

Еластази за умов природної гібернації у хом'яків**Elastases Under Natural Hibernation in Hamsters**

Природна гібернація у дорослих хом'яків-самців приводить до зростання активності еластаз та еластазоінгібіторної активності (ЕІА) α -1-інгібітору протеїназ (α -1-ІП) у більшості тканин. Ранній період відновлення (через 2 год після гібернації) характеризується підвищенням рівня еластаз та зниженням ЕІА в мозочку та стовбурі мозку. Пізній етап відновлення (через 24 год) є відображенням прагнення організму до рівноваги в системі еластаза- α -1-ІП.

Ключові слова: еластаза, ендотеліальна еластаза, металоеластаза, α -1-інгібітор протеїназ, зимова сплячка.

Природная гибернация у взрослых хомяков-самцов приводит к повышению активности эластаз и эластазоингибиторной активности (ЭИА) α -1-ингибитора протеиназ (α -1-ИП) в большинстве тканей. Ранний период восстановления (через 2 ч после гибернации) характеризуется повышением уровня эластаз и снижением ЭИА в мозжечке и стволе мозга. Поздний этап восстановления (через 24 ч) является отображением стремления организма к равновесию в системе эластаза- α -1-ИП.

Ключевые слова: эластаза, эндотелиальная эластаза, металлоэластаза, α -1-ингибитор протеиназ, зимняя спячка.

Natural hibernation in mature male hamsters results in an increased elastase activity and elastase-inhibitory activity (EIA) of α -1-inhibitor of proteinases (α -1-IP) in the most samples of the studied tissues. An early period of organism recovery (2 hrs after hibernation) is characterised by an increased elastase level and EIA decrease in cerebellum and brain stem, within a later one (24 hrs after hibernation) a balance in the elastase α -1-IP system is established.

Key words: elastase, endothelial elastase, metalloelastase, α -1-proteinase inhibitor, torpor.

Процес адаптації організму до факторів зовнішнього середовища, які змінюються, тісно пов'язаний з перебудовою певних показників гомеостазу (рівнів функціонування систем і органів).

Для багатьох ссавців низька температура та дефіцит джерел харчування на початку зими є сигналами до занурення у стан гібернації (зимова сплячка) [24], який забезпечує виживаність певних видів тварин і уникання впливу негативних факторів навколишнього середовища. Одним з прикладів адаптивних реакцій організму гібернаторів є суттєве зниження активності метаболічних процесів [13, 19, 24]. При цьому зменшується потреба в кисні, уповільнюється серцевий ритм [13]. Транскрипція, трансляція, мітоз, мітохондріальне дихання цілком пригнічуються під час торпору [24], знижується інтенсивність процесів синтезу і розпаду білків [18]. Активність протеолітичних процесів відзначають на вхідній фазі торпору, коли білкові порушення компенсуються синтезом протеїнів, які мають менш кластеризовану організацію [22]. Відомо, що регіональний розподіл кровотока, транспортування та утилізації субстратів є тканинспецифічними процесами [25].

Однією з особливостей механізмів адаптації до низьких температур є залучення реактивних форм кисню, які можуть викликати розвиток оксидативного стресу та пошкодження клітин [13]. При ДУ "Інститут терапії ім. А.Т.Малого АМН України", м. Харків

The process of organism adaptation to changing environmental factors are tightly related to the rearrangements of certain indices of homeostasis (levels of system and organ functioning).

For many mammals a low temperature and deficiency in nutrient sources at early winter are the signals to go into hibernation state (winter hibernation) [24], providing the survival for certain mammalian species and protection against negative environmental factors. One of the examples of adaptive responses of hibernators' organism is a significant decrease in metabolic process activity [13, 19, 24]. Herewith there are a decrease in oxygen need and the deceleration of a cardiac rhythm [13]. Transcription, translation, mitosis, mitochondrial respiration are completely suppressed during torpor [24], the intensity of synthesis and protein decay processes reduces [18]. The activity of proteolytic processes is determined in a pretorpor phase, when the protein disorders are compensated with protein synthesis, having less clustered structure [22]. Regional distribution of blood flow, substrate transport and utilisation are known to be the tissue-specific processes [25].

One of the peculiarities of adaptive mechanisms to low temperatures is the involvement of oxygen reactive forms, capable to cause the development of oxidative stress and cell damaging [13]. The activation of neutrophils, capable for free radical release together with

L.T. Malaya Institute of Therapy of the Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

* Адреса для листування: пр.Постишева, 2а, м.Харків, Україна, 61039; тел.: (+38 057) 373-90-97, електронна пошта: info@therapy.gov.ua

* Address for correspondence: 2A, Postysheva ave., Kharkov, Ukraine 61039; tel.:+380 57 373 9097, e-mail: info@therapy.gov.ua

оксидативному стресі відбувається активація нейтрофілів, які здатні вивільняти вільні радикали разом з серіною еластазою та іншими ферментами [10]. Активація еластази (Ел) може призводити до деструктивних змін тканин. Цей фермент гідролізує еластин, протеоглікани, білки (гемоглобін, фібриноген, неспіральні ланцюги колагену), розщеплює поперечні зв'язки між ними та інш. Однак відомо, що рівень оксидативного стресу мінімальний за умов нормальної зимової сплячки [14]. Автори вказують на можливість міграції та часткове пошкодження нейтрофілів, внаслідок чого зменшується їх кількість [16]. Крім того, мінімальний рівень оксидативного стресу може бути забезпечений за рахунок зростання активності металоеластази (МЕл) або матричної металопротеази 12, яка вивільняється макрофагами [14]. Вважають, що активація МЕл, яка пов'язана з продукцією макрофагами кисневих радикалів, є проявом природженого імунітету [11].

Відомо, що Ел вивільняють не тільки нейтрофіли, макрофаги, але і клітини гладких м'язів (серінова Ел), ендотеліоцити (тіолова Ел) [2]. Роль різних за походженням еластаз у формуванні адаптивної відповіді організму за умов зимової сплячки не досліджена.

Регуляція активності еластаз в організмі відбувається за участю α -1-інгібітору протеїназ (α -1-ІП), роль якого в контролі активності еластаз в умовах зимової сплячки не визначена, але відомо, що сезонні коливання його концентрації в плазмі крові бурих ведмедів пов'язані з незначним вкладом у протизапальний ефект [21].

Мета роботи – дослідити активність еластаз та α -1-ІП за умов природної гібернації.

Матеріали і методи

Експерименти проводили на статевозрілих (6–10 місяців) самцях золотавих хом'яків *Mesocricetus auratus*, які є факультативними гібернаторами. Тварин утримували в умовах віварію на стандартному раціоні з додаванням пшениці та насіння соняшнику. За умов перебування при 4–7°C у неосвітленій камері з нормальним постачанням кисню хом'яки впадали в зимову сплячку, знаходились у торпідному стані протягом 3–3,5 діб, потім пробуджувались і знову впадали в сплячку. На 2–4-му бауті (епізод сплячки) тварин декапітували. Експеримент виконували на 4-х групах тварин: 1 – стан зимової сплячки; 2 – ранній (через 2 год) та 3 – пізній (через 24 год) етапи відновлення організму після виходу зі сплячки; 4 – контроль.

Дослідження проводили відповідно до “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, схвалених II Національним конгресом з біоетики (Київ, 2004) та узгоджених з положеннями «Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, які

serine elastase and other enzymes, occurs under oxidative stress [10]. The elastase (EI) activation may result in destructive changes in tissues. This enzyme hydrolyses elastin, proteoglycans, proteins (hemoglobin, fibrinogen, non-spiral collagen chains), splits the cross bonds between them *etc.* However, the oxidative stress level is known to be the minimum under normal winter hibernation [14]. The migration and a partial damage of neutrophils are possible, resulting in their number reduction [16]. In addition, the minimum level of oxidative stress may be stipulated by an increase in activity of metalloelastase (MEI) or matrix metalloprotease 12, released by macrophages [14]. The MEI activation, relating to oxygen radical production by macrophages, is considered to be the manifestation of congenital immunity [11].

