

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО КОЭФФИЦИЕНТА Q_{10} ГИБЕРНИРУЮЩИХ СУСЛИКОВ *UROCITELLUS UNdulATUS* И ОХЛАЖДЕННЫХ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

© 2024 г. Н. М. Захарова^{1, *}, Ю. С. Тараховский^{1, 2, **}, М. О. Хренов¹

¹ Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

² Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

* e-mail: n_m_zakharova@pbcras.ru

** e-mail: tarahov@rambler.ru

Поступила в редакцию 07.05.2024 г.

После доработки 12.07.2024 г.

Принята к публикации 23.07.2024 г.

Проведен анализ температурного коэффициента Q_{10} частоты сердечных сокращений ($Q_{10_{HR}}$) и потребления кислорода ($Q_{10_{Ox}}$) при пробуждении длиннохвостых сусликов *Uroditellus undulatus*, а также при отогревании предварительно охлажденных взрослых крыс и крысят. Величину $Q_{10_{Ox}}$ вычисляли по стандартной формуле, тогда как для вычисления $Q_{10_{HR}}$ формула была эмпирически модифицирована для отслеживания изменений этого параметра в широком диапазоне температур тела (T_b). Установлено, что у сусликов в начальный период выхода из спячки, при $T_b \leq 10$ °C, наблюдались высокие значения температурных коэффициентов $Q_{10_{HR}} = 40 - 50$ и $Q_{10_{Ox}} = 6 - 7$. Еще более высокие значения $Q_{10_{HR}} > 100$ были обнаружены в начале отогревания крысят, хотя у них был низкий уровень $Q_{10_{Ox}} = 1.2$. Взрослые крысы не выдерживали охлаждения ниже 16 °C и демонстрировали умеренную вариабельность как $Q_{10_{HR}} = 2.0 - 4.0$, так и $Q_{10_{Ox}} = 2.0 - 2.2$. В процессе восстановления нормальной T_b значения $Q_{10_{HR}}$ у всех животных приближались к величине ~ 2.0 , предсказанной правилом Вант Гоффа-Аррениуса для химических реакций в живой и неживой природе. Мы предполагаем, что высокие значения $Q_{10_{HR}}$ и $Q_{10_{Ox}}$, обнаруженные в ранний период выхода сусликов из гибернации, могут свидетельствовать о функционировании адаптационных механизмов, направленных на ускорение согревания тела. Устойчивость к охлаждению и высокий коэффициент $Q_{10_{HR}}$ у крысят, как представителей отряда *Rodentia*, к которому относятся также естественные гибернаторы — суслики, могут свидетельствовать о функционировании в ювенальный период крыс рудиментарных механизмов адаптации к охлаждению и гетеротермии.

Ключевые слова: крысы; крысята; суслики; гибернация; частота сердцебиения; потребление кислорода

DOI: 10.31857/S0044452924050045, **EDN:** XPMDWF

ВВЕДЕНИЕ

При снижении температуры тела (T_b), млекопитающие могут приобрести устойчивость к действию экстремальных факторов внешней среды, острым патологическим процессам или тяжелым травмам. Охлаждение тела на несколько градусов широко используется в медицине, но естественные

гибернаторы являются рекорсменами по способности переносить снижение T_b до 0 °C и ниже.

Охлаждение активирует терморегуляторные реакции, необходимые для минимизации потерь тепла, такие как периферическая вазоконстрикция и пилоэрекция, а также реакции продуцирования тепла в скелетных мышцах (дрожательный термогенез) и бурой жировой ткани (недрожательный или метаболический термогенез), тем самым предотвращая снижение T_b . [1, 2]. Если система терморегуляции не справляется со своей задачей, T_b у гомеотермных животных значительно падает, что приводит к их гибели вследствие остановки сердца [3].

Однако некоторые виды млекопитающих адаптировались к охлаждению тела благодаря спо-

Сокращения: HR — частота сердечных сокращений; BPM — удары сердца в минуту; ECG — электрокардиограмма; i — момент, для которого производятся расчеты; V_{Ox} — удельные скорости потребления кислорода; T_a — температура окружающей среды; T_b — температура тела; T_h — температура сердца; Q_{10} — температурный коэффициент; $Q_{10_{HR}}$ — температурный коэффициент Q_{10} , рассчитанный из зависимости HR от величины T_b ; $Q_{10_{Ox}}$ — температурный коэффициент Q_{10} , рассчитанный из зависимости V_{Ox} от величины T_b .

способности впадать в состояние пониженной активности и обмена веществ, называемом торпором. Их T_b падает до значений, которые лишь на несколько градусов превышают температуру окружающей среды (T_a) [4, 5]. Понимание естественных механизмов адаптивной гипотермии и торпора у млекопитающих имеет большое значение для использования этих состояний не только в классической медицине [6–9], но также в космической медицине [10–12] и в медицине катастроф [13–15].

В последнее время достигнут значительный прогресс в разработке фармакологических и нефармакологических подходов, способных инициировать глубокую гипотермию или формирование торпороподобных состояний у животных, не способных к гибернации в естественных условиях [16–19]. Внедрение в медицину искусственно вызываемых состояний гипотермии и торпора способствует появлению новой концепции лечения тяжелых травм, острой гипоксии, восстановления после остановки сердца, инсультов или в целях реанимации [20–22]. Кроме того, подавление клеточного метаболизма при охлаждении обеспечивает безопасные подходы для долгосрочного хранения органов и тканей, используемых в клинической трансплантологии [23–26].

Для оценки реакции организма на изменение T_b используют удобный и наглядный критерий: температурный коэффициент Q_{10} , определяемый как скорость физиологического процесса при определенной температуре по сравнению со скоростью при температуре на 10°C ниже или выше [27–29]. Согласно правилу Вант Гоффа — Аррениуса считается, что величина $Q_{10} \sim 2$ отражает естественное влияние температуры на химические реакции. В исследованиях температурной зависимости физиологических процессов, включая HR и V_{Ox} , проводимых на различных животных и людях, среднее значение Q_{10} обычно находится в пределах от 2 до 3 [30–33].

