

УДК 591.128.2.085.1:599.323.42:611.018.12

В.В. Ломако*, А.В. Шило, И.Ф. Коваленко

Структурно-функциональные изменения в тканях сердца гетеро- и гомойотермных животных при искусственном и естественном гипометаболизме

UDC 591.128.2.085.1:599.323.42:611.018.12

V.V. Lomako*, A.V. Shilo, I.F. Kovalenko

Structural and Functional Changes in Heart Tissues of Hetero- and Homeothermic Animals Under Artificial and Natural Hypometabolism

Реферат: При искусственном гипометаболизме (комбинированное действие гипоксии, гиперкапнии и гипотермии) снижались температура тела (ТТ) до (17 ± 1) и $(16 \pm 1)^\circ\text{C}$ и частота сердечных сокращений до (99 ± 20) и (66 ± 16) ударов/мин у крыс и хомяков соответственно, а при гибернации – до $(8 \pm 1)^\circ\text{C}$ и 5–13 ударов/мин. В ткани миокарда при этом наблюдались гиперемия вен, артерий и капилляров; увеличение периваскулярных и интерстициальных пространств; в кардиомиоцитах – фокально признаки зернистой, гидропической и гиалиново-капельной дистрофий, а также множество ядер на разных стадиях некробиоза (пикноз, рексис и лизис). Кроме этого, через 2 ч после гипометаболизма выявлялись тромбы в сосудах, безъядерные зоны некроза, у части кардиомиоцитов крыс – еще и большие ядра. Изменения в миокарде сохранялись и через 24 ч, но большая их часть была обратимой после нормализации ТТ и кровообращения, имела адаптивный характер, а активация некробиотических процессов, как известно, способствует ускорению физиологической регенерации.

Ключевые слова: гипометаболизм, гибернация, гомойотермия, гетеротермия, гистология миокарда, крысы, хомяки.

Реферат: При штучному гіпометаболізмі (комбінований вплив гіпоксії, гіперкапнії і гіпотермії) знижувалися температура тіла (ТТ) до (17 ± 1) і $(16 \pm 1)^\circ\text{C}$ і частота серцевих скорочень до (99 ± 20) і (66 ± 16) ударів/хв у щурів і хом'яків відповідно, а при гібернації – до $(8 \pm 1)^\circ\text{C}$ і 5–13 ударів/хв. У тканині міокарда при цьому спостерігалися гіперемія вен, артерій і капілярів; збільшення периваскулярних та інтерстиціальних просторів; у кардіоміоцитах – фокально ознаки зернистої, гідропічної і гіаліново-крапельної дистрофій, а також багато ядер на різних стадіях некробиозу (пикноз, рексис і лизис). Крім цього, через 2 години після гіпометаболізму виявлялися тромби в судинах, без'ядерні зони некрозу, у частини кардіоміоцитів щурів – ще й великі ядра. Зміни в міокарді зберігалися і через 24 години, але більша їх частина були оборотними після нормалізації ТТ і кровообігу, мали адаптивний характер, а активація некробіотичних процесів, як відомо, сприяє прискоренню фізіологічної регенерації.

Ключові слова: гіпометаболізм, гібернація, гомойотермія, гетеротермія, гістологія міокарда, щури, хом'яки.

Abstract: During artificial hypometabolism (combined effect of hypoxia, hypercapnia and hypothermia) there was a decrease in temperature of body (TB) down to (17 ± 1) and $(16 \pm 1)^\circ\text{C}$ and heart rate down to (99 ± 20) and (66 ± 16) beats/min in rats and hamsters, respectively, and under hibernation it reduced down to $(8 \pm 1)^\circ\text{C}$ and 15–13 beats/min. The hyperemia of veins, arteries and capillaries; increased perivascular and interstitial spaces; signs of grained, hydropic and hyaline-drop dystrophies (focally), as well as numerous nuclei at various necrobiosis stages (karyopyknosis, karyorhexis and karyolysis) were herewith observed in myocardial tissue. In addition, 2 hrs later artificial hypometabolism there were revealed the blood thrombi in vessels, nuclear-free zones of necrosis, and in rats even large nuclei in some cardiomyocytes. The changes persisted even 24 hrs later, but the most of those were reversible after TB and blood circulation recovery and had an adaptive nature, but the activation of necrobiotic processes was known to be promoted the acceleration of physiological regeneration.

Key words: hypometabolism, hibernation, homeothermy, heterothermy, myocardial histology, rats, hamsters.

В природе некоторые виды позвоночных способны к сезонному гипометаболизму (ГМ) (гибернации), характеризующемуся голоданием, гипотермией, резким снижением интенсивности обмена веществ и энергии, ингибированием физиологических функций. У гибернирующих млекопитающих периоды оцепенения (от нес-

Some vertebrate species in the wild are capable of seasonal hypometabolism (HM) (hibernation), characterized by starvation, hypothermia, a profound decrease in metabolism intensity, inhibition of physiological functions. In hibernating mammals the periods of torpor (from some days to some weeks) alternate the short (12–48 hrs) episodes of metabolism, temperature

Отдел криофизиологии, Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

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

*Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:
ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61016;
тел.: (+38 057) 373-74-35, факс: (+38 057) 373-59-52,
электронная почта: victoria0regia@gmail.com

*To whom correspondence should be addressed:
23, Pereyaslavskaya str., Kharkiv, Ukraine 61016;
tel.: +380 57 3737435, fax: +380 57 373 5952,
e-mail: victoria0regia@gmail.com

Поступила 23.08.2016
Принята в печать 19.10.2016

Received August, 23, 2016
Accepted October, 19, 2016

кольных дней до нескольких недель) чередуются с короткими (12–48 ч) эпизодами временного восстановления обмена веществ, температуры тела (ТТ) и частоты сердечных сокращений (ЧСС) [17, 26]. Гибернаторы могут «предчувствовать» фазы неблагоприятных климатических условий и бескормицы и подготавливаться к ним, перестраивая метаболические и поведенческие реакции [26]. Такие перестройки позволяют, в частности, сохранять энергетические субстраты и являются ярким примером фенотипической пластичности.

Одним из уникальных проявлений естественного гипометаболизма является поддержание низкого уровня функционирования сердца. Несмотря на резкое замедление ЧСС (до 5–10 ударов/мин) и низкую скорость кровотока, характерные для глубокого торпора, сердце гетеротермных животных способно быстро восстанавливать свою функциональную активность (при изменении условий внешней или внутренней среды). Для негиберирующих животных снижение ТТ до 20°C фатально, поскольку способствует развитию аритмии и фибрилляции желудочков, приводящих к остановке сердца, тогда как сердце гиберирующих животных сохраняет синусовый ритм даже при ТТ, близкой к 0°C [29, 31].

Следует отметить, что до настоящего времени достичь обратимого погружения гомойотермных млекопитающих в гипометаболическое состояние удается на короткий срок и с применением потенциально опасных для организма литических и газовых смесей [8, 14], фармпрепаратов [15, 19, 21], а также путем снижения ТТ и голодания [39]. Хотя способность гетеротермных животных выдерживать большие колебания уровня энергетических и обменных процессов без угрозы для сердечной деятельности отмечена уже давно, вопрос о природе адаптивных изменений, происходящих в ткани сердца при погружении и выходе из состояния ГМ, еще до конца не выяснен. По нашему мнению, для поддержания структурной целостности и функциональной активности сердца при гипометаболических состояниях в ткани миокарда должны происходить перестройки, способные их компенсировать.

В связи с этим целью работы было сравнительное изучение изменений частоты сердечных сокращений и гистологической картины в миокарде гетеро- (хомяки) и гомойотермных (крысы) животных при искусственном и естественном гипометаболизме, а также на этапах восстановления (через 2 и 24 ч после выхода из гипометаболического состояния).

Материалы и методы

Эксперименты проводили в соответствии с «Общими принципами экспериментов на животных», одобренными VI Национальным конгрессом

of body (TB) and heart rate (HR) temporary recovery [6, 15]. Hibernators may ‘anticipate’ the phases of adverse climatic conditions, lack of food and be prepared to it, thereby rearranging metabolic and behavior responses [15]. These rearrangements enable, in particular, preserving energetic substrates, being a dramatic example of phenotypic plasticity.

One of the unique manifestations of natural hypometabolism is the maintaining of a low heart functioning. In spite of a drastic HR deceleration (down to 5–10 beats/min) and a low blood flow velocity, being typical for a deep torpor, the heart of heterothermic animals may rapidly recover its functional activity (under changed internal and external environments). For non-hibernating animals a decrease in TB down to 20°C is fatal, since contributing to the arrhythmia and ventricular fibrillation development, resulting in cardiac arrest, whereas the heart of hibernating animals keeps the sinus rhythm even when the TB is close to 0°C [18, 23]. It should be noted, that up to now, one manages to achieve a reversible immersion of homeothermic mammals into hypometabolic state only for a short time period and by applying potentially dangerous for an organism lytic and gas cocktails [3, 37], pharmaceuticals [4, 8, 11], as well as via TB lowering and starvation [36]. Although the capability of heterothermal animals to endure large fluctuations of energetic and metabolic levels with no risk for cardiac activity was noted long before, the question about the nature of adaptive changes, occurring in heart tissue during entering and arousal from HM state is not yet fully understood. We believe the maintaining of structural integrity and functional activity of heart under hypometabolic states is possible in myocardial tissue owing to the rearrangements, capable of compensating them.

In this regard, we aimed here to compare in experiments the changes in heart rate and histological pattern in myocardium of hetero- (hamsters) and homeothermic (rats) animals under artificial and natural hypometabolism, as well as at recovery stages (2 and 24 hrs after arousal from hypometabolic state).

