

УДК 612.592:612.112-084.612.111.014.43:391.128.2

ВЛИЯНИЕ ОБЩЕГО ОХЛАЖДЕНИЯ ГОМОЙОТЕРМНОГО ОРГАНИЗМА НА ЭРИТРО- И ЛЕЙКОЦИТАРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ

В. В. Ломако¹, Л. Н. Пироженко², А. В. Шило¹

¹ *Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, г. Харьков, 61016, victoria@regia@gmail.com*

² *КП «Люботинская городская больница», ул. Шевченко, 15, Харьковская область, г. Люботин, 62433*

Реферат. Цель – изучить реакции эритро- и лейкоцитарного звеньев крови крыс на действие общей иммерсионной гипотермии (ИГ). **Методы.** Модель ИГ в тесте «вынужденное плавание» в воде при 0°C (5 мин до 27°C). Динамику трансформации и распределение форм эритроцитов изучали методом малоуглового рассеяния света. В мазках крови определяли типы и количество лейкоцитов. Рассчитывали индексы трансформации эритроцитов (ИТЭ) и интегральные лейкоцитарные индексы (ИЛИ). **Результаты.** При ИГ доля дискоцитов уменьшалась на фоне увеличения измененных форм эритроцитов; повышались индексы трансформации, обратимой и необратимой трансформации; отмечались лейкоцитоз, уменьшение доли сегментоядерных нейтрофилов на фоне увеличения палочкоядерных, плазматизация цитоплазмы у единичных лейкоцитов, появление юных, полихроматофильных и плазматических клеток. Расчет ИЛИ выявил усиление процессов тканевого распада, гиперчувствительности немедленного типа и повышение индекса адаптации Гаркави. Через 24 ч после ИГ, напротив, доля нормальных форм увеличивалась за счет уплощенных дискоцитов, а измененных – уменьшалась за счет их элиминации из кровяного русла. Повышался (на порядок) только индекс необратимой трансформации, остальные – снижались. Через 24 ч после ИГ лейкоцитоз и увеличение палочкоядерных нейтрофилов отмечались уже на фоне лимфопении, также наблюдались молодые, полихроматофильные и плазматические клетки. Расчет ИЛИ указывал на активацию клеточного иммунитета, клеток специфической защиты, процессов гиперчувствительности замедленного типа и компонентов макрофагальной системы, на усиление процессов тканевого распада, интоксикации и аллергизации. **Выводы.** Проведение ИГ значительно меняет количественно-качественное соотношение форм и типов клеток крови крыс, влияет на процессы трансформации эритроцитов и активацию отдельных звеньев иммунитета (по данным расчета ИТЭ и ИЛИ соответственно). Направленность и интенсивность отмеченных изменений зависит от сроков наблюдения (сразу и через 24 ч после охлаждения).

Ключевые слова: иммерсионная общая гипотермия, эритроциты, лейкоциты, индексы трансформации эритроцитов, интегральные лейкоцитарные индексы, крысы.

ВПЛИВ ЗАГАЛЬНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ ГОМОЙОТЕРМНОГО ОРГАНІЗМУ НА ЕРИТРО- ТА ЛЕЙКОЦИТАРНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ

В. В. Ломако¹, Л. Н. Пироженко², О. В. Шило¹

¹ *Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, м. Харків, victoria@regia@gmail.com*

² *КП «Люботинська міська лікарня», м. Люботин*

Реферат. Мета – вивчити реакції еритро- і лейкоцитарної ланок крові щурів на дію загальної імерсійної гіпотермії (ІГ). **Методи.** Модель ІГ в тесті «вимушене плавання» у воді при 0°C (5 хвилин до 27°C). Динаміку трансформації і розподіл форм еритроцитів вивчали методом малокутового розсіювання світла. У мазках крові визначали типи і кількість лейкоцитів. Розраховували індекси трансформації еритроцитів (ІТЕ) і інтегральні лейкоцитарні індекси (ІЛІ). **Результати.** В умовах ІГ частка дискоцитів зменшувалася на фоні збільшення змінених форм еритроцитів; підвищувалися індекси трансформації, оборотної і необоротної трансформації; відзначалися лейкоцитоз, зменшення частки сегментоядерних нейтрофілів на тлі збільшення паличкоядерних, плазматизація цитоплазми у поодиноких лейкоцитів, поява юних, поліхроматофілних і плазматичних клітин. Розрахунок ІЛІ виявив посилення процесів тканинного розпаду, гіперчутливості негайного типу і підвищення індексу адаптації Гаркаві. Через 24 години після ІГ, навпаки, частка нормальних форм збільшувалася за рахунок сплюснених дискоцитів, а змінених – зменшувалася за рахунок їх елімінації з кров'яного русла.

Підвищувався (на порядок) лише індекс незворотної трансформації, інші – знижувалися. Через 24 години після ІГ лейкоцитоз і збільшення паличкоядерних нейтрофілів відзначалися вже на тлі лімфопенії, також спостерігалися молоді, поліхроматофільні і плазматичні клітини. Розрахунок ІЛІ вказував на активацію клітинного імунітету, клітин специфічного захисту, процесів гіперчутливості уповільненого типу і компонентів макрофагальної системи, на посилення процесів тканинного розпаду, інтоксикації і алергізації. **Висновки.** ІГ значно змінює кількісно-якісне співвідношення форм і типів клітин крові щурів, впливає на процеси трансформації еритроцитів і активацію окремих ланок імунітету (за даними розрахунку ІТЕ та ІЛІ відповідно). Спрямованість та інтенсивність зазначених змін залежить від термінів спостереження (відразу і через 24 години після охолодження).

Ключові слова: іммерсійна загальна гіпотермія, еритроцити, лейкоцити, індекси трансформації еритроцитів, інтегральні лейкоцитарні індекси, щури.

THE EFFECT OF GENERAL COOLING OF HOMEOTHERMIC ORGANISM ON THE ERYTHROCYTE AND LEUKOCYTE INDICES OF THE BLOOD

V. V. Lomako¹, L. N. Pyrozhenko², O. V. Sylo¹

¹ *Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine, National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, victoria0regia@gmail.com*

² *Utility Enterprise Liubotyn City Hospital, Liubotyn*

Abstract. The **objectives** of the study were the investigation of reactions of the erythrocyte and leukocyte links of rat's blood under general immersion hypothermia (IH). **Methods.** The IH was simulated by "forced swimming" test in cold water (0°C, 5 min, down to 27°C). The dynamics of erythrocyte transformation and distribution of their shapes were studied by a small-angle light scattering method. The types and number of leukocytes were determined in blood smears. The transformation indices of erythrocytes (ITE) and integral leukocyte indices (ILI) were calculated. **Results.** Under IH a decrease in the number of discocytes and an increase in erythrocytes altered forms were observed; the values of transformation indices, reversible and irreversible transformations were increased. The development of IH was accompanied by leukocytosis and a decrease in the number of segmented neutrophils on the background of the stab cells increase. The young, plasmatic and polychromatophilic cells as well as cytoplasm plasmation in single leukocytes were noted. Calculation of ILI revealed activation in tissue destruction processes, immediate type of hypersensitivity and an increase in the Garkavi adaptation index. On the contrary, 24 hrs after the IH, the proportion of the discocytes increased on the expense of highly resistant flattened discocytes appearance, and the proportion of altered cells decreased due to their elimination from the blood. The values of the indices of transformation, reversibility and reversible transformation were decreased, but the index of irreversible transformation has increased by an order of magnitude. Twenty four hrs after the IH, the leukocytosis and the increase in the stab neutrophils against the background of lymphopenia as well as the appearance of young cell forms, polychromatophils and plasmatic cells were noted. Changes in ILI indicated the activation of the cellular link of the immune system, specific defense cells, delayed type hypersensitivity processes and macrophage system components, tissue decay processes, intoxication and allergisation. **Conclusions.** General immersion hypothermia significantly altered the quantitative and qualitative ratios of the shapes and types of blood cells in rats, affected the processes of erythrocyte transformation and the activation of distinct immunity links (according to the calculation of ITE and ILI, respectively). The direction and intensity of these changes depend on the terms of observation (immediately and 24 hrs after cooling).

