

УДК 577.25

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗОГРЕВА ГИБЕРНИРУЮЩИХ СУСЛИКОВ *SPERMOPHILUS UNDULATUS* ПРИ ВЫЗВАННОМ ПРОБУЖДЕНИИ

Захарова Н.М.*ФГБУ «Институт биофизики клетки Российской академии наук»,
Пушchino, e-mail: n.m.zakharova@gmail.com*

На основании значительного числа экспериментальных точек, полученных в острых опытах на спровоцированно-пробуждающихся длиннохвостых сусликах *Spermophilus undulatus*, выявлена зависимость температуры сердца от ректальной температуры, которая математически описана сигмоидной кривой. Полученная формула позволяет перевести экспериментальный массив данных, зарегистрированных ректальных температур в массивы соответствующих температур сердца. Кривые зависимости ректальной и сердечной температур от времени имеют участки, отличающиеся по скорости роста температуры: начальные участки медленного роста температуры и участки быстрого роста температуры. Полученные данные однозначно показывают, что разогрев сердца опережает ректальную температуру, причем разница во времени активных участков кинетики температуры составляет 45–50 минут. Выявленные зависимости позволяют количественно оценить разность температур между передней и задней частями тела сусликов, возникающую в любой момент времени от начала выхода из торпора до активного состояния, когда животные начинают демонстрировать оборонительное поведение. Сделан вывод, что градиент температур в теле суслика возникает уже в начальной стадии пробуждения.

Ключевые слова: гибернация, пробуждение, ректальная температура, температура сердца

SOME FEATURES OF BODY WARMING AT PROVOKED AWAKENING OF HIBERNATING GROUND SQUIRRELS *SPERMOPHILUS UNDULATUS*

Zakharova N.M.*Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, e-mail: n.m.zakharova@gmail.com*

Based on a large number of data obtained in acute experiments on long-tailed ground squirrels *Spermophilus undulatus* under provoked awakening from torpor, the dependence of heart temperature on rectal temperature was described by sigmoidal curve. The obtained formula allows translating the array of experimental data of rectal temperatures into the array of corresponding heart temperatures. The time dependencies of rectal and heart temperatures have areas differing in temperature rise rate: the initial areas of slow increase and areas of fast increase. The data clearly show that heart warming advances the rectal temperature rise. The time difference between active areas of the kinetics is about 45–50 min. The revealed dependencies let us to estimate the temperature differences between anterior and posterior body parts present at all time points between provoked awakening from torpor and active state when the animals are beginning to demonstrate defensive behavior. We concluded that the temperature gradient in the body of ground squirrel has been present at the initial stage of provoked awakening from torpor.

Keywords: hibernation, awakening, rectal temperature, heart temperature

Во время зимней спячки периоды (бауты) торпора у гибернирующих сусликов чередуются с периодами межбаутного пробуждения. Во время торпора температура их тела колеблется в области нуля градусов при значительно сниженном метаболизме. В это время многие физиологические функции животных, включая сердечно-сосудистую, дыхательную и клеточную, находятся в подавленном состоянии [6, 9]. В промежутках между баутами у сусликов восстанавливается эутермная температура тела, физиологические и клеточные функции. Значительная часть исследований, посвященная переходному периоду от торпора к межбаутной активности, проводится в условиях вызванных (спровоцированных) пробуждений в лабораторных условиях. Данный подход можно считать оправданным, так как неоднократно показано, что при вызванных пробуждениях основные физиологические и биохимические показа-

тели у гибернирующих животных не отличаются от выявленных при самопроизвольных спонтанных пробуждениях [8, 11, 14]. Поскольку температура тела при выходе из торпора меняется от 0 до 36°C в течение нескольких часов, привлекательной является задача исследования функционального состояния животных на разных этапах пробуждения. Простым и доступным способом контроля температуры является измерение ректальной температуры. Однако, как известно, при пробуждении передняя часть тела гибернирующих животных разогревается гораздо быстрее задней за счет перераспределения кровотока, создающего значительный градиент температуры [5, 13]. Кровь циркулирует преимущественно в передней части тела, и тепло, которое вырабатывается при сокращении сердца, так же как и тепло, образующееся при несократительном термогенезе, идет на разогревание мозга и органов грудной клетки

