

УДК 615.832.9:576.371:165.194

О.В. Кудокоцева*, І.І. Ломакін, В.Г. Бабійчук,
Л.В. Бабійчук, І.В. Кандибко

Зміни когнітивних функцій спонтанно гіпертензивних щурів під впливом лікувальної гіпотермії та клітинної терапії

UDC 615.832.9:576.371:165.194

O.V. Kudokotseva*, I.I. Lomakin, V.G. Babiichuk,
L.V. Babiichuk, I.V. Kandybko

Therapeutic Hypothermia and Cell Therapy Change Cognitive Functions of Spontaneously Hypertensive Rats

Реферат: У роботі представлено результати дослідження просторової пам'яті та процесів навчання для загального аналізу когнітивної функції спонтанно гіпертензивних щурів після самостійного та поєднаного проведення ритмічної краніоцеребральної гіпотермії (рКЦГ) і введення кріоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові (кЯВК КК). Показано, що щури лінії SHR мають когнітивний дефіцит, який проявляється в зниженні швидкості процесу навчання та формування пам'яті у водному лабіринті Морріса (ВЛМ). Проведення лікувальної рКЦГ та/або клітинної терапії (введення кЯВК КК) за 30 днів до тренування у ВЛМ покращувало когнітивні функції щурів лінії SHR: змінювалась стратегія пошуку цілі, статистично значуще зменшувався час пошуку прихованої під водою платформи. Вказані зміни свідчили про прискорення процесів сприйняття інформації, навчання та формування просторової пам'яті. На збереження та відтворення довготривалої пам'яті і, як наслідок, на сформовану стратегію прямого знаходження мішені у ВЛМ найбільш впливала окрема терапія препаратами кріоконсервованої кордової крові та в поєднанні з процедурою лікувальної гіпотермії. Встановлено, що такий підхід чинить нейропротекторну дію, сприяючи частковому усуненню когнітивного дефіциту у щурів лінії SHR за рахунок покращення просторової пам'яті та прискорення процесів навчання.

Ключові слова: спонтанно гіпертензивні щури, ритмічна краніоцеребральна гіпотермія, кріоконсервовані ядровмісні клітини кордової крові, когнітивні функції, просторова пам'ять, навчання.

Abstract: The paper presents the research results of spatial memory and learning processes for the comprehensive analysis of cognitive function of spontaneously hypertensive rats under the influence of independent and combined use of rhythmic craniocerebral hypothermia (RCH) and the introduction of cryopreserved cord blood nucleated cells (cCBNCs). It was shown that SHR rats had a cognitive deficit, which was manifested in reduced speed of the learning process and memory formation in the Morris water maze (MWM). The administration of therapeutic RCH and/or cell therapy (cCBNCs introduction) 30 days before training in the MWM improved the cognitive functions of SHR rats: the target search strategy changed, and the time to search for a platform hidden under water was significantly reduced. These changes indicated the acceleration of the processes of information perception, learning, and the formation of spatial memory. The preservation and reproduction of long-term memory and as a result of the formed strategy of direct finding of the target in the MWM was most influenced by certain therapy with the samples of cryopreserved cord blood in combination with the procedure of therapeutic hypothermia. It was established that this approach exerted a neuroprotective effect, contributing to the partial elimination of cognitive deficits in SHR by improving spatial memory and accelerating learning processes.

Key words: spontaneously hypertensive rats, rhythmic craniocerebral hypothermia, cryopreserved cord blood nucleated cells, cognitive functions, spatial memory, learning.

Порушення когнітивної функції є однією з актуальних проблем сучасної медицини. Взаємозв'язок між високим артеріальним тиском (АТ) і когнітивними розладами встановлено у багатьох епідеміологічних дослідженнях: «The Framingham Heart Study», «Hoorn Study», «Uppsala Longitudinal Study of Adult Men», «ARIC», «Honolulu-Asia Aging Study» [3]. Одержані результати демонструють кореляцію високого систолічного артеріального тиску (САТ) в середині життя

Disordered cognitive function is one of the urgent tasks of modern medicine. The relationship between high blood pressure (BP) and cognitive disorders has been established in many epidemiological studies: 'The Framingham Heart Study', 'Hoorn Study', 'Uppsala Longitudinal Study of Adult Men', 'ARIC', 'Honolulu-Asia Aging Study' [25]. The findings demonstrate the correlation of high systolic blood pressure (SBP) in midlife with a decline in cognitive function in old age. At

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

*Автор, якому необхідно надсилати кореспонденцію:

вул. Переяславська, 23, м. Харків, Україна 61016;
тел.: (+38 057) 373-74-35, факс: (+38 057) 373-59-52
електронна пошта: journal@cryo.org.ua

*To whom correspondence should be addressed:

23, Pereyaslavska str., Kharkiv, Ukraine 61016;
tel.: +380 57 373 7435, fax: +380 57 373 5952
e-mail: journal@cryo.org.ua

Надійшла 22.03.2023

Прийнята до друку 18.09.2023

Received 22, March, 2023

Accepted 18, September, 2023

© Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, 2023
© Publisher Publishing House 'Akademperiodyka' of the National Academy of Sciences of Ukraine, 2023

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

зі зниженням когнітивної функції в похилому віці. При цьому підвищення САТ на кожні 10 мм рт. ст. підвищує ризик виникнення розладів цієї патології на 7–16% [3, 4].

Відомо, що внаслідок хронічної артеріальної гіпертензії (хАГ) змінюються показники реактивності та адаптивності організму, порушується ауторегуляція мозкового кровотоку, відбувається ремоделювання судин головного мозку (ГМ). Хронічна артеріальна гіпертензія негативно впливає на структурну та функціональну цілісність мікроциркуляції ГМ, що призводить до розрідження мікросудин, церебромікросудинної дисфункції ендотелію та нервово-судинного роз'єднання, внаслідок яких погіршується мозкове кровопостачання [16, 19, 22, 26, 31]. При цьому змінюється проникність гематоенцефалічного бар'єра, що сприяє розвитку нейрозапалення та загостренню амілоїдних патологій [14, 22]. Нові результати дослідження експресії коркових білків ГМ, які беруть участь у гомеостазі, апоптозі та функціях мозку у спонтанно гіпертензивних щурів (лінія SHR, spontaneously hypertensive rats), свідчать про те, що хАГ індукує гіпоксію та окиснювальний стрес, пошкодження аксонів, прискорює накопичення неправильно складених білків та апоптоз, провокуючи розвиток нейродегенерації [14].

За даними численних епідеміологічних досліджень, довготривала неконтрольована артеріальна гіпертензія (АГ) є одним з найбільш значних чинників ризику розвитку когнітивних розладів. Найбільш часто при хАГ гальмується швидкість аналізу отриманої інформації та прийняття рішень, знижується довготривала пам'ять [12, 21, 27, 28, 33]. Показано кореляційну залежність між рівнем АТ та ризиком виникнення порушень діяльності ЦНС [21, 27, 33]. Результати дослідження когнітивних функцій у людей середнього та похилого віку, які тривалий час страждали від АГ, свідчать про зниження пам'яті, концентрації уваги, швидкості виконання нейропсихологічних тестів, просторової орієнтації [15, 21, 27, 33].

