

## Влияние ритмического холодого воздействия на активность отдельных ферментов у старых крыс со стимулированной гипертензией

Л.М. САМОХИНА

Институт терапии АМН Украины, г.Харьков

## Effect of Rhythmic Cold Influence on the Activity of Some Enzymes in Aged Rats with Stimulated Hypertension

SAMOKHINA L.M.

Institute of Therapy of the Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkov

Исследовали механизмы участия специфических ферментов образования ангиотензина II (АII) – химазы, тонина и эластазы – в формировании ответной реакции организма на ритмическое холодое воздействие (РХВ) в норме и при стимулированной гипертензии (СГ) у старых крыс. Выявлено, что РХВ является стимулирующим фактором для старого организма, ликвидирует последствия старения, способствуя активации таких ферментов, как тонин, эластаза у здоровых животных, химаза и тонин – у крыс с СГ, а также предотвращает участие эластазы в процессах органного повреждения, вызванных развитием патологии.

**Ключевые слова:** химаза, тонин, эластаза, гипертензия, ритмическое холодое воздействие.

Досліджували механізми участі специфічних ферментів утворення ангіотензину II (АII) – хімази, тоніну та еластази – у формуванні відповідної реакції організму на ритмічний вплив холоду (РХВ) у нормі і за умов стимульованої гіпертензії (СГ) у старих щурів. Виявлено, що РХВ є стимулюючим фактором для старого організму, ліквідує наслідки старіння активацією таких ферментів, як тонін, еластаза у здорових тварин, хімаза і тонін – у щурів зі СГ, а також гальмує участь еластази у процесах органного ушкодження, які викликані розвитком патології.

**Ключові слова:** хімаза, тонін, еластаза, гіпертензія, ритмічний холододовий вплив.

The participation mechanisms of specific enzymes of angiotensin II (AII) formation such as chymase, tonin and elastase in the formation of an organism's response to rhythmic cold influence (RCI) were investigated in aged rats under normal conditions and at the simulated hypertension (SH). It was revealed, that RCI occurred to be the stimulator for an aged organism, eliminated the consequences of ageing, by promoting the activation of such enzymes as tonin, elastase in healthy animals, chymase and tonin in rats with SH, as well as it prevented the elastase participation in the organ damage processes, caused by pathology development.

**Key words:** chymase, tonin, elastase, hypertension, rhythmic cold influence.

Исследования по изучению влияния РХВ, проведенные ранее на крысах 2-летнего возраста с СГ, позволили отметить нормализацию АД. При этом наблюдали повышение общей протеолитической активности и уровня нетрипсиноподобных протеиназ, сбалансированное изменениями активности  $\alpha$ -1-ингибитора протеиназ ( $\alpha$ -1-ИП), что является характерным для развития стрессовой реакции, и эти изменения оказались менее значимыми по сравнению с эффектом РХВ у здоровых животных [1, 2].

Одной из протеиназ, которой принадлежит основная роль в тканевом образовании вазоконстрикторного пептида АII, ремоделировании тканей сердечно-сосудистой системы, является химаза тучных клеток. Химаза участвует в образовании АII из АI альтернативным путем, независимым от ангиотензин-превращающего фермента [14, 15]. Кроме того, в альтернативном пути образования АII принимает участие тонин, который катализирует расщепление не только АI, но и ангиотензиногена. Активация альтернативных путей наблюдается при

The investigations on the RCI effect studying in 2-years old rats with SH permitted to note the arterial tension (AT) normalisation. At this time there was observed an increase in total proteolytic activity and nontrypsin-like proteinases level, balanced by the changes in the activity of  $\alpha$ -1-proteinase inhibitor ( $\alpha$ -1-PI), that was typical for stress reaction development, and these changes occurred to be less significant in comparison with the RCI effect in healthy animals [1, 2].

One of the proteinases, playing the main role in a tissue formation of the AII vasoconstrictor peptide, in the cardiovascular system tissue remodelling, is chymase of mast cells. Chymase participates in AII and AI formation in an alternative way, independent on an angiotensin-transforming enzyme [14, 15], tonin, which catalyses the disintegration of not only AI, but angiotensionogen, participates as well.