Однако было обнаружено, что в некоторых случаях, эта величина может существенно отклоняться от указанного значения, что свидетельствует об участии физиологических механизмов регуляции скорости метаболизма. Например, у животных возможны индивидуальные различия Q_{10} от 1 до 8, что может быть связано с большой вариабельностью HR и V_{Ox} [34, 35]. Кроме того, было показано, что Q_{10} может сильно варьировать в зависимости от T_b в момент тестирования. Так, при исследовании метаболизма, определяемого по скорости потребления кислорода мозгом собак при охлаждении, было обнаружено, что в интервале температур от 37°C до 27°C показатель Q_{10} составлял 2.23, а в интервале от 27°C до 14°C средний показатель Q_{10} увеличивался

вдвое и достигал 4.53 [36]. Значительное увеличение Q_{10} до 9.5, определяемого по скорости потребления кислорода, наблюдалось также у сумчатых животных в конце отогрева после гибернации, особенно в пределах термонейтральной зоны, тогда как низкие значения Q_{10} ($Q_{10} = 1.9$) наблюдались ниже $T_a = 20^\circ\text{C}$ [37]. Большая вариабельность Q_{10} также наблюдалась при исследовании отдельных белков, например, при оценке тепловой активации проводимости одиночных ионных каналов рецептора капсаицина VR1, ответственных за болевые ощущения при повреждающем нагревании тканей. Так, при нагревании в диапазоне физиологически нейтральных T_a , были зарегистрированы величины $Q_{10} < 2$, а при повреждающем нагревании наблюдалось увеличение до $Q_{10} = 32$ [38]. Значительное влияние температуры на Q_{10} наблюдалось также при анализе проводимости потенциал-зависимых ионных каналов Na^+ и K^+ нервов и мышц млекопитающих. Было обнаружено, что для альфа-субъединицы этого белка зависимость проводимости от величины приложенного потенциала характеризовалась $Q_{10} = 2.2$. Для бета-субъединицы была характерна $Q_{10} = 14$, что отражает неаррениусовское отклонение указанной величины, наблюдаемое при пониженных температурах [39].

Для анализа изменчивости Q_{10} при различных температурах был предложен метод сканирования значения Q_{10} , который присваивает Q_{10} каждой фиксированной точке T_b . Использование этого подхода позволило получить необычайные изменения значения Q_{10} . Так, в исследовании белка TRPA1, который является молекулярной основой способности ямочных органов змей воспринимать инфракрасное излучение, значение Q_{10} , получаемое при измерении зависимости проводимости от температуры, могло достигать $\sim 100\,000$, что может объяснить исключительно высокую термическую чувствительность ямочных органов гремучей змеи [27].

В представленной работе мы предлагаем простую модификацию стандартной формулы вычисления Q_{10} , позволяющую проводить сравнительный анализ этой величины во всем диапазоне изменений T_b . Этот подход мы используем для вычислений Q_{10} для зависимости HR от температуры при выходе из спячки сусликов (*Urocyon undulatus*) или при отогревании лабораторных крыс после контролируемого предварительного охлаждения. В исследование также были включены крысята, у которых механизмы терморегуляции не полностью сформированы, но которые способны выдерживать большую степень охлаждения тела, чем взрослые крысы.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты на животных

Суслики. Работа выполнена на длиннохвостых сусликах *Urocitellus undulatus*, Pallas (прежнее название *Spermophilus undulatus*) обоего пола ($n = 9$, вес 590 ± 50 г). Животные были отловлены в конце августа в естественной среде обитания (долина реки Лены, Якутия) и доставлены в лабораторию. В активный период сусликов содержали в индивидуальных клетках, находящихся в специальном помещении с достаточным количеством зерна и овощей и с соблюдением естественного фотопериода. В начале ноября клетки с животными переносили в темное помещение, где они содержались при температуре T_a от 0°C до $+2^\circ\text{C}$ до окончания гибернационного периода. В это время питание не предоставлялось. Для мониторинга баутов в период спячки часть сусликов индивидуально размещали в находящиеся в холодильной камере деревянные ящики ($20 \times 20 \times 25$ см), в дно которых был установлен термистор (чувствительность, $0,2^\circ\text{C}$). Во время спячки температура гнезда находилась в пределах $1-2^\circ\text{C}$. Для провокации пробуждения животных извлекали из ящика в середине баута (5–6 сутки гипотермии) и переносили в помещение с температурой воздуха $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Пробуждение сусликов в среднем занимало 170–180 мин.

Крысы. Самцов крыс *Wistar*, ($n = 5$, вес 240 ± 20 г) охлаждали с использованием метода закрытого сосуда [40, 41]. Животных помещали в герметичную камеру, объемом 5 л и $T_a = 7^\circ\text{C}$, где они находились в течение 3–4 ч. Камеры были оснащены газовыми датчиками O_2 и CO_2 (Vernier, США). В процессе потребления кислорода животными в камере создавались условия гипоксии/гиперкапнии. Измерения показали, что в результате дыхания, через 3 ч содержание кислорода в камере снижалось с 21% до 5%, а содержание углекислого газа повышалось с 0.03% до 2.5%. Эти изменения приводили к подавлению метаболизма и вызывали у животных состояние гипотермии до значений $T_b = 14^\circ\text{C} - 18^\circ\text{C}$. Для восстановления физиологически нормального T_b животных извлекали из камеры, помещали в клетку и доставляли в помещение с $T_a = 20 \pm 1^\circ\text{C}$, где в течение 3–4 ч (в среднем, в течение 210 мин) восстанавливалась нормотермия. Данная процедура оказывала мягкое воздействие на организм, и после окончания эксперимента у животных не наблюдалось видимых отклонений в поведении [42, 43].

Крысы. Крысят *Wistar* раннего постнатального периода ($n = 6$, возраст 7–8 дней, вес 20 ± 2 грамм) охлаждали методом закрытого сосуда. Крысят содержали в герметичной камере объемом 0.8 л при $T_a = 7^\circ\text{C}$ в течение 2 ч в условиях нарастающей гипоксии/гиперкапнии [40, 41], регистрируемых га-

зовыми датчиками O_2 и CO_2 (Vernier, США), что инициировало снижение T_b до $7^\circ\text{C} - 10^\circ\text{C}$. После извлечения из камеры и доставки в помещение с $T_a = 20 \pm 1^\circ\text{C}$, у крысят приблизительно через 3 ч (в среднем, за 170 мин) восстанавливалась нормотермия.

Измерения

На сусликах, измерения физиологических параметров проводили в процессе отогрева после 5–6 дней гибернации. На взрослых или крысах соответствующие измерения проводили при отогреве после нескольких часов охлаждения. Датчики температуры вводили в прямую кишку на глубину 4 см у крыс и сусликов или на глубину 2 см у крысят. Дистальную часть датчика надежно закрепляли у основания хвоста мягким зажимом. У крыс и сусликов, T_b регистрировали каждую минуту с помощью датчика RET-2, у крысят — RET-3. (Physitemp, США, точность $\pm 0,1^\circ\text{C}$).