Спонтанно гіпертензивні щури можуть бути адекватною моделлю хАГ [1, 10, 20, 30]. Враховуючи вплив хАГ на розвиток порушень когнітивних функцій, щури цієї лінії також використовуються в якості моделей для вивчення неврологічно-поведінкових розладів, синдрому дефіциту уваги та гіперактивності [5, 11, 35, 36].

Найбільш важливі когнітивні здатності людини, які можна змоделювати на тваринах — це навчання та пам'ять [15]. Тест Морріса («водний лабіринт Морріса») (ВЛМ) використовується

the same time, rise in SBP for every 10 mmHg increases the risk of disorders of this pathology by 7–16% [25, 30].

It is known that as a result of chronic arterial hypertension (cAH) the indices of reactivity and adaptability of the body change, autoregulation of cerebral blood flow is disturbed, and remodeling of cerebral vessels occurs. Chronic arterial hypertension negatively affects the structural and functional integrity of the brain microcirculation, which leads to rarefaction of microvessels, cerebrovascular dysfunction of the endothelium and neurovascular disconnection, as a result of which cerebral blood supply deteriorates [14, 17, 20, 24, 31]. At the same time, the permeability of the blood-brain barrier changes, which contributes to the development of neuroinflammation and aggravation of amyloid pathologies [20]. New research results on the expression of brain cortical proteins, involved into homeostasis, apoptosis and brain functions in spontaneously hypertensive rats (SHR), indicate that cAH induces hypoxia and oxidative stress, damages axons, accelerates the accumulation of incorrectly assembled proteins and apoptosis, provoking the neurodegeneration development [12].

According to numerous epidemiological studies, long-term uncontrolled arterial hypertension (AH) is one of the most significant risk factors for the development of cognitive disorders. Most often, the speed of analysis of received information and decision-making slows down in cAH, and long-term memory decreases [9, 19, 26, 27, 33]. Correlation between BP level and the risk of CNS disorders [19, 26, 33] has been shown. The results of the investigation of cognitive functions in middle-aged and elderly people, suffered from hypertension for a long time indicate a decrease in memory, concentration of attention, the speed of performing neuropsychological tests, spatial orientation [13, 19, 26, 33].

Spontaneously hypertensive rats can be an adequate model of hypertension [6, 7, 18, 29]. Considering the impact of cAH on the development of cognitive impairments, these rats are also used as models for studying neurological-behavioral disorders, attention deficit and hyperactivity disorder [1, 8, 35, 36].

Learning and memory are the most important human cognitive abilities that can be modeled in animals [13]. The Morris test ('Morris water maze') (MWM) is used to effectively reveal abnormalities in learning functions and in neurodegenerative diseases [16, 22, 23, 34]. This test also enables to study the mechanisms of pharma-



з метою ефективного виявлення відхилень у функціях навчання та при нейродегенеративних захворюваннях [18, 24, 25, 34]. Цей тест також дозволяє вивчати механізми фармакологічної корекції функціональної активності ЦНС і нейропротекторної дії нейротрофічних факторів [24, 25].

Отримані в наших попередніх дослідженнях дані щодо можливості застосування ритмічної краніоцеребральної гіпотермії (рКЦГ) і криоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові (кЯВК КК) як принципово нового методу лікування судинних порушень ГМ дозволяють прогнозувати ефективність їхнього використання з метою корекції когнітивних порушень у щурів лінії SHR [6–9, 13].

Відомо, що кордова кров (КК) в своєму складі містить стовбурові клітини, які здатні не тільки виробляти нейротрофічні фактори, а ще стимулювати їх синтез в організмі реципієнта [17, 29]. Крім того, нейротрофічні фактори КК (мозковий та гліальний нейротрофічні фактори, нейрон-специфічні енолази та гіпоксія-індукований фактор) відіграють основну роль у нейропротекції, сприяючи збереженню життєздатності нервових клітин та функціональній метаболічній активності нейронних мереж [23]. Досліджено, що проведення рКЦГ підвищує лабільність регуляторних процесів у ЦНС та посилює нейропротекцію ГМ [2].

Враховуючи вищевикладене, ми вважали обґрунтованим використання ВЛМ як універсального способу дослідження когнітивних функцій щурів після проведення процедури рКЦГ та введення кЯВК КК.

Метою роботи було вивчення впливу лікувальної гіпотермії у вигляді ритмічної краніоцеребральної гіпотермії та клітинної терапії криоконсервованими ядровмісними клітинами кордової крові на зміни когнітивних функцій спонтанно гіпертензивних щурів.

Матеріали та методи

Роботу виконували на статевозрілих 12–13-місячних самцях щурів: лінія SHR та білі безпородні (нормотензивний контроль). Експерименти узгоджено з комітетом з біоетики Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (ІПКіК НАН України, м. Харків) відповідно до вимог Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження (№ 3447 – IV від 21.02.2006 р.) і положень «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986). Щури лінії

cological correction of the functional activity of the central nervous system and neuroprotective action of neurotrophic factors [22, 23].

The data obtained in our previous studies regarding the possibility of using RCH and cCBNCs as a fundamentally new treatment for brain vascular disorders allow us to predict the effectiveness of their use for the purpose of correcting cognitive disorders in SHR rats [2–5, 10]. Cord blood (CB) is known to comprise stem cells, which are able not only to produce neurotrophic factors, but also to stimulate their synthesis in the recipient's body [15, 28]. In addition, CB neurotrophic factors (brain and glial neurotrophic factors, neuron-specific enolases, and hypoxia-inducible factor) play a major role in neuroprotection, contributing to the preservation of nerve cell viability and functional metabolic activity of neural networks [21]. It has been studied that conducting RCH increases the lability of regulatory processes in the CNS and enhances the brain neuroprotection [11].

Taking into account the above, we considered the use of MWM as a common method of studying cognitive functions of rats after the procedure of RCH and introduction of cCBNCs to be justified.

The research aim was to study the effect of therapeutic hypothermia as rhythmic craniocerebral hypothermia and cell therapy with cryopreserved cord blood nucleated cells on changes in cognitive functions of spontaneously hypertensive rats.

Materials and methods

The studies were performed in sexually mature 12–13-month-old male rats: the SHR line and white purebreds (normotensive control). The experiments were coordinated with the Bioethics Committee of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NAS of Ukraine (IPC&C of the NAS of Ukraine, Kharkiv) as well as were done in accordance with the requirements of the Law of Ukraine ‘On the Protection of Animals against Cruelty Treatment (No. 3447-IV of February 21, 2006) and the provisions of the ‘European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes’ (Strasbourg, 1986). SHR were chosen as a model of hypertension [6, 7, 18, 29].

