



научный электронный журнал
ПРИНЦИПЫ ЭКОЛОГИИ

<http://ecopri.ru>

ПЕТРОЗАВОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ



<http://petrsu.ru>

Издатель

ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет»
Российская Федерация, г.Петрозаводск, пр.Ленина,33

Научный электронный журнал

ПРИНЦИПЫ ЭКОЛОГИИ

<http://ecopri.ru>

№ 2 (60). Июнь, 2026

Главный редактор

А. В. Коросов

Редакционный совет

В. Н. Большаков
А. В. Воронин
Н. Н. Немова
Г. С. Розенберг
А. Ф. Титов
Г. С. Антипина
В. В. Вапиров
А. М. Макаров

Редакционная коллегия

Т. О. Волкова
Е. П. Иешко
В. А. Илюха
Н. М. Калинкина
J. P. Kurhinen
А. Ю. Мейгал
J. B. Jakovlev
B. Krasnov
A. Gugolek
В. Н. Якимов
А. В. Сони́на

Службы поддержки

Н. А. Марфицына
Е. В. Голубев
С. Л. Смирнова
Н. Д. Чернышева
М. Л. Киреева

ISSN 2304-6465

Адрес редакции

185910, Республика Карелия, г.Петрозаводск, пр. Ленина, 33. Каб. 453

E-mail: ecopri@psu.karelia.ru

<http://ecopri.ru>



© ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет»



УДК 57.043

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ *RANA TEMPORARIA* L. (AMPHIBIA, ANURA) ПРИ ГИПОТЕРМИИ

ФОМИЧЕВА
Елена Михайловна

кандидат биологических наук, ФГБОУ ВО Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова, 150000, г. Ярославль, ул. Советская, д. 14, fomalyona@bk.ru

ЕВДОКИМОВ
Евгений Георгиевич

кандидат биологических наук, ФГБОУ ВО Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова, 150000, г. Ярославль, ул. Советская, д. 14, skrad200052@yandex.ru

УШАКОВ
Владислав Владимирович

ФГБОУ ВО Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова, 150000, г. Ярославль, ул. Советская, д. 14, vlad76_03@mail.ru

Ключевые слова:
лягушки
эритроциты
морфометрические
показатели
гибернация
биологический покой

Аннотация: Изучены изменения морфофункциональных показателей эритроцитов *Rana temporaria* L. (Linnaeus, 1758) в ходе гибернации (условия пониженной температуры среды при отсутствии освещения и питания), а также недельного понижения температуры в разные периоды гибернации. На основе полученных данных рассчитан ряд морфометрических характеристик, позволяющих оценить влияние снижения функциональной активности лягушек на газотранспортную функцию эритроцитов. По мере увеличения периода гибернации отмечена динамика изменения показателей эритроцитов относительно первоначальных данных: на 33-и сутки экспозиции отмечен рост практически всех показателей, кроме показателя формы клетки. На 99-е сутки гибернации зафиксированы максимальные значения показателя формы клетки и удельной поверхности эритроцитов при минимальных значениях площади поверхности клетки, объема клетки и ядра, показателей ядерно-цитоплазматического отношения за всю экспозицию. В эритроцитарной субпопуляции к концу экспозиции отмечено преобладание широкоэллиптических клеток за счет снижения количества округлых. При воздействии пониженных температур (+4 °C) в течение 7 суток отмечается изменение морфометрических показателей эритроцитов периферической крови. При этом степень изменения эритроцитарных показателей зависит от длительности нахождения особей в состоянии гибернации.

© Петрозаводский государственный университет

Рецензент: В. А. Илюха
Н. А. Четанов

Получена: 27 марта 2026 года

Подписана к печати: 26 июня 2026 года

Введение

Гибернация земноводных является одной из форм биологического покоя, позволяющих сохранять жизнеспособность в условиях понижения температуры окружающей сре-

ды. Среди лягушек есть виды с разной криорезистентностью (Берман и др., 2016). Лягушки рода *Rana*, такие как травяная, сибирская и дальневосточная (*Rana temporaria* L., 1758; *Rana amurensis* Boulenger, 1886; *Rana dybowskii* Gunther, 1876), зимуют как в воде,

так и на суше, однако при переохлаждении способны переносить только малые отрицательные температуры (Берман и др., 2017).

Несмотря на значительные успехи в изучении механизмов адаптации клеток к температурным изменениям, многие аспекты остаются недостаточно исследованными, особенно в контексте эритроцитов земноводных. Холоднокровные животные подвергаются значительным колебаниям температуры в зависимости от условий окружающей среды, что оказывает влияние на их функциональные характеристики и метаболизм. Известно, что у рыб эритроциты за счет кислородтранспортной и адаптивно-компенсаторной функций участвуют в поддержании гомеостаза организма при изменении условий среды (Чернявских и др., 2018). У рептилий отмечают разницу в форме и величине эритроцитов в зависимости от видовой принадлежности (Четанов, Четанова, 2021). Однако до сих пор остаются малоизученными молекулярные и биохимические механизмы, посредством которых у лягушек эритроциты адаптируются к этим изменениям.

В связи с этим вопрос о физиологических изменениях в организме лягушек при снижении функциональной активности является актуальным, поскольку его изучение позволит получить дополнительные сведения об особенностях гипобиоза пойкилотермных животных и о влиянии абиотического стресса на клеточные структуры и их функции.

Цель работы: изучить изменение морфо-

метрических параметров эритроцитов при гибернации и при дополнительном холодном воздействии.

Материалы

Все исследованные особи были самцами и отловлены в местах естественного обитания. Материал для исследования, включающий кровь от 24 особей травяной лягушки (*R. temporaria*), был собран в период с октября 2023 по февраль 2024 г. – период естественной гибернации вида в природе. Животные на протяжении нескольких месяцев содержались при температуре 10–12 °С без освещения и пищи в аквариальной комнате вивария.