Удельную скорость потребления кислорода (V_{O_2} , мл/кг/ч) регистрировали с помощью системы метаболического мониторинга MM-100 (CWE incorporated, США). Прибор позволял проводить несколько, обычно от 3 до 10 измерений, за время эксперимента.

Для измерения частоты сердечных сокращений, иглы из нержавеющей стали вводили подкожно в плечевые области правой и левой лап для записи ECG по стандартной схеме. Проблем для закрепления датчиков не было, так как суслики находились в состоянии торпора, а крысы и крысята в состоянии так называемого «холодового наркоза». При повышении температуры до контрольных значений, животные еще оставались в состоянии пониженной двигательной активности. И хотя ЭКГ становилась более зашумленной, считывание и последующий анализ частоты сердечных сокращений (HR) не составляло труда. Данные ECG передавались на компьютер, где каждую минуту автоматически оценивалась HR.

Вычисления

Температуру сердца вычисляли из данных изменений ректальной температуры. Известно, что при выходе сусликов из гибернации передняя часть тела, включая сердце, разогревается быстрее, чем задняя часть тела. Разница температур T_h и T_b у сусликов связана с характерной особенностью кровотока этих животных при выходе из гибернации, что не наблюдается у крыс при согревании после охлаждения. Поэтому стандартные измерения ректальной температуры (T_b) у сусликов не отражают температуру сердца (T_h) [44]. Однако, как нами было показано ранее [45], связь между ректальной и сердечной температурами, измеренными у сусликов при

спровоцированном пробуждении, представляет собой сигмоидальную кривую:

$$T_h = 36.88 \left[1 + e^{\frac{T_b - 10.08}{3.5}} \right]^{-1} \quad (1)$$

Где: T_h — температура сердца ($^{\circ}\text{C}$); T_b — ректальная температура ($^{\circ}\text{C}$). Коэффициенты: 36.88 — максимальная температура, достигнутая при обогреве после гибернации; 10.08 — середина сигмовидной кривой; 3.5 — крутизна сигмоидальной кривой. Установлено, что применение этой формулы дает хорошее соответствие экспериментальным точкам: $n = 96$, $R^2 = 0.977$ [45].

В представленной работе, все данные T_h у сусликов были получены путем вычислений по формуле (1). В экспериментах на крысах мы считали, что $T_b \approx T_h$. Поэтому в коррекции не было необходимости [44].

Для расчета коэффициента $Q10$ на основе удельных скоростей потребления кислорода ($Q10_{Ox}$) мы использовали стандартную формулу [46, 27, 32]:

$$Q10_{Ox} = \left(\frac{V_{Ox2}}{V_{Ox1}} \right)^{\frac{10}{T_{h2} - T_{h1}}} \quad (2)$$

Где V_{Ox1} и V_{Ox2} — удельные скорости потребления кислорода при температурах T_{h1} и T_{h2} соответственно.

Представленная формула (2) удобна для определения температурного коэффициента $Q10_{Ox}$, поскольку имеющееся оборудование позволяло провести всего 3–10 измерений кислорода, потребляемого за все время эксперимента. Однако, поскольку для расчета $Q10_{HR}$ измерения HR и T_h проводились каждую минуту в течение нескольких часов, мы получили обширный массив данных. Это позволило нам провести множественные расчеты значения $Q10_{HR}$ в течение всего периода обогрева животных. Поэтому, для определения значения $Q10_{HR}$ при температуре, зарегистрированной в момент времени i , мы предлагаем следующую эмпирическую модификацию стандартной (2):

$$Q10_{HR} = \left(\frac{HR_{(i+15)}}{HR_{(i-15)}} \right)^{\frac{10}{T_h(i+15) - T_h(i-15)}} \quad (3)$$

Где HR — частота сердечных сокращений через 15 измерений после $(i+15)$ или до $(i-15)$ контрольного момента (i) при температурах $T_h(i+15)$ и $T_h(i-15)$ соответственно. Расчеты по формуле (3) дают набор значений $Q10_{HR}$ для всего периода измерений. При этом, сдвиг между соседними значениями i (и соответствующими величинами $Q10_{HR}$) составляет одну минуту, а интервал через ± 15 измерений соответ-

ствует получасовому периоду, при условии проведения ежеминутных измерений.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Вычисления $Q10_{HR}$

Эксперименты на сусликах. При расчете $Q10_{HR}$ по формуле (3) мы протестировали разные интервалы для i и пришли к выводу, что получасовой интервал ($i \pm 15$ измерений) является оптимальным. При меньших значениях полученные кривые выглядели очень зашумленными, а значительное увеличение интервала приводило к огрублению результатов. Поэтому мы отдали предпочтение получасовому интервалу для всех расчетов $Q10_{HR}$, представленных в данной работе. Измерение частоты сердечных сокращений и ректальной температуры (T_b) у сусликов начинались с 0°C — 3°C (рис. 1а). Прогревание животных продолжалось около двух часов, что позволяло сделать многочисленные измерения и провести тщательный анализ динамики изменения коэффициента $Q10_{HR}$.

При спровоцированном выходе сусликов из гибернации, в первые 40 мин после начала пробуждения, при $T_h \leq 10^{\circ}\text{C}$, характерные значения $Q10_{HR}$ были высокими и достигали ~ 35 – 50 единиц (рис. 1а и 2а). При дальнейшем повышении температуры, наблюдалось постепенное снижение $Q10_{HR}$. В середине измерений, на 40–90 мин, что соответствовало интервалу температур $T_h = 10^{\circ}\text{C}$ — 35°C (рис. 1а), значения $Q10_{HR}$ постепенно снижались до величин 1.1–1.2 (рис. 1а и 2а).

Эксперименты на крысах. В наших экспериментах, охлаждение взрослых крыс до T_b ниже 16°C приводило к их гибели. В начале согревания, у крыс $Q10_{HR}$ резко увеличивалось примерно с 2.0 до 11.0 единиц (рис. 2б). Максимальное значение $Q10_{HR}$ наблюдалось при 18.5°C . Однако при дальнейшем повышении T_h до 35°C , наблюдалось постепенное снижение $Q10_{HR}$ примерно до 1.7.