Materials and methods

Experiments were carried out according to the General Principles of Experiments in Animals approved by the 6th National Congress in Bioethics (Kyiv, 2016) and agreed to the statements of European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasburg, 1986). The work was performed within the autumn-winter period in male golden hamsters (weighting 85–95 g) and male outbred albino rats (180–220 g). The animals before the experiment were housed in the animal facility with natural light/dark cycle and a standart diet *ad libitum* with adding wheat and sunflower seeds.



по биоэтике (Киев, 2016) и согласованными с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986). Работу выполняли в осенне-зимний период на самцах золотистых хомяков (масса 85–95 г) и самцах беспородных белых крыс (масса 180–220 г). До начала эксперимента животных содержали в условиях вивария при естественном световом режиме на стандартном рационе *ad libitum* с добавлением зерен пшеницы и семян подсолнечника.

Хомяков перед погружением в состояние естественного гипометаболизма (ЕГМ) рассаживали в индивидуальные клетки, из рациона исключали сочную пищу, снабжали гнездовым материалом (древесные опилки и сено) и переносили в темное помещение с температурой воздуха $(5 \pm 2)^\circ\text{C}$ (промышленная холодильная камера объемом 20 м^3 с автоматической регулировкой температуры). Хомяки погружались в спячку через 10–14 суток. Средняя длительность баута составляла $(3 \pm 0,5)$ суток.

Состояние искусственного гипометаболизма (ИГМ) моделировали с помощью метода «закрытого сосуда» [7, 8]. Животных в герметически закрытом сосуде (объемом 3 дм^3 для крыс и 2 дм^3 для хомяков) помещали в темную холодильную камеру ($2...5^\circ\text{C}$). Находясь в условиях пониженной температуры и нарастающей гипоксии-гиперкапнии, животные постепенно (в течение 2,5–3 ч) погружались в состояние, сходное по физиологическим параметрам с естественной гибернацией [7, 8]. Регистрацию ЧСС у животных проводили с помощью стерильных игольчатых электродов, размещенных на передних и задних конечностях; запись и обработку биоэлектрической активности сердца осуществляли на компьютерном электрокардиографе «Поли-Спектр» («Нейро-Софт», Россия) с помощью программы «ПолиСпектр» («Нейро-Софт»). Для измерения ТТ (у крыс – ректально, у хомяков – в защитном мешке) использовали тарированную медь-константановую термопару и электронный вольтметр В7-21 («Лорта», Украина) с последующим пересчетом показателей вольтметра (мкВ) в градусы Цельсия с помощью программы «Excel» («Microsoft», США).

Животных ($n = 5$ в каждой группе) выводили из эксперимента путем декапитации, материал забирали при достижении гипометаболического состояния и на этапах восстановления (через 2 и 24 ч). Для исследования забирали стандартизированный участок ткани миокарда верхушки сердца.

Гистологическое исследование проводили по стандартной методике [2]: ткань фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина в те-

Before entering the natural hypometabolism (NHM) state hamsters were placed into individual cages, the diet was deprived of juicy food. They were provided with nesting material (sawdust and hay), and then replaced into a dark room with air temperature $(5 \pm 2)^\circ\text{C}$ (industrial cooling chamber of 20 m^3 volume with automatic temperature control). Hamsters entered hibernation after 10–14 days. An average bout duration was (3 ± 0.5) days.

The state of artificial hypometabolism (AHM) was simulated using the ‘closed vessel’ method [24, 37]. Animals in a sealed vessel (3 and 2 dm^3 volume for rats and hamsters, respectively) were placed into a dark cooling chamber ($2...5^\circ\text{C}$). Being under reduced temperature and increasing hypoxia-hypercapnia, the animals gradually (within 2.5–3 hrs) entered the state, similar by physiological parameters to natural hibernation [24, 37]. The HR in animals was recorded using sterile needle electrodes, placed on fore and hind paws; heart bioelectrical activity was recorded and processed with computer-based electrocardiograph Poly-Spectrum (Neurosoft, Russia) by means of Poly-Spectrum software (Neurosoft). To measure the TB (rectally in rats, and in cheek pouch in hamsters) we used a calibrated copperconstantan thermocouple and electronic voltmeter V7-21 (Lorta, Ukraine), with following conversion of voltmeter indices (μV) into Celsius degrees using the Excel software (Microsoft, USA).

The animals ($n = 5$ in each group) were decapitated, the samples were taken when the hypometabolic state was achieved and at the recovery stages (2 and 24 hrs later). The standardized myocardial tissue site of heart apex was taken for examination.

Histological examination was performed according to the standard technique [38]: the tissue was fixed in 10% neutral formalin solution within 24 hrs. After washing the fixed material was dehydrated in alcohols of increasing concentration and embedded into paraffin. The obtained sections of 6–8 μm thickness were stained with hematoxylin and eosin. The preparations were studied and photographed with the microscope Axio Observer Z1 (Carl Zeiss, Germany) and the image analysis software AxioVision Rel. 4.8 (Carl Zeiss). The state of myocardial tissue histological samples (luminal diameter and blood filing of vessels, state of perivascular and interstitial spaces, cardiomyocytes and their nuclei) was visually assessed in morphological examination. The total protein content in tissues was determined by the Bradford protein assay [5]. For statistical data processing we used the Mann-Whitney test.

Results and discussion

The AHM development (hypothermia at the background of increasing hypoxia-hypercapnia) was accompanied by a significant decrease of TB in rats: from (38 ± 1) down to $(17 \pm 1)^\circ\text{C}$, in hamsters: from



чение 24 ч. После отмывания фиксированный материал обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заливали парафином. Полученные срезы толщиной 6–8 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Препараты изучали и фотографировали с помощью микроскопа «Axio Observer Z1» («Carl Zeiss», Германия) с программным обеспечением для анализа изображений «AxioVision Rel. 4.8» («Carl Zeiss»). При морфологическом исследовании визуально оценивали состояние гистологических образцов ткани миокарда (диаметр просвета и кровенаполнение сосудов, состояние периваскулярных и интерстициальных пространств, кардиомиоцитов и их ядер). Содержание общего протеина в тканях определяли методом Бредфорда [16]. Для статистической обработки данных использовали критерий Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение

Развитие ИГМ (гипотермия на фоне нарастающей гипоксии-гиперкапнии) сопровождалось значительным снижением ТТ у крыс – с (38 ± 1) до $(17 \pm 1)^\circ\text{C}$, у хомяков – с $(37,5 \pm 0,5)$ до $(16 \pm 1)^\circ\text{C}$ и замедлением ЧСС у крыс – с (360 ± 40) до (99 ± 20) ударов/мин, у хомяков – с (370 ± 55) до (66 ± 16) ударов/мин. При естественном гипометаболизме ТТ у хомяков снижалась до $(8 \pm 1)^\circ\text{C}$, ЧСС – до 5–13 ударов/мин.

Известно, что снижение ТТ часто приводит к нарушению ритмичной работы сердца – аритмиям. Так, различные аритмии сердца описаны как при развитии искусственной гипотермии [37], так и на всех этапах естественной гибернации млекопитающих [24, 27, 32]. В наших исследованиях у некоторых животных после развития как искусственного (4 крысы из 12 и 5 хомяков из 8), так и естественного (данные не приводятся) гипометаболизма также отмечались разные по длительности периоды аритмий, которые в большинстве случаев резко прекращались по мере восстановления ТТ [10, 38].

Одновременное действие гипоксии и гиперкапнии приводит к снижению метаболической активности, угнетению поведенческих и терморегуляторных реакций [28], при этом их эффекты суммируются с характерным для гиперкапнии влиянием на дыхание, а гипоксии – на метаболизм животных [13, 30]. Вызванная действием гипоксии-гиперкапнии и усиленная низкой температурой окружающей среды гипотермия животных при ИГМ, возможно, является основным фактором угнетения активности сердца.

В особых условиях (при гипотермии организма) для адекватной работы сердца важна функциональная активность рецепторного и проводящего

(37.5 ± 0.5) down to $(16 \pm 1)^\circ\text{C}$ and HR deceleration in rats: from (360 ± 40) down to (99 ± 20) beats/min, in hamsters: from (370 ± 55) down to (66 ± 16) beats/min. Under natural hypometabolism the TB and HR in hamsters decreased down to $(8 \pm 1)^\circ\text{C}$ and 5–13 beats/min.

The TB reduction is known to frequently result in a disorder of rhythmic function of the heart, *i. e.* arrhythmias. For example, different cardiac arrhythmias were described both under development of artificial hypothermia [30], and at all the stages of natural hibernation in mammals [13, 16, 25]. In our studies in some animals after development of both artificial (4 rats from 12 and 5 hamsters from 8) and natural (data not shown) hypometabolism there were also observed different by duration periods of arrhythmias, which in most cases stopped abruptly as far as the TB recovered [34, 35].

A simultaneous effect of hypoxia and hypercapnia leads to a decrease in metabolic activity, inhibition of behavioral and thermoregulatory responses [17], herein their effects are combined with to the typical for hypercapnia influence on respiration, and on metabolism of animals for hypoxia [2–19]. The hypothermia of animals under АНМ, caused by hypoxia-hypercapnia and strengthened by low temperature of environment, is probably the main factor in cardiac activity suppression.