[13]. В связи с этим регистрация температуры при пробуждении в большинстве своем осуществляется способами, позволяющими оценить ее прежде всего в области жизненно важных органов: с помощью глубоких подкожных датчиков, размещенных в разных частях тела животного [1, 7]; с помощью датчиков в защитном мешке [12]; телеметрических датчиков, помещенных в брюшную стенку либо в область лопаток, а также посредством тепловизора [1, 4, 10, 12, 15]. Задача данного исследования состояла в том, чтобы на основе значительного количества данных, полученных в острых опытах на спровоцированно пробуждающихся сусликах, построить график зависимости температуры в области сердца от ректальной температуры с последующей аппроксимацией точечных значений математическим методом. Другая экспериментальная задача заключалась в том, чтобы с помощью полученной формулы перевести экспериментальный массив данных, зарегистрированных ректальных температур в массивы соответствующих температур сердца.

Материалы и методы исследования

Исследования выполнены на 95 якутских сусликах *Spermophilus undulatus* обоих полов массой 640 ± 43 г в периоды гибернации (декабрь – март) с 2011 по 2014 год. Животные отлавливались в конце августа в местах их природного обитания (долина реки Лена, Якутия) и доставлялись в г. Пушино Московской области. В период активности (сентябрь) суслики содержались в индивидуальных клетках в специальном помещении, с соблюдением естественного фотопериода, при достаточном количестве пищи и воды. Затем клетки с животными перемещали в темное помещение, где они находились при температуре от 0° до $+2^\circ\text{C}$ до окончания гибернационного

периода. Опыты проводились с соблюдением правил Европейской конвенции по обращению с лабораторными животными [2]. Для провокации пробуждения сусликов извлекали из гнезда в середине баута (на 5–6 день спячки) и переносили в помещение с температурой воздуха (T_v) $19 \pm 1^\circ\text{C}$. Регистрация ректальной температуры (T_p) при пробуждении велась по секундам с помощью специализированного датчика RET-2 (Physitemp, USA, $\pm 0,1^\circ\text{C}$) и программы ввода в компьютер. Температура сердца (T_c) точно измерялась с помощью датчика RET-3 (Physitemp, USA, $\pm 0,1^\circ\text{C}$) сразу после вскрытия грудной клетки. Сигмоидная кривая получена и математически описана после обработки экспериментальных данных программой Sigma Plot 11.0, для построения кривых использовалась программа Microsoft Office Excel 2003, достоверность полученных результатов оценивали с помощью программ Excel и ANOVA (Statistica 6.0) по уровню значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Ранее в острых опытах на пробуждающихся сусликах был получен небольшой массив экспериментальных точек по изменению температуры в области сердца относительно ректальных температур [4], что дало некоторое представление о возможной кинетике изменения кривой зависимости T_c от T_p . Накопленные в настоящем исследовании данные выявили, что связь ректальной и сердечной температур при пробуждении сусликов представляет из себя сигмоиду (рис. 1) и описывается следующей формулой:

$$T_c = 36,88 \cdot \left[1 + e^{-\frac{T_p - 10,08}{3,5}} \right]^{-1},$$

где T_c – температура сердца ($^\circ\text{C}$); T_p – ректальная температура ($^\circ\text{C}$), коэффициенты: 10,08 – средняя точка сигмoиды, 3,5 – её крутизна.