Key words: immersion general hypothermia, erythrocytes, leucocytes, erythrocytes transformation indices, integral leukocyte indices, rats.

1. Введение

Проблема адаптации к холоду имеет огромное практическое значение, поскольку человек постоянно расширяет сферу своей деятельности, осваивает новые пространства, работа в которых связана с влиянием низких и экстремально низких температур (Антарктика и Арктика, подводный мир и космос). Холод – один из главных экологических факторов полярных и высокогорных областей Земли, к которому приходится адаптироваться организму человека и животных, и именно низкие температуры являются ведущим фактором в формировании повышенной сопротивляемости организма.

Адаптация к полярным условиям, развиваясь по общим закономерностям адаптации к различным природным факторам, проявляется также и в возникновении специфических ответных реакций. Формирование таких адаптивных реакций целесообразно изучать на экспериментальных моделях. Например, погружение организма в холодную воду (иммерсия) как модель достижения гипотермии соответствует состоянию естественного переохлаждения человека в экстремальных ситуациях. Возможность формирования адаптивных реакций к холоду не безгранична и определяется наличием определенного уровня пластических и энергетических ресурсов в организме.

Иммерсионная гипотермия является одним из наиболее опасных видов естественной гипотермии, развивается после попадания организма в воду, поскольку высокая теплоемкость воды резко ускоряет процесс отдачи тепла и температура тела снижается очень быстро. Развитие гипотермии формирует в организме сложную комбинацию изменений (Young et al., 1986; Turk, 2010; Daanen, Marken Lichtenbelt van, 2016), выраженность которых при иммерсионной гипотермии зависит от температуры воды, времени нахождения в ней, наличия средств защиты и индивидуальной холодовой устойчивости, а также от массы тела и объема подкожной жировой ткани.

У человека ответные реакции на погружение в холодную воду подразделяются на возбуждающие, когда температура тела соответствует 35°C; ослабляющие, когда температура тела находится в диапазоне

35–30°C и критические, когда температура падает до 25°C. Поскольку температура воды и время пребывания в ней определяют потенциальные риски для организма, выделяют следующие стадии: краткосрочная (short-term) (первые 3 минуты, охлаждение кожи), поверхностное охлаждение нейромuscularных тканей (плюс 3 минуты), длительная (long-term) иммерсия (плюс 30 минут), стадии гипотермии и развития circulatory collapse («околоспасательный» коллапс, коллапс отогрева при спасении) (цит. по Tipton et al., 2017). Кроме того, в состоянии гипотермии выделяют стадии устойчивой и неполной компенсации, период декомпенсации и фазу необратимых изменений (Hayward, 1993; Новиков, Гончарук, Шустов, 1998; Чудаков, Исаков, Доронин, 1999).

Механизмы адаптации к холоду могут быть реализованы путем разных стратегий: поддержание температуры тела или способность к обратимому снижению температуры тела при снижении температуры окружающей среды (Castellani, Young, 2016). При иммерсионной гипотермии в условиях острого охлаждения именно способность сохранять достаточно высокую температуру тела определяет выживаемость теплокровного организма, поскольку позволяет избежать нарушения жизненно важных функций, в первую очередь дыхания и кровообращения.

При острой гипотермии ответные реакции формируются во всех системах организма, наиболее масштабные изменения происходят в терморегуляторной системе и скоординированных с ней центральной нервной, сердечно-сосудистой и мышечной.

Система крови и ее форменные элементы (в первую очередь эритроциты и лейкоциты) играют существенную роль в реализации гомеостатических и адаптационных реакций организма, поскольку кровь интегрирует работу большинства задействованных физиологических систем, а изменение форм и типов ее высокоспециализированных клеток, их процентно-количественное соотношение могут отражать особенности функционального состояния организма при разных эндо- и экзогенных воздействиях (Рязанцева и др., 2004; Луговская, Козинец, 2009). Степень этих изменений и скорость формирования ответных адаптационных реакций зависит не только от характера и интенсивности воздействия (Ломако и др., 2012, 2015; Шило и др., 2014; Олейник, 2010; Бринкевич, Мяделец, 1991; Lombardi et al., 2013), но и от реактивности организма (Гаркави, Квакина, Уколова, 1990).

Клетки крови выполняют определенные функции, участвуют в поддержании гомеостаза организма, в иммунных процессах и других, поэтому изучение их соотношения, выявление молодых, измененных и патологических форм клеток, расчет индексов трансформации эритроцитов и интегральных лейкоцитарных индексов дает возможность получить ценную прогностическую и диагностическую информацию (Мустафина, Крамаренко, Кобцева, 1999; Долгушин, Бухарин, 2001; Новодержкина, Шишканова, Козинец, 2004; Harvey, 2008). Однако в доступной нам научной литературе не обнаружено сведений о влиянии общей иммерсионной гипотермии на трансформацию эритроцитов, интегральные лейкоцитарные показатели крови гомойотермного организма.

Цель работы – изучить реакции эритро- и лейкоцитарного звеньев крови крыс на действие общей иммерсионной гипотермии.

2. Материалы и методы исследования

Эксперименты проведены в соответствии с Законом Украины «О защите животных от жестокого обращения» (№ 3447-IV от 21.02.2006 г.) с соблюдением требований Комитета по биоэтике Института проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, согласованных с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986).

Работу выполняли на 6–7-месячных самцах белых беспородных крыс (*Rattus Norvegicus*), которые до начала эксперимента содержались в условиях вивария при естественном световом режиме на стандартном рационе *ad libitum*. Иммерсионную гипотермию (температура тела снижалась до $(27,5 \pm 0,5)^\circ\text{C}$) моделировали в тесте «вынужденное плавание» (Abel, 1993; Bruner, Vargas, 1994; Porsolt et al., 1977) в ледяной воде (0°C), длительность нахождения в воде – 5 мин. Для измерения температуры тела у крыс использовали тарированную медь-константановую термопару и электронный вольтметр В7-21 с последующим перерасчетом показателей вольтметра (мкВ) в градусы С с помощью программы «Excel» («Microsoft», США).

Забор биологического материала для анализа после декапитации производили у интактных крыс (контрольная группа) при ИГ (иммерсионная гипотермия) и через 24 ч после ИГ.

