

Оригинальная статья / Original article

УДК: 577.3

DOI: 10.18470/1992-1098-2026-1-5



Популяционный состав эритроцитов как индикатор адаптации зимоспящего млекопитающего к неблагоприятным факторам окружающей среды

Магомедрасул Б. Саидов¹, Альбина М. Джафарова¹, Ислам А. Ахмедов²¹Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия²Дагестанский государственный медицинский университет, Махачкала, Россия

Контактное лицо

Магомедрасул Б. Саидов, кандидат биологических наук, доцент, кафедра биохимии и биофизики, Дагестанский государственный университет; 367000 Россия, г. Махачкала, ул. М.Гаджиева, 43а.
Тел. +79288004351

Email smagras@mail.ruORCID <https://orcid.org/0009-0005-3272-1712>

Формат цитирования

Саидов М.Б., Джафарова А.М., Ахмедов И.А. Популяционный состав эритроцитов как индикатор адаптации зимоспящего млекопитающего к неблагоприятным факторам окружающей среды // Юг России: экология, развитие. 2026. Т.21, N 1. С. 47-55.
DOI: 10.18470/1992-1098-2026-1-5

Получена 2 сентября 2025 г.

Прошла рецензирование 24 октября 2025 г.

Принята 25 декабря 2025 г.

Резюме

Целью является исследование популяционного состава эритроцитов крови сусликов в период глубокой спячки и на разных этапах согревания при индуцированном пробуждении.

Исследования были выполнены на малых сусликах *Spermophilus rugtmaeus* Pall. Для эксперимента использовали бодрствующих животных (контроль), находящихся в середине баута глубокой спячки и на различных этапах индуцированного пробуждения (с температурой тела 15 °С, 25 °С, 37 °С). Для оценки популяционного состава эритроцитов применили метод кислотных эритрограмм.

В период гибернации зафиксировано увеличение количества эритроцитов, претерпевших сфероцитарную трансформацию с одновременным ростом доли высокостойких и сверхвысокостойких клеток. Пробуждение и повышение температуры тела сусликов до 15°С способствует снижению содержания эритроцитов с низкой и средней устойчивостью по сравнению с состоянием бодрствования. Согревание сусликов до 25 °С характеризуется более высоким, по сравнению со всеми состояниями животных, содержанием подвергшихся сферуляции и пониженностойких эритроцитов. При этом популяция высокорезистентных эритроцитов, напротив, демонстрирует значительное снижение относительно предыдущих этапов исследования. Уровень сверхвысокорезистентных клеток остается достаточно высоким по сравнению с зимним контролем. Достижение температуры тела животного 37 °С не приводит к полной нормализации популяционного состава эритроцитов.

В цикле спячка-пробуждение популяционный состав эритроцитов претерпевает значительные изменения, которые могут быть обусловлены как изменениями в системе эритрона, так и структурными модификациями эритроцитарных мембран, меняющими их чувствительность к гемолитикам.

Ключевые слова

Малый суслик, зимняя спячка, популяции эритроцитов, самосогревание, гемолиз, эритрограмма.

The population composition of erythrocytes as an indicator of adaptation of a hibernating mammal to unfavourable environmental factors

Magomedrasul B. Saidov¹, Albina M. Dzhafarova¹ and Islam A. Akhmedov²

¹Dagestan State University, Makhachkala, Russia

²Dagestan State Medical University, Makhachkala, Russia

Principal contact

Magomedrasul B. Saidov, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Department of Biology, Dagestan State University; 43a M. Gadzhieva St, Makhachkala, Russia 367000. Tel. +79288004351
Email smagras@mail.ru
ORCID <https://orcid.org/0009-0005-3272-1712>

How to cite this article

Saidov M.B., Dzhafarova A.M., Akhmedov I.A. The population composition of erythrocytes as an indicator of adaptation of a hibernating mammal to unfavourable environmental factors. *South of Russia: ecology, development*. 2026; 21(1):47-55. (In Russ.) DOI: 10.18470/1992-1098-2026-1-5

Received 2 September 2025

Revised 24 October 2025

Accepted 25 December 2025

Abstract

This study aimed to investigate the population composition of erythrocytes in ground squirrels during deep hibernation and at various stages of rewarming upon induced arousal.

The study was conducted on little ground squirrels (*Spermophilus pygmaeus* Pall.). Experiments were performed on awake animals (control), animals in the middle of a deep hibernation bout, and in various stages of induced arousal (with body temperatures of 15 °C, 25 °C, and 37 °C). The population composition of erythrocytes was assessed using the acid erythrogram method.

During hibernation, an increase was observed in the number of erythrocytes undergoing spherocytic transformation, accompanied by a rise in the proportion of highly-resistant and ultra-highly resistant cells. Arousal and an increase in body temperature to 15 °C led to a decrease in the proportion of erythrocytes with low and medium resistance compared to the arousal state. Rewarming of ground squirrels to 25 °C was characterised by a higher content of spherulated and low-resistance erythrocytes compared to all other states. Conversely, the population of highly resistant erythrocytes showed a significant decrease relative to the previous stages of the study. The level of ultra-highly resistant cells remained relatively high compared to the winter control. Achieving a body temperature of 37 °C did not result in complete normalisation of the erythrocyte population composition.

During the hibernation–arousal cycle, the population composition of erythrocytes undergoes significant changes. These may be attributed both to alterations within the erythron system and to structural modifications of erythrocyte membranes, which change their sensitivity to hemolytic agents.

Key Words

Little ground squirrel, hibernation, erythrocyte populations, self-warming, hemolysis, erythrogram.