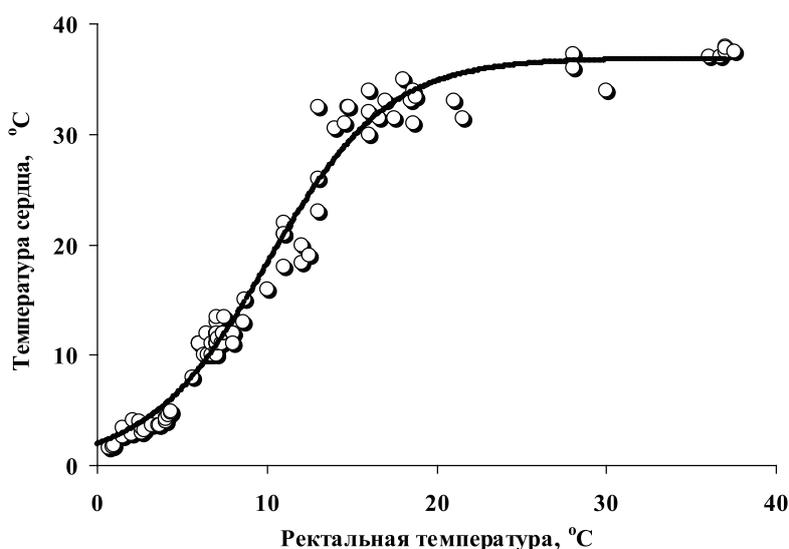


Рис. 1. Дискретные экспериментальные точки температуры сердца, полученные от 95 сусликов, забранных в острый опыт при разных соответствующих ректальных температурах. Черная кривая – аппроксимирующая сигмоида

Средней точке значения ректальной температуры $10,08^{\circ}\text{C}$ на сигмоиде соответствует температура в сердце порядка $18\text{--}19^{\circ}\text{C}$ (рис. 1). Согласно полученным данным, при достижении ректальной температуры около 22°C температура сердца выходит на стационарный уровень ($35\text{--}36^{\circ}\text{C}$) (рис. 1). В это время животное уже открывает глаза, демонстрирует ориентировочное поведение, но подволакивает лапы и заваливается набок, поскольку кровоснабжение задней части тела остается пока недостаточным. С помощью выведенной формулы, описывающей сигмоиду, для массива экспериментально зарегистрированных ректальных температур был получен соответствующий массив температур сердца и построены ус-

редненные кривые зависимости ректальной температуры и температуры сердца от времени пробуждения сусликов (рис. 2). Из рис. 2 видно, что после выхода температуры сердца (кривая 2) на стационарный уровень, ректальная температура (кривая 1) плавно, еще не менее 25–35 минут, выравнивается до эутермного уровня ($35\text{--}36^{\circ}\text{C}$). Известно, что в межбуаутном состоянии суслики бодрствуют при температуре тела на $2\text{--}3^{\circ}\text{C}$ ниже, чем во время летней активности [1]. Как видно из рис. 2, кривые 1, 2 имеют участки, отличающиеся по скорости роста температуры: начальные участки медленного роста температуры (до $0,1^{\circ}\text{C}/\text{мин}$) и участки быстрого роста температуры (более $0,3^{\circ}\text{C}/\text{мин}$).

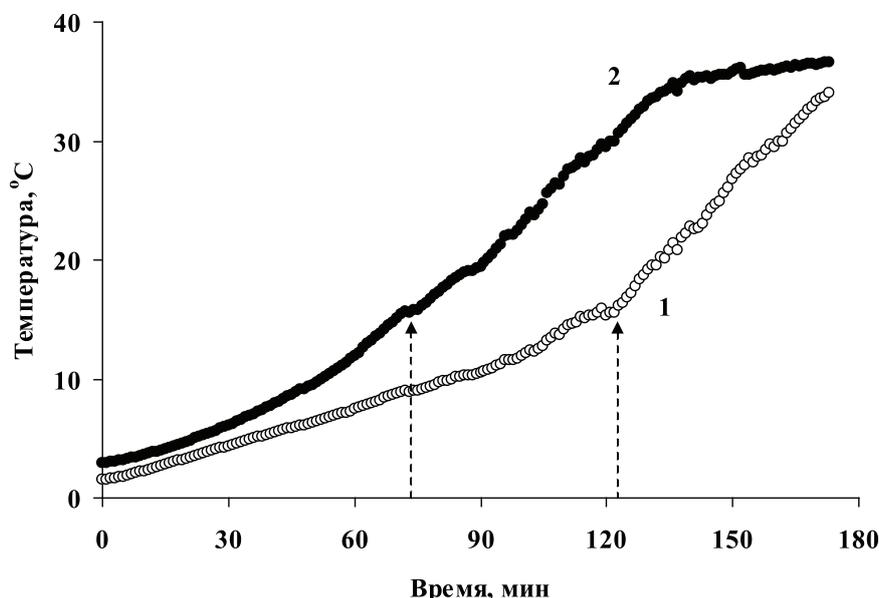


Рис. 2. Усредненные кривые зависимости ректальной температуры и температуры сердца от времени пробуждения сусликов ($N = 15$). N – число животных: 1 – значения ректальной температуры; 2 – значения температуры сердца. Стрелками отмечены точки, в которых максимально меняются скорости нагрева сердца (левая стрелка) и роста ректальной температуры (правая стрелка). $P < 0,05$