The EI is known to release not only by neutrophils, macrophages, but smooth muscle cells (serine EI), endotheliocytes (thiol EI) as well [2]. The role of differently originated elastases in an organism's adaptive response formation during winter hibernation has not been investigated.

The regulation of elastase activity in an organism occurs with the participation of α -1-inhibitor of proteinases (α -1-IP), the role of which in controlling the elastase activity under winter hibernation has not been determined yet, but seasonal fluctuations of its concentration in brown bear's blood plasma are known to be associated with a slight contribution into an anti-inflammatory effect [21].

The research aim is to investigate the elastase and α -1-IP activities under natural hibernation.

Materials and methods

Experiments were performed in mature (6–10 months) males of golden hamsters *Mesocricetus auratus*, being the optional hibernators. Animals were maintained under vivarium conditions, received the standard diet with adding wheat and sunflower seeds. When staying at 4–7°C in an unlighted chamber with normal oxygen supply the hamsters went into winter hibernation, being in a torpid state within 3–3.5 days, then aroused and went again into hibernation. To the 2nd–4th bout (hibernation episode) animals were decapitated. The experiment was carried-out in 4 animal groups: 1 – winter hibernation state; 2 – early (in 2 hrs) and 3 – late (in 24 hrs) stages of organism recovery after arousal; 4 – control.

The research was performed according to the “General ethical principles of experiments in animals”, approved by the 2nd National Congress on Bioethics (Kiev, 2004) and agreed with the statements of the “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes” (Strasbourg, 1985).

In non-nucleated fractions of tissue homogenates of cerebral cortex (CC), hypothalamus, cerebellum,

використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985).

У без'ядерних фракціях гомогенатів тканин кори мозку (КМ), гіпоталамуса, мозочка, стовбура мозку (СМ), легень, серця, печінки і нирок визначали активність Ел (загальну активність), активність ендотеліальної Ел (ЕЕл), МЕл та еластазоінгібіторну активність (ЕІА) α -1-ІІІ високочутливим (10^{-10} – 10^{-12} од/мг білка) ферментативним методом [9]. Рівень активності еластаз та ЕІА α -1-ІІІ виражали в од/мг білка. Концентрацію білка в без'ядерних фракціях гомогенатів тканин визначали за методом Бредфорда.

Активність еластаз досліджували при температурі 37°C, що значно перевищує таку за умов зимової сплячки, тому мова йде про активність Ел (як і МЕл, ЕЕл, ЕІА) в тканинах гібернуючих тварин, які отримані при температурі тіла 5–9°C.

У дослідженнях використовували пероксидазу хрому, фенілметилсульфонілфлюорид, моноіодацетат ("ICN", США), Ala-Ala ("Fluka", Німеччина), еластазу, ЕДТА, альбумін сироватки бика, полістиролові плашки стріпові (Росія) та фотометр-аналізатор імуоферментний Humanreader №2106-1709 ("Human", Німеччина).

Статистичну обробку отриманих даних проводили за методом Стьюдента-Фішера з використанням програмного забезпечення MS Excel.

Результати та обговорення

Аналіз результатів експериментів показав, що у хом'яків в період зимової сплячки (1 група) спостерігається зростання активності Ел в більшості досліджених тканин, крім серця (зміни відсутні) та нирок (зниження показника), порівняно з контролем (рис. 1). Найбільшу активність виявлено у тканині СМ.

Зростання активності Ел можливе за участю нейтрофілів, які вивільняють серінову еластазу разом з іншими протеолітичними ферментами та реактивними формами кисню, катіонними пептидами, ейкозаноїдами [10]. Цей факт, як відзначалося раніше, є характеристикою оксидативного стресу, рівень якого мінімальний за умов нормальної зимової сплячки [14]. Відомо [10], що при оксидативному стресі активність нейтрофілів обумовлена дією різних цитокінів і хемоатрактантів: фактору некрозу пухлин – α (ФНП- α), інтерлейкіну-8 (ІЛ-8) та інш. Відсутність змін у серці, де саме цитокіни (ФНП- α , ІЛ-1, ІЛ-6) ініціюють відповідь міокарда на екологічний тиск [20], може свідчити про наявність іншого механізму активації Ел.

В умовах зимової сплячки вивільнення Ел в тканинах тварин, зокрема в мозку, можливе за рахунок міграції та часткового пошкодження нейтрофілів,

brain stem (BS), lung, heart, liver and kidneys there were determined the activities of EI (total activity), endothelial EI (EEL), MEL and elastase-inhibitor activity (EIA) of α -1-IP using the high-sensitive (10^{-10} – 10^{-12} Units/mg of protein) enzyme method [9]. The level of elastase and EIA α -1-IP activities was expressed in Units/mg of protein. Protein concentration in non-nucleated fractions of tissue homogenates as determined using the Bradford method.

The elastase activity was studied at 37°C, that significantly exceeds it under winter hibernation, therefore the matter in the EI activity (as well as MEL, EEL and EIA) in hibernating animals' tissues, obtained at 5–9°C body temperature.

In the experiments we used the horseradish peroxidase, phenylmethylsulfonyl fluoride, monoiodoacetate (ICN, USA), Ala-Ala (Fluka, Germany), elastase, EDTA, bovine serum albumin, polystyrene strip plates (Russia) and immune-enzyme photometer-analyser Humanreader N2106-1709 (Human, Germany).

The results were statistically processed with the Student-Fisher test using Excel software.

Results and discussion

Analysis of experimental results demonstrated, that in hamsters during winter hibernation (1st group) there was observed an increase in EI activity in the most studied tissues, excepting heart (no changes) and kidneys (reduced index), compared to the control (Fig. 1). The highest activity was revealed in BS tissue.

An increase in EI activity is possible with the participation of neutrophils, releasing a serine elastase together with other proteolytic enzymes and reactive oxygen forms, cation peptides, eicosanoids [10]. As it was mentioned previously, this fact was a feature of oxidative stress, the level of which was the minimum under normal winter hibernation [4]. Under oxidative stress the neutrophil activity is known [10] as stipulated by the effect of different cytokines and chemoattractants: tumour necrosis factor- α (TNF- α), interleukine-8 (IL-8) *etc.* No changes in heart, where namely cytokines (TNF- α , IL-1, IL-6) initiate the myocardium response to ecological pressure [20], may testify to the presence of other mechanism of EI activation.

Under winter hibernation the EI release in animal tissues, especially in brain, is possible because of migration and a partial damage of neutrophils, due to that their number reduces [16]. The authors [16] indicate to the absence of pathological changes, coinciding to the results of our research. It is likely stipulated by the fact, that an enzyme activity is usually measured at 37°C and during winter hibernation the presence of elastase active forms does not result in pathological process development. However a considerable increase we noted in EI activity in brain tissue was not

внаслідок чого зменшується їх кількість [16]. Автори [16] вказують на відсутність патологічних змін, що співпадає з результатами цього дослідження. Можливо, це обумовлено тим, що ферментативну активність прийнятно вимірювати при температурі 37°C, і при зимовій сплячці наявність активних форм еластаз не приводить до розвитку патологічних процесів. Але відзначено в цій роботі суттєве зростання активності Ел в тканинах мозку не є випадковим, тому що зміну кількості клітин (зокрема нейтрофілів) вважають потенційним нейропротективним адаптогеном. Значна активність Ел у СМ може свідчити

про її вплив на механізми регуляції функцій усіх систем організму. При цьому значна активність Ел з тканини СМ за умов низької температури організму може бути обумовлена слабким її ефектом, навіть при високій концентрації.