There is observed the alternative way activation at stress [15]. Chymase is a hemotoxic factor for neutrophils, and among the most destructive neutrophil

**Адрес для корреспонденции:** Самохина Л.М., Институт терапии АМН Украины, пр. Постышева, 2А, Харьков, Украина 61039; тел.: +38 (057) 7729097

**Address for correspondence:** Samokhina L.M., Institute of Therapy of the Academy of Medical Sciences of Ukraine, 2A, Postysheva, ave., Kharkov, Ukraine 61039; tel.: +38 (057) 7729097

стрессе [15]. Химаза является хемотаксическим фактором для нейтрофилов, а среди наиболее деструктивных протеиназ нейтрофилов выделяют эластазу (сериновую протеиназу), которая способна расщеплять протеогликаны, фибронектин, коллагены, фибриноген/фибрин, факторы свертывания крови, белки системы комплемента, иммуноглобулины [11].

Цель настоящего исследования – выяснить механизмы участия химазы, тонина и эластазы в формировании ответной реакции организма на РХВ в норме и при СГ у старых крыс.

### Материалы и методы

Эксперименты проведены на белых беспородных крысах. Гипертензию моделировали с использованием электрических раздражений группы животных путем прерывистого воздействия (15 с – воздействие, 45 с – перерыв) в течение 30 мин [1]. Напряжение не превышало 50 В, периодичность воздействия – один раз в сутки до появления у крыс стойко повышенного АД. Гипертензию у крыс поддерживали на протяжении 3 недель. Контрольная группа представлена интактными крысами того же возраста. РХВ проводили с частотой 0,1 Гц в течение 65 мин, для этого использовали охлаждающее устройство с программным управлением, разработанное и модифицированное в Институте проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, приспособленное для прерывистой подачи хладагента (холодный воздух с температурой  $5\pm 1^\circ\text{C}$ ).

Крыс декапитировали через 4 сут после воздействия. Печень перфузировали охлажденным физиологическим раствором. Ткани коры мозга (КМ), легкого, сердца, печени и почек (300 мг) гомогенизировали в 3 мл натрий-фосфатного буфера (рН 7.4) при  $4-6^\circ\text{C}$ . Гомогенаты центрифугировали 10 мин при 5000 g на центрифуге РС-6 при  $4^\circ\text{C}$ , до анализа хранили при  $-20^\circ\text{C}$ .

Активность химазы, тонина, эластазы и эластазоингибиторную активность  $\alpha$ -1-ИП (ЭИА  $\alpha$ -1-ИП) определяли высокочувствительными ( $10^{-9}$ - $10^{-10}$  г) ферментативными методами [3, 4]. Принцип методов основан на использовании иммобилизованных на полистироле комплексов маркерного фермента и субстратов белковой природы для проведения протеолитической реакции. Остаточную активность маркерного фермента определяли при 492 нм. Активность химазы, тонина выражали в процентах расщепления субстрата, эластазы и ЭИА  $\alpha$ -1-ИП – в ед/мл.

В исследованиях использовали пероксидазу хрена, протаминсульфат, эластазу (Россия), соевый ингибитор трипсина производства “Reanal” (Венгрия), фрагмент 4-8 АП, апротинин, N-Succinyl-Ala-Ala-Val фирмы “ICN” (США), полистироловые плашки

proteinases one emphasises the elastase (serine proteinase), which is capable to disintegrate proteoglycans, fibronectin, collagens, fibrinogen/fibrin, coagulability factors, proteins of complement system, immunoglobulins [11].

The aim of this investigation was to find out the mechanisms of chymase, tonin and elastase participation in formation of an organism’s response to RCI in the norm and at SH in aged rats.

### Materials and methods

The experiments were performed in white breedless rats. Hypertension was modelled using the pain electric stimuli to the group of animals with an interrupted effect (15 second’s effect, then 45 second’s pause) during 30 min [1]. The voltage did not exceed 50 V, the effect periodicity was once a day within 18 days (during 3 weeks) up to the resistant AT increase appearance in rats. Hypertension in rats was maintained during 3 weeks. The control group comprised the intact rats of the same age. RCI was carried-out with the 0.1 Hz frequency during 65 min, for this purpose one used the programmable cooling device, developed and modified at the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of the Ukraine, adapted for an interrupted coolant supply (cold air of  $5\pm 1^\circ\text{C}$ ).