All animals were kept in the conditions of the animals' house of the IPC&C of the National Academy of Sciences of Ukraine with a standard food ration and free access to food and water. Manipulations with rats were performed in the first half of the day.



SHR були обрані в якості моделі хАГ [1, 10, 20, 30].

Усі тварини утримувались в умовах віварію Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (ІПКіК НАН України) зі стандартним харчовим раціоном та вільним доступом до їжі та води. Маніпуляції зі щурами виконували в першій половині дня.

Тварини були розділені на групи ($n = 5$ у кожній): 1 — нормотензивний контроль (N); 2 — контроль спонтанно гіпертензивних щурів; 3 — щури SHR після проведення процедури рКЦГ; 4 — щури SHR після введення кЯСК КК; 5 — щури SHR після поєднаного застосування рКЦГ та кЯВК КК.

Ритмічну КЦГ проводили одноразово на апараті «Флюїдокраніотерм ПГВ-02» («Електромаш», Росія) [6, 7, 13]. Кріоконсервовану суспензію ЯВК КК людини отримували в кріобанку ІПКіК НАН України. Після розморожування кЯВК КК вводили одноразово внутрішньочеревно в дозі $(3-5) \times 10^7$ життєздатних клітин на кілограм маси тіла тварини [6, 7, 13]. З метою вивчення поєднаного застосування рКЦГ і кЯВК КК суспензію клітин щурам вводили на наступну добу після проведення рКЦГ.

Для загального аналізу когнітивної функції гризунів (просторова пам'ять та процес навчання) дослідники часто проводять поведінковий тест у ВЛМ [18]. Водний лабіринт Морріса має вигляд циліндричного басейну, заповненого водою до позначки 0,25 м, діаметром 1,8 м зі стінками заввишки 0,6 м. Щура поміщають в заповнений водою басейн, з якого немає виходу, але в ньому (на 1,5 см нижче рівня води) встановлена спеціальна підводна платформа (діаметр 12 см), знайшовши яку, щур може вибратись із води на цей «острівець безпеки».

Для уникнення артефактів за 2 години до тестування щурів поміщали в тихе та слабо освітлене місце. У цей період не проводили перегрупування тварин, не годували і не здійснювали з ними жодних інших маніпуляцій. Усі тестування виконували в один і той самий час, за однакових умов освітлення і температури та відсутності сторонніх запахів і шуму.

На початку експерименту тварин навчали пошуку невидимої платформи. Для цього воду спеціально закаламучували сухим молоком, а платформу заглиблювали до рівня поверхні води. Якщо щур не знаходив платформу протягом 60 с, його примусово саджали на платформу, а час, витрачений на її пошук, позначали «>60». Після цього щура виймали з басейну, а через деякий час випускали знову плавати, але вже з іншої точки периметра басейна.

Animals were divided into groups ($n = 5$ each): 1 – normotensive control (N); 2 – control of spontaneously hypertensive rats; 3 – SHR after RCH; 4 – SHR after the introduction of cCBNCs; 5 – SHR after the combined use of RCH and cCBNCs.

The RCH was performed once on the 'Fluidocraniotherm PGV-02' device (Electromash, Russia) [2, 3, 10]. The cryopreserved suspension of the nucleated human stem cells was obtained from the Cryobank of the IPC&C of the National Academy of Sciences of Ukraine. After thawing of the cCBNCs, the CB was administered once intraperitoneally at a dose of $(3-5) \times 10^7$ viable cells per kilogram of the animal's body weight [2, 3, 10]. In order to study the combined use of RCH and cCBNCs, the cell suspension was administered to rats on the next day after RCH.

For a general analysis of the cognitive function of rodents (spatial memory and the learning process), researchers often use a behavioral test in the MWM [16]. The Morris water maze has the form of a cylindrical pool filled with water up to 0.25 m, 1.8 m in diameter with walls 0.6 m high. The rat is placed in a water-filled pool with no exit, but in it (by 1.5 cm below the water level) a special underwater platform (diameter 12 cm) is installed, finding which, the rat can get out of the water to this 'island of safety'.

To avoid artifacts, 2 hrs before testing, the rats were placed in a quiet and dimly lit place. During this period, the animals were not regrouped, fed or manipulated in any other way. All tests were performed at the same time, under the same lighting and temperature conditions and the absence of extraneous odors and noise.

At the beginning of the experiment, the animals were trained to find an invisible platform. For this, the water was specially muddied with dry milk, and the platform was deepened to the level of the water surface. If the rat did not find the platform within 60 s, it was forcibly placed on the platform, and the time spent searching for it was recorded '>60'. After that, the rat was taken out of the pool, and after some time it was released to swim again, but from another point of the pool's perimeter.

The training process to find the platform for each animal lasted for 5 consecutive days and consisted of 5 daily sessions of 3 trials per day with a 30 s-interval. To solve the problem, the time was recorded in each attempt. In 48 hrs after the last training, a 'test trial' was conducted to assess the stability of the memory trace of the spatial location of the platform: for this, the platform was removed from the pool and skill retention



Тренувальний процес з метою пошуку платформи для кожної тварини тривав 5 днів поспіль і складався з 5 щоденних сеансів по 3 спроби на добу з інтервалом 30 с. Для вирішення задачі реєстрували час в кожній спробі. Через 48 годин після останнього тренінгу проводилось «тестове випробування» для оцінки стійкості пам'ятного сліду просторового розташування платформи: для цього платформу прибирали з басейну і перевіряли збереженість навичок один раз протягом 60 с. Час, який тварина плавала в зоні колишнього розташування платформи, є показником сили пам'ятного сліду, або збереження довготривалої пам'яті. Даний показник визначали відстроченим коефіцієнтом збереження довготривалої пам'яті — відношення часу перебування тварини в місці колишнього розташування платформи до загального часу її перебування у ВЛМ.

Крім того оцінювали характер цільового пошуку твариною платформи: прямий пошук — безпосередня спрямованість до місця колишнього розташування платформи; активний пошук — здійснення кругових і радіальних пошукових рухів до досягнення мети; хаотичний пошук — відсутність вираженої стратегії досягнення мети.

Протягом експерименту температура води у ВЛМ становила $(26 \pm 2)^\circ\text{C}$ [18].

Тренувальний процес щурів у ВЛМ проводили з 30-ї доби після останнього терапевтичного впливу рКЦГ та/або кЯВК КК. Цей термін обумовлений результатами нашого попереднього гістологічного аналізу препаратів тканин мозку щурів лінії SHR, які свідчать про наявність суттєвих змін у структурних компонентах ГМ тільки через 30 днів після проведення рКЦК, введення кЯВК КК або після їх поєднаного впливу [6–9, 13].

Статистичну обробку отриманих морфометричних даних проводили за допомогою програмного забезпечення «Excel» (Microsoft, США), представляли у вигляді середньої арифметичної величини (M) та помилки середньої арифметичної величини (m). На підставі U -критерію Манна-Уїтні між групами розраховували ймовірність відмінностей, які вважали значущими при $p < 0,05$.