Исследования динамики трансформации эритроцитов проводили методом малоуглового рассеяния света на приборе, разработанном в ИПКиК НАН Украины (Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины). Изучали зависимость интенсивности рассеяния света суспензией эритроцитов под углом 9° по направлению к падающему лучу от количества клеток в этой суспензии. В измерительную ячейку, содержащую 3,0 мл раствора NaCl различной концентрации (от 0,15 до 0,05 Моль/л), вносили 30 мкл эритроцитарной массы, полученной после отстаивания крови и аспирации плазмы. Все исследования проводили при температуре 37°C . Определяли долю сохранных клеток. Распределение эритроцитов по индексу сферичности (ИС) вычисляли из зависимостей осмотической хрупкости, используя физико-математическую модель гипотонического гемолиза эритроцитов в растворе непроникающего вещества (Gordienko, Gordienko, 2003). Значения ИС прямо пропорциональны поверхностно-объемному соотношению (S/V) и характеризуют форму клеток. Преобладающие формы эритроцитов соответствовали следующим интервалам ИС: сфероциты ($1 \div 1,3$) – необратимая форма, стоматоциты ($1,3 \div 1,7$) – обратимая форма, нормальные ($1,7 \div 2,1$) и уплощенные ($2,1 \div 3$) дискоциты. Используя полученные значения обратимо и необратимо измененных форм эритроцитов, рассчитывали следующие индексы (Медведев и др., 2009): индекс трансформации (ИТ) = $(\text{ОД} + \text{НД}) / \text{Д}$; индекс обратимой трансформации (ИОТ) = $\text{ОД} / \text{Д}$, индекс необратимой трансформации (ИНОТ)

= НД/Д, индекс обратимости (ИО) = ОД/НД, где Д – процент дискоцитов; ОД – процент обратимо деформированных эритроцитов и НД – процент необратимо деформированных эритроцитов.

Количественно-качественную оценку типов лейкоцитов осуществляли в мазке крови, обработанном фиксатором Май-Грюнвальда и окрашенном гематологическим красителем (по Романовскому). Далее рассчитывали интегральные лейкоцитарные индексы (ИЛИ), позволяющие оценить в динамике состояние различных звеньев иммунной системы и неспецифической резистентности организма, не прибегая к специальным методам исследования (Олейник, 2010; Мустафина, 1999; Сипливый, Конь, Евтушенко, 2009; Разнатовская, 2012). Рассчитывали следующие лейкоцитарные индексы. Индекс ядерного сдвига (ИЯС=(Ми+Ю+П)/С) – отношение процентного содержания суммы всех молодых форм нейтрофилов к их зрелым формам. Лейкоцитарный индекс (ЛИ=Л/С+П) – отражает взаимоотношение гуморального и клеточного звеньев иммунной системы. Лейкоцитарный индекс интоксикации Кальф-Калифа (ЛИИ=(4Ми+3Ю+2П+С)х(Пл+1)/(Л+М)х(Э+1) – характеризует уровень эндогенной интоксикации и активизации процессов тканевого распада. Индекс сдвига лейкоцитов (ИСЛ=(Э+Б+С+П)/Л+М) – его повышение свидетельствует об активном воспалительном процессе и нарушении иммунореактивности. Лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ЛГИ=10Л/(Ми+Ю+П+С+Э+Б) – позволяет дифференцировать ауто- и инфекционную интоксикацию. Индекс соотношения нейтрофилов и лимфоцитов (ИСНЛ=П+С/Л) – отражает соотношение клеток неспецифической и специфической защиты. Индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов (ИСЛЭ=Л/Э) – ориентировочно отражает соотношение процессов гиперчувствительности немедленного и замедленного типа. Индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ=Н/М) – по его изменению можно судить о соотношении компонентов микро- и макрофагальной системы. Индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ=Л/М) – отражает взаимоотношение афферентного и эффекторного звеньев иммунологического процесса. Индекс аллергии (ИА=Л+1-(Э+1)/П+С+М). Индекс адаптации Гаркави (ИАГ=Л/С) – отражает уровень адаптации. Сокращения в приведенных формулах означают типы клеток: П – палочко- и С – сегментоядерные лейкоциты, Л – лимфоциты, М – моноциты, Э – эозинофилы, Б – базофилы, Ми – миелоциты, Ю – юные формы (мегамиелоциты), Пл – плазматические клетки (содержание в %).

Статистическую обработку полученных результатов проводили методом непараметрической статистики Крускала-Уоллиса с использованием программного обеспечения Statistica 6.0.

3. Результаты и их обсуждение

Тест «вынужденное плавание», разработанный R. D. Porsolt и соавторами (Porsolt et al., 1977), широко используемый как модель для изучения физического стресса у животных, объединяет в себе психологический (беспокойство, паника) и физиологический (гипотермия) стрессы. При этом температура воды, в которой находятся животные, является важным фактором, определяющим время активного и пассивного плавания, а, следовательно, и выраженность физической нагрузки и уровня развития гипотермии. Кроме того, активация симпатической нервной системы является общим фактором, как для плавания, так и для физической нагрузки, а также необходимым условием для выработки адаптации к обоим видам активности и холоду (в случае плавания в холодной воде).

В наших исследованиях у крыс после плавания в холодной воде при 0° С температура тела снижалась в течение 5 мин более, чем на 10°С. У пловцов на длинные дистанции градиент температур между поверхностью кожи и глубокими структурами может составлять 15,5°С, поскольку поверхность тела может служить в качестве «изоляционного» слоя для внутренних органов (Rüst, Knechtle, Rosemann, 2012).

При общей иммерсионной гипотермии в крови крыс наблюдали уменьшение количества дискоцитов и увеличение доли как обратимо (стоматоциты), так и необратимо (сфероциты) измененных форм эритроцитов. Через 24 ч после иммерсионной гипотермии отмечали противоположную и позитивную направленность изменений: доля измененных форм клеток снижалась (за счет обратимо измененных), а количество дискоцитов увеличивалось, причём за счет высокорезистентных уплощенных форм (табл. 1). Увеличение доли дискоцитов за счет быстрой элиминации старых и дефектных эритроцитов является адаптивной реакцией системы крови на стресс (Козинец и др., 2002). Сходную динамику мы наблюдали и при других видах гипотермии у гомойотермного организма, не зависимо от глубины (32 °С и 17°С), длительности (50-70 мин и 150-210 мин) и способа достижения (краниоцеребральная гипотермия и общая гипотермия на фоне гипоксии-гиперкапнии) (Ломако и др., 2012; 2015).

Низкий уровень раздражителей или их отсутствие может приводить к снижению резистентности и адаптационных возможностей организма. Так, человек, постоянно находящийся в оптимальных микроклиматических условиях, обеспечиваемых современным уровнем цивилизации, тяжелее переносит действие холода и других естественных факторов. Физические тренировки и закаливание играют особую роль в повышении адаптации организма. При экстремальных холодовых воздействиях в организме формируются защитные реакции, которые в комплексе обуславливают состояние напряжения – «холодовой стресс» (Castellani, Tipton, 2015). При любом стрессе в мембранах эритроцитов процессы ПОЛ (перекисное окисление липидов) усиливаются, происходит разрушение нестойких форм клеток, что стимулирует в свою очередь эритропоэз. В кровь поступают молодые высокорезистентные эритроидные клетки (ретикулоциты, полихроматофилы), для которых характерна уплощенная дисковидная форма, кроме того, при стрессе появляются аномально устойчивые эритроциты (Михайлис, 2010), в эритроцитах усиливаются процессы апоптоза и некроза (Миндукшев и др., 2010). Возможные механизмы и факторы, вовлекаемые в процессы трансформации эритроцитов и влияющие на их форму, подробно обсуждаются, в частности в работах (Harvey, 2008; Mohandas, Gallagher, 2008; Новодержкина и др., 2004) и наших ранее опубликованных статьях (Ломако и др., 2012; 2015).