Rats were decapitated in 4 days after the effect. Liver was perfused with cooled physiological solution. Tissues of cerebral cortex (CC), lung, heart, liver and kidneys (300 mg) were homogenised in 3 ml of sodium-phosphate buffer (pH 7.4) at  $4-6^\circ\text{C}$ . Homogenates were centrifuged for 10 min at 5000 g on PC-6 centrifuge at  $4^\circ\text{C}$  and stored at  $-20^\circ\text{C}$  up to the analysis.

The activity of chymase, tonin and elastase as well as elastase-inhibiting activity of  $\alpha$ -1-PI (EIA  $\alpha$ -1-PI) was determined with highly sensitive ( $10^{-9}$ - $10^{-10}$  g) enzyme methods [3, 4]. The principle of the methods for performing proteolytic reaction is based on the usage of immobilised on polystyrene complexes of marker enzyme and substrates of protein nature. The residual activity of marker enzyme was determined at 492 nm. Chymase and tonin activity was manifested in percentage of disintegration of substrate, elastase and EIA  $\alpha$ -1-PI in unit/ml.

In the investigations there were used the horseradish peroxidase, protamine sulfate, elastase (Russia), soybean inhibitor of trypsin produced by “Reanal” (Hungary), fragment of 4-8 АП, apronin, N-Succinyl-Ala-Ala-Val (“ICN” USA), polystyrene plate (“Linbro” USA) and multichannel microspectrophotometer (“Flow” Great Britain). The data obtained were statistically processed using the method of Student-Fisher.

фирмы “Linbro” (США) и многоканальный микро-спектрофотометр фирмы “Flow” (Великобритания).

Полученные данные обрабатывали статистически по методу Стьюдента-Фишера.

### Результаты и обсуждение

В сердце здоровых крыс активность химазы не детектируется, т.е. находится на нулевом уровне, причем не изменяется как при СГ, так и при РХВ (рис.1). В КМ, почках выявлено ее существенное снижение (до нулевого уровня) при СГ, а под влиянием РХВ в контроле – во всех исследуемых тканях. В результате применения РХВ на фоне СГ (СГ+РХВ) наблюдали увеличение уровня химазы по сравнению с контролем во всех тканях: в сердце – в 20 раз, легких – в 6 раз, остальных тканях – в 2-3 раза.

Отмечено снижение активности тонина при СГ по сравнению с контрольным уровнем в КМ, почках, а также в сердце (рис.2). Эффект РХВ на активность тонина у здоровых крыс наблюдался в печени (повышение по сравнению с контролем) и сердце (снижение). Под влиянием РХВ у крыс с СГ активность тонина увеличивалась во всех тканях.

Выявлено, что активность эластазы при СГ повышается во всех тканях, за исключением КМ (рис.3). Наблюдали также, что у контрольных животных РХВ приводит к ее повышению в 5-20 раз, а у крыс с СГ – к снижению и нормализации. Отмеченное увеличение активности эластазы сопровождается снижением ЭИА  $\alpha$ -1-ИП при СГ в сердце, а под действием РХВ у контрольных

### Results and discussion

In heart of healthy rats the chymase activity is not detected, i.e. is at zero level, and in this case it does not change both at SH and RCI (Fig. 1). In CC, kidneys there was found-out its considerable decrease (down to zero level) at SH, but under the RCI effect in the control there was revealed in all studied tissues. As a result of RCI application at the background of SH (SH+RCI) there was observed an increase in chymase level in comparison with the control in all tissues: in 20 times in heart, in 6 times in lungs, in rest tissues in 2-3 times.

There was noted a decrease in tonin activity at SH in comparison with the control level in CC, kidneys and heart as well (Fig. 2). The RCI effect on tonin activity in healthy rats was observed in liver (the augmentation in comparison with the control) and heart (reduction). Under the TCI effect in rats with SH the tonin activity augmented in all tissues.

It was revealed that the elastase activity at SH augmented in all tissues excluding CC (Fig. 3). There was also observed that in the control animals the RCI resulted in its increase in 5-20 times, but in rats with SH in a decrease and normalisation. The noted increase in elastase activity is accompanied with the EIA  $\alpha$ -1-PI decrease at SH in heart, and under the RCI effect in the control animals in all tissues (Fig. 4). RCI at the background of SH significantly increases the EIA  $\alpha$ -1-PI in heart.

The observed zero level of chymase in heart of the control animals and at SH is stipulated by the fact, that chymase of rats, dogs, rabbits and mice has lower local activity in comparison with human chymase [7].

