



УДК 576.32/36

## ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ ТЕПЛОВОЙ НАГРУЗКИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ В ОПЫТАХ *IN VIVO* И *IN VITRO*<sup>1</sup>

**Е.В. Зубарева**  
**М.З. Фёдорова**  
**С.В. Надеждин**  
**Н.А. Павлов**

Белгородский  
государственный  
университет

Россия, 308015, г. Белгород,  
ул. Победы, 85

E-mail:  
zubareva.ekaterina@gmail.com

Проведено изучение влияния экзогенной тепловой нагрузки на морфометрические и функциональные свойства белых клеток крови крыс в опытах *in vivo* и *in vitro*. Установлено, что действие на организм повышенной температуры приводит к уменьшению размеров лимфоцитов и к снижению использования клетками мембранного резерва в условиях гипотонии. Инкубация клеток крови в условиях умеренной тепловой нагрузки вызывает максимальное увеличение объема лимфоцитов на фоне снижения коэффициента уплощённости.

Ключевые слова: лимфоциты, мембранный резерв, объём клеток, экзогенная гипертермия.

Температура является важнейшим абиотическим фактором среды, адаптация к которому у живых организмов осуществляется через реализацию различных физиолого-биохимических механизмов [1, 2]. Особенности метаболизма гомойотермных животных позволяют поддерживать достаточно стабильные термические условия внутренней среды (эндотермия) [1]. Однако, даже у гомойотермных организмов возможны значительные колебания температуры тела, которые могут возникнуть в результате эндогенной или экзогенной гипертермии [2].

Одной из актуальных проблем современной физиологии является исследование клеточных механизмов адаптации к действию экзогенной гипертермии. Изучение данной проблемы позволит найти ответы на фундаментальные вопросы, касающиеся влияния изменений морфофункциональных характеристик клеток на адаптивные возможности организма [3]. Особенно важным представляется изучение морфометрических и функциональных свойств белых клеток крови, выполняющих в организме комплекс важных функций – участие в реакциях врождённого и адаптивного иммунитета, создание местного микрососудистого сопротивления и органной перфузии [4, 5].

Целью проведённого исследования было изучение динамики морфометрических и функциональных свойств лимфоцитов крови крыс при действии тепловой нагрузки в опытах *in vivo* и *in vitro*.

### Объекты и методы исследования

Исследование проведено на лабораторных белых крысах-самцах линии Вистар, весом 300-350 граммов.

При изучении действия интенсивной тепловой нагрузки на морфофункциональные характеристики лимфоцитов *in vivo* животных делили на две группы по 10 особей. Первая группа – «контроль» – интактные животные. Вторая группа – «перегревание животного» – крыс подвергали действию интенсивной тепловой нагрузки в камере объёмом 0/8 м<sup>3</sup> с автоматизированным воздухообменом и относительной влажностью 50-60% при температуре 38°C в течение 120 минут [6]. По окончании действия тепловой нагрузки у животных брали кровь. Критерием развития стресс-реакции у крыс группы «перегревание животного» в условиях экзогенной гипертермии, служили морфологические изменения со стороны надпочечников. В цельной

<sup>1</sup> Работа проведена в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (Государственный контракт № П206 от 23 апреля 2010 г.)



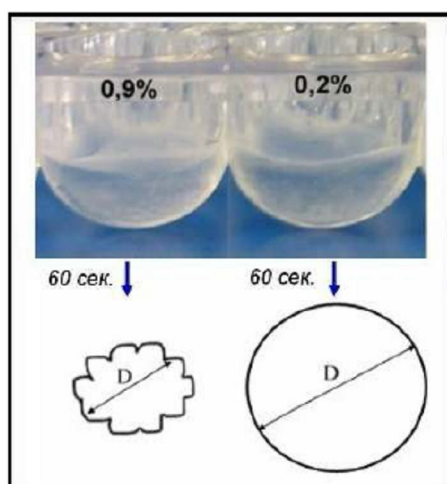


крови определяли количество и соотношение различных форм лейкоцитов унифицированным методом [7]. Также определяли процентное содержание лейкоцитов в красном костном мозге [8].