ВВЕДЕНИЕ

Зимняя спячка – уникальный механизм, выработавшийся в процессе эволюции у многих млекопитающих животных для преодоления зимней бескормицы и низкой температуры окружающей среды, путем обратной минимизации метаболизма и других физиологических важных функций, таких как температура тела, частота сердечных сокращений и др. [1]. Однозначно, спячка – это не пассивный процесс снижения температуры тела, а скорее сложный, многоуровневый процесс, который регулируется на молекулярном, клеточном и организменном уровнях. В обширной литературе подробно освещены многие вопросы окислительно-восстановительной биологии, приводятся результаты анализа лейкоцитов и тромбоцитов, уделено внимание исследованию деформируемости эритроцитов, изучению морфологии красных клеток крови, а также обсуждаются особенности эритропоэза у разных гибернарующих животных в торпидном состоянии и в состоянии бодрствования в разные сезоны года. Исследования показали, что при искусственном выведении сусликов из спячки, концентрация мочевой кислоты и белков, подвергшихся окислительной модификации, в их крови увеличивается в зависимости от температуры тела. Параллельно наблюдается уменьшение активности супероксиддисмутазы (СОД), важного фермента антиоксидантной защиты [2]. Предполагается, что это может указывать на усиленное образование активных форм кислорода (АФК) в процессе насыщения тканей кислородом при пробуждении. Усиленное образование АФК способно вызывать окислительные повреждения белков и липидов в мембранах эритроцитов. Это, в свою очередь, может приводить к изменениям в структурно-динамических характеристиках мембран клеток и, как следствие, к снижению деформируемости эритроцитов. Влияние времени года на интегральную деформируемость эритроцитов, их водопроницаемость, содержание гемоглобина внутри клеток, механическую устойчивость и другие показатели эритроцитов было продемонстрировано в исследовании Katiukhin et al. [3]. Было установлено, что у сусликов, проснувшихся весной, интегральная деформируемость и водопроницаемость эритроцитов достигают максимальных значений, а внутриклеточная вязкость – минимальных. Летом деформируемость эритроцитов заметно снижается. Это снижение деформируемости эритроцитов летом объясняется замещением части холестерина в мембранах клеток фитостеролами, поступающими в организм с обильной растительной пищей в этот период года.

Осенью, когда суслики готовятся к залеганию в спячку, интегральная деформируемость эритроцитов вновь увеличивается по отношению к летнему периоду, оставаясь несколько сниженной по отношению к весеннему периоду [3]. Уровень таких эритроцитарных показателей как (RDW-SD и RDW-C), характеризующих гетерогенность эритроцитов, циркулирующих в крови по объему и ширине распределения [4], также оказались повышенными в весенний период по сравнению с летними и осенними значениями этих показателей [3]. Это может говорить о присутствии в крови животных, проснувшихся от спячки, одновременно эритроцитов, имеющих разные размеры и форму. Выход из состояния оцепенения сопровождается усилением эритропоэза и выбросом в

кровь молодых эритроцитов на замену старым для поддержания функциональной полноценности эритроцитарной популяции в активный летний период. Оказалось, что уровень ретикулоцитов в крови сусликов значительно возрастает после пробуждения весной [5], что подтверждается результатами по усилению синтетической активности костного мозга [6]. Значительное увеличение количества ретикулоцитов в крови, уровень которых не восстанавливался после выхода из спячки показано исследователями, определявшими особенности эритропоэза у гибернарующих сусликов [7]. Так как уровень производства лейкоцитов при гибернации находится в подавленном состоянии [8], авторы полагают, что в костном мозге происходит продукция именно предшественников эритроцитов, а не других клеток. Более того гены, ответственные за производство эритроцитов в состоянии торпора сохраняют уровень экспрессии на летнем уровне [9]. В то же время, на наш взгляд, в обширной литературе недостаточно уделяется внимание анализу адаптивных изменений в популяциях эритроцитов гетеротермных животных, находящихся в состоянии зимней спячки и в разные периоды физиологической активности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе работы применялись экспериментальные методы исследования на малых сусликах (*Spermophilus pygmaeus* Pall.) с весом тела от 250 до 300 граммов. Все животные были пойманы в Буйнакском районе Республики Дагестан (42°55' северной широты, 47°20' восточной долготы; 320 метров над уровнем моря). Условия содержания животных были стандартными для вивария, с постоянным доступом к питьевой воде и пище. Выполнение экспериментов соответствовало положениям Приказа Министерства здравоохранения РФ № 199н, выпущенного 01.04.2016 («Правила надлежащей лабораторной практики»). Этический комитет Дагестанского государственного университета одобрил протоколы всех процедур, связанных с использованием животных (протокол № 2 от 5 февраля 2024 года). Процедуры отвечали этическим стандартам, закрепленным в законодательстве Российской Федерации, принципам Базельской декларации и применимым рекомендациям. Имитация зимней спячки и процесса пробуждения проводилась следующим образом. Животные были случайным образом поделены на 5 групп, в каждой из которых было по 7 особей. Первая группа являлась контрольной и состояла из животных, находящихся в состоянии бодрствования в зимний период. Животные содержались поодиночке в клетках, расположенных в специально оборудованных комнатах. В этих комнатах поддерживался контролируемый световой режим, обеспечивалось достаточное количество питания (злаки, семена подсолнуха, корнеплоды) и неограниченный запас материалов для постройки гнезд. Температура в помещениях поддерживалась в диапазоне 20–22 °С. Еще одна группа включала животных, находящихся в состоянии глубокого зимнего сна (в середине периода гибернации). Третья, четвертая и пятая группы были сформированы из животных, которые искусственно выводились из спячки на разных этапах этого процесса. В летние месяцы зверьки содержались поодиночке в обычных клетках вивария со стандартным питанием. Чтобы вызвать зимнюю спячку,

в конце октября сусликов помещали в отдельные клетки и перемещали в темное помещение с контролируемой температурой в пределах 2–5 °С. В течение нескольких дней у животных начиналась спячка, характеризующаяся снижением температуры тела (tt) примерно до 4 °С. Спустя два месяца гибернации, в состоянии глубокого сна, животных извлекали для проведения экспериментов. Чтобы запустить процесс пробуждения, животных переводили в помещение с температурой 20 °С. Полное пробуждение и достижение температуры тела 37 °С занимало в среднем 2 часа 30 минут. Животных использовали в эксперименте после достижения температуры тела 15 °С, 25 °С и 37 °С. Температуру тела определяли термометром, введенным в прямую кишку на глубину 3–4 см.