Крысята переносили охлаждение тела лучше, чем взрослые. Известно, что в естественных условиях в гнезде T_b крысят может опускаться до 25°C при $T_a = 13^{\circ}\text{C}$ [47]. В наших экспериментах, крысята показали хорошую выживаемость при охлаждении тела до 10°C . Установлено, что в начале согревания, при $T_h \sim 10^{\circ}\text{C}$, величина $Q10_{HR}$ достигала 50 единиц (рис. 2с), но постепенно снижалась при повышении температуры до $T_h = 27^{\circ}\text{C}$. Дальнейший рост T_h у крысят был очень медленным, а полное восстановление T_h длилось примерно 3 ч и выходило за временные рамки наших экспериментов. Следует также отметить, что в норме, средний показатель T_b у крысят был значительно ниже, чем у взрослых крыс, и не превышал 33°C [48].

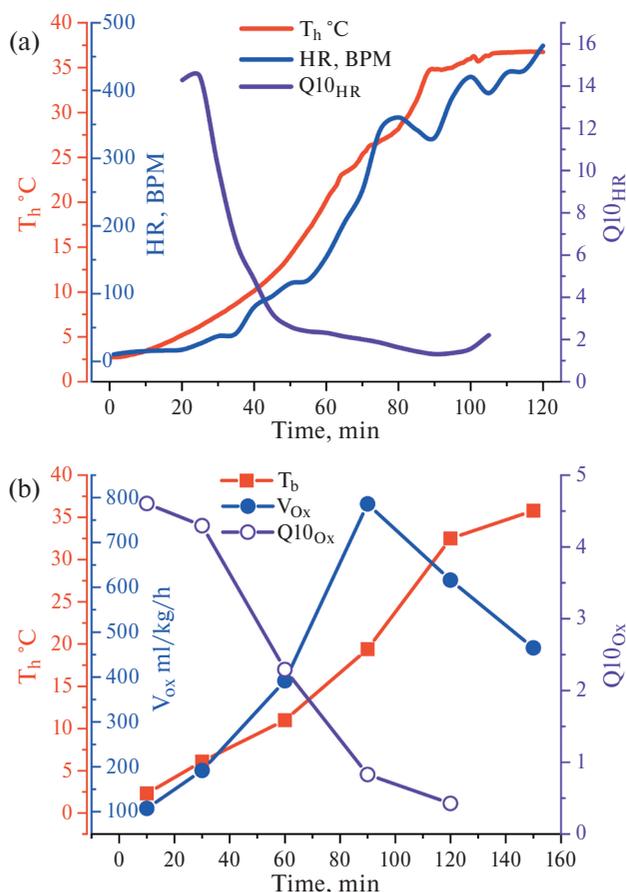


Рис. 1. Избранные примеры экспериментов, показывающие связь коэффициентов Q_{10} с изменением температурных и физиологических показателей, полученных при пробуждении сусликов. (a) — Изменение во времени полученных в эксперименте параметров T_h и HR, а также величин Q_{10HR} , вычисленных с использованием (3). Примечание: кривая Q_{10HR} короче кривых T_h и HR, поскольку, в соответствии с (3), кривая Q_{10HR} не включает первые и последние 15 минут измерений. (b) — Изменение во времени полученных в эксперименте параметров T_b и V_{Ox} , а также величин Q_{10Ox} , вычисленных с использованием (2).

Вычисления Q_{10Ox}

У сусликов, при выходе из гибернации, кривая роста T_h имела S-образную форму (рис. 1b). Аналогичным образом, увеличивалась также V_{Ox} в первые 90 мин, в течение которых температура сердца достигала комнатной температуры ($T_h = T_a = 20^\circ\text{C}$). В этот период происходило постепенное уменьшение Q_{10Ox} от 5 — 7 до 1 (рис. 1b и 2a'). При дальнейшем росте температуры ($T_h > T_a$) величина V_{Ox} парадоксальным образом уменьшалась (рис. 1b), что можно охарактеризовать как инверсию температурной зависимости: уменьшение потребления кислорода с увеличением T_b . Вследствие инверсии, при температуре T_b выше 20°C уровень Q_{10Ox} опускался ниже 1.0 (рис. 2 a').

В отличие от сусликов, при согревании взрослых крыс и крысят, коэффициент Q_{10Ox} не зависел от температуры и был постоянным во всем изученном диапазоне T_b . Так, у взрослых крыс Q_{10Ox} находился в пределах 2.0–2.1 (рис. 2b') в том же диапазоне температур ($20^\circ\text{C} - 32^\circ\text{C}$), в котором у сусликов наблюдалось снижение Q_{10Ox} до значений 1.0 — 0.0. У крысят Q_{10Ox} был близок к 1.2 во всем наблюдаемом диапазоне $8^\circ\text{C} - 35^\circ\text{C}$ (рис. 2c').

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В представленной работе мы провели сравнительное исследование изменения температурного коэффициента Q_{10} для двух физиологических параметров при выходе из гибернации у сусликов, являющихся природными гибернаторами, а также при отогревании предварительно охлажденных взрослых крыс и крысят, которые не способны к гибернации в естественных условиях. Для вычисления величины Q_{10Ox} по формуле (2) мы измеряли объем потребляемого животными кислорода (V_{Ox}), а для вычисления величины Q_{10HR} по формуле (3) мы измеряли частоту сердечных сокращений (HR).

Необходимо отметить, что суслики, находящиеся в состоянии торпора, могут снижать температуру тела до околонулевых значений и находиться в этом состоянии в течение многих дней, тогда как лабораторные крысы погибают при охлаждении $T_b < 16^\circ\text{C}$. Поскольку диапазон изменения T_b при согревании у сусликов был значительно больше, чем у крыс, стало возможным более детальное исследование влияния температуры на исследуемые параметры. В наших экспериментах были использованы также крысята раннего постнатального периода, что позволило расширить возможности исследования этих животных, поскольку крысята способны выдерживать более интенсивное охлаждение, чем взрослые крысы, вплоть до 10°C [49].

В наших экспериментах на сусликах было использовано спровоцированное пробуждение за счет повышения внешней температуры. Таким образом, способ отогревания был единым для всех животных, поскольку в экспериментах на предварительно охлажденных взрослых крысах и крысятах, перемещение животных в теплое помещение для отогрева было строго необходимо.

