

УДК 612.112.085:612.592:615.832.9

В.В. Ломако

Влияние разных режимов охлаждения (краниocereбральной и иммерсионной гипотермии, поверхностных ритмических и экстремальных холодových воздействий) на лейкоцитарные показатели крови крыс

UDC 612.112.085:612.592:615.832.9

V.V. Lomako

Effect of Different Cooling Regimens (CranioCerebral and Immersion Hypothermia, Surface Rhythmic Cold Exposures and Whole Body Cryostimulation) on Leukocyte Indices of Rat Blood

Реферат: Сравнительный анализ количества типов лейкоцитов в мазках крови крыс при краниocereбральной (КЦГ 32°C) и иммерсионной (ИГ 27°C) гипотермии, поверхностных ритмических (РХВ 5°C) и экстремальных (ЭХВ –120°C) холодových воздействиях, а также через 24 ч выявил лейкоцитоз (при ИГ и через 24 ч после КЦГ и ИГ), лейкопению (при КЦГ, РХВ и через 24 ч после ЭХВ), лимфопению, увеличение палочко- и сегментоядерных клеток (при всех состояниях, кроме ИГ) и эозинофилов (только при КЦГ и 24 ч ЭХВ). Наблюдали плазматические клетки (кроме ЭХВ), полихроматофильные и незрелые клетки (сразу и через 24 ч после КЦГ и ИГ), плазматизацию цитоплазмы у части лейкоцитов (через 24 ч после КЦГ и ИГ). Лейкоцитарные индексы показали нарушение иммунореактивности, снижение алергизации, активацию клеточного иммунитета, клеток неспецифической защиты и воспаления (при всех состояниях, кроме ИГ), а также микрофагов (при ЭХВ и через 24 ч после КЦГ и ИГ), эффекторного звена иммунитета (при КЦГ, РХВ и через 24 ч после ЭХВ), реакций гиперчувствительности немедленного типа (кроме КЦГ и через 24 ч после ЭХВ). Индекс ядерного сдвига увеличивался (кроме РХВ и ЭХВ). Индекс адаптации повышался только при ИГ.

Ключевые слова: краниocereбральная гипотермия, иммерсионная гипотермия, ритмические холодových воздействия, экстремальные холодových воздействия, лейкоциты, интегральные лейкоцитарные индексы, крысы.

Реферат: Порівняльний аналіз кількості типів лейкоцитів у мазках крові щурів в умовах краниocereбральної (КЦГ 32°C) та імерсійної (ІГ 27°C) гіпотермії, поверхневих ритмічних (РХВ 5°C) і екстремальних (ЕХВ –120°C) холодových впливів, а також через 24 г виявив лейкоцитоз (за умов ІГ і через 24 г після КЦГ і ІГ), лейкопенію (за умов КЦГ, РХВ і через 24 г після ЕХВ), лімфопенію, збільшення паличко- і сегментоядерних клітин (за всіх станів, крім ІГ) і еозинофілів (тільки за умов КЦГ і через 24 г після ЕХВ). Спостерігали плазматичні клітини (крім ЕХВ), поліхроматофільні та незрілі клітини (відразу і через 24 г після КЦГ і ІГ), плазматизацію цитоплазми у деяких лейкоцитів (через 24 г після КЦГ і ІГ). Лейкоцитарні індекси показали порушення імунореактивності, зниження алергізації, активацію клітинного імунітету, клітин неспецифічного захисту і запалення (за всіх станів, крім ІГ), а також мікрофагів (за умов ЕХВ і через 24 г після КЦГ і ІГ), ефекторної ланки імунітету (за умов КЦГ, РХВ і через 24 г після ЕХВ), реакцій гіперчутливості негайного типу (крім КЦГ і через 24 г після ЕХВ). Індекс ядерного зсуву збільшувався (крім РХВ і ЕХВ). Індекс адаптації підвищувався тільки при ІГ.

Ключові слова: краниocereбральна гіпотермія, імерсійна гіпотермія, ритмічні холодových впливи, екстремальні холодových впливи, лейкоцити, інтегральні лейкоцитарні індекси, щури.

Abstract: A comparative analysis of leukocyte populations in rat blood smears at the cranioCerebral (CCH 32°C) and immersion (IH 27°C) hypothermia, superficial rhythmic cold exposures (RCEs 5°C) and whole body cryostimulation (WBC –120°C), as well as in 24 hrs post-effect revealed the leukocytosis (at IH and 24 hrs after CCH and IH), leukopenia (at CCH, RCEs and 24 hrs after WBC), lymphopenia, an increase in band and segmented cells (under all conditions except IH) and eosinophils (only at CCH and 24 hrs after WBC). Plasmatic cells (except WBC), polychromatophilic and immature cells (immediately and in 24 hrs after CCH and IH), cytoplasm 'plasmation' in some leukocytes (24 hrs after CCH and IH) were observed. Leukocyte indices showed the immunoreactivity disorder, decreased alerгization, activation of cell immunity, nonspecific cell protection and inflammation (under all conditions, except IH), as well as microphages (at WBC and 24 hrs after CCH and IH), an effector component of immunity (at CCH, RCEs and 24 hrs after WBC), immediate-type hypersensitivity responses (except at CCH and 24 hrs after WBC). The nuclear shift index was increased (except RCEs and WBC). The adaptation index was raised only at IH.

Key words: cranioCerebral hypothermia, immersion hypothermia, rhythmic cold exposures, extremal cold exposures, whole body cryostimulation, leukocytes, integral leukocyte indices, rats.

Відділ кріофізіології, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

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

Адреса для кореспонденції:

вул. Переяславська, 23, м. Харків, Україна 61016;
тел.: (+38 057) 373-74-35, факс: (+38 057) 373-59-52
електронна пошта: victoria0regia@gmail.com

Address for correspondence:

23, Pereyaslavska str., Kharkiv, Ukraine 61016;
tel.: +380 57 373 7435, fax: +380 57 373 5952
e-mail: victoria0regia@gmail.com

Надійшла 30.01.2018

Прийнята до друку 13.11.2018

Received January, 30, 2018

Accepted November, 13, 2018

© 2018 V.V. Lomako. Published by the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Основные обозначения

КЦГ	Краниocereбральная гипотермия
ТТ	Температура тела
ИГ	Иммерсионная гипотермия
РХВ	Ритмические холодовые воздействия
ЭХВ	Экстремальные холодовые воздействия
ИЛИ	Интегральные лейкоцитарные индексы
ИЯС	Индекс ядерного сдвига
Ми	Миелоциты
Ю	Юные клетки
П	Палочко-ядерные лейкоциты
С	Сегментоядерные лейкоциты
ЛИИ	Лейкоцитарный индекс интоксикации Кальф-Калифа
ЛИ	Лейкоцитарный индекс
ИСЛ	Индекса сдвига лейкоцитов
Э	Эозинофилы
Б	Базофилы
Л	Лимфоциты
М	Моноциты
ЛГИ	Лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс
ИСНЛ	Индекс соотношения нейтрофилов и лимфоцитов
ИСЛЭ	Индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов
ИСНМ	Индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов
Н	Нейтрофилы
ИСЛМ	Индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов
ИА	Индекс аллергизации
ИАГ	Индекс адаптации Гаркави
ПХЭ	Полихроматофильные эритроциты
ПК	Плазматические клетки

Abbreviation used in the text

CCH	Craniocerebral hypothermia
BT	Body temperature
IH	Immersion hypothermia
RCEs	Rhythmic cold exposures
ECEs	Extreme cold exposures
ILI	Integral leukocyte indices
NSI	Nuclear shift index
MCs	Myelocytes
MMCs	Metamyelocytes
BLs	Band leukocytes
SLs	Segmented leukocytes
LII	Leukocyte index of intoxication by Kalf-Kalif
LI	Leukocyte index
LSI	Leukocytes shift index
E	Eosinophils
B	Basophils
L	Lymphocytes
M	Monocytes
LGI	Lymphocyte-granulocyte index
INLR	Index of neutrophils and lymphocytes ratio
ILER	Index of lymphocytes to eosinophils ratio
INMR	Index of neutrophils to monocytes ratio
N	Neutrophils
ILMR	Index of lymphocytes and monocytes ratio
IA	Index of allergization
IAG	Index of adaptation by Garkavi
PCEs	Polychromatophylic erythrocytes
PCs	Plasmatic cells

Эффекты температуры универсальны и оказывают воздействие на все процессы в живом организме, влияя на их направленность и интенсивность. Практически любые изменения в организме млекопитающих, в частности формирование адаптационных реакций, в значительной степени связаны с количественно-качественными характеристиками лейкоцитарной формулы крови. Выраженность этих изменений зависит не только от силы и характера внешних воздействий, но и от уровня реактивности организма. Полноценное физиологическое функционирование лейкоцитов крови способствует поддержанию иммунного гомеостаза, они участвуют в реализации реакций врожденного и адаптивного иммунитета [1, 4, 6, 14, 17]. Лейкоциты формируют в крови и тканях мощный барьер для защиты от микробной, вирусной и паразитарной инфекций, поддерживают тканевую регенерацию и гомеостаз. Поскольку разные типы лейкоцитов выполняют определенные функции, то выявляя их патологические формы и изучая содержание молодых форм клеток, можно получить ценную прогностическо-диагностическую информацию [17].

Имеющиеся в литературе данные по влиянию температурного фактора на активность лейкоцитов достаточно противоречивы. При интенсивной

The temperature effects are versatile and have an impact on all the processes in a living organism, affecting their direction and intensity. Virtually any changes in mammalian body, in particular the formation of adaptive responses, are strongly associated with the quantitative and qualitative characteristics of blood leukocyte formula. The intensity of these changes depends not only on the strength and nature of external influences, but also on the level of organism's reactivity. An adequate physiological functioning of blood leukocytes contributes to the maintenance of immune homeostasis, they are involved into responses of innate and adaptive immunity [1, 8, 9, 21, 24]. Leukocytes form a powerful barrier in blood and tissues to protect against microbial, viral and parasitic infections, support the tissue regeneration and homeostasis. Since different types of leukocytes perform certain functions, it is possible to obtain valuable prognostic and diagnostic information by identifying their pathological forms and studying content of immature cells [24].

Published data on the temperature factor effect on the leukocyte activity are rather contradictory. During an intensive temperature (heat) load and spontaneous hyperthermia, there was revealed the interaction between organism's resistance and func-



температурной (тепловой) нагрузке и спонтанной гипертермии выявлена взаимосвязь между сопротивляемостью организма и функциональными свойствами лейкоцитов, а также определена направленность приспособительных реакций на клеточном уровне (компактизация клеточных структур и переход клеток на «сберегающий» тип реагирования) [7]. Изменения функциональной активности лейкоцитов «разграничены», поскольку они опосредуются внутриклеточными механизмами и возникают под влиянием гуморальных факторов. При этом активация лейкоцитарного звена крови происходит на фоне нейтропении и лимфоцитоза за счет высокой «цены» адаптации к температурному воздействию [17]. Степень выраженности изменений популяционного состава крови зависит от длительности, кратности и интенсивности холодового воздействия, глубины гипотермии [10–12, 23, 28, 30, 34, 36]. Кроме того, В.Н. Бринкевичем и соавт. [3] отмечается, что реакция лейкоцитарного звена крови на гипотермию отличается от классического ответа на стресс (нейтрофилез и лимфопения). При пролонгировании гипотермии стрессорные эффекты такого состояния могут преобладать над защитными [3]. При холодовом стрессе снижается функционально-метаболическая активность нейтрофилов, угнетается антиоксидантная система клеток, у части лейкоцитов проявляются иммуносупрессивные свойства, подавляется иммунореактивность организма [13]. Изменение температуры тела является активным модулятором и формирует долговременную физиологическую адаптацию. Это может осуществляться за счет увеличения способности мононуклеарных клеток экспрессировать белок теплового шока 70 кДа, усиливая их устойчивость и функциональную активность [5].