В ходе экспериментального исследования влияния экзогенной гипертермии на геометрические параметры и функциональные свойства лимфоцитов в опытах *in vitro* кровь крыс (10 особей) делили на две части, при этом одну часть инкубировали при температуре, близкой к температуре ядра тела (группа «перегревание крови (37°C)»), а вторую инкубировали при повышенной температуре (группа «перегревание крови (42°C)»). Время инкубации, в обоих случаях, составляло 30 минут.

Кровь у животных брали путём декапитации после дачи лёгкого эфирного наркоза. В качестве антикоагулянта использовали гепарин в количестве 10 ед./мл. По окончании действия тепловых нагрузок из цельной крови получали суспензию лейкоцитов. Для этого кровь центрифугировали, собирали лейкоцитарное кольцо, примесь эритроцитов разрушали 0,83% раствором хлорида аммония [9,10] и отмывали клетки изотоническим раствором хлорида натрия. Суспензию лейкоцитов использовали для изучения влияния экзогенной гипертермии на морфофункциональные характеристики белых клеток крови.

Для оценки влияния перегревания на использование клеткой мембранного резерва применяли метод гипотонических нагрузок, предложенный М.З. Фёдоровой, В.Н. Левиным [11] (рис.1).



По прошествии времени инкубации лимфоцитов в растворах различной осмолярности из клеток готовили мазки, фиксировали их глутаровым альдегидом (в конечной концентрации 2,5%) и исследовали геометрические параметры (диаметр, высоту, объём) методом полуконтактной атомно-силовой микроскопии на воздухе (СЗМ ИНТЕГРА Вита, фирмы НТ-МДТ, Россия).

Рис. 1. Схема изучения мембранного резерва лимфоцитов крови крыс: 0,9% – инкубация клеток в изотоническом растворе NaCl; 0,2% – инкубация клеток в сильно гипотоническом растворе NaCl; 60 с – время инкубации клеток в растворе NaCl; D – диаметр клетки.

Используя полученные методом АСМ данные, высчитывали площадь поверхности клеток по формуле для шарового сегмента [12]. Мембранный резерв оценивали как разность между площадью поверхности в сильно гипотоническом растворе (истинная площадь поверхности) и площадью поверхности клетки в изотоническом растворе (видимая площадь поверхности). С целью сравнения использования мембранного резерва в гипотонической среде клетками животных контрольной и опытных групп определяли долю мембранного резерва в истинной площади поверхности клетки.

Зная высоту и площадь соприкосновения клетки с подложкой, вычисляли коэффициент уплотнённости лимфоцитов по формуле (1):

$$K_y = S'/h, \quad (1)$$

где  $K_y$  – коэффициент уплотнённости (отн.ед.);  $S'$  – площадь соприкосновения клетки с подложкой (мкм<sup>2</sup>);  $h$  – высота клетки (мкм).

### Результаты исследования

Длительная экспозиция животных в условиях экзогенной гипертермии приводит к повышению ректальной температуры крыс, в среднем, на 5°C.





Интенсивная тепловая нагрузка является экстремальным фактором, вызывающим в организме животного развитие стресс-реакции. Об этом свидетельствуют морфологические изменения, которые происходят в надпочечниках (табл. 1).

Таблица 1

**Морфологические характеристики надпочечников крыс**

Группа	Показатель, единица измерения			
	корковое вещество надпочечников, %	мозговое вещество надпочечников, %	митотический индекс клеток пучковой зоны коры надпочечников, ‰	диаметр ядер клеток пучковой зоны, мкм
Контроль	70.7±0.7	29.3±0.7	0.12±0.01	5.1±0.01
Перегревание животного	77.1±0.7 *	22.8±0.7 *	0 *	5.5±0.02 *

Примечания: (M ± m); \* – достоверность различий по сравнению с группой «Контроль» (t критерий Стьюдента для независимых выборок, p<0,01).

