

Изучение клеточных механизмов холодовой адаптации млекопитающих

О.В. БОНДАРЕНКО

Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Investigation of Cell Mechanisms of Mammal Cold Adaptation

O.V. BONDARENKO

V.N. Karazin Kharkov National University
Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

Интересной моделью исследования температурной адаптации организма млекопитающих является модель искусственного гипобиоза по методу Andjus-Bachmetjev-Giaya (ABG) (Andjus R.K., Smith A.U., 1955). При этом снижается температура тела млекопитающего до 16–17°C. В целом по некоторым параметрам организма животное переходит в состояние, сходное с естественной гибернацией (Mel'nychuk S.D., Vykhoanets' V.I., 2005).

Цель работы – выявить различия в реакции клеток гомойотермных (крыс) и гетеротермных (хомяков) животных на пребывание их в состоянии искусственного гипобиоза по методу ABG.

Удобным объектом исследования клеточных реакций является эритроцит. Тем более что кровеносная система зимоспящих, в отличие от других систем, продолжает функционировать и при субнулевой температуре тела гибернаторов.

Campanella *et al.* (2005), Chu и Low (2006) показали, что ключевые ферменты гликолиза могут переходить в мембранно-связанное состояние, что ингибирует их активность. При этом их связывание с цитоплазматическим доменом белка полосы 3 конкурирует со связыванием гемоглобина в дезоксиформе. Мы предполагаем, что это происходит и в случае подстройки метаболизма эритроцита к гипометаболическому состоянию организма.

В работе исследовали эритроциты крыс и хомяков: контрольных, в состоянии ABG и через 2 и 24 ч после ABG, а для хомяков – также и в состоянии зимней и внесезонной спячки. Динамическое состояние цитозоля оценивали методом ЭПР спиновых зондов с использованием гидрофильного ТЕМПОНа и уширяющего агента – феррицианида калия, не проникающего в интактные эритроциты.

Обнаружено, что состояние искусственного гипобиоза сопровождается выраженным снижением (20%) микровязкости цитозоля как у хомяков, так и у крыс. Через 2 ч после воздействия физиологические показатели животных не отличались от контрольных. Однако изменения динамического состояния цитозоля наблюдались вплоть до 24 ч после ABG и различались для гомойотермных и гетеротермных млекопитающих. Микровязкость цитозоля эритроцитов “зимних” и “осенних” хомяков снижалась на $28 \pm 2\%$ и динамическое состояние цитозоля было близким к характерному для зимней гибернации. У “летних” хомяков и крыс через сутки после гипобиоза оно приближалось к контролю.

Снижение микровязкости цитозоля может быть следствием увеличения в нем количества свободной воды в результате перехода некоторых цитозольных компонентов в мембранно-связанное состояние или увеличения объема клетки, однако результаты световой микроскопии свидетельствуют, что объем эритроцитов существенно не изменялся.

An artificial hypobiosis model according to the Andjus-Bachmetjev-Giaya (ABG) method (Andjus R.K., Smith A.U., 1955) is an interesting one for studying mammal organism temperature adaptation. It results in mammal body temperature decrease down to 16–17°C. In general, under some physiological parameters an animal transits into a state similar to a natural hibernation (Mel'nychuk S.D., Vykhoanets' V.I., 2005).

The goal of our study is to realize if there are any differences between heterotherm and homoiotherm mammals in their cell response to the state of artificial hypobiosis according to the ABG-method.

A convenient object of cell response studies is an erythrocyte. Especially due to the fact that the circulatory system of hibernators unlike some others continues functioning even at subzero body temperature.

Campanella *et al.* (2005), Chu & Low (2006) have shown that key glycolytic enzymes (GEs) turn into membrane-bound state that inhibits its activity. Herewith the GEs compete with desoxyhemoglobin for binding centers on a band 3 cytoplasm domain. We suggest that these events occur to tune erythrocyte metabolism up organism hypometabolic state.

Erythrocytes of rats and Syrian hamsters: control, in ABG-state and 2 and 24 hrs after it were investigated. RBCs from winter-hibernating hamsters and those from non-seasonal hibernations were also investigated. A cytosol dynamic state was evaluated by EPR spin probe method using TEMPON hydrophilic probe and broadening agent potassium ferricyanide, which don't penetrate into intact erythrocytes.

It was found that hypometabolic state (ABG) induced significant (20%) cytosol microviscosity decreasing for both hamsters and rats. There were no differences in physiological state of the animals in comparison to the control group 2 hours later ABG-state. However changes in cytosol dynamic state were revealed up to 24 hours after ABG-state and were different for heterotherm and homoiotherm mammals. Cytosol microviscosity for “winter” and “autumn” hamsters decreased by $28 \pm 2\%$, and dynamic state of cytosol became similar to typical for winter hibernation state. However for “summer” hamsters and rats it became similar to the control in a day after hypobiosis.

The observed decrease in cytosol microviscosity may be a result of increasing the quantity of free water due to transition of some cytosole components into membrane-bound state. Lowering of erythrocytes' cytosol microviscosity could also be initiated by increasing of cellular volume; however, results of light microscopy indicate that volume of erythrocytes remained unchanged.