Under special conditions (at body's hypothermia) for adequate heart function of importance is functional activity of receptor and conductive apparatuses, nuclear structures in the *medulla oblongata* and executive organs, including the heart and blood vessels. In addition, under weak or rare vagal stimulations, occurring during hypothermia, its 'paradoxical' effect may be noted, when instead of the expected HR deceleration, one observes its acceleration [29]. Herewith the rapid pulse fluctuations may testify to both transition process and activation of parasympathetic effects as well [1]. During natural hibernation despite a pronounced reduction of TB and metabolic activity, the animals preserve homeostatic control of cardiovascular system activity [26]: the entering a NHM state occurs at the background of dominance of parasympathetic nervous system, but the arousal from it is accompanied by activation of sympathetic one. As far back as 1950, P.O. Chatfield and C.P. Lyman [7] noted that all the hamster organs under a deep hibernation were blood supplied virtually equally, as exemplified by pink color of animal paws. The rewarming initiation is accompanied by the blood circulatory system blocking of the lower part of animal body to provide a more adequate rewarming of the upper one. Upon reaching the certain level of euthermia the vascular sphincters are opened and cold blood from the periphery enters the general blood stream that may cause the TB decrease and the corresponding changes



аппаратов, ядерных образований в продолговатом мозге и исполнительных органов, включая сердце и сосуды. Кроме того, при слабых или редких раздражениях вагуса, имеющих место при гипотермии, может наблюдаться его «парадоксальный» эффект, когда вместо ожидаемого замедления отмечается учащение ЧСС [9]. При этом быстрые колебания пульса могут свидетельствовать как о переходном процессе, так и об активации парасимпатических влияний [1]. В период естественной гибернации, несмотря на выраженное снижение ТТ и метаболической активности, у животных сохраняется гомеостатический контроль над активностью сердечно-сосудистой системы [33]: погружение в состояние ЕГМ проходит на фоне доминирования парасимпатического звена, а выход из него сопровождается активацией симпатического звена вегетативной нервной системы. Еще в 1950 г. P.O. Chatfield и C.P. Lyman [18] отмечали, что все органы хомяка при глубокой спячке снабжаются кровью практически одинаково, подтверждением чему служит розовый цвет конечностей животного. Инициация разогрева сопровождается блокировкой кровеносной системы нижней части тела животного для обеспечения более адекватного разогрева верхней части тела. При достижении определенного уровня эутермии сфинктеры сосудов открываются, и холодная кровь с периферии поступает в общее кровяное русло, что может вызвать снижение ТТ и соответствующие изменения в активности сердца. Так, у крупных гибернаторов (сурок) при пробуждении от спячки обнаружено плато на температурной кривой, отражающее поступление холодной крови с периферии, не характерное для мелких гибернаторов [36]. Однако, как показано в исследовании D.A. Eagles и соавт. [24], введение холодного раствора Локка (0°C) негибернирующим животным в состоянии наркоза вызывает падение ТТ, но не влияет на активность сердца. Следует отметить, что в наших экспериментах выраженная аритмия у части хомяков может быть подтверждением предположения, высказанного C.P. Lyman и R.C. O'Brien [31], об «утомлении» миокарда и «неожиданном» снижении симпатической активности при пробуждении животных от зимней спячки. Кроме того, сердце хомяка, обладая рядом специфических особенностей проводящей системы миокарда [18], может реализовывать наиболее «простой» компенсаторный механизм адаптации при усиленной его работе (фаза активного разогрева) – удлинение фазы диастолы [9]. К таким особенностям относят отсутствие симпатической иннервации вентрикулярного миокарда, при этом синаптические терминалы миокарда хомяков ограничены проводящими волокнами и кровеносными

in cardiac activity. For example, in big hibernators (marmot) during arousal there was found the plateau on the temperature curve, reflecting the cold blood entering from the periphery, not typical for small hibernators [28]. However, as shown in researches of D.A. Eagles *et al.* [13], the injection of cold Locke's solution (0°C) to non-hibernating animals under anesthesia caused the TB fall, but does not affect the heart activity. It should be noted, that in our experiments a severe arrhythmia in some hamsters may confirm the assumption of C.P. Lyman and R.C. O'Brien [23] about the 'fatigue' of myocardium and 'unexpected' reduction of sympathetic activity during animal arousal from hibernation. In addition, the hamster heart, having a number of specific features of the conduction system of myocardium [7] can implement the most 'simple' compensatory adaptation mechanism under its intense functioning (phase of active rewarming): diastolic phase prolongation [29]. These features include the lack of sympathetic innervation of ventricular myocardium, herewith the synaptic terminals of hamster myocardium are limited by conductive fibers and blood vessels [18, 27]. In hamster heart 'the sinoatrial node itself contains Purkinje fibers, which are otherwise absent in the atria; the atrioventricular node contains fibers which approach the Purkinje type in size and general appearance; and finally there is no Purkinje tissue in the right ventricle and only a limited amount in the left' (cited by P.O. Chatfield and C.P. Lyman [7]).

The heart rate is known to affect the coronary blood flow, to determine myocardial oxygen demand and its functional activity in the whole, being thereby an important diagnostic criterion. The clinical and experimental findings confirmed the relationship between HR changes and a wide range of adaptive, structural and functional changes in myocardium [31].

We hypothesized that these features of heart function under artificial (hypothermia at the background of increasing hypoxia-hypercapnia) and natural hypometabolism might be reflected in corresponding changes in myocardial tissue structure.

Analysis of histological pattern in myocardium of hetero- and homeothermic animals under natural and artificial hypometabolism revealed the similar and significant changes (Figs. 1–3). For example, in rats and hamsters we found the hyperemia of vessels with different diameter (veins, arteries, capillaries), which might indicate circulatory disturbance, manifested in its deceleration and disordered blood flow. The increased perivascular and interstitial spaces, more pronounced in hamsters under NHM, were noted; the signs of granular, moderate hydropic and hyaline-drop dystrophies such as: white granular inclusions, lumps and drops in cardiomyocytes, were revealed (Figs. 1–3). Dystrophies are referred to degenerative changes in cells. Granular dystrophy is common for proteins



сосудами [29, 34]. В сердце хомяка «сино-атриальный узел содержит волокна Пуркинье, но в предсердии они отсутствуют; в атрио-вентрикулярном узле имеются волокна, которые приближаются к типу волокон Пуркинье только размером и общим видом; волокон Пуркинье нет в правом желудочке, а в левом – их количество очень ограничено» (цитируется по Р.О. Chatfield и С.Р. Lyman [18]).

Известно, что ЧСС влияет на коронарный кровоток, определяет потребность миокарда в кислороде и его функциональную активность в целом и является важным диагностическим критерием. Результаты клинических и экспериментальных исследований подтвердили связь между изменениями ЧСС и широким диапазоном адаптационных и структурно-функциональных перестроек в миокарде [35].

Мы предположили, что такие особенности функционирования сердца в условиях искусственного (гипотермия на фоне нарастающей гипоксии-гиперкапнии) и естественного гипометаболизма могут найти отражение в соответствующих изменениях в структуре ткани миокарда.

Анализ гистологической картины в миокарде гетеро- и гомойотермных животных при естественном и искусственном гипометаболизме выявил сходные и значительные изменения (рис. 1–3). Так, у крыс и у хомяков выявлена гиперемия сосудов разного диаметра (вен, артерий, капилляров), что может указывать на расстройства кровообращения, проявляющиеся в его замедлении и нарушении оттока крови. Отмечалось увеличение периваскулярных и интерстициальных пространств, более выраженное у хомяков при ЕГМ; обнаружены признаки зернистой, умеренной гидропической и гиалиново-капельной дистрофий – белые зернистые включения, глыбки и капли в кардиомиоцитах (рис. 1–3). Дистрофии относятся к дегенеративным изменениям в клетках. Зернистая дистрофия – наиболее часто встречающийся вид протеиновой дистрофии, характеризующаяся нарушением коллоидных свойств цитоплазмы клеток с выявлением в ней протеина в виде зерен. Причинами, вызывающими ее, являются, в частности, расстройства крово- и лимфообращения, а также гипоксия. Такая дистрофия наиболее выражена в печени, почках, миокарде, а также в скелетных мышцах, проявляется в изменении метаболизма протеинов в клетке и энзимопатии. После прекращения действия индуцирующего ее фактора дистрофия обратима, но в некоторых случаях может перейти в гидропическую, гиалиново-капельную или жировую дистрофию и некроз.

Гидропическая дистрофия – одно из самых распространенных дегенеративных изменений, как правило, развивающихся в результате нарастаю-

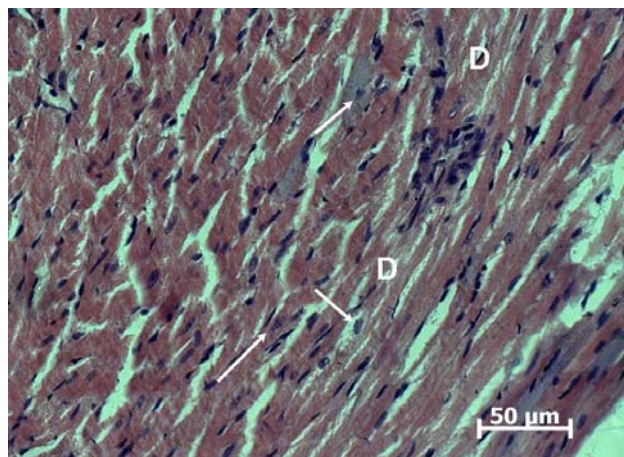


Рис. 1. Ткань миокарда крысы при ИГМ: D – признаки дистрофии; стрелками указаны ядра кардиомиоцитов на различных стадия некробиоза (кариопикноз, кариорексис, кариолизис). Окраска гематоксилином и эозином.