В результате экзогенной гипертермии происходит относительное увеличение коркового слоя надпочечников, в котором находится пучковая зона, вырабатывающая основные стрессовые гормоны (кортизол, кортизон, кортикостерон). После инкубации животных в условиях повышенной температуры в течение 2 часов отмечается снижение митотического индекса и увеличение диаметра ядер клеток пучковой зоны коры надпочечников (таблица 1).

Действие экзогенной гипертермии на организм приводит к лейкопении. Количество лейкоцитов в крови животных, подвергавшихся действию интенсивной тепловой нагрузки, снижается до 9.2 тыс./мкл, тогда как у контрольных животных данный показатель составляет 17.9 тыс./мкл. Помимо снижения числа циркулирующих в крови лейкоцитов интенсивная тепловая нагрузка вызывает изменение соотношения разных пулов белых клеток крови животного (табл. 2).

Таблица 2

**Лейкоцитарная формула крови**

Группа	Лимфоциты, %	Моноциты, %	Нейтрофилы, %	Эозинофилы, %	Базофилы, %
Контроль	69.20±1.20	2.00±0.06	28.20±1.10	0.40±0.05	0.20±0.03
Перегревание животного	78.50±0.90 *	2.50±0.10 *	18.10±0.90 *	0.60±0.06	0.30±0.05

Примечания: (M ± m); \* – достоверность различий по сравнению с группой «Контроль» (t критерий Стьюдента для независимых выборок, p<0,01).

Изменения, происходящие в составе костного мозга животных контрольной и опытной групп, внесены в табл. 3.

Таблица 3

**Лейкоцитарная формула костного мозга**

Группа	Лимфоциты, %	Моноциты, %	Нейтрофилы, %	Эозинофилы, %	Базофилы, %
Контроль	21.17±1.19	4.67±0.33	65.83±1.28	8.33±0.33	0
Перегревание животного	44.17±1.40 *	1.50±0.43 *	52.50±0.72 *	1.83±0.54 *	0

Примечания: (M ± m); \* – достоверность различий по сравнению с группой «Контроль» (t критерий Стьюдента для независимых выборок, p<0,01).

Исследование морфометрических параметров лимфоцитов, подвергавшихся действию экзогенной гипертермии в опытах *in vivo* и *in vitro*, проводили методом полуконтактной атомно-силовой микроскопии на воздухе. Полученные в результате эксперимента данные занесены в табл. 4, на рисунке 2 представлены сканограммы лимфоцитов.



Таблица 4

**Геометрические параметры лимфоцитов в растворах хлорида натрия различной осмолярности, полученных методом полуконтактной АСМ на воздухе**

Группа	Раствор	Показатель, единица измерения			
		D, мкм	h, мкм	S, мкм <sup>2</sup>	V, мкм <sup>3</sup>
Контроль	И	8.00 ± 0.35	1.14 ± 0.19	28.7	54.94 ± 9.20
	СГ	10.12 ± 0.76 ◦	1.12 ± 0.10	35.4	87.35 ± 11.94 ◦
Перегревание животного	И	6.62 ± 0.37 *	0.94 ± 0.07 *	19.5	33.46 ± 4.59 *
	СГ	7.21 ± 0.49 *◦	0.89 ± 0.09 *◦	20.1	34.14 ± 3.96 *
Перегревание крови (37°C)	И	12.02 ± 0.61 *	0.66 ± 0.13 *	25.0	76.85 ± 18.72 *
	СГ	12.31 ± 0.54 *	0.85 ± 0.09 *◦	32.8	98.94 ± 12.28 *◦
Перегревание крови (42°C)	И	9.55 ± 0.41 *	1.52 ± 0.15 *●	45.6	108.21 ± 12.02 *
	СГ	11.91 ± 0.70 *●	0.99 ± 0.35 *●	37.0	101.05 ± 32.84 *●

Примечания: И – изотонический раствор NaCl; СГ – сильно гипотонический раствор NaCl; D – диаметр клетки (M±m); h – высота клетки (M±m); V – объём клетки (M±m); S – площадь поверхности клетки; \* – достоверность различий по сравнению с контрольной группой; ◦ – то же по сравнению с изотоническим раствором NaCl; ● – то же по сравнению с группой «Перегревание крови (37°C)»; достоверность различий оценивали по непарному критерию Вилкоксона (p<0,05).