Через 2 год після виходу тварин із гібернації (2 група) відзначено зростання активності Ел у всіх досліджених тканинах порівняно з контролем, вірогідне зростання порівняно з природною гібернацією (ПГ) виявлено в зразках, отриманих з тканин КМ, гіпоталамусу (максимальна активність), серця та нирок. Зростання цього показника є наслідком підвищення температури організму, цей факт узгоджується з даними інших авторів, які відзначають швидке відновлення на виході зі сплячки кількості нейтрофілів, як і інших лейкоцитів [16].

Слід зазначити, що у зразках тканин СМ спостерігається тенденція до зниження активності Ел, можливо воно є ланкою компенсаторного механізму, який запускається в результаті значної активації Ел при ПГ.

Надмірне зростання активності Ел в зразках з тканин мозку через 2 год відновлення після ПГ (рис. 1), можливо, пов'язано з активацією регуляторних механізмів контролю енергетичного балансу, мінерального, білкового, вуглеводного, ліпідного обміну, стимулюванням серцевої діяльності після зимової сплячки, а також призводити до локального порушення клітинного гомеостазу. Не виключено, що збільшення активності Ел також підсилює її утримання в клітинах гладких м'язів, це сприяє

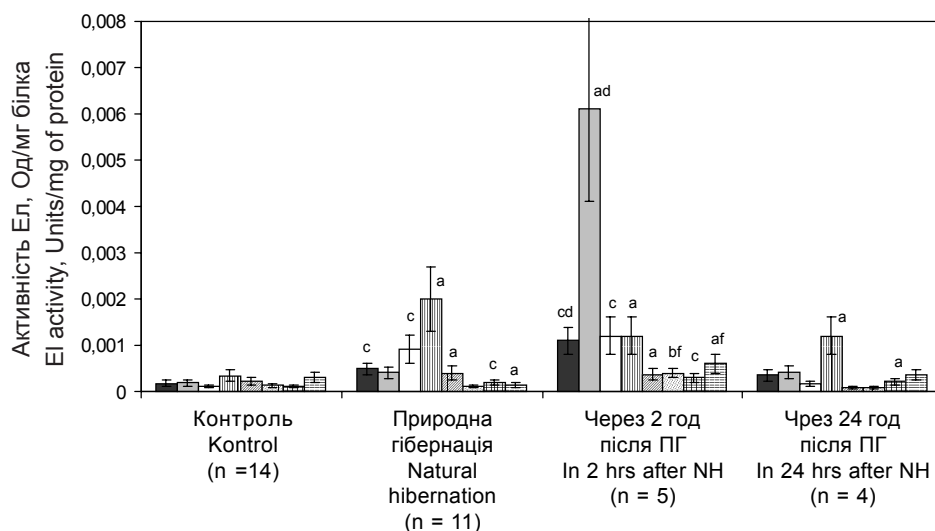


Рис. 1. Активність еластази за умов ПГ у хом'яків: ■ – кора мозку; ■ – гіпоталамус; □ – мозочок; ▨ – стовбур мозку; ▩ – легені; ▨ – серце; ▨ – печінка; ▨ – нирки; a, b, c – ступінь вірогідності відмінностей порівняно з контролем та d, e, f – з ПГ, $p < 0,05$, $< 0,01$, $< 0,001$, відповідно.

Fig. 1. Elastase activity under NH in hamsters: ■ – cerebral cortex; ■ – hypothalamus; □ – cerebellum; ▨ – brain stem; ▩ – lungs; ▨ – heart; ▨ – liver; ▨ – kidneys; a, b, c are the rate of statistical significance of differences compared to the control and d, e, f – to the NH, $p < 0,05$; $< 0,01$; $< 0,001$, correspondingly.

occasional, because a change in cell number (especially neutrophils) was considered as a potential neuroprotective adaptogen. Significant EI activity in BS may testify to its effect on mechanisms of function regulation in all the organism systems. At the same time a considerable EI activity of BS tissue under organism's low temperature may be stipulated by its slight effect, even under high concentration.

In 2 hrs after animal arousal (group 2) there was noted a rise in EI activity in all the studied animals compared to the control, a statistically significant increase, compared to the natural hibernation (NH) was found-out in the samples, procured from CC, hypothalamus (maximum activity), heart and kidneys. This index augmentation is a result of organism's temperature rise, correlating with the data of other authors, mentioning a rapid recovery of neutrophil number and other leukocytes under arousal [16].

Of note is the fact, that in BS tissue samples there is observed the tendency to EI activity decrease, possibly being a compensatory mechanism link, triggered as a result of significant EI activation under NH.

An excessive increase in EI activity in the samples from brain tissues in 2 hrs of recovery after NH (Fig. 1) is possibly associated to the activation of regulatory mechanisms of the control for energetic balance, mineral, protein, carbohydrate, lipid metabolisms, stimulation of heart activity after winter hibernation, as well as may result in a local disorder of cell homeostasis. It is entirely possible, that the EI activity increase strengthens its retention in soft muscle cells, contributing to

розвитку або прогресуванню судинних гіпертензивних змін, звуженню судин [25]. Такі зміни можна розглядати як зворотній процес після зменшення судинного навантаження, уповільнення кровотока стані зимової сплячки. Можливість розвитку патологічних змін вказує на необхідність пригнічення протеолітичної активності в тканинах гібернуючих тварин.

Через 24 год активність Ел знижується і наближається до контрольного рівня у більшості зразків тканин, окрім СМ та печінки, в яких вона залишається підвищеною. Тенденція до зниження активності Ел на пізньому етапі відновлення після ПГ може бути обумовлена її властивостями. Цей фермент сприяє активації реакцій лімітованого протеоліза, підвищує каталітичну спроможність інших протеолітичних ферментів [23]. Зменшення активності Ел у більшості зразків тканин на виході тварин зі сплячки через 24 год свідчить про наявність локального пригнічення протеолітичних процесів після їх значної активації на ранньому етапі відновлення. В зразках з тканин СМ та печінки активність Ел залишається підвищеною, що свідчить про її подальший вплив на функціональні процеси.

Активність МЕл при гібернації також зростала порівняно з контролем у зразках більшості досліджених тканин, окрім легень, серця та печінки (рис. 2). Зростання активності МЕл, як вказано раніше, пов'язано з активацією макрофагів і може забезпечувати мінімальний рівень оксидативного стресу [14]. При цьому відсутність індукованого оксидативним стресом пошкодження тканин мозку може бути обумовлена збільшенням кількості стрес-білків. Крім того, активація МЕл може бути пов'язана з проявом природженого імунітету [11]. Активацію МЕл в нирках можна вважати наслідком метаболічної депресії.

Відсутність зростання активності МЕл в зразках з тканин легень, серця, печінки при ПГ може обумовлювати стійкість вказаних органів до локального судинного ремоделювання, цей факт встановлено при тривалому комбінованому впливі гіперкапнії та гіпоксії [17]. У дано-

either development or progress of vascular hypertensive changes, vessel constriction [25]. These changes may be envisaged as a reverse process after vascular charge decrease, blood flow deceleration under winter hibernation state. Possible development of pathological changes indicates to the need in proteolytic activity suppression in hibernating animals' tissues.

In 24 hrs the EI activity reduces and approaches to the control level in the most tissue samples, excepting BS and liver, where it remains increased. The tendency to EI activity decrease at late stage of recovery after NH may be stipulated by its properties. This enzyme contributes to the activation of limited proteolysis responses, increases a catalytic capability of other proteolytic enzymes [23]. The EI activity decrease in the most tissue samples under arousal after 24 hrs testifies to the presence of a local suppression of proteolytic processes after their significant activation at an early recovery stage. In the samples from BS and liver the EI activity remains increased, testifying to its following effect on functional processes.