Определение кислотной резистентности и популяционного состава эритроцитов

Перед проведением декапитации животным вводили лёгкий наркоз, используя препарат Золетил 100 (Virbac, France) в дозировке 4 мг/кг внутривенно. После декапитации кровь собирали в пробирку, содержащую гепарин, и подвергали центрифугированию (1500 об/мин, 10 минут). Полученную эритроцитарную массу трехкратно промывали физиологическим раствором с последующим центрифугированием (1500 об/мин, 10 минут) после каждой промывки.

Кислотную резистентность эритроцитов определяли по методу Терскова и Гительсона [10]. Этот метод основан на регистрации процесса разрушения эритроцитов под действием соляной кислоты определённой концентрации с помощью фотометра. Анализ последовательности разрушения эритроцитов позволяет построить гистограмму, отражающую распределение эритроцитов по их устойчивости, что является показателем неоднородности эритроцитарной популяции, в основном обусловленной возрастом клеток.

В термостатированной кювете (24 °С), содержащей физиологический раствор, при постоянном перемешивании добавляли исследуемую суспензию эритроцитов до достижения оптической плотности 0.700 ед. Таким образом, формировалась суспензия эритроцитов стандартной оптической плотности, соответствующей разведению обычной крови 1:1000. Затем 2 мл этой суспензии извлекали из кюветы. Оставшийся объем суспензии удаляли, и в осушенную кювету возвращали 2 мл свежеприготовленной суспензии, поддерживая постоянный объем (2 мл) и оптическую плотность (0.700) при 24 °С.

По сигналу таймера в кювету добавляли 2 мл гемолитика (0.004N раствор соляной кислоты) и тщательно перемешивали. Кюветное отделение закрывали крышкой и устанавливали показания прибора на ноль, используя кювету с компенсационным раствором. Кювету с эритроцитами и гемолитиком помещали в измерительный блок спектрофотометра. Все этапы, начиная с добавления гемолитика, выполняли в течение 30 секунд. С этого момента регистрировали изменения реакции во времени, дискретно измеряя скорость гемолиза с интервалом в 30 секунд до достижения 2–3 стабильных значений, указывающих на завершение гемолиза. После полного гемолиза кювету промывали и прибор был готов к новому анализу.

Полученные значения оптической плотности, уменьшающиеся со временем, использовались для построения эритрограмм. За 100 % гемолиза принимали разницу между начальной и конечной оптической плотностью образцов. Вся популяция эритроцитов условно разделилась на группы в зависимости от времени гемолиза: эритроциты, разрушающиеся в период 2,5–3,5 мин – низкоустойчивые, 3,5–5,0 мин – среднеустойчивые, 5,0–7,5 мин – высокоустойчивые, 7,5–9,5 мин – очень устойчивые, свыше 9,5 мин – чрезвычайно устойчивые [11].

Статистическая обработка

Анализ данных был выполнен посредством применения специализированных программных комплексов Statistica 8.0 (StatSoft, Inc., USA) и SPSS Statistics 22 (IBM, USA). Для анализа различий между несколькими независимыми группами был применен непараметрический метод дисперсионного анализа, конкретно, Н-критерий Краскела-Уоллиса. Если обнаруживались статистически значимые отличия между группами, то проводились дополнительные парные сравнения с использованием U-критерия Манна-Уитни. При этом критический уровень значимости корректировался, чтобы учесть количество проводимых сравнений. Информация в табличной форме отображена в виде $M \pm m$.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование динамики эритроцитов зимоспящих млекопитающих во время спячки может способствовать более широкому пониманию того, как различные типы клеток реагируют на экстремальные метаболические состояния. Результаты, полученные нами по распределению эритроцитов крови бодрствующих сусликов (температура тела 37 °С) по группам стойкости к кислотному гемолитику представлены в таблице 1. Анализ данных, представленных в таблице 1, демонстрирует, что основная часть эритроцитов (более 40 %) относится к группе средней устойчивости. Несколько более 21 % приходится на долю эритроцитов с пониженной устойчивостью. В то же время, процентное соотношение эритроцитов повышенной и высокой устойчивости составляет 21,7 % и 8,2 %, соответственно. Количество эритроцитов с пониженной резистентностью несколько превышает 21 %. В то же время, доля эритроцитов с повышенной и высокой устойчивостью составляет 21,7 % и 8,2 %, соответственно. Процент сфероцитарно измененных клеток крови равен 8,1 %. Доля же клеток с ультравысокой резистентностью крайне мала и составляет 0,3 %. Длительность гемолиза, отражающая суммарную резистентность эритроцитарных популяций у активных животных, достигает 9,9 минут. Момент наступления основного пика гемолиза фиксируется на 4,1 минуте. Следует отметить, что во время спячки достоверно повышается содержание эритроцитов, подвергшихся сфероцитарным изменениям (8,1 % у бодрствующих животных против 11,2 % у спящих). Процентное содержание пониженностойких и среднестойких эритроцитов снижается до 16,9 и 36,1 %, соответственно. Однако эти изменения не носят достоверного характера. Содержание повышенностойких эритроцитов во время гибернации не претерпевают существенных изменений, оставаясь на

уровне контрольных значений. Отмечается рост доли эритроцитов повышенной резистентности (с 8,2 % у активных особей до 10,7 % в период спячки). Параллельно с этим, зарегистрировано значительное

увеличение числа эритроцитов с чрезвычайно высокой устойчивостью. Более того, концентрация крайне резистентных эритроцитов увеличивается в разы.

