.-№8.- С. 3-8.
- 149 Рослый И.М., Абрамов С.В. Гипотеза: адаптивное значение ферментемии //Патол. физиол. и эксперим. терапия.- 2003.- №4.- С. 5-9.
- 150 Buijs R.M., Van Eden C.G. The integration of stress by the hypothalamus, amygdala and prefrontal cortex: balance between the autonomic nervous system and the neuroendocrine system //Prog. Brain. Res.- 2000.- Vol.126.- P.117-132.- Англ.
- 151 Fuchs E., Flugge G. Chronic social stress: effects on limbic brain structures //Physiol. Behav.- 2003.- Vol.79.- N3.- P.417-427. - Англ.
- 152 Habib K.e., Gold P.W., Crousos G.P. Neuroendocrinology of stress //Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.- 2001.- Vol.30.- N3.- P.695-728. - Англ.
- 153 Mayorov O.Yu., Fritzsche M., Glukhov A.B. et al. New neurodiagnostics technology for brain research on the basis of multivariate and nonlinear analysis of EEG //Proceedings of 2nd European Congress “Achievements in space medicine into health care practice and industry”.- Berlin, 2003.- P.157-166. - Англ.
- 154 Lopez da Silva F.H., Bohus B. Het limbisch system in communication stress //Vakbl. Boil.- 1985.- Vol.65.- N18.- P. 383-386. - Англ.
- 155 Пшеничкова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии (продолжение) //Патол. физиол. и эксперим. терапия.- 2001.- №2.- С.26-30.
- 156 Белова Е.В., Емцева В.Б., Оболенский Ю.А. Особенности вегетативно-гормональных реакций при выполнении разных видов умственной деятельности в условиях эмоционального напряжения //Физиология человека.- 1988.- №3. – С.482-485.
- 157 Боброва Н.А., Важничая Е.М., Кайдашев И.П. Влияние регуляторных пептидов на экспрессию маннозосодержащих мембранных структур лейкоцитов при остром стрессе //Патол. физиол. и эксперим. терапия.- 2000.- №3.- С.11-14.
- 158 Ударцева Т.П. Механизмы адаптации у совместному воздействию свинца и ограничение движений //Монография. Алматы, 2001.
- 159 Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы патохимии.- СПб, 2000.- 345 с.
- 160 Прокопьева Л.П., Ивлева В.В. Особенности раннего восстановительного периода и уровень субстратов углеводно-липидного обмена после суточной иммобилизационной гипотермии //Бюл. эксперим. биол. и медицины.- 1986.- Т.122.- С. 697-699.
- 161 Consoli A., Nurjhan N. Contribution of gluconeogenesis to overall glucose output in diabetic and nondiabetic men //Ann. Med.-1990.-Vol. 22, №3.- P.191-195.