Fig. 1. Myocardial tissue of rat at AHM: D is dystrophy signs; arrows indicate cardiomyocyte nuclei at different necrobiosis stages (karyopyknosis, karyorhexis, karyolysis). H&E staining.

and is characterized by disordered colloidal properties of cell cytoplasm and appearance of proteins as grains. It may be caused by disorders, particularly, in blood and lymph circulations, and by hypoxia too. Such a dystrophy is characteristic for liver, kidney, myocardium and skeletal muscles as well, it is manifested in a changed protein metabolism in cell and enzymopathy. The dystrophy could be reversible after disappearance of its inducing factor, but in some cases it can transit into either hydropic, hyaline-drop or fatty dystrophy and necrosis.

Hydropic dystrophy is one of the most common degenerative changes, resulting, as a rule, from growing energy deficit at the background of hypoxia; the function of K-Na-ATPase is primarily disrupted, leading to cell hydration. Moderate intracellular edema is thereat a paranecrotic (reversible) process.

Hyaline-drop dystrophy is one of proteinosis types, based on cytoplasmic protein coagulation with pronounced destruction of ultrastructural cell elements, being extremely rare in myocardium; it is reversible and occurs during tissue dehydration, but can end in either focal or total necrosis.

In hamster cardiomyocytes under AHM we also observed the emergence of a large number of nuclei, being at different necrobiosis stages (Fig. 2): karyopyknosis (shrinkage of nucleus, accompanied by chromatin condensation, due to water loss), karyorhexis (disintegration of cell nucleus into pieces) and karyolysis (complete dissolution of nucleus: the last stage of necrobiosis). The emergence of these nuclei is a microscopic sign of necrosis. Normally structured

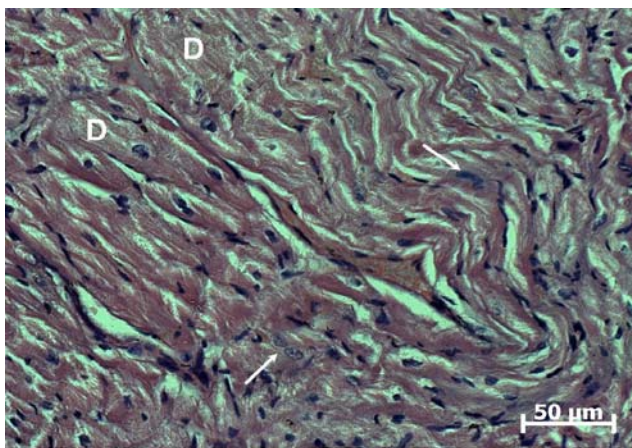


Рис. 2. Ткань миокарда хомяка при ИГМ: D – признаки дистрофии; стрелками указаны ядра кардиомиоцитов на различных стадиях некробиоза (кариопикноз, кариорексис, кариолизис). Окраска гематоксилином и эозином.

Fig. 2. Myocardial tissue of hamster at AHM: D is dystrophy signs; arrows indicate cardiomyocyte nuclei at different necrobiosis stages (karyopyknosis, karyorhexis, karyolysis). H&E staining.

щего энергодифицита на фоне гипоксии; в первую очередь нарушается функция К-Na-АТФазы, что приводит к гидратации клетки. Умеренный внутриклеточный отек при этом является паранекротическим (обратимым) процессом.

Гиалиново-капельная дистрофия – один из видов диспротеинозов, в основе дистрофии лежит коагуляция протеинов цитоплазмы с выраженной деструкцией ультраструктурных элементов клетки, в миокарде встречается крайне редко; является обратимой и наблюдается при обезвоживании ткани, но может заканчиваться фокальным либо тотальным некрозом.

У хомяков при ИГМ в кардиомиоцитах мы также наблюдали появление большого количества ядер, находящихся на разных стадиях некробиоза (см. рис. 2): кариопикноза (сморщивание ядра, сопровождающееся конденсацией хроматина, из-за потери воды), кариорексиса (распад клеточного ядра на части) и кариолизиса (полное растворение ядра – последний этап некробиоза). Появление таких ядер является микроскопическим признаком некроза. Нормальное ядро кардиомиоцита (иногда их два) имеет овальную форму и расположено в центральной части клетки.

Следует отметить, что замедление скорости кровообращения, изменение вязкости и свертываемости крови, согласно триаде Вирхова, являются одними из причин тромбообразования [22]. В организме ежеминутно образуются и рассасываются микротромбы, предохраняющие от постоянно возникающих микрогеморрагий и не

cardiomyocyte nucleus (sometimes two) has an oval shape, locating in the central part of a cell.

It should be noted that the deceleration of circulation velocity, changes in viscosity and blood clotting are the causes of thrombosis according to the Virchow's triad [10]. In an organism there are continually formed and resolved the microthrombi, protecting from recurring microhemorrhages and causing no obturation of non-capillary vessels. White blood thrombus can be formed in a fast circulation, being efficient only to stop capillary bleeding. Red (coagulation) blood thrombus occurs when a polymer fibrin is excessive and it is formed under slower blood flow, quite rapidly to stop bleeding from large vessels. Consequently, the hypometabolic states, characterized by long periods of immobility, decreased rate of respiration and HR, low blood flow velocity and repeated cycles of torpor-rewarming (in hibernating animal) should facilitate the activation of procoagulation processes owing to their specificity. However, as discussed by K.L. Drew *et al.* [12], in true hibernators (ground squirrels), being in natural hibernation, the blood clot is formed extremely rare *in vitro*, but even if it is formed though, its structure is much worse, the size and density are less than in cold-adapted euthermic ground squirrels. Red blood thrombus results from a drastic predominance of coagulation over agglutination, under rapid blood coagulation and slow blood flow, for example, under stasis, or if no new blood platelets come into blood. A massive platelet clearance from blood-stream (up to 96%) prevents a pronounced

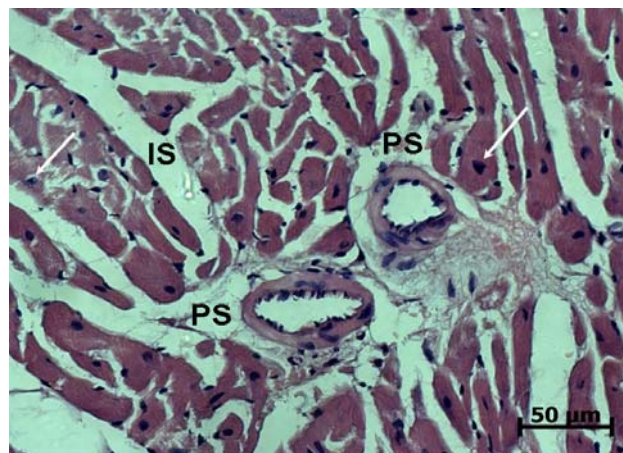


Рис. 3. Ткань миокарда хомяка при ЕГМ: D – признаки дистрофии; PS – периваскулярное пространство; IS – интерстициальное пространство; стрелками указаны ядра кардиомиоцитов на различных стадиях некробиоза (кариопикноз, кариорексис, кариолизис). Окраска гематоксилином и эозином.

Fig. 3. Myocardial tissue of hamster at NHM: D is dystrophy signs; PS is perivascular space; IS defines interstitial space; arrows indicate cardiomyocyte nuclei at different necrobiosis stages (karyopyknosis, karyorhexis, karyolysis). H&E staining.



вызывающие обтурации некапиллярных сосудов. Белый тромб может образовываться при быстром кровотоке и эффективен только для остановки капиллярного кровотечения. Красный (коагуляционный) тромб образуется при избытке полимерного фибрина и формируется при более медленном кровотоке довольно быстро (для прекращения кровотечения из крупных сосудов). Следовательно, гипометаболические состояния, для которых характерны длительные периоды неподвижности, сниженного ритма дыхания и ЧСС, низкой скорости кровотока и повторяющиеся циклы торпор-отогрев (у гибернирующих животных) в силу своей специфичности должны способствовать активации прокоагуляционных процессов. Однако, как обсуждается в работе К.Л. Дрью и соавт. [23], у истинных гибернаторов (сусликов), находящихся в состоянии естественной гибернации, *in vitro* сгусток (clot) крови образуется крайне редко, однако, если он все же сформировался, то он значительно хуже структурирован, его размер и плотность меньше, чем у эутермных сусликов, адаптированных к холоду. Красный тромб образуется в результате резкого преобладания коагуляции над агглютинацией, при быстром свертывании крови и медленном кровотоке, например, при стазе или если в кровь не поступают новые тромбоциты. При гибернации выраженному тромбообразованию препятствует массиванный выход тромбоцитов из кровяного русла (до 96%), но оставшиеся в крови тромбоциты сохраняют свои свойства. Такая тромбопения обратима и, как полагают E.L. de Vrij и соавт. [19], связана с падением ТТ и не является следствием снижения метаболической активности.

Кроме того, В.Ф. Козлова и Т.Н. Юрченко [4] у гибернирующих сусликов также отмечают снижение свертываемости крови и замедление кровообращения, редукцию гемомикроциркуляторного русла миокарда. На структурном уровне установлены сходные с выявленными нами в миокарде у крыс и хомяков при гипометаболических состояниях особенности, а именно: дегенеративно-дистрофические изменения ткани миокарда; гиперемия крупных сосудов с характерным центральным расположением эритроцитов; кардиомиоциты с крупными светлыми ядрами (вероятно, стадии кариорексиса и кариолизиса).