Способность эритроцитов к трансформации имеет адаптационно-приспособительное значение (Козинец и др., 2002), а расчет морфологических индексов трансформации эритроцитов, в основе которого

лежат соотношения нормальных (дискоциты) и измененных (обратимо и необратимо) форм клеток, позволяют значительно расширить представление об этом процессе. Так, при иммерсионной гипотермии повышались значения индекса трансформации эритроцитов, индексов обратимой и необратимой трансформации, величина индекса обратимости не изменялась. Через 24 ч после иммерсионной гипотермии значения индексов трансформации, обратимости и обратимой трансформации по сравнению с контролем были снижены, а индекс необратимой трансформации, напротив, существенно повышался (на порядок) (табл. 1).

Таблица 1

**Соотношение форм эритроцитов и индексы их трансформации
при общей иммерсионной гипотермии у крыс (n=5) (M±SE)**

Table 1

**The ratio of erythrocytes forms and their indices of transformation
under general immersion hypothermia in rats (n = 5) (M±SE)**

Показатели	Контроль	Иммерсионная гипотермия	Через 24 ч после иммерсионной гипотермии
Формы эритроцитов, %			
Нормальные дискоциты	54,9±2,51	34,56±1,5*	56,68±0,5
Уплощенные дискоциты	5,32±0,93	5,24±0,52	7,42±0,59*
Дискоциты (всего)	57,95±2,03	38,8±1,23*	64,1±0,79*
Обратимые формы (стоматоциты)	40,82±2,84	58,52±1,78*	33,3±0,96*
Необратимые формы (сфероциты)	1,22±0,5	2,72±0,65*	2,62±0,74*
Измененные формы (всего)	42,05±2,3	61,2±1,21*	35,92±0,79
Индексы			
Трансформации	0,73±0,07	1,59±0,08*	0,56±0,02*
Обратимой трансформации	0,71±0,06	1,52±0,02*	0,52±0,02*
Необратимой трансформации	0,021±0,008	0,07±0,01*	0,29±0,16*
Обратимости	28,29±6,05	29,27±8,34	18,32±5,5

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

Следует отметить, что через 24 ч после моделирования иммерсионной гипотермии экспериментальные животные по данным изменения значений индекса обратимости разделились на две группы: с нормальными (уровень контроля) и низкими значениями (табл. 1).

В работах (Застенская, 1989; Северина, Кубарко, 2009) приведены данные о внутрипопуляционных различиях в степени устойчивости к холоду у лабораторных крыс, поскольку кроме видовой существует и врожденная индивидуальная резистентность к действию холода.

Снижение индекса трансформации и увеличение индекса обратимой трансформации указывают на ригидность эритроцитарного звена системы крови за счет усиления удаления нестойких форм эритроцитов из кровяного русла и отражают адаптационные реакции системы эритрона (Верещак, Бондарь, 2010). Такие же изменения значений индексов трансформации эритроцитов мы наблюдали и при умеренном режиме краиниоцеребральной гипотермии (32°C) (Ломако, Коваленко, 2014).

При изучении лейкоцитарного звена крови было установлено, что иммерсионная гипотермия способствовала лейкоцитозу (табл. 2). Лейкоцитоз – это ответная защитная реакция системы и в сочетании со сдвигом лейкоцитарной формулы влево является нормальной реакцией костного мозга на раздражение (Разнатовская, 2012).

По степени зрелости и форме ядра в периферической крови нейтрофилы разделяют на палочкоядерные (более молодые) и сегментоядерные (зрелые, способные к фагоцитозу) клетки.

Таблица 2

Лейкоцитарные показатели крови крыс при общей иммерсионной гипотермии (M±SE)

Table 2

Leukocyte counts of rat blood under general immersion hypothermia (M±SE)

Показатели	Контроль (n=15)	Иммерсионная гипотермия (n=5)	Через 24 ч после иммерсионной гипотермии (n=5)
К-во, 10 ⁹ /л	6,5±0,09	8,45±0,81*	7,45±0,5*
Типы лейкоцитов, %			
Палочкоядерные	1,93±0,42	5,0±1,48*	3,14±0,92*
Сегментоядерные	27,07±1,53	22,3±1,76*	31,1±2,54
Лимфоциты	65,53±1,34	68,6±2,27	59,7±2,37*
Эозинофилы	3,53±0,72	2,8±0,7	2,3±0,58
Моноциты	1,27±0,2	1,6±0,3	1,3±0,21
Интегральные лейкоцитарные индексы			
Индекс ядерного сдвига (ИЯС)	0,06±0,0	0,35±0,11*	0,2±0,04*
Лейкоцитарный индекс (ЛИ)	2,54±0,22	2,45±0,23	1,71±0,16*
Лейкоцитарный индекс интоксикации Кальф-Калифа (ЛИИ)	0,13±0,02	0,38±0,04*	0,6±0,17*
Индекс сдвига лейкоцитов (ИСЛ)	0,49±0,03	0,49±0,05	0,66±0,07*
Лейкоцитарно-гранулоцитарный индекс (ЛГИ)	20,09±1,3	21,8±2,44	15,77±1,47*
Индекс соотношения нейтрофилов и лейкоцитов (ИСНЛ)	0,43±0,04	0,43±0,03	0,62±0,07*
Индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов (ИСЛЭ)	17,83±2,89	31,77±7,92*	37,68±6,35*
Индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ)	23,6±2,4	22,95±3,18	31,33±3,53*
Индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ)	54,2±1,9	53,47±6,41	56,5±3,57
Индекс аллергизации (ИА)	3,9±0,45	3,77±0,27	2,61±0,75*
Индекс адаптации Гаркави (ИАГ)	2,57±0,22	3,29±0,34*	2,04±0,21

* – различия статистически значимы по сравнению с контролем, p<0,05

При иммерсионной гипотермии снижение количества сегментоядерных нейтрофилов происходило на фоне возрастания палочкоядерных клеток, в то время как доля остальных типов лейкоцитов не изменялась (табл. 2).

Кроме того, в мазках крови крыс при этом мы отмечали юные и плазматические клетки (2:100), полихроматофильные эритроциты (2-6 в поле зрения), у некоторых лейкоцитов наблюдали плазматизацию цитоплазмы.

Увеличение числа палочкоядерных нейтрофилов в сочетании с появлением молодых форм клеток (миелоциты, метамиелоциты) характеризуют регенеративный сдвиг лейкоцитарной формулы влево, а на фоне лейкоцитоза – свидетельствуют об усилении функциональной активности костного мозга.

Через 24 ч после иммерсионной гипотермии сохранялись лейкоцитоз и повышенный уровень палочкоядерных клеток, но уже на фоне снижения количества лимфоцитов (табл. 2), что может свидетельствовать об истощении ресурсов костного мозга, нарушениях в иммунной системе и отражать физиологические изменения, связанные с перенапряжением и стрессом. Через 24 ч после иммерсионной гипотермии мы также наблюдали в мазках крови крыс полихроматофильные эритроциты (1-3 в поле зрения), плазматические клетки (2:100), миелоциты и юные клетки.

В полихроматофильных эритроцитах одновременно присутствуют слабощелочной гемоглобин и кислая субстанция. Это характерно для незрелых эритроидных клеток и наблюдается при массивном выбросе молодых эритроцитов в периферическую кровь, свидетельствует о хорошей регенеративной способности костного мозга, либо об активации его гемопоэтической функции в результате действия физических факторов, в том числе и холода. Как уже отмечалось выше, полихроматофильные эритроциты имеют уплощенную форму и характеризуются высокой степенью резистентности.

Плазматизация цитоплазмы характерна для незрелых лейкоцитов, выход которых в кровь происходит вследствие активации функций костного мозга.

