

## Изменение осмотической хрупкости и индекса сферичности эритроцитов крыс разного возраста при холодовых воздействиях

Д.А. Острась, Д.Г. Луценко, В.В. Ломако, И.Ф. Коваленко, А.В. Шило  
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

## Changes in Erythrocytes Osmotic Fragility and Sphericity Index in Rat's of Different Ages Under Cold Exposures

D.A. Ostras, D.G. Lutsenko, V.V. Lomako, I.F. Kovalenko, O.V. Shylo

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

Для обеспечения необходимого уровня метаболизма органов и тканей при контакте с холодовым фактором происходят последовательная активация периферических терморепцепторов, симпатической нервной системы, несократительного, а в случае необходимости и сократительного термогенеза, повышение артериального давления и усиление кровотока. Изменение кровотока (в совокупности с сопутствующим повышением уровня свободных радикалов и гормонов) увеличивают нагрузку на эритроциты, что может привести к появлению дефектов их мембраны и, как следствие, к изменению формы эритроцитов.

Цель исследования – изучение влияния длительного постоянного (ПХВ) и кратковременных ритмических холодовых воздействий (РХВ) на осмотическую хрупкость (ОХ) и индекс сферичности (ИС) эритроцитов крыс разного возраста.

Эксперименты проводили в соответствии с требованиями комитета по биоэтике ИПКиК НАН Украины. В работе использовали самцов белых беспородных крыс 6-, 12- и 24-месячного возраста. При ПХВ животных выдерживали при температуре окружающей среды 1–7°C в течение 5 недель (пища и вода *ad libitum*). Ритмические холодовые воздействия (РХВ) проводили в течение 2-х суток при –12°C или 10°C (РХВ–12°C и РХВ10°C соответственно) следующим образом: первые 15 минут каждого часа в светлое время суток животные подвергались воздействию холода, следующие 45 минут они находились при 26°C со свободным доступом к воде и пище (всего 9 РХВ в сутки). Методом малоуглового рассеивания света получали кривые ОХ эритроцитов. Формы эритроцитов оценивали по распределению их ИС [O.I. Gordiyenko *et al.*, 2003].

Значимых различий ОХ эритроцитов у интактных и после РХВ10°C крыс разных возрастных групп обнаружено не было. Осмотическая хрупкость снижалась у 6- и 24-месячных животных после РХВ–12°C (с  $0,52 \pm 0,01$  до  $0,48 \pm 0,01$ ) и с  $0,5 \pm 0,01$  до  $0,47 \pm 0,01$  соответственно), а также у 24-месячных животных после ПХВ (с  $0,5 \pm 0,01$  до  $0,46 \pm 0,01$ ). Стойкость эритроцита к гемолизу связана с его физиологическим состоянием и возрастом. Функция распределения эритроцитов по ИС указывает на количественное соотношение различных форм клеток в популяции эритроцитов. Ответная реакция популяции клеток на изученные холодовые воздействия 6-, 12- и 24-месячных крыс проявляется в увеличении количества нормальных и уплощенных (высокорезистентных) дискоцитов, и уменьшении количества форм, более близких к сферическим.

Таким образом, адаптивная реакция крови на холодовые воздействия проявляется в увеличении гомогенности популяции и снижении ОХ эритроцитов.

In order to provide the necessary level of metabolic activity of organs and tissues when contacting with cold environment factor, a consistent activation of peripheral thermoreceptors, sympathetic nervous system, non-shivering and, if necessary, shivering thermogenesis, as well as an increase in blood pressure and blood flow occur. The change in blood flow (together with accompanying change in free radical and hormone levels) increases the load on erythrocytes, which may entail the appearance of defects in their membranes and, consequently, a change in mechanical stability/shape of erythrocytes.

The aim of the research was to study the effect of long-term constant (LTCE) and short-term rhythmic cold effects (RCE) on osmotic fragility (OF) and sphericity index (SI) of erythrocytes of differently aged rats.

The experiments were carried out in accordance with the requirements of the Committee on Bioethics of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NAS of Ukraine. White outbred 6-, 12- and 24-month-old male rats were used in the experiments. Under LTCE, a group of animals was kept at ambient temperature of 1–7°C for 5 weeks (food and water *ad libitum*). RCEs were carried out for 2 days at –12°C or 10°C (RCE–12°C and RCE–10°C, respectively) as follows: the first 15 minutes of each hour during daylight hours the animals were exposed to cold, next 45 minutes they were at 26°C with free access to water and food (9 RCE per day, in total). The curves of erythrocyte OF were obtained using the small angle light scattering method. The erythrocyte shapes were assessed by their SI distribution [O.I. Gordiyenko *et al.*, 2003].

There were no significant differences in the erythrocyte OF in the intact rats and those after RCE–10°C in different age groups. The OF decreased in 6- and 24-month-old animals after RCE–12°C (from  $0.52 \pm 0.01$  down to  $0.48 \pm 0.01$  and from  $0.5 \pm 0.01$  down to  $0.47 \pm 0.01$ , respectively), as well as in 24-month-old animals after LTCE (from  $0.5 \pm 0.01$  down to  $0.46 \pm 0.01$ ). The erythrocyte resistance to hemolysis is associated with its physiological state and age. The erythrocyte distribution function by SI indicates the proportion of various cell shapes in erythrocyte population. The response of cell population to the studied cold exposure of 6-, 12- and 24-month-old rats is manifested in an increased number of normal and flattened (high-resistant) discocytes, and a decreased number of erythrocytes, the shapes of which are close to spherical ones.

Thus, the adaptive blood response to cold exposures is manifested in an increase in population homogeneity and a decrease in the erythrocyte OF.