В представленном исследовании мы использовали стандартная формула (2) для расчета Q_{10Ox} и эмпирически модифицированная формула (3) для общего анализа Q_{10HR} во всем диапазоне изменений T_b . Использование модифицированной формулы было связано с тем, что стандартная формула позволяет вычислять величину Q_{10} только для одной, произвольно выбранной точки, что следует из формулы. При этом, температурный диапазон для

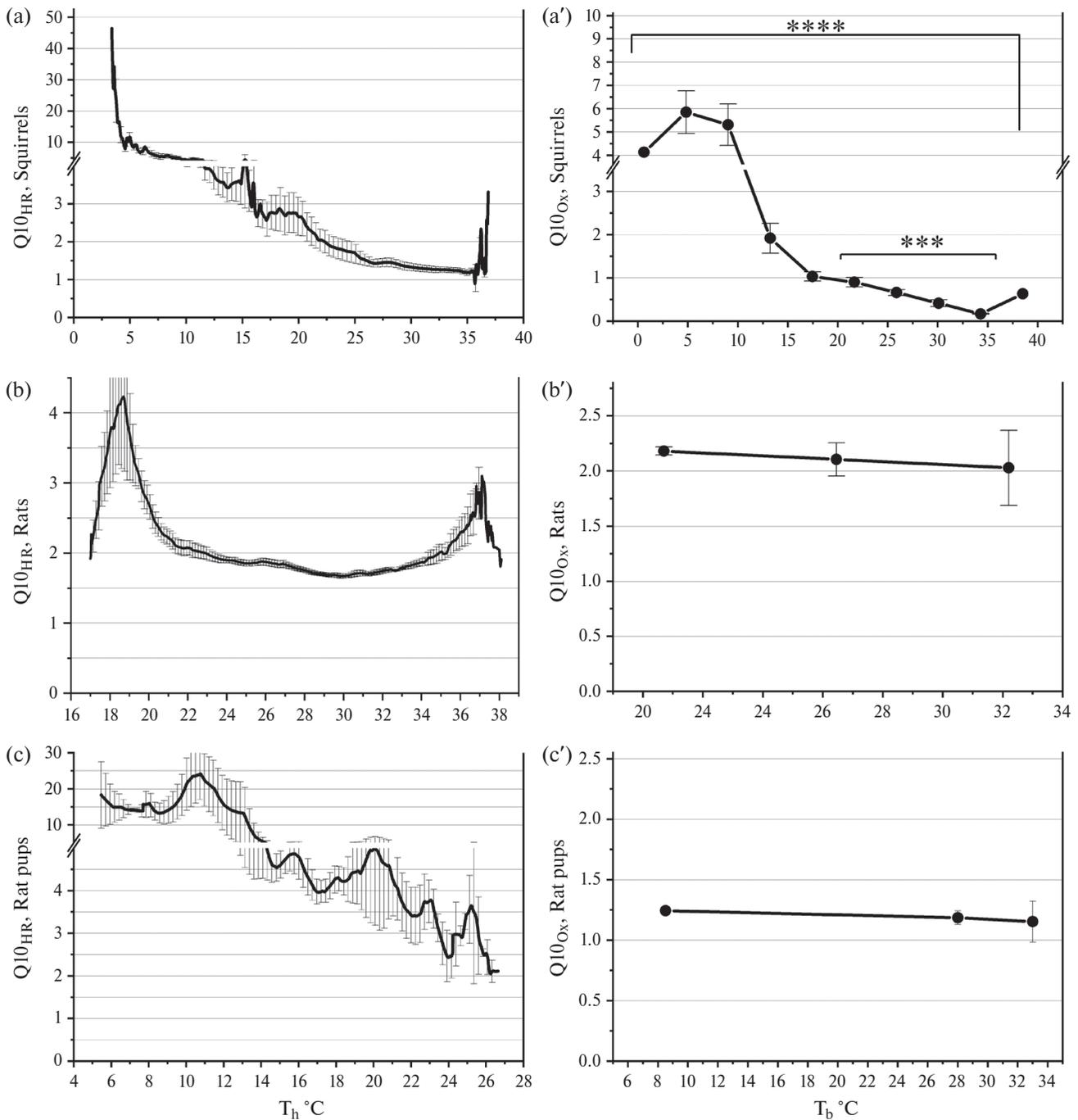


Рис. 2. Зависимость коэффициентов Q10 от температуры. Представлена зависимость Q10_{HR} от T_h, а также зависимость Q10_{Ox} от T_b. Где: (a, a') — спящие суслики, (b, b') — взрослые крысы, (c, c') — крысят. Значения представлены в форме Mean ± SEM, n = 5–10. Примечание: кривые a, b и c получены с использованием (3), тогда как кривые a', b' и c' получены с использованием (2). Однофакторный тест ANOVA (программное обеспечение GraphPad Prism 8) показывает, что средние данные Q10_{Ox} сусликов (a') зависели от температуры: **** P < 0.0001. Зависимость от температуры наблюдалась также при анализе выделенного диапазона температур 20°C — 35°C, когда значения находились в диапазоне 0 ≤ Q10_{Ox} ≤ 1, *** p < 0.0005. У взрослых крыс и крысят (b' и c') величины Q10_{Ox} статистически не зависели от температуры: p < 0.05.

вычислений также берется произвольно. При таком подходе невозможно получить объективную картину изменений этого параметра во всем диапазоне исследуемых температур. Применение модифици-

рованной формулы для расчета Q10_{HR} было оправданным, поскольку мы ежеминутно регистрировали частоту сердечных сокращений во время отогрева животных, продолжавшегося несколько часов, что

позволяло получить большой массив данных. Напротив, в измерениях потребления кислорода, имеющееся у нас оборудование позволяло провести в ходе эксперимента лишь несколько измерений, что делало целесообразным использование стандартной формулы для расчета $Q10_{Ox}$. Эксперименты на сусликах показали, что в начальный период повышения температуры после гибернации наблюдались неожиданно высокие значения $Q10_{Ox}$ (рис. 1а, 2а') и $Q10_{HR}$ (рис. 1б и 2а). У крысят аналогичное увеличение в ранние моменты согревания выявлено также в расчетах $Q10_{HR}$ (рис. 2с), но не $Q10_{Ox}$ (рис. 2с').

Известно, что выход из гибернации происходит под контролем симпатoadреналовой системы, что способствует увеличению частоты сердечных сокращений, кровотока и артериального давления. Эти изменения наиболее выражены на начальных этапах согревания тела [50]. Как недавно было показано, активация симпатической и депрессия парасимпатической нервной системы участвуют в повышении частоты сердечных сокращений во время пробуждения [51, 52, 52]. В начальный период выхода из гибернации животным необходимо удовлетворить возросшие энергетические потребности. Поэтому, активируется сердечно-сосудистая система и HR увеличивается [53, 33]. Повышение метаболической активности необходимо для энергетического обеспечения организма при согревании за счет различных физиологических процессов, таких как дрожательный и недрожательный термогенез [54, 55].

