

АДАПТАЦИОННЫЕ РЕАКЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ *LACERTA AGILIS* НА ДЕЙСТВИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА

С.Д. Чернявских¹, кандидат биологических наук,

Д. Х. Куэт², кандидат биологических наук,

А.А. Литвинова^{1,3},

А.Д. Коваленко¹,

¹НИУ «БелГУ», г. Белгород, Россия,

Chernyavskikh@bsu.edu.ru, 1061826@bsu.edu.ru

²Совместный Российско-Вьетнамский Тропический

научно-исследовательский и технологический центр, Вьетнам,

dhquyet@mail.ru

³Центр образования №1, г. Белгород, Россия, 966887@bsu.edu.ru

Резюме: В работе показаны адаптационные реакции эритроцитов *Lacerta agilis* на действие температурного фактора, проявляющиеся в изменениях морфометрических и физических показателей. Установлено, что при повышении температуры инкубации уменьшается объем и малый диаметр клеток, при снижении температуры – адгезия и упругость их плазмалеммы.

Ключевые слова: эритроциты, атомно-силовая микроскопия, морфометрические параметры, адгезия, упругость

Несмотря на широкий спектр исследований, охватывающих проблему изучения влияния температурного фактора на живой организм [1, 5], до настоящего времени остается не изученным ряд вопросов, связанных с ключевыми механизмами адаптационных реакций их клеток крови на воздействие температуры разного диапазона. В частности, требуют исследования физиологические свойства плазматической мембраны, тесно связанные с морфометрическими и физическими параметрами ядерных эритроцитов, в ответ на колебания температурного фактора.

Опыты проведены в условиях *in vitro*. Объектами исследования служили ядерные эритроциты *Lacerta agilis*. У рептилий кровь брали из вентральной копчиковой вены. В качестве антикоагулянта использовали гепарин (10 ед./мл). Полученную кровь центрифугировали 10 мин при относительной силе центрифугирования 400g. Суспензии эритроцитов разбавляли изотоническим раствором (0,8% NaCl). Полученные клетки крови рептилий инкубировали в течение 2 часов при комнатной (20°C), пониженной (5°C) и повышенной (40°C) температурах. После инкубации делали мазки крови. Методом атомно-силовой микроскопии изучали морфометрические показатели красных клеток крови и упруго-эластические и адгезионные свойства их плазмалеммы [3].

Статистическая обработка данных была проведена с помощью программы IBM SPSS Statistics 20. Для оценки различий параметрических выборок использовали t-критерий Стьюдента (*, $p < 0,05$).

Результаты полученных в условиях различных температур инкубации морфометрических показателей красных клеток крови *Lacerta agilis* представлены в таблице 1.

Таблица 1

Морфометрические показатели эритроцитов *Lacerta agilis* после инкубации при разных температурных условиях

Температура инкубации, °С	Показатели, ед. изм.			
	S, мкм ²	V, мкм ³	D, мкм	d, мкм
5°С	89,70 ± 2,97	154,53±11,15	13,25 ± 0,30	8,10 ± 0,53
20°С	91,88 ± 2,74	157,65±7,38	13,04 ± 0,23	8,82 ± 0,29
40°С	87,12 ± 2,90	87,30 ± 2,56*	13,88 ± 0,40	7,89 ± 0,20*

Примечание: S – площадь, V – объем, D – большой диаметр, d – малый диаметр; * - достоверность различий по сравнению с температурой 20°С при условии $p < 0,05$ (t-критерий Стьюдента).

Как видно из таблицы, показатели площади эритроцитов при снижении и повышении температуры достоверно не изменились по сравнению с контрольной температурой. Показатели, характеризующие объем эритроцитов при пониженной температуре инкубации были на уровне аналогичных данных, полученных в контрольной группе. При повышенной температуре инкубации данные объема красных клеток крови были на 44,62% ($p < 0,05$) ниже, чем клетки, инкубированные при температуре 20°С. Показатели большого диаметра эритроцитов не изменялись при снижении и повышении температуры инкубации по сравнению с инкубацией при комнатной температуре. Малый диаметр у эритроцитов ящерицы при пониженной температуре инкубации был на уровне аналогичного показателя клеток контроля, при повышенной температуре – снизился на 10,54% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

Снижение морфометрических показателей эритроцитов при повышенной температуре инкубации может быть связано со стремительной экспрессией белков теплового шока (БТШ) [2, 6], запуск которой обычно происходит в течение нескольких минут после начала действия тепловой нагрузки на поверхность клеток. Известно, что ряд белков теплового шока связано с белками, образующими цитоскелет клетки [7]. Можно предположить, что эта взаимосвязь ведет к вовлечению БТШ в структуру цитоскелета в ходе и/или по окончании тепловой нагрузки. Считаем, что такого рода реакции способствуют изменению морфометрических показателей клеток крови после их экзогенного перегревания.

