

## ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТА *RHAPONTICUM CARTHAMOIDES* (WILLD). *ILJIN* ПРИ ИШЕМИИ МОЗГА У КРЫС

М. Б. Плотников<sup>1</sup>, С. В. Логвинов<sup>2</sup>, Н. В. Пугаченко<sup>2</sup>, М. Ю. Маслов<sup>1</sup>,  
О. И. Алиев<sup>1</sup>, А. С. Васильев<sup>1</sup>, Н. И. Суслов<sup>1</sup>, А. В. Потапов<sup>2</sup>

Электронно-микроскопическим и электрофизиологическим методами показаны выраженные структурно-функциональные нарушения коры большого мозга у крыс с моделью церебральной ишемии. Курсовое введение экстракта левзеи сафлоровидной (150 мг/кг внутрь ежедневно в течение 5 дней) снижает проявления ишемических повреждений, что выражается в нормализации структурных свойств нейронов и восстановлении функциональной активности головного мозга.

**Ключевые слова:** экстракт левзеи сафлоровидной, ишемия мозга, нейроны коры мозга, ЭЭГ

### ВВЕДЕНИЕ

Гемореологические нарушения, приводящие к расстройству микроциркуляции и тромбоэмболическим осложнениям, способны значительно ухудшать течение сосудистых заболеваний мозга [14, 15], что обосновывает включение в комплексную терапию цереброваскулярных расстройств препаратов, обладающих гемореологической активностью.

Ранее нами были продемонстрированы гемореологические свойства экстракта левзей сафлоровидной (ЭЛС) в условиях ишемического повреждения мозга у крыс. Так, на модели ишемии мозга введение ЭЛС приводило к снижению вязкости крови, агрегации эритроцитов и повышению их деформируемости [7]. Полученные данные послужили основой для углубленного исследования церебропротекторных свойств ЭЛС.

Целью данной работы явилось изучение влияния ЭЛС на морфо-функциональное состояние нейронов на модели ишемии мозга у крыс.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Морфологические исследования выполнены на 28 половозрелых крысах Вистар обоего пола массой 250 – 300 г, содержащихся на стандартном пищевом рационе вивария НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН. Животные были разделены на 3 группы: 1-я — интактные ( $n = 10$ ), 2-я — контрольные, с ишемией мозга ( $n = 10$ ), 3-я — опытные, с ишемией мозга, леченные экстрактом левзеи сафлоровидной ( $n = 8$ ). У крыс 2-й и 3-й групп ишемию мозга воспроизводили под эфирным наркозом путем полного лигирования левой общей сонной артерии и ограничения кровотока по пра-

вой сонной артерии до 50 % от исходного уровня [6]. Материал брали после декапитации животных под эфирным наркозом на 5-е сутки после создания модели ишемии. Правое и левое полушария мозга фиксировали в жидкости Карнуа и заливали в парафин. Фронтальные депарафинированные срезы на уровне передней теменной области (PAS) коры большого мозга [8] окрашивали гематоксилином и эозином, крезидоловым фиолетовым по Нисслю. Подсчитывали процент нейронов с различными морфологическими изменениями в слоях III, IV, V на 500 нервных клеток в слое от каждого животного. Для оценки степени реакции и повреждения нейронов коры мозга при ишемии и на фоне введения ЭЛС использовали классические нейроморфологические критерии, из которых очаговый хроматолиз и гиперхромия без сморщивания традиционно расцениваются как изменения обратимого характера, а тотальный хроматолиз с образованием “клеток-теней”, гиперхромия и сморщивание относят к разряду “тяжелых” необратимых изменений нейрона [1, 4].

Для электронно-микроскопического исследования кусочки коры большого мозга переднетеменной области фиксировали в 2,5 % растворе глутаральдегида на 0,2 М кокадилатном буфере (рН 7,4), постфиксировали в 1 % растворе четырехоксида осмия, дегидратировали в спиртах восходящей концентрации и заливали в аралдит. Полутонкие срезы окрашивали толуидиновым синим, а ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, изучали в электронном микроскопе JEM-7A. Статистическую обработку проводили с использованием непараметрического критерия Вилкоксона – Манна – Уитни.

Для оценки влияния препаратов на функциональную активность головного мозга применяли метод компрессированного спектрального анализа электроэнцефалограммы (ЭЭГ). Регистрацию ЭЭГ осуществляли монополярным способом с использованием nichromовых электродов, изолированных по всей длине, за исключением торца, предварительно вживленных в

<sup>1</sup> Лаборатория фармакологии кровообращения НИИ фармакологии Томского научного центра СО РАМН, Томск, 634028, пр. Ленина, 3.