По-видимому, начальные участки медленного роста температуры обусловлены пассивным разогревом животного за счет температуры окружающей среды, а участки быстрого нагрева обусловлены активными процессами в организме. Причем скорость нагрева сердца увеличивается в 1,7 раза уже при достижении $T_c = 5^{\circ}\text{C}$, спустя 22 минуты после начала пробуждения, а в области $10\text{--}11^{\circ}\text{C}$ увеличивается еще в 2 раза (рис. 2, кривая 2). В то же время, скорость роста ректальной температуры ($\sim 0,1^{\circ}\text{C}/\text{мин}$) не меняется в течение первых 100–110 минут, при достижении $10\text{--}12^{\circ}\text{C}$ увеличивается более, чем в полтора раза, а еще примерно

через 20 минут, после короткого плато, сопровождающегося небольшим падением температуры, резко растет (рис. 2, кривая 1). Мы полагаем, что кратковременное падение температуры возможно обусловлено усилением кровотока в холодных органах и тканях. В своей предыдущей работе мы показали, что характер зависимости ректальной температуры от времени нагрева у пробуждающегося суслика и трупа суслика (того же веса и стартовой T_p), умерщвленного дислокацией шейных позвонков в торпидном состоянии, практически совпадал в течение первых 100–110 минут [3]. Это означает, что рост ректальной температуры

пробуждающегося до $T_p \sim 10^\circ\text{C}$ суслика при окружающей температуре воздуха $19 \pm 1^\circ\text{C}$ связан, по-видимому, с пассивным разогревом. В этот период кровь в основном цирку-

лирует в области жизненно важных органов [13]. В то же время, как уже сказано, время пассивного нагревания передней части тела довольно короткое.

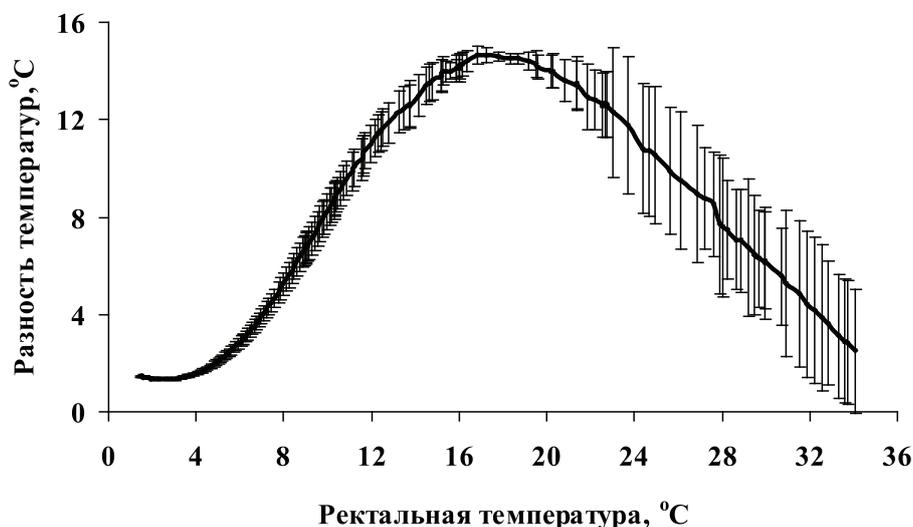


Рис. 3. Усредненная зависимость разности температуры между сердцем и прямой кишкой при пробуждении сусликов ($N = 15$) от значения ректальной температуры. N — число животных; $p < 0,05$