Плазматические клетки (антителосинтезирующие клетки, производные В-лимфоцитов) в норме почти все находятся в периферических иммунокомпетентных органах, однако при раздражении лимфоцитарного звена иммунитета они поступают в циркулирующую кровь. Резкое увеличение их уровня свидетельствует о выраженном гуморальном иммунном ответе, что является показателем иммунореактивности организма.

Расчет ИЛИ позволяет без привлечения специальных исследований оценить состояние различных звеньев иммунной системы и уровень адаптационных возможностей организма (Олейник, 2010; Мустафина, 1999; Сипливый, Конь, Евтушенко, 2009; Разнатовская, 2012). Так, анализ результатов показал, что значения изученных ИЛИ при иммерсионной гипотермии изменялись однонаправлено: повышались ИЯС, ЛИИ, ИСЛЭ и ИАГ, значения остальных ИЛИ не изменялись (табл. 2). Это указывает на активацию процессов тканевого распада, гиперчувствительности немедленного типа и повышение адаптационных возможностей организма. Через 24 ч после иммерсионной гипотермии изменялись значения большей части изученных лейкоцитарных индексов (кроме ИСЛ, ИСЛМ и ИАГ): снижение ЛИ, ЛГИ, ИА происходило на фоне повышения ЯИС, ЛИИ, ИСНЛ, ИСНЭ и ИСНМ, что свидетельствует об активации клеточного звена иммунной системы, процессов тканевого распада и гиперчувствительности замедленного типа, усилении компонентов макрофагальной системы, интоксикации, алергизации, преобладания клеток специфической защиты (табл. 2).

В работе (Олейник, 2010) показано, что уже в ранние сроки после общей холодовой травмы изменения ЛИИ и индекса резистентности организма свидетельствуют о значительной интоксикации и развитии выраженной общей воспалительной реакции организма.

В научной литературе отсутствует согласованность в интерпретации данных по изучению влияния «холодового стресса» на иммунные реакции организма. В работах (Jansky et al., 1996; LaVoy, McFarlin, Simpson, 2011; Brazaitis et al., 2014) показано, что иммунный ответ на «холодовой стресс» зависит от режима охлаждения, поскольку маркеры естественного и специфического иммунитета реагируют по-разному. Приобретенный иммунитет реагирует медленней и более специфично, чем врожденный; влияние факторов острого стресса определяется адаптивным усилением некоторых параметров врожденного и снижением регуляции некоторых звеньев специфического иммунитета (Segerstrom, Miller, 2004).

Показано, что острое охлаждение подавляет отдельные компоненты и клеточного и гуморального иммунитета и эти изменения связаны с полом (Solianik et al., 2014). Иммерсионная гипотермия оказывает иммуностимулирующее действие, вызывает лейкоцитоз и гранулоцитоз, увеличивает количество и активность естественных клеток-киллеров, интерлейкина-6 (Brazaitis et al., 2014), причем стимуляция врожденного иммунитета и подавление специфического иммунитета наблюдаются только в группе испытуемых с медленным снижением температуры тела.

Итак, анализ полученных нами результатов показал, что общая иммерсионная гипотермия (в течение 5 мин) способствовала формированию в организме определенных процессов, свидетельствующих о напряжении неспецифических адаптационных реакций, вызывая увеличение количества обратимо измененных форм эритроцитов в крови (Козинец, 2002), при этом изменялись функции трансформации эритроцитов. Лейкоцитоз и повышенный уровень палочкоядерных клеток на фоне лимфопении через 24 ч после иммерсионной гипотермии свидетельствует о нарушениях в иммунной системе и отражает физиологические изменения, связанные с перенапряжением и стрессом.

В то же время уменьшение количества измененных форм эритроцитов и увеличение доли дискоцитов (причем за счет стойких к гемолизу уплощенных форм), появление высокорезистентных полихроматофильных эритроцитов и других указывают на стимуляцию костного мозга и его гемопоэтической функции.

Таким образом, общая иммерсионная гипотермия способствует формированию в организме определенных компенсаторно-приспособительных реакций в системе крови, многие из которых протекают с напряжением и возможным истощением и, согласно исследованиям Л. Х. Гаркави и соавторов (1990), при определенных условиях могут способствовать тренировке организма.

4. Выводы

Комплексное изучение изменений количественно-качественных соотношений форм эритроцитов и типов лейкоцитов в крови крыс, а также расчет интегральных показателей (индексов трансформации эритроцитов и лейкоцитарных индексов), анализ динамики трансформации эритроцитов и перестройки отдельных звеньев иммунной системы позволили выявить особенности компенсаторно-приспособительных процессов, протекающих на уровне системы крови при охлаждении гомеотермного организма. Это позволит, не прибегая к специальным методам исследования, оценивать как адаптивные возможности организма, так и выраженность повреждающего действия холода, а также прогнозировать потенциальные риски для организма при охлаждении.

Так, иммерсионная общая гипотермия (до 27°C в течение 5 мин) на уровне эритроцитарного звена крови способствует увеличению гетерогенности популяции эритроцитов в крови крыс, поскольку уменьшается количество дискоцитов и увеличивается доля обратимо (стоматоциты) и необратимо (сфероциты) измененных форм клеток. Происходит повышение индексов трансформации, обратимой и необратимой трансформации. На уровне лейкоцитарного звена гипотермия сопровождается лейкоцитозом, возрастанием доли

палочкоядерных клеток на фоне уменьшения количества сегментоядерных нейтрофилов, без изменения доли остальных типов лейкоцитов. В мазках крови наблюдаются юные и плазматические клетки, полихроматофильные эритроциты, у некоторых лейкоцитов отмечается плазматизация цитоплазмы. Значения ИЛИ при общем охлаждении свидетельствуют об активации процессов тканевого распада, гиперчувствительности немедленного типа и повышении индекса адаптации Гаркави.

Через 24 ч после холодового воздействия отмечается противоположная и позитивная направленность изменений: популяция эритроцитов становится более гомогенной, поскольку доля измененных форм клеток снижается (за счет обратимо измененных), а количество дискоцитов увеличивается, причем за счет высоко-резистентных уплощенных форм. Значения индексов трансформации, обратимости и обратимой трансформации снижаются, индекс необратимой трансформации повышается на порядок. Сохраняются лейкоцитоз и повышенный уровень палочкоядерных клеток, но уже на фоне лимфопении, также в мазках крови наблюдаются полихроматофильные эритроциты, миелоциты, плазматические и юные клетки. Оценка ИЛИ спустя 24 ч после охлаждения свидетельствует об активации клеточного звена иммунитета, процессов тканевого распада и гиперчувствительности замедленного типа, об усилении компонентов макрофагальной системы, интоксикации, аллергизации, о преобладании клеток специфической защиты.

Проведение общей ИГ способствует существенному изменению в количественно-качественном соотношении форм эритроцитов (по индексу сферичности) и типов лейкоцитов крови крыс, перестройке процессов трансформации эритроцитов (по данным расчета индексов трансформации) и иммунологических реакций (по данным расчета интегральных лейкоцитарных индексов). Интенсивность, направленность и выраженность отмеченных изменений зависит от сроков наблюдения (сразу и через 24 часа после проведения общей иммерсионной гипотермии).

5. Благодарности

Авторы выражают благодарность с.н.с., к.б.н. И. Ф. Коваленко за методическую помощь.