Повышенный уровень $Q10_{Ox}$ и $Q10_{HR}$ (рис. 2а-с, с') может быть связан с ускорением метаболизма и HR на фоне малых изменений T_b , наблюдающихся в начале отогрева, и может указывать на физиологическую регуляцию метаболических процессов, направленную на скорейшее повышение температуры тела за счет активации теплопродукции. Упомянутые высокие значения $Q10$, наблюдающиеся в начале отогрева, могут служить адаптивным механизмом, облегчающим выход из гипотермии у гибернирующих сусликов и у охлажденных крысят. Этот процесс существенно менее выражен у неадаптированных к гипотермии и неспособных гетеротермии взрослых крыс.

Можно предположить, что у крысят раннего постнатального периода проявляется способность к гетеротермии, учитывая отмеченную выше лучшую выживаемость крысят при охлаждении по сравнению со взрослыми крысами, а также повышенный уровень $Q10_{HR}$ в ранний период отогрева крысят и гибернирующих сусликов. Это согласуется с высказанным ранее предположением, что у крысят нормальная температура $T_b = 33^\circ\text{C}$ (что на 4°C ниже нормальной T_b у взрослых животных) необходима для защиты их ЦНС от аноксии [48]

Известно, что виды, способные к гетеротермии, широко распространены в большинстве групп млекопитающих [31]. Следует упомянуть, что суслики и крысы близко родственны, поскольку относятся к отряду *Rodentia*. Однако, способность к гетеротермии или её отсутствие может наблюдаться даже у систематически близких видов. Например, было известно, что мыши при определенных условиях способны к гетеротермии, тогда как у взрослых крыс ее не наблюдалось [56]. Однако, недавно было обнаружено, что дикая австралийская кустарниковая крыса *Rattus fuscipes* также обладает рудиментарными способностями к гетеротермии [57].

ВЫВОДЫ

В большинстве публикаций приводятся примеры усредненных данных о значении температурного коэффициента $Q10$ при исследовании температурной зависимости биологических процессов, как у гибернирующих, так и у негибернирующих гомеотермных организмов. При использовании этого подхода моменты, когда изменения T_b были небольшими или нестабильными, например, на начальном или конечном этапах охлаждения или согревания, часто игнорировались как нерепрезентативные.

Основываясь на экспериментальных данных, полученных на животных разных видов и возрастов, мы предлагаем подход к полному определению $Q10$ во всем диапазоне изменений T_b , который позволяет нам анализировать эти "неудобные" области, где мы обнаружили необычно высокие или низкие коэффициенты $Q10$ по сравнению с теми, которые предсказываются теорией Вант Гоффа — Аррениуса. Такие значения не характерны для большинства химических процессов в неживой материи и могут рассматриваться как результат регуляции физиологических процессов у живых организмов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (Н.М.З.), сбор данных (Н.М.З., М.О.Х.), обработка данных (Ю.С.Т.), написание и редактирование манускрипта (Ю.С.Т., Н.М.З.).

БЛАГОДАРНОСТИ

Благодарим д.ф.-м.н. Людмилу Владимировну Якушевич (ИБК РАН) за критический анализ статьи и полезные рекомендации по ее совершенствованию.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Представленная работа выполнена в соответствии с Этическим кодексом Всемирной медицинской ассоциации (Хельсинкская декларация) Директива ЕС 2010/63/EU для экспериментов на животных. Протоколы экс-

периментов одобрены Комиссией по биоэтике ИБК РАН (Идентификаторы: № 4/092021 от 08.09.2021 г. и 05/092021 от 08.09.2021 г.).

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Государственного задания Института биофизики клетки РАН, 075-00609-24-01 и Институту теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 075-00224-24-01.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Tansey EA, Johnson CD* (2015) Recent advances in thermoregulation. *Adv Physiol Ed* 39:139–148. <https://doi.org/10.1152/advan.00126.2014>
2. *Horii Y, Shiina T, Shimizu Y* (2018) The Mechanism Enabling Hibernation in Mammals. *Adv Exp Med Biol* 1081:45–60. https://doi.org/10.1007/978-981-13-1244-1_3
3. *Ivanov KP* (2000) Physiological blocking of the mechanisms of cold death: theoretical and experimental considerations. *J Thermal Biol* 25:467–479. [https://doi.org/10.1016/s0306-4565\(00\)00012-7](https://doi.org/10.1016/s0306-4565(00)00012-7)
4. *Carey HV, Andrews MT, Martin SL* (2003) Mammalian Hibernation: Cellular and Molecular Responses to Depressed Metabolism and Low Temperature. *Physiol Rev* 83:1153–1181. <https://doi.org/10.1152/physrev.00008.2003>
5. *Ruf T, Geiser F* (2014) Daily torpor and hibernation in birds and mammals. *Biol Rev* 90:891–926. <https://doi.org/10.1111/brv.12137>
6. *Davidson JO, Wassink G, van den Heuvel LG, Bennet L, Gunn AJ* (2015) Therapeutic Hypothermia for Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy — Where to from Here? *Front Neurol* 6:198. <https://doi.org/10.3389/fneur.2015.00198>
7. *Han Z, Liu X, Luo Y, Ji X* (2015) Therapeutic hypothermia for stroke: Where to go? *Experimental Neurology* 272:67–77. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2015.06.006>
8. *Huang F-Y, Huang B-T, Wang P-J, Zuo Z-L, Heng Y, Xia T-L, Gui Y-Y, Lv W-Y, Zhang C, Liao Y-B, Liu W, Chen M, Zhu Y* (2015) The efficacy and safety of prehospital therapeutic hypothermia in patients with out-of-hospital cardiac arrest: A systematic review and meta-analysis. *Resuscitation* 96:170–179. <https://doi.org/10.1016/j.resuscitation.2015.08.005>
9. *Otto KA* (2015) Therapeutic hypothermia applicable to cardiac surgery. *Vet Anaesth Analg* 42:559–569. <https://doi.org/10.1111/vaa.12299>
10. *Cerri M, Hitrec T, Luppi M, Amici R* (2021) Be cool to be far: Exploiting hibernation for space exploration. *Neurosci Biobehav Rev* 128:218–232. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.03.037>
11. *Choukèr* (2018) Hibernating astronauts—science or fiction? *Pflug. Arch. Eur. J. Physiol.*
12. *Zakharova NM, Tarahovsky YS, Komelina NP, Fadeeva IS, Kovtun AL* (2021) Long-term pharmacological torpor of rats with feedback-controlled drug administration. *Life Sci Space Res* 28:18–21. <https://doi.org/10.1016/j.lssr.2020.11.002>
13. *Kornhall DK, Martens-Nielsen J* (2016) The prehospital management of avalanche victims. *J R Army Med Corps* 162:406–412. <https://doi.org/10.1136/jramc-2015-000441>
14. *Sward DG, Bennett BL* (2014) Wilderness medicine. *World J Emerg Med* 5:5–15. <https://doi.org/10.5847/wjem.j.isn.1920-8642.2014.01.001>
15. *Alam HB* (2012) Translational barriers and opportunities for emergency preservation and resuscitation in severe injuries. *Br J Surg* 99 Suppl 1:29–39. <https://doi.org/10.1002/bjs.7756>
16. *Tarahovsky YS, Khrenov MO, Kovtun AL, Zakharova NM* (2020) Comparison of natural and pharmacological hypothermia in animals: Determination of activation energy of metabolism. *Journal of Thermal Biology* 92:102658. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2020.102658>
17. *Zakharova NM, Tarahovsky YS, Fadeeva IS, Zakharova NM* (2019) A pharmacological composition for induction of a reversible torpor-like state and hypothermia in rats. *Life Sci* 219:190–198. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.01.023>
18. *Shimaoka H, Shiina T, Suzuki H, Horii Y, Horii K, Shimizu Y* (2021) Successful induction of deep hypothermia by isoflurane anesthesia and cooling in a non-hibernator, the rat. *J Physiol Sci* 71:10. <https://doi.org/10.1186/s12576-021-00794-1>
19. *Yang Y, Yuan J, Field RL, Ye D, Hu Z, Xu K, Xu L, Gong Y, Yue Y, Kravitz AV, Bruchas MR, Cui J, Brestoff JR, Chen H* (2023) Induction of a torpor-like hypothermic and hypometabolic state in rodents by ultrasound. *Nat Metab* 5:789–803. <https://doi.org/10.1038/s42255-023-00804-z>
20. *Bridwell RE, Willis GC, Gottlieb M, Koyfman A, Long B* (2021) Decompensated hypothyroidism: A review for the emergency clinician. *Am J Emerg Med* 39:207–212. <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2020.09.062>
21. *Naito H, Nojima T, Fujisaki N, Tsukahara K, Yamamoto H, Yamada T, Aokage T, Yumoto T, Osako T, Nakao A* (2020) Therapeutic strategies for ischemia reperfusion injury in emergency medicine. *Acute Med Surg* 7:e501. <https://doi.org/10.1002/ams2.501>
22. *Zakharova NM, Tarahovsky YS, Komelina NP, Khrenov MO, Kovtun AL* (2021) Pharmacological torpor prolongs rat survival in lethal normobaric hypoxia. *J Thermal Biol* 98:102906. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2021.102906>