Через 2 ч после выхода из ИГМ в миокарде у хомяков и крыс (рис. 4 и 5) выявлены артериальная и венозная гиперемия, тромбы в сосудах, ядра кардиомиоцитов на разных стадиях разрушения; признаки дистрофических изменений; увеличение периваскулярных и интерстициальных пространств. На этом этапе в ткани миокарда крыс также определялись безъядерная зона (зона некроза) и признаки, вероятно, альтернативного и интерстициального

thrombosis during hibernation, but remained in blood platelets preserve their properties. This thrombocytopenia is reversible and E.L. de Vrij *et al.* [8] believe it to be associated with the Tb fall and not result from reduced metabolic activity.

In addition, V.F. Kozlova and T.N. Yurchenko [20] also noted a decrease in blood coagulability and blood flow deceleration, reduction of myocardial hemomicrovascular bed in hibernating ground squirrels. At structural level we revealed the similar peculiarities in rat and hamster myocardium under hypometabolic states, such as: degenerative and dystrophic changes in myocardial tissue; hyperemia of large vessels with a distinctive central location of erythrocytes; cardiomyocytes with large light nuclei (karyorhexis and karyolysis stages, probably).

Two hours later arousal from AHM in hamster and rat myocardium (Figs. 4 and 5) we revealed arterial and venous hyperemia, blood thrombi in vessels, nuclei of cardiomyocytes at different stages of destruction; signs of dystrophic changes; increased perivascular and interstitial spaces. At this stage in rat myocardial tissue we have also found a nuclear-free zone (necrosis zone), and the signs of probably alterative and interstitial inflammation (Fig. 5), cardiomyocytes with large nuclei, being the sign of myocardial hypertrophy. This fact may be confirmed by the revealed by us increased content of total protein in rat heart tissue 2 hrs later arousal from AHM (Table). Of note is the fact that the total protein content in tissues correlated well with corresponding changes at a structural level. A similar feature was also observed when studying histological pattern in rat and hamster neocortex and hypothalamus under hypometabolic states [22]. D. Devici *et al.* [9] demonstrated the response to cooling in rats to be formed by hypertrophic type, and in hamsters by atrophic one. Myocardial hypertrophy is a compensatory-adaptive response, associated with a programmed response of all cell types, including cardiomyocytes. In histogenesis of cardiac muscle tissue no cambium occurs, therefore the regeneration of tissue proceeds on the basis of intracellular hyperplastic processes. The cardiomyocytes are known to be terminally-differentiated cells with an extremely limited capability to mitosis. However, the mammalian, primate and human cardiomyocytes are often polyploid. In addition, various kinds of stress, as well as the effect of extreme factors may stimulate both hypertrophy and proliferation of cardiomyocytes. Herewith the activation of DNA synthesis in cardiomyocytes may result in multinuclear cell formation [14, 32].

It should be noted that the found by us white granulation in cardiomyocytes 2 hrs after arousal from AHM (Figs. 4 and 5), except granular dystrophy signs, when the protein exchange and enzyme functioning are disordered, may also testify to the accumula-



воспаления (рис. 5), кардиомиоциты с большими ядрами, что является признаком гипертрофии миокарда. Подтверждением этому может быть выявленное нами увеличение содержания общего протеина в ткани сердца у крыс через 2 ч после выхода из ИГМ (таблица). Следует отметить, что содержание общего протеина в тканях хорошо коррелирует с соответствующими изменениями на структурном уровне. Сходная особенность была отмечена и при исследовании гистологической картины в неокортексе и гипоталамусе крыс и хомяков при гипометаболических состояниях [6]. В работе D. Devici и соавт. [20] было показано, что ответная реакция на охлаждение у крыс формируется по гипертрофическому типу, а у хомяков – по атрофическому. Гипертрофия миокарда – это компенсаторно-приспособительная реакция, связанная с запрограммированным ответом всех типов клеток, включая кардиомиоциты. В гистогенезе сердечной мышечной ткани камбий не возникает, поэтому регенерация ткани протекает на основе внутриклеточных гиперпластических процессов. Известно, что кардиомиоциты являются терминально-дифференцированными клетками с крайне ограниченной способностью к митозу. Вместе с тем для кардиомиоцитов млекопитающих, приматов и человека характерен процесс полиплоидизации. Кроме того, различные виды стресса, а также влияние экстремальных факторов могут стимулировать как гипертрофию, так и пролиферацию кардиомиоцитов. При этом активация синтеза ДНК в кардиомиоцитах может приводить к образованию многоядерной клетки [12, 25].

Следует отметить, что выявленная нами белая зернистость в кардиомиоцитах через 2 ч после выхода из ИГМ (рис. 4, 5), кроме признаков зернистой дистрофии, когда нарушается обмен протеинов и функционирование ферментов, может также указывать на накопление протеинов при физиологическом их синтезе. Так, Г.Ф. Жегуновым [3] было установлено, что интенсивность синтеза протеина у гибернирующих сусликов снижается на два порядка, но уже на начальных этапах выхода из спячки по мере восстановления ТТ скорость синтеза протеинов увеличивается в разы. Кроме того, во время гибернации и особенно при пробуждении в миоцитах сердца сусликов наряду с основными протеинами активируется синтез и некоторых специфических протеинов. При исследовании уровня общего протеина в ткани миокарда животных при ГМ нами не было выявлено значимых изменений, что, возможно, объясняется сбалансированностью процессов синтеза и распада. Однако на раннем этапе восстановления после ИГМ (через 2 ч) данный показатель был повышен как у крыс (на 50%), так и у хомяков (на 35%) (таблица).

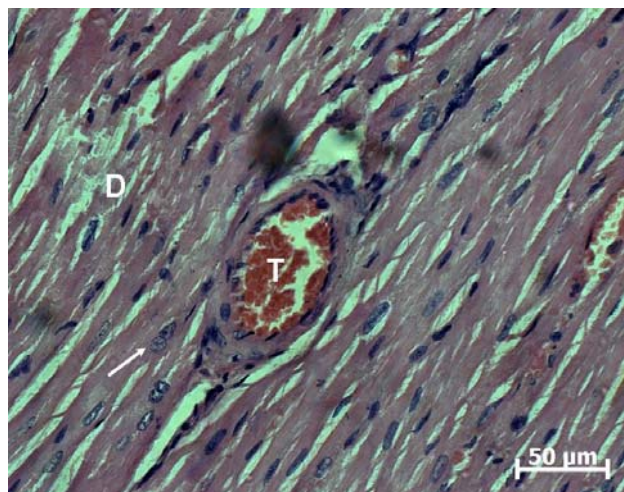


Рис. 4. Ткань миокарда хомяка через 2 ч после ИГМ: D – признаки дистрофии; T – тромб; стрелками указаны ядра кардиомиоцитов на различных стадиях некробиоза (кариопикноз, кариорексис, кариолизис). Окраска гематоксилином и эозином.

Fig. 4. Myocardial tissue of hamster 2 hrs after AHM: D is dystrophy signs; T is blood thrombus; arrows indicate cardiomyocyte nuclei at different necrobiosis stages (karyopyknosis, karyorhexis, karyolysis). H&E staining.

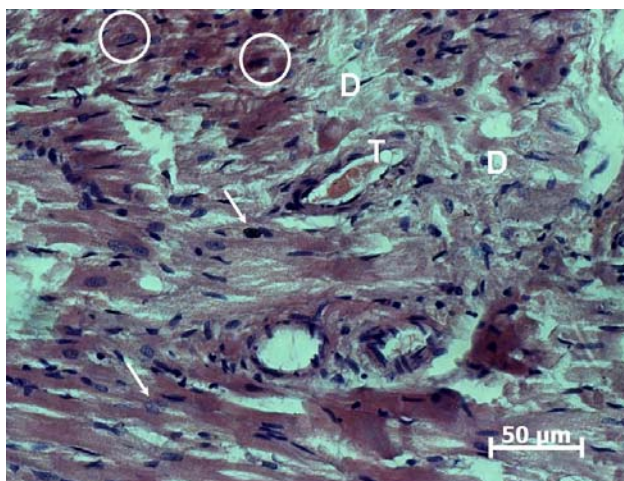


Рис. 5. Ткань миокарда крысы через 2 ч после ИГМ: D – признаки дистрофии; T – тромб; стрелками указаны ядра кардиомиоцитов на различных стадиях некробиоза (кариопикноз, кариорексис, кариолизис). Белым контуром обведены крупные ядра в кардиомиоцитах. Окраска гематоксилином и эозином.

Fig. 5. Myocardial tissue of rat 2 hrs after AHM: D is dystrophy signs; T is blood thrombus; arrows indicate cardiomyocyte nuclei at different necrobiosis stages (karyopyknosis, karyorhexis, karyolysis). White outlined large nuclei in cardiomyocytes. H&E staining.

tion of proteins under their physiological synthesis. For example, G.F. Zhegunov [39] established the fact that the intensity of protein synthesis in hibernating ground squirrels reduced by two orders, but even at the early arousal stages with the recovery of TB,



Ранее нами установлено, что как при ИГМ, так и на этапах восстановления (через 2 и 24 ч после выхода из гипометаболического состояния) в ткани сердца крыс происходит активация реакций ограниченного протеолиза – повышение общей протеолитической активности в разы (особенно через 2 ч) [11]. Вероятно, такая активация протеиназ способствует осуществлению необходимых перестроек в ткани миокарда крыс при ИГМ, поскольку сердце при входе и выходе из гипометаболического состояния претерпевает максимальные нагрузки. В то же время у хомяков при гибернации активация протеиназ в ткани сердца не наблюдалась [5].