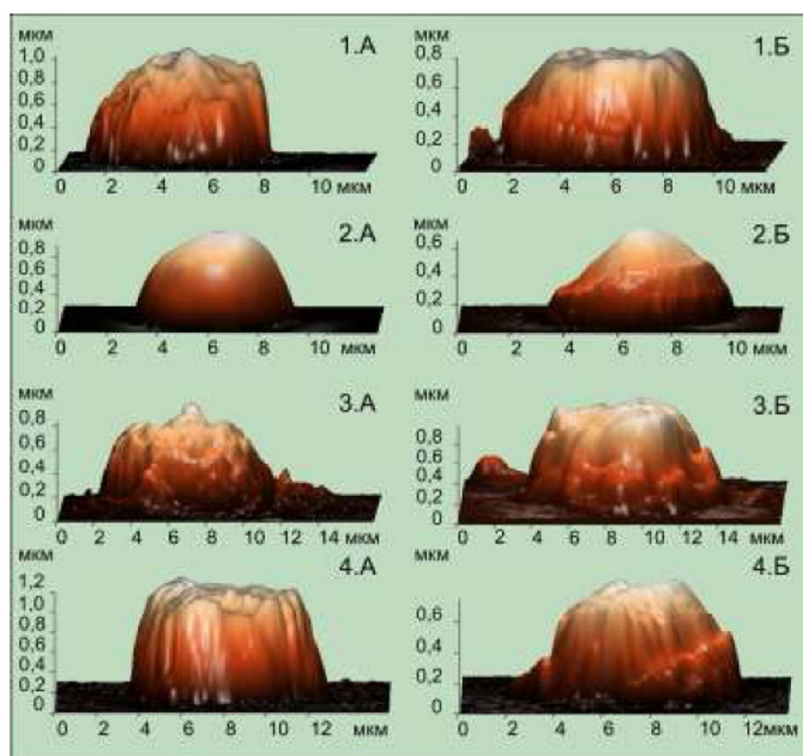


Рис. 2. Сканограммы лимфоцитов крови, полученные методом полуконтактной АСМ на воздухе (СЗМ ИНТЕГРА Вита (фирмы НТ-МДТ, Россия)): 1 – «Контроль», 2 – «Перегревание животного», 3 – «Перегревание крови (37°C)», 4 – «Перегревание крови (42°C)»; А – изотонический раствор NaCl; Б – сильно гипотонический раствор NaCl

Действие тепловой нагрузки на клетки в условиях *in vivo* вызывает уменьшение объёма лимфоцитов, по сравнению с соответствующим показателем интактных клеток. Инкубация клеток крови при повышенной температуре приводит к увеличению объёма лимфоцитов, по сравнению с контролем (рис. 3).



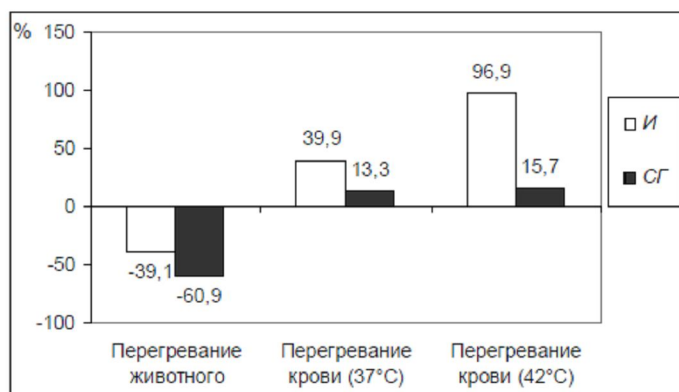


Рис. 3. Отличие объёма лимфоцитов опытных групп от объёма лимфоцитов контрольной группы: И – изотонический раствор NaCl; СГ – сильно гипотонический раствор NaCl