Результати та обговорення

Пам'ять — фундаментальна функція ГМ. Дослідження механізмів пам'яті в нормі та за патології є одним із головних напрямків сучасної нейронауки. Тест «водний лабіринт Морріса» складається з трьох аспектів оцінки нав-

was checked once for 60 s. The time that the animal swam in the area of the former location of the platform is an indicator of the strength of the memory trace, or the preservation of long-term memory. This index was determined by the delayed coefficient of preservation of long-term memory — the ratio of the time spent by the animal in the place of the former location of the platform to the total time spent in the MWM.

In addition, the nature of the target search by the animal for the platform was evaluated: direct search — direct direction to the place of the former location of the platform; active search — implementation of circular and radial search movements to achieve the goal; chaotic search — lack of a pronounced strategy for achieving the goal.

During the experiment, the water temperature in the MWM was $(26 \pm 2)^\circ\text{C}$ [16].

The rats in the MWM were trained since day 30 after the last therapeutic exposure to RCH and/or cCBNCs. This term is stipulated by the results of our previous histological analysis of the samples of SHR brain tissues, that indicates the presence of strong changes in the brain structural components only 30 days after RCH, introduction of cCBNCs or after their combined effects [2–5, 10].

The obtained morphometric data were statistically processed using the «Excel» software (Microsoft, USA), presented as the arithmetic mean value (M) and the error of the arithmetic mean value (m). Based on the Mann-Whitney U -test, there was calculated the probability of differences between groups, that was considered significant at $p < 0.05$.

Results and discussion

Memory is a fundamental function of brain. The study of memory mechanisms in the norm and in pathologies is one of the main directions of modern neuroscience. The Morris Water Maze test consists of three aspects that assess learning and spatial memory: learning, retrieval, and consolidation. The study consists in exploring the maze, searching — finding the platform, consolidation — gradual improvement of the studied indices compared to the previous day [32]. Consolidation is meant as the processes of transformation of new labile memory traces into stable long-term memory.

On the first training day, we did not observe a significant difference in the time of finding the platform in rats of different experimental groups (Table 1). For all animals, this time exceeded 60 s. Next, the experimenter forced each rat to sit on the platform for 15 s. On the first training day, all rats swam chaotically over the walls of the MWM.



чання та просторової пам'яті: вивчення, пошук та консолідація. Вивчення полягає у дослідженні лабіринту, пошук — знаходженні платформи, консолідація — поступовому покращенні досліджуваних показників порівняно з попередньою добою [32]. Під консолідацією розуміють процеси перетворення нових лабільних слідів пам'яті в стійку довготривалу пам'ять.

У першу тренувальну добу у щурів різних експериментальних груп ми не відзначали значущої різниці в часі знаходження платформи (табл. 1). Для всіх тварин цей час перевищував 60 с. Далі експериментатор примусово саджав кожного щура на платформу на 15 с. У першу тренувальну добу всі щури хаотично плавали понад стінками ВЛМ. Слід зазначити, що хаотичні рухи у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR були більш активні, ніж у нормотензивних, що обумовлено наявністю в перших синдрому гіперактивності [11, 35].

Аналіз подальших спроб знаходження щурами платформи виявив формування просторової пам'яті: час пошуку платформи скорочувався, а сам пошук мети був цілеспрямованим, про що свідчили циркулярні та радіальні рухи.

Вже після першої доби тренування ми спостерігали значну різницю в часі знаходження платформи між нормо- та гіпертензивними щурами. Так, в результаті активного пошуку плат-

It should be noted that chaotic movements in spontaneously hypertensive SHR were more active than in normotensive ones, which was due to the presence of hyperactivity syndrome in the former [8, 35].

Analysis of subsequent attempts to find the platform in rats revealed the formation of spatial memory: the time of searching for the platform was shortened, and the search for the goal itself was purposeful, as evidenced by circular and radial movements.

Already after the first day of training, we observed a strong difference in the time of finding the platform between normo- and hypertensive rats. Thus, as a result of the active search for the platform, the average time of searching for the 'safety island' in group 1 animals decreased (41 ± 4) s, while the animals of group 2 did not orient themselves in space at all, switched to a chaotic search for the platform, without taking into account the previous experience. Only on the fourth training day, group 2 rats showed a weak attempt to find the platform hidden under water and spent (44 ± 4) s on this, as they performed circular and radial search movements. At the same time, animals of group 1, which demonstrated a direct platform search strategy, spent (17 ± 3) s (Table 1).

Thus, compared to normotensive rats, spontaneously hypertensive rats experienced difficulties in acquiring the skills of finding a platform in the

Таблиця 1. Середній час пошуку платформи щурами лінії SHR у ВЛМ на етапах тренування та тестування
Table 1. Average platform search time of SHR in the MWM during training and testing phases

Групи щурів Rat groups	Доба тренування Day of training					Доба тестування Day of testing
	1	2	3	4	5	7
	Середній час пошуку платформи, с Average platform search time, s					
1	> 60	41 ± 4	32 ± 2	17 ± 3	15 ± 4	17 ± 2
2	> 60	> 60	$58 \pm 6^*$	$44 \pm 4^*$	$31 \pm 5^*$	$39 \pm 4^*$
3	> 60	58 ± 4	$52 \pm 4^*$	$38 \pm 4^{*,\#}$	$24 \pm 4^{*,\#}$	$35 \pm 4^{*,\#}$
4	> 60	$52 \pm 5^*$	$43 \pm 4^{*,\#}$	$26 \pm 4^{*,\#}$	$22 \pm 4^\#$	$25 \pm 2^{*,\#}$
5	> 60	$54 \pm 3^*$	$38 \pm 2^{*,\#}$	$27 \pm 2^{*,\#}$	$22 \pm 3^\#$	$26 \pm 2^{*,\#}$

Примітка: відмінності значущі порівняно з щурами групи 1 (*) та групи 2 (#), $p < 0,05$.

Note: differences are significant compared to rats of group 1(*) and group 2 (#), $p < 0.05$.



форми у тварин групи 1 зменшувався середній час пошуку «острівця безпеки» ((41 ± 4) с), тоді як тварини групи 2 зовсім не орієнтувались у просторі, переходили на хаотичний пошук платформи, не враховуючи одержаний попередній досвід. Тільки на четверту тренувальну добу щури групи 2 демонстрували слабку спробу знайти приховану під водою платформу і витрачали на це (44 ± 4) с, оскільки здійснювали кругові та радіальні пошукові рухи. При цьому тварини групи 1, які демонстрували пряму стратегію пошуку платформи, витрачали (17 ± 3) с (табл. 1).

Таким чином, спонтанно гіпертензивні щури порівняно з нормотензивними зазнавали труднощів у придбанні навичок знаходження платформи в ВЛМ та консолідації просторової пам'яті. Формування довгострокової пам'яті у тварин групи 1 починалося з другої доби тренувань, а у групі 2 — тільки з 4-ї доби, коли хаотичний рух змінився на спрямований до місця розташування платформи.

