

Список литературы / References:

1. Yamane Y., Kashino Y., Koike H., Satoh K. Effects of high temperatures on the photosynthetic systems in spinach: oxygen-evolving activities, fluorescence characteristics and the denaturation process. *Photosynth. Res.*, 1998, vol. 57, pp. 51-59.
2. Busheva M., Tzonova I., Stoitchkova K., Andreeva A. Heat-induced reorganization of the structure of photosystem II membranes. Role of oxygen evolving complex. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 2012, vol. 117, pp. 214-221.
3. Enami I., Kitamura M., Tomo T., Isokawa Y., Ohta H., Katoh S. Is the primary cause of thermal inactivation of oxygen evolution in spinach PS II membranes release of the extrinsic protein or of Mn? *Biochim. Biophys. Acta*, 1994, vol. 1186, pp. 52-58.
4. Pospisil P., Tuystjarvi E. Molecular mechanism of high-temperature induced inhibition of acceptor side of photosystem II. *Photosynth. Res.*, 1999, vol. 62, pp. 55-66.
5. Ghanotakis D.F., Babcock G.T., Yocum C.F. Calcium reconstitutes high rates of oxygen evolution in polypeptide depleted photosystem II preparations. *FEBS Lett.*, 1984, vol. 167, pp. 127-130.
6. Dunahay T.G., Staechelin L.A., Seibert M., Ogilvie P.D., Berg S.P. Structural biochemical and biophysical characterization of four oxygen-evolving Photosystem 2 preparations from spinach. *Biochim. Biophys. Acta*, 1984, vol. 764, pp. 179-193.
7. Armstrong J.M. The molar extinction coefficient of 2,6-dichlorophenolindophenol. *Biochim. Biophys. Acta*, 1964, vol. 86, pp. 194-197.
8. Vass I., Styring S. pH-Dependent charge equilibria between tyrosine-D and the S states in photosystem II. Estimation of relative midpoint redox potentials. *Biochemistry*, 1991, vol. 30, pp. 830-839.
9. Schiller H., Dau H. Preparation protocols for high-activity photosystem II membrane particles of green algae and higher plants, pH dependence of oxygen evolution and comparison of the S₂-state multiline signal by X-band EPR spectroscopy *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 2000, vol. 55, pp. 138-144.
10. Commet A., Boswell N., Yocum C.F., Popelka H. pH optimum of the Photosystem II H₂O oxidation reaction: effects of PsbO, the manganese-stabilizing protein, Cl⁻ retention, and deprotonation of a component required for O₂ evolution activity. *Biochemistry*, 2012, vol. 51, pp. 3808-3818.
11. Semin B.K., Davletshina L.N., Ivanov I.I., Rubin A.B., Seibert M. Decoupling of the processes of molecular oxygen synthesis and electron transport in Ca²⁺-depleted PSII membranes. *Photosynth. Res.*, 2008, vol. 98, pp. 235-249.
12. Semin B.K., Davletshina L.N., Timofeev K.N., Ivanov I.I., Rubin A.B., Seibert M. Production of reactive oxygen species in decoupled, Ca²⁺-depleted PSII and their use in assigning a function to chloride on both sides of PSII. *Photosynth. Res.*, 2013, vol. 117, pp. 385-399.
13. Shen J.R., Inoue Y. Low pH-induced dissociation of three extrinsic proteins from O₂-evolving Photosystem II. *Plant Cell Physiol.*, 1991, vol. 32(3), pp. 453-457.
14. Umena Y., Kawakami K., Shen J.-R., Kamiya N. Crystal structure of oxygen evolving Photosystem II at a resolution of 1.9 Å. *Nature*, 2011, vol. 473, pp. 55-60.
15. Homann P.H. The chloride and calcium requirement of photosynthetic water oxidation: effects of pH. *Biochim. Biophys. Acta*, 1988, vol. 93, pp. 1-13.
16. Briantais J.M., Vernotte C., Lavergne J., Arntzen C.J. Identification of S₂ as the sensitive state to alkaline photoinactivation of Photosystem II in chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta*, 1977, vol. 461, pp. 61-74.
17. Schlodder E., Meyer B. pH dependence of oxygen evolution and reduction kinetics of photooxidized chlorophyll a_П (P-680) in Photosystem II particles from *Synechococcus sp.* *Biochim. Biophys. Acta*, 1987, vol. 890, pp. 23-31.