Таблица 1. Распределение эритроцитов крови сусликов по группам стойкости к кислотному гемолизу (в % к общему числу эритроцитов) при зимней спячке и на разных этапах самосогревания при пробуждении ($M \pm m$, $n=7$ для каждой группы)

Table 1. Distribution of erythrocytes in the blood of ground squirrels by groups of resistance to acid hemolytic agents (in % of the total number of erythrocytes) during hibernation and at different stages of self-warming upon awakening ($M \pm m$, $n=7$ for each group)

№ п/п No	Показатели Indicators	Состояние животного / Animal condition				
		Бодрствующие Awake	Спячка Hibernation	Самосогревание до 15°C Warming up to 15°C	Самосогревание до 25°C Warming up to 25°C	Самосогревание до 37°C Warming up to 37°C
1	Сферуляционные изменения Spherulation changes	8,1±0,3	11,2±0,9 $P_{1-2}<0,05$	10,6±0,4 $P_{1-3}<0,01$	13,5±1,1 $P_{1-4}<0,01$ $P_{2-4}<0,01$ $P_{3-4}<0,01$	10,1±0,6 $P_{1-5}<0,01$
2	Пониженностойкие Low resistant	21,4±1,7	16,4±1,5	14,9±1,9 $P_{1-3}<0,05$	25,7±1,1 $P_{1-4}<0,01$ $P_{2-4}<0,001$ $P_{3-4}<0,001$	27,2±2,1 $P_{1-5}<0,01$ $P_{3-5}<0,01$
3	Среднестойкие Medium resistant	40,9±2,1	36,1±1,4	33,5±1,6 $P_{1-3}<0,02$	34,0±1,7	38,0±0,9
4	Повышенностойкие Highly resistant	21,5±1,6	21,4±1,4	26,8±1,4 $P_{1-3}<0,05$	20,4±1,9	17,2±0,5 $P_{1-5}<0,02$ $P_{2-5}<0,01$ $P_{3-5}<0,01$ $P_{4-5}<0,01$
5	Высокостойкие Very highly resistant	8,2±1,1	10,5±0,3	10,4±0,9	3,5±0,4 $P_{1-4}<0,02$ $P_{2-4}<0,001$ $P_{3-4}<0,001$	4,4±0,4 $P_{1-5}<0,03$ $P_{2-5}<0,001$ $P_{3-5}<0,05$
6	Сверхвысокостойкие Ultra high resistance	0,3±0,01	4,5±0,4 $P_{1-2}<0,02$	4,0±0,8 $P_{1-3}<0,001$	3,1±0,7 $P_{1-4}<0,001$	3,3±0,4 $P_{1-5}<0,001$
7	Продолжительность гемолиза, мин. Duration of hemolysis, min.	9,6±0,4	11,0±0,3 $P_{1-2}<0,03$	11,4±0,7	10,3±0,3	9,8±0,3 $P_{2-5}<0,02$ $P_{3-5}<0,05$
8	Время выхода основного пика гемолиза, мин. Main peak release time, min.	4,1±0,1	4,0±0,2	4,2±0,2	3,9±0,2	3,2±0,1

Обращает на себя внимание то, что продолжительность гемолиза эритроцитов во время гибернации также достоверно увеличивается по сравнению с продолжительностью гемолиза эритроцитов бодрствующих животных. Время наступления максимума лизиса эритроцитов при этом остается на уровне контрольных значений. Содержание температуры на уровне 15 °С, приближенной к комнатной, существенно не влияет на процентное соотношение эритроцитов, изменивших свою форму на сферическую, в сравнении с периодом гибернации. Тем не менее, относительно активного состояния, фиксируется статистически значимое увеличение данного показателя ($p < 0.05$). Число эритроцитов с малой и умеренной резистентностью ощутимо уменьшается в сопоставлении с величинами, свойственными активным животным. В сравнении с

результатами, полученными у гибернирующих животных, отмечается небольшое, но различимое сокращение представленности этих групп (см. табл. 1). В то же время, доля популяций эритроцитов с высокой и экстремально высокой стойкостью остается на уровне показателей спящих особей, демонстрируя явный рост по отношению к соответствующим показателям у бодрствующих животных. Такие характеристики эритрограмм, как длительность гемолиза и время достижения основного пика гемолиза при самосогревании до 15 °С, статистически не разнятся от аналогичных параметров как спящих, так и активных особей.

Таким образом, начальные этапы самосогревания и индуцированного пробуждения характеризуются достоверным уменьшением доли пониженностойких и среднестойких эритроцитов, на

фоне повышения процентного содержания повышнностойкой популяции клеток по отношению зимнему контролю. Доля эритроцитов, изменивших свою форму на сфероцитарную, значительно увеличивается по сравнению с нормой. При дальнейшем нагреве организма до 25 °C наблюдается прогрессирующее возрастание числа преобразованных красных кровяных телец. Одновременно с этим, доля эритроцитов с пониженной устойчивостью значительно превышает показатели всех предыдущих этапов, включая зимний контроль. Особого внимания заслуживает то, что популяция эритроцитов с высокой устойчивостью в этих условиях существенно снижается по сравнению со всеми предыдущими наблюдениями. При этом, содержание эритроцитов с экстремально высокой устойчивостью остается относительно стабильным, сопоставимым с зимним контролем. Общая продолжительность гемолиза и время наступления пика гемолиза остаются в пределах контрольных значений. При достижении температуры тела животного 37 °C, полной нормализации эритроцитарного состава не происходит. Количество эритроцитов, находящихся в предгемолитическом состоянии, остается значительно выше, чем в зимнем контроле. В крови также сохраняется повышенное содержание эритроцитов с низкой и экстремально высокой устойчивостью. Однако, популяция эритроцитов со средней устойчивостью возвращается к уровню зимнего контроля. Численность эритроцитов с повышенной и высокой устойчивостью уменьшается по сравнению с контрольными значениями. При этом, длительность гемолиза и время достижения пика эритрограммы восстанавливаются до уровня зимнего контроля.