Методы

После отлова проводили предварительную недельную акклимацию животных к условиям аквариальной комнаты. Для оценки изменения показателей эритроцитов в условиях гибернации и после холодного воздействия животных на 1, 33, 48 и 99-е сутки экспозиции отбирали по три особи для контрольного и опытного вариантов. Контрольные особи оставались в исходных условиях в течение семи суток, тогда как опытные подвергались холодному воздействию при температуре 4 °С. Пониженные температуры моделировались с помощью климатической камеры TH-ME-25 (Jeio Tech Lab Companion), обеспечивающей постоянство температуры и влажности на протяжении семи суток эксперимента.

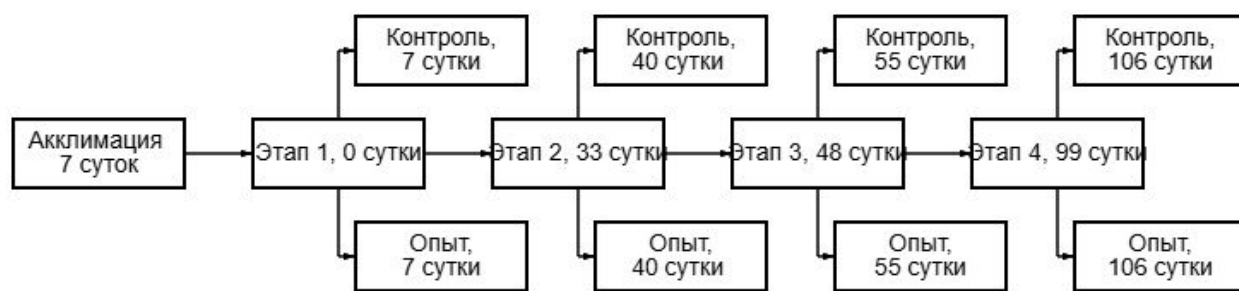


Рис. 1. Схема эксперимента

Fig. 1. The scheme of the experiment

Кровь отбирали после пункции сердца в пробирку, обработанную антикоагулянтом ЭДТА (ООО «МиниМед»). Мазки крови, окрашенные по Романовскому – Гимзе, просматривали и фотографировали на микроскопе «МИКМЕД-6» с камерой MC-5 (USB-2.0) при увеличении (окуляр 10, объектив

40) (АО «ЛОМО», Россия). На каждом препарате измеряли длину и ширину для 100 клеток. Анализ микрофотографий и измерение линейных размеров эритроцитов и их ядер проводили в программе JMicroVision 1.3.4 (Roduit, 2019). Всего было обработано 75 микрофотографий мазков крови и измере-

ны показатели у 2400 клеток по 100 для каждой особи, включенной в эксперимент.

Расчет морфометрических параметров эритроцитов проводили на основе измерения продольной и поперечной осей эритроцита (C_1 и C_2 соответственно) и ядра (N_1 и N_2 соответственно). Используя полученные линейные размеры проводили расчет ряда характеристик эритроцитов: показатель формы клеток (MS), объем клетки (V_c), объем ядра (V_n), площадь поверхности клетки (S_c), ядерно-цитоплазматическое отношение (NCR), удельную поверхность эритроцитов (SS_c) (Кухарева, Солдатов, 2016). Согласно коэффициенту эксцентricности (ϵ) выделяли три класса эритроцитарных субпопуляций: *eliptocytus* (нормальные эллипсоидные клетки) – коэффициент эксцентricности (ϵ) – 0.7-0.75; *magnulocytus* (широкоэллиптические клетки) – $\epsilon \geq 0.76$; *teretocytus* (округлые клетки) – $\epsilon \leq 0.69$ (Скоркина, Зеленцова, 2004).

Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием программ MS Office Excel, STATISTICA 10 (StatSoft Inc., США). Нормальность распределения оценивали с помощью метода Шапиро – Уилка. Для подтверждения достоверности различий между двумя выборками использовали либо U-критерий Манна – Уитни, когда наблюдалась ненормальность распределения, либо t-критерий Стьюдента при нормальном распределении. Для оценки качественных признаков использовали критерий соответствия χ^2 Пирсона. Уровень значимости для всех видов сравнения принимался 0.05 ($p \leq 0.05$).

Использование и уход за экспериментальными животными соответствовал законам Российской Федерации по защите животных, а также руководящим принципам ARRIVAL и Директиве ЕС 2010/63/ЕС для экспериментов на животных.

Результаты

Первые отборы проб крови проводились у особей, отобранных из естественной среды в октябре и прошедших недельную акклимацию к искусственно созданным условиям содержания (отсутствие освещения и питания, температура воздуха 14...15 °С). Далее на протяжении 106 суток лягушки содержались в условиях аквариальной комнаты (температура 10...12 °С, без света и пищи). Данные, полученные в октябре (начальный

контроль) при первом снятии результатов, принимали в качестве исходных, как наиболее приближенные к естественным условиям среды, так как в этот период лягушки еще находились в относительно активном состоянии. Полученные исходные размерные параметры эритроцитов, такие как длина эритроцита по продольной (C_1 : 21.72 ± 0.10 мкм) и поперечной оси клетки (C_2 , 16.32 ± 0.07 мкм) и ядра (N_1 , 11.01 ± 0.08 мкм, N_2 , 6.64 ± 0.07 мкм), позволили рассчитать основные характеристики эритроцитов: показатель формы клетки 1.33 ± 0.01 ; объем ядра 263.06 ± 7.27 мкм³, объем клетки 1058.77 ± 11.79 мкм³, площадь поверхности клетки 1233.05 ± 12.22 мкм², ядерно-цитоплазматическое отношение 0.24 ± 0.01 , удельная поверхность эритроцитов 1.17 ± 0.01 мкм²/мкм³. В эритроцитарной субпопуляции, согласно коэффициенту эксцентricности, преобладали округлые клетки (75.3 %) и нормальные эллипсоидные клетки (18.7 %), при этом количество широкоэллиптических клеток (6 %) было минимально.