Самостійне або поєднане застосування рКЦГ і кЯВК КК викликало якісно-кількісні зміни в поведінкових реакціях щурів у ВЛМ: середній час знаходження платформи щурами груп 3–5 значуще відрізнявся від контрольної групи 2 вже на другу (для груп 4 та 5) або третю тренувальну добу (для всіх зазначених груп) (табл. 1). Консолідація просторової пам'яті та стратегія прямого пошуку більшою мірою виявлялася у щурів, які за 30 днів до тренування у ВЛМ отримали як самостійну терапію кЯВК КК (група 4), так і на тлі застосування рКЦГ (група 5).

Таким чином, протягом п'яти діб тренувального етапу середній час від поміщення тварини в ВЛМ до знаходження нею платформи поступово скорочувався, при цьому спрощувалася і траєкторія руху, але динаміка цих процесів у різних групах суттєво відрізнялась. У щурів групи 2 було встановлено зниження оперативної пам'яті та концентрації уваги, швидкості прийняття рішень та консолідації пам'яті в порівнянні з групою нормотензивного контролю. Введення кЯВК КК або поєднане застосування кЯВК КК та рКЦГ впливало на параметри когнітивних функцій щурів лінії SHR у ВЛМ: змінювалася стратегія пошуку цілі, значуще зменшувався час знаходження прихованої під водою платформи, що свідчить про прискорення процесів сприйняття інформації, навчання та формування просторової пам'яті під впливом лікувальної гіпотермії та клітинної терапії.

Через 48 годин після останньої п'ятої тренувальної доби проводили тестування всіх експериментальних щурів у ВЛМ на збереження

VLM and consolidating spatial memory. The formation of long-term memory in animals of group 1 began from the second day of training, and in group 2 – only from day 4, when the chaotic movement changed to directed towards the location of the platform.

The independent or combined use of RCH and cCBNCs qualitatively and quantitatively changed the behavioral responses of rats in the MWM: the average time of finding the platform by rats of groups 3–5 differed significantly from the control group 2 even on the second (for groups 4 and 5) or third training days (for all the specified groups) (Table 1). Consolidation of spatial memory and the strategy of direct search was more pronounced in rats that, 30 days before training in the MWM, received both the independent therapy of cCBNCs (group 4) and against the background of using the RCH (group 5).

Thus, during the five-day training stage, the average time from placing the animal in the MWM until it found the platform was gradually reduced, while the trajectory of the movement was also simplified, but the dynamics of these processes differed significantly in different groups. A decrease in working memory and concentration of attention, decision-making speed and memory consolidation was found in rats of group 2 compared to the normotensive control group. The introduced cCBNCs or the combined use of them with RCH affected the parameters of the cognitive functions of SHR in the MWM: the strategy of searching for a target changed, the time of finding a platform hidden under water was significantly reduced, that indicated an acceleration of the processes of information perception, learning and the formation of spatial memory under the influence of therapeutic hypothermia and cell therapy.

In 48 hrs after the last fifth day of training, all the experimental rats were tested in the MWM for long-term memory retention. The average search time of the platform, delayed long-term memory retention ratio (LMR) and targeted search strategy were evaluated.

As a result of testing the spontaneously hypertensive rats of experimental groups 2–4, a significantly low LMR was obtained ((30 ± 4) , (35 ± 5) and $(39 \pm 5)\%$, respectively) compared to that for normotensive animals ($(46 \pm 3)\%$) (Table 2). In the delayed long-term memory retention test, the animals of group 2 behaved most uncertainly and anxiously, that was expressed in a greater number of intersections of the conditional squares of the pool and the absence of a pronounced goal-



довготривалої пам'яті. Оцінювали середній час пошуку платформи, відстрочений коефіцієнт збереження довготривалої пам'яті (вКз) та стратегію цільового пошуку.

У результаті проведення тестування спонтанно гіпертензивних щурів дослідних груп 2–4 отримано значуще низький вКз ((30 ± 4), (35 ± 5) та (39 ± 5)% відповідно) в порівнянні з таким для нормотензивних тварин ((46 ± 3)%) (табл. 2). У відкладеному тесті на збереження довготривалої пам'яті тварини групи 2 поведилися найбільш невпевнено і тривожно, що виражалося в більшій кількості перетинів умовних квадратів басейну та відсутності вираженої стратегії пошуку мети. Найбільший терапевтичний вплив ($p < 0,05$) на збереження та відтворення довготривалої пам'яті і, як наслідок, на сформовану стратегію прямого пошуку прихованої платформи в ВЛМ був обумовлений як самостійним застосуванням КЯВК КК, так і в поєднанні з процедурою лікувальної гіпотермії.

Виходячи з отриманих результатів дослідження, можна констатувати, що кріоконсервовані препарати КК мали більший терапевтичний ефект на когнітивні функції спонтанно гіпертензивних щурів, що відповідають за збереження та відтворення довготривалої пам'яті, ніж рКЦГ. Завдяки цьому у щурів дослідних 3 та 4 групи ми не спостерігали виражених порушень реакції на новизну ситуації, в результаті чого тварини, не знайшовши «острівця безпеки», не переходили на хаотичний пошук платформи. Однак ми не виключаємо впливу лікувальної гіпотермії на функцію ГМ, тому поєднане застосування КЯВК КК та рКЦГ потребує подальшого вивчення. Цей висновок базується на раніше опублікованих даних щодо застосування КЦГ для лікування захворювань нервової системи, а також тих патологій, які супроводжуються артеріальною гіпертензією [2].

Відомо, що для найбільш ефективного лікування пацієнтів з когнітивними порушеннями використовуються препарати або процедури, які мають нейропротекторну та нейротрофічну дію та здатні обмежувати зону ураження мозкової речовини, стимулювати репаративні та регенеративні процеси в ГМ, поповнювати дефіцит нейромедіаторів, енергетичних субстратів, біологічно активних речовин. На підставі даних літератури та одержаних нами результатів до таких сучасних лікувальних підходів можна віднести препарати кордової крові та терапевтичні процедури у вигляді рКЦГ [2, 17, 29].

Таким чином, можна припустити, що рКЦГ та введення КЯВК КК чинять нейропротектор-

Таблиця 2. Оцінка збереженості довготривалої пам'яті у щурів лінії SHR у ВЛМ за відстроченим коефіцієнтом збереження довготривалої пам'яті

Table 2. Assessment of long-term memory preservation in SHR in the MWM by the delayed coefficient of long-term memory preservation

Групи щурів Rat groups	Відстрочений коефіцієнт збереження довготривалої пам'яті, % Delayed coefficient of long-term memory preservation, %
1	71,5 ± 3,5
2	35,0 ± 7,0 *
3	41,5 ± 6,0 *
4	58,5 ± 3,5*.#
5	56,5 ± 3,5*.#

Примітка: відмінності значущі порівняно з щурами групи 1 (*) та групи 2 (#), $p < 0,05$.