В связи с вышеизложенным, целью работы было сравнительное изучение влияния разных режимов охлаждения, со снижением температуры тела до 32 и 27°C (краниocereбральная и иммерсионная гипотермия соответственно), и без изменения температуры тела (поверхностные ритмические и экстремальные холодовые воздействия) на лейкоцитарные показатели крови крыс (соотношение типов лейкоцитов и интегральные лейкоцитарные индексы).

Материалы и методы

Работа проведена в соответствии с «Общими принципами экспериментов на животных», одобренными VI Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2016) и согласованными с положениями «Европейской конвенции о защите по-

тional properties of leukocytes, as well as the direction of adaptive responses at the cellular level was determined (compaction of cell structures and transition of cells to the ‘preserving’ response) [15]. Changes in functional activity of leukocytes are ‘distinguishable’, whereas they are mediated by intracellular mechanisms and arise under the influence of humoral factors. At the same time, activation of leukocyte component of blood occurs during neutropenia and lymphocytosis due to a high ‘price’ of adaptation to temperature exposures [24]. The intensity of changes in populational composition of blood depends on the duration, frequency and severity of cold exposure, hypothermia depth [11, 15–17, 18, 30, 33, 35]. Moreover, V.N. Brinkevich et al. [6] noted that the response of leukocyte component of blood to hypothermia differed from the classical one to a stress (neutrophilia and lymphopenia), and during hypothermia prolongation, the stress effects of this state may prevail over the protective ones [6]. During cold stress, the functional and metabolic activity of neutrophils is decreased, the antioxidant system of cells is inhibited, immunosuppressive properties are manifested in some leukocytes, and an organism’s immunoreactivity is depressed [20]. The change of body temperature is an active modulator and forms a long-term physiological adaptation. This can be implemented by increasing the ability of mononuclear cells to express the heat shock protein of 70 kDa, enhancing their resistance and functional activity [10].

In accordance with the abovementioned, the research aim was a comparative study of the effect of different cooling regimens, accompanied by a decrease in a body temperature down to 32 and 27°C (cranio-cerebral and immersion hypothermia, respectively), and without body temperature change (surface rhythmic and extreme cold exposures) on rat blood leukocyte indices (the ratio of leukocyte types and integrated leukocyte indices).

Materials and methods

The experiments were carried out in accordance with the General Principles of Experiments in Animals, approved by the 5th National Congress in Bioethics (Kyiv, 2016) and consistent with the statements of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986).

The research was performed in 6–7-month-old male outbred white rats before the experiment kept at the animal facility with natural light/dark cycle and a standard diet *ad libitum*.

The cranio-cerebral hypothermia (CCH) was performed in anesthetized animals for (60 ± 10) min



звоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986).

Эксперименты выполняли на 6–7-месячных самцах белых беспородных крыс, которые до начала эксперимента содержались в условиях вивария при естественном световом режиме на стандартном рационе *ad libitum*.

Краниocereбральную гипотермию (КЦГ) в течение (60 ± 10) мин до снижения температуры тела (ТТ) до $(32,5 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ (умеренный режим) проводили наркотизированным животным, используя установку для программного охлаждения производства СКТБ с ОП при Институте проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины [8]. Наркоз (смесь тиопентала натрия (ПАТ «Київмедпрепарат», Украина) и оксibuтирата натрия (ПАТ «Фармак», Украина) из расчета 30 и 100 мг/кг массы соответственно) использовали для подавления терморегуляторных реакций.

Иммерсионную гипотермию (ИГ) (снижение ТТ до $(27,5 \pm 0,5)^\circ\text{C}$) моделировали в тесте «вынужденное плавание» [24] в ледяной воде (0°C), длительность плавания составляла 5 мин.

Ритмические холодовые воздействия (РХВ) – поверхностное охлаждение организма потоком холодного воздуха – с периодичностью одно воздействие в 10 с и длительностью 65 мин проводились ненаркотизированным крысам, помещенным в отдельные ячейки, на охлаждающем устройстве с программным управлением производства СКТБ с ОП при ИПКиК НАН Украины, приспособленном для прерывистой подачи холодного воздуха с температурой $(5 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Экстремальные холодовые воздействия (ЭХВ) (общая криостимуляция, whole body cryostimulation) осуществляли в специальной криокамере для охлаждения мелких лабораторных животных [2]. В криокамере при температуре -120°C животное находилось однократно в течение 1,5 мин.

Температуру тела контролировали электронным термометром с помощью ректального датчика.

Забор крови для анализа проводили у интактных крыс (контрольная группа) ($n = 15$), через 40 мин после введения наркоза (контроль на действие наркоза) ($n = 5$), а также сразу и через 24 ч после проведения сеансов КЦГ, ИГ, РХВ и ЭХВ ($n = 5$ в каждой группе).

Количественно-качественную оценку типов лейкоцитов осуществляли в мазке крови, обработанном фиксатором Май-Грюнвальда («МиниМед», Россия) и окрашенном гематологическим красителем (по Романовскому) («МиниМед»). Затем рассчитывали интегральные лейкоцитарные

until the body temperature (BT) was reduced down to $(32.5 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ (moderate regimen) by means of the unit for programmable cooling (produced by the Special Constructing and Technical Bureau with Experimental Unit of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine [12]. Anesthesia (a mixture of sodium thiopental (PAT Kyivmedpreparat, Ukraine) and sodium hydroxybutyrate (JSC Farmak, Ukraine) in amount of 30 and 100 mg/kg of mass, respectively) were used to suppress thermoregulatory responses.

The immersion hypothermia (IH) (decrease of BT down to $(27.5 \pm 0.5)^\circ\text{C}$) was simulated with ‘forced swimming’ test [2] in ice-cold water (0°C), the duration of swimming was 5 min.

The rhythmic cold exposures (RCEs) (surface cooling of body with a stream of cold air) with repeated once per 10 sec and a duration of 65 min, non-narcotized rats were placed into separate cages of the unit for programmable cooling produced by the Special Constructing and Technical Bureau with Experimental Unit of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine adapted for intermittent cold air supply with the temperature of $(5 \pm 1)^\circ\text{C}$.

The extreme cold exposures (ECEs) (whole body cryostimulation) were performed in special cryochamber for the cooling of small laboratory animals [4]. An animal was once in the cryochamber at the temperature of -120°C for 90 sec.

Body temperature was measured with an electronic rectal thermometer.

Blood for analysis was sampled in intact rats (control group) ($n = 15$), in 40 min after the introduction of anesthesia (control for anesthesia effect) ($n = 5$), and also immediately and 24 hrs after the CCH, IH, RCEs and ECEs ($n = 5$ in each group).

Leukocyte types were quantitatively and qualitatively assessed in a blood smear fixed with May-Grunwald solution (MiniMed, Russia) and stained with hematological dye (according to Romanovsky) (MiniMed, Russia). Then, integral leukocyte indices (ILI) were calculated, allowing to evaluate the state of various components of immune system and non-specific resistance of organism in dynamics, without using special research methods [22, 25, 28, 31]. The nuclear shift index (NSI = $(\text{MCs} + \text{MMC}s + \text{BLs})/\text{SLs}$) determines the percentage ratio of immature and mature neutrophils; leukocyte index (LI = L/N) shows the ratio of humoral and cell immunity; leukocyte index of intoxication by Kalf-Kalif (LII = $(4\text{MCs} + 3\text{MMC}s + 2\text{BLs} + \text{SLs}) \times (\text{PCs} + 1)/(\text{L} + \text{M}) \times (\text{E} + 1)$) is the level of



индексы (ИЛИ), позволяющие оценить в динамике состояние различных звеньев иммунной системы и неспецифической резистентности организма, не прибегая к специальным методам исследования [15, 18, 20, 22]. Индекс ядерного сдвига (ИЯС = $(\text{Ми} + \text{Ю} + \text{П})/\text{С}$) определяет процентное соотношение молодых и зрелых форм нейтрофилов; лейкоцитарный индекс (ЛИ = $\text{Л}/\text{Н}$) отражает соотношение гуморального и клеточного звеньев иммунной системы; лейкоцитарный индекс интоксикации Кальф-Калифа (ЛИИ = $(4\text{Ми} + 3\text{Ю} + 2\text{П} + \text{С}) \times (\text{ПК} + 1)/(\text{Л} + \text{М}) \times (\text{Э} + 1)$) – уровень эндогенной интоксикации. Повышение индекса сдвига лейкоцитов (ИСЛ = $(\text{Э} + \text{Б} + \text{С} + \text{П})/\text{Л} + \text{М}$) свидетельствует об активном воспалительном процессе и нарушении иммунореактивности. Лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ЛГИ = $10\text{Л}/(\text{Ми} + \text{Ю} + \text{П} + \text{С} + \text{Э} + \text{Б})$) позволяет дифференцировать ауто- и инфекционную интоксикацию. Индекс соотношения нейтрофилов и лимфоцитов (ИСНЛ = $\text{П} + \text{С}/\text{Л}$) отражает соотношение клеток неспецифической и специфической защиты. Индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов (ИСЛЭ = $\text{Л}/\text{Э}$) ориентировочно отражает соотношение процессов гиперчувствительности немедленного и замедленного типов. По индексу соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ = $\text{Н}/\text{М}$) можно судить о соотношении компонентов микро- и макрофагальной системы. Индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ = $\text{Л}/\text{М}$) отражает взаимоотношение афферторного и эффекторного звеньев иммунологического процесса. Индексы аллергии (ИА = $\text{Л} + 1 - (\text{Э} + 1)/\text{П} + \text{С} + \text{М}$) и адаптации Гаркави (ИАГ = $\text{Л}/\text{С}$) отражают уровень алергизации и адаптации организма соответственно. Сокращения в приведенных формулах означают типы клеток: П – палочко- и С – сегментоядерные лейкоциты; Л – лимфоциты; М – моноциты; Н – нейтрофилы; Э – эозинофилы; Б – базофилы; Ми – миелоциты; Ю – юные формы (метамиелоциты), ПК – плазматические клетки (содержание в процентах).

Статистическую обработку полученных результатов проводили методом непараметрической статистики Крускала-Уоллиса с использованием программного обеспечения Statistica 6.0 («Mat-Stat Inc.»), США).

Результаты и обсуждение

Сравнительная характеристика изучаемых режимов холодовых воздействий представлена в табл. 1.