ВЛИЯНИЕ ГИПЕРТЕРМИИ И ИММОБИЛИЗАЦИИ НА ДЕФОРМИРУЕМОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ У КРЫС

Дигурова И.И.

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова

ул. Островитянова, 1, г. Москва, РФ

e-mail: digurova56@mail.ru

Аннотация. На экспериментальной модели 30-минутной гипертермии и 12-часовой иммобилизации у крыс проанализировано изменение индекса деформируемости эритроцитов. Направления изменений этого показателя под влиянием экстремального воздействия зависят от значений, наблюдающихся до стресса.

Ключевые слова: экспериментальный стресс, иммобилизация, гипертермия, крысы, адаптация, деформируемость эритроцитов.

AN INFLUENCE HYPERTHERMIA AND IMMOBILIZATION ON ERYTHROCYTE DEFORMABILITY AT RATS

Digurova I.I.

Pirogov Russian National Research Medical University
Ostrovitianov str. 1, Moscow, Russia

Abstract. On the experimental model of 30-minute hyperthermia and 12-hour immobilization at rats analysis of erythrocyte deformability was studied. The direction of the index of erythrocyte deformability change under stress influence depends on the values of this parameter to stress.

Key words: experimental stress, immobilization, hyperthermia, a rat, adaptation, deformability of erythrocytes.

Изучение процессов адаптации организма к действию экстремальных факторов различного генеза является одной из актуальных задач физиологии и практической медицины. Общебиологическое значение имеет исследование изменений, происходящих в организме при вынужденной иммобилизации, так как это состояние сопутствует длительному лечению тяжелообольных, проведению экспериментов на животных, сопровождается содержанием их в клетках. Ограничение подвижности вызывает у крыс выраженную стресс-реакцию, причем изменения, характерные для стресса, преобладают над нарушениями, связанными со снижением двигательной активности [1]. Особое место среди неблагоприятных факторов внешней среды занимает высокая температура. С ее действием людям приходится встречаться довольно часто: при работе в горячих цехах, спасательных или аварийных работах, проживании в некоторых климатических зонах, теплелечении.

При действии экстремальных факторов различного генеза происходят изменения реологических показателей крови [1-7], что может привести к нарушениям кровотока на уровне сосудов микроциркуляции [8]. Ухудшение снабжения тканей кислородом связано со снижением индекса деформируемости эритроцитов. Гемореологические механизмы адаптационных и компенсаторных реакций организма требуют дальнейших исследований.

В связи с вышеизложенным, целью работы явился анализ изменений деформируемости эритроцитов при экстремальных воздействиях различного генеза (12-часовом ограничении подвижности и 30-минутной гипертермии) у крыс. В работе проведен анализ данных, полученных нами в острых опытах на белых беспородных половозрелых крысах-самцах, содержащихся в стандартных условиях вивария, не адаптированных к стрессу и не наркотизированных. Изучение гемореологических показателей при стрессах проводилось с помощью микрометодов, что позволило изучать гемореологические изменения в динамике на одних и тех же животных [9]. Забор крови из хвостовой вены производился у каждой крысы до воздействия стрессового фактора и сразу после его окончания. Образцы крови стабилизировались микродозами гепарина (10 ед/мл).

Иммобилизационный стресс у крыс вызывали помещением их на 12 часов в пластиковые клетки-футляры. Перегревание проводилось в термошкафу при температуре $+42\pm 43$ °C в течение 30 минут. При этом ректальная температура повысилась в среднем по группе на $2,3$ °C по сравнению с соответствующим контролем.