Note: differences are significant compared to rats of group 1 (*) and group 2 (#), $p < 0.05$.

seeking strategy. The highest therapeutic effect ($p < 0.05$) on the preservation and reproduction of long-term memory and, as a result, on the formed strategy of direct search for the hidden platform in the MWM was caused both by the independent use of cCBNCs and in combination with the therapeutic hypothermia.

Based on the research results, it can be stated that cryopreserved CB samples had a higher therapeutic effect on the cognitive functions of spontaneously hypertensive rats, responsible for the preservation and reproduction of long-term memory, than RCH. Owing to this, we did not observe pronounced violations of the reaction to the novelty of the situation in the rats of experimental groups 3 and 4, as a result of which the animals, not able to find a 'safety island', did not switch to a chaotic search for the platform. However, we do not rule out the role of therapeutic hypothermia on brain function, therefore, the combined use of cCBNCs and RCH requires further study. This conclusion is based on previously published data on the use of RCH for the treatment of diseases of the nervous system, as well as those pathologies that are accompanied by arterial hypertension [11].

It is known that for the most effective treatment of the patients with cognitive disorders, the drugs or procedures are used that have a neuroprotective and neurotrophic effects and are able



ну дію, підвищуючи лабільність регуляторних процесів у різних структурах ГМ, що сприяє покращенню когнітивних функцій шурів лінії SHR. Найбільш виражений ефект спостерігався після застосування терапії кріоконсервованими препаратами кордової крові як окремо, так і в поєднанні з рКЦГ, що проявлялося в запобіганні погіршення просторової пам'яті та глибини її фіксації.

Висновки

1. Показано, що спонтанно гіпертензивні шури в порівнянні з нормотензивними мають когнітивний дефіцит, який проявляється в зниженні швидкості навчання та формуванні пам'яті у «водному лабіринті Морріса».

2. Проведення ритмічної краніоцеребральної гіпотермії та/або введення кріоконсервованих клітин кордової крові позитивно впливало на параметри когнітивних функцій шурів лінії SHR: зміна стратегії пошуку цілі, значуще зменшення часу для пошуку прихованої під водою платформи, що свідчить про прискорення процесів сприйняття інформації, навчання та формування просторової пам'яті.

Література

1. Айдарова ВС, Наумова ОВ, Кудокотсева ОВ, та ін. Структура мозга крыс линии SHR с генетически детерминированной артериальной гипертензией. *Світ медицини та біології*. 2018; (2): 115–9.
2. Бабийчук ГА, Марченко ВС, Ломакін ІІ, Белостоцкий АВ. *Нейрофизиологические процессы охлажденного мозга*. Київ: Наукова думка; 1992. 208 с.
3. Міщенко ЛА, Гулкевич ОВ, Ревенько ІЛ. Когнітивні порушення на тлі артеріальної гіпертензії: особливості та шляхи корекції. *Медична газета «Здоров'я України 21 сторіччя»*. 2020; (2): 40–3.
4. Скибчик ВА, Пелешко ОС. Когнітивні порушення у пацієнтів з артеріальною гіпертензією: огляд літератури та власний досвід. *Український Медичний Часопис*. 2019; (3): 1–4.
5. Adriani W, Caprioli A, Granstrem O, et al. The spontaneously hypertensive-rat as an animal model of ADHD: evidence for impulsive and non-impulsive subpopulations. *Neurosci Biobehav Rev*. 2003; 27(7): 639–51.
6. Aidarova VS, Babiichuk VG, Kudokotseva OV, et al. Experimental substantiation of therapeutic hypothermia and cell therapy application at dyscirculatory encephalopathy in SHR rats. Part 1. Spontaneously hypertensive SHR rats as a model of dyscirculatory encephalopathy. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2018; 28(3): 224–36.
7. Aidarova VS, Babiichuk VG, Kudokotseva OV, et al. Experimental substantiation of therapeutic hypothermia and cell therapy application at dyscirculatory encephalopathy in

to limit the area of damage to the brain substance, stimulate reparative and regenerative processes in brain, replenish the deficit of neurotransmitters, energy substrates, and biologically active substances. Based on the published reports and own results, such modern treatment approaches may involve cord blood products and therapeutic procedures like the RCH [11, 15, 28].

Thus, it can be assumed that RCH and the administration of cCBNCs have a neuroprotective effect, increasing the lability of regulatory processes in various brain structures, contributing to the improvement of cognitive functions of SHR rats. The most pronounced effect was observed after the use of therapy with cryopreserved cord blood samples both separately and in combination with RCH, which was manifested in the prevention of deterioration of spatial memory and the depth of its fixation.

Conclusions

1. Spontaneously hypertensive rats were shown to have a cognitive deficit versus with normotensive rats that was manifested in a decreased speed of learning and memory formation in the 'Morris water maze'.

2. Performing the rhythmic craniocerebral hypothermia and/or the introduction of cryopreserved cord blood cells positively affected the parameters of cognitive functions of SHR: a change in the goal search strategy, significant reduction in the time to search for a platform hidden under water, that indicated an acceleration of information perception, learning and formation of spatial memory.

References

1. Adriani W, Caprioli A, Granstrem O, et al. The spontaneously hypertensive-rat as an animal model of ADHD: evidence for impulsive and non-impulsive subpopulations. *Neurosci Biobehav Rev*. 2003; 27(7):639–51.
2. Aidarova VS, Babiichuk VG, Kudokotseva OV, et al. Experimental substantiation of therapeutic hypothermia and cell therapy application at dyscirculatory encephalopathy in SHR rats. Part 1. Spontaneously hypertensive SHR rats as a model of dyscirculatory encephalopathy. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2018; 28(3): 224–36.
3. Aidarova VS, Babiichuk VG, Kudokotseva OV, et al. Experimental substantiation of therapeutic hypothermia and cell therapy application at dyscirculatory encephalopathy in SHR rats. Part 2. Structural changes in brain tissue. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2019; 29(1): 58–72.
4. Aidarova VS, Kudokotseva OV, Lomakin II, Babiichuk GA. Applications of cord blood cells in neurology. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2016; 26(2): 103–15.
5. Aidarova VS, Babiichuk VG, Lomakin II, et al. The effect of cryopreserved cord blood nucleated cells on pathological processes in the progressive aging of the brain (experimental study). *Adv Gerontol*. 2018; 8(4): 292–7.