The MEI activity under hibernation increased as well, compared to the control in the samples of the most studied tissues, excepting lung, heart and liver (Fig. 2). An increase in MEI activity, as mentioned previously, is associated to macrophage activation and may provide the minimum oxidative stress [14]. At the same time the absence of oxidative stress-induced brain tissue damage may be stipulated by an increase in stress-protein number. In addition, the MEI activation may be associated to the manifestation of congenital

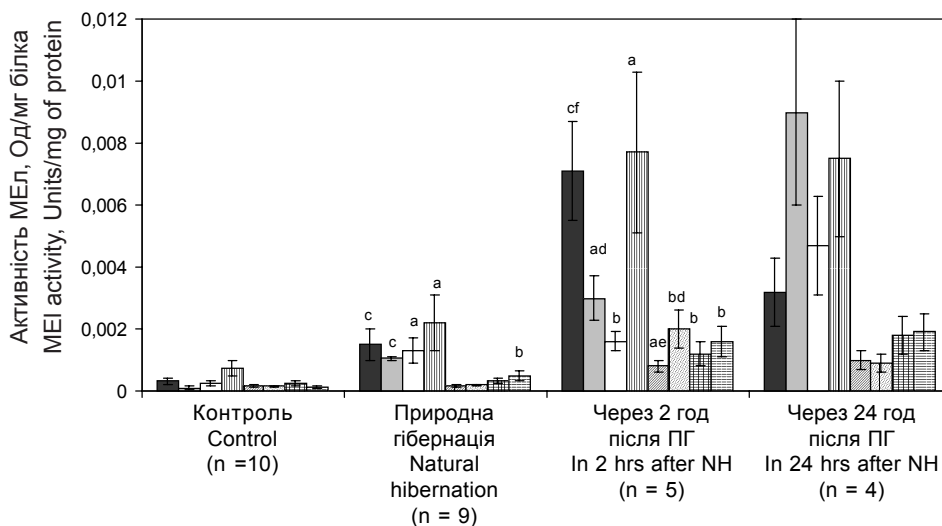


Рис. 2. Активність металоеластази за умов ПГ у хом'яків: ■ – кора мозку; ■ – гіпоталамус; □ – мозочок; ▨ – стовбур мозку; ▩ – легені; ▤ – серце; ▥ – печінка; ▦ – нирки; a, b, c – ступінь вірогідності відмінностей порівняно з контролем та d, e, f – з ПГ, $p < 0,05$, $< 0,01$, $< 0,001$, відповідно.

Fig. 2. Metalloelastase activity under NH in hamsters: ■ – cerebral cortex; ■ – hypothalamus; □ – cerebellum; ▨ – brain stem; ▩ – lungs; ▤ – heart; ▥ – liver; ▦ – kidneys; a, b, c are the rate of statistical significance of differences compared to the control and d, e, f – to the NH, $p < 0.05$; < 0.01 ; < 0.001 , correspondingly.

му випадку гіпоксію розглядають як конструктивний фактор, дія якого на клітини сприяє формуванню довго-тривалої адаптації до дефіциту кисню [1]. Період гіпоксії-оксигенації призводить до індукції активних форм кисню, які не тільки уражують клітини, але й запускають каскад внутрішньоклітинних перебудов. Активні форми кисню відіграють роль вторинних месенджерів, стимулюють фактори транскрипції та відповідні гени, що підсилює синтез протекторних білків, передусім ферментів антирадикального захисту. Крім того, відсутність змін активності МЕл в зразках з тканин серця за умов ПГ вказує на забезпечення збереження життєздатності міокарда у відповідь на погіршення коронарного кровопостачання [3].

Через 2 год після виходу тварин з гібернації активність МЕл у зразках тканин зростала порівняно з контролем, найбільше – у КМ та СМ. Порівняно зі станом ПГ виявлено зростання цього показника практично у всіх зразках, окрім мозочку. Через 24 год після ПГ відзначено зростання активності МЕл у зразках гіпоталамуса та мозочка, зниження – в зразках КМ, серця, а в інших тканинах суттєвих змін не виявлено. Слід зазначити, що активність МЕл через 24 год відновлення значно перевищує контрольний рівень та рівень при гібернації.

Значна активація МЕл в зразках тканин мозку на етапі відновлення після ПГ пов'язана, найімовірніше, зі зростанням інтенсивності мозкового кровотока. При дослідженні СМ на ранньому етапі відновлення виявлені суттєві зміни активності МЕл та Ел, які можуть бути пов'язані зі стимулюванням процесів, що впливають на функції симпатичних і парасимпатичних еферентних волокон нейронів неспецифічних нервових центрів, які кодують функції усіх систем організму.

Активацію МЕл на етапі відновлення можна розглядати як захисний механізм від порушення серцевої діяльності, можливого збільшення частоти серцевих скорочень за умов активації діяльності систем і органів. Можливе зниження серцевої діяльності обумовлене порушенням функціонування нирок [4].

Суттєве зростання активності МЕл на виході з гібернації через 24 год може бути пов'язано з активацією реакцій лімітованого протеолізу, підвищенням каталітичної спроможності протеолітичних ферментів, що обумовлено функціональною активністю мозку, пошуком їжі, активацією регуляторних механізмів контролю енергетичного балансу, обмінних процесів, стимулюванням серцевої діяльності, усіх систем організму після зимової сплячки.

У всіх досліджених зразках з тканин гібернуючих хом'яків виявлено зростання активності ЕЕл (рис. 3). Через 2 год відновлення після ПГ її

immunity [11]. The MEI activation in kidneys may be considered as the metabolic depression consequence.

No increase in MEI activity in the samples of lung, heart and liver tissues under NH may stipulate the resistance of the mentioned organs to local vascular remodelling. This fact was determined under a long-term combined effect of hypercapnia and hypoxia [17]. In this case hypoxia is considered as a constructive factor, the effect of which on cells contributes to formation of a long-term adaptation to oxygen deficiency [1]. The hypoxia-oxygenation period results in the induction of active oxygen forms, which not only damage the cells, but trigger the cascade of intracellular rearrangements as well. Active oxygen forms play the role of secondary messengers, stimulate the transcription factors and responsible genes, strengthening the synthesis of proteins, primarily enzymes of anti-radical protection. In addition, no changes in MEI activity in the samples from animal heart tissue under NH conditions testify to the myocardium viability preservation in response to coronary blood supply aggravation [3].

In 2 hrs after animal arousal the MEI activity was the most increased in CC and BS tissues, compared to the control. If comparing to the state under NH, this index increased practically in the all samples, excepting cerebellum. In 24 hrs after NH there were noted an increase in MEI activity in hypothalamus and cerebellum samples and a decrease in CC, heart ones, in those of other tissues no significant changes were found-out. Of note is the fact, that the MEI activity in 24 hrs after recovery significantly exceeds the control level and the one under hibernation.

Significant MEI activation in brain tissue samples at the recovery stage after NH is the most probably associated to the augmentation of brain blood flow intensity. When investigating the brain stem at an early stage of recovery there were revealed the significant changes in MEI and EI activities, which might be associated to the stimulation of processes, affecting the sympathetic and parasympathetic efferent neuron fibres of non-specific nervous centers, coding the functions of all the organism's systems.

The MEI activation at a recovery stage may be envisaged as a protective mechanism against disorders in cardiac activity, a possible cardiac rate increase when activating the systems and organs' activity. Possible decrease in cardiac activity is stipulated by disorders in kidney functioning [4].

Significant augmentation of MEI activity after arousal in 24 hrs may be related to the activation of responses of limited proteolysis, increase in catalytic capability of proteolytic enzymes, stipulated by brain functional activity, search for food, activation of regulatory mechanisms of the control for energetic balance, metabolic processes, stimulation of cardiac activity, all the organism's systems after hibernation.