Таким образом, усиление оксигенации тканей на заключительных стадиях согревания (25 °C и 37 °C) способствует снижению устойчивости эритроцитов, что проявляется в увеличении числа клеток в предгемолитическом состоянии, повышении доли эритроцитов с пониженной устойчивостью и сокращении популяции клеток с высокой устойчивостью. В то же время, количество эритроцитов с экстремально высокой устойчивостью остается достоверно высоким по отношению к зимнему контролю. У животных, впадающих в спячку, эволюционно сформировался ряд физиологических адаптаций, позволяющих переносить неблагоприятные воздействия окружающей среды посредством обратимого замедления метаболизма, снижения температуры тела, частоты сердечных сокращений и дыхания, а также ряда других изменений. Например, в период гибернации у животных отмечается снижение уровня лейкоцитов и тромбоцитов почти на 90 %, которые быстро восстанавливаются до летних показателей во время кратковременных периодов бодрствования. Эритроцитарные показатели в период спячки практически не отличаются от летних, однако физиологические свойства эритроцитов меняются в зависимости от времени года. Традиционно, исследования, в которых изучались уникальные биохимические и клеточные характеристики гибернаторов и других животных с гипоксической резистентностью, подчеркивают значительную метаболическую депрессию и связанные с ней последующие реакции [12]. Обширная литература сосредоточена на исследовании окислительно-

восстановительного метаболизма некоторых тканей, таких как печень, кишечник и межлопаточная бурая жировая ткань (БЖТ), но мало внимания уделялось эритроцитам, особенно у млекопитающих, впадающих в спячку. Согласно нашим данным, в состоянии глубокой зимней спячки (при температуре тела 8 °C) эритроциты у сусликов становятся более устойчивыми. Это может указывать на два момента: во-первых, период спячки может сопровождаться выходом в кровотоки молодых эритроцитов, отличающихся повышенной устойчивостью; во-вторых, мембраны эритроцитов спящих животных могут претерпевать изменения, повышающие их устойчивость к негативному воздействию низких температур. Считается, что при глубоком состоянии анабиоза в кровотоки поступают новообразованные эритроциты, характеризующиеся повышенной резистентностью к воздействию стрессовых факторов. Повышение стабильности мембран эритроцитов играет важную роль, поскольку они должны проходить через мелкие капилляры в тканях. Известно, что при снижении температуры тела увеличивается вязкость крови [13], что в условиях зимней спячки может привести к внутрисосудистому гемолизу. Изучение сирийских (*Mesocricetus auratus*) и европейских (*Cricetus cricetus*) хомячков продемонстрировало, что у погруженных в спячку особей наблюдается повышенное содержание эритроцитов и концентрация гемоглобина. Это объясняется замедлением процессов старения и почти полным прекращением разрушения красных кровяных телец в период гибернации. Продолжительность жизни эритроцитов у этих грызунов увеличивается до 160 дней, в то время как у бодрствующих хомячков тех же видов этот показатель варьируется от 50 до 70 дней [14].

В научной литературе имеются данные, полученные на других зимующих видах, указывающие на потенциальную возможность высвобождения ретикулоцитов в кровь во время глубокой гибернации. Отмечено, что у тринадцатиполосных сусликов в состоянии глубокой спячки наблюдается уменьшение объема эритроцитов по сравнению со средним объемом эритроцитов в периоды между пробуждениями, когда их объем увеличивается [15]. Принимая во внимание, что в процессе циркуляции в кровеносной системе размеры эритроцитов уменьшаются из-за потери части мембраны, увеличение размеров эритроцитов в период между спячками авторы объясняют активацией эритропоэза и поступлением в кровь ретикулоцитов, которые характеризуются большим размером по сравнению с циркулирующими эритроцитами. Также было установлено, что активность генов, контролирующих эритропоэз, существенно не меняется во время гибернации. Исследователи зафиксировали трехкратное увеличение активности гена SF3B1, участвующего в стимуляции образования эритроцитов. По мнению ученых, повышенная экспрессия данного гена может поддерживать эффективное производство красных кровяных телец и обеспечивать высокий функциональный уровень эритроцитарных популяций в период глубокой гибернации. Однако, биологическое значение преобладания молодых эритроцитов в крови впадающего в спячку организма, характеризующегося пониженным метаболизмом, нуждается в дальнейших исследованиях.

Сон у небольших млекопитающих отличается прерывистостью: состояние анабиоза складывается из сменяющих друг друга фаз глубокого сна и периодов активности. Оперативное возобновление циркуляции крови в органах и тканях в моменты периодических пробуждений может усилить вероятность повреждений, сопряженных с ишемией-реперфузией, в тех частях тела, где кровоток еще не полностью восстановился, а температура уже возросла. В связи с этим, представляется интересным проанализировать изменения в распределении эритроцитов по группам устойчивости на различных этапах самосогревания при индуцированном пробуждении.

В частности, согревание до 15 °С при комнатной температуре не оказывает существенного влияния на процентное содержание эритроцитов, подвергшихся сфероцитарным изменениям, по сравнению с периодом сна. Однако этот показатель значительно возрастает по сравнению с аналогичным показателем у бодрствующих животных. Процентное содержание эритроцитов с пониженной и средней устойчивостью заметно снижается по сравнению с данными, полученными у бодрствующих животных. По сравнению с показателями спящих животных, эти популяции демонстрируют небольшую тенденцию к снижению (табл. 1). В то же время, доля популяций эритроцитов с высокой и экстремально высокой устойчивостью остается сопоставимой с показателями, наблюдаемыми у находящихся в спячке животных, при этом демонстрируется статистически значимое увеличение относительно значений, измеренных у бодрствующих особей. Такие характеристики эритрограмм, как длительность гемолиза и момент достижения пика гемолиза при саморазогреве до 15 °С, не выявляют значимых различий в сравнении с аналогичными характеристиками, полученными как у спящих, так и у активных животных. Первые фазы вызванного пробуждения и процесса самосогревания заметно отличаются снижением соотношения эритроцитов с низкой и средней устойчивостью. Одновременно с этим, наблюдается увеличение процентного содержания популяции клеток с высокой устойчивостью, относительно зимних контрольных значений. В то же время, количество эритроцитов, претерпевших сфероцитарные изменения, существенно возрастает по сравнению с контролем (см. табл. 1). Данное изменение в распределении эритроцитарных популяций в начале процесса самосогревания, вероятно, обусловлено активацией механизмов обновления всего эритроцитарного состава, подготавливающих организм к пробуждению.