6. Литература

1. Бринкевич В. Н., Мяделец О. Д. Количественные изменения периферической крови при пролонгированной гипотермии. *Проблемы криобиологии*. 1991. № 3. С. 25–28.
2. Верещак Е. В., Бондарь Т. П. Трансформация эритроцитов как показатель адаптации у работников газовой промышленности. *Биоразнообразие, биоресурсы, новые материалы и здоровье человека*: Матер. 55 науч.-практич. конф. Ставрополь. 2010. С. 117–121.
3. Гаркави Л. Х., Квакина Е. Б., Уколова М. А. *Адаптационные реакции и резистентность организма*. Ростов-на-Дону. 1990. 223 с.
4. Долгушин И. И., Бухарин О. В. *Нейтрофилы и гомеостаз*. Екатеринбург: Изд-во УрО РАН, 2001. 284 с.
5. Застенская П. А. Роль липидов в механизмах гипотермии и естественной терморезистентности. *Нарушение механизмов регуляции и их коррекция*: Тез. докл. IV Всесоюз. съезда патофизиологов. Москва, 1989. Т. 2. С. 589.
6. Козинец Г. И., Погорелов В. М., Шмаров Д. А., Боев С. Ф., Сазонов В. В. *Клетки крови и современные технологии их анализа*. Москва: Изд-во «Триада-фарм», 2002. 534 с.
7. Ломако В. В., Коваленко И. Ф. Влияние краниocereбральной гипотермии на интегральные показатели трансформации эритроцитов. *Теоретические и практические аспекты современной криобиологии* Матер. междунар. научно-практич. конф. Сыктывкар. 2014. С. 360–364.
8. Ломако В. В., Коваленко И. Ф., Шило А. В. Эритроциты периферической крови при разных вариантах гипотермии гомойотермного организма. *Проблемы криобиологии*. 2012. Т. 22. №4. С. 398–409.
9. Ломако В. В., Пироженко Л. Н. Лейкоциты при гипометаболических состояниях. *Вісник проблем біології і медицини*. 2010. №3. С. 61–65.
10. Ломако В. В., Шило А. В., Коваленко И. Ф., Бабийчук Г. А. Эритроциты гетеро- и гомойотермных животных при естественной и искусственной гипотермии. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии им. И.М. Сеченова*. 2015. Т. 51. №1. С. 52–59.
11. Луговская С. А., Козинец Г. И. Иерархия гемопоэтических клеток: кинетика, структура и функции. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2009. №5. С. 21–37.
12. Миндукшев И. В., Кривошлык В. В., Добрылко И. А., Гончаров Н. В., Вивуланец Е. В., Песочинская С. С., Кривченко А. И. Нарушение деформационных и транспортных характеристик эритроцитов при развитии у них апоптоза. *Биологические мембраны*. 2010. Т. 27. № 1. С. 28–38.
13. Михайлис А. А. Концептуальная модель стресс-индуцированной динамики кислотно-гемолитической стойкости эритроцитов. *Современные наукоемкие технологии*. 2010. №10. С. 19–23.
14. Муштафина Ж. Г., Крамаренко Ю. С., Кобцева В. Ю. Интегральные гематологические показатели в оценке иммунологической реактивности организма у больных с офтальмопатологией. *Клиническая лабораторная диагностика*. 1999. № 5. С. 46–48.
15. Новиков В. С., Горанчук В. В., Шустов Е.Б. *Физиология экстремальных состояний*. Санкт-Петербург: Изд-во «Наука», 1998. 247 с.
16. Новодержкина Ю. К., Шишканова З. Г., Козинец И. Г. *Конфигурация и поверхность клеток крови в норме и патологии*. Москва: Изд-во «Триада-фарм», 2004. 151 с.
17. Олейник Г. А. Лейкоцитарные индексы в прогнозировании течения и исходов холодовой травмы. *Международный медицинский журнал*. 2010. Т. 16. 2. С. 63–69.
18. Разнатовская Е. Н. Интегральные индексы эндогенной интоксикации у больных химиорезистентным туберкулезом легких. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2012. Т. 9. № 2. С. 119–120.

19. Рязанцева Н. В., Новицкий В. В., Степовая Е. А., Ткаченко Т. Н. Ультраструктура эритроцитов в норме и при патологии: морфологические феномены, клинические аспекты. *Морфология*. 2004. Т. 126. № 5. С. 48–51.
20. Северина, Т. Г., Кубарко Т. Г. Влияние острой иммерсионной гипотермии на температуру тела и активность лизосомных ферментов печени устойчивых и неустойчивых к холоду крыс. *Медицинский журнал*. 2009. Т. 28. № 2. С. 112–115.
21. Сипливый В. А., Конь Е. В., Евтушенко Д. В. Использование лейкоцитарных индексов для прогнозирования исхода перитонита. *Клінічна хірургія*. 2009. № 9. С. 21–26.
22. Чудаков А. Ю., Исаков В. Д., Доронин Ю.Г. *Острое общее переохлаждение в воде*. Санкт-Петербург. 1999. 222 с.
23. Шило А. В., Луценко Д. Г., Венцковская Е. А. Коваленко И. Ф., Бабийчук Г. А. Влияние различных методов холодовой акклиматизации на осмотическую хрупкость и индекс сферичности эритроцитов крыс. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2014. Т. 100. №1. С. 105–111.
24. Abel, E.L. 1993. Physiological correlates of the forced swim test in rats. *Physiol Behav*. 54(2). 309–317.
25. Brazaitis, M., Eimantas, N., LaDanuseviciute, L., Mickeviciene, D., Steponaviciute, R., Skurvydas, A. 2014. Two Strategies for Response to 14°C Cold-Water Immersion: Is there a Difference in the Response of Motor, Cognitive, Immune and Stress Markers? *PLoS One*. 9(10). e109020. DOI: 10.1371/journal.pone.0109020 PMID: PMC4183517.
26. Bruner, C.A., Vargas, I. 1994. The Activity of Rats in a Swimming Situation as a Function of Water Temperature. *Physiology & Behavior*. 55(1). 21–28.
27. Castellani, J.W., Tipton, M.J. 2015. Cold Stress Effects on Exposure Tolerance and Exercise Performance. *Compr Physiol*. 6(1). 443–469. DOI: 10.1002/cphy.c140081.
28. Castellani, J.W., Young, A.J. 2016. Human physiological responses to cold exposure: Acute responses and acclimatization to prolonged exposure. *Auton Neurosci*. Apr. 196. 63–74. DOI: 10.1016/j.autneu.2016.02.009.
29. Daanen, H.A.M., Marken Lichtenbelt van W.D. 2016. Human whole body cold adaptation. *Temperature*. 3(1). 104–118, DOI: 10.1080/23328940.2015.1135688.
30. Gordienko, E.A., Gordienko, Yu.E., Gordienko, O.I. 2003. The physico-mathematical theory of human erythrocyte hypotonic hemolysis phenomenon. *Cryo Letters*. 24(4). 229–244.
31. Harvey, J.W. 2008 The Erythrocyte: Physiology, Metabolism and Biochemical Disorders. In *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. (6th Ed.). Elsevier, Ch. 7. 173–240.
32. Hayward, I.S. 1993. The physiology of immersion hypothermia // *The nature and treatment of hypothermia*. London: *Groom Helm*. 1993. 26–28.
33. Jansky, L., Pospisilova, D., Honzova, S., Ulicny, B., Sramek, P., Zeman, V., Kaminkova, J. 1996. Immune system of cold-exposed and cold-adapted humans. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 72(5–6). 445–50.
34. LaVoy, E.C., McFarlin, B.K., Simpson, R.J. 2011. Immune responses to exercising in a cold environment. *Wilderness Environ Med*. 22(4). 343–351.
35. Lombardi, G., Lanteri, P., Porcelli, S., Mauri, C., Colombini, A., Grasso, D., Zani, V., Bonomi, F.G., Melegati, G., Banfi, G. 2013. Hematological profile and martial status in rugby players during whole body cryostimulation. *PLoS ONE*, 8(2). e55803. Available from: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0055803> DOI: 10.1371/journal.pone.0055803.
36. Mohandas, N., Gallagher, P.G. 2008. Red cell membrane: past, present, and future. *Blood*. 112(10). 3939–3948.
37. Porsolt, R.D., Bertin, A., Jalfre, M. 1977. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch Int Pharmacodyn Ther*. 229 (2). 327–336.
38. Rüst, C.A., Knechtle, B., Rosemann, Th. 2012. Changes in body core and body surface temperatures during prolonged swimming in water of 10°C – a case report. *Extrem Physiol Med*. 1. 8. Published online 2012 Nov 1. DOI: 10.1186/2046-7648-1-8.
39. Segerstrom, S.C., Miller, G.E. 2004. Psychological stress and the human immune system: a meta-analytic study of 30 years of inquiry. *Psychol Bull*. 130(4). 601–630.
40. Solianik, R., Skurvydas A., Vitkauskienė, A., Brazaitis M. 2014. Gender-specific cold responses induce a similar body-cooling rate but different neuroendocrine and immune responses. *Cryobiology*. 69. 26–33.
41. Tipton, M.J., Collier, N., Massey, H., Corbett, J., Harper, M. 2017. Cold water immersion: kill or cure? *Exp Physiol*. 102(11). 1335–1355. DOI: 10.1113/EP086283. Epub 2017 Sep 21.
42. Turk, E.E. Hypothermia. 2010. *Forensic. Sci. Med. Pathol*. 6(2). 106–115.
43. Young, A.J., Muza, S.R., Sawka, M.N., Gonzalez, R.R., Pandolf, K.B. 1986. Human thermoregulatory responses to cold air are altered by repeated cold water immersion. *J. Appl. Physiol*. 60(5). 1542–1548.