<sup>2</sup> Кафедра гистологии и эмбриологии Сибирского государственного медицинского университета, Томск, 634050, ул. Московский тракт, 2.

кору мозга крыс. Электроэнцефалограммы записывали с помощью электроэнцефалографа Эра-9 и магнитографа 1296 фирмы “ОТЕ-Biomedica”. Фурье-анализ проводили на спектроанализаторе той же фирмы. Эпоха анализа составляла 248 с. При количественном анализе спектр колебаний ЭЭГ разбивали на 5 исходных диапазонов согласно рекомендациям Международной федерации обществ электроэнцефалографии и клинической нейрофизиологии [2];  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -диапазоны оценивали в виде суммарного показателя мощности  $\beta$ -диапазона.

Количественное содержание экидистероидов в ЭЛС определяли хроматоспектрофотометрическим методом [12]. Суммарное содержание экидистероидов в исследуемом экстракте составило 1,8 %. Экстракт левзеи сафлоровидной (ЭЛС) вводили опытным животным в дозе 150 мг/кг, что в пересчете на экидистерон составило 2,7 мг/кг. Введение осуществляли в желудок в 1 % крахмальной слизи ежедневно в течение 5 дней, начиная с 1-го дня создания ишемии мозга. Контрольные животные получали эквивалентное количество 1 % крахмальной слизи.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На 5-е сутки после воспроизведения ишемии наблюдался выраженный отек астроглии по ходу артериол, просвет которых частично или полностью был закрыт в результате сдавления. Венозные сосуды характеризуются застойным полнокровием и явлениями стаза. Просвет их расширен и заполнен многочисленными эритроцитами. Электронно-микроскопическое исследование капилляров коры мозга при ишемии показывает, что наиболее демонстративные изменения касаются перикапиллярных элементов астроглии. Сосудистые отростки астроцитов по ходу большинства капилляров отечны, увеличены в объеме, обладают низкой электронной плотностью. За счет резкого набухания астроцитарных отростков некоторые капилляры сдавлены, просвет их полностью закрыт. В астроцитарных отростках появляются мембранные комплек-

сы, липидные вакуоли, крупные, окруженные мембраной везикулы. Базальная мембрана капилляров при ишемии, как правило, обладает повышенной электронной плотностью, неравномерной толщиной. Перидциты, располагающиеся в дубликатах базальной мембраны, иногда содержат скопления липидов, повышенное количество лизосом. Наиболее характерным изменением эндотелиоцитов при ишемии было появление транспортных микровезикул в цитоплазме, не характерных для церебральных капилляров в норме. Это один из признаков “прорыва” гематоэнцефалического барьера. Кроме того, в цитоплазме эндотелиоцитов появляются крупные везикулы, образовавшиеся, вероятно, вследствие разрушения митохондрий и эндоплазматического ретикулума. В митохондриях часто отмечается деструкция крист, внутренней мембраны, просветление матрикса.

Подсчет доли суженных капилляров с просветом менее или равным  $2 \pm 0,5$  мкм, не содержащих эритроциты, показал, что при ишемии их количество увеличивается в левом полушарии до  $41,3 \pm 1,3$  % (интактные —  $20,4 \pm 1$  %), в правом — до  $32,4 \pm 1,5$  % против  $19,2 \pm 1,1$  % у интактных животных (табл. 1). Это соответствует данным, полученным нами ранее с помощью световой микроскопии [16]. Данные капилляры, очевидно, являются нефункционирующими, и их можно отнести к разряду закрытых или плазматических. При курсовом введении ЭЛС в дозе 150 мг/кг в условиях ишемии доля суженных нефункционирующих капилляров снижается в левом полушарии до  $34,3 \pm 1,7$  %, в правом — до  $27,4 \pm 1$  % (см. табл. 1).