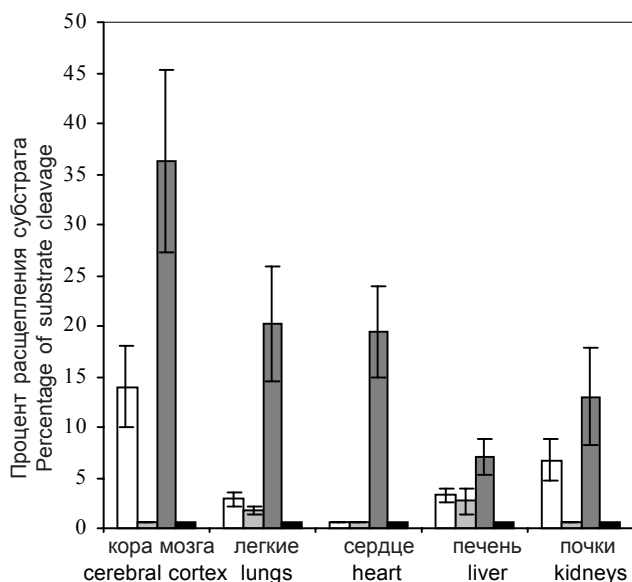


Рис. 1. Активность химазы у старых крыс с СГ под влиянием РХВ. □ - контроль; ■ - гипертензия; ■ - гипертензия + РХВ; ■ - РХВ.

Fig. 1. Chymase activity in aged rats with SH under the RCI effect. □ - control; ■ - hypertension; ■ - hypertension + RCI; ■ - RCI.

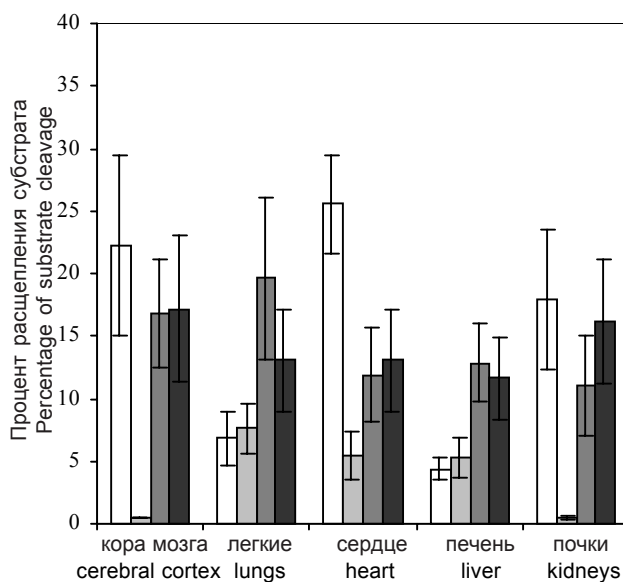


Рис. 2. Активность тонина у старых крыс с СГ под влиянием РХВ. □ - контроль; ■ - гипертензия; ■ - гипертензия + РХВ; ■ - РХВ.

Fig. 2. Tonin activity in aged rats with SH under the RCI effect. □ - control; ■ - hypertension; ■ - hypertension + RCI; ■ - RCI.

животных – во всех тканях (рис.4). РХВ на фоне СГ существенно повышает ЭИА  $\alpha$ -1-ИП в сердце.

Наблюдаемый нулевой уровень химазы в сердце у контрольных животных и при СГ обусловлен тем, что химаза крыс, собак, кроликов и мышей имеет меньшую локальную активность по сравнению с химазой человека [7].

Снижение активности химазы при СГ и РХВ скорее всего связано с тем, что физический стресс может индуцировать увеличение содержания нейропептидов с сопутствующим снижением активности ферментов, которые разрушают нейропептиды, особенно химазы тучных клеток [10].

Повышение активности химазы в группе СГ+РХВ, по-видимому, свидетельствует об увеличении содержания АІ, так как авторы [14] указывают на участие альтернативного пути в образовании АІ у крыс лишь при высоких концентрациях АІ. Возможность активации альтернативных путей имеет особую значимость в сердце и почках, может приводить к реструктуризации этих органов-мишеней с последующей органной дисфункцией [12, 15]. Известно также, что химаза образует АІІ из АІ у людей, приматов, собак, тогда как у крыс и мышей она расщепляет АІІ [9]. Отсутствие существенного повышения давления при этом [1] дает основания полагать, что химаза расщепляет АІІ у крыс с СГ под действием РХВ.