7. References

1. Brinkevich, V.N., Myadelets, O.D. 1991. Kolichestvennyye izmeneniya perifericheskoy krovi pri prolongirovannoy gipotermii [Quantitative changes in peripheral blood at prolonged hypothermia]. *Problemy kriobiologii*. [Problems of cryobiology], 3, 25–28.
2. Vereshchak, E.V., Bondar, T.P. 2010. Transformatsiya eritrotsitov kak pokazatel' adaptatsii u rabotnikov gazovoy promyshlennosti [Transformation of erythrocytes as an indicator of adaptation in workers of the gas industry]. *Bioraznootvornost, bioresursy, novyye materialy i zdorov'ye chelovka* [Biodiversity, bioresources, new materials and human health]: Mater. 55 scienc. and practical. conf. Stavropol. 117–121.
3. Garkavi, L.Kh., Kvakina, Ye.B., Ukolova, M.A. 1990. *Adaptatsionnyye reaktsii i rezistentnost' organizma* [Adaptive reactions and resistance of the organism]. Rostov-on-Don. 223.
4. Dolgushin, I.I., Bukharin, O.V. 2001. *Neytrofily i gomeostaz* [Neutrophils and homeostasis]. Yekaterinburg: Publishing UralDep RAS. 284.

5. Zastenskaya, P.A. 1989. Rol' lipidov v mekhanizмах gipotermii i yestestvennoy termorezistentnosti [The role of lipids in the mechanisms of the hypothermia and natural thermoresistance]. *Narusheniye mekhanizmov regulyatsii i ikh korrektsiya* [Violation of the mechanisms of regulation and their correction]: Tez. doc. The 4th All-Union. congress of pathophysiologists. Moscow. 2, 589.
6. Kozinets, G.I., Pogorelov, V.M., Shmarov, D.A., Boev, S.F., Sazonov, V.V. 2002. *Kletki krovi i sovremennyye tekhnologii ikh analiza* [Blood cells and modern technologies for their analysis]. Moscow: "Triad-farm". 534 p.
7. Lomako, V.V., Kovalenko, I.F. 2014. *Vliyaniye kraniotsebral'noy gipotermii na integral'nyye pokazateli transformatsii eritrotsitov*. [Influence of craniocerebral hypothermia on integral indicators of erythrocyte transformation] *Teoreticheskiye i prakticheskiye aspekty sovremennoy kriobiologii*. [Theoretical and practical aspects of modern cryobiology]: Mater. Intern. scientific and practical. conf. Syktyvkar: 360–364.
8. Lomako, V.V., Kovalenko, I.F., Shilo, A.V. 2012. Peripheral blood erythrocytes at various types of hypothermia of homoiothermal organism. *Probl cryobiol* 22(4). 398–409.
9. Lomako, V.V., Pirozhenko, L.N. 2010. Leykotsity pri gipometabolicheskikh sostoyaniyakh [Leukocytes in hypometabolic states]. *Visnik problem biologii i medicinu* [Herald of problems of biology and medicine]. 3, 61–65.
10. Lomako, V.V., Shilo, A.V., Kovalenko, I.F., Babiichuk, G.A. 2015. Erythrocytes of hetero- and homoiothermic animals under natural and artificial hypothermia. *J Evol Biochem Physiol.*, 51(1), 58–66.
11. Lugovskaya, S.A., Kozinets, G.I. 2009. Iyerarkhiya gemopoeticheskikh kletok: kinetika, struktura i funktsii [Hierarchy of hematopoietic cells: kinetics, structure and functions]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* [Clinical laboratory diagnostics] 5, 21–37.
12. Mindushev, I.V., Krivoslyk, V.V., Dobrylko, I.A., Goncharov, N.V., Vivulanets, E.V., Pesochinskaya, S.C., Krivchenko, A.I. 2010. Narusheniye deformatsionnykh i transportnykh kharakteristik eritrotsitov pri razvitiu i nikh apoptoza [Violation of deformation and transport characteristics of erythrocytes during development of apoptosis in them]. *Biologicheskiye membrany* [Biological membranes]. 27, 1, 28–38.
13. Mihaylis, A.A. 2010. Kontseptual'naya model' stress-indutsirovannoy dinamiki kislotno-gemoliticheskoy stoykosti eritrotsitov [A conceptual model of stress-induced dynamics of acid-hemolytic resistance of erythrocytes]. *Sovremennyye naukoymkiye tekhnologii* [Modern high technology]. 10, 19–23.
14. Mustafina, Zh.G., Kramarenko, Yu.S., Kobtseva, V.Yu. 1999. Integral'nyye gematologicheskiye pokazateli v otsenke immunologicheskoy reaktivnosti organizma u bol'nykh s oftal'mopatologiyey [Integral hematological parameters in the evaluation of immunological reactivity of the organism in patients with ophthalmopathology]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* [Clinical laboratory diagnostics]. 5, 46–48.
15. Novikov, B.C., Goranchuk, V.V., Shustov, E.B. 1998. *Fiziologiya ekstremal'nykh sostoyaniy* [Physiology of extreme conditions]. St. Petersburg: Publishing "Nauka". 247.
16. Novostrakhana, Yu.K., Shishkanova, Z.G., Kozinets, I.G. 2004. *Konfiguratsiya i poverkhnost' kletok krovi v norme i patologii* [Configuration and surface of blood cells in norm and pathology]. Moscow: Publishing "Triad-farm". 151.
17. Oleinik, G.A. 2010. Leykotsitarnyye indeksy v prognozirovaniy techeniya i iskhodov kholodovoy travmy [Leukocyte indices in predicting the course and outcome of cold trauma]. *Mezhdunarodnyy meditsinskiy zhurnal* [International Medical Journal]. 16, 2, 63–69.
18. Raznatovskaya, E.N. 2012. Integral'nyye indeksy endogennoy intoksikatsii u bol'nykh khimioirezistentnym tuberkulezom legkikh [Integral indices of endogenous intoxication in patients with chemoresistant pulmonary tuberculosis]. *Aktual'ni pitannya farmatsevtichnoi i medichnoi nauki ta praktiki* [Current knowledge of pharmaceutical and medical science and practice]. 9, 2, 119–120.