рівень дуже стрімко підвищувався у всіх тканинах, крім серця.

Активацию ЕЕл за умов гібернації та на виході з неї можна розглядати як складову змін перебігу ендотеліозалежних процесів (тонус, проникність судин та інш.) [7]. Ендотелій судин відіграє важливу роль у регуляції локальних процесів гемостазу, проліферації, міграції клітин крові в судинну стінку. Важливою характеристикою судин є здатність до змін об'єму під впливом коливання тиску [5]. Зростання активності ЕЕл може призводити до структурних змін судин, зменшення еластичності волокон, здатності судин до опору деформації, підвищення їх жорсткості.

Слід зазначити відмінність характеру вказаних змін активності ЕЕл порівняно з даними, отриманими при дослідженні впливу штучного гіпометаболічного стану (ШГМС) у щурів за методом Анджу-Бахметьєва-Джайя, при якому на фоні тканинспецифічного зростання активності Ел та МЕл відбувалося зниження рівня ЕЕл [9]. У хом'яків, на відміну від щурів, розвиток ШГМС призводить до суттєвого зростання активності не тільки Ел (в гіпоталамусі, легенях), МЕл (в гіпоталамусі, СМ, серці), але й ЕЕл (в мозочку) [8]. Важливо, що зміни активності еластаз в результаті розвитку ШГМС у хом'яків мають більш виражений тканинспецифічний характер, ніж у щурів та у хом'яків за умов гібернації. Крім того, відсутність видової специфічності еластаз може свідчити про відмінність прояву активності ЕЕл у гібернаторів, особливо в умовах ПГ.

Зростання активності ЕЕл в зразках тканин мозку на вході у стан гібернації можна розглядати як наслідок запуску механізмів активації нервових центрів, які відповідають за пригнічення метаболізму [15]. Це обумовлено тим, що вивільнення ЕЕл може призводити до змін цитоскелета ендотеліальних клітин мікросудин мозку, дисфункції бар'єра „кров-мозок”, які виникають в результаті розвитку гіпоксії. При гіпоксії може знижуватися ендотеліозалежна вазорелаксація, внаслідок якої порушується мозковий кровообіг, розвивається хронічна

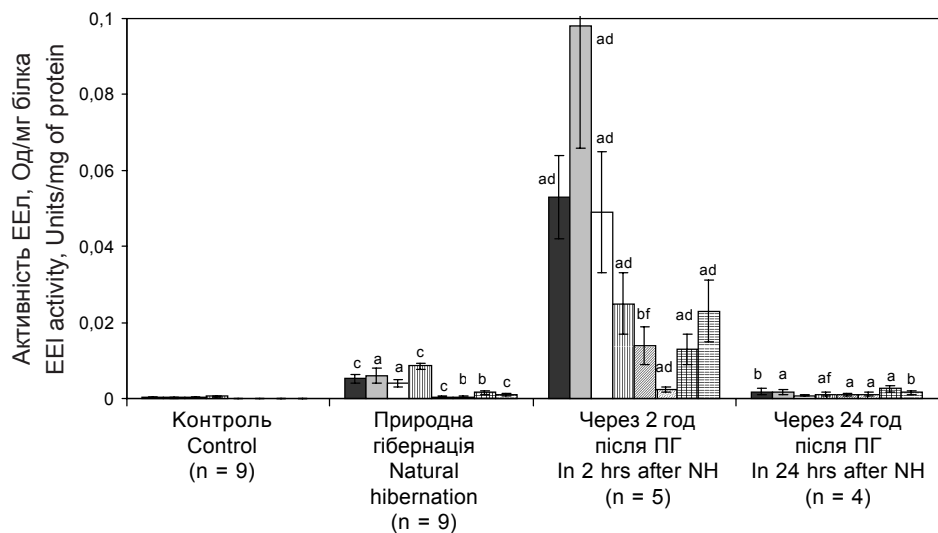


Рис. 3. Активність ендотеліальної еластази за умов ПГ у хом'яків: ■ – кора мозку; ■ – гіпоталамус; □ – мозочок; □ – стовбур мозку; ▨ – легені; ▩ – серце; ▧ – печінка; ▦ – нирки; a, b, c, d, e, f – ступінь вірогідності відмінностей порівняно з контролем та ПГ, $p < 0,05$, $< 0,01$, $< 0,001$ відповідно.

Fig. 3. Endothelial elastase activity under NH in hamsters: ■ – cerebral cortex; ■ – hypothalamus; □ – cerebellum; □ – brain stem; ▨ – lungs; ▩ – heart; ▧ – liver; ▦ – kidneys; a, b, c, d, e, f are the rate of statistical significance of differences compared to the control and NH, $p < 0.05$; < 0.01 ; < 0.001 , correspondingly.

In all the studied samples from hibernating hamsters' tissues there was revealed the augmentation of EEL activity (Fig. 3). In 2 hrs of recovery after NH its level increased very rapidly in all the tissues, excepting heart.

The EEL activation under hibernation and arousal may be envisaged as a component of changes in endothelium dependent process proceeding (tonus, vascular permeability etc.) [7]. Vascular endothelium plays an important role in regulating the local processes of hemostasis, proliferation, blood cell migration into vascular wall. An important vascular feature is the capability to change the volume under the effect of pressure oscillations [5]. The EEL activity rise may result in structural changes in vessels, reduction of fibre elasticity, vessel capability to resist deformations, rigidity.

Of note is the difference in the mentioned changes in EEL activity, compared to the data, obtained when studying the effect of artificial hypometabolic state (AHMS) in rats using the Andjus-Bakhmetiev-Jaiva's method, where at the background of tissue-specific increase in Eel and MEI activities a decrease in EEL level occurred [9]. In hamsters, in contrast to rats, the AHMS development results in a significant increase of activity not only of Eel (in hypothalamus, lungs), MEI (in hypothalamus, BS, heart), but EEL (in cerebellum) as well [8]. Of importance is the fact, that the changes in elastase activity as a result of AHMS development in hamsters have more manifested tissue-specific character than in rats and hamster under hibernation. In addition, the absence of species-specificity in elastases may testify to the difference in EEL activity

недостатність кровопостачання головного мозку, відбуваються гіпертензивні та атеросклеротичні зміни [6]. Зниження ендотеліязалежної вазорелаксації в інших тканинах за умов гібернації може бути безпосередньо пов'язано зі зменшенням активності метаболічних процесів.

Надмірне зростання активності ЕЕл на виході тварин з гібернації через 2 год обумовлено, найімовірніше, активацією регуляторних механізмів контролю енергетичного балансу, обмінних процесів, а також стимулюванням серцевої діяльності. За умов інтенсивного відновлення кровообігу на цьому етапі активація ЕЕл може забезпечувати структурні зміни судин, що пов'язані зі зменшенням їх жорсткості, і таким чином сприяти активації обмінних процесів в організмі без розвитку патологічних змін.

Суттєві зміни активності ЕЕл в зразках печінки можуть бути пов'язані з тим, що печінка є одним з основних "споживачів" кисню та джерелом інгібіторів протеолітичних ферментів, які захищають її від надлишкової активації протеїназ.