Через 24 ч у хомяков после выхода из искусственного и естественного гипометаболизма (рис. 6, 7) в миокарде сохраняются гиперемия сосудов, увеличение периваскулярных и интерстициальных пространств, признаки дистрофии кардиомиоцитов, большое количество ядер на всех стадиях некробиоза. У хомяков через 24 ч после ЕГМ обнаружены тромбы в сосудах, безъядерные зоны некроза (рис. 7). У крыс через 24 ч после ИГМ гиперемия сосудов была более выражена, увеличение периваскулярных пространств и признаки дистрофии сохранялись, наблюдался стаз в капиллярах, тромбы в сосудах (рис. 8).

Таким образом, на всех этапах наблюдения у гетеро- и гомойотермных животных в гипометаболическом состоянии в структуре миокарда выявляются существенные изменения, проявляющиеся в увеличении в кардиомиоцитах количества ядер, находящихся на разных стадиях некробиоза,

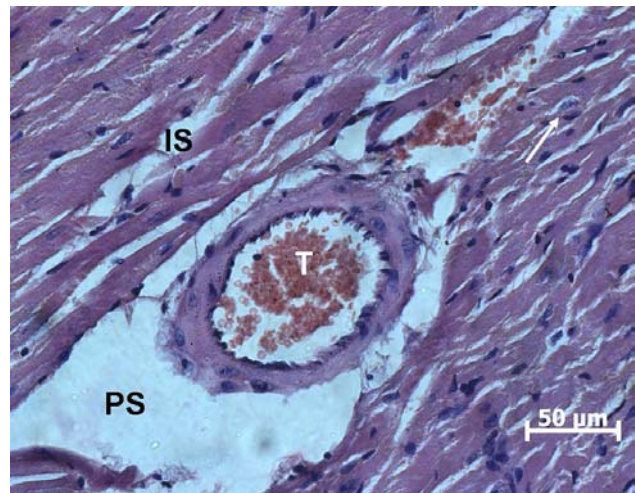


Рис. 6. Ткань миокарда хомяка через 24 ч после ИГМ: PS – периваскулярное пространство; IS – интерстициальное пространство; T – тромб; стрелками указаны ядра кардиомиоцитов на различных стадия некробиоза (кариопикноз, кариорексис, кариолизис). Окраска гематоксилином и эозином.

Fig. 6. Myocardial tissue of hamster 24 hrs after AHM: PS is perivascular space, IS defines interstitial space; T is blood thrombus; arrows indicate cardiomyocyte nuclei at different necrobiosis stages (karyopyknosis, karyorhexis, karyolysis). H&E staining.

the rate of protein synthesis increased significantly. Moreover, during hibernation and especially arousal in ground squirrel heart myocytes along with the main proteins the synthesis of certain specific proteins is activated as well. When studying the total protein level in myocardial tissue of animals at HM we have not found any significant changes that might be due to a balanced state of synthesis and decay. However, at an early recovery stage after AHM (2 hrs later), this index was increased both in rats (50%) and hamsters (35%) (Table).

Previously, we established the fact, that both under AHM, and at the recovery stages (2 and 24 hrs after arousal from hypometabolic state) in rat heart tissue there was occurred the activation of limited proteolysis reactions: a multifold increase in total proteolytic activity (especially 2 hrs after AHM) [33]. This activation of proteases probably contributes to implement the necessary rearrangements in rat myocardial tissue under AHM, since the heart undergoes the maximum loads when entering and arousal from the hypometabolic states. At the same time in hamsters during hibernation no proteinase activation in cardiac tissue was observed [21].

In hamsters 24 hrs after arousal from artificial and natural hypometabolism (Figs. 6 and 7) the vascular hyperemia, increased perivascular and interstitial spaces, signs of cardiomyocyte dystrophy, a large number of nuclei at all the stages of necrobiosis, are

Уровень общего протеина (мкг/мл) в ткани сердца при искусственном гипометаболизме, ($M \pm m$)
Total protein level ($\mu\text{g/ml}$) in heart tissue at artificial hypometabolism, ($M \pm m$)

Условия эксперимента Experimental conditions	Вид животного Animal	
	Крыса Rat	Хомяк Hamster
Контроль Control	2,669 \pm 0,931	1,249 \pm 0,096
ИГМ AHM	2,512 \pm 0,91	1,414 \pm 0,391
ИГМ 2 ч AHM 2 hrs	4,013 \pm 0,925*	1,698 \pm 0,138*
ИГМ 24 ч AHM 24 hrs	2,814 \pm 0,95	2,01 \pm 1,182

Примечание: * – различия значимы по сравнению с контролем, $p < 0,05$.

Note: * – differences are significant as compared to the control, $p < 0.05$.

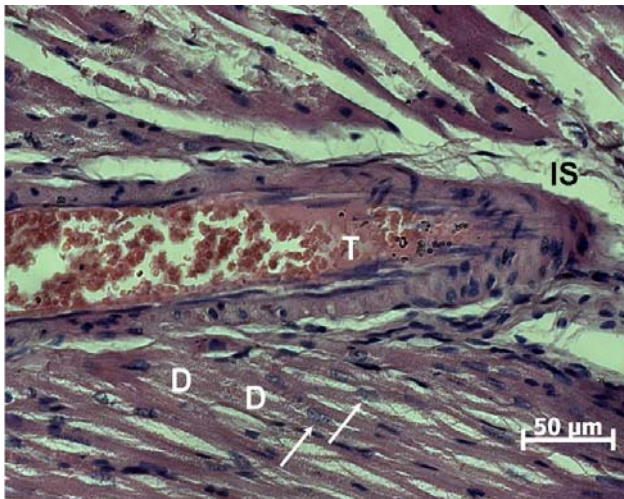


Рис. 7. Ткань миокарда хомяка через 24 ч после ЕГМ: D – признаки дистрофии; T – тромб; IS – интерстициальное пространство; стрелками указаны ядра кардиомиоцитов на различных стадиях некробиоза (кариопикноз, кариорексис, кариолизис). Окраска гематоксилином и эозином.

Fig. 7. Myocardial tissue of hamster 24 hrs after NHM: D is dystrophy signs; T is blood thrombus; IS defines interstitial space; arrows indicate cardiomyocyte nuclei at different necrobiosis stages (karyopyknosis, karyorhexis, karyolysis). H&E staining.

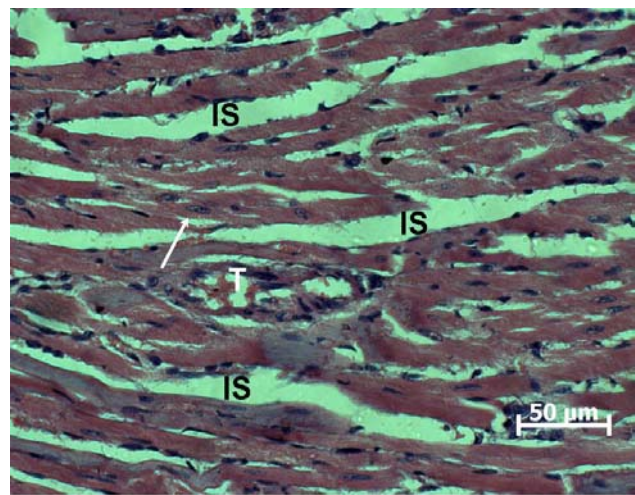


Рис. 8. Ткань миокарда крысы через 24 ч после ИГМ: T – тромб; IS – интерстициальное пространство; стрелками указаны ядра кардиомиоцитов на различных стадиях некробиоза (кариопикноз, кариорексис, кариолизис). Окраска гематоксилином и эозином.

Fig. 8. Myocardial tissue of rat 24 hrs after AHM: T is blood thrombus, IS defines interstitial space, arrows indicate cardiomyocytes nuclei at different necrobiosis stages (karyopyknosis, karyorhexis, karyolysis). H&E staining.

появлении дегенеративно-дистрофических изменений в кардиомиоцитах, гиперемии сосудов и образовании в них тромбов.

Известно, что для обеспечения гомеостаза и нормальной жизнедеятельности организма процессы некробиоза и апоптоза протекают в клетках непрерывно, а их активация способствует стимуляции физиологической регенерации.

По-видимому, выявленные нами изменения могут отражать различные фазы функциональной активности сердца, структурных перестроек и метаболических процессов в ткани миокарда и кардиомиоцитах крыс и хомяков при гипометаболических состояниях, что в конечном итоге обеспечивает выживаемость организма в целом. Поскольку известно, что у гетеро- и у гомойотермных животных сердце претерпевает максимальные нагрузки при погружении в гипометаболизм, а также на этапе восстановления ЧСС и ТТ для нормализации своей функциональной активности после выхода из гипометаболического состояния (через 2 и 24 ч).

Однако следует отметить, что указанные деструктивные изменения в ткани миокарда и через 24 ч сохранялись в полном объеме. Большая часть выявленных изменений после восстановления ТТ и нормализации кровообращения обратимы и носят компенсаторно-приспособительный характер.

preserved in myocardium. In hamsters 24 hrs after NHM we revealed blood thrombus in vessels, nuclear-free zones of necrosis (Fig. 7). In rats 24 hrs after AHM the vascular hyperemia was more pronounced, increased perivascular spaces and signs of dystrophy were kept, stasis in capillaries, thrombi in blood vessels were observed (Fig. 8).

Thus, at all the observation stages in hetero- and homeothermic animals under hypometabolic states there were revealed significant changes in myocardial structure, manifested by an increased number of nuclei in cardiomyocytes, being at different stages of necrobiosis, the appearance of degenerative and dystrophic changes in cardiomyocytes, vascular hyperemia and blood thrombus formation in them.