По мере увеличения длительности содержания лягушек в аквариальной комнате для каждой серии экспериментов отбирали дополнительный контроль, поскольку в таких условиях животные постепенно переходили в состояние пониженной функциональной активности. Так, на 2-м этапе, после месячного периода гибернации, выявлены изменения в морфометрических показателях эритроцитов: C_1 , 25.45 ± 0.2 мкм, C_2 , 19.67 ± 0.20 мкм, длина ядра по продольной оси N_1 , 11.40 ± 0.13 мкм, по поперечной оси N_2 , 7.22 ± 0.11 мкм. Изменились и основные параметры эритроцитов: показатель формы клетки 1.30 ± 0.10 , объем ядра 337.80 ± 5.27 мкм³, объем клетки 1619.61 ± 42.43 мкм³, площадь поверхности клетки 1696.67 ± 50.93 мкм², ядерно-цитоплазматическое отношение 0.200 ± 0.004 , удельная поверхность эритроцитов 1.22 ± 0.01 мкм²/мкм³ (табл. 1). При этом в эритроцитарной субпопуляции отмечено увеличение доли округлых клеток до 81.2 % за счет уменьшения количества нормальных эллипсоидных (12.0 %) и широкоэллиптических клеток (6.8 %).

Холодовая 7-суточная экспозиция лягушек при температуре воздуха 4 °С в климатической камере в этот же период повлияла на морфометрические показатели эритроцитов (см. табл. 1).

Таблица 1. Морфометрические показатели эритроцитов периферической крови лягушки *R. temporaria* при воздействии пониженных температур (2-й этап)

Показатели эритроцитов	Контроль	Опыт
<i>MS</i>	$1.30 \pm 0.10^*$	$1.26 \pm 0.01^{**}$
$V_{\rho}, \text{мкм}^3$	$337.84 \pm 5.27^*$	$165.53 \pm 5.27^{**}$
$V_c, \text{мкм}^3$	$1619.61 \pm 42.43^*$	$1002.50 \pm 13.01^{**}$
$S_c, \text{мкм}^2$	$1696.67 \pm 50.93^*$	$1233.05 \pm 12.22^{**}$
<i>NCR</i>	$0.200 \pm 0.004^*$	$0.160 \pm 0.004^{**}$
$SS_c, \text{мкм}^2/\text{мкм}^3$	$1.22 \pm 0.01^*$	$1.29 \pm 0.01^{**}$
$C_1, \text{мкм}$	$25.45 \pm 0.25^*$	$21.77 \pm 0.12^{**}$
$C_2, \text{мкм}$	$19.67 \pm 0.20^*$	$14.64 \pm 0.1^{**}$
$N_1, \text{мкм}$	$11.40 \pm 0.13^*$	$9.55 \pm 0.09^{**}$
$N_2, \text{мкм}$	$7.22 \pm 0.11^*$	$5.60 \pm 0.07^{**}$

Примечание. * – достоверные различия между контролем на 1-м и 2-м этапах отбора особей, ** – достоверные различия между контролем 2-го этапа и опытной группой (U-критерий Манна – Уитни, $p \leq 0.05$).

У особей, экспонировавшихся к пониженной температуре, отмечено уменьшение линейных размеров клетки на конец экспозиции: длина эритроцитов по продольной оси уменьшается на 19 %, поперечной – на 28.9 %, длина ядра по продольной оси уменьшается на 15.7 %, по поперечной оси – на 34.3 %. Вследствие этого изменяются и морфофункциональные параметры эритроцитов: уменьшаются на 3 % показатель формы клетки, объем клетки на 38 %, объем ядра на 51 %, площадь поверхности клетки на 27.3 %, ядерно-цитоплазматическое от-

ношение на 20 %. При этом отмечается увеличение удельной поверхности эритроцитов на 5.7 %. В эритроцитарной субпопуляции незначительно возрастает доля округлых клеток (89.2 %) за счет уменьшения количества нормальных эллипсоидных (7.7 %) и широкоэллиптических клеток (3.1 %).

Через полтора месяца содержания лягушек в контрольных условиях (3-й этап) отмечаются некоторые изменения в морфометрических показателях эритроцитов по отношению к первой съемке данных в исходной контрольной группе (табл. 2).

Таблица 2. Морфометрические показатели эритроцитов периферической крови лягушки *R. temporaria* при воздействии пониженных температур (3-й этап)

Показатели эритроцитов	Контроль	Опыт
<i>MS</i>	$1.48 \pm 0.01^*$	$1.54 \pm 0.01^{**}$
$V_{\rho}, \text{мкм}^3$	$265.45 \pm 12.28^*$	$185.71 \pm 4.52^{**}$
$V_c, \text{мкм}^3$	$1025.90 \pm 13.58^*$	$947.48 \pm 12.59^{**}$
$S_c, \text{мкм}^2$	1179.05 ± 12.59	1180.94 ± 15.18
<i>NCR</i>	$0.230 \pm 0.008^*$	$0.190 \pm 0.003^{**}$
$SS_c, \text{мкм}^2/\text{мкм}^3$	$1.180 \pm 0.013^*$	$1.250 \pm 0.004^{**}$
$C_1, \text{мкм}$	22.03 ± 0.11	22.23 ± 0.11
$C_2, \text{мкм}$	$14.94 \pm 0.06^*$	$14.64 \pm 0.10^{**}$
$N_1, \text{мкм}$	$10.65 \pm 0.14^*$	$10.04 \pm 0.07^{**}$
$N_2, \text{мкм}$	$6.25 \pm 0.10^*$	$5.81 \pm 0.05^{**}$

Примечание. * – достоверные различия между контролем на 1-м и 3-м этапах отбора особей, ** – достоверные различия между контролем 3-го этапа и опытной группой (U-критерий Манна – Уитни, $p \leq 0.05$).

Длина эритроцита по продольной составила 22.03 ± 0.11 мкм, по поперечной оси клетки 14.94 ± 0.20 мкм; длина ядра по продольной оси 10.65 ± 0.14 мкм, по поперечной оси 6.25 ± 0.10 мкм. Изменились и основные параметры эритроцитов: показатель формы клетки 1.48 ± 0.01 ; объем ядра 265.45 ± 12.28 мкм³, объем клетки 1025.9 ± 13.58 мкм³, площадь поверхности клетки 1179.05 ± 12.59 мкм², ядерно-цитоплазматическое отношение 0.230 ± 0.008 , удельная поверхность эритроцитов 1.18 ± 0.013 мкм²/мкм³. При этом в эритроцитарной субпопуляции доля округлых клеток уменьшается до 28.1 % за счет увеличения количества нормальных эллипсоидных (37.3 %) и широкоэллиптических клеток (34.6 %).