Способность эритроцитов к деформации оценивали по скорости фильтрации их суспензии в физиологическом растворе с гематокритным показателем, равным 2%. Фильтрация осуществлялась через фильтры с диаметром пор 2-4,5 мкм. Индекс деформируемости эритроцитов (ИДЭ) рассчитывали по отношению времени фильтрации физиологического раствора ко времени фильтрации суспензии. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета «OpenOffice.org». Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение.

Результаты исследования гемореологических показателей при 12-часовой иммобилизации и 30-минутной гипертермии свидетельствовали, что индекс деформируемости эритроцитов в среднем по группам не изменялся статистически значимо по сравнению с данными, полученными до опыта (см. таблицы 1 и 2). При анализе данных, однако, было выявлено как повышение, так и снижение индекса деформируемости эритроцитов.

Таблица 1 – Изменения гемореологических показателей при 12-часовой иммобилизации (n=18)

| Показатели | До стресса | После стресса |
|--------------|------------|---------------|
| ИДЭ, отн.ед. | 0,45±0,06 | 0,47±0,08 |

Таблица 2 – Изменения гемореологических показателей при 30-минутной гипертермии (n=26) *

| Показатели | До стресса | После стресса |
|--------------|------------|---------------|
| ИДЭ, отн.ед. | 0,37±0,05 | 0,41±0,04 |

*-экспериментальные данные получены совместно с Каревой Ю.В.

Для оценки результатов при каждом виде стрессового воздействия животные были вначале разделены на две подгруппы в зависимости от направления отмеченных изменений. Затем крысы были разделены на две

подгруппы по исходным данным. В подгруппу 1А вошли животные, у которых наблюдалось снижение индекса деформируемости после иммобилизации или перегревания. В подгруппу 2А вошли крысы, у которых в результате стрессового воздействия отмечалось повышение исследуемого показателя. В подгруппы 1Б и 2Б вошли крысы, у которых значения индекса деформируемости были соответственно меньше или больше установленной для нормы медианы, равной 0,43 отн.ед.

Гипертермия в течение 30 минут. Данные представлены в таблицах 3 и 4. У крыс подгруппы 1А (55% животных) исследуемый показатель увеличился в среднем на 52% ($p < 0,02$) по сравнению с контрольным уровнем. Среднее исходное значение в этой подгруппе составило 0,30 отн.ед. У животных подгруппы 2А (45% животных) отмечено снижение индекса деформируемости эритроцитов в среднем на 35% ($p < 0,05$) по сравнению с соответствующим контролем. При этом среднее исходное значение у крыс этой подгруппы составляло около 0,50 отн.ед.

Таблица 3 – Изменение индекса деформируемости эритроцитов при гипертермии у крыс подгруппы 1А

| Показатель | До стресса | После стресса |
|--------------|-------------|---------------|
| ИДЭ, отн.ед. | 0,31 ± 0,05 | 0,46 ± 0,05* |

Примечание: *- $p < 0,02$

Таблица 4 – Изменение индекса деформируемости эритроцитов при гипертермии у крыс подгруппы 2А

| Показатель | До стресса | После стресса |
|--------------|-------------|---------------|
| ИДЭ, отн.ед. | 0,49 ± 0,06 | 0,32 ± 0,04* |

Примечание: *- $p < 0,05$

Результаты представлены в таблицах 5 и 6. У животных подгруппы 1Б (45% крыс) после стрессового воздействия отмечено увеличение индекса деформируемости эритроцитов вдвое ($p < 0,02$). В подгруппе 2Б (55% крыс) отмечено уменьшение этого показателя в среднем на 29% ($p < 0,05$) по сравнению с соответствующим контролем.