- 162 Гусейнов Г.Ю. Углеводный обмен мозга в условиях гипоксии //Анестезиология и реаниматология.- 1991.- №3.- С. 14-17.
- 163 Пшеникова 2000, №4.
- 164 Мироедова Э.П. Сравнительная характеристика лейкоцитарного состава крови в динамике постреанимационного периода //Экспериментальные и клинические аспекты терминальных и экстремальных состояний.- Акмола, 1995.- С. 21-23.
- 165 Айтбаева Ж.Б. Влияние контролируемой активационной терапии этимизолом на восстановление функций головного мозга в постреанимационном периоде у крыс разного пола: дис.канд.мед.наук, Акмола, 1997.- 208 с.
- 166 Зуева О.М. Влияние перенесенной 15-минутной клинической смерти на иммунологические показатели у крыс //Проблемы экспериментальной реаниматологии.- Акмола.- С. 62-67.
- 167 Мироедова Э.П. Влияние клинической смерти на пролиферацию и жизнеспособность клеток костного мозга в постреанимационном периоде //Терминальные состояния и постреанимационная патология в эксперименте и клинике.- Алма-Ата, 1990.- С. 105-108.
- 168 Горизонтов П.Д., Протасова Т.Н. Роль АКТГ и кортикостероидов в патологии. М., 1968.-334 с.
- 169 Корпачев В.Г., Лебедев А.С., Зуева О.М. Состояние нейроэндокринной регуляции в оживленном организме. Нарушение механизмов регуляции и их коррекция //Тезисы докл. IV Всесоюзного съезда патофизиологов 3-6 октября 1989., Кишинев.- М., 1989.- Т.2.- С.- 738.
- 170 Досмагамбетова Ж.О. Кровообращение и дыхание новорезжденных крысят, матери которых подвергались воздействию стресса во время беременности //Диссертация на соискание ученой степени кандидата мед. наук.- Астана, 1999.
- 171 Сейдахметова З.Ж., Ташенова Г.К. Влияние иммобилизационного стресса на реактивность симпатoadренaловой системы и резистентность эритроцитов у крыс в периоды маммо- и лактогенеза //Бюллетень СО РАМН.- 2005.- №4.- С.93-95.
- 172 Фармакология нейропептидов (сборник трудов). Под ред. А.В.Вальдмана.- Москва.- 1982.
- 173 Хавинсон В.Х., Анисимов С.В., Малинин В.В., Анисимов В.Н. Пептидергическая регуляция генома и старение.- Москва, 2005.-272 с.
- 174 Болдырев А.А. Нейрональные рецепторы в клетках иммунной системы //Соросовский образовательный журнал.-2004.- №2.-С.7-14.
- 175 Глебов Р.Н., Горячева Т.В. АКТГ как нейропептид. Функциональная роль АКТГ в мозге //Патол.физиол.и эксперим.тер.- 1990.- №4.- С. 54-58.
- 176 Захарова Л.А., Белевская Р.Г., Михайлова А.А. Влияние опиоидных пептидов костного мозга на антителообразование в продуктивную фазу иммунного ответа //Бюлл. эксперим. биол. и мед.-1988.-№1.- С.50-53.
- 177 Дэвенс Т., Герпей Я. Аминокислоты, пептиды и белки.- «Мир»- 1976.- 355 с.
- 178 Клуша В.Е. Пептиды – регуляторы функции мозга.- Рига «ЗИНАТНЕ»,-1984.

- 179 Островская Р.У., Ретюнская М.В., Гужевых Л.С. и др. Трипептоидный аналог нейротензина дилепт сочетает нейролептическую активность с положительным мнемотропным действием //Эксперим. и клин. фармакол.- 2005.- №1.- С.3-6.
- 180 Шандра А.А., Мазарати А.М., Серецкий К.Л. Влияние нейропептида галанина на активное избегание у крыс //Физиол.журн.им.И.М.Сеченов. - 1993.- №9-С.1-5.
- 181 Шандра А.А., Годлевский Л.С., Михалева И.И. и др. δ -сон индуцирующий пептид и его роль в модуляцииэпилептической активности //Физиол. журн. им. И.М.Сеченова- 1993.- №2-С.16-19.
- 182 Графова В.Н., Данилова Е.И., Захарова Л.А., Михайлова А.А.Анальгезирующий эффект различных фракций супернатанта культур клеток костного мозга при патологической боли //Бюлл. эксперим. биол. и мед.- 1988.-№12.- С.653-655.
- 183 Петров Р.В., Дуринян Р.А., Василенко А.М. и др. Анальгезирующий эффект миелопептидов //Патол.физиол.иэксперим.тер.- 1986.- №1.- С. 13-15.
- 184 Ашмарин И.П. Малые пептиды в норме и патологии //Патол. физиол. и эксперим. тер.- 1982.- №4.- С. 13-27.

Отпечатано в типографии
ТОО «Индиго Принт»

Тираж 1000 экз.

г. Нур-Султан,
пр-т. Кабанбай батыра 2/2,
офис 200