На следующем этапе самосогревания при достижении температуры тела до 25 °С в крови еще больше становится эритроцитов, подвергшихся сфероцитарным изменениям. При этом процентное содержание пониженностойких эритроцитов достоверно увеличивается по отношению ко всем предыдущим сериям опытов, в том числе и к состоянию зимнего контроля. Обращает на себя внимание то, что в этом состоянии популяция высокостойких эритроцитов демонстрирует достоверное снижение по сравнению со всеми предыдущими сериями опытов. Содержание наиболее устойчивых к разрушению клеток остается сравнительно большим, если сравнивать с зимним периодом. Общая длительность процесса гемолиза и время появления главного пика гемолиза остаются

сопоставимыми с контрольными значениями. Однако, при достижении температуры тела животного до 37 °С, полного восстановления нормального состава эритроцитов не фиксируется. Количество эритроцитов, готовых к гемолизу, остается значительно выше уровня зимнего контроля. В крови также сохраняется заметно повышенное количество клеток с низкой и крайне высокой устойчивостью. В то же время, количество эритроцитов со средней устойчивостью возвращается к значениям, характерным для зимнего периода. Количество клеток с повышенной и высокой устойчивостью показывает значительное снижение по сравнению с контролем. При этом продолжительность гемолиза и момент появления основного пика эритрограммы вновь соответствуют зимним показателям.

В результате, повышенное снабжение тканей кислородом на последних этапах согревания (25 °С и 37 °С) приводит к ослаблению стабильности красных кровяных телец. Это проявляется в увеличении количества клеток, находящихся в состоянии, предшествующем разрушению, росте числа эритроцитов с пониженной устойчивостью и сокращении популяции клеток с высокой резистентностью. Какие причины могут обуславливать снижение показателей устойчивости эритроцитов на завершающих этапах самостоятельного согревания при пробуждении? В работе Cooper et al. (2016) [16], показано снижение среднего объема эритроцитов у гибернарующих животных. Предполагается, что длительная циркуляция эритроцитов в кровотоке может привести к потере части мембраны путем везикулизации и повреждению мембраны. Можно предположить, что в процессе циркуляции в цикле спячка-пробуждение часть мембраны эритроцитов изменяется в результате окислительной модификации липидов и белков, кластеризации белка полосы 3, экстернализации фосфотидилсерина на наружный монослой, связывании с аутологичными антителами и такие эритроциты подвергаются элиминации клетками ретикуло-эндотелиальной системы или эритроптозу [2; 17]. Показано также, что в ходе самосогревания животных в диапазоне t , 25–30 °С в крови возникает окислительный стресс, о чем свидетельствует пик увеличения мочевой кислоты, повышение супероксидперехватывающей активности плазмы и повышения активности супероксиддисмутазы и каталазы в эритроцитах [18]. Окислительные повреждения мембраны приводят к быстрому старению эритроцитов, и такие клетки ускоренно выводятся из кровотока. В исследовании [19] изучалось влияние зимней спячки и выхода из неё на процессы перекисного окисления липидов, степень окислительной модификации липидов и белков, а также активность антиоксидантной системы в эритроцитах малого суслика (*Spermophilus pygmaeus*) в течение активного летнего периода, во время спячки (торпора) и в период пробуждения. Было показано, что уровень ТБК-активных продуктов и карбонильных групп в мембранных белках эритроцитов значительно снижался у особей в состоянии торпора по сравнению с контролем. Одновременно наблюдалось выраженное угнетение ферментативной антиоксидантной защиты.

Пробуждение от спячки сопровождалось повышенным образованием активных форм кислорода (АФК) и азотсодержащих соединений, а также

увеличением окислительного повреждения липидов и белков, достигающим пика при 25 °С. В этот период окислительный стресс проявлялся в падении уровня, восстановленного глутатиона, активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы, а также в дисбалансе их соотношения. Однако после нормализации температуры тела признаки окислительного стресса полностью исчезали, что, по мнению авторов, объясняется значительным усилением антиоксидантной защиты эритроцитов.

Снижение устойчивости эритроцитов при увеличении температуры на заключительных этапах выхода из гибернации, вероятно, связано с активацией процессов окисления в мембранах клеток крови. Отмеченное возрастание продолжительности гемолиза и существенный рост процента эритроцитов с высокой резистентностью в состоянии торпора, которые сохраняются и во время пробуждения, с большой вероятностью указывают на выход в кровотоки молодых эритроцитов, отличающихся повышенной устойчивостью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Даже при восстановлении температуры тела животного до 37 °С, полного возврата к исходному состоянию эритроцитарной популяции не происходит. Увеличение времени разрушения эритроцитов статистически значимо проявляется исключительно в период оцепенения, если сравнивать с контрольной группой. Время выхода основного пика гемолиза во всех исследованных состояниях остается на уровне контрольных значений. Делается вывод о том, что качественный состав эритроцитов крови в значительной мере зависит от состояния пребывания животного.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Giroud S., Yamaguchi Y., Terrien J., Henning R.H. Editorial: Torpor and hibernation: metabolic and physiological paradigms // *Front Physiol.* 2024. V. 15. <https://doi.org/10.3389/fphys.2024.1441872>
- Астаева М.Д., Кличханов Н.К. Окислительная модификация белков и антиоксидантная активность крови сусликов при индуцированном пробуждении от зимней спячки // *Изв. АН Сер. Биол.* 2009. N 6. С. 662–668.
- Katiukhin L.N., Chalabov S.I., Bekshokov K.S., Pokhmelnova M.S., Klichkhanov N.K., Nikitina E.R. Seasonal changes in blood rheology in little ground squirrels // *J. Exp. Zool – A. Ecol. Integr. Physiol.* 2023. V. 339. N 5. P. 474–486. <https://doi.org/10.1002/jez.2693>
- Perkins S.L. *Wintrobe's Clinical Hematology.* Philadelphia, Lippincot Wilkins and Williams Publ., 2003. V. 1. 11th ed. 5510 p.
- Gulevsky A.K., Shchenyavsky I.I. Seasonal changes in mechanical resistance of erythrocytes of the long-tailed ground squirrel (*Citellus undulatus*) // *Jour. of Evol. Biochem. and Physiol.* 2014. V. 50. N 5. P. 364–368.
- Карнаухова Н.А., Сергиевич Л.А., Игнатьев Д.А., Карнаухов В.Н. Влияние ионизирующего излучения на синтетическую активность клеток системы крови у сусликов при разных физиологических состояниях животных // *Биофизика.* 2008. Т. 53. N 1. С. 113–122.
- Лизоркина К.И., Аксенова Г.Е., Афанасьев В.Н., Теллова П.О., Захарова Н.М. Особенности эритропоэза гибернирующих сусликов *Urocyon undulatus* // *Журн.*