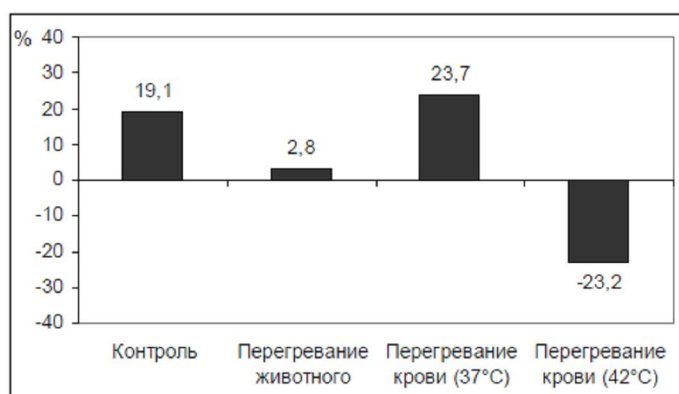


Рис. 4. Доля мембранного резерва в истинной площади поверхности лимфоцитов контрольной и опытных групп

Данные, полученные методом АСМ, демонстрируют снижение использования клетками мембранного резерва в гипотонической среде, в результате влияния на организм интенсивной тепловой нагрузки (рис. 4). Инкубация клеток при температуре диапазона нормы вызывает некоторое увеличение использования лимфоцитами мембранного резерва в сильно гипотонической среде, тогда как действие на клетки температуры 42°C в условиях *in vitro* приводит к снижению площади поверхности клеток в гипотоническом растворе (рис. 4).

Изменение распластанности лимфоцитов на поверхности подложки под влиянием тепловой нагрузки оценивали по коэффициенту уплощённости клеток (табл. 5).

Таблица 5

**Коэффициент уплощённости лимфоцитов (относительные единицы)**

Группа животных	Раствор	
	И	СГ
Контроль	74.1±21.8	109.7±38.6 ◦
Перегревание животного	39.4±4.9	64.2±14.7 *◦
Перегревание крови (37°C)	254.5±59.9 *	209.5±50.0 *◦
Перегревание крови (42°C)	56.5±11.6	225.4±61.9 *●

Примечания: И – изотонический раствор NaCl; СГ – сильно гипотонический раствор NaCl; \* – достоверность различий по сравнению с контрольной группой; ◦ – то же по сравнению с изотоническим раствором NaCl; ● – то же по сравнению с группой «Перегревание крови (37°C)»; достоверность различий оценивали по непарному критерию Вилкоксона ( $p < 0.05$ ).

**Обсуждение результатов исследования**

Сравнительная оценка результатов исследования позволила обнаружить особенности влияния экзогенной гипертермии на морфофункциональные характеристики лимфоцитов при действии теплового фактора в условиях *in vivo* и *in vitro*.

Экспериментально установлено, что при перегревании организма животного наряду с повышением температуры тела, сопровождающимся специфическими изменениями со стороны белой крови (лейкопения, лимфоцитоз, нейтропения и моноци-





тоз) на фоне стресс-реакции, вызывающей гиперплазию и снижение митозов в корковом веществе надпочечников и сдвиг лейкоцитарной формулы костного мозга, происходит изменение морфометрических параметров лимфоцитов.

Анализ геометрических показателей лимфоцитов крови крыс позволил выявить, что при действии экзогенной гипертермии на клетки в опытах *in vivo* наблюдается мобилизация функциональных свойств лимфоцитов. Подтверждением активирующего влияния тепловой нагрузки на клетки крови является уменьшение объёма лимфоцитов, сопровождающееся снижением их распластанности на подложке. Обнаруженная в ходе эксперимента компактизация структур лимфоцитов сигнализирует о включении клеточного механизма адаптации животного к действию экстремальной тепловой нагрузки. Наблюдающееся в условиях сниженной осмолярности экономное использование запаса плазматической мембраны лимфоцитами экспериментальной группы животных свидетельствует о высокой функциональной значимости мембранного резерва и может трактоваться как проявление «сберегающего» типа реагирования белых клеток крови [13] в условиях действия экзогенной гипертермии.