После 7-суточной экспозиции при температуре 4 °С в этот период (3-й этап) выявлено статистически значимое снижение длины эритроцита как по продольной (на 6 %), так и поперечной оси (на 7 %), уменьшение длины ядра по поперечной оси (на 3 %) (см. табл. 2). Отмечено статистически значимое увеличение показателя формы клетки на 4 %, уменьшение объема клетки и объема ядра на 30 % и 7.7 % соответственно, ядерно-цитоплазматического отношения на 17.4 %. При этом наблюдается увеличение удельной поверхности эритроцита на 6 %. В

эритроцитарной субпопуляции практически не меняется доля округлых клеток (27.8 %), увеличивается доля широкоэллиптических клеток (44.8 %) и снижается доля нормальных эллипсоидных эритроцитов (27.8 %).

После 3-месячной гибернации производили третий отбор крови для анализа морфометрических показателей эритроцитов (4-й этап). Обнаружено, что по отношению к данным исходной контрольной группы также произошли изменения в показателях эритроцитов (табл. 3). Длина эритроцита по продольной оси клетки составила 9.62 ± 0.05 мкм, по поперечной 5.01 ± 0.02 мкм; длина ядра по продольной оси 22.74 ± 0.08 мкм, по поперечной оси 13.66 ± 0.07 мкм. Изменились и основные параметры эритроцитов: показатель формы клетки 1.67 ± 0.01 ; объем ядра 129.02 ± 2.18 мкм³, объем клетки 1076.07 ± 9.23 мкм³, площадь поверхности клетки 1424.20 ± 12.19 мкм², ядерно-цитоплазматическое отношение 0.170 ± 0.003 , удельная поверхность эритроцитов 1.270 ± 0.004 мкм²/мкм³. При этом в эритроцитарной субпопуляции максимально увеличивается доля широкоэллиптических клеток (82.4 %), снижена доля нормальных эллипсоидных эритроцитов (14.1 %) и минимальна доля округлых клеток (3.5 %).

Таблица 3. Морфометрические показатели эритроцитов периферической крови лягушки *R. temporaria* при воздействии пониженных температур (4-й этап)

Показатели эритроцитов	Контроль	Опыт
<i>MS</i>	$1.67 \pm 0.01^*$	$1.45 \pm 0.01^{**}$
<i>V_я</i> , мкм ³	$129.02 \pm 2.18^*$	$154.28 \pm 2.87^{**}$
<i>V_к</i> , мкм ³	$876.28 \pm 6.75^*$	$1076.07 \pm 9.23^{**}$
<i>S_к</i> , мкм ²	$1158.71 \pm 9.43^*$	$1424.20 \pm 12.19^{**}$
<i>NCR</i>	0.140 ± 0.002	0.140 ± 0.002
<i>SS_к</i> , мкм ² /мкм ³	1.320 ± 0.003	1.320 ± 0.003
<i>C_л</i> , мкм	$22.74 \pm 0.08^*$	$23.58 \pm 0.09^{**}$
<i>C_я</i> , мкм	$13.66 \pm 0.07^*$	$16.36 \pm 0.08^{**}$
<i>N_л</i> , мкм	$9.62 \pm 0.05^*$	$10.18 \pm 0.06^{**}$
<i>N_я</i> , мкм	$5.01 \pm 0.02^*$	$5.31 \pm 0.04^{**}$

Примечание: * – достоверные различия между контролем на 1-м и 4-м этапах отбора особей, ** – достоверные различия между контролем 4-го этапа и опытной группой (U-критерий Манна – Уитни, $p \leq 0.05$).

Экспозиция особей в течение 7 суток при температуре 4 °С в это время приводит к увеличению длины эритроцита по продольной оси на 5.8 %, по поперечной на 6 %, длина ядра по продольной оси на 3.6 %, по поперечной на 16.5 % ($p \leq 0.05$). По функциональным показателям отмечено уменьшение по-

казателя формы клетки на 13.2 %, увеличение объема ядра на 19.6 %, объема клетки на 22.7 %, площади поверхности клетки на 22.9 %. Что касается изменения соотношения эритроцитарных популяций, то после холодовой экспозиции отмечается уменьшение доли широкоэллиптических клеток

(26.7 %) за счет возрастания долей нормальных эллипсоидных (31.6 %) и округлых клеток (41.7 %).

Полученные данные показали, что на протяжении эксперимента с 1-х по 106-е сутки экспозиции в контрольной группе лягушек происходили изменения показателей эритроцитов. Поэтому дополнительно был проведен анализ изменения функциональ-

ных показателей эритроцитов у особей контрольных групп, содержащихся в аквариальной комнате в условиях отсутствия освещения, питания и при температуре 10...12 °С. Результаты показали, что по мере увеличения периода нахождения лягушек в данных условиях изучаемые показатели эритроцитов изменяются (табл. 4).