Снижение активности ферментов образования АІІ, химазы и тонина у крыс с СГ в КМ связано с развитием неспецифической ответной реакции на раздражитель вследствие возбуждения, возника-

The reduction of chymase activity at SH and RCI is probably related to the fact, that physical stress can induce the augmentation of neuropeptide content with the accompanying decrease in the activity of enzymes, which destroy neuropeptides, especially chymases of mast cells [10].

An increase in chymase activity in SH+RCI group apparently testifies to the augmentation of AI content, since the authors [14] point to the participation of alternative way in the AII formation in rats only under high AI concentrations. The possibility for the alternative pathway activation has a special significance in heart and kidneys and can result in the rearrangement of these organs-targets with following organ dysfunction [12, 15]. It is also known, that chymase forms AII from AI in human beings, primates, dogs, whereas in rats and mice it disintegrates AII [9]. The absence of significant rise in pressure in this case [1] permits to suppose that chymase breaks AII in rats with SH under RCI.

A decrease in the enzyme activity of AII, chymase and tonin formation in rats with SH in CC is related to the development of a non-specific response to stimulus due to the excitation, occurring under the stress factor effect and being formed in emotiogenic hypothalamo-lymbico-reticular brain structures [6]. Hypothalamic zone has the large two-side connections with many brain structures. The final destination of excitation is the cortex of large hemispheres [5].

A decrease at SH of chymase activity in kidneys, and tonin in heart and kidneys can testify to their participation in AII formation. An increase in the level

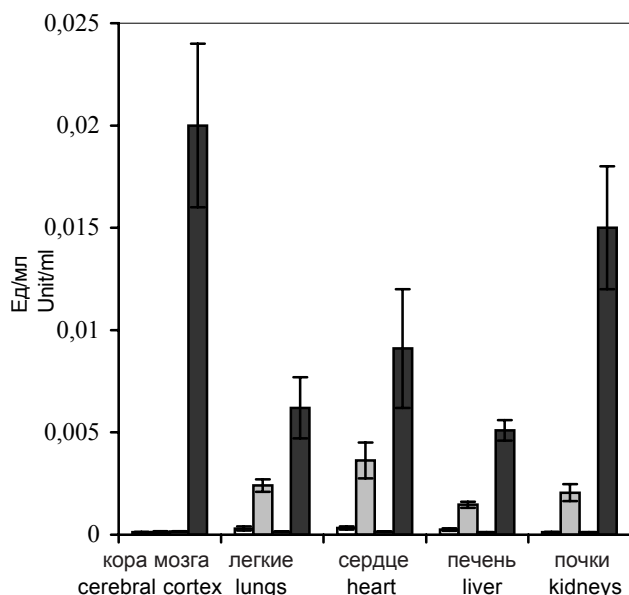


Рис. 3. Активность эластазы у старых крыс с СГ под влиянием РХВ. □ - контроль; ■ - гипертензия; ■ - гипертензия + РХВ; ■ - РХВ.

Fig. 3. Elastase activity in aged rats with SH under the RCI effect. □ - control; ■ - hypertension; ■ - hypertension + RCI; ■ - RCI.

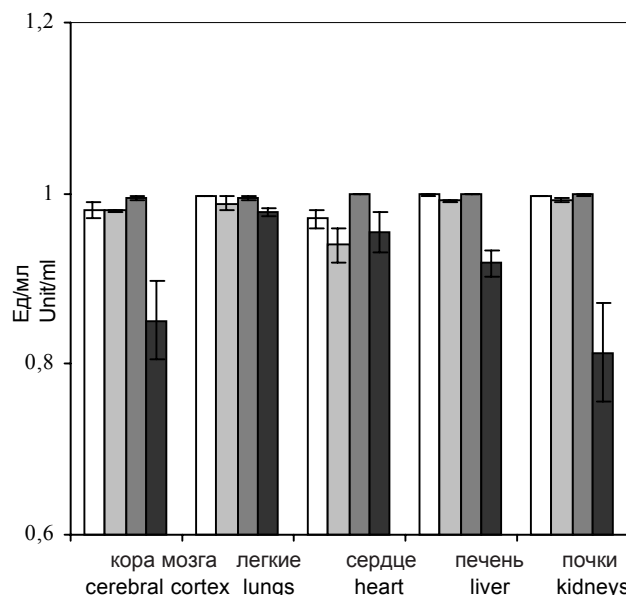


Рис. 4. Эластазоингибиторная активность у старых крыс с СГ под влиянием РХВ. □ - контроль; ■ - гипертензия; ■ - гипертензия + РХВ; ■ - РХВ.