В отличие от результатов, полученных в опытах *in vivo*, действие на клетки крови температуры диапазона нормы в условиях *in vitro* сопровождается изменением ряда морфофункциональных характеристик лимфоцитов. При этом в группе «Перегревание крови (37°C)» наблюдается увеличение объёма и распластанности лимфоцитов, а также более полное использование клетками мембранного резерва в условиях гипотонии. Полученные в процессе эксперимента данные подтверждают высокую физиологическую значимость вышеуказанных показателей, относительное постоянство которых в живом организме поддерживается благодаря работе соответствующих функциональных систем.

По данным научной литературы инкубация клеток крови в течение 30 минут при 42°C оценивается как умеренная тепловая нагрузка [14]. Обнаружено существенное влияние данного фактора на морфометрические характеристики и функциональные свойства лимфоцитов. В условиях действия на клетки крови умеренной тепловой нагрузки объём лимфоцитов достигает максимально возможного значения. Объяснением этому может служить увеличение внутриклеточной концентрации  $Na^+$ ,  $H^+$  и  $Ca^{2+}$  [2] вследствие повышения текучести мембраны [15,16], а следовательно и её проницаемости [16, 17]. Кроме того, что тридцатиминутная инкубация крови при 42°C приводит к увеличению объёма лимфоцитов в изотонической среде, по сравнению с соответствующими показателями клеток группы «контроль» и «перегревание крови (37°C)», лимфоциты группы «перегревание крови (42°C)» в изотоническом растворе являются наименее распластанными, что подтверждает низкий коэффициент уплотнённости. Динамика морфологических характеристик клеток, регистрируемая после гипертермического воздействия на кровь [18, 19], может быть обусловлена изменением структуры белковых макромолекул клеток (денатурацией) [2, 16]. Имеются сведения о том, что тепловая нагрузка на клетки способна повлечь за собой перестройку цитоскелета [18], вплоть до полной разборки интактных микротрубочек и инактивации пропорции формирующих их белков [20], что, в свою очередь, определённым образом должно отразиться на морфометрических параметрах лимфоцитов.

Инкубация клеток в условиях повышенной температуры (42°C) вызывает стремительную экспрессию белков теплового шока (БТШ), которые выполняют множество важных защитных функций в клетке [21, 22, 23, 24, 25]. В том числе белки теплового шока препятствуют стресс-индуцированной денатурации других белков [26, 27]. Экспрессия БТШ обычно запускается через несколько минут после начала действия тепловой нагрузки на клетки [2]. Сообщается о том, что некоторые БТШ связаны с белками цитоскелета [18]. Данная связь предполагает вовлечение БТШ в организацию цитоскелета в процессе и/или после тепловой нагрузки [18]. По-видимому, подобные реакции восстановления белковой фракции клетки способны повлечь за собой изменение показателей объёма и площади поверхности лимфоцитов по прошествии даже незначительного периода времени после окончания влияния экзогенного перегревания на клетки крови. Однако уменьшение объёма клетки после снятия действия тепловой нагрузки происходит в условиях, требующих от клетки совершенно противоположной





биологической реакции. Так инкубация лимфоцитов группы «перегревание крови (42°C)» в гипотонической среде в течение одной минуты приводит к снижению объёма, по сравнению с данным показателем в изоосмолярном растворе. В то же время после инкубации клеток группы «Перегревание крови (42°C)» в условиях гипотонии, наряду с уменьшением объёма происходит увеличение распластанности клетки, сопровождающееся повышением коэффициента уплощённости, по сравнению с данным показателем клеток в изотоническом растворе.