Таблица 4. Морфометрические показатели эритроцитов периферической крови лягушек *R. temporaria* контрольных групп за период экспозиции

Показатели эритроцитов	Период экспозиции, сутки			
	1-й этап	2-й этап	3-й этап	4-й этап
<i>MS</i>	1.33 ± 0.01^a	1.3 ± 0.10^a	1.48 ± 0.01^b	1.67 ± 0.01^c
V_n , мкм ³	263.06 ± 7.27^a	337.8 ± 5.27^b	265.4 ± 12.28^a	129.02 ± 2.18^c
V_c , мкм ³	1058.77 ± 11.79^a	1619.61 ± 42.43^b	1025.90 ± 13.58^a	876.28 ± 6.75^c
S_c , мкм ²	1233.05 ± 12.22^a	1696.67 ± 50.93^b	1179.05 ± 12.59^{af}	1158.71 ± 9.43^{df}
<i>NCR</i>	0.24 ± 0.01^a	0.20 ± 0.004^b	0.23 ± 0.008^a	0.14 ± 0.002^c
SS_c , мкм ² /мкм ³	1.17 ± 0.01^a	1.22 ± 0.01^b	1.18 ± 0.013^c	1.32 ± 0.003^d
C_1 , мкм	21.72 ± 0.10^{ab}	25.45 ± 0.25^a	22.03 ± 0.11^b	22.74 ± 0.08^c
C_2 , мкм	16.32 ± 0.07^a	19.67 ± 0.20^b	14.94 ± 0.06^a	13.66 ± 0.07^c
N_1 , мкм	11.01 ± 0.08^a	11.40 ± 0.13^b	10.65 ± 0.14^a	9.62 ± 0.05^c
N_2 , мкм	6.64 ± 0.07^a	7.22 ± 0.11^b	6.25 ± 0.10^c	5.01 ± 0.02^d

Примечание. Различные надстрочные символы в каждой строке указывают на статистически значимые различия между этапами эксперимента (U-критерий Манна – Уитни, $p \leq 0.05$).

Отмечается динамика изменения показателей эритроцитов от статистически значимого увеличения объема клетки, ядра, площади поверхности клетки, удельной поверхности эритроцитов до фактического возвращения к прежним значениям показателей через полтора месяца и повторного изменения к концу экспозиции.

Так, значение показателя формы клетки эритроцитов постепенно увеличивается на 3-м этапе на 11 % ($p \leq 0.05$), а к концу общей экспозиции имеет наиболее высокий показатель (увеличился на 21 %, $p \leq 0.05$), что свидетельствует о том, что в кровотоке увеличилось количество эритроцитарных форм более вытянутой эллипсоидной формы. Продольная ось (C_1) клетки увеличилась по сравнению с первыми сутками на 4.7 % ($p \leq 0.05$), а поперечная уменьшилась на 16.2 % ($p \leq 0.05$). Эта динамика подтверждается и по расчетам коэффициента эксцентricности – ростом к концу экспозиции доли субпопуляции широкоэллиптических клеток ($p \leq 0.05$).

Значения объема клетки и объема ядра, увеличиваясь (на 53 % и 28 % соответственно, $p \leq 0.05$) на 2-м этапе, к 3-му этапу возвращаются к контрольным данным, а к 4-му

становятся значительно меньше (на 17.3 % и 49 % соответственно, $p \leq 0.05$) начальных данных. По отношению к ядерно-цитоплазматическому соотношению прослеживается аналогичная динамика, только здесь через месяц отмечается уменьшение данного показателя (на 16.7 %), обусловленное ростом объема клетки, затем его возвращение к первоначальным данным на 3-м этапе и вновь снижение на конец экспозиции (на 35 %), связанное с большим уменьшением объема ядра в сравнении с клеткой.

При оценке респираторных характеристик эритроцитов (диффузная площадь поверхности и удельная поверхность клетки) прослеживается аналогичная динамика: на 2-м этапе отмечается рост респираторных характеристик клетки (S_c на 37.6 %, SS_c на 4.2 %, $p \leq 0.05$), затем снижение на 3-м (на 31 %, $p \leq 0.05$) и дальнейшее понижение значения площади поверхности клетки с одновременным ростом удельной поверхности к 4-му этапу. Показатель удельной поверхности эритроцитов при этом увеличивается на 8.8 %, что, вероятно, связано с относительной стабилизацией функциональности и адаптацией клеток при гипобии.

Все отмеченные показатели по мере уве-

личения длительности экспозиции статистически значимо отличаются от первоначальных контрольных данных в зависимости от длительности экспозиции, что свидетельствует о происходящих изменениях в морфологии и функциональности эритроцитов в ответ на переход в состояние гипобриоза (см. табл. 4).

Аналогичная динамика прослеживается и по соотношению субпопуляций эритроцитов, выделяемых согласно коэффициенту эксцентricности. При первом снятии данных в исходной контрольной группе преобладает субпопуляция округлых клеток эритроцитов, при этом популяция широкоэллиптических клеток минимальна (табл. 5).

Таблица 5. Соотношение субпопуляций эритроцитов по коэффициенту эксцентricности за период экспозиции у лягушек *R. temporaria*

Тип субпопуляции эритроцитов	1-й этап	2-й этап	3-й этап	4-й этап
Нормальные эллипсоидные клетки	18.7 ^a	12.0 ^a	37.3 ^b	14.1 ^{cf}
Широкоэллиптические клетки	6.0 ^a	6.8 ^a	34.6 ^b	82.4 ^{cf}
Округлые клетки	75.3 ^a	81.2 ^a	28.1 ^b	3.5 ^{cf}

Примечание. Различные надстрочные символы в каждой строке указывают на статистически значимые различия между этапами эксперимента (критерий соответствия χ^2 Пирсона, $p \leq 0.05$).

По мере увеличения периода экспозиции наблюдаются изменения в соотношении разных субпопуляций эритроцитов в крови лягушек. Через месяц экспозиции статистически значимых изменений не выявлено, по-прежнему преобладают округлые клетки. К 3-му этапу выявлено статистически значимое изменение в соотношении эритроцитарных субпопуляций – все три группы имеют практически равные доли. Однако к концу экспозиции контрольной группы лягушек доля широкоэллиптических эритроцитов статистически значимо увеличивается, а доля округлых клеток снижается ($p < 0.001$).