Зростання активності ЕЕл в зразках з тканин нирок може бути обумовлено порушенням кровопостачання нирок при гібернації. Зниження кровопостачання призводить до істотного зменшення гемодинамічного навантаження на гілці ниркових артерій і внаслідок – до атрофії циркулярної мускулатури і стоншення стінки судин [12]. Ці зміни мають реактивно-приспосовний характер і сприяють балансу між розвитком та рівнем функціонування циркулярної мускулатури. Зменшення кровопостачання крові до нирок загрожує розладом клубочкової фільтрації. При адаптації до нового гемодинамічного стану в гирлах бічних гілок ренальних артерій підвищується активність м'язовоеластичних сфінктерів. Одночасно в ренальному артеріальному руслі збільшується кількість судин, що мають у внутрішній оболонці пучки криво- і подовжноорієнтованих гладком'язових клітин, які потрапляють з медії через "вікна" в еластичній мембрані. Подібна міграція є результатом універсальної реакції судинної стінки на дію будь-яких, у тому числі гемодинамічних, ушкоджуючих, чинників. Активація ЕЕл може сприяти розвитку такої реакції.

На виході з гібернації через 24 год активність ЕЕл знижувалась, але її рівень перевищував контрольний практично у всіх зразках тканин, крім мозочку, що свідчить про недостатній термін для відновлення організму.

Деякі особливості змін активності Ел (загальна активність), які відмінні від ЕЕл та МЕл, вказують на суттєвий вплив серінової еластази на загальну активність.

Еластазоінгібіторна активність α -1-III за умов гібернації вірогідно зростала у всіх досліджених

manifestation in hibernators, especially under NH conditions.

An increase in EEl activity in brain tissue samples in pre-hibernation stage may be envisaged as a consequence of triggering the activation mechanisms of nervous centers, being responsible for metabolism suppression [15]. This is stipulated by the EEl release, which may result in changes of cytoskeletal endothelial cells of brain microvessels, blood brain barrier dysfunction, occurring as a result of hypoxia development. At hypoxia a decrease in the endothelium-dependent vasorelaxation is possible, as a result of which the brain blood circulation is disordered, a chronic insufficiency in brain blood supply develops, hypertensive and atherosclerotic changes occur [6]. The reduction of endothelium-dependent vasorelaxation in other tissues under hibernation may be directly related to a decreased activity of metabolic processes.

An excessive augmentation of EEl activity at animal arousal in 2 hrs is the most probably stipulated by the activation of regulatory mechanisms of the control for energetic balance, metabolic processes, as well as cardiac activity stimulation. Under intensive blood circulation recovery at this stage the EEl activation may provide the structural changes in vessels, associated to a decrease in their rigidity and thereby contributing to the activation of metabolic processes in organism with no pathologic change development.

Significant changes in EEl activity in liver samples may be associated to the fact, that the liver is one of the principal oxygen "consumers" and the source of inhibitors of proteolytic enzymes, protecting it against an excessive activation of proteinases.

The augmentation of EEl activation in kidney tissue samples may be stipulated by a disorder in kidney blood supply under hibernation. Blood supply decrease results in a significant reduction of hemodynamic charge in branch of renal arteries and finally in the atrophy of circulatory musculature and vascular wall thinning [12]. These changes are of a reactive-adaptive character and contribute to the balance between the development and functioning level of circulatory musculature. A decrease in kidney blood supply threatens with a disorder in glomerular filtration. Under the adaptation to a new hemodynamic state in entrances of lateral branches of renal arteries there is an increase in the activity of muscular-elastic sphincters. Simultaneously, in the renal arterial bed there is an increase in a number of vessels, which have in internal membrane the fascicles of bent- and longitudinal-oriented smooth muscle cells, getting from the medium through the "windows" in elastic membrane. The similar migration is a result of vascular wall universal response to the effect of any, including hemodynamic, damaging factors. The EEl activation may contribute to this response development.

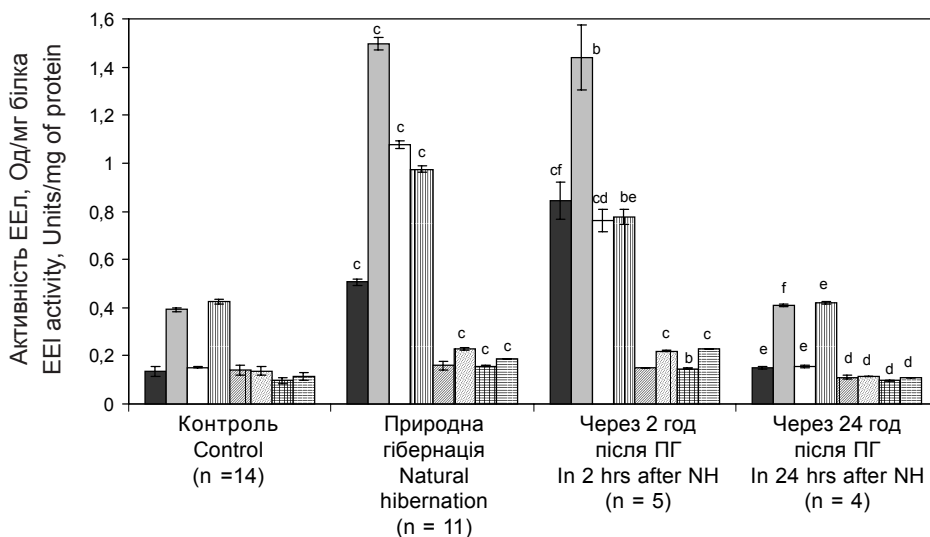


Рис. 4. Еластазоінгібіторна активність α -1-інгібітору протеїназ за умов ПГ у хом'яків: ■ – кора мозку; ■ – гіпоталамус; □ – мозочок; ▨ – стовбур мозку; ▩ – легені; □ – серце; ▨ – печінка; ▨ – нирки; a, b, c, d, e, f – ступінь вірогідності відмінностей порівняно з контролем та ПГ, $p < 0,05$, $< 0,01$, $< 0,001$, відповідно.

Fig. 4. Elastase-inhibitory activity of α -1-inhibitor of proteinases under NH in hamsters: ■ – cerebral cortex; ■ – hypothalamus; □ – cerebellum; ▨ – brain stem; ▩ – lungs; ▨ – heart; ▨ – liver; ▨ – kidneys; a, b, c, d, e, f are the rate of statistical significance of differences compared to the control and NH, $p < 0.05$; < 0.01 ; < 0.001 , correspondingly.

зразках тканин, крім легень (рис. 4). На виході з ПГ через 2 год вона зростала в КМ, знижувалась в мозочку та СМ, в інших тканинах лишалась без змін. Зростання ЕІА за умов ПГ, на виході зі сплячки через 2 год вказує на захищеність тканин і органів від надлишкової активності еластаз. Відсутність змін ЕІА в легенях за умов гібернації корелює з активністю Ел та Мел, через 2 год відновлення – з активністю Ел. Зростання у печінці ЕІА α -1-ІП за умов гібернації та відсутність її змін на виході з ПГ через 2 год вказує на його часткову участь у пригніченні активності еластаз, зокрема ЕЕл, і може виявлятися в активації ендотеліозалежних процесів.

Через 24 год вірогідні зміни, порівняно з 2 год відновлення після ПГ, у бік зниження ЕІА і досягнення контрольного рівня свідчать про вичерпання резервів α -1-ІП. Отримані дані корелюють з результатами інших досліджень щодо залучення α -1-ІП до пригнічення надлишкової активності еластаз в окремих тканинах за умов ШГМС у щурів [8, 9].

Висновки

Природна гібернація у дорослих хом'яків-самців призводить до зростання активності еластаз: Ел – у більшості досліджених зразків, крім серця та нирок (найбільша активність – в СМ); Мел – крім легень, серця та печінки; ЕЕл – в усіх досліджених тканинах. При цьому активація еластаз збалансована зростанням ЕІА α -1-ІП у всіх зразках тка-

After 24 hrs the recovery EEl activity reduced, but its level exceeded the control practically in all the tissue samples, excepting cerebellum, testifying to an insufficient term for organism recovery.