23. *Bejaoui M, Pantazi E, Folch-Puy E, Baptista PM, García-Gil A, Adam R, Roselló-Catafau J* (2015) Emerging concepts in liver graft preservation. *World J Gastroenterol* 21:396–407.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i2.396>
24. *Minor T, Paul A* (2013) Hypothermic reconditioning in organ transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 18:161–167.
<https://doi.org/10.1097/MOT.0b013e32835e29de>
25. *Søreide K* (2014) Clinical and translational aspects of hypothermia in major trauma patients: from pathophysiology to prevention, prognosis and potential preservation. *Injury* 45:647–654.
<https://doi.org/10.1016/j.injury.2012.12.027>
26. *Soo E, Welch A, Marsh C, McKay D* (2020) Molecular strategies used by hibernators: Potential therapeutic directions for ischemia reperfusion injury and preservation of human donor organs. *Transplant Rev* 34:100512.
<https://doi.org/10.1016/j.trre.2019.100512>
27. *Kang K* (2016) Exceptionally high thermal sensitivity of rattlesnake TRPA1 correlates with peak current amplitude. *Biochim Biophys Acta* 1858:318–325.
<https://doi.org/10.1016/j.bbame.2015.12.011>
28. *Hiebert SM, Noveral J* (2007) Are chicken embryos endotherms or ectotherms? A laboratory exercise integrating concepts in thermoregulation and metabolism. *Adv Physiol Educ* 31:97–109.
<https://doi.org/10.1152/advan.00035.2006>
29. *Schmidt-Nielsen K* (1990) *Animal physiology: Adaptation and environment*, 4th ed. Cambridge University Press, Cambridge, New York
30. *Geiser F* (2016) Conserving energy during hibernation. *J Exp Biol* 219:2086–2087.
<https://doi.org/10.1242/jeb.129171>
31. *Geiser F* (2004) Metabolic Rate and Body Temperature Reduction During Hibernation and Daily Torpor. *Ann Rev Physiol* 66:239–274.
<https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.66.032102.115105>
32. *Kampmann B, Bröde P* (2019) Heat Acclimation Does Not Modify Q10 and Thermal Cardiac Reactivity. *Front Physiol* 10:1524.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01524>
33. *Currie SE, Noy K, Geiser F* (2015) Passive rewarming from torpor in hibernating bats: minimizing metabolic costs and cardiac demands. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 308:R34–41.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00341.2014>
34. *Bröde P, Kampmann B* (2018) Accuracy of metabolic rate estimates from heart rate under heat stress—an empirical validation study concerning ISO 8996. *Ind Health* 57:615–620.
<https://doi.org/10.2486/indhealth.2018-0204>
35. *Kampmann B, Bröde P* (2015) Metabolic costs of physiological heat stress responses — Q10 coefficients relating oxygen consumption to body temperature. *Extrem Physiol Med* 4:A103.
<https://doi.org/10.1186/2046-7648-4-S1-A103>
36. *Michenfelder JD, Milde JH* (1991) The relationship among canine brain temperature, metabolism, and function during hypothermia. *Anesthesiology* 75:130–136.
<https://doi.org/10.1097/0000542-199107000-00021>
37. *Song X, Körtner G, Geiser F* (1997) Thermal relations of metabolic rate reduction in a hibernating marsupial. *Am J Physiol* 273:R2097–104.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.1997.273.6.R2097>
38. *Liu B, Hui K, Qin F* (2003) Thermodynamics of Heat Activation of Single Capsaicin Ion Channels VR1. *Biophysical Journal* 85:2988–3006.
39. *Fohlmeister JF* (2015) Voltage gating by molecular subunits of Na⁺ and K⁺ ion channels: higher-dimensional cubic kinetics, rate constants, and temperature. *J Neurophysiol* 113:3759–3777.
<https://doi.org/10.1152/jn.00551.2014>
40. *Andjus RK, Smith AU* (1954) Revival of hypothermic rats after arrest of circulation and respiration. *J Physiol* 123:66P–67P.
41. *Andjus RK, Smith AU* (1955) Reanimation of adult rats from body temperatures between 0 and + 2 degrees C. *J Physiol* 128:446–472.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.1955.sp005318>
42. *Andjus RK, Dzakula Z, Markley JL, Macura S* (2005) Brain energetics and tolerance to anoxia in deep hypothermia. *Ann N Y Acad Sci* 1048:10–35.
<https://doi.org/10.1196/annals.1342.003>
43. *Lomako VV, Shilo AV* (2009) Effect of General Cooling on Rat Behaviour in "Open Field" Test. *Probl Cryobiol* 19:421–430.
44. *Bullard RW, Funkhouser GE* (1962) Estimated regional blood flow by rubidium 86 distribution during arousal from hibernation. *Am J Physiology-Legacy Content* 203:266–270.
<https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1962.203.2.266>
45. *Zakharova NM* (2014) Some features of body warming at provoked awakening of hibernating ground squirrels *Spermophilus undulatus*. *Fundamental Res* 6:1401–1405. (In Russ).
46. *Mundim KC, Baraldi S, Machado HG, Vieira FMC* (2020) Temperature coefficient (Q10) and its applications in biological systems: Beyond the Arrhenius theory. *Ecol Model* 431:109127.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2020.109127>
47. *Rogalska J, Caputa M* (2005) Spontaneously reduced body temperature and gasping ability as a mechanism of extreme tolerance to asphyxia in neonatal rats. *J Thermal Biol* 30:360–369.
<https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2005.02.003>
48. *Kletkiewicz H, Rogalska J, Nowakowska A* (2016) Effects of body temperature on post-anoxic oxidative stress from the perspective of postnatal physiological adaptive processes in rats. *J Physiol Pharmacol* 67:287–299.
49. *Geiser F, Currie SE, O'Shea KA, Hiebert SM* (2014) Torpor and hypothermia: reversed hysteresis of metabolic rate and body temperature. *Am J Physiol-Regul, Integrat Comparat Physiol* 307:R1324–R1329.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00214.2014>