It is known that to provide homeostasis and a body's normal vital activity the necrobiosis and apoptosis proceed in cells continuously, and their activation contributes to a stimulation of physiological regeneration.

The changes we revealed might apparently reflect different phases of functional activity of heart, structural rearrangements and metabolic processes in myocardial tissue and cardiomyocytes in rats and hamsters under hypometabolic states, that finally provides an organism's survival in a whole. Since in hetero- and homeothermic animals the heart undergoes the maximum loads during entering hypometabolism and at the



Выводы

При достижении состояния ИГМ значительно снижалась ТТ (у крыс до $(17 \pm 1)^\circ\text{C}$, у хомяков до $(16 \pm 1)^\circ\text{C}$) и замедлялась ЧСС (у крыс до (99 ± 20) ударов/мин, у хомяков до (66 ± 16) ударов/мин). При ЕГМ у хомяков ТТ снижалась до $(8 \pm 1)^\circ\text{C}$, ЧСС – до 5–13 ударов/мин.

На структурном уровне в ткани миокарда при развитии как естественного, так и искусственного гипометаболизма отмечались сходные изменения: гиперемия вен, артерий и капилляров, тромбы в крупных сосудах, увеличение периваскулярных и интерстициальных пространств, признаки зернистой, гидропической и гиалиново-капельной дистрофий, появление в кардиомиоцитах большого количества ядер на разных стадиях некробиоза (кариопикноза, кариорексиса и кариолизиса). Кроме того, у крыс через 2 ч после выхода из ИГМ обнаруживались кардиомиоциты с большими ядрами, что является признаком гипертрофии миокарда. Отмеченные изменения сохранялись и через 24 ч после выхода животных из гипометаболизма.

Дальнейшие исследования будут направлены на изучение структурных изменений в тканях ЦНС и периферических органов при искусственном и естественном гипометаболизме у гетеро- и гомойотермных животных.

Авторы выражают благодарность ст.н.с., к.м.н. И.И. Кондакову за консультативную помощь при идентификации структурных изменений в ткани миокарда.

Литература

1. Баевский Р.М., Иванов Г.Г. Вариабельность сердечного ритма: теоретические аспекты и возможности клинического применения. – М., 2000. – 240 с.
2. Волкова О.В., Елецкий Ю.К. Основы гистологии и гистологической техники. – М.: Медицина, 1982. – 304 с.
3. Жегунов Г.Ф. Особенности адаптации сердца зимоспящих животных // Проблемы криобиологии. – 1993. – №3. – С. 21–33.
4. Козлова В.Ф., Юрченко Т.Н. Структурные аспекты адаптации зимоспящих животных // Проблемы криобиологии. – 1996. – №3. – С. 44–51.
5. Ломако В.В., Самохина Л.М., Шило О.В. Вплив природного і штучного гіпометаболізму на активність системи протеїназа-інгібітор протеїназ у хом'яків і шурів // Проблемы криобиологии. – 2011. – Т. 21, №3. – С. 280–290.
6. Ломако В.В., Шило А.В. Гистологическая картина в неокортексе и гипоталамусе гетеро- и гомойотермных животных при искусственном и естественном гипометаболизме // Проблемы криобиологии и криомедицины. – 2015. – Т. 25, №2. – С. 93–103.
7. Мельничук С.Д., Мельничук Д.О. Гіпобіоз тварин (молекулярні механізми та практичне значення для сільського господарства і медицини). – К., 2007. – 220 с.
8. Тимофеев Н.Н., Прокофьев Л.П. Нейрохимия гипобиоза и пределы криорезистентности организма. – М.: Медицина, 1997. – 208 с.

HR and TB recovery stage as well to normalize its functional activity after arousal from hypometabolic state (2 and 24 hrs later). However, it should be noted that the mentioned destructive changes in myocardial tissue even 24 hrs after hypometabolism were completely preserved. Most of the revealed changes after TB recovery and blood circulation normalization are reversible, having compensatory and adaptive nature.

Conclusions

When achieving the AHM state the TB significantly reduced (in rats and hamsters down to (17 ± 1) and $(16 \pm 1)^\circ\text{C}$, respectively), and HR decelerated (in rats and hamsters down to (99 ± 20) and (66 ± 16) beats/min, respectively). Under NHM in hamsters the TB and HR decreased down to $(8 \pm 1)^\circ\text{C}$ and 5–13 beats/min.

At a structural level in myocardial tissue under development of both natural and artificial hypometabolism there were noted the similar changes such as: hyperemia of veins, arteries and capillaries, blood thrombi in large vessels, increased perivascular and interstitial spaces, features of granular, hydropic and hyaline-drop dystrophies, the appearance in cardiomyocytes of a large number of nuclei at different stages of necrobiosis (karyopyknosis, karyorhexis and karyolysis). In addition, in rats 2 hrs later AHM there were revealed the cardiomyocytes with large nuclei, being a sign of myocardial hypertrophy. The noted changes persisted 24 hrs after animal arousal from hypometabolism.

Further researches will be directed to study the structural changes in tissues of CNS and peripheral organs under artificial and natural hypometabolisms in hetero- and homeothermic animals.

The authors gratefully acknowledge I.I. Kondakov, senior research fellow, Ph.D. for assisting in identification of structural changes in myocardial tissue.

References

1. Bayevsky R.M., Ivanov G.G. Heart rate variability: theoretical aspects and clinical application. Moscow; 2000.
2. Barros R.C. H., Abe A.S., Carnio E.C., Branco L.G.S. Regulation of breathing and body temperature of a burrowing rodent during hypoxic-hypercapnia. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 2004; 138(1): 97–104.
3. Blackstone E., Morrison M., Roth M.B. H₂S induces a suspended animation-like state in mice. *Science* 2005; 308(5721): 518.
4. Bouna H.R., Verhaag E.M., Otis J.P. et al. Induction of torpor: mimicking natural metabolic suppression for biomedical applications. *J Cell Physiol* 2012; 227(4): 1285–1290.
5. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72(7): 248–254.