В первой серии экспериментов на первом этапе работы было изучено влияние разных режимов

endogenous intoxication. Increased the leukocyte shift index ($\text{LSI} = (\text{E} + \text{B} + \text{SLs} + \text{BLs})/\text{L} + \text{M}$) indicates an active inflammation and disordered immunoreactivity. The lymphocyte-granulocyte index ($\text{LGI} = 10\text{L}/(\text{MCs} + \text{MMCs} + \text{BLs} + \text{SLs} + \text{E} + \text{B})$) allows to differentiate auto- and infectious intoxication. The index of neutrophils and lymphocytes ratio ($\text{INLR} = \text{BLs} + \text{SLs}/\text{L}$) shows the one of cells of non-specific and specific protection. The index of lymphocytes to eosinophils ratio ($\text{ILER} = \text{L}/\text{E}$) roughly reflects the ratio of immediate and delayed hypersensitivity. The ratio of the components of micro- and macrophage system can be judged by the index of neutrophil to monocyte ratio ($\text{INMR} = \text{N}/\text{M}$). The index of lymphocytes and monocytes ratio ($\text{ILMR} = \text{L}/\text{M}$) represents the relation between the affector and effector components of immunological process. The indices of allergization ($\text{IA} = \text{L} + 1 - (\text{E} + 1)/\text{BLs} + \text{SLs} + \text{M}$) and adaptation by Garkavi ($\text{IAG} = \text{L}/\text{SLs}$) present the levels of allergization and adaptation of an organism, respectively. Abbreviations in the above formulas mean cell types such as: BLs – band and SLs – segmented leukocytes; L – lymphocytes; M – monocytes; N – neutrophils; E – eosinophils; B – basophils; MCs – myelocytes; MMCs – metamyelocytes (immature cells), PCs – plasmatic cells (expressed in percents).

The obtained results were statistically processed using the non-parametric Kruskal-Wallis statistic method with Statistica 6.0 software (MatStat Inc., USA).

Results and discussion

A comparative analysis of the studied regimens of cold exposures is presented in Table 1.

In the first series of experiments at the first stage of this research, the effect of different regimens of hypothermia as the CCH and IH, wherein BT was decreased down to (32.5 ± 0.5) and $(27.5 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, respectively.

During the CCH there is a forced cooling of cerebral structures (with anesthesia and neurovegetative blockade), resulting in appearance of a temperature gradient between the brain and the rest of a body. Such a cooling regimen prevents the occurrence of disorders in the functionality of cardiovascular and other systems of an organism. The CCH contributes to the transition of the organism to a new, more 'economic' functional level. The therapeutic effects of the CCH are the result of the reversible suppression of the main vital processes of the body [3, 34]. It has been known that specific body responses to the cold (in particular, muscle tremors and vasoconstriction) are accompanied with



Таблица 1. Характеристики холодových воздействий
Table 1. Characteristics of cold exposures

Параметры воздействий Exposure parameters	Вид воздействия Exposure type			
	Гипотермия Hypothermia		Поверхностное холодное воздействие Surface cold exposure	
	краниocereбральная cranioscerebral	иммерсионная immersion	ритмическое rhythmic	экстремальное extreme
Холодовой фактор Cold factor	Холодная поверхность Cold surface	Холодная вода Cold water	Холодный воздух Cold air	Холодный воздух Cold air
Температура, °C Temperature, °C	5	~0	5	-120
Охлаждаемая область Cooled area	Голова Head	Туловище Body	Поверхность всего тела Whole body surface	Поверхность всего тела Whole body surface
Длительность, минуты Duration, min	60 ± 10	5	65	1,5
Температура тела, °C Body temperature, °C	32,5 ± 0,5	27,5 ± 0,5	37	37
Дополнительные факторы Additional factors	Наркоз, блокада центров терморегуляции Anesthesia, blockade of centers of thermoregulation	Иммерсия Immersion	Конвекция Convection	Криокамера, экстремально низкая температура Cryochamber, extremely low temperature

гипотермии – КЦГ и ИГ, при которых ТТ снижалась до (32,5 ± 0,5) и (27,5 ± 0,5)°C соответственно.

При КЦГ происходит форсированное охлаждение церебральных структур (на фоне наркоза и нейровегетативной блокады), в результате чего возникает температурный градиент между температурой мозга и тела. Такой режим охлаждения предотвращает возникновение нарушений в работе сердечно-сосудистой и других систем организма. Проведение КЦГ способствует переходу организма на новый более «экономный» функциональный уровень. Терапевтические эффекты КЦГ являются следствием обратимого подавления основных процессов жизнедеятельности организма [25, 35]. Известно, что специфические реакции организма на холод (в частности, мышечная дрожь и вазоконстрикция) сопровождаются активацией обменных процессов. Такие реакции препятствуют снижению ТТ, что противоречит основной цели применения КЦГ – обеспечению снижения метаболизма, особенно в головном мозге. Поэтому КЦГ проводится на фоне наркоза, подавляющего эти реакции.

Наркоз, применяемый при КЦГ (ТТ снижалась на (1,0 ± 1,5)°C), способствовал снижению общего количества лейкоцитов (лейкопения) в крови крыс, увеличению доли палочкоядерных клеток, при этом количество остальных типов лейкоцитов не изменялось (табл. 2).

Лейкопении могут быть обусловлены нарушением образования лейкоцитов или их выхода в кровь из костного мозга, а также их гибелью и утилизацией. В зависимости от степени зрелос-

activation of metabolic processes. Such responses prevent the reduction of BT. This is not consistent with the main purpose of the CCH use, *i. e.* to reduce metabolism, especially in the brain. Therefore, the CCH was performed with anesthesia, suppressing these responses.

The anesthesia used at the CCH (BT is reduced by (1.0 ± 1.5)°C) contributed to a decrease of the leukocyte total number (leukopenia) in rat blood, an increase of band cells, whereas the number of other types of leukocytes was not changed (Table 2).

Leukopenias may be caused by leukopoiesis disorder or cell release into the blood from bone marrow, as well as their death and utilization. Depending on the maturity degree and nucleus shape there are the band (immature cells) and segmented (mature, phagocytosis-capable) neutrophils in blood. An increase of only the band leukocytes shows the degenerative shift of the blood leukocyte formula, indicating a suppression of bone marrow function, in particular leukopoietic one [1, 8].

Very few phenomena of amitosis were also observed in blood smears of anesthetized rats. In most cases, amitosis occurs in the cells with a reduced mitotic activity, as well as aging, pathologically altered, or dying cells.

At the CCH, like during the anesthesia, the total number of leukocytes in rat blood was decreased and the ratio of band cells was raised, during increase in the pool of segmented cells and eosinophils. In addition, plasmatic cells (PCs) (1:100), polychromatophilic erythrocytes (PCEs) (5–6–8 per field of view) were found. And *vice*



Таблица 2. Влияние краниocereбральной и иммерсионной гипотермии на соотношение типов лейкоцитов в крови крыс ($M \pm SE$)

Table 2. Effect of craniocerebral and immersion hypothermia on the ratio of leukocyte types in rat blood ($M \pm SE$)

Показатели Indices	Условия эксперимента Experimental conditions					
	Контроль Control	Наркоз Anesthesia	КЦГ CCH	Через 24 ч после КЦГ In 24 hrs after CCH	ИГ IH	Через 24 ч после ИГ In 24 hrs after IH
Общее количество, $\times 10^9/л$ Total number, $\times 10^9/l$	6,5 \pm 0,09	5,08 \pm 0,37*	5,67 \pm 0,26*	7,1 \pm 0,33*	8,45 \pm 0,81*	7,45 \pm 0,5*
Палочкоядерные лейкоциты, % Band leukocytes, %	1,93 \pm 0,42	4,0 \pm 0,73*	3,6 \pm 0,48*	3,6 \pm 0,81*	5,0 \pm 1,48*	3,14 \pm 0,92*
Сегментоядерные лейкоциты, % Segmented nuclear leukocytes, %	27,07 \pm 1,53	30,83 \pm 2,59	34,8 \pm 3,4*	46,9 \pm 6,3*	22,3 \pm 1,76*	31,1 \pm 2,54
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	65,53 \pm 1,34	59,17 \pm 4,15	53,9 \pm 3,8*	45,4 \pm 5,7*	68,6 \pm 2,27	59,7 \pm 2,37*
Эозинофилы, % Eosinophils, %	3,53 \pm 0,72	5,0 \pm 1,88	5,9 \pm 0,81*	3,0 \pm 1,19	2,8 \pm 0,7	2,3 \pm 0,58
Моноциты, % Monocytes, %	1,27 \pm 0,2	1,0 \pm 0	1,8 \pm 0,29	1,0 \pm 0	1,6 \pm 0,3	1,3 \pm 0,21

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

Note: * – differences are statistically significant if compared with the control, $p < 0.05$.

ти и формы ядра в крови выделяют палочкоядерные (более молодые) и сегментоядерные (зрелые, способные к фагоцитозу) нейтрофилы. Увеличение доли только палочкоядерных лейкоцитов характеризует дегенеративный сдвиг лейкоцитарной формулы крови, что указывает на угнетение лейкопоэтической функции костного мозга [1, 6].

В мазках крови наркотизированных крыс отмечали также единичные явления амитоза. В большинстве случаев амитоз наблюдается в клетках со сниженной митотической активностью, а также стареющих, патологически измененных или гибнущих клетках.

При КЦГ, как и наркозе, в крови крыс снижалось общее количество лейкоцитов и увеличивалась доля палочкоядерных клеток, но на фоне увеличения пула сегментоядерных клеток и эозинофилов. Кроме того были выявлены плазматические клетки (ПК) (1:100), полихроматофильные эритроциты (ПХЭ) (5–6–8 в поле зрения). Через 24 ч, напротив, общее количество лейкоцитов увеличивалось (лейкоцитоз), изменения соотношения типов лейкоцитов имели ту же направленность, что и в группе крыс сразу после КЦГ (32°C), при этом доля эозинофилов оставалась на контрольном уровне (табл. 2). Кроме ПК (1:100) и ПХЭ (5–6 в поле зрения) появлялись бластные и незрелые формы клеток (Ми и Ю), у части лейкоцитов наблюдали плазматизацию цитоплазмы.

Лейкоцитоз – ответная защитная реакция системы, и в сочетании со сдвигом лейкоцитарной формулы влево является нормальной реакцией костного мозга на раздражение [20].

versa, after 24 hrs the total number of leukocytes was increased (leukocytosis), changes in the ratio of leukocyte types had the same direction as in the rat group immediately after the CCH (32°C), herewith eosinophils ratio remained at the control level (Table 2). Moreover, excluding PCs (1:100) and PCEs (5–6 per field of view), blast and immature cell forms (MCs and MMCs) appeared, and ‘plasmation’ of cytoplasm was observed in some leukocytes.

Leukocytosis is a protective response of the system, and jointly with a shift of leukocyte formula to the left is a normal bone marrow response to irritation [28].

At the CCH and 24 hrs post-effect, an increase of the number of segmented neutrophils was observed together with a decrease in lymphocytes (Table 2). This can be a result of the physiological changes in organism associated with the ‘overstrain’ of the involved functional systems and stress.

It has been shown that the presence of lymphopenia and neutrophilia characterizes hypothermia as a strong stress factor, and narcotic substances do not always reduce the severity of stress reactions, and often are the stress factors themselves [6]. Lymphocytes are a subgroup of leukocytes responsible for an immune response and ‘immune memory’ in the body. It should be noted that rats, as mice and hamsters, have the blood lymphocytic profile, determining a high absolute number of lymphocytes.