Увеличение скорости роста ректальной температуры, которую мы наблюдаем при достижении $10\text{--}12^\circ\text{C}$ (рис. 2, кривая 1), связано, вероятно, с усилением кровотока, обусловленным серьезными энергетическими перестройками метаболизма, пик которых достигается при $18\text{--}19^\circ\text{C}$ температуры сердца [15]. Полученные данные однозначно показывают, что разогрев сердца при вызванном пробуждении опережает ректальную температуру, причем разница во времени активных участков кинетики температуры составляет 45–50 минут (рис. 2). Полученные кривые позволяют также определить разность между ректальной и сердечной температурами, возникающую в каждый момент времени при пробуждении от состояния торпора до состояния активности, в котором суслики начинают демонстрировать оборонительное поведение (рис. 3). Разность сердечной и ректальной температур выявляется у всех сусликов, находящихся в состоянии торпора и составляет в среднем $1,5^\circ\text{C}$ (рис. 2, 3). По мере разогрева разность температур между сердцем и прямой кишкой увеличивается и достигает максимума 15°C при ректальной температуре порядка 17°C , после чего идет на спад (рис. 2, 3). Следует отметить, что выравнивание температур после точки экстремума происходит в 1,8 раза медленнее, чем рост их разности в восходящей части

кривой, что, вероятно, связано с медленным восстановлением кровотока в задней части тела сусликов (рис. 3).

Важную информацию при вызванном пробуждении несет также синхронная регистрация ректальной температуры с частотой сердечных сокращений, что в настоящее время является предметом анализа результатов наших экспериментов.

Заключение

Полученные данные позволяют с высокой точностью предсказать значение температуры сердца при вызванном пробуждении сусликов с помощью обычного измерения ректальной температуры и оценить разность температур между областью жизненно важных органов и задней частью тела животных. Результаты работы открывают перспективные возможности для постановки новых экспериментальных задач.

Список литературы

1. Ануфриев А.И. Механизмы зимней спячки мелких млекопитающих Якутии. — Новосибирск: Из-во СО РАН.- 2008. — 158 с.
2. Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях, Страсбург, 18 марта 1986 г. <http://lawsector.ru/data/dos10/txc10979.htm> (дата обращения 07.07.2011).
3. Захарова Н.М., Асланиди К.Б., Калориметрический анализ экзогенных и эндогенных влияний на продолжительность сердечного цикла при разогреве, вызванным спрово-

цированным пробуждением // Международная научная конференция. Физические методы исследования в медицине: сборник докладов. (Тбилиси. Грузия. 27-29 октября 2011). – Тбилиси, 2011. – С. 290–295.

4. Игнат'ев Д.А., Сухова Г.С., Сухов В.П., Анализ изменений частоты сердцебиений и температуры суслика *Citellus Undulatus* в различных физиологических состояниях // Ж. общей биологии. – 2001. – № 62(1). – С. 66–67.

5. Bullard R.W., Funkhouser G.E. Estimated regional blood flow by rubidium 86 distribution during arousal from hibernation // *Am. J. Physiol.* – 1962. – № 203(2). – P. 266–270.

6. Carey H.V., Andrews M.T., Martin S.L. Mammalian Hibernation: Cellular and Molecular Responses to Depressed Metabolism and Low Temperature // *Physiol Rev.* – 2003. – № 83. – P. 1153–1181.

7. Dawe A.R., Morrison P.R. Characteristics of the hibernating heart // *Am heart j.* – 1955. – № 49 (3). – P. 367–384.

8. Ma Y.L., Wu S.F., Simultaneous measurement of brain tissue oxygen partial pressure, temperature, and global oxygen consumption during hibernation, arousal, and euthermia in non-sedated and non-anesthetized Arctic ground squirrels // *J Neuroscience Methods.* – 2008. – № 174. – P. 237–244.

9. Morin P., Storey K. Mammalian hibernation: differential gene expression and novel application of epigenetic controls // *Int. J. Dev. Biol.* – 2009. – № 53. – P. 433–442.

10. Nicol S.C., Andersen N.A., Arnold W., Ruf T., Re-warming rates of two large hibernators: comparison of monotreme and a eutherian // *Journal of Thermal Biology.* – 2009. – № 34. – P. 155–159.

11. Orr A.L., Lohse L.A., Drew K.L., Hermes-Lima M. Physiological oxidative stress after arousal from hibernation in Arctic ground squirrel // *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* – 2009. – № 153. – P. 213–221.

12. Phillips P.K., Heath J.E. Comparison of surface temperature in 13-lined ground squirrel (*Spermophilus tridecemlineatus*) and yellow-bellied marmot (*Marmota flaviventris*) during arousal from hibernation // *Comp Biochem and Physiol.* – 2004. – № A(138). – P. 451–457.

13. Toien O., Kohl F., Buck C.L. and Barnes B.M. Phenological variation in annual timing of hibernation and breeding in nearby populations of arctic ground squirrels // *Proc. Biol. Sci.* – 2010. – № 278. – P. 2369–2375.