9. Физиология кровообращения. Физиология крови. Серия: «Руководство по физиологии». – Л.: Наука, 1980. – 598 с.
10. Шило О.В. Зміна активності серця при штучному гіпо-метаболическому стані і виході з нього у гібернуючих і негібернуючих тварин // Науковий вісник НАУ. – 2008. – №126. – С. 81–87.
11. Шило А.В., Ломако В.В., Самохина Л.М., Бабийчук Г.А. Активность протеиназ и их ингибиторов при искусственном гипометаболическом состоянии у крыс // Проблемы криобиологии. – 2004. – №2. – С. 17–27.
12. Шляхто Е.В., Бокерия Л.А., Рыбакова М.Г. и др. Клеточные аспекты патогенеза гипертрофической кардиомиопатии: роль полиплоидии кардиомиоцитов и активации в миокарде ядерного антигена пролиферирующей клетки // Цитология. – 2007. – Т. 49, №10. – С. 817–823.
13. Barros R.C.H., Abe A.S., Carnio E.C., Branco L.G.S. Regulation of breathing and body temperature of a burrowing rodent during hypoxic-hypercapnia // Comp. Biochem. Physiol. Part A: Molecular & Integrative Physiology. – 2004. – Vol. 138, №1. – P. 97–104.
14. Blackstone E., Morrison M., Roth M.B. H₂S induces a suspended animation-like state in mice // Science. – 2005. – Vol. 308, №5721. – P. 518.
15. Bouna H.R., Verhaag E. M., Otis J. P. et al. Induction of Torpor: Mimicking Natural Metabolic Suppression for Biomedical Applications // J. Cell. Physiol. – 2012. – Vol. 227, Issue. 4. – P. 1285–1290.
16. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. – 1976. – Vol. 72, №7. – P. 248–254.
17. 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, №4. – P. 1153–1181.
18. Chatfield P.O., Lyman C.P. Circulatory changes during process of arousal in the hibernating hamsters // Am. J. Physiol. – 1950. – Vol. 163, №3. – P. 566–574.
19. de Vrij E. L., Vogelaar P. C., Goris M. et al. Platelet Dynamics during Natural and Pharmacologically Induced Torpor and Forced Hypothermia // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, №4. – e93218.
20. Deveci D., Egginton S. Differing mechanisms of cold-induced changes in capillary supply in m. tibialis anterior of rats and hamsters // J. Experim. Biology. – 2002. – Vol. 205, №6. – P. 829–840.
21. Dikic D., Heldmaier G., Meyer C.W. Induced torpor in different strains of laboratory mice. In: Hypometabolism in Animals: Torpor, Hibernation and Cryobiology / Ed. by B.G. Lovegrove, A.E. McKechnie. – Pietermaritzburg: University of KwaZulu-Natal, 2008. – P. 223–230.
22. Dickson B.A. Venous Thrombosis: On the History of Virchow's Triad // University of Toronto Medical Journal. – 2004. – Vol. 81, №3. – P. 166–171.
23. 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 Radic. Biol. Med. – 2001. – Vol. 31, №5. – P. 563–573.
24. Eagles D.A., Jacques L.B., Taboada J. et al. Cardiac arrhythmias during arousal from hibernation in three species of rodents // Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol. – 1988. – Vol. 254, №1. – P. 102–108.
25. Field L. Modulation of the cardiomyocyte cell cycle in genetically altered animals // Ann. N.-Y. Acad. Sci. – 2004. – Vol. 1015. – P. 160–170.
26. Heldmaier G., Ortmann S., Elvert R. Natural hypometabolism during hibernation and daily torpor in mammals // Respir. Physiol. Neurobiol. – 2004. – Vol. 141, №3. – P. 317–329.
27. Horwitz B.A., Chau S.M., Hamilton J.S. et al. Temporal relationships of blood pressure, heart rate, baroreflex function, and body temperature change over a hibernation bout in Syrian
6. Carey H.V., Andrews M.T., Martin S.L. Mammalian hibernation: cellular and molecular responses to depressed metabolism and low temperature. Physiol Rev 2003; 83(4): 1153–1181.
7. Chatfield P.O., Lyman C.P. Circulatory changes during process of arousal in the hibernating hamsters. Am J Physiol 1950; 163(3): 566–574.
8. de Vrij E.L., Vogelaar P.C., Goris M. et al. Platelet dynamics during natural and pharmacologically induced torpor and forced hypothermia. PLoS One 2014; 9(4): e93218.
9. Deveci D., Egginton S. Differing mechanisms of cold-induced changes in capillary supply in m. tibialis anterior of rats and hamsters. J Experim Biology 2002; 205(6): 829–840.
10. Dickson B.A. Venous thrombosis: on the history of Virchow's triad. University of Toronto Medical Journal 2004; 81(3): 166–171.
11. Dikic D., Heldmaier G., Meyer C.W. Induced torpor in different strains of laboratory mice. In: Lovegrove B.G., McKechnie A.E., editors. Hypometabolism in animals: torpor, hibernation and cryobiology. Pietermaritzburg: University of KwaZulu-Natal; 2008. p. 223–230.
12. 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 Radic Biol Med 2001; 31(5): 563–573.
13. Eagles D.A., Jacques L.B., Taboada J. et al. Cardiac arrhythmias during arousal from hibernation in three species of rodents. Am J Physiol 1988; 254(1): 102–108.
14. Field L. Modulation of the cardiomyocyte cell cycle in genetically altered animals. Ann N Y Acad Sci 2004; 1015: 160–170.
15. Heldmaier G., Ortmann S., Elvert R. Natural hypometabolism during hibernation and daily torpor in mammals. Respir Physiol Neurobiol 2004; 141(3): 317–329.
16. Horwitz B.A., Chau S.M., Hamilton J.S. et al. Temporal relationships of blood pressure, heart rate, baroreflex function, and body temperature change over a hibernation bout in Syrian hamsters. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2013; 305(7): R759–R768.
17. Jarsky T.M., Stephenson R. Effects of hypoxia and hypercapnia on circadian rhythms in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). J Appl Physiol 2000; 89(6): 2130–2138.
18. Johansson B.W. The hibernator heart-nature's model of resistance to ventricular fibrillation. Cardiovasc Res 1996; 31: 826–832.
19. Kuhn G., Wloch B., Wunnenberg W. Effects of acute hypoxia and/or hypercapnia on body temperatures and cold induced thermogenesis in the golden hamster. J Therm Biol 1987; 12(2): 103–107.
20. Kozlova V.F., Yurchenko T.N. Structural aspects of adaptation in hibernators. Problems of cryobiology 1996; (3): 44–51.
21. Lomako V.V., Samokhina L.M., Shylo O.V. Effect of natural and various artificial hypometabolism on activity of protease-inhibitor system in hamsters and rats. Problems of Cryobiology 2011; 21(3): 280–290.
22. Lomako V.V., Shylo A.V. Histological picture in neocortex and hypothalamus of homoio- and heterothermal animals under artificial and natural hypometabolism. Probl Cryobiol Cryomed 2015; (2): 93–103.
23. Lyman C.P., O'Brien R.C. Autonomic control of circulation during the hibernating cycle in ground squirrels. J Physiol (Lond) 1963; 168(3): 477–499.
24. Melnichuk C.D., Melnichuk D.O. Hypobiosis of animals (molecular mechanisms and practical implications for agriculture and medicine). Kyiv: Publishing Center NAU; 2007.
25. Mertens A., Stiedl O., Steinlechner S., Meyer M. Cardiac dynamics during daily torpor in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*). Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2008; 294(2): R639–R650.
26. Milsom W.K., Zimmer M.B., Harris M.B. Regulation of cardiac rhythm in hibernating mammals. Comp Biochem Physiol 1999; 124(4): 383–391.
27. Nielsen K., Owman C. Difference in cardiac adrenergic innervation between hibernators and non-hibernating mammals. Acta Physiol Scand Suppl 1968; 316: 1–30.



- hamsters // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2013. – Vol. 305, №7. – P. R759–R768.
28. Jarsky T.M., Stephenson R. Effects of hypoxia and hypercapnia on circadian rhythms in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*) // *J. Appl. Physiol.* – 2000. – Vol. 89, №6. – P. 2130–2138.
 29. Johansson B.W. The hibernator heart-nature's model of resistance to ventricular fibrillation // *Cardiovasc. Res.* – 1996. – Vol. 31. – P. 826–832.
 30. Kuhnen G., Wloch B., Wunnenberg W. Effects of acute hypoxia and/or hypercapnia on body temperatures and cold induced thermogenesis in the golden hamster // *J. Therm. Biol.* – 1987. – Vol. 12, №2. – P. 103–107.
 31. Lyman C.P., O'Brien R.C. Autonomic control of circulation during the hibernating cycle in ground squirrels // *J. Physiol. (Lond.)* – 1963. – Vol. 168, №3. – P. 477–499.
 32. Mertens A., Stiedl O., Steinlechner S., Meyer M. Cardiac dynamics during daily torpor in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*) // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2008. – Vol. 294, №2. – P. R639–R650.
 33. Milsom W.K., Zimber M.B., Harris M.B. Regulation of cardiac rhythm in hibernating mammals // *Comp. Biochem. Physiol.* – 1999. – Vol. 124, №4. – P. 383–391.
 34. Nielsen K., Owman C. Difference in cardiac adrenergic innervation between hibernators and non-hibernating mammals // *Acta Physiol Scand Suppl.* – 1968. – Vol. 316. – P. 1–30.
 35. Reil J.-C., Custodis F., Swedberg K. et al. Heart rate reduction in cardiovascular disease and therapy // *Clin. Res. Cardiol.* – 2011. – Vol. 100, №1. – P. 11–19.
 36. Phillips P.K., Heath J.E. Comparison of surface temperature in 13-lined ground squirrel (*Spermophilus tridecemlineatus*) and yellow-bellied marmot (*Marmota flaviventris*) during arousal from hibernation // *Comp. Biochem. Physiol. – P.A: Molecular & Integrative Physiology.* – 2004. – Vol. 138, Issue 4. – P. 451–457.
 37. Polderman K.H., Herold I. Therapeutic hypothermia and controlled normothermia in the intensive care unit: practical considerations, side effects, and cooling methods // *Crit. Care Med.* – 2009. – Vol. 37, №3. – P. R1101–R1120.
 38. Shylo O.V., Lomako V.V., Babychuk G.O. Artificial hibernation-caused cardiac arrhythmia in homoio- and heterothermal animals // *Кардиология Узбекистана.* – 2016. – №1–2 (39–40). – С. 271–272.
 39. Swoap S.J., Gutilla M.J. Cardiovascular changes during daily torpor in the laboratory mouse // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2009. – Vol. 297, Issue 3. – P. R769–R774.
 28. Phillips P.K., Heath J.E. Comparison of surface temperature in 13-lined ground squirrel (*Spermophilus tridecemlineatus*) and yellow-bellied marmot (*Marmota flaviventris*) during arousal from hibernation. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology* 2004; 138(4): 451–457.
 29. Physiology of circulation. *Physiology of blood.* In a series: *Physiology Guide.* Leningrad: Nauka; 1980.
 30. Polderman K.H., Herold I. Therapeutic hypothermia and controlled normothermia in the intensive care unit: practical considerations, side effects, and cooling methods. *Crit Care Med* 2009; 37(3): R1101–R1120.
 31. Reil J.-C., Custodis F., Swedberg K. et al. Heart rate reduction in cardiovascular disease and therapy. *Clin Res Cardiol* 2011; 100(1): 11–19.
 32. Shlyakhto E.V., Bokeria L.A., Rybakova M.G. et al. Cellular aspects of pathogenesis of hypertrophic cardiomyopathy: the role of cardiomyocyte polyploidy and activation of proliferating cell nuclear antigen in the myocardium. *Tsitologiya* 2007; 49(10): 817–823.
 33. Shylo A.V., Lomako V.V., Samokhina L.M., Babychuk G.A. Proteinases and its inhibitors activity at artificial hypometabolic state in rats. *Problems of Cryobiology* 2004; (2): 17–27.
 34. Shylo O.V. Change of heart activity at artificial hypometabolic state and in the course of arousal in hibernators and non-hibernators. *Naukovyy Visnyk NAU* 2008; (126): 81–87.
 35. Shylo O.V., Lomako V.V., Babychuk G.O. Artificial hibernation-caused cardiac arrhythmia in homoio- and heterothermal animals. *Cardiology of Uzbekistan* 2016; 1–2 (39–40): 271–272.
 36. Swoap S.J., Gutilla M.J. Cardiovascular changes during daily torpor in the laboratory mouse. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009; 297 (Issue 3): R769–R774.
 37. Timofeyev N.N., Prokof'eva L.P. *Neurochemistry of hypobiosis and limits of organism cryoresistance.* Moscow: Meditsina; 1997.
 38. Volkova O.V., Eletskiy Yu.K. *Fundamentals of histology and histological techniques.* Moscow: Meditsina; 1982.
 39. Zhegunov G.F. Adaptation peculiarities of hibernators' heart. *Problems of Cryobiology* 1993; (3): 21–33.