The increase of band neutrophils number in combination with the appearance of immature cell



При КЦГ и через 24 ч отмечали увеличение количества сегментоядерных нейтрофилов на фоне уменьшения лимфоцитов (табл. 2), что может определяться физиологическими изменениями в организме, связанными с «перенапряжением» задействованных функциональных систем и стрессом.

Показано, что наличие лимфопении и нейтрофилиеза характеризует гипотермию как сильный стресс-фактор, а наркотические вещества не всегда снижают выраженность стрессовых реакций, а зачастую сами являются факторами стресса [3]. Лимфоциты – это подгруппа лейкоцитов, отвечающих в организме за иммунный ответ и «иммунную память». Следует отметить, что у крыс, как и у мышей и хомяков, лимфоцитарный профиль крови определяет высокое абсолютное количество лимфоцитов.

Увеличение числа палочкоядерных нейтрофилов в сочетании с появлением молодых форм клеток (Ми, метаМи) свидетельствует о регенеративном сдвиге лейкоцитарной формулы влево, а на фоне лейкоцитоза – о повышенной активности костного мозга, как и при КЦГ (табл. 2). Для полихроматофилии характерно одновременное присутствие слабощелочного гемоглобина и кислой субстанции, свойственной незрелым эритроидным клеткам, обнаруживаемое при интенсивном выходе в кровь молодых форм эритроцитов. Это является признаком хорошей регенеративной способности костного мозга [1, 13, 14] либо активации его гемопоэтической функции в результате действия физических факторов, в том числе и холода. В норме почти все ПК (производные В-лимфоцитов, антителосинтезирующие клетки) содержатся в периферических иммунных органах (селезенке, красном костном мозге и лимфатических узлах), однако при раздражении лимфоцитарного звена иммунитета они поступают в циркулирующую кровь. Появление в крови бластных (наиболее молодых, недифференцированных) клеток и плазматизация цитоплазмы (характерна для незрелых лейкоцитов) являются следствием интенсивного раздражения костного мозга и активации его функций. Лейкопении могут определяться сбоями в лейкопоэзе, разрушением лейкоцитов в сосудах и их утилизацией, а также перераспределительными нейтропениями, при которых нарушается соотношение пристеночного пула и циркулирующих клеток либо все нейтрофилы группируются в каком-то одном проблемном участке.

В работе А.Т. Billeter и соавт. [26] отмечено, что влияние гипотермии (ТТ 32°C) на моноциты опосредуется через transient receptor protein

forms (MCs, MMCs) testifies to a regenerative shift of the leukocyte formula to the left, and if leukocytosis is present, it shows an increased activity of bone marrow, as well as at the CCH (Table 2). Polychromatophilia is characterized by a simultaneous presence of weakly alkaline hemoglobin and an acidic substance, a feature of immature erythroid cells, revealed when these cells are actively released into the bloodstream. This testifies to a proper regenerative capacity of the bone marrow [10, 20, 21] or activation of its hematopoietic function as a result of the action of physical factors, including cold. Normally, almost all PCs (B-lymphocyte derivatives, antibody-synthesizing cells) are found in peripheral immune organs (spleen, red bone marrow and lymph nodes), but when the lymphocytic component of immunity is stimulated, they enter the circulating blood. The appearance in the blood of blast (the most immature, undifferentiated) cells and cytoplasm 'plasmatisation' (specific to immature leukocytes) are the result of an intense stimulation of bone marrow and activation of its functions. Leukopenias can be determined by failures in leukopoiesis, destruction of leukocytes in the vessels and their utilization, as well as redistributive neutropenias, within which the ratio of parietal pool and circulating cells is disturbed, or all the neutrophils are grouped in a trouble site.

A.T. Billeter et al. [5] noted that hypothermia effect (BT was 32°C) on monocytes was mediated through the transient receptor protein channels (TRP) A1 and V1: TRPA1 blockade or TRPV1 activation could be used to transform hypothermia effects into inflammatory response of monocytes. In our experiments the CCH (32°C) did not affect the number of monocytes in rat blood (Table 2).

The diagnostic and prognostic potential of ILI plays a significant role, whereas a certain combination of hemogram indices presents the integral characteristics of homeostatic systems of organism forming non-specific adaptive responses [22, 25, 28, 31]. The calculation of such indices allows us to evaluate the dynamics of response of blood system and indirectly judge about the state of various components of immune system and its reactivity.

In particular, the anesthesia used during the CCH contributed to an increase in the indices of nuclear and leukocyte shift (NSI and LSI), as well as INMR and INLR. This indicated the predominance of immature cells, components of microphage system, and cells of nonspecific protection, as well as damaged immunoreactivity. In addition, there was a tendency to an increase in ILER (activation of immediate-type hypersensitivity is possible) (Table 3).



channels (TRP) A1 и V1: блокада TRPA1 или активация TRPV1 могут использоваться для изменения эффектов гипотермии на воспалительный ответ моноцитов. В наших экспериментах КЦГ (32°C) не влияла на количество моноцитов в крови крыс (табл. 2).

Диагностическим и прогностическим возможностям ИЛИ отводится все большая роль, поскольку определенное сочетание показателей гемограммы отражает интегральные характеристики гомеостатических систем организма, формирующих неспецифические адаптационные реакции [15, 18, 20, 22]. Расчет таких индексов позволяет оценивать в динамике реакцию системы крови и косвенно судить о состоянии различных звеньев иммунной системы и ее реактивности.

Так, наркоз, применяемый при проведении КЦГ, способствовал повышению индексов ядерного и лейкоцитарного сдвига (ИЯС и ИСЛ), а также ИСНМ и ИСНЛ. Это указывает на преобладание молодых форм клеток, компонентов микрофагальной системы и клеток неспецифической защиты, а также на нарушение иммунореактивности. Кроме того, наблюдалась тенденция к повышению ИСЛЭ (возможна активация процессов гиперчувствительности немедленного типа) (табл. 3).

At the CCH, the ILI changes similar to the effect of anesthesia were observed (except LI, INMR and ILER, decreased if compared to the control group). This enabled to reveal an intoxication, activation of immediate-type hypersensitivity, the components of cell immunity and macrophage system (Table 3). In 24 hrs after the CCH, all the studied indices were changed (except ILMR) if compared with the control group; NSI, LSI and INLR remained increased, LI, LGI, IA, IAG were decreased the same as under anesthesia and CCH. In addition, ILER (activation of immediate-type hypersensitivity) and the Kalf-Kalif index (enhancement of endogenous intoxication) were increased (Table 3).

In the second series of experiments of the first stage of our research, the leukocyte indices of rat blood at the IH were studied. It was characterized by a sharp cooling of whole body surface, except head. The immersion hypothermia is one of the most dangerous types of natural hypothermia, whereas, due to a high thermal capacity of water, the process of heat release is significantly accelerated and BT is decreased rapidly (in our experiments BT is decreased down to 27°C within 5 min).

At the IH, unlike the CCH, the total number of leukocytes was increased; the rate of band cells was raised with a decrease of segmented neutrophils,

Таблица 3. Влияние краниocereбральной и иммерсионной гипотермии на интегральные лейкоцитарные индексы у крыс ($M \pm SE$)

Table 3. Effect of craniocerebral and immersion hypothermia on integral leukocyte indices in rats ($M \pm SE$)

Индексы Indices	Условия эксперимента Experimental conditions					
	Контроль Control	Наркоз Anesthesia	КЦГ CCH	Через 24 ч после КЦГ In 24 hrs after CCH	ИГ IH	Через 24 ч после ИГ In 24 hrs after IH
ИЯС NSI	0,06 ± 0,0	0,15 ± 0,02*	0,11 ± 0,02*	0,11 ± 0,02*	0,35 ± 0,11*	0,2 ± 0,04*
ЛИ LI	2,54 ± 0,22	2,03 ± 0,41	1,84 ± 0,33*	1,22 ± 0,21*	2,45 ± 0,23	1,71 ± 0,16*
ЛИИ LII	0,13 ± 0,02	0,19 ± 0,06	0,2 ± 0,04	1,21 ± 0,53*	0,38 ± 0,04*	0,6 ± 0,17*
ИСЛ LSI	0,49 ± 0,03	0,71 ± 0,15*	0,94 ± 0,12*	0,87 ± 0,09*	0,49 ± 0,05	0,66 ± 0,07*
ЛГИ LGI	20,09 ± 1,3	15,88 ± 2,14*	12,97 ± 1,79*	12,1 ± 1,29*	21,8 ± 2,44	15,77 ± 1,47*
ИСНЛ INLR	0,43 ± 0,04	0,63 ± 0,11*	0,79 ± 0,12*	0,82 ± 0,09*	0,43 ± 0,03	0,62 ± 0,07*
ИСЛЭ ILER	17,83 ± 2,89	28,02 ± 7,99	8,79 ± 1,23*	35,49 ± 6,13*	31,77 ± 7,92*	37,68 ± 6,35*
ИСНМ INMR	23,6 ± 2,4	34,83 ± 2,91*	24,15 ± 2,62	50,5 ± 5,87*	22,95 ± 3,18	31,33 ± 3,53*
ИСЛМ ILMR	54,2 ± 1,9	59,17 ± 4,15	41,83 ± 6,91*	53,5 ± 2,45	53,47 ± 6,41	56,5 ± 3,57
ИА IA	3,9 ± 0,45	2,93 ± 0,35*	2,93 ± 0,31*	2,51 ± 0,33*	3,77 ± 0,27	2,61 ± 0,75*
ИАГ IAG	2,57 ± 0,22	2,03 ± 0,27*	1,91 ± 0,27*	1,49 ± 0,15*	3,29 ± 0,34*	2,04 ± 0,21*

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

Note: * – differences are statistically significant if compared with the control, $p < 0.05$.

При КЦГ наблюдали сходные с действием наркоза изменения ИЛИ (кроме ЛИ, ИСНМ и ИСЛЭ, которые снижались по сравнению с контрольной группой), что позволило также выявить интоксикацию, активацию процессов гиперчувствительности замедленного типа, компонентов клеточного иммунитета и макрофагальной системы (табл. 3). Через 24 ч после КЦГ изменялись все изученные индексы (кроме ИСЛМ) по сравнению с контрольной группой; ИЯС, ИСЛ и ИСНЛ оставались повышенными, снижались ЛИ, ЛГИ, индексы аллергизации и адаптации как при наркозе и КЦГ. Кроме того, повышались ИСЛЭ (активация процессов гиперчувствительности немедленного типа) и индекс Кальф-Калифа (усиление эндогенной интоксикации) (табл. 3).

Во второй серии первого этапа работы изучали лейкоцитарные показатели крови крыс при ИГ, для которой характерно резкое охлаждение поверхности всего тела, кроме головы. Иммерсионная гипотермия – один из наиболее опасных видов естественной гипотермии, поскольку из-за высокой теплоемкости воды значительно ускоряется процесс отдачи тепла и ТТ снижается очень быстро (в наших экспериментах ТТ снижалась до 27°C в течение 5 мин).