Очаговый хроматолиз в перикарионе нервных клеток проявлялся чаще периферическим или сегментарным растворением хроматофильной субстанции, что обычно трактуется как результат длительного раздражения, функционального напряжения нейрона и является распространенной реакцией на кислородное голодание [1, 4]. Содержание указанным образом измененных нейронов значимо возрастало по сравнению с таковым у интактных животных в большей степени в

Таблица 1. Влияние курсового (ежедневно однократно в течение 5 дней в дозе 150 мг/кг) введения экстракта левзеи сафлоровидной на количество нефункционирующих капилляров (НК) в сосудистой сети коры мозга и морфологические показатели клеток коры при ишемии мозга у крыс (в %)

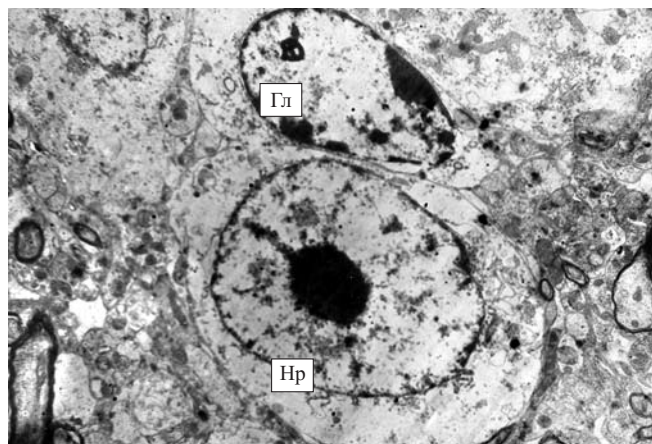
Серии опытов	Полушарие	НК	Нейроны					
			нормохромные	с очаговым хроматолизом	гиперхромные без признаков сморщивания	с тотальным хроматолизом (“клетки-тени”)	гиперхромные сморщенные	
Интактные крысы	левое	$20,4 \pm 1,0$	$87,6 \pm 1,4$	$3,9 \pm 0,3$	$4,8 \pm 0,3$	$1,7 \pm 0,2$	$2,5 \pm 0,5$	
	правое	$19,2 \pm 1,1$	$83,8 \pm 2,4$	$4,0 \pm 0,4$	$5,1 \pm 1,1$	$3,4 \pm 0,3$	$3,1 \pm 0,6$	
Ишемия	контроль	левое	$41,3 \pm 1,3^*$	$35,6 \pm 0,8^*$	$10,5 \pm 0,6^*$	$28,5 \pm 0,9^*$	$14,2 \pm 1,6^*$	$9,6 \pm 0,9^*$
		правое	$32,4 \pm 1,5^*$	$48,6 \pm 0,8^*$	$10,3 \pm 0,3^*$	$25,5 \pm 1,0^*$	$5,9 \pm 0,3^*$	$9,2 \pm 0,4^*$
	опыт	левое	$34,3 \pm 1,7^{*+}$	$55,0 \pm 0,5^{*+}$	$4,4 \pm 0,6^+$	$23,8 \pm 1,0^{*+}$	$9,9 \pm 0,7^{*+}$	$7,1 \pm 1,0^*$
		ЭЛС	$27,4 \pm 1,0^{*+}$	$61,5 \pm 0,7^{*+}$	$4,8 \pm 0,3^+$	$19,8 \pm 0,9^{*+}$	$5,8 \pm 0,3^{*+}$	$6,7 \pm 0,4^{*+}$

Примечание. Здесь и в табл. 2 различия достоверны ( $p < 0,05$ ) по сравнению: + — с контролем, \* — с интактными животными.

левом полушарии (см. табл. 1). Аналогичная динамика наблюдалась в содержании гиперхромных нейронов без признаков сморщивания, которые морфологически идентифицировались по увеличению степени базофилии перикариона, укрупнению глыбок хроматофильного вещества с образованием конгломератов, что функционально интерпретируется как реактивное заторможенное состояние нейрона [5]. В правом и особенно в наиболее страдающем в этой модели левом полушарии возрастал процент “клеток-теней”, которые являются результатом крайней необратимой степени хроматолиза с полным растворением хроматофильной субстанции в перикарионе и дендритах, резким уменьшением или исчезновением ядрышек. Повышалось также содержание необратимо измененных гиперхромных сморщенных нейронов, процент неизмененных нормохромных клеток значимо уменьшался. Наблюдаемые морфологические изменения отражают явления значительного кислородного голодания [1, 4].

Ультраструктурные изменения нейронов при ишемии носили в основном хроматолитический характер и заключались, прежде всего, в уменьшении содержания гранулярного эндоплазматического ретикулума и свободных полирибосом в перикарионе, вакуолизации и снижении электронной плотности цитоплазмы. В отростках и перикарионе части нейронов увеличивалось содержание лизосом, появлялись скопления липофусцина и липидов. Удельный объем гранулярного эндоплазматического ретикулума в перикарионе нейронов при ишемии в правом и левом полушариях снизился на 43 и 69 % соответственно по сравнению с таковым у интактных животных, а при введении ЭЛС был снижен на 42 и 61 % соответственно. Содержание митохондрий при ишемии составило 56,5 и 50 % от исходного уровня в правом и левом полушарии соответственно.