Таблица 5 – Изменение индекса деформируемости эритроцитов при гипертермии у крыс подгруппы 1Б

| Показатель | До стресса | После стресса |
|--------------|-------------|---------------|
| ИДЭ, отн.ед. | 0,24 ± 0,06 | 0,48 ± 0,06* |

Примечание: *- $p < 0,02$

Таблица 6 – Изменение индекса деформируемости эритроцитов при гипертермии у крыс подгруппы 2Б

| Показатель | До стресса | После стресса |
|--------------|-------------|---------------|
| ИДЭ, отн.ед. | 0,49 ± 0,03 | 0,35 ± 0,04* |

Примечание: *- $p < 0,05$

Следовательно, независимо от способа формирования подгрупп получены результаты, свидетельствующие, что индекс деформируемости эритроцитов после стрессовых воздействий различного генеза статистически значимо изменялся: возрастал при низких исходных цифрах (ниже установленной ранее медианы) и снижался – при высоких.

Иммобилизация в течение 12 часов. Данные, представленные в таблицах 7 и 8, свидетельствуют о следующем. У 50% крыс (подгруппа 1А) выявлено снижение индекса деформируемости на 55% ($p < 0,001$) при среднем контрольном уровне этого показателя 0,56 отн. ед. У остальных 50% животных (подгруппа 2А) отмечено повышение индекса деформируемости эритроцитов в среднем на 109% ($p < 0,05$). Среднее исходное значение в этой подгруппе было равно 0,33 отн. ед.

Таблица 7 – Изменение индекса деформируемости эритроцитов в подгруппе 1А при 12-часовой иммобилизации

| Показатель | До стресса | После стресса |
|--------------|-------------|---------------|
| ИДЭ, отн.ед. | 0,56 ± 0,05 | 0,25 ± 0,05* |

Примечание: *- $p < 0,001$

Таблица 8 – Изменение индекса деформируемости эритроцитов в подгруппе 2А при 12-часовой иммобилизации

| Показатель | До стресса | После стресса |
|--------------|-------------|---------------|
| ИДЭ, отн.ед. | 0,33 ± 0,08 | 0,69 ± 0,07* |

Примечание: *- $p < 0,05$

Результаты представлены в таблицах 9 и 10. В подгруппе 1Б (50 % животных) отмечена тенденция к увеличению индекса деформируемости эритроцитов ($p=0,08$) по сравнению с результатами, полученными до опыта. У остальных 50 % животных, входящих в подгруппу 2Б, после воздействия исследуемый показатель

уменьшился в среднем на 42 % ($p < 0,05$) по сравнению с соответствующим контролем.

Таблица 9 – Изменение индекса деформируемости эритроцитов в подгруппе 1Б при 12-часовой иммобилизации

| Показатель | До стресса | После стресса |
|--------------|-----------------|-------------------|
| ИДЭ, отн.ед. | $0,31 \pm 0,05$ | $0,60 \pm 0,10^*$ |

Примечание: *- $p=0,08$

Таблица 10 – Изменение индекса деформируемости эритроцитов в подгруппе 2Б при 12-часовой иммобилизации

| Показатель | До стресса | После стресса |
|--------------|-----------------|-------------------|
| ИДЭ, отн.ед. | $0,60 \pm 0,03$ | $0,35 \pm 0,09^*$ |

Примечание: *- $p < 0,05$;

Аналогичные закономерности, расцененные нами как адаптационные, были получены и при других видах стрессорных воздействий [10,11], а также при анализе данных других авторов [5]. Таким образом, можно предположить, что изменения исследуемого показателя были направлены на оптимизацию кровотока в экстремальных условиях.

Заключение.

Вынужденное 12-часовое ограничение подвижности и 30-минутная гипертермия вызывают у крыс адаптационные изменения деформируемости эритроцитов.