При ИГ, в отличие от КЦГ, повышалось общее количество лейкоцитов; на фоне уменьшения части сегментоядерных нейтрофилов увеличивалась доля палочкоядерных клеток, количество других типов лейкоцитов не изменялось (см. табл. 2). В поле зрения появлялись юные и плазматические клетки (2:100), ПХЭ (2–6), у части лейкоцитов – плазматизация цитоплазмы. Через 24 ч после ИГ сохранялись лейкоцитоз и повышенный уровень палочкоядерных клеток, но уже на фоне лимфоцитопении (как при КЦГ и через 24 ч после КЦГ) (см. табл. 2). Это может указывать на истощение ресурсов костного мозга, иммунные нарушения и отражать физиологические изменения, связанные с перенапряжением и стрессом. Через 24 ч после ИГ в мазках крови крыс также наблюдали ПХЭ (1–3 в поле зрения), плазматические (2:100) и юные клетки, миелоциты.

Динамика лейкоцитарных индексов при ИГ была однонаправленной: ИЯС (почти в 6 раз), ЛИИ, ИСЛЭ и ИАГ повышались, остальные – не изменялись, что указывает на увеличение доли молодых нейтрофилов, интоксикацию и активацию реакции гиперчувствительности немедленного типа. Через 24 ч после ИГ изменялись все изученные индексы, кроме ИСЛМ: ЛИ, ЛГИ, индексы аллергизации и адаптации снижались на фоне повышения остальных индексов, что свидетельствует о преобладании клеточного звена им-

the number of other types of leukocytes was not changed (Table 2). Immature and plasmatic cells (2:100), PCEs (2–6) appeared in the field of view, and 'plasmaticization' of cytoplasm was observed in some leukocytes. In 24 hrs after IH, leukocytosis and higher level of band cells remained, but during lymphocytopenia (as at CCH and 24 hrs after CCH) (Table 2). This may indicate a depletion of bone marrow resources, immune disorders and reflect the physiological changes associated with 'overstrain' and stress. In 24 hrs after the IH, PCEs (1–3 per field of view), plasmatic (2:100) and immature cells (myelocytes) were also observed in rat blood smears.

The dynamics of leukocyte indices at the IH was unidirectional: NSI (almost in 6 times), LII, ILER and IAG were increased, the rest were unchanged, indicating an increase in immature neutrophils rate, activation of immediate-type hypersensitivity. In 24 hrs after the IH, all the studied indices were changed, except ILMR: LI, LGI; allergization and adaptation indices were decreased on a background of increasing other ones, indicating the predominance of cell immunity, cells of specific protection, components of macrophage system, intoxication, activation of delayed-type hypersensitivity as well (Table 3).

Thus, the CCH was accompanied with leukopenia, and IH was done by leukocytosis; the increase in band leukocytes rate and the appearance of PCs and PCEs occurred in both types of hypothermia, the ratio of the other types of leukocytes changed in different directions; plasmaticization of cytoplasm in some leukocytes was observed only at the IH. Under hypothermia, only NSI (increased) was changed evenly, the responses of various components of immune system during the IH were less expressed if compared to the CCH (at the CCH 9 out of 11 index values were changed, at the IH only 4 ones were changed) (Table 3). In 24 hrs after hypothermia, on a background of decreasing LI, LGI, and IA, the other indices increased, except ILMR, which was unchanged. That means that the intensity and direction of changes in the studied indices depended to a certain extent on the type and depth of hypothermia (BT reduction level).

The second stage of the research was to study the effects of surface cold exposures of varying intensity – RCEs and ECEs (Table 1), when BT was not decreased below the lower limit of normal range (37°C) for rats.

In the first series of experiments of the second stage, the effect of the RCEs (5°C) and a frequency close to the endogenous rhythms of the organism was studied. Systemic endogenous rhythms contribute to homeostatic regulation and stabilization of the



мунной системы, клеток специфической защиты, компонентов макрофагальной системы, а также об интоксикации, активации процессов гиперчувствительности замедленного типа (табл. 3).

Таким образом, КЦГ сопровождалась лейкопенией, а ИГ – лейкоцитозом; увеличение доли палочкоядерных лейкоцитов и появление ПК и ПХЭ происходило при обоих видах гипотермии, соотношение остальных типов лейкоцитов изменялось разнонаправленно; плазматизацию цитоплазмы у части лейкоцитов наблюдали только при ИГ. При гипотермии однонаправленно изменялся только ИЯС (повышался), реакции различных звеньев иммунной системы при ИГ были менее выражены по сравнению с КЦГ (при КЦГ изменялись значения 9 индексов из 11, при ИГ – только 4) (табл. 3). Через 24 ч после гипотермии на фоне снижения ЛИ, ЛГИ и ИА остальные индексы повышались, кроме ИСЛМ, который не изменялся. Следовательно, интенсивность и направленность изменений исследуемых показателей в определенной степени зависели от вида и глубины гипотермии (уровня снижения ТТ).

Вторым этапом исследования было изучение эффектов поверхностных холодových воздействий разной интенсивности – РХВ и ЭХВ (см. табл. 1), когда ТТ была не меньше нижней границы нормы (37°C) для крыс.

В первой серии экспериментов второго этапа изучали действие РХВ с температурой 5°C и частотой, близкой к эндогенным ритмам организма. Системообразующие эндогенные ритмы способствуют гомеостатической регуляции и стабилизации функциональной активности систем организма. Прерывистые ритмические раздражения активизируют неспецифические механизмы адаптации, а при экзогенных периодических воздействиях, скоррелированных с эндогенными ритмами организма, или навязывании искусственных резонансных ритмов можно достичь управления физиологическими реакциями [19].

После РХВ (5°C) в крови крыс отмечали снижение общего количества лейкоцитов и лимфоцитов на фоне увеличения доли моноцитов, палочко- и сегментоядерных клеток (табл. 4). Моноциты могут находиться не только в крови, но и в лимфатических узлах, а также в тканях, в которых происходит их трансформация в гистиоциты. Основными функциями моноцитов являются захват и обезвреживание чужеродных элементов в кровяном русле. Фагоцитарное действие моноцитов и стимуляция ими выработки интерферонов позволяет поддерживать иммунную защиту. Сразу после РХВ отмечали появление ПК (1:100), а также увеличение количества зрелых

functional activity of the body systems. Intermittent rhythmic stimulations activate nonspecific mechanisms of adaptation, and during exogenous periodic exposures correlated with endogenous rhythms of the body, or stimulation of artificial resonant rhythms, the control of physiological reactions can be achieved [26].

After the RCEs (5°C) a decrease in the total number of leukocytes and lymphocytes was observed in rat blood, on a background of increasing the rate of monocytes, band and segmented cells (Table 4). Monocytes can be found not only in blood, but also in lymph nodes, as well as in the tissues, wherein they are transformed into histiocytes. Capture and decontamination of xenogenous elements in bloodstream are the main functions of monocytes. The phagocytic action of monocytes and stimulation of the production of interferon enable to maintain the immune protection. Immediately after the RCEs there was observed an appearance of PCs (1: 100), as well as an increase in the number of mature forms with unchanged NSI (0.06–0.08) (Tables 4 and 5), testifying to a regenerative shift in leukocyte formula.

After the RCEs, there was an increase in LSI and INLR together with decreasing in LI, LGI, ILMR, allergization and adaptation indices (as at the CCH), testifying to inflammation and disordered immunoreactivity, a predominance of nonspecific protective cells and cell immunity, increased intoxication and activity of effector component of immune system. Increasing tendency of ILER indicates a possible activation of immediate-type hypersensitivity, but in this case the animals can be divided into two subgroups: control and the one of high values of this index (Table 5).

Repeated short-term exposures of exogenous factors of moderate strength in a certain controlled regimen may activate the stress-limiting and sanogenic systems. Obviously, the RCEs both due to its rhythmic components and cold factor and convection (air flow), contribute to alteration of the functional systems activity of the body by cold stimulation (hormesis) observed after the RCEs (5°C) previously [29], the effect of which is associated with an adaptation level of the organism.

Selectins and integrins are located on the surface of neutrophilic leukocytes. Neutrophils secrete a number of cytokines and colony-stimulating factors, providing their functional activity, interaction with endothelial cells, subsequent migration out of the bloodstream into tissues, and also determines the effects of neutrophils on the effector functions of other cells of organism [1, 8, 21]. In addition, specific neutrophil granules contain more



форм при неизменном ИЯС (0,06–0,08) (табл. 4 и 5), что свидетельствует о регенеративном сдвиге лейкоцитарной формулы.

После РХВ отмечено повышение ИСЛ и ИСНЛ на фоне снижения ЛИ, ЛГИ, ИСЛМ, индексов алергизации и адаптации (как и при КЦГ), что свидетельствует о воспалительном процессе и нарушении иммунореактивности, преобладании клеток неспецифической защиты и клеточного звена иммунной системы, повышении интоксикации и активности эффекторного звена иммунитета. Тенденция к увеличению ИСЛЭ указывает на возможную активацию процессов гиперчувствительности немедленного типа, но в этом случае животных можно разделить на две подгруппы: с контрольными и высокими значениями этого индекса (табл. 5).

Повторные кратковременные воздействия экзогенных факторов умеренной силы в определенном контролируемом режиме могут активизировать стресс-лимитирующие и саногенные системы. Очевидно, РХВ как за счет своих ритмических составляющих, так и холодового фактора и явления конвекции (поток воздуха), способствуют перестройке активности задействованных функциональных систем организма по типу холодового возбуждения (гормезиса), отмеченного после РХВ (5°C) [21], эффект которого связывают с уровнем адаптации организма.

На поверхности нейтрофильных лейкоцитов расположены селектины и интегрины. Нейтрофилы секретируют ряд цитокинов и колониестимулирующих факторов, что обеспечивает их функциональную активность, взаимодействие с эндотелиальными клетками, последующую миграцию из кровяного русла в ткани, а также определяет влияние нейтрофилов на эффекторные функции других клеток организма [1, 6, 14]. Кроме того, специфические гранулы нейтрофилов содержат более 20 протеолитических ферментов (в том числе большое количество эластазы, активация которой может приводить к разрушению тканей в очаге воспаления). Поскольку охлаждение сопровождается развитием оксидативного стресса [25, 35], происходят активация нейтро-

Таблица 4. Влияние поверхностных ритмических (5°C) и экстремальных (-120°C) холодовых воздействий на соотношение типов лейкоцитов в крови крыс ($M \pm SE$)

Table 4. Effect of surface rhythmic (5°C) and extreme (-120°C) cold exposures on the ratio of leukocyte types in rat blood ($M \pm SE$)

Показатели Indices	Условия эксперимента Experimental conditions			
	Контроль Control	РХВ RCEs	ЭХВ ECEs	Через 24 ч после ЭХВ In 24 hrs after ECEs
Общее количество, $\times 10^9/л$ Total number, $\times 10^9/l$	6,5 \pm 0,09	4,72 \pm 0,11*	6,6 \pm 0,1	5,4 \pm 0,7*
Палочкоядерные лейкоциты, % Band leukocytes, %	1,93 \pm 0,42	2,9 \pm 0,38*	2,0 \pm 0,6	3,1 \pm 0,3*
Сегментоядерные лейкоциты, % Segmented nuclear leukocytes, %	27,07 \pm 1,53	34,7 \pm 2,18*	39,0 \pm 2,3*	32,6 \pm 2,6*
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	65,53 \pm 1,34	57,7 \pm 2,37*	55,3 \pm 1,2*	52,4 \pm 3,9*
Эозинофилы, % Eosinophils, %	3,53 \pm 0,72	3,1 \pm 0,62	2,8 \pm 1,0	8,3 \pm 1,9*
Моноциты, % Monocytes, %	1,27 \pm 0,2	2,0 \pm 0,21*	1,0 \pm 0	2,4 \pm 0,4*

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

Note: * – differences are statistically significant if compared with the control, $p < 0.05$.

than 20 proteolytic enzymes (including a large amount of elastase, activation of which can lead to tissue destruction in the focus of inflammation). Whereas cooling is accompanied by the development of oxidative stress [2, 34], there are neutrophils' activation and the release of proteinases, *i. e.* there is a systemic response to stress, as evidenced by the previously obtained data on the rapid activation of elastases after the RCEs (5°C) [29].