Результаты изменения адгезионных и упруго-эластических показателей красных клеток крови ящерицы при снижении и повышении температуры инкубации клеток представлены в таблице 2.

Таблица 2

Показатели адгезии и модуля Юнга эритроцитов у *Lacerta agilis* при действии температурного фактора

Температура инкубации, °С	Адгезия, нН	Модуль Юнга, кПа
5°С	10,47±0,23*	26,96±1,07*
20°С	15,89±0,56	37,73±1,48
40°С	15,38±0,34	34,97±1,60

Примечание: * - достоверное различие по сравнению с температурой 20°С при условии $p < 0,05$ (t-критерий Стьюдента).

Как видно из таблицы, показатели, характеризующие адгезию эритроцитов к кантилеверу, при повышенной температуре инкубации были на уровне аналогичных данных, полученных в контрольной группе. При пониженной температуре инкубации данные адгезии у красных клеток крови были на 34,11% ($p \leq 0,05$) ниже, чем клетки, инкубированные при температуре 20°С. Аналогичное влияние температуры было зарегистрировано также на показатели упругости эритроцитов. Так, при увеличении температуры инкубации показатели модуля Юнга были на уровне аналогичных данных, полученных в контрольной группе. При уменьшении температуры инкубации данные упругости у красных клеток крови были на 28,54% ($p \leq 0,05$) ниже, чем у клеток, инкубированных при температуре 20°С. Уменьшение показателей, характеризующих адгезионные и упруго-эластические свойства мембраны эритроцитов испытываемых животных в условиях пониженной температуры инкубации по сравнению с контролем может быть обусловлено тем, что при данной температуре происходит нарушение регуляции микровязкости билипидного слоя, фазового распределения липидов, микроокружения белков, белок-липидных взаимодействий, а также других характеристик структурной организации мембраны [4].

Выводы

1. Температурный фактор оказывает влияние на морфометрические показатели, упругоэластические и адгезионные свойства плазмалеммы эритроцитов *Lacerta agilis*.

2. Увеличение температуры инкубации красных клеток крови испытываемых животных (до 40°С) способствует уменьшению объема клетки на 46,89%, малого диаметра – на 10,54% по сравнению с контролем.

3. Снижение температуры инкубации эритроцитов (до 5°С) ведет к уменьшению адгезии и упругости их плазмалеммы на 34,11% и 28,54% соответственно по сравнению с аналогичными показателями контроля.

Литература

1. Голованов В. К. Эколого-физиологические закономерности распределения и поведения пресноводных рыб в термоградиентных условиях // Вопросы ихтиологии. 2013б. Т. 53(3). С. 286-314.
2. Евдонин А. Л., Медведева Н. Д. Внеклеточный белок теплового шока 70 и его функции // Цитология. 2009. № 51(2). С. 130-137.
3. Миронов В. Л. Основы сканирующей зондовой микроскопии. – Нижний Новгород, 2004. 110 с.
4. Харакоз Д. П. О возможной физиологической роли фазового перехода «жидкое-твердое» в биологических мембранах // Успехи биологической химии. 2001. Т. 41. С. 333-364.
5. Чернявских С. Д., До Хыу Куэт, Во Ван Тхань Влияние температуры на морфометрические и физические показатели эритроцитов и полиморфно-ядерных лейкоцитов *Carassius gibelio* (Bloch) // Биология внутренних вод, 2018, № 1, с. 95-99.
6. Kregel K. C. Molecular biology of thermoregulation. Invited review: Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance // Journal of Applied Physiology. 2002. Vol. 92. P. 2177-2186.
7. Wiegant F. A. C., Van Bergen en Henegouwen P. M. P., Van Dongen G. et al. Stress-induced thermotolerance of the cytoskeleton of mouse neuroblastoma N2A cells and rat reuber H35 hepatoma cells // Cancer Research. 1987. Vol. 47. P. 1674-1680.

ADAPTATION REACTIONS OF LACERTA AGILIS ERYTHROCYT ON THE ACTION OF THE TEMPERATURE FACTOR

S. D. Chernyavskikh, D. H. Quyet, A. A. Litvinova, A. D. Kovalenko

Summary: The adaptation reactions of erythrocytes *Lacerta agilis* to the action of the temperature factor are shown, which are manifested in changes in morphometric and physical indices. It has been established that as the temperature of incubation increases, the volume and small diameter of the cells decrease, while the temperature decreases - the adhesion and elasticity of their plasmalemma.

Key words: *erythrocytes, atomic force microscopy, morphometric parameters, adhesion, elasticity.*