



<https://doi.org/10.15407/cryo35.03.115>

УДК: 615.24:612.12: 591.128: 612.592

В.Г. Мирний *, Н.М. Моїсєєва

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України,
м. Харків, Україна

*vlad_mirnyi@ukr.net

ВПЛИВ ХРОНІЧНОГО ХОЛОДОВОГО СТРЕСУ ТА ДАЛАРГІНУ НА ПОКАЗНИКИ КРОВІ МОРСЬКИХ СВИНОК

У роботі досліджено вплив синтетичного нейропептиду даларгіну на гематологічні показники та електролітний гомеостаз крові морських свинок за умов хронічного холодового стресу (ХХС) при температурі 4 °С впродовж п'яти днів. Установлено, що ХХС супроводжується зменшенням кількості тромбоцитів та порушенням лейкоцитарної формули, зокрема зростанням вмісту паличкоядерних нейтрофілів на тлі зниження відсотка сегментоядерних нейтрофілів, лімфоцитів і моноцитів та зменшення значень індекса адаптації. Одночасно відзначалося підвищення концентрацій кальцію, калію та хлору в крові, що свідчить про порушення електролітного балансу та іонного гомеостазу. Введення даларгіну запобігало таким змінам, що сприяло відновленню фізіологічного співвідношення клітин лейкоцитарної формули, збільшенню кількості тромбоцитів та нормалізації концентрацій ключових електролітів у плазмі крові. Крім того, зареєстровано підвищення індексу адаптації, що свідчить про активацію системи кровотворення та мобілізацію адаптаційного потенціалу організму. Отримані результати підтверджують потенціал даларгіну як ефективного засобу для підтримки системи крові, електролітного балансу та адаптаційних можливостей організму в умовах ХХС.

Ключові слова: адаптація, холодний стрес, кріобіологія, гіпотермія, даларгін, електролітний баланс, гематологічні показники.

Дослідження механізмів адаптації теплокровних організмів до дії низьких температур залишається одним із ключових напрямів сучасної фізіології та кріобіології. Хронічний холодний стрес (ХХС), як один із найбільш тривалих та поліфакторних типів стресових навантажень, зумовлює системні зміни в організмі, зокрема порушення енергетичного обміну, дисбаланс антиоксидантного захисту та зниження функціональної