- SHR rats. Part 2. Structural changes in brain tissue. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2019; 29(1): 58–72.
8. Aidarova VS, Kudokotseva OV, Lomakin II, Babijchuk GA. Applications of cord blood cells in neurology. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2016; 26(2): 103–15.
 9. Aidarova VS, Babijchuk VG, Lomakin II, et al. The effect of cryopreserved cord blood nucleated cells on pathological processes in the progressive aging of the brain (experimental study). *Adv Gerontol*. 2018; 8(4): 292–7.
 10. Amenta F, Di Tullio MA, Tomassoni D. Arterial hypertension and brain damage evidence from animal models (review). *Clin Exp Hypertens*. 2003; 25(6): 359–80.
 11. Aparicio CF, Hennigan PJ, Mulligan LJ, Alonso-Alvarez B. Spontaneously hypertensive (SHR) rats choose more impulsively than Wistar-Kyoto (WKY) rats on a delay discounting task. *Behav Brain Res*. 2019; 364: 480–93.
 12. Aronow WS. Hypertension and cognitive impairment. *Ann Transl Med*. [Internet]. 2017 [cited 2022 May 5]; 5(12): 259. Available from: <https://atm.amegroups.org/article/view/14511/html>
 13. Babijchuk VG, Aidarova VS, Lomakin II, et al. Influence of hypothermia and cell therapy on structural changes in brain tissues of rats with dyscirculatory encephalopathy of mixed genesis. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2021; 31(2): 151–60.
 14. Ben Shabat M, Eliya O, Azrilin O, et al. New cortical neurodegenerative pathways in the hypertensive rat brain. *Cerebral Cortex*. 2021; 31(12): 5487–96.
 15. Bick SK, Eskandar EN. Neuromodulation for restoring memory. *Neurosurg Focus* [Internet]. 2016 May [cited 2022 May 12]; 40(5): E5. Available from: <https://thejns.org/focus/view/journals/neurosurg-focus/40/5/article-pE5.xml>
 16. Canavan M, O'Donnell MJ. Hypertension and cognitive impairment: A review of mechanisms and key concepts. *Front Neurol*. [Internet]. 2022 Feb 4 [cited 2023 Feb 20]; 13: 821135. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2022.821135/full>
 17. Chen N, Hudson JE, Walczak P, et al. Human umbilical cord blood progenitors: the potential of these hematopoietic cells to become neural. *Stem Cells*. 2005; 23(10): 1560–70.
 18. Chernyuk DP, Bol'shakova AV, Vlasova OL, et al. Possibilities and prospects of the behavioral test «Morris water maze». *J Evol Biochem Phys*. 2021; 107(3): 267–87.
 19. Coca A. Hypertension and brain damage. New York: Springer; 2016. 329 p.
 20. De Deyn PP, Dam DV, editors. *Animal models of dementia*. New York: Humana Press; 2011. 732 p.
 21. Del Pinto R, Grassi D, Bocale R, et al. Blood pressure profiles and cognitive function from adulthood to old age: chasing a golden middle way? *J Clin Med*. [Internet]. 2021 Jul 23 [cited 2023 Feb 21]; 10(15): 3243. Available from: <https://www.mdpi.com/2077-0383/10/15/3243>
 22. Farokhi-Sisakht F, Sadigh-Eteghad S, Mohaddes G, et al. Physical and cognitive training attenuate hippocampal ischemia-induced memory impairments in rat. *Brain Res Bull*. 2020; 155: 202–10.
 23. Kempermann G. *Adult neurogenesis, stem cells and neuronal development in brain*. Oxford: University. Press; 2005. 546 p.
 24. Kulikov AV, Fursenko DV, Khotskin NV, et al. Spatial learning in the Morris water maze in mice genetically different in the predisposition to catalepsy: the effect of intraventricular treatment with brain-derived neurotrophic factor. *Pharmacol Biochem Behav*. 2014; 122: 266–72.
 25. Lissner LJ, Wartchow KM, Toniazzo AP, et al. Object recognition and Morris water maze to detect cognitive impairment from mild hippocampal damage in rats: A reflection based on the literature and experience. *Pharmacol Biochem Behav*. [Internet]. 2021 Sep 16 [cited 2022 Dec 4]; 210: 173273. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0091305721001726>
 6. Aidarova VS, Naumova OV, Kudokotseva OV, et al. [Brain structure of SHR rats with genetically determined arterial hypertension]. *World of Medicine and Biology*. 2018; 64(2): 115–9. Russian.
 7. Amenta F, Di Tullio MA, Tomassoni D. Arterial hypertension and brain damage evidence from animal models (review). *Clin Exp Hypertens*. 2003; 25(6): 359–80.
 8. Aparicio CF, Hennigan PJ, Mulligan LJ, Alonso-Alvarez B. Spontaneously hypertensive (SHR) rats choose more impulsively than Wistar-Kyoto (WKY) rats on a delay discounting task. *Behav Brain Res*. 2019; 364: 480–93.
 9. Aronow WS. Hypertension and cognitive impairment. *Ann Transl Med*. [Internet]. 2017 [cited 2022 May 5]; 5(12): 259. Available from: <https://atm.amegroups.org/article/view/14511/html>
 10. Babijchuk V, Aidarova V, Lomakin I, et al. Influence of hypothermia and cell therapy on structural changes in brain tissues of rats with dyscirculatory encephalopathy of mixed genesis. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2021; 31(2): 151–60.
 11. Babijchuk GA, Marchenko VS, Lomakin II, Belostotskiy AV. [Neurophysiological processes of cooled brain]. Kyiv: Naukova dumka; 1992. 208 p. Russian.
 12. Ben Shabat M, Eliya O, Azrilin O, et al. New cortical neurodegenerative pathways in the hypertensive rat brain. *Cerebral Cortex*. 2021; 31(12): 5487–96.
 13. Bick SK, Eskandar EN. Neuromodulation for restoring memory. *Neurosurg Focus* [Internet]. 2016 May [cited 2022 May 12]; 40(5): E5. Available from: <https://thejns.org/focus/view/journals/neurosurg-focus/40/5/article-pE5.xml>
 14. Canavan M, O'Donnell MJ. Hypertension and cognitive impairment: A review of mechanisms and key concepts. *Front Neurol*. [Internet]. 2022 Feb 4 [cited 2023 Feb 20]; 13: 821135. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2022.821135/full>
 15. Chen N, Hudson JE, Walczak P, et al. Human umbilical cord blood progenitors: the potential of these hematopoietic cells to become neural. *Stem Cells*. 2005; 23(10): 1560–70.
 16. Chernyuk DP, Bol'shakova AV, Vlasova OL, et al. Possibilities and prospects of the behavioral test «Morris water maze». *J Evol Biochem Phys*. 2021; (57): 289–303.
 17. Coca A. Hypertension and brain damage. New York: Springer; 2016. 329 p.
 18. De Deyn PP, Dam DV, editors. *Animal models of dementia*. NY: Humana Press; 2011. 732 p.
 19. Del Pinto R, Grassi D, Bocale R, et al. Blood pressure profiles and cognitive function from adulthood to old age: chasing a golden middle way? *J Clin Med*. [Internet]. 2021 Jul 23 [cited 2023 Feb 21]; 10(15): 3243. Available from: <https://doi.org/10.3390/jcm10153243>.
 20. Farokhi-Sisakht F, Sadigh-Eteghad S, Mohaddes G, et al. Physical and cognitive training attenuate hippocampal ischemia-induced memory impairments in rat. *Brain Res Bull*. 2020; 155: 202–10.
 21. Kempermann G. *Adult neurogenesis, stem cells and neuronal development in brain*. Oxford: University. Press; 2005. 546 p.
 22. Kulikov AV, Fursenko DV, Khotskin NV, et al. Spatial learning in the Morris water maze in mice genetically different in the predisposition to catalepsy: the effect of intraventricular treatment with brain-derived neurotrophic factor. *Pharmacol Biochem Behav*. 2014; 122: 266–72.
 23. Lissner LJ, Wartchow KM, Toniazzo AP, et al. Object recognition and Morris water maze to detect cognitive impairment from mild hippocampal damage in rats: A reflection based on the literature and experience. *Pharmacol Biochem Behav*. [Internet]. 2021 Sep 16 [cited 2022 Dec 4]; 210: 173273. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0091305721001726>
 24. McDonald C, Pearce MS, Kerr SR, et al. Blood pressure variability and cognitive decline in older people: a 5-year longitudinal study. *J Hypertens*. 2017; 35: 140–7.