50. Lyman CP, Williams JS, Malan A, Wang LCH (1984) Hibernation and torpor in mammals and birds. Academic Press, New York.
51. Zanetti F, Chen C-Y, Baker HA, Sugiura MH, Drew KL, Barati Z (2023) Cardiac Rhythms and Variation in Hibernating Arctic Ground Squirrels. *Physiol Biochem Zool* 96:167–176.
<https://doi.org/10.1086/724688>
52. MacCannell ADV, Jackson EC, Mathers KE, Staples JF (2018) An improved method for detecting torpor entrance and arousal in a mammalian hibernator using heart rate data. *J Exp Biol* 221.
<https://doi.org/10.1242/jeb.174508>
53. Milsom WK, Zimmer MB, Harris MB (1999) Regulation of cardiac rhythm in hibernating mammals. *Com Biochem Physiol Part A: Mol & Integrat Physiol* 124:383–391.
[https://doi.org/10.1016/s1095-6433\(99\)00130-0](https://doi.org/10.1016/s1095-6433(99)00130-0)
54. Shinde AB, Song A, Wang QA (2021) Brown Adipose Tissue Heterogeneity, Energy Metabolism, and Beyond. *Front Endocrinol* 12:651763.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2021.651763>
55. Nedergaard J, Cannon B (2018) Brown adipose tissue as a heat-producing thermoeffector.
<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-63912-7.00009-6>
56. Shimaoka H, Kawaguchi T, Morikawa K, Y Sano, K Naitou, H Nakamori, T Shiina, Y Shimizu (2017) Induction of hibernation-like hypothermia by central activation of the A1 adenosine receptor in a non-hibernator, the rat. *J Physiol Sci* 68:425–430.
<https://doi.org/10.1007/s12576-017-0543-y>
57. Nowack J, Turbill C (2022) Survivable hypothermia or torpor in a wild-living rat: rare insights broaden our understanding of endothermic physiology. *J Comp Physiol B* 192:183–192.
<https://doi.org/10.1007/s00360-021-01416-3>

COMPARATIVE STUDY OF THE TEMPERATURE COEFFICIENT Q10 OF HIBERNATING GROUND SQUIRRELS *UROCITELLUS UNDULATUS* AND COOLED RATS OF DIFFERENT AGES

N. M. Zakharova^{a, #}, Y. S. Tarahovsky^{a, b, ##} and M. O. Khrenov^a

^a Institute of Cell Biophysics, RAS, Pushchino, Moscow Region, Russia

^b Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, RAS, Pushchino, Moscow Region, Russia

[#] e-mail: n_m_zakharova@pbcras.ru

^{##} e-mail: tarahov@rambler.ru

The temperature coefficients $Q10$ of heart rate ($Q10_{HR}$) or oxygen consumption ($Q10_{Ox}$) were analyzed during the arises from torpor of long-tailed ground squirrels *Uroditellus undulatus*, as well as during the rewarming of precooled adult rats and rat pups. The $Q10_{Ox}$ value was calculated using a standard equation, whereas for calculating $Q10_{HR}$, the equation was empirically modified to track changes in this parameter over a wide range of body temperatures (T_b). It was found that during the initial period of rewarming from torpor, at $T_h \leq 10$ °C, ground squirrels experienced a sharp increase in the temperature coefficients up to $Q10_{HR} = 40 - 50$ and $Q10_{Ox} = 6 - 7$. Even higher values of $Q10_{HR} > 100$ were found at the beginning of rewarming of rat pups, although they had a low level of $Q10_{Ox} = 1.2$. Adult rats could not withstand cooling below 16 °C and demonstrated moderate variability of both $Q10_{HR} = 2.0 - 4.0$ and $Q10_{Ox} = 2.0 - 2.2$. During the restoration of normal T_b , the $Q10_{HR}$ in all animals approached the level ~ 2.0 predicted by the Van't Hoff-Arrhenius rule for chemical reactions in both living and inanimate nature. We assume that high values of $Q10_{HR}$ and $Q10_{Ox}$, detected in the early period of ground squirrel's arousal from hibernation, may reveal the functioning of adaptive processes aimed at accelerating body warming. Resistance to cooling and high $Q10_{HR}$ coefficient in the rat pups may indicate rudimentary adaptability to hibernation in the juvenile period of rats, as representatives of the order Rodentia, which also includes natural hibernators such as ground squirrels.

Keywords: Rat; Rat pup; Ground squirrel; Hibernation Q10 coefficient; Heart rate; Oxygen consumption