Обсуждение

Одним из функциональных показателей, отражающих состояние организма, является изменение морфологических характеристик клеток эритроцитов, определяющих их респираторные свойства. Информация об изменениях этих параметров при снижении уровня биологической и физиологической активности, а также при переходе представителей земноводных в состояние биологического покоя представляет значительный интерес. Размер эритроцита является видоспецифической, стабильной характеристикой, которая сформировалась в ходе эволюции. Эритроцитарные клетки обладают способностью к изменению формы и размеров, что обеспечивает им возможность свободно проходить через микроциркуляторное русло (Липунова, Скоркина, 2004). Известно, что у земноводных эритроциты весьма чув-

ствительны к воздействию неблагоприятных факторов среды (Минеева, Минеев, 2010). В связи с тем что более мелкие эритроциты характерны для животных с более высоким уровнем метаболизма, вероятно, их размеры могут выступать в качестве важного показателя адаптивной способности к концентрированию энергетических ресурсов (Липунова, Скоркина, 2004; Четанов, Четанова, 2021). Эритроциты млекопитающих разных видов различаются по размеру и форме. Увеличение их размера позволяет достичь более высокой концентрации Hb и повысить способность крови переносить кислород. При этом размер эритроцитов взаимосвязан и с экологическими факторами обитания, такими как условия среды обитания, двигательная активность и др. (Kizhina et al., 2020; Трошкина и др., 2007).

Для взрослых лягушек *R. temporaria*, по данным литературы, нормальными условиями и предпочитаемыми температурами на суше являются 17...20 °C. Для них сезон активности определяется по числу дней в году при среднесуточной температуре выше +5 °C (Ляпков, 2012). В естественных условиях в осенний период лягушки постепенно готовятся к переходу в состояние гибернации, характеризующееся пониженной реактивностью организма, снижением активности процессов ассимиляции и диссимиляции, ограничением и ослаблением функционирования жизнеспособных структур клеток (Голдовский, 1977). Травяная лягушка отно-

сительно устойчива к переохлаждению, а при температурах около 0 °С переходит в состояние гибернации, принимая характерную «зимовочную» позу (Берман и др., 2017).

В целях детального изучения влияния снижения функциональной активности на эритроциты был проведен анализ изменений их морфометрических показателей в ходе гибернации. Анализ показал наличие динамики изменения изучаемых показателей эритроцитов, отражающих изменение функционального состояния особей в условиях температуры 10...12 °С, при отсутствии пищи и освещения, связанное с перестройкой физиологических процессов. Длительная гибернация приводила к постепенному подавлению функциональной активности животных, что отражалось в показателях эритроцитов. Выявленное после 1 месяца значительное увеличение объема клетки и ядра (53 % и 28 %), площади поверхности клетки и удельной поверхности эритроцитов (37.6 % и 4.2 %) при одновременном уменьшении ядерно-цитоплазматического соотношения свидетельствует о том, что в клетках идет повышение обменных процессов в этот период. Через полтора месяца экспозиции отмечено постепенное возвращение практически всех показателей к исходным данным (кроме показателя формы клетки, он увеличивается, т.е. клетка становится более вытянутой по продольной оси формы). Данная тенденция уменьшения значений показателей наблюдается и к концу экспозиции на 4-м этапе, при этом отмечено увеличение удельной поверхности эритроцита. Причем в это время наиболее значительно уменьшается объем ядра, что свидетельствует о значительном снижении обменных процессов.

Возможно, полученные результаты связаны с разными функциональными особенностями. Исследования на самцах *R. ridibunda* показали, что в состоянии гибернации количество эритроцитов значительно ниже в сравнении с периодом весенне-летней активности, однако в некоторых случаях показана активация эритропоэза, приводящая к увеличению количества эритроцитов и уменьшению их объема (Липунова, Скоркина, 2004). С другой стороны, при переходе лягушек в более глубокую фазу биологического покоя уменьшение объема клетки и ядра может быть обусловлено снижением метаболизма, уменьшением количества свободной воды (Голдовский, 1977; Иванов, 2008; Жмакин, 2008), а соответственно, по-

степенной дегидратацией эритроцитов.

Также отмечено, что по мере увеличения продолжительности экспозиции в крови контрольной группы лягушек наблюдаются изменения в соотношении эритроцитарных популяций. Статистически значимые изменения отмечены через полтора месяца гибернации, выражающиеся в постепенном увеличении и максимальном преобладании к концу экспозиции доли широкоэллиптических клеток. Трансформация формы эритроцита может быть связана с изменением проницаемости и текучести плазматической мембраны, что приводит к частичной дегидратации клетки. Стабильность и деформируемость мембран эритроцитов зависит от жесткости белковой сети цитоскелета и вязкостно-эластических свойств мембранных липидов. При этом деформируемость клетки снижается с увеличением вязкости внутриклеточного содержимого (Липунова, Скоркина, 2004).

Важно отметить, что за общий период экспозиции контрольной группы отмечается динамика практически всех показателей, что, вероятнее всего, связано с их скоррелированным изменением. Можно прийти к заключению, что сходная динамика изменения морфофункциональных показателей – снижение объемов ядра и клетки, уменьшение ЯЦО и площади поверхности клетки – свидетельствует о снижении активности обменных процессов эритроцитов в целом, что и отражает переход организма в состояние биологического покоя.

Считается, что температура 4 °С – это верхняя граница холодового воздействия, однако она не является критичной для выживания лягушек. Известно, что они остаются относительно активными и при более низких значениях температуры 3...5 °С (Берман и др., 2017). С другой стороны, результаты экспериментов показывают, что семисуточная экспозиция лягушек при данной температуре приводит к значительным изменениям морфометрических показателей эритроцитов и зависит от общей функциональной активности животного.

Так, после холодового воздействия (+4 °С) у лягушек, находившихся в состоянии гибернации в течение одного месяца, выявлено уменьшение объема клетки и ядра, ядерно-цитоплазматического отношения, площади поверхности клетки при одновременном увеличении удельной поверхности эритроцитов, что свидетельствует о преобладании в кровяном русле эритроцитов более окру-

глой формы и меньших размеров. Выявленные изменения свидетельствуют о снижении уровня обменных процессов в эритроцитах, их респираторных характеристик и проявлении компенсаторных реакций. Стоит отметить, что холодное воздействие после месячной гибернации приводит к наибольшим изменениям в морфометрических показателях эритроцитов по сравнению с результатами дальнейших опытов. Вероятно, выявленные изменения связаны именно с компенсационными изменениями на уровне клеточных элементов, а не изменениями процессов эритропоэза. Это подтверждается и данными контрольной группы, согласно которым обменные процессы эритроцитов в этот период возрастали по сравнению с первыми сутками экспозиции.