Some peculiarities of EI activity changes (general activity), differing from EEl and MEL indicate to a significant effect of serine elastase on general activity.

The elastase-inhibitor activity of α -1-IP under hibernation statistically and significantly increased in all the studied tissue samples, excepting lungs (Fig. 4). At arousal out NH in 2 hrs it augmented in CC, reduced in cerebellum and BS and remained unchanged in other tissues. The EIA rise

under NH conditions, as well as at arousal 2 hrs later points to the protection of organs and tissues against an excessive elastase activity. No changes in EIA in lungs under hibernation correlate to the EI and MEL activities, and in 2 hrs of recovery to the EI one. The EIA α -1-IP increase in liver under hibernation and no its changes at arousal after NH in 2 hrs indicate to its partial participation in elastase activity suppression, especially EEl, and may be revealed in the endothelium-dependent process activation.

In 24 hrs the statistically significant changes, compared to the 2 hrs' recovery after NH, towards EIA decrease and achieving the control level testify to the exhausting of α -1-IP reserves. Our findings correlate to the results of other researches about α -1-IP involving into the suppression of excessive elastase activity in some tissues under AHMS in rats [8, 9].

Conclusions

Natural hibernation in mature male hamsters results in an increased activity of elastases: EI – in the most studied samples, excepting heart and kidneys (the highest activity in BS); MEL – excluding lungs, heart and liver; EEl – in all the studied tissues. At the same time the elastase activation is balanced by the EIA α -1-IP rise in all the tissue samples, excepting lungs.

An early period of organism recovery is characterised with an increased activity of elastases: EI – compared to the hibernation in CC tissues, hypothalamus (maximum activity), heart and kidneys; MEL – the highest in CC and BS tissues, compared to the

нин, крім легень.

Ранній період відновлення організму характеризується підвищеною активністю еластаз: Ел – порівняно з гібернацією в тканинах КМ, гіпоталамусу (максимальна активність), серця та нирок; МЕл – найбільша в тканинах КМ та СМ, порівняно з гібернацією, крім мозочку; ЕЕл – у всіх тканинах, крім серця (найменший рівень). ЕІА α -1-ІП зростала надалі в КМ, але знижувалася в мозочку та СМ.

Пізній етап відновлення після ПГ є відображенням встановлення рівноваги в системі еластаза – α -1-ІП. Активність Ел знижувалась і наближалась до контрольного рівня у більшості тканин, крім СМ та печінки; рівень МЕл знижувався у КМ, серці, але зростав у гіпоталамусі та мозочку, при цьому перевищував рівень контролю та рівень за умов гібернації. Активність ЕЕл знижувалась, але перевищувала контрольні показники у всіх тканинах, крім мозочку. ЕІА знижувалась порівняно з 2 год відновлення і досягала контрольного рівня.

Автор висловлює вдячність співробітникам відділу кріофізіології Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України ст.н.с., к.б.н. В.В. Ломако та ст.н.с., к.б.н. О.В.Шило.

Література

1. Гончар О.О., Маньковська І.М. Адаптація глутатіонової системи серця щурів до дії гострого стресу під впливом різних режимів гіпоксичних тренувань // Укр. біохім. журнал.– 2007.– Т. 79, №3.– С. 79–85.
2. Досенко В.Е. Определение различных форм эластазы в аорте при экспериментальном артериосклерозе // Лаб. диагностика.– 1998.– №1.– С. 24.
3. Кияк Ю.Г., Чнерян Г.В. Гібернація міокарда у разі гострого інфаркту міокарда: клініко-функціональні прояви та ультраструктурні зміни // Кровообіг та гемостаз.– 2007.– №3.– С. 33–38.
4. Кутырина И.М., Руденко Т.Е., Швецов М.Ю., Кушнир В.В. Роль ремоделирования крупных сосудов в развитии гипертрофии левого желудочка на додиализной стадии хронической почечной недостаточности // Терапевт. архив.– 2008.– №6.– С. 37–41.
5. Мартынов А.И., Остроумова О.Д., Синицын В.Е. и др. Растяжимость аорты при артериальной гипертонии // Кардиология.– 2001.– №2.– С. 59–65.
6. Мартынов А.И., Шмыров В.И., Остроумова О.Д. и др. Особенности поражения белого вещества головного мозга у пожилых больных с артериальной гипертонией // Клиническая медицина.– 2000.– №6.– С. 11–15.
7. Меншутина М.А. Сравнительная оценка реактивности сосудов, как формы дисфункции эндотелия, у больных атеросклерозом и хронической болезнью почек // Нефрология.– 2004.– Т. 8, №3.– С. 56–61.
8. Самохина Л.М. Еластази за умов штучного гіпометаболічного стану // Досягнення біології та медицини.– 2009.– №1.– С. 32–36.
9. Самохина Л.М., Ломако В.В., Шило О.В. Еластази за умов штучного гіпометаболічного стану у щурів // Проблеми кріобіології.– 2008.– Т. 18, №4.– С. 557–560.

hibernation, excepting cerebellum; EEI – in all the tissues, excepting heart (the lowest level). The EIA α -1-IP augmented in CC, but reduced in cerebellum and BS.

Late stage of recovery after NH is the reflection of balance establishment in the elastase – α -1-IP system. The EI activity reduced and approached the control level in the most tissues, excepting BS and liver; the MEI level reduced in BS, heart, but augmented in hypothalamus and cerebellum. Herewith the EEI activity decreased, but exceeded the control indices in all the tissues, excluding cerebellum. The EIA decreased, compared to 2 hrs of recovery and achieved the control level.

The author is grateful to the colleagues of the Cryophysiology Department of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine V.V. Lomako, senior research fellow, candidate of biol. sciences and O.V. Shilo, senior research fellow, candidate of biol. sciences.

References

1. Gonchar O.O., Man'kovskaya I.M. Adaptation of heart glutathione system in rats to the effect of acute stress under the influence of different regimens of hypoxic trainings // Ukr. Biochim. Zhurnal.– 2007.– Vol. 79, N3.– P. 79–85.
2. Dosenko V.E. Determination of different forms of elastase in aorta under experimental atherosclerosis // Lab. Diagnostika.– 1998.– N1.– P.24.
3. Kiyak Yu.G., Chigryan G.V. Myocardium hibernation in case of acute myocardium infarction: clinical and functional manifestations and ultrastructural changes // Blood Circulation and Hemostasis.– 2007.– N3.– P.33-38.
4. Kutyryna I.M., Rudenko T.E., Shvetsov M.Yu., Kushnir V.V. Role of large vessel remodelling in left ventricle hypertrophy development at a pre-dialysis stage of chronic renal failure // Terapevt. Arkhiv.– 2008.– N6.– P. 37–41.
5. Martynov A.I., Ostroumova O.D., Sinitsyn V.E. et al. Aorta distensibility at arterial hypertension // Kardiologiya.– 2001.– N2.– P. 59–65.
6. Martynov A.I., Shmyrov V.I., Ostroumova O.D. et al. Peculiarities of damage of cerebral white substance in adult people with arterial hypertension // Klinicheskaia Meditsina.– 2000.– N6.– P. 11–15.
7. Menshutina M.A. Comparative estimation of vessel reactivity as the form of endothelium dysfunction in patients with atherosclerosis and chronic renal disease // Nefrologiya.– 2004.– Vol. 8, N3.– P. 56–61.
8. Samokhina L.M. Elastases under conditions of artificial hypometabolic state // Achievements in Biology and Medicine.– 2009.– N1.– P. 32–36.
9. Samokhina L.M., Lomako V.V., Shilo O.V. Elastases under artificial hypometabolism in rats // Problems of Cryobiology.– 2008.– Vol. 18, N4.– P. 557–560.
10. Samokhina L.M., Samokhin A.A. Chymase, tonin and elastase in rats under oxidative stress, caused by cobalt chloride introduction // Ukr. Biochim. Zhurnal.– 2001.– Vol. 73, N5.– P. 47–51.
11. Topchiy I.I. Oxidative stress, increase in content of asymmetric dimethyl arginine and NO-synthase dissociation as factors