14. Twente J.W., Twente J., Moy R.M., Regulation of arousal from hibernation by temperature in three species of *Citellus* // *J Appl Physiol.* – 1977. – № 42. – P. 191–195.

15. Hampton M., Nelson B. T. and Andrews M. T. Circulation and metabolic rates in a natural hibernator: an integrative physiological model // *Am. J. Physiol.* – 2010. – № 299. – P. R1478–R1488.

References

1. Anufriev A.I. Mechanisms of hibernation of small mammals of Yakutia. Novosibirsk: SB RAS; 2008. 158 p.

2. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg, on March 18, 1986. Available at: <http://lawsector.ru/data/dos10/txc10979.htm> (accessed 07.07.2011).

3. Zakharova N.M., Aslanidi K.B. The calorimetric analysis of exogenous and endogenous effects of the warming up caused by provoked awakening on duration of a heart cycle.

[International scientific conference: Physical research methods in medicine. Proceedings]. Tbilisi, Georgia, 2011.

4. Ignat'ev D.A., Sukhova G.S., Sukhov V.P. Analysis of changes in heart rate and temperature of the ground squirrel *Citellus undulatus* in various physiological states. *Zh Obshch Biol.* 2001. Vol.62. no.1. pp. 66–77.

5. Bullard R.W., Funkhouser G.E. Estimated regional blood flow by rubidium 86 distribution during arousal from hibernation. *Am. J. Physiol.* 1962. Vol. 203. no. 2. pp. 266–270.

6. Carey H.V., Andrews M.T., Martin S.L. Mammalian Hibernation: Cellular and Molecular Responses to Depressed Metabolism and Low Temperature. *Physiol Rev.* 2003. no. 83. pp. 1153–1181.

7. Dawe A.R., Morrison P.R. Characteristics of the hibernating heart. *Am heart j.* 1955. Vol.49. no. 3. pp. 367–384.

8. Ma Y.L., Wu S.F., Simultaneous measurement of brain tissue oxygen partial pressure, temperature, and global oxygen consumption during hibernation, arousal, and euthermia in non-sedated and non-anesthetized Arctic ground squirrels. *J Neuroscience Methods.* 2008. no. 174. pp. 237–244.

9. Morin P., Storey K. Mammalian hibernation: differential gene expression and novel application of epigenetic controls. *Int. J. Dev. Biol.* 2009. no. 53. pp. 433–442.

10. Nicol S.C., Andersen N.A., Arnold W., Ruf T., Re-warming rates of two large hibernators: comparison of monotreme and a eutherian. *Journal of Thermal Biology.* 2009. no. 34. pp. 155–159.

11. Orr A.L., Lohse L.A., Drew K.L., Hermes-Lima M. Physiological oxidative stress after arousal from hibernation in Arctic ground squirrel. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 2009. no. 153. pp. 213–221.

12. Phillips P.K., Heath J.E. Comparison of surface temperature in 13-lined ground squirrel (*Spermophilus tridecemlineatus*) and yellow-bellied marmot (*Marmota flaviventris*) during arousal from hibernation. *Comp Biochem and Physiol.* 2004. no. A(138). pp. 451–457.

13. Toien O., Kohl F., Buck C. L. and Barnes B. M. Phenological variation in annual timing of hibernation and breeding in nearby populations of arctic ground squirrels. *Proc. Biol. Sci.* 2010. no. 278. pp. 2369–2375.

14. Twente J.W., Twente J., Moy R.M., Regulation of arousal from hibernation by temperature in three species of *Citellus*. *J Appl Physiol.* 1977. no. 42. pp. 191–195.

15. Hampton M., Nelson B.T. and Andrews M. T. Circulation and metabolic rates in a natural hibernator: an integrative physiological model. *Am. J. Physiol.* 2010. no. 299. pp. R1478–R1488.

Рецензенты:

Миронова Г.Д., д.б.н., профессор, зав. лабораторией митохондриального транспорта, ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН», г. Пушкино;

Медвинский А.Б., д.ф.-м.н., профессор, зав. лабораторией биофизики возбудимых сред ФГБУН Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пушкино.

Работа поступила в редакцию 07.05.2014.