Под влиянием курсового введения ЭЛС происходило уменьшение ишемического повреждения клеток коры мозга, причем степень эффекта препарата зависела от выраженности клеточных повреждений и имела трансполушарные различия. Повреждение нейронов коры также снижалось в зависимости от степени ишемии (см. табл. 1). Так, в правом полушарии с умеренной ишемией содержание нейронов с обратимыми реактивными изменениями уменьшалось, причем доля клеток с очаговым хроматолизом приближалась к уровню интактных животных. Терапия ЭЛС достоверно ограничивала число нейронов с необратимыми нарушениями (“клетки-тени”, пикноморфные нейроны). В левом полушарии с более выраженной ишемией снижалась доля нейронов с изменениями обратимого характера; отсутствовала динамика в содержании необратимо измененных клеток, но в целом содержание нормохромных нервных клеток возрастало по сравнению с контролем. Динамика содержания нейронов с различными морфологическими изменениями при



**Рис. 1.** Влияние экстракта лезвев сафлоровидной на ультраструктурную организацию нейрона (Hr) и принейронального глиоцита (Гл) коры большого мозга при ишемии. Хроматолитические изменения в перикарионе, гипертрофия ядрышка, значительный по площади контакт с принейрональным глиоцитом. Увеличение 3600.

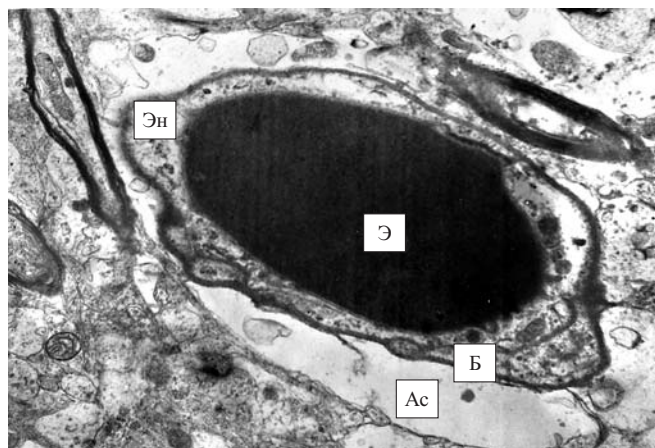
ишемии и на фоне введения ЭЛС представлена на рисунке IV.

ЭЛС оказывал влияние на ультраструктурную организацию тканевых элементов мозга при ишемии. В хроматолитически измененных нейронах становились более выраженными проявления клеточной адаптации и репаративные процессы. Наблюдались гипертрофия ядрышек и увеличение их гранулярного компонента, активизировались ядерно-цитоплазматические взаимоотношения — увеличивалось количество пор в карิโอлеме, усиливался транспорт нуклеопротеидов в цитоплазму. Отмечалась активизация глионейрональных взаимосвязей. Весьма часто удавалось наблюдать тесное примыкание на значительной площади поверхности нейрона и принейрональных глиоцитов, инвагинацию и прерывистость цитолемы в месте контакта, сближение ядер в указанной области (рис. 1). В большей части гемокapилляров мозга нормализовалась ультраструктура эндотелия, базального слоя, в значительной степени уменьшался отек перикапиллярной астроглии (рис. 2).

Введение ЭЛС препятствовало снижению в нейронах удельного объема митохондрий, которое составило 90,5 % ( $p < 0,05$ ) и 52,8 % от уровня интактных животных в правом и левом полушарии соответственно. При ишемии удельный объем лизосом и липофусцина увеличивался в нейронах правого полушария до  $10,7 \pm 1,9$  % (контроль  $2,1 \pm 0,4$  %), а в левом до  $14,9 \pm 2,7$  % (контроль  $1,8 \pm 0,5$  %;  $p < 0,05$ ), и значимо уменьшился при курсовом введении ЭЛС только в правом полушарии до  $6,4 \pm 0,8$  % ( $p < 0,05$ ), в левом — до  $12,6 \pm 3,1$  %.

На 5-е сутки ишемии данными ЭЭГ продемонстрирован ряд феноменов, которые служат критерием выраженной гипоксии головного мозга [3]. Так, наблюдалось достоверное снижение суммарной мощности





**Рис. 2.** Влияние экстракта лезвев сафлоровидной на ультраструктуру микроциркуляторного русла коры большого мозга при ишемии. Гемокапилляр: обычная ультраструктура эндотелия (Эн) и базального слоя (Б), эритроцит в просвете (Э), нерезко выраженный отек перикапиллярной астроглии (Ас). Увеличение 7200.