In the next series of the second stage of the research, the response of the leukocyte component of rat blood to the action of extremely low temperatures (-120°C), *i. e.* the ECEs, was studied (Table 1). Recently, the whole-body cryostimulation within the range of -60...-160°C has been used in sports and rehabilitation medicine, to activate sanogenesis and restore the balance in human body, and also to treat some diseases [7, 11, 13, 19, 32], but the use of cryostimulation, according to G. Lombardi et al. [19], is not always scientifically substantiated and safe.

Immediately after the ECEs (-120°C), the total number of leukocytes was not changed in rat blood smears, the rate of segmented cells increased and lymphocyte rate decreased, the number of other types of leukocytes remained at the control level



Таблица 5. Влияние поверхностных ритмических (5°C) и экстремальных (-120°C) холодовых воздействий на интегральные лейкоцитарные индексы у крыс ($M \pm SE$)

Table 5. Effect of surface rhythmic (5°C) and extreme (-120°C) cold exposures on integral leukocyte indices in rats ($M \pm SE$)

Индексы Indices	Условия эксперимента Experimental conditions			
	Контроль Control	РХВ RCEs	ЭХВ ECEs	Через 24 ч после ЭХВ In 24 hrs after ECEs
ИЯС NSI	0,06 ± 0,0	0,09 ± 0,02	0,08 ± 0,02	0,17 ± 0,02*
ЛИ LI	2,54 ± 0,22	1,78 ± 0,24*	1,36 ± 0,26*	1,61 ± 0,29*
ЛИИ LII	0,13 ± 0,02	0,2 ± 0,05	0,23 ± 0,09	0,11 ± 0,04
ИСЛ LSI	0,49 ± 0,03	0,7 ± 0,08*	0,78 ± 0,04*	0,85 ± 0,11*
ЛГИ LGI	20,09 ± 1,3	14,99 ± 1,31*	12,66 ± 0,59*	13,37 ± 2,5*
ИСНЛ INLR	0,43 ± 0,04	3,52 ± 0,38*	0,74 ± 0,05*	0,73 ± 0,09*
ИСЛЭ ILER	17,83 ± 2,89	24,84 ± 5,12	25,88 ± 11,33	16,62 ± 6,36
ИСНМ INMR	23,6 ± 2,4	21,15 ± 2,86	41,0 ± 2,12*	19,44 ± 4,54
ИСЛМ ILMR	54,2 ± 1,9	33,15 ± 4,56*	55,25 ± 1,18	20,2 ± 6,16*
ИА IA	3,9 ± 0,45	2,47 ± 0,2*	2,26 ± 0,38*	3,93 ± 0,48
ИАГ IAG	2,57 ± 0,22	1,76 ± 0,21*	1,43 ± 0,29*	1,77 ± 0,32*

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

Note: * – differences are statistically significant if compared with the control, $p < 0.05$.

филов и высвобождение протеиназ, т. е. проявляется системная реакция на стресс, подтверждением чего могут служить полученные ранее данные о резкой активации эластаз при РХВ (5°C) [21].

В следующей серии второго этапа исследований изучали ответную реакцию лейкоцитарного звена крови крыс на действие экстремально низких температур (-120°C) – ЭХВ (см. табл. 1). В последние годы криостимуляция всего тела (whole-body cryostimulation) в диапазоне -60...-160°C применяется в спортивной и восстановительной медицине, для активации саногенеза и восстановления баланса в организме человека, а также для лечения ряда заболеваний [27–29, 31, 33], но использование криостимуляции, по мнению G. Lombardi и соавт. [31], не всегда научно обосновано и безопасно.

Сразу после ЭХВ (-120°C) в мазках крови крыс общее количество лейкоцитов не изменялось, увеличивалась доля сегментоядерных клеток и

(Table 4). As noted above, an increase in segmented neutrophils rate associated with lymphopenia may be associated with ‘overstrain’ of the involved functional systems and stress. Lymphopenia can be caused by physiological responses to a cold action, directed to increasing the functional activity of leukocytes and their destruction, as well as reducing their pool due to migration into tissues and decreasing formation of leukocytes. In 24 hrs after the ECEs, the total number of leukocytes and lymphocytes was decreased, the ratio of remaining cell types, especially eosinophils was increased (more than twice) (Table 4).

The reasons of increase in eosinophils level in blood are determined by the allergic readiness of the body, the combined increase in eosinophils and monocytes can be observed during infections [1, 8]. Various scholars reported [18, 33, 35] that after whole body cryostimulation in healthy men (athletes and military men), the total number of leukocytes, the rates of granulocytes and lymphocy-

снижалась доля лимфоцитов, количество остальных типов лейкоцитов оставалось на уровне контроля (см. табл. 4). Как отмечено выше, увеличение доли сегментоядерных нейтрофилов на фоне лимфопении может быть связано с перенапряжением задействованных функциональных систем и стрессом. Лимфопения может обуславливаться физиологическими реакциями в ответ на действие холода, направленными на повышение функциональной активности лейкоцитов и их разрушение, а также снижением их пула за счет миграции в ткани и уменьшения образования лейкоцитов. Через 24 ч после ЭХВ общее количество лейкоцитов снижалось, как и лимфоцитов, доля остальных типов клеток повышалась, особенно эозинофилов (более чем в 2 раза) (см. табл. 4). Причины повышения уровня эозинофилов в крови определяются аллергической готовностью организма, сочетанное увеличение эозинофилов и моноцитов может наблюдаться при инфекционных процессах [1, 6].

По данным других исследователей [30, 34, 36] после общей криостимуляции у здоровых мужчин (спортсмены и военные) общее количество лейкоцитов, доли гранулоцитов и лимфоцитов изменяются разнонаправленно и зависят от количества воздействий, индивидуальных антропологических параметров и выносливости человека. При этом, несмотря на увеличение их количества, лейкоциты всегда остаются в пределах физиологического диапазона, возможными причинами этого являются мобилизация лейкоцитов из костного мозга и их миграция из тканей резидентных органов, хотя объяснения этому феномену нет [31]. Предполагают, что увеличение пула циркулирующих нейтрофилов стимулирует ангиогенез через экспрессию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и, следовательно, улучшает перфузию и восстановление тканей [32].

Динамика ИЛИ при ЭХВ (-120°C) в основном была сходной с действием РХВ, кроме ИСЛМ (не изменялся) и ИСНМ (повышался), что указывает еще и на активацию макрофагальной системы. Через 24 ч после ЭХВ ИЯС повышался (почти в три раза) по сравнению с контрольной группой, ЛИ, ЛГИ, ИСЛМ и ИАГ снижались (как и при РХВ), ИА не изменялся (табл. 5).

Таким образом, сравнение эффектов поверхностных ритмических (5°C) и экстремальных (-120°C) холодовых воздействий разной интенсивности показало, что РХВ вызывали однонаправленные, но более выраженные по сравнению с ЭХВ и практически сходные по сравнению с группой через 24 ч после ЭХВ изменения. Следует отметить значительное повышение ИСНЛ

tes varied differently and depended on the number of exposures, individual anthropological parameters and human endurance. Herewith, despite the increase in the leukocyte number, the latter always remain within the physiological range, likely due to a mobilization of leukocytes from the bone marrow and their migration from the tissues of resident organs, although there is no explanation for this phenomenon [19]. It has been suggested that an increase in the pool of circulating neutrophils stimulated angiogenesis through the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and, therefore, improved tissue perfusion and regeneration [27].

The dynamics of ILI after the ECEs (-120°C) was mainly similar to the action of the RCEs, except for ILMR (unchanged) and INMR (increased), that also indicated the activation of macrophage system. In 24 hrs after the ECEs, the NSI was increased (almost in three times) if compared to the control group, LI, LGI, ILMR and IAG were decreased (as after RCEs), the IA was unchanged (Table 5).

Thus, a comparison of the effects of surface rhythmic (5°C) and extreme (-120°C) cold exposures of different intensity showed that the RCEs resulted in unidirectional changes, being more expressed if compared with the ECEs and quite similar if compared with the group 24 hrs after ECEs. It was found a significant increase in INLR (almost in eight times) after the RCEs and nearly two-fold increase in eosinophils' number 24 hrs after the ECEs (Tables 4 and 5).

Analysis of ILI changes during general cold injury [25] testifies to development of an expressed general inflammatory response in human organism and a significant intoxication in the early period after cooling. In the study of skin area after deep general hypothermia, O.D. Myadelets and A.F. Sukhanov [23] showed activation of neutrophilic leukocytes and macrophages, indicating an increase of dermal protective properties.

A group of the researchers headed by L.H. Garvavi [9] found that organism react to absolutely any effect with three adaptive responses (training, 'quiet' activation and 'heightened' activation), as well as the stress response that occurs only if the organism can not implement the first three ones. Training is characterized with the level of lymphocytes, corresponding to the lower norm limit; during 'quiet' activation response, it reaches the upper norm limit; during the 'heightened' activation response an increase in lymphocytes' number is observed together with decreasing the rate of segmented cells. These responses should be caused by weak influences, because high exposures can lead



(почти в 8 раз) при РХВ и почти двукратное увеличение количества эозинофилов через 24 ч после ЭХВ (см. табл. 4 и 5).

Анализ изменений ИЛИ при общей холодовой травме [18] (25) свидетельствует о развитии выраженной общей воспалительной реакции в организме людей и значительной интоксикации уже в ранние сроки после охлаждения. При исследовании участка кожи после глубокой общей гипотермии О.Д. Мяделец и А.Ф. Суханов [16] отмечают активацию нейтрофильных лейкоцитов и макрофагов, что указывает на повышение защитных свойств кожи.

Группой исследователей под руководством Л.Х. Гаркави [4] установлено, что организм на абсолютно любое воздействие отвечает тремя адаптивными реакциями (тренировки, спокойной активации и повышенной активации), а также реакцией стресса, возникающей только в том случае, если организма не может реализовать первые три. Для реакции тренировки характерен уровень лимфоцитов, соответствующий нижнему пределу нормы; при реакции спокойной активации он достигает верхней границы нормы; при реакции повышенной активации наблюдается увеличение количества лимфоцитов на фоне уменьшения доли сегментоядерных клеток. Такие реакции должны быть вызваны слабыми воздействиями, иначе они приобретают черты напряженности и могут приводить к развитию патологии, хотя многие процессы адаптации, протекающие с напряжением и возможным истощением вовлеченных функциональных систем, при определенных условиях могут стать тренирующими [4].

Так, применение умеренного режима КЦГ в наших экспериментах способствовало формированию у крыс одной из трех адаптивных реакций – реакции тренировки. Такой результат еще раз подтверждает полученные ранее данные о повышении холодовой устойчивости организма после умеренного режима КЦГ [9]. После ИГ с большой долей вероятности можно говорить о формировании реакции спокойной активации (см. табл. 2 и 3).