26. McDonald C, Pearce MS, Kerr SR, et al. Blood pressure variability and cognitive decline in older people: a 5-year longitudinal study. *J Hypertens*. 2017; 35:140–7.
27. Moraes NC, Muela HCS, MemOria CM, et al. Systemic arterial hypertension and cognition in adults: effects on executive functioning. *Arq Neuropsiquiatr*. 2020; 78(7): 412–8.
28. Ou Y-N, Tan C-C, Shen X-N, et al. Blood pressure and risks of cognitive impairment and dementia. *Hypertension*. 2020; 76: 217–25.
29. Paczkowska E, Kaczyńska K, Pius-Sadowska E, et al. Humoral activity of cord blood-derived stem/progenitor cells: implications for stem cell-based adjuvant therapy of neurodegenerative disorders. *PLoS One*. [Internet]. 2013 Dec 31 [cited 2022 May 12]; 8(12): e83833. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0083833>
30. Reckelhoff JF, Yanes Cardozo LL, Fortepiani MLA. Models of hypertension in aging. In: Ram JL, Conn PM, editors. *Conn's handbook of models for human aging (2nd Edition)*. Elsevier; 2018. p. 703–20.
31. Ungvari Z, Toth P, Tarantini S, et al. Hypertension-induced cognitive impairment: from pathophysiology to public health. *Nat Rev Nephrol*. 2021; 17(10): 639–54.
32. Vorhees C, Williams M. Value of water mazes for assessing spatial and egocentric learning and memory in rodent basic research and regulatory studies. *Neurotoxicology and Teratology*. 2014; 45: 75–90.
33. Walker KA, Power MC, Gottesman RF. Defining the relationship between hypertension, cognitive decline, and dementia: a review. *Curr Hypertens Rep*. [Internet]. 2017 [cited 2022 May 5]; Mar 19(3): 24. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6164165/>
34. Whiting MD, Kokiko-Cochran ON. Assessment of cognitive function in the water maze task: maximizing data collection and analysis in animal models of brain injury. In: Kobeissy F, Dixon C, Hayes R, Mondello S, editors. *Injury models of the central nervous system*. Book series: *Methods in Molecular Biology*, Vol. 1462. New York: Humana; 2016. p. 553–71.
35. Yen PSY, Liu YC, Chu CH, et al. Upregulation of glutamatergic receptors in hippocampus and locomotor hyperactivity in aged spontaneous hypertensive rat. *Cell Mol Neurobiol*. [Internet]. 2022 [cited 2022 May 12]; 42: 2205–17. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10571-021-01094-3>
36. Zhang P, Fang H, Lou C, et al. Enhanced glial reaction and altered neuronal nitric oxide synthase are implicated in attention deficit hyperactivity disorder. *Front Cell Dev Biol*. [Internet]. 2022 Jun 21 [cited 2022 May 5]; 10: 901093. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9255429/>
25. Mishchenko LA, Gulkevich OV, Revenko IL. [Cognitive disorders against the background of arterial hypertension: features and ways of correction]. *Medychna Gazeta "Zdorovya Ukrainy 21 storichchia"*. 2020; (2): 40–3. Ukrainian.
26. Moraes NC, Muela HCS, MemOria CM, et al. Systemic arterial hypertension and cognition in adults: effects on executive functioning. *Arq Neuropsiquiatr*. 2020; 78(7): 412–8.
27. Ou Y-N, Tan C-C, Shen X-N, et al. Blood pressure and risks of cognitive impairment and dementia. *Hypertension*. 2020; (76): 217–25.
28. Paczkowska E, Kaczyńska K, Pius-Sadowska E, et al. Humoral activity of cord blood-derived stem/progenitor cells: implications for stem cell-based adjuvant therapy of neurodegenerative disorders. *PLoS One*. [Internet]. 2013 Dec 31 [cited 2022 May 12]; 8(12): e83833. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0083833>
29. Reckelhoff JF, Yanes Cardozo LL, Fortepiani MLA. Models of hypertension in aging. In: Ram JL, Conn PM, editors. *Conn's handbook of models for human aging (2nd edition)*. Elsevier; 2018. p. 703–20.
30. Skibchych VA, Peleshko OS. [Cognitive impairment in patients with arterial hypertension: literature review and personal experience]. *Ukrainian Medical Journal*. 2019; (3): 1–4. Ukrainian.
31. Ungvari Z, Toth P, Tarantini S, et al. Hypertension-induced cognitive impairment: from pathophysiology to public health. *Nat Rev Nephrol*. 2021; 17(10): 639–54.
32. Vorhees C, Williams M. Value of water mazes for assessing spatial and egocentric learning and memory in rodent basic research and regulatory studies. *Neurotoxicology and Teratology*. 2014; 45: 75–90.
33. Walker KA, Power MC, Gottesman RF. Defining the relationship between hypertension, cognitive decline, and dementia: a review. *Curr Hypertens Rep*. [Internet]. 2017 [cited 2022 May 5]; Mar 19(3): 24. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6164165/>
34. Whiting MD, Kokiko-Cochran ON. Assessment of cognitive function in the water maze task: maximizing data collection and analysis in animal models of brain injury. In: Kobeissy F, Dixon C, Hayes R, Mondello S, editors. *Injury models of the central nervous system*. Book series: *Methods in Molecular Biology*, Vol. 1462. New York: Humana; 2016. p. 553–71.
35. Yen PSY, Liu YC, Chu CH, et al. Upregulation of glutamatergic receptors in hippocampus and locomotor hyperactivity in aged spontaneous hypertensive rat. *Cell Mol Neurobiol*. [Internet]. 2022 [cited 2022 May 12]; 42: 2205–17. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10571-021-01094-3>
36. Zhang P, Fang H, Lou C, et al. Enhanced glial reaction and altered neuronal nitric oxide synthase are implicated in attention deficit hyperactivity disorder. *Front Cell Dev Biol*. [Internet]. 2022 Jun 21 [cited 2022 May 5]; 10: 901093. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9255429/>