Действие на кровь температуры 42°C в течение 30 минут вызывает уменьшение площади поверхности клетки в гипотонической среде о чём свидетельствует отрицательное значение доли мембранного резерва в истинной площади поверхности клетки. То есть перегревание крови при 42°C в течение 30 минут оказывает существенное влияние на функциональное состояние клеток, после которого лимфоцит теряет способность к проявлению соответствующих биологических реакций в ответ на гипотоническую нагрузку.

### Заключение

Выявлены различия в изменении морфофункциональных свойств лимфоцитов крови под влиянием экзогенной гипертермии в опытах *in vivo* и *in vitro*.

Установлено, что в результате действия интенсивной тепловой нагрузки на клетки крови в условиях *in vivo* происходит компактизация структур лимфоцитов, которая сопровождается более экономным использованием клетками функционально значимого резерва плазмалеммы в гипотонической среде. Подобный характер изменений морфофункциональных характеристик белых клеток крови при перегревании животного обусловлен реализацией на организменном уровне молекулярно-физиологических процессов регуляции активности клеток. В то время как инкубация лимфоцитов при повышенной температуре в опытах *in vitro* запускает клеточные реакции адаптации, которые осуществляются, преимущественно, посредством физико-химических механизмов. При этом влияние умеренной тепловой нагрузки на клетки крови в условиях *in vitro* приводит к предельно возможному увеличению объёма лимфоцитов на фоне снижения их уплощённости.

### Список литературы

1. Смирнов Л.П., Богдан В.В. Температурная преадаптация эктотермных организмов разной организации: роль жирнокислотного состава липидов // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2006. – Т. 42, № 2. – С. 110-115.
2. Sonna L.A., Fujita J., Gaffin S.L., Lilly C.M. Invited review: effects of heat and cold stress on mammalian gene expression // Journal of Applied Physiology. – 2002. – Vol. 92. – P. 1725-1742.
3. Moseley P.L. Heat shock proteins and heat adaptation of the whole organism // Journal of Applied Physiology. – 1997. – Vol. 83, Issue 5. – P. 1413-1417.
4. Редниц Е.Г., Парфёнов А.С. Реологические свойства лейкоцитов и их участие в микроциркуляции крови // Гематология и трансфузиология. – 1989. – № 12. – С. 40-45.
5. Иванов К.П., Мельникова Н.Н. Роль лейкоцитов в динамике микроциркуляции в норме и при патологии // Гематология и трансфузиология. – 2004. – № 1. – С. 3-13.
6. Фёдорова М.З., Левин В.Н., Горичева В.Д. Функциональная активность и механические свойства лейкоцитов крови крыс при внешней тепловой нагрузке // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2000. – № 12. – С. 1624-1629.
7. Медицинские лабораторные технологии / Под ред. Карпищенко А.И. – СПб.: Интермедика, 2002. – 408 с.
8. Алексеев Н.А. Клинические аспекты лейкопений, нейтропений и функциональных нарушений нейтрофилов. – СПб.: Фолиант, 2002. – 416 с.
9. Дуглас С.Д., Куи П.Г. Исследование фагоцитоза в клинической практике. – М.: Медицина, 1983. – 112 с.
10. Зимин Ю.И., Редькин А.П. Угнетение нестимулированными лимфоцитами спонтанной миграции лейкоцитов под агаром // Иммунология. – 1987. – № 1. – С. 71-73.
11. Фёдорова М.З., Левин В.Н. Метод комплексного исследования геометрии, площади поверхности, резервных возможностей мембраны и осморегуляции лейкоцитов крови // Клиническая лабораторная диагностика. – 1997. – № 11. – С. 44-46.
12. Выгодский М.Я. Справочник по элементарной математике. – М.: АСТ: Астрель, 2006. – 509 с.