Таким образом, ответная реакция гомойотермного организма на влияние холодового фактора в некоторой степени зависит от интенсивности, длительности, кратности воздействия и степени снижения ТТ, а также времени, прошедшего с момента воздействия (через 24 ч после охлаждения). Сравнительный анализ состояния лейкоцитарного звена крови крыс и значений интегральных лейкоцитарных индексов показал, что применяемые режимы гипотермии и холодовых

to the development of pathology, although many adaptation processes accompanied with stress and possible exhaustion of involved functional systems become training, under certain conditions [8].

For example, the use of moderate regimen of the CCH in our experiments contributed to the formation in rats of one of the three adaptive responses, a training one. This result confirms once more the previously obtained data on the increase in the body's cold resistance after a moderate regimen of the CCH [14]. After the IH, it is more likely that we can talk about the formation of a 'quiet' activation response (Tables 2 and 3).

Thus, the response of homoiothermal organism on the effect of cold factor to some extent depends on the intensity, duration, frequency of exposure and the degree of BT decrease, as well as the time after exposure (24 hrs after cooling). A comparative analysis of the state of rat blood leukocytes and the values of leukocyte integral indices showed that the used hypothermia and cold exposure regimens (Table 1) changed the total number and quantitative-qualitative ratio of leukocyte types, and also, according to ILI dynamics, they activated certain components of immune system (Tables 2–5).

During excessive or insufficient activation of the mechanisms responsible for the development of stress, the resistance of organism may be decreased, especially when the stimulus action is not only excessive, but prolonged and continuous. Adaptation mechanisms and homeostasis preservation can be significantly decreased or even not be implemented under these conditions [9]. We suggested that the leukocytosis with a regenerative shift (at the IH and 24 hrs after CCH and IH), the appearance of plasmatic cells (after RCEs, immediately and 24 hrs after the IH and CCH), immature and blast cells, as well as polychromatophilic erythrocytes (immediately and in 24 hrs after the IH and CCH), *etc.* could also testify to the start or implementation of adaptive responses when cooling.

Conclusions

A comparison of the effects of the craniocerebral (32°C) and immersion (27°C) hypothermia, as well as surface rhythmic (5°C) and extreme (–120°C) cold exposures (without BT changes) enabled to reveal the similarities and differences in dynamics of leukocyte indices of rat blood.

There were observed leukocytosis (at the IH and 24 hrs after CCH and IH) and leukopenia (at the CCH, RCEs and 24 hrs after ECEs) together with decreasing lymphocytes rate (it was not changed at the IH), an increase in the number of band (under all the conditions except the ECEs) and seg-

воздействий (см. табл. 1) изменяют общее количество и количественно-качественное соотношение типов лейкоцитов, а также, по данным динамики ИЛИ, активируют определенные звенья иммунной системы (см. табл. 2–5).

При избыточной или недостаточной активации механизмов, ответственных за развитие стресса, может снижаться устойчивость организма, особенно если действие раздражителя является не только чрезмерным, но длительным и непрерывным. В этих условиях могут значительно снижаться или даже не реализовываться адаптационные механизмы и сохранение гомеостаза [4]. Мы предположили, что о запуске или реализации адаптационных реакций при охлаждении могут также свидетельствовать, в частности лейкоцитоз на фоне регенеративного сдвига (при ИГ и через 24 ч после КЦГ и ИГ), появление плазматических клеток (после РХВ, сразу и через 24 ч после ИГ и КЦГ), юных и бластных клеток, а также хроматофильных эритроцитов (сразу и через 24 ч после ИГ и КЦГ) и др.

Выводы

Сравнение эффектов краниocereбральной (32°C) и иммерсионной (27°C) гипотермии, а также поверхностных ритмических (5°C) и экстремальных (-120°C) холодовых воздействий (без изменения ТТ) позволило выявить сходства и различия в динамике лейкоцитарных показателей крови крыс.

Отмечали лейкоцитоз (при ИГ и через 24 ч после КЦГ и ИГ) и лейкопению (при КЦГ, РХВ и через 24 ч после ЭХВ); на фоне уменьшения доли лимфоцитов (при ИГ не изменялась) наблюдали увеличение количества палочко- (при всех состояниях, кроме ЭХВ) и сегментоядерных клеток (кроме ИГ), а также эозинофилов (только при КЦГ и через 24 ч после ЭХВ). В мазках крови были выявлены плазматические клетки (кроме групп с ЭХВ), полихроматофильные эритроциты и незрелые формы лейкоцитов (юные, бластные, миелоциты) (сразу и через 24 ч после обоих видов гипотермии), плазматизация цитоплазмы у части клеток (через 24 ч после КЦГ и ИГ).

Расчет интегральных лейкоцитарных индексов позволил выявить следующие изменения активности отдельных звеньев иммунной системы: преобладание клеточного звена иммунитета (при всех состояниях, кроме ИГ); повышенный уровень интоксикации (при ИГ и через 24 ч после обоих видов гипотермии); активация воспалительного процесса; нарушение иммунореактивности и преобладание клеток неспецифической защиты (во всех группах, кроме ИГ); активация макрофагальной системы (при ЭХВ и через 24 ч

mented cells (except the IH), as well as eosinophils (only at the CCH and 24 hrs after ECEs). Plasmatic cells (excluding groups with the ECEs), polychromatophilic erythrocytes and immature leukocytes (young, blast, myelocytes) (immediately and 24 hrs after both types of hypothermia), cytoplasm plasmation in some cells (in 24 hrs after the CCH and IH) were found in blood smears.

The calculation of integral leukocyte indices allowed to find the following changes in the activity of some components of immune system: the predominance of cell immunity (under all the conditions except the IH); increased intoxication level (at the IH and 24 hrs after both types of hypothermia); activation of inflammation, disorder of immunoreactivity and predominance of nonspecific protective cells (in all the groups except the IH); activation of macrophage system (at the ECEs and 24 hrs after hypothermia), immediate-type hypersensitivity (at all the stages, except the CCH, and 24 hrs after ECEs) and effector component of immunity (at the ECEs, RCEs and 24 hrs after ECEs); reduction of allergization degree in all the groups, except at the IH (there was an increase of allergization index and 24 hrs after the ECEs it was unchanged). An increase in the level of adaptive capabilities was observed only at the IH as well as prevalence of immature neutrophils in all the groups, except those with the RCEs.

References

1. Abdulkadyrov KM, editor. [Hematology, the newest guidance]. Moscow: EKSMO; 2004: 928 p. Russian.
2. Abel EL. Physiological correlates of the forced swim test in rats. *Physiol Behav.* 1993; 54(2): 309–17.
3. Alva N, Azuara D, Palomeque J, Carbonell T. Deep hypothermia protects against acute hypoxia in vivo in rats: a mechanism related to the attenuation of oxidative stress. *Exp Physiol.* 2013; 98(6): 1115–24.
4. Babiichuk VG, Kozlov AV, Lomakin II, Babiichuk GA, inventors; Institute for problems of cryobiology and cryomedicine of NAS of Ukraine, assignee. [Cryochamber for experimental cooling of laboratory animals]. Ukraine patent № 40168. 2009 March 25. Ukrainian.
5. Billeter AT, Galbraith N, Walker S, et al. TRPA1 mediates the effects of hypothermia on the monocyte inflammatory response. *Surgery.* 2015; 158(3): 646–54.
6. Brinkevich VN, Myadelets OD. [Quantitative changes in the peripheral blood during prolonged hypothermia]. *Problems of Cryobiology.* 1991; (3): 25–8. Russian.
7. Cuttall S, Hammond L, Langdon D, Costello J. Individualising the exposure of -110°C whole body cryotherapy: The effects of sex and body composition. *J Therm Biol.* 2017 Apr; 65: 41–7.
8. Dolgushin II, Bukharin OV. [Neutrophils and homeostasis]. Ekaterinburg: UrO RAS Publishing, 2001: 284 p. Russian
9. Garkavi LKh, Kvakina EB, Ukolova MA. [Adaptive reactions and resistance of the organism]. Rostov-on-Don: Rostov University Publishing; 1990. 223 p. Russian.
10. Goranchuk VV, Shustov EB, Andreeva LI, et al. [Adaptation of a person to hyperthermia and changes in peripheral blood leu-



после гипотермии), процессов гиперчувствительности немедленного типа (на всех этапах, кроме КЦГ и через 24 ч после ЭХВ) и эффекторного звена иммунитета (при КЦГ, РХВ и через 24 ч после ЭХВ); снижение степени аллергизации во всех группах (кроме ИГ – повышение и через 24 ч после ЭХВ – без изменения). Отмечено повышение уровня адаптивных возможностей только при ИГ и преобладание молодых форм нейтрофилов во всех группах, кроме РХВ.