Fig. 4. Elastase - inhibiting activity in aged rats with SH under the RCI effect. □ - control; ■ - hypertension; ■ - hypertension + RCI; ■ - RCI.



ющего под действием стрессового фактора и формирующегося в эмоциогенных гипоталамо-лимбико-ретикулярных структурах мозга [6]. Гипоталамическая область имеет обширные двусторонние связи со многими структурами мозга. Конечным пунктом назначения возбуждения является кора больших полушарий [5].

Снижение при СГ активности химазы в почках, а тонина в сердце и почках может свидетельствовать об их участии в образовании АП. Увеличение уровня тонина в печени и снижение в сердце при РХВ указывает, скорее всего, на его синтез и расходование, обеспечивающее незначительное увеличение артериального давления, наблюдаемое ранее [1].

В группе СГ+РХВ повышение уровня тонина по сравнению с контролем отмечено не только в печени, но и легких, и снижение в сердце, как и при РХВ в контроле, что соответственно указывает на путь его синтеза, перераспределения и расходования при проявлении функциональной активности. У старых крыс наблюдалось локальное тканеспецифическое снижение активности тонина в легких [2]. Таким образом, РХВ способствует восстановлению в легких уровня данного фермента.

Увеличение активности эластазы во всех исследуемых тканях при СГ может быть обусловлено высокой активностью лейкоцитов и индуцированием органного повреждения [13]. Степень привлечения нейтрофилов характеризует глубину протекания патологического процесса. Снижение уровня эластазы в группе СГ+РХВ и, наоборот, существенное его увеличение при РХВ в контроле свидетельствует об эффективности РХВ в ограничении органного повреждения при СГ и значительном стимулировании жизненных ресурсов старого организма. Последнее обусловлено тем, что с возрастом активность эластазы снижается во всех органах, и ее активация при РХВ может обеспечивать расширение адаптационных возможностей, увеличение приспособляемости к влиянию внешних и внутренних стрессовых факторов [2].

Существенное снижение уровня эластазы в сердце в группе СГ+РХВ непосредственно связано с повышением ЭИА  $\alpha$ -1-ИП, которое обеспечивается, скорее всего, за счет синтеза данного ингибитора мононуклеарными клетками крови, а не клетками печени или макрофагами легких, так как значительных изменений в этих органах не обнаружено. Кроме того, можно предполагать, что РХВ приводит к снижению уровня таких окислительных метаболитов, как супероксид, пероксинитрит, способных подавлять ЭИА- $\alpha$ -1-ИП [8]. Наблюдаемое повышение активности эластазы во всех исследуемых тканях при РХВ, сбалансированное снижением ЭИА- $\alpha$ -ИП, следует рассматривать как элемент витаукта, стабилизации жизненных функций старого организма.

of tonin in liver and reduction in heart at RCI point likely to its synthesis and expenditure, providing a slight rise in arterial pressure, observed earlier [1].

In the group of SH+RCI an increase in tonin level in comparison with the control was noted not only in liver, but in lungs, and a decrease in heart as at RCI in the control as well, that respectively indicates the level of its synthesis, redistribution and consumption rate at the manifestation of functional activity. In aged rats there was observed a local tissue-specific reduction of tonin activity in lungs [2]. Thus, the RCI contributes to this enzyme level recovery in lungs.

The augmentation of elastase activity in all studied tissues at SH can be stipulated by a high activity of leukocytes and the inducing of organ damaging [13]. The degree of neutrophils involving characterises the intensity of the pathologic process proceeding. A decrease in elastase level in the SH+RCI group and, on the contrary, its considerable augmentation at RCI in the control testify to the efficiency of RCI in the limiting of the organ damage at SH and a considerable stimulation of vital resources of an aged organism. The latter is stipulated by the fact, that with the age the elastase activity reduces in all organs and its activation at RCI can stipulate the extending of adaptation processes, the augmentation of adaptability to the effect of external and internal stress factors [2].