- эвол. биох. и физиол. 2024. Т. 60. N 6. С. 599–607. <https://doi.org/10.31857/S0044452924070026>
- Yasuma Y., Mc Carron R.M., Spatz M., Hallenbeck J.M. Effects of plasma from hibernating ground squirrels on monocyte-endothelial cell adhesive interactions // *Am. J. Physiol.* 1997. V. 273. N 6. P. 1861–1869. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1997.273.6.R1861>
- Ануфриев А.И. Механизмы зимней спячки мелких млекопитающих Якутии. Новосибирск: Из-во СО РАН, 2008. 158 с.
- Терсков И.А., Гительзон И.И. Метод химических (кислотных) эритрограмм // *Биофизика.* 1957. N 2. С. 259–265.
- Леонова В.Г. Анализ эритроцитарных популяций в онтогенезе человека. Новосибирск: Наука, 1987. 240 с.
- Giraud-Billoud M., Rivera-Ingraham G.A., Moreira D.C., Burmester T., Castro-Vazquez A., Carvajalino Fernandez J.M., Dafre A., Niu C., Tremblay N., Paital B., Rosa R., Storey J.M., Vega I.A., Zhang W., Yepiz Plascencia G., Zenteno-Savin T., Storey K.B., Hermes-Lima M. Twenty years of the 'Preparation for Oxidative Stress' (POS) theory: ecophysiological advantages and molecular strategies // *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular and Integrative Physiology.* 2019. V. 234. P. 36–49. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.04.004>
- Липина О.В., Луговой В.И. Изменение вязкости крови и гематокрита при охлаждении животных // *Биофизика.* 1996. Т. 41. N 3. С. 678–679.
- Reznik G., Reznik-Schuller H., Emminger A., Mohr U. Comparative studies of blood from hibernating and nonhibernating European hamsters (*Cricetus cricetus* L.) // *Lab. Animal Sci.* 1975. V. 25. N 2. P. 210–215.
- Jorgensen P.G., Arnemo J., Swenson J.E., Jensen J.S., Galatius S., Frobert O. Low cardiac output as physiological phenomenon in hibernating, free-ranging Scandinavian brown bears (*Ursus arctos*) – an observational study // *Cardiovasc Ultrasound.* 2014. V. 12. P. 36. <https://cardiovascularultrasound.biomedcentral.com/articles/10.1186/1476-7120-12-36>
- Cooper S.T., Sell S.S., Fahrenkrog M., Wilkinson K., Howard D.R., Bergen H., Cruz E., Cash S.E., Andrews M.T., Hampton M. Effects of hibernation on bone marrow transcriptome in thirteen-lined ground squirrels // *Physiol Genomics.* 2016. V. 48. N 7. P. 513–525. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00120.2015>
- Repsold L., Joubert A.M. Eryptosis: An erythrocyte's suicidal type of cell death // *BioMed Research International.* 2018. Article id: 9405617. doi: 10.1155/2018/9405617
- Okamoto I., Kayano T., Hanaya T., Arai S., Ikeda M., Kurimoto M. Up-regulation of an extracellular superoxide dismutase-like activity in hibernating hamsters subjected to oxidative stress in mid- to late arousal from torpor // *Comp Biochem Physiol and Toxicol Pharmacol.* 2006. V. 144. N 1. P. 47–56. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.05.003>
- Klichkhanov N.K., Nikitina E.R., Shihamirova Z.M., Astaeva M.D., Chalabov S.I., Krivchenko A.I. Erythrocytes of Little Ground Squirrels Undergo Reversible oxidative stress during arousal from hibernation // *Front Physiol.* 2021. V. 12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.730657>

REFERENCES

- Giroud S., Yamaguchi Y., Terrien J., Henning R.H. Editorial: Torpor and hibernation: metabolic and physiological paradigms. *Front Physiol.* 2024, vol. 15, article id: 1441872. <https://doi.org/10.3389/fphys.2024.1441872>