Литература

1. Абдулкадыров КМ, редактор. Гематология, новейший справочник. Москва: ЭКСМО; 2004. 928 с.
2. Бабійчук ГО, Козлов ОВ, Ломакін ІІ, Бабійчук ВГ, винахідники; Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, патенто власник. Кріокамера для експериментального охолодження лабораторних тварин. Патент України № 40168. 25.03.2009.
3. Бринкевич ВН, Мяделец ОД. Количественные изменения периферической крови при пролонгированной гипотермии. Проблемы кріобіології. 1991; (3): 25–8.
4. Гаркави ЛХ, Квакина ЕБ, Уколова МА. Адаптационные реакции и резистентность организма. Ростов-на-Дону: Издательство Ростовского университета; 1990. 223 с.
5. Горанчук ВВ, Шустов ЕБ, Андреева ЛИ, и др. Адаптация человека к гипертермии и изменения в лейкоцитах периферической крови. Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова. 2001; (9): 1208–16.
6. Долгушин ИИ, Бухарин ОВ. Нейтрофилы и гомеостаз. Екатеринбург: Издательство УрО РАН; 2001. 284 с.
7. Зубарева ЕВ. Влияние интенсивной тепловой нагрузки на морфометрические показатели и функциональную активность лейкоцитов крови крыс. Научный результат. Серия «Физиология». 2014; (1): 27–34.
8. Королев ВВ, Бабійчук ГА, Бегунов ВГ, и др., изобретатели; Опытное производство Института проблем кріобіології и кріомедицины НАН УССР, патентообладатель. Аппарат для охлаждения и согревания головного мозга. А.с. СССР № 904695. 15.02.1982.
9. Ломако ВВ, Бабійчук ГА, Марченко ВС, и др. Норадренергические процессы в гипоталамусе крыс после двукратного воздействия кранио-церебральной гипотермии. Проблемы кріобіології. 1994; (4): 11–7.
10. Ломако ВВ, Пироженко ЛН. Лейкоциты при гипометаболических состояниях. Вісник проблем біології і медицини. 2010; (3): 61–5.
11. Ломако ВВ, Пироженко ЛН. Влияние гипертермии на лейкоцитарные показатели. Медичний форум. 2015; (5, Ч. 2): 50–2.
12. Ломако ВВ, Шило АВ, Коваленко ИФ, Бабійчук ГА. Эритроциты гетеро- и гомойотермных животных при естественной и искусственной гипотермии. Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2015; 51(1): 52–9.
13. Лосенок СА, Бровкина ИЛ, Прокопенко ЛГ. Коррекция этанолом и жирорастворимыми витаминами иммунометаболических нарушений при остром холодомовом стрессе. Человек и его здоровье. 2008; (3): 11–21.
14. Луговская СА, Козинец ГИ. Иерархия гемопозитических клеток: кинетика, структура и функции. Клиническая и лабораторная диагностика. 2009; (5): 21–37.
15. Мустафина ЖГ, Крамаренко ЮС, Кобцева ВЮ. Интегральные гематологические показатели в оценке иммунологической реактивности организма у больных с офтальмопатологией. Клиническая и лабораторная диагностика. 1999; (5): 46–8.
16. Мяделец ОД, Суханов АФ. Воздействие глубокой общей гипотермии на морфофункциональное состояние нейтрофильных лейкоцитов и макрофагов кожного региона. Проблемы кріобіології. 1991; (2): 23–7.
17. Kocytas]. Ros Fiziol Zhurn im. IM Sechenova. 2001; (9): 1208–16. Russian.
18. Kepinska M, Gdula-Argasinska J, Dabrowski Z, et al. Fatty acids composition in erythrocyte membranes of athletes after one and after a series of whole body cryostimulation sessions. Cryobiology. 2017; 74(1): 121–5.
19. Korolev VV, Babiychuk GA, Begynov VG, et al. inventors; Institute for problems of cryobiology and cryomedicine of NAS of Ukraine, assignee. [Apparatus for cooling and warming of the brain]. USSR C.A. (certificate of authorship) № 904695. 1982 Feb. 15.
20. Kulis A, Misiorek A, Marchewka J, et al. Effect of whole-body cryotherapy on the rheological parameters of blood in older women with spondyloarthritis. Clin Hemorheol Microcirc. 2017; 66(3): 187–95.
21. Lomako VV, Babijchuk GA, Marchenko VS, et al. Noradrenergic processes in rat hypothalamus after repeated craniocerebral hypothermic treatment. Problems of Cryobiology. 1994; (4):11–7.
22. Lomako VV, Pyrozhenko LN. [Influence of hyperthermia on leukocyte indices]. Medychnyy Forum. 2015; (5 Pt 2): 50–2. Russian.
23. Lomako VV, Pyrozhenko LN. [Leukocytes at hypometabolic states]. Visnik Problem Biologii i Medycyny. 2010; (3): 61–5. Russian.
24. Lomako VV, Shilo AV, Kovalenko IF, Babiichuk GA. Erythrocytes of hetero- and homoiothermic animals under natural and artificial hypothermia. J Evol Biochem Physiol 2015; 51(1): 58–66.
25. Lombardi G, Lanteri P, Porcelli S, et al. Hematological profile and martial status in rugby players during whole body cryostimulation. PLoS ONE [Internet]. 2013 Feb 1 [cited Dec 15 2017]; 8(2): e55803. Evaluable from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0055803>
26. Lombardi G, Ziemann E, Banfi G. Whole-Body Cryotherapy in Athletes: From Therapy to Stimulation. An Updated Review of the Literature. Front Physiol [Internet]. 2017 May 2 [cited Dec 15 2017];8:258. Evaluable from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2017.00258/full>
27. Losyenko SA, Brovkina IL, Prokopenko LG. [Correction with ethanol and fat-soluble vitamins immunometabolic disorders in acute cold stress]. Chelovek i Zdoroviye. 2008; (3): 11–21. Russian.
28. Lugovskaya SA, Kozinets GI. [Hierarchy hematopoietic cells: kinetics, structure and function]. Klin Lab Diagnostic. 2009; (5):21–37. Russian.
29. Mustafina ZhG, Kramarenko YuS, Kobtseva VYu. [Integral hematological indices in the evaluation of the immunological reactivity of the organism in patients with ophthalmopathology]. Klin Lab Diagnostic. 1999; (5): 46–8. Russian.
30. Myadelets OD, Sukhanov AF. [The effect of total deep hypothermia on the morphological and functional state of skin neutrophilic leukocytes and macrophages]. Problems of Cryobiology. 1991; (2): 23–7. Russian.
31. Nadezhdin SV, Fedorova MZ, Pavlov NA, Zubareva EV. [Changes in the functional activity of leukocytes in conditions of acute overheating of the organism]. Nauchnyie Vedomosti. Biologiya. 2008; 43(3): 5–11. Russian.
32. Oleynik GA. [Leukocyte indices in prognosis of the course and outcome of cold injury]. International medical journal. 2010;16(2): 63–9. Russian.
33. Pervushin YuV. [Resonance mechanisms of the change of biological states]. Biofizika. 1991; 3(3): 534–6. Russian.
34. Pournot H, Bieuzen F, Louis J, et al. Time-course of changes in inflammatory response after whole-body cryotherapy multiexposures following severe exercise. PLoS ONE [Internet]. 2011 Jul 28 [cited Dec 15 2017]; 6(7): e22748. Evaluable from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0022748>
35. Raznatovskaya EN. Integral indices of endogenous intoxication in patients with chemoresistant pulmonary tuberculosis. Aktual'ni pytannya farmatsevtichnoyi i medychnoyi nauky ta praktyky. 2012; 9(2): 119–20. Russian.
36. Samokhina LM, Starodub NF, Babiychuk GA, Lomako VV. Rhythmic cold effect on activity of elastases in female rats with alcohol-dependent hypertension. Problems of Cryobiology. 2012; 22(1): 49–60.
37. Shilo AV, Lutsenko DG, Ventskovskaia EA, et al. Effect of different types of cold acclimation on osmotic fragility and sphericity index of rat erythrocytes]. Ros Fiziol Zhurn im. I.M. Sechenova 2014; 100(1): 105–11. Russian.



17. Надеждин СВ, Федорова МЗ, Павлов НА, Зубарева ЕВ. Изменения функциональной активности лейкоцитов в условиях острого перегревания организма. Научные ведомости. Биология. 2008; 43(3): 5–11.
18. Олейник ГА. Лейкоцитарные индексы в прогнозировании течения и исходов холодовой травмы. Международный медицинский журнал. 2010; 16(2): 63–9.
19. Первушин ЮВ. Резонансные механизмы смены биологических состояний. Биофизика. 1991; 36(3): 534–6.
20. Разнатовская ЕН. Интегральные индексы эндогенной интоксикации у больных химиорезистентным туберкулезом легких. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2012; 9(2): 119–20.
21. Самохина ЛМ, Стародуб НФ, Бабийчук ГА, Ломако ВВ. Влияние ритмического холодового воздействия на активность эластаз у самок крыс с алкоголь-зависимой гипертензией. Проблемы криобиологии. 2012; 22(1): 49–60.
22. Сипливый ВА, Конь ЕВ, Евтушенко ДВ. Использование лейкоцитарных индексов для прогнозирования исхода перитонита. Клінічна хірургія. 2009; (9): 21–6.
23. Шило АВ, Луценко ДГ, Венцковская ЕА, и др. Влияние различных методов холодовой акклиматизации на осмотическую хрупкость и индекс сферичности эритроцитов крыс. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2014; 100(1): 105–11.
24. Abel EL. Physiological correlates of the forced swim test in rats. *Physiol Behav.* 1993; 54(2): 309–17.
25. Alva N, Azuara D, Palomeque J, Carbonell T. Deep hypothermia protects against acute hypoxia in vivo in rats: a mechanism related to the attenuation of oxidative stress. *Exp Physiol.* 2013; 98(6): 1115–24.
26. Billeter AT, Galbraith N, Walker S, et al. TRPA1 mediates the effects of hypothermia on the monocyte inflammatory response. *Surgery.* 2015; 158(3): 646–54.
27. Cuttell S, Hammond L, Langdon D, Costello J. Individualising the exposure of –110°C whole body cryotherapy: The effects of sex and body composition. *J Therm Biol.* 2017 Apr; 65: 41–7.
28. Kepinska M, Gdula-Argasinska J, Dabrowski Z, et al. Fatty acids composition in erythrocyte membranes of athletes after one and after a series of whole body cryostimulation sessions. *Cryobiology.* 2017; Feb; 74(1): 121–5.
29. Kulis A, Misiorek A, Marchewka J, et al. Effect of whole-body cryotherapy on the rheological parameters of blood in older women with spondyloarthritis. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2017; 66(3): 187–95.
30. Lombardi G, Lanteri P, Porcelli S, et al. Hematological profile and martial status in rugby players during whole body cryostimulation. *PLoS ONE* [Internet]. 2013 Feb 1 [cited Dec 15 2017]; 8(2): e55803. Evaluable from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0055803>.
31. Lombardi G, Ziemann E, Banfi G. Whole-Body Cryotherapy in Athletes: From Therapy to Stimulation. An Updated Review of the Literature. *Front Physiol* [Internet]. 2017 May 2 [cited Dec 15 2017]; 8:258. Evaluable from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2017.00258/full>.
32. Pournot H, Bieuzen F, Louis J, et al. Time-course of changes in inflammatory response after whole-body cryotherapy multiexposures following severe exercise. *PLoS ONE* [Internet]. 2011 Jul 28 [cited Dec 15 2017]; 6(7): e22748. Evaluable from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0022748>.
33. Stanek A, Sieroń-Stońny K, Romuk E, et al. Whole-body cryostimulation as an effective method of reducing oxidative stress in healthy men. *Adv Clin Exp Med.* 2016; 25(6): 1281–91.
34. Szygula Z, Lubkowska A, Giemza C, et al. Hematological parameters, and hematopoietic growth factors: EPO and IL-3 in response to whole-body cryostimulation (WBC) in military academy students. *PLoS ONE* [Internet]. 2014 Apr 2 [cited Dec 15 2017]; 9(4): e93096. Evaluable from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0093096>.
35. Turk EE. Hypothermia. *Forensic. Sci Med Pathol.* 2010; 6(2): 106–15.
36. Ziemann E, Olek RA, Kujach S, et al. Five-day whole-body cryostimulation, blood inflammatory markers, and performance in high-ranking professional tennis players. *J Athl Train.* 2012; 47(6): 664–72.
31. Siplivy VA, Kon EV, Evtushenko DV. [Use of leukocyte indices for predicting the outcome of peritonitis]. *Klinichna Hirurgiya.* 2009; (9): 21–6. Russian.
32. Stanek A, Sieroń-Stońny K, Romuk E, et al. Whole-Body Cryostimulation as an Effective Method of Reducing Oxidative Stress in Healthy Men. *Adv Clin Exp Med.* 2016; 25(6): 1281–91.
33. Szygula Z, Lubkowska A, Giemza C, et al. Hematological parameters, and hematopoietic growth factors: EPO and IL-3 in response to whole-body cryostimulation (WBC) in military academy students. *PLoS ONE* [Internet]. 2014 Apr 2 [cited Dec 15 2017]; 9(4): e93096. Evaluable from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0093096>.
34. Turk EE. Hypothermia. *Forensic. Sci Med Pathol.* 2010; 6(2): 106–15.
35. Ziemann E, Olek RA, Kujach S, et al. Five-day whole-body cryostimulation, blood inflammatory markers, and performance in high-ranking professional tennis players. *J Athl Train.* 2012; 47(6): 664–72.
36. Zubareva EV. [Influence of intensive heat load on morphometric indices and functional activity of leukocytes of rat blood]. *Nauchnyi rezultat. Seriya Fiziologiya.* 2014; (1): 27–34. Russian.