A considerable reduction of elastase level in heart and in the SH+RCI group is directly related to the EIA  $\alpha$ -1-PI increase, which is probably provided due to the synthesis of this inhibitor by mononuclear blood cells, not liver cells or lung macrophages, since no considerable changes in these organs were found-out. In addition, one can suppose, that RCI results in a decrease in such oxidative metabolites as superoxide, peroxinitrite, the capability to suppress EIA  $\alpha$ -1-PI [18]. The observed by us increase in elastase activity in all studied tissues at RCI, balanced by a decrease in EIA  $\alpha$ -1-PI and proteolysis activation should be considered as the vitauctum element, stabilisation of an aged organism's vital functions.

## Conclusions

Thus, RCI contributes to the activation of such enzymes as tonin, elastase in healthy animals, chymase and tonin in rats with SH, causes a stimulating effect on an aged organism, eliminates the consequences of ageing and prevents the elastase participation in the processes of organ damages, caused by the pathology development.

The author expresses her thanks to the Head of the Department of Cryophysiology of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of the Ukraine, Prof. G.A. Babijchuk and his colleagues for the assistance in biological material accumulation.

## Выводы

Таким образом, РХВ способствует активации таких ферментов, как тонин, эластаза у здоровых животных, химаза и тонин у крыс с СГ, оказывает стимулирующий эффект на старый организм, ликвидирует последствия старения и предотвращает участие эластазы в процессах органного повреждения, вызванных развитием патологии.

Автор благодарит заведующего отделом криофизиологии Института проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, д.б.н. Г.А.Бабийчука и его сотрудников за оказанное содействие в наборе биологического материала.

## Литература

1. Самохина Л.М., Бабийчук В.Г., Ломако В.В. и др. Состояние системы протеиназа-ингибитор протеиназ у старых крыс со стимулированной гипертензией при ритмических холодных воздействиях // Укр. терапевт. журн.– 2001.– № 4.– С. 43-46.
2. Самохина Л.М., Бабийчук Г.А., Познахарева И.А., Самохин А.А. Система протеиназа-ингибитор протеиназ у крыс разного возраста // Труды науч. конф., посвященной 100-летию со дня рождения акад. Н.И.Буланкина. 16-17 января 2001 г.– Харьков, 2001.– С. 154-155.
3. Самохина Л.М., Гольдрин Е.М., Коваль С.М. Система протеиназа-ингибитор протеиназ у хворих гіпертонічною хворобою під впливом антигіпертензивної терапії // Медична хімія.– 2000.– Т.2, N 3.– С. 11-15.
4. Самохина Л.М., Самохин А.А. Химаза, тонин и эластаза у крыс при окислительном стрессе, вызванном введением хлорида кобальта // Укр. биохим. журн.– 2001.– Vol.73, N 5.– С. 47-51.
5. Судаков К.В. Новые аспекты классической концепции стресса // Бюл. эксперим. биол. и мед.– 1997.– № 2.– С. 124-130.
6. Судаков К.В., Юматов Е.А. Эмоциональный стресс в современной жизни.– М.: Медицина, 1991.– 216 с.
7. Barcells E., Meng Q.C., Johnson W.H. Jr. et al. Angiotensin II formation from ACE and chymase in human and animal hearts: methods and species considerations // Am. J. Physiol.– 1997.– Vol.273, N 4, Pt.2.– P. H1769-H1774.
8. Cho Y., Jang Y.Y., Han E.S., Lee C.S. The inhibitory effect of ambroxol on hypochlorous acid-induced tissue damage and respiratory burst of phagocytic cells // Eur. J. Pharmacol.– 1999.– Vol.383, N1.– P. 83-91.
9. Fukami H., Okunishi H., Miyazaki M. Chymase: its pathophysiological roles and inhibitors // Curr. Pharm. Des.– 1998.– Vol.4, N 6.– P. 439-453.
10. Harvima I.T., Viinamaki H., Naukkarinen A. et al. Association of cutaneous mast cells and sensory nerves with psychic stress in psoriasis // Psychother. Psychosom.– 1993.– Vol.60, N 3-4.– P. 168-176.
11. He S., Walls A.F. Human mast cell chymase induces the accumulation of neutrophils, eosinophils and other inflammatory cells in vivo // Br. J. Pharmacol.– 1998.– Vol.125, N7.– P. 1491-1500.
12. Hollenberg N.K., Fisher N.D., Price D.A. Pathways for angiotensin II generation in intact human tissue: evidence from comparative pharmacological interruption of the renin system // Hypertension.– 1998.– Vol.32, N 3.– P. 387-392.
13. Iijima S., Tsuji T., Sugita M. et al. Leukocyte activity and occurrence of tissue injury by G-CSF // Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi.– 1993.– Vol.45, N 3.– P. 213-219.
14. Inoue K., Nishimura H., Kubota J. et al. Alternative angiotensin II formation in rats arteries occurs only at very high concentrations of angiotensin I // Hypertension.– 1999.– Vol.34, N3.– P. 525-530.
15. Weir M.R., Dzau V.J. The renin-angiotensin-aldosterone system: a specific target for hypertension management // Am. J. Hypertens.– 1999.– Vol.12, N 3.– P. 205S-213S.