ЭЭГ теменной коры как левого (на 37 %) так и правого (на 27 %) полушарий. Происходило преимущественное угнетение доминирующей в норме активности  $\Theta$ -диапазона (в левом полушарии на 70 %, в правом на 44 %), при этом в более страдающем левом полушарии  $\Theta$ -ритм утратил свою доминирующую роль. Коэффициент асимметрии  $\Theta$ -ритма в этот период составил 0,51 по сравнению со значениями до ишемии мозга. Снижение мощности  $\delta$ -ритма в левом полушарии составило 49 %, правого — 40 %. Снижение мощности всех ритмов свидетельствует о выраженных функциональных нарушениях в коре большого мозга.

Под влиянием терапии ЭЛС наблюдалось значительное улучшение функциональной активности коры головного мозга — в левом и правом полушарии мощность  $\delta$ -,  $\Theta$ -,  $\alpha$ - и  $\beta$ -ритмов была близка к уровню интактных животных. Значение  $\Theta$ -ритма в правом полушарии значительно превышало аналогичный показатель у интактных животных (табл. 2), что характерно для эффектов адаптогенных препаратов [9]. Восстанавливалось соотношение мощности отдельных со-

ставляющих в спектре обоих полушарий, хотя явления межполушарной асимметрии сохранялись. Подобная картина говорит о существенно большей сохранности функциональной активности коры мозга ишемизированного полушария у животных, получавших ЭЛС, по сравнению с контрольными животными [9].

Патогенез ишемического повреждения ткани включает по крайней мере три значимых фактора: повышение внутриклеточной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ , ацидоз, активацию свободнорадикальных процессов [17].

Благодаря наличию в исследуемом экстракте флавоноидов, возможно, происходит снижение активности процессов перекисного окисления липидов в тканях мозга, что в сочетании со способностью экидистероидов оптимизировать энергетический баланс и нормализовать белково-синтетические процессы [10] приводит к значительному улучшению функционального состояния нейронов и электрической активности коры головного мозга в целом. Имеются сведения о модулировании экидистероидами активности  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ -азы,  $\text{Mg}^{2+}\text{-Ca}^{2+}\text{-ATP}$ -азы различных гистологических видов клеток [11, 13]. В связи с этим можно предположить участие экидистероидов в регуляции концентрации внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  посредством влияния на  $\text{ATP}$ -зависимый транспорт ионов в нейронах.

## ВЫВОДЫ

1. С помощью методов электронной микроскопии и электроэнцефалографии продемонстрированы существенные структурно-функциональные нарушения коры большого мозга у крыс с церебральной ишемией.
2. Курсовое (5 дней) введение экстракта лезвев сафлоровидной в дозе 150 мг/кг (2,7 мг экидестерона/кг) крысам с ишемией мозга снижает количество нейронов с обратимыми (клетки с очаговым хроматолизом и гиперхромией без сморщивания) и необратимыми (тотальный хроматолиз с образованием “клеток-теней”, гиперхромия и сморщивание) изменениями.
3. Курсовое введение экстракта лезвев сафлоровидной крысам с ишемией мозга способствует восстановлению электрической активности коры большого мозга.

**Таблица 2.** Влияние курсового введения экстракта лезвев сафлоровидной (ЭЛС) в дозе 150 мг/кг на мощность отдельных диапазонов ЭЭГ активности зрительной коры большого мозга у крыс с ишемией

Полушарие	$\delta$ -ритм	$\theta$ -ритм	$\alpha$ -ритм	$\beta$ -ритм
<i>Исходные значения</i>				
Левое	33,0 ± 4,9	34,4 ± 3,1	11,9 ± 2,4	10,3 ± 1,1
Правое	37,9 ± 5,8	38,5 ± 3,4	13,8 ± 2,9	12,1 ± 1,2
<i>Ишемия (5-е сутки)</i>				
Левое	11,5 ± 1,1*	11,4 ± 1,1*	6,3 ± 1,8*	6,4 ± 1,3*
Правое	14,1 ± 1,7*	22,2 ± 4,5*	10,6 ± 4,1	9,7 ± 3,0
<i>Ишемия (5-е сутки) + ЭЛС</i>				
Левое	30,5 ± 5,0 <sup>+</sup>	35,4 ± 8,5 <sup>+</sup>	16,8 ± 5,3 <sup>+</sup>	17,3 ± 5,2 <sup>+</sup>
Правое	40,4 ± 5,3 <sup>+</sup>	72,1 ± 21,9 <sup>+</sup>	24,5 ± 6,4 <sup>+</sup>	23,7 ± 6,4 <sup>+</sup>

4. Курсовое введение экстракта левзеи сафлоровидной крысам с ишемией мозга уменьшает число нефункционирующих капилляров.