Список литературы / References:

1. Федоров Б.М. *Стресс и система кровообращения*. М.: Медицина, 1991, 320 с. [Fedorov B.M. *Stress and circulation system*. Moscow: Meditsina, 1991, 320 p. (In Russ.)]
2. Дигурова И.И. Анализ гемореологического статуса при 12-часовой иммобилизации у крыс. *Вестник КрасГАУ*, 2011, № 4, с. 115-117. [Digurova I.I. Blood rheology after twelve-hours-long immobilization in rat. *Vestnik KrasGAU*, 2011, no. 4, pp. 115-117. (In Russ.)]
3. Марьянских В.В. *Исследование вязкоэластичных свойств мембран эритроцитов беспородных белых крыс с различным уровнем двигательной активности в ответ на стрессы различной этиологии и оценка деформируемости эритроцитов людей с гипертензией*. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук, Тюмень, 2007, 121 с. [Mar'inskikh V.V. *Erythrocyte membrane viscosity in stressed rat and erythrocyte deformability in hypertensive human*. Avtoref. diss. ... k. biol. s., Tyumen', 2007, 21 p. (In Russ.)]
4. Федорова М.З. *Функциональные свойства и реактивности лейкоцитов крови при измененных состояниях организма, вызванных факторами различной природы*: Дисс. ... докт. биол. наук, Ярославль, 2002, 296 с. [Fedorova M.Z. *Leucocyte reaction under various factor influence*: Diss. ... d. biol. s., Yaroslavl, 2002, 296 p. (In Russ.)]
5. Erken G., Erken H.A., Bor-Kucukatay M., Kucukatay V., Genc O. The effects of in vivo and ex vivo various degrees of cold exposure on erythrocyte deformability and aggregation. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2010, vol. 45, no. 2-4, pp. 263-267.
6. Teleglow A., Bilaki J., Dabrowsky Z., Marchewka A., Jaskiewich J., Gluda-Argasinska J., Glodzik J., Tabarowski Z., Lizak D. The effects of exercise in water at 4 °C and 25 °C on the rheological properties of blood and the composition of fatty acids in the erythrocyte membranes of laboratory rats. *Clin. Hemorheol. Microcirc*, 2012, vol. 51, no. 2, pp. 139-148.
7. Teleglow A., Dabrowsky Z., Marchewka A., Tika A., Krawczyk J., Glodzik J., Szegula Z., Mliczko E., Bilski J., Tika A., Tabarowski Z., Czepiel J., Filar-Mierzwa K. The influence of winter swimming on the rheological properties of blood. *Clin. Hemorheol. Microcirc*, 2014, P. 27.
8. Pries A.R., Secomb T. Rheology of microcirculation. *Clin. Hemorheol. and microcirc*, 2003, vol. 29, pp. 143-148.
9. Дигурова И.И., Гушин А.Г. Исследование макрореологических показателей крови при разных стрессах у крыс с помощью микрометодов. *Вестник Костромского государственного университета им. Н.А. Некрасова*, 2006, т. 12, с. 6-8. [Digurova I.I., Gushchin A.G. Micromethods for blood macrorheology evaluation in stressed rat. *Vestnik Kostromskogo gosudarstvennogo universiteta im. N.A.Nekrasova*, 2006, vol. 12, pp. 6-8. (in Russ.)]
10. Дигурова И.И., Ноздрачев А.Д., Гагарин В.В., Гушин А.Г., Карева Ю.В. Оценка микроциркуляторных изменений при воздействии некоторых экстремальных факторов. *Вестник СПбГУ*, серия 3, 2007, с. 65-73. [Digurova I.I. Nozdrachev A.D., Gagarin V.V., Gushchin A.G., Kareva Yu.V. Microcirculation changes under some extreme agent influence. *Vestnik SPbGU*, iss. 3, 2007, pp. 65-73. (In Russ.)]
11. Дигурова И.И., Гушин А.Г. Анализ гемореологического статуса и функции крови при ортостатическом стрессе у крыс. *Ярославский педагогический вестник*, 2011, т. 3, № 1, с. 98-100. [Digurova I.I., Gushchin A.G. Blood rheology & function in acute orthostatic stress in rats. *Yaroslavskiy pedagogicheskiy vestnik*, 2011, vol. 3, no. 1, pp. 98-100. (In Russ.)]