Поступила 06.06.2002

## References

1. Samokhina L.M., Babijchuk V.G., Lomako V.V. et al. The state of the system of proteinase-inhibitor of proteinases in old rats with stimulated hypertension at rhythmic cold effects // Ukr. terapevt. zhurn.– 2001.– N4.– P. 43-46.
2. Samokhina L.M., Babijchuk G.A., Poznakhareva I.A., Samokhin A.A. System of proteinase-inhibitor of proteinases in rats of different age // Proceedings of scientific conference devoted to the 100<sup>th</sup> anniversary of academicians Bulankin N.I. January 16-17, Kharkov. 2001.– P. 154-155.
3. Samokhina L.M., Goldrin E.M., Koval S.M. System of proteinase-inhibitor of proteinases in patients with hypertension under the effect of anti-hypertensive therapy // Med. khimiya.– 2000.– Vol.2, N3.– P. 11-15.
4. Samokhina L.M., Samokhin A.A. Chymase, tonin and elastase in rats at a oxidative stress, caused by cobalt chloride introduction // Ukr. biokhim. zhurn.– 2001.– Vol.73, N5.– P. 47-51.
5. Sudakov K.V. New aspects of classical concept of stress // Bull. eksperim. biol. i med.– 1997.– N2.– P. 124-130.
6. Sudakov K.V., Yumatov E.A. Emotional stress in modern life.– Moscow: Meditsina, 1991.– 216 p.
7. Barcells E., Meng Q.C., Johnson W.H. Jr. et al. Angiotensin II formation from ACE and chymase in human and animal hearts: methods and species considerations // Am. J. Physiol.– 1997.– Vol.273, N4, Pt.2.– P. H1769-H1774.
8. Cho Y., Jang Y.Y., Han E.S., Lee C.S. The inhibitory effect of ambroxol on hypochlorous acid-induced tissue damage and respiratory burst of phagocytic cells // Eur. J. Pharmacol.– 1999.– 383, N1.– P. 83-91.
9. Fukami H., Okunishi H., Miyazaki M. Chymase: its pathophysiological roles and inhibitors // Curr. Pharm. Des.– 1998.– Vol.4, N6.– P. 439-453.
10. Harvima I.T., Viinamaki H., Naukkarinen A. et al. Association of cutaneous mast cells and sensory nerves with physis stress in psoriasis // Psychother. Psychosom.– 1993.– Vol.60, N 3-4.– P. 168-176.
11. He S., Walls A.F. Human mast cell chymase induces the accumulation of neutrophils, eosinophils and other inflammatory cells in vivo // Br. J. Pharmacol.– 1998.– Vol.125, N7.– P.1491-1500.
12. Hollenberg N.K., Ficher N.D., Price D.A. Pathways for angiotensin II generation in intact human tissue: evidence from comparative pharmacological interruption of the renin system // Hypertension.– 1998.– Vol.32, N3.– P. 387-392.
13. Iijima S., Tsuji T., Sugita M. et al. Leukocyte activity and occurrence of tissue injury by G-CSF // Nippon Fujinka Gakkai Zasshi.– 1993.– Vol.45, N3.– P. 213-219.
14. Inoue K., Nishimura H., Kubota J. et al. Alternative angiotensin II formation in rats arteries occurs only at very high concentrations of angiotensin I // Hypertension.– 1999.– Vol.34, N3.– P. 525-530.
15. Weir M.R., Dzau V.J. The renin-angiotensin-aldosterone system: a specific target for hypertension management // Am. J. Hypertens.– 1999.– Vol.12, N3.– P. 205S-213S.

Accepted in 06.06.2002