19. Ryazantseva, N.V., Novitsky, V.V., Stepovaya, Ye.A., Tkachenko, T.N. 2004. Ul'trastruktura eritrotsitov v norme i pri patologii: morfologicheskiye fenomeny, klinicheskiye aspekty [Ultrastructure of erythrocytes in norm and in pathology: morphological phenomena, clinical aspects]. *Morfologiya* [Morphology]. 126, 5, 48–51.
20. Severina, T.G., Kubarko, T.G. 2009. Vliyaniye ostroy immersionnoy gipotermii na temperaturu tela i aktivnost' lizosomnykh fermentov pecheni ustoychivykh i neustoychivykh k kholodu krysa [Influence of acute immersion hypothermia on body temperature and activity of lysosomal liver enzymes in resistant and non resistant to cold rats]. *Meditsinskiy zhurnal* [Medical Journal]. 28, 2, 112–115.
21. Siplivy, V.A., Konya, E.V., Evtushenko, D.V. 2009. Ispol'zovaniye leykotsitarnykh indeksov dlya prognozirovaniya iskhoda peritonita [Use of leukocyte indices for predicting the outcome of peritonitis]. *Klinichna khirurgiya* [Clinical surgery] 9, 21–26.
22. Chudakov, A.Yu., Isakov, V.D., Doronin Yu.G. 1999. *Ostroye obshcheye pereokhlazhdeniye v vode* [Acute general hypothermia in water]. St. Petersburg. 222.
23. Shilo, A.V., Lutsenko, D.G., Ventskovskaya, E.A., Kovalenko, I.F., Babiichuk, G.A. 2014. Vliyaniye razlichnykh metodov kholodovoy akklimatizatsii na osmoticheskuyu khрупkost' i indeks sferichnosti eritrotsitov krysa [Effect of different types of cold acclimation on osmotic fragility and sphericity index of rat erythrocytes]. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova* [Russian Journal of Physiology name of I.M. Sechenova]. 100, 1, 105–111.
24. Abel, E.L. 1993. Physiological correlates of the forced swim test in rats. *Physiol Behav.* 54(2). 309–317.
25. Brazaitis, M., Eimantas, N., LaDanuseviciute, L., Mickeviciene, D., Steponaviciute, R., Skurvydas, A. 2014. Two Strategies for Response to 14°C Cold-Water Immersion: Is there a Difference in the Response of Motor, Cognitive, Immune and Stress Markers? *PLoS One.* 9(10). e109020. DOI: 10.1371/journal.pone.0109020 PMID: PMC4183517.
26. Bruner, C.A., Vargas, I. 1994. The Activity of Rats in a Swimming Situation as a Function of Water Temperature. *Physiology & Behavior.*, 55 (1), 21–28.
27. Castellani, J.W., Tipton, M.J. 2015. Cold Stress Effects on Exposure Tolerance and Exercise Performance. *Compr Physiol.* 6(1). 443–469. DOI: 10.1002/cphy.c140081.
28. Castellani, J.W., Young, A.J. 2016. Human physiological responses to cold exposure: Acute responses and acclimatization to prolonged exposure. *Auton Neurosci.* Apr. 196. 63–74. DOI: 10.1016/j.autneu.2016.02.009.
29. Daanen, H.A.M., Marken Lichtenbelt van W.D. 2016. Human whole body cold adaptation. *Temperature.* 3(1). 104–118, DOI: 10.1080/23328940.2015.1135688.

30. Gordienko, E.A., Gordienko, Yu.E., Gordienko, O.I. 2003. The physico-mathematical theory of human erythrocyte hypotonic hemolysis phenomenon. *Cryo Letters*. 24(4). 229–244.
31. Harvey, J.W. 2008. The Erythrocyte: Physiology, Metabolism and Biochemical Disorders. In *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. (6th Ed.). Elsevier. Ch. 7. 173–240.
32. Hayward, I.S. 1993. The physiology of immersion hypothermia. *The nature and treatment of hypothermia*. London: *Groom Helm*. 1993. 26–28.
33. Jansky, L, Pospisilova, D., Honzova, S., Ulicny, B., Sramek, P., Zeman, V., Kaminkova, J. 1996. Immune system of cold-exposed and cold-adapted humans. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 72(5–6). 445–50.
34. LaVoy, E.C., McFarlin, B.K., Simpson, R.J. 2011. Immune responses to exercising in a cold environment. *Wilderness Environ Med*. 22(4). 343–351.
35. Lombardi, G., Lanteri, P., Porcelli, S., Mauri, C., Colombini, A., Grasso, D., Zani, V., Bonomi, F.G., Melegati, G., Banfi, G., Mauri, C., Colombini, A., Grasso, D., Zani, V., Bonomi F.G., Melegati, G., Banfi, G. 2013. Hematological profile and martial status in rugby players during whole body cryostimulation. *PLoS ONE*, 8(2). e55803. Available from: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0055803> DOI: 10.1371/journal.pone.0055803.
36. Mohandas, N., Gallagher, P.G. 2008. Red cell membrane: past, present, and future. *Blood*. 112(10). 3939–3948.
37. Porsolt, R.D., Bertin, A., Jalfre, M. 1977. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch Int Pharmacodyn Ther*. 229 (2). 327–336.
38. Rüst, C.A., Knechtle, B., Rosemann, Th. 2012. Changes in body core and body surface temperatures during prolonged swimming in water of 10°C – a case report. *Extrem Physiol Med*. 1. 8. Published online 2012 Nov 1. DOI: 10.1186/2046-7648-1-8.
39. Segerstrom, S.C., Miller, G.E. 2004. Psychological stress and the human immune system: a meta-analytic study of 30 years of inquiry. *Psychol Bull* 130(4). 601–630.
40. Solianik, R., Skurvydas A., Vitkauskienė, A., Brazaitis M. 2014. Gender-specific cold responses induce a similar body-cooling rate but different neuroendocrine and immune responses. *Cryobiology*. 69. 26–33.
41. Tipton, M.J., Collier, N., Massey, H., Corbett, J., Harper, M. 2017. Cold water immersion: kill or cure? *Exp Physiol*. 102(11). 1335–1355. DOI: 10.1113/EP086283. Epub 2017 Sep 21.
42. Turk, E.E. Hypothermia. 2010. *Forensic. Sci. Med. Pathol*. 6(2). 106–115.
43. Young, A.J., Muza, S.R., Sawka, M.N., Gonzalez, R.R., Pandolf, K.B. 1986. Human thermoregulatory responses to cold air are altered by repeated cold water immersion. *J. Appl. Physiol*. 60(5). 1542–1548.