13. Фёдорова М.З. Функциональные свойства и реактивность лейкоцитов крови при изменённых состояниях организма, вызванных факторами различной природы: дис. ... д-ра биол. наук. – Ярославль, 2002. – 293 с.
14. Alfieri R.R., Petronini P.G., Bonelli M.A., Desenzani S., Cavazzoni A., Borghetti A.F., Wheeler K.P. Roles of compatible osmolytes and heat shock protein 70 in the induction of tolerance to stresses in porcine endothelial cells // *The Journal of Physiology*. – 2004. – Vol. 555:3. – P. 757-767.
15. Dynlacht J.R., Fox M.H. Heat-induced changes in the membrane fluidity of Chinese hamster ovary cells measured by flow cytometry // *Radiation Research*. – 1992. – Vol. 130, № 1. – P. 48-54.
16. Nishida T., Akagi K., Tanaka Y. Correlation between cell killing effect and cell membrane potential after heat treatment: analysis using fluorescent dye and flow cytometry // *International Journal of Hyperthermia*. – 1997. – Vol. 13, № 2. – P. 227-234.
17. Roti J.L. Cellular responses to hyperthermia (40-46°C): Cell killing and molecular events // *International Journal of Hyperthermia*. – 2008. – Vol. 24, № 1. – P. 3-15.
18. Wiegant F.A.C., Van Bergen en Henegouwen P.M.P., Van Dongen G., Linnemans W.A.M. 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.
19. Henle K.J., Stone A., Chatterjee S.K. Effect of hyperthermia on activity of three glycosyltransferases in Chinese hamster ovary cells // *Cancer Research*. – 1988. – Vol. 48. – P. 5717-5721.
20. Coss R.A., Dewey W.C., Bamburg J.R. Effects of hyperthermia on dividing Chinese hamster ovary cells and on microtubules in vitro // *Cancer Research*. – 1982. – Vol. 42, № 3. – P. 1059-1071.
21. Murapa P., Gandhapudi S., Skaggs H.S., Sarge K.D., Woodward J.G. Physiological fever temperature induces a protective stress response in T lymphocytes mediated by heat shock factor-1 (HSF1) // *The Journal of Immunology*. – 2007. – Vol. 179. – P. 8305-8312.
22. Beck S.C., De Maio A. Stabilization of protein synthesis in thermotolerant cells during heat shock // *The Journal of Biological Chemistry*. – 1994. – Vol. 269, № 34. – P. 21803-21811.
23. Евдонин А.Л., Медведева Н.Д. Внеклеточный белок теплового шока 70 и его функции // *Цитология*. – 2009. – Т. 51, № 2. – С. 130-137.
24. 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.
25. Li G.C., Mivechi N.F., Weitzel G. Heat shock proteins, thermotolerance, and their relevance to clinical hyperthermia // *International Journal of Hyperthermia*. – 1995. – Vol. 11, № 4. – P. 459-488.
26. Feder M.E., Hofmann G.E. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: Evolutionary and ecological physiology // *Annual Review of Physiology*. – 1999. – Vol. 61. – P. 243-282.
27. Makarevich A.V., Olexiková L., Chrenek P., Kubovičová E., Fréharová K., Pivko J. The effect of hyperthermia in vitro on vitality of rabbit preimplantation embryos // *Physiological Research*. – 2007. – Vol. 56. – P. 789-796.

## **THE ESTIMATION OF HEAT LOAD INFLUENCE ON THE BLOOD LYMPHOCYTES' MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS IN THE *IN VIVO* AND *IN VITRO* TESTS**

**E.V. Zubareva**  
**M.Z. Fedorova**  
**S.V. Nadezhdin**  
**N.A. Pavlov**

*Belgorod State University*  
*Pobedy St., 85, Belgorod,*  
*308015, Russia*

*E-mail:*  
*zubareva.ekaterina@gmail.com*

It is carried out the research of exogenous heat load influence on the morphometric and functional properties of the rats' white blood cells by means of *in vivo* and *in vitro* tests. It is determined that the influence of the higher temperature on the organism reduces to the diminution of the lymphocyte sizes and the cells use rarely the membranous reserve under the hypotonia. Under the moderate heat load the blood cells' incubation causes the maximal increasing of the lymphocyte volume which is accompanied the decreasing of the flattening coefficient.

**Key words:** lymphocytes, membranous reserve, cell volume, exogenous hyperthermia.