2. Astayeva M.D., Klichkhanov N.K. Oxidative modification of proteins and antioxidant activity of ground squirrel blood during induced awakening from hibernation. *Izvestiya RAN. Seriya biologicheskaya* [Izvestia RAS. Biological Series]. 2009, no. 6, pp. 662–668. (In Russian)
3. Katiukhin L.N., Chalabov S.I., Bekshokov K.S., Pokhmelnova M.S., Klichkhanov N.K., Nikitina E.R. Seasonal changes in blood rheology in little ground squirrels. *J. Exp. Zool – A. Ecol. Integr. Physiol.* 2023, vol. 339, no. 5, pp. 474–486. <https://doi.org/10.1002/jez.2693>
4. Perkins S.L. *Wintrobe's Clinical Hematology*. Philadelphia, Lippincot Wilkins and Williams Publ., 2003, vol. 1, 11th ed., 5510 p.
5. Gulevsky A.K., Shchenyavsky I.I. Seasonal changes in mechanical resistance of erythrocytes of the long-tailed ground squirrel (*Citellus undulatus*). *Jour. of Evol. Biochem. and Physiol.* 2014, vol. 50, no. 5, pp. 364–368.
6. Karnaukhova N.A., Sergiyevich L.A., Ignat'yev D.A., Karnaukhov V.N. The influence of ionizing radiation on the synthetic activity of blood system cells in ground squirrels under different physiological conditions of animals. *Biofizika* [Biophysics]. 2008, vol. 53, no. 1, pp. 113–122. (In Russian)
7. Lizorkina K.I., Aksenova G.Y., Afanas'yev V.N., Teplova P.O., Zakharova N.M. Peculiarities of erythropoiesis in hibernating ground squirrels *Uroctellus undulatus*. *Jour. of Evol. Biochem. and Physiol.* 2024, vol. 60, no. 6, pp. 599–607. <https://doi.org/10.31857/S0044452924070026>
8. Yasuma Y., Mc Carron R.M., Spatz M., Hallenbeck J.M. Effects of plasma from hibernating ground squirrels on monocyte-endothelial cell adhesive interactions. *Am. J. Physiol.* 1997, vol. 273, no. 6, pp. 1861–1869. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1997.273.6.R1861>
9. Anufriev A.I. *Mekhanizmy zimney spyachki melkikh mlekopitayushchikh Yakutii* [Mechanisms of Hibernation of Small Mammals of Yakutia]. Novosibirsk, SB RAS Publ., 2008, 158 p. (In Russian)
10. Terskov I.A., Gitel'zon I.I. Method of chemical (acid) erythrograms. *Biofizika* [Biophysics]. 1957, no. 2, pp. 259–265. (In Russian)
11. Leonova V.G. *Analiz eritrotsitarnykh populyatsiy v ontogeneze cheloveka* [Analysis of erythrocyte populations in human ontogenesis]. Novosibirsk, Nauka Publ., 1987, 240 p. (In Russian)
12. Giraud-Billoud M., Rivera-Ingraham G.A., Moreira D.C., Burmester T., Castro-Vazquez A., Carvajalino Fernandez J.M., Dafre A., Niu C., Tremblay N., Paital B., Rosa R., Storey J.M., Vega I.A., Zhang W., Yepiz Plascencia G., Zenteno-Savin T., Storey K.B., Hermes-Lima M. Twenty years of the 'Preparation for Oxidative Stress' (POS) theory: ecophysiological advantages and molecular strategies. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular and Integrative Physiology*, 2019, vol. 234, pp. 36–49. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.04.004>
13. Lipina O.V., Lugovoy V.I. Changes in blood viscosity and hematocrit during cooling of animals. *Biofizika* [Biophysics]. 1996, vol. 41, no. 3, pp. 678–679. (In Russian)
14. Reznik G., Reznik-Schuller H., Emminger A., Mohr U. Comparative studies of blood from hibernating and nonhibernating European hamsters (*Cricetus cricetus* L.). *Lab. Animal Sci.* 1975, vol. 25, no. 2, pp. 210–215.
15. Jorgensen P.G., Arnemo J., Swenson J.E., Jensen J.S., Galatius S., Frobert O. Low cardiac output as physiological phenomenon in hibernating, free-ranging Scandinavian brown bears (*Ursus arctos*) - an observational study. *Cardiovasc Ultrasound*. 2014, vol. 12, pp. 36. <https://cardiovascularultrasound.biomedcentral.com/articles/10.1186/1476-7120-12-36>
16. Cooper S.T., Sell S.S., Fahrenkrog M., Wilkinson K., Howard D.R., Bergen H., Cruz E., Cash S.E., Andrews M.T., Hampton M. Effects of hibernation on bone marrow transcriptome in thirteen-lined ground squirrels. *Physiol Genomics*. 2016, vol. 48, no. 7, pp. 513–525. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00120.2015>
17. Repsold L., Joubert A.M. Eryptosis: An erythrocyte's suicidal type of cell death. *BioMed Research International*, 2018, article id: 9405617. doi: 10.1155/2018/9405617
18. Okamoto I., Kayano T., Hanaya T., Arai S., Ikeda M., Kurimoto M. Up-regulation of an extracellular superoxide dismutase-like activity in hibernating hamsters subjected to oxidative stress in mid- to late arousal from torpor. *Comp Biochem Physiol and Toxicol Pharmacol*. 2006, vol. 144, no. 1, pp. 47–56. doi: 10.1016/j.cbpc.2006.05.003
19. Klichkhanov N.K., Nikitina E.R., Shihamirova Z.M., Astaeva M.D., Chalabov S.I., Krivchenko A.I. Erythrocytes of Little Ground Squirrels Undergo Reversible oxidative stress during arousal from hibernation. *Front Physiol*. 2021, vol. 12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.730657>

КРИТЕРИИ АВТОРСТВА

Магомедрасул Б. Саидов получил экспериментальный результат. Альбина М. Джафарова разработала дизайн и провела математическую обработку результатов. Ислам А. Ахмедов интерпретировал экспериментальный результат. Все авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут ответственность при обнаружении плагиата, самоплагиата или других неэтических проблем.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Magomedrasul B. Saidov obtained the experimental results. Albina M. Dzhaifarova designed the article and performed the mathematical processing of the results. Islam A. Akhmedov interpreted the experimental results. All authors are equally participated in the writing of the manuscript and are responsible for plagiarism, self-plagiarism and other ethical transgressions.

NO CONFLICT OF INTEREST DECLARATION

The authors declare no conflict of interest.

ORCID

Магомедрасул Б. Саидов / Magomedrasul B. Saidov <https://orcid.org/0009-0005-3272-1712>

Альбина М. Джафарова / Albina M. Dzhaifarova <https://orcid.org/0000-0001-7744-859X>

Ислам А. Ахмедов / Islam A. Akhmedov <https://orcid.org/0009-0005-4410-8923>