10. Самохина Л.М., Самохин А.А. Химаза, тонин и эластаза у крыс при окислительном стрессе, вызванном введением хлорида кобальта // Укр. биохим. журн.– 2001.– Т. 73, №5.– С. 47–51.
11. Толчий И.И. Окислительный стресс, повышение содержания ассимметричного диметиларгинина и разобщенность NO-синтаз как факторы развития артериальной гипертензии при хронической болезни почек // Укр. терапевт. журн.– 2007.– №3.– С. 8–14.
12. Шорманов И.С., Шорманов В.С. Морфологические основы расстройства функции почки при нарушении притока крови к этому органу // Нефрология.– 2008.– Т. 12, №2.– С. 61–65.
13. Andrews M.T. Advances in molecular biology of hibernation in mammals // Bioessays.– 2007.– Vol. 29, N5.– P. 431–440.
14. Carey H.V., Andrews M.T., Martin S.L. Mammalian Hibernation: Cellular and Molecular Responses to Depressed Metabolism and Low Temperature // Physiol. Rev.– 2003.– Vol. 83.– P. 1153–1181.
15. Chen J., Yuan L., Sun M. et al. Screening of hibernation-related genes in the brain of *Rhinolophus ferrumequinum* during hibernation // Comp. Biochem. Physiol. B.– 2008.– Vol. 149, N2.– P. 388–393.
16. Drew K.L., Rice M.E., Kuhn T.B., Smith M.A. Neuroprotective adaptations in hibernation: therapeutic implications for ischemia-reperfusion, traumatic brain injury and neurodegenerative diseases // Free Rad. Biol. Med.– 2001.– Vol. 31, N5.– P. 563–573.
17. Kukacka J., Bibova J., Ruskoaho H., Pelouch V. Protein remodeling of extracellular matrix in rat myocardium during four-day hypoxia: the effect of concurrent hypercapnia // Gen. Physiol. Biophys.– 2007.– Vol. 26, N2.– P. 133–142.
18. Lohuis T.D., Harlow H.J., Beck T.D. Hibernating black bears (*Ursus americanus*) experience skeletal muscle protein balance during winter anorexia // Comp. Biochem. Physiol. Biochem. Mol. Biol.– 2007.– Vol. 147, N1.– P. 20–28.
19. Magarinos A.M., McEwen B.S., Saboureau M., Pevet P. Rapid and reversible changes in intrahippocampal connectivity during the course of hibernation in European hamsters // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.– 2006.– Vol. 103, N49.– P. 18775–18780.
20. Mann D.L. Stress-activated cytokines and the heart: from adaptation to maladaptation // Annu. Rev. Physiol.– 2003.– Vol. 65.– P. 81–101.
21. Monioki K., Morimatsu M., Karjalainen M. et al. Elevated plasma concentrations of haptoglobin in European brown bears during hibernation // Comp. Biochem. Physiol. A.– 2005.– Vol. 142.– P. 472–477.
22. Ohe C.G., Garner C.C., Darian-Smith C., Heller H.C. Synaptic Protein Dynamics in Hibernation // J. Neurosci.– 2007.– Vol. 27, N1.– P. 84–92.
23. Shamamian P., Pocock B. J., Schwarts J. D. et al. Neutrophil-derived serine proteinases enhance membrane type-1 matrix metalloproteinase-dependent tumor cell invasion // Surgery.– 2000.– Vol. 127, N2.– P. 142–147.
24. Utz J.C., Velickovska V., Shmereva A., Breukelen F. Temporal and temperature effects on the maximum rate of rewarming from hibernation // J. Therm. Biol.– 2007.– Vol. 32, N5.– P. 276–281.
25. Yamada E., Hazama F., Kataoka H. et al. Elastase-like enzyme in the aorta of spontaneously hypertensive rats // Virchows Arch. B. Cell. Pathol. Incl. Mol. Pathol.– 1983.– Vol. 44, N2.– P. 241–245.
- of development of arterial hypertension under chronic renal disease // Urk. Terapevt. Zhurnal.– 2007.– N3.– P. 8–14.
12. Shormanov I.S., Shormanov V.S. Morphological grounds of renal function disorder under damaged blood supply to this organ // Nefrologiia.– 2008.– Vol. 12, N2.– P. 61–65.
13. Andrews M.T. Advances in molecular biology of hibernation in mammals // Bioessays.– 2007.– Vol. 29, N5.– P. 431–440.
14. Carey H.V., Andrews M.T., Martin S.L. Mammalian Hibernation: Cellular and Molecular Responses to Depressed Metabolism and Low Temperature // Physiol. Rev.– 2003.– Vol. 83.– P. 1153–1181.
15. Chen J., Yuan L., Sun M. et al. Screening of hibernation-related genes in the brain of *Rhinolophus ferrumequinum* during hibernation // Comp. Biochem. Physiol. B.– 2008.– Vol. 149, N2.– P. 388–393.
16. Drew K.L., Rice M.E., Kuhn T.B., Smith M.A. Neuroprotective adaptations in hibernation: therapeutic implications for ischemia-reperfusion, traumatic brain injury and neurodegenerative diseases // Free Rad. Biol. Med.– 2001.– Vol. 31, N5.– P. 563–573.
17. Kukacka J., Bibova J., Ruskoaho H., Pelouch V. Protein remodeling of extracellular matrix in rat myocardium during four-day hypoxia: the effect of concurrent hypercapnia // Gen. Physiol. Biophys.– 2007.– Vol. 26, N2.– P. 133–142.
18. Lohuis T.D., Harlow H.J., Beck T.D. Hibernating black bears (*Ursus americanus*) experience skeletal muscle protein balance during winter anorexia // Comp. Biochem. Physiol. Biochem. Mol. Biol.– 2007.– Vol. 147, N1.– P. 20–28.
19. Magarinos A.M., McEwen B.S., Saboureau M., Pevet P. Rapid and reversible changes in intrahippocampal connectivity during the course of hibernation in European hamsters // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.– 2006.– Vol. 103, N49.– P. 18775–18780.
20. Mann D.L. Stress-activated cytokines and the heart: from adaptation to maladaptation // Annu. Rev. Physiol.– 2003.– Vol. 65.– P. 81–101.
21. Monioki K., Morimatsu M., Karjalainen M. et al. Elevated plasma concentrations of haptoglobin in European brown bears during hibernation // Comp. Biochem. Physiol. A.– 2005.– Vol. 142.– P. 472–477.
22. Ohe C.G., Garner C.C., Darian-Smith C., Heller H.C. Synaptic Protein Dynamics in Hibernation // J. Neurosci.– 2007.– Vol. 27, N1.– P. 84–92.
23. Shamamian P., Pocock B. J., Schwarts J. D. et al. Neutrophil-derived serine proteinases enhance membrane type-1 matrix metalloproteinase-dependent tumor cell invasion // Surgery.– 2000.– Vol. 127, N2.– P. 142–147.
24. Utz J.C., Velickovska V., Shmereva A., Breukelen F. Temporal and temperature effects on the maximum rate of rewarming from hibernation // J. Therm. Biol.– 2007.– Vol. 32, N5.– P. 276–281.
25. Yamada E., Hazama F., Kataoka H. et al. Elastase-like enzyme in the aorta of spontaneously hypertensive rats // Virchows Arch. B. Cell. Pathol. Incl. Mol. Pathol.– 1983.– Vol. 44, N2.– P. 241–245.

Accepted in 20.10.2009

Поступила 20.10.2009