При холодном воздействии через полтора месяца гибернации выявлено, что размеры клетки и ядра по сравнению с контрольной группой также уменьшаются, но уже не так активно (30 % и 7.6 % соответственно). Одновременно отмечается уменьшение значения ядерно-цитоплазматического отношения, а площадь поверхности клетки не изменяется при увеличении ее удельной поверхности. Подобное изменение показателей свидетельствует о снижении реактивности организма при отсутствии глубокой гибернации.

Однако через три месяца гибернации холодное воздействие приводит к иному эффекту: увеличению размеров эритроцитов за счет увеличения объемов ядра, клетки и площади ее поверхности. При этом значения ядерно-цитоплазматического отношения и удельной поверхности клетки не изменяются. Подобные изменения, например увеличение объема эритроцита, отмечаются и у эритроцитов *Carassius gibelio* при инкубации крови при температуре +5 °C (Чернявских, 2018).

Полученные нами результаты, свидетельствующие об изменениях морфометрических параметров эритроцитов, подтверждают имеющиеся в литературе данные о том, что параметры красных клеток изменяются как при пониженной, так и при повышенной температуре (Чернявских, 2018). В связи с

этим можно предположить, что в условиях семисуточного холодного воздействия происходящее увеличение размеров эритроцитов является приспособительной реакцией для сохранения объема обменных процессов. Согласно литературным данным, при пониженной температуре инкубации у эритроцитов отмечается снижение упругости и адгезии клеток (Чернявских, 2018). Косвенно это может свидетельствовать о работе адаптивных механизмов, связанных с уменьшением функциональной активности клеток в условиях гипотермии. Так, диффузионная поверхность эритроцитов после месячной гибернации и холодной нагрузки снижается, на 2-м этапе (полтора месяца гибернации) не отличается от контрольных значений, а через три месяца экспозиции аналогичное воздействие приводит к ее повышению. Это свидетельствует о зависимости ответной реакции организма на холодное воздействие, в частности респираторных характеристик эритроцита, от состояния организма.

Анализ влияния холодного воздействия (4 °C) в течение 7 суток на соотношение эритроцитарных субпопуляций показал, что статистически значимые отличия от контрольной группы отмечены только на последнем этапе общей экспозиции. Выявлено значительное снижение доли широкоэллиптических клеток и рост доли округлых клеток. Возможно, это связано именно с воздействием данной температуры и является одним из адаптационных механизмов к гипотермическому стрессу.

Заключение

Полученные результаты исследования эритроцитов лягушки *R. temporaria* демонстрируют значительные изменения в морфофункциональных показателях клеток при понижении физиологической активности организма и в ответ на холодное воздействие. При этом выраженность ответного эффекта зависит от длительности гибернации, а соответственно, и функционального состояния организма. Подтверждена высокая вариабельность форм эритроцитов у лягушек и наличие зависимости соотношений эритроцитарных субпопуляций от физиологического состояния особи.

Библиография

- Берман Д. И., Мещерякова Е. Н., Булахова Н. А. Экстремальные отрицательные температуры и потери массы сибирским углозубом (*Salamandrella keyserlingii*, Amphibia, Hynobiidae) // Доклады академии наук. 2016. Т. 468, № 5. С. 589–593.
- Берман Д. И., Булахова Н. А., Мещерякова Е. Н. Адаптивные стратегии бурых лягушек (Amphibia,

- Anura, Rana) в отношении зимних температур на севере Палеарктики // Зоологический журнал. 2017. Т. 96, № 11. С. 1392–1403.
- Голдовский А. М. Основы учения о состояниях организмов. Л.: Наука, 1977. 116 с.
- Жмакин А. И. Физические основы криобиологии // Успехи физических наук. 2008. Т. 178, № 3. С. 243–266.
- Иванов К. П. Жизнь при минимальных расходах энергии // Успехи физиологических наук. 2008. Т. 39, № 1. С. 42–54.
- Кухарева Т. А., Солдатов А. А. Функциональная морфология эритроидных элементов крови *Neogobius melanostomus* P. в процессе клеточной дифференцировки // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2016. Т. 52, № 3. С. 233–238.
- Липунова Е. А., Скоркина М. Ю. Система красной крови: Сравнительная физиология: Монография. Белгород: Изд-во БелГУ, 2004. 216 с.
- Ляпков С. М. Географическая изменчивость и половые различия по длине тела и возрастному составу у травяной лягушки: формирование и закономерности проявления // Принципы экологии. 2012. № 2. С. 22–44.
- Минеева О. В., Минеев А. К. Нарушения морфологии эритроцитов периферической крови озёрной лягушки *Rana ridibunda* Pallas, 1771 // Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского. 2010. № 2 (2). С. 664–667.
- Скоркина М. Ю., Зеленцова А. С. К методике оценки геометрических параметров эритроцитарной популяции у лягушек // Фундаментальные исследования. 2004. № 4. С. 100–101. URL: <https://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=5487> (дата обращения: 12.04.2026).
- Трошкина Н. А., Циркин В. И., Дворянский С. А. Эритроцит: строение и функции его мембраны // Вятский медицинский вестник. 2007. № 2 (3). С. 32–40.
- Чернявских С. Д., До Х. К., Во В. Т. Влияние температуры на морфометрические и физические показатели эритроцитов и полиморфо-ядерных лейкоцитов (*Carassius gibelio* (Bloch)) // Биология внутренних вод. 2018. № 1. С. 95–99.
- Четанов Н. А., Четанова Т. Ю. Некоторые морфологические особенности эритроцитов двух видов змей Нижнего Поволжья // Вестник ПГГПУ. 2021. Серия № 2. Физико-математические и естественные науки. С. 68–73.
- Kizhina A. G., Kalinina S. N., Uzenbaeva L. B., Panchenko D. V., Łapiński S., Ilyukha V. A., Pechorina E. F. & Fokina V. O. Comparative study of erythrocyte morphology and size in relation to ecophysiological adaptations in Rodentia species // Russian Journal of Theriology. 2020. Vol. 19 (2). P. 161–171.
- Roduit N. JMicroVision: Image analysis toolbox for measuring and quantifying components of high-definition images. Version 1.3.1. URL: <https://jmicrovision.github.io> (дата обращения: 05.04.2019).

MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF ERITHROCYTES OF *RANA TEMPORARIA* (AMPHIBIA, ANURA, RANA) DURING HYPOTHERMIA

FOMICHEVA
Elena Mikhailovna

PhD, Federal State Budgetary Educational Institution OF Higher Education Yaroslavl State University named after P.G. Demidov, 150000 Yaroslavl, Sovetskaya St., 14, fomalyona@bk.ru

EVDOKIMOV
Evgeny Georgievich

PhD, Federal State Budgetary Educational Institution OF Higher Education Yaroslavl State University named after P.G. Demidov, 150000 Yaroslavl, Sovetskaya St., 14, skrad200052@yandex.ru

USHAKOV
Vladislav Vladimirovich

Federal State Budgetary Educational Institution OF Higher Education Yaroslavl State University named after P.G. Demidov, 150000 Yaroslavl, Sovetskaya St., 14, vlad76_03@mail.ru

Key words:
frogs
erythrocytes
morphometric
parameters
hibernation
biological dormancy

Summary: The changes in the morphofunctional parameters of erythrocytes of *Rana temporaria* L. (Linnaeus, 1758) were studied during hibernation (low environmental temperature conditions, in the absence of light and food), as well as weekly temperature drops during different periods of hibernation. Based on the obtained data, a number of morphometric characteristics were calculated to assess the effect of a decrease in the functional activity of frogs on the gas transport function of erythrocytes. As the hibernation period increased, the dynamics of changes in red blood cell count relative to the initial data was observed: on the 33rd day of exposure, an increase in almost all parameters was observed, except for the cell shape indicator. On the 99th day of hibernation, maximum values of cell shape index and the specific surface area of erythrocytes were noted, with minimum values of the cell surface area, volume of cell and nucleus, and the nuclear-cytoplasmic ratio for the entire exposure. By the end of the exposure, a predominance of broadly elliptical cells was noted in the erythrocyte subpopulation, due to a decrease in the number of rounded cells. When exposed to low temperatures (+4 °C) for 7 days, there is a change in the morphometric parameters of peripheral blood erythrocytes. At the same time, the degree of change in erythrocyte parameters depends on the duration of the hibernation of individuals.

Received on: 27 March 2026

Published on: 26 June 2026

Reviewer: V. A. Ilyuha
N. A. Chetanov

References

- Berman D. I. Bulahova N. A. Mescheryakova E. N. Adaptive strategies of brown frogs (Amphibia, Anura, Rana) in relation to winter temperatures in the northern Palearctic, Zoologicheskii zhurnal. 2017. T. 96, No. 11. P. 1392–1403.
- Berman D. I. Mescheryakova E. N. Bulahova N. A. Extreme negative temperatures and body mass loss in the Siberian salamander (*Salamandrella keyserlingii*, Amphibia, Hynobiidae), Doklady akademii nauk. 2016. T. 468, No. 5. P. 589–593.
- Chernyavskii S. D. Do H. K. Vo V. T. Effect of temperature on the morphometric and physical parameters of erythrocytes and polymorphonuclear leucocytes in *Carassius gibelio* (Bloch), Biologiya vnutrennih vod. 2018. No. 1. P. 95–99.
- Chetanov N. A. Chetanova T. Yu. Some morphological features of erythrocytes of two kinds of snakes of the Lower Volga Region, Vestnik PGGPU. 2021. Seriya No. 2. Fiziko-matematicheskie i estestvennye nauki. P. 68–73.
- Goldovskiy A. M. Fundamentals of the doctrine of the states of organisms. L.: Nauka, 1977. 116 p.
- Ivanov K. P. Life with minimum energy consumption, Uspehi fiziologicheskikh nauk. 2008. T. 39, No. 1. P.

42–54.

- Kizhina A. G., Kalinina S. N., Uzenbaeva L. B., Panchenko D. V., Łapiński S., Ilyukha V. A., Pechorina E. F. & Fokina V. O. Comparative study of erythrocyte morphology and size in relation to ecophysiological adaptations in Rodentia species, Russian Journal of Theriology. 2020. Vol. 19 (2). P. 161–171.
- Kuhareva T. A. Soldatov A. A. Functional morphology of blood erythroid cells in *Neogobius melanostomus* P. during cell differentiation, Zhurnal evolyucionnoy biohimii i fiziologii. 2016. T. 52, No. 3. P. 233–238.
- Lipunova E. A. Skorkina M. Yu. Red blood system: Comparative physiology: Monograph. Belgorod: Izd-vo BelGU, 2004. 216 p.
- Lyapkov S. M. Geographical variation and sexual differences of body length and age composition in *Rana temporaria*: the ontogenetic development and phenotypic trends, Principy ekologii. 2012. No. 2. P. 22–44.
- Mineeva O. V. Mineev A. K. Morphology defects in peripheral blood erythrocytes of lake frogs *Rana ridibunda* Pallas, 1771, Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N. I. Lobachevskogo. 2010. No. 2 (2). P. 664–667.
- Roduit N. JMicroVision: Image analysis toolbox for measuring and quantifying components of high-definition images. Version 1.3.1. URL: <https://jmicrovision.github.io> (data obrascheniya: 05.04.2019).
- Skorkina M. Yu. Zelencova A. S. On the methodology for estimating geometrical parameters of the erythrocyte population in frogs, Fundamental'nye issledovaniya. 2004. No. 4. P. 100–101. URL: <https://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=5487> (data obrascheniya: 12.04.2026).
- Troshkina N. A. Cirkin V. I. Dvoryanskiy S. A. Erythrocyte: structure and functions of its membrane, Vyatskiy medicinskiy vestnik. 2007. No. 2 (3). P. 32–40.
- Zhmakin A. I. Physical aspects of cryobiology, Uspehi fizicheskikh nauk. 2008. T. 178, No. 3. P. 243–266.