Авторы статьи выражают благодарность зав. лабораторией фитохимии Сибирского ботанического сада при Томском государственном университете Ларисе Николаевне Зибаревой за работу по количественному определению экидистероидов в экстракте левзеи сафлоровидной.

## ЛИТЕРАТУРА

1. И. И. Боголепов, *Ультраструктура мозга при гипоксии*, Москва (1979), с. 168.
2. Т. А. Воронина, С. В. Крапивин, Н. Н. Богданов, *Вестн. АМН СССР*, № 2, 91 – 96 (1987).
3. Е. И. Гусев, *Пат. физиол.*, № 4, 32 – 36 (1992).
4. Ю. М. Жаботинский, *Нормальная и патологическая морфология нейрона*, Ленинград (1965), с. 324
5. Д. Д. Орловская, В. Н. Клешинов, *Ж. невропатол. и психиатр.*, № 4, 981 – 988 (1986).
6. М. Б. Плотников, О. Е. Ваизова, *Пат. физиол.*, № 2, 59 – 60 (1994).
7. М. Б. Плотников, Л. Н. Зибарева, А. А. Колтунов и др., *Растит. ресурсы*, № 1, 91 – 96 (1998).
8. В. М. Светухина, *Арх. анат.*, **52**, 2 – 5 (1962).
9. Н. И. Суслов, *Автореф. дис. д-ра мед. наук*, Томск (1995).
10. В. Н. Сыров, *Экспер. и клин. фармакол.*, **57**(5), 61 – 66 (1994).
11. В. К. Петров, В. Н. Дармограй, А. А. Сысокин и др., *III Рос. нац. конгресс “Человек и лекарство”*, Москва (1996), с. 42.
12. М. Р. Якубова, Г. Л. Генкина, Т. Т. Шакиров, Н. К. Абубакиров, *Химия природ. соединений*, № 6, 737 – 740 (1978).
13. З. А. Хушбактова, С. С. Азизова, Ф. Т. Умарова, и др., *Узб. биол. ж.*, № 4, 5 – 9 (1986).
14. В. М. Coull, N. B. Beamer, and V. F. Seaman, *Clin. Hemorrhol.*, **6**, 17 – 33 (1986).
15. E. Ott, F. Fazekas, M. Tschinkel, et al., *Eur. Neurol.*, **22**(1), 35 – 37 (1983).
16. Т. М. Plotnikova, Т. G. Bazhenova, М. В. Plotnikov, and А. S. Saratkov, *Russian J. Clin. Pharm.*, **1**(1), 58 – 60 (1997).
17. В. К. Siesjo, *J. Neurosurg.*, **77**(3), 337 – 354 (1992).

Поступила 18.03.04

## CEREBROPROTECTOR ACTIVITY OF *Rhaponticum carthamoides* EXTRACT IN RATS WITH BRAIN ISCHEMIA

М. В. Plotnikov<sup>1</sup>, S. V. Logvinov<sup>2</sup>, N. V. Pugachenko<sup>2</sup>, M. Yu. Maslov<sup>1</sup>, O. I. Aliev<sup>1</sup>,  
A. S. Vasil'ev<sup>2</sup>, N. I. Suslov<sup>1</sup>, and A. V. Potapov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Circulatory Pharmacology, Tomsk Institute of Pharmacology, Tomsk Scientific Center, Siberian Division, Russian Academy of Medical Sciences, pr. Lenina 3, Tomsk, 634028 Russia;

<sup>2</sup> Department of Histology and Embryology, Siberian State Medical University, Moskovskii trakt 2, Tomsk, 634050 Russia

Electron microscopy and electrophysiological data reveal pronounced structural and functional disturbances in cerebral cortex of rats with model brain ischemia. A 5-day treatment with a dry extract from *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin. in a daily dose of 150 mg/kg (p.o.) equivalent to 2.7 mg ecdysterone per kg body weight reduced manifestations of the ischemic damage, improved the structure of neurons, and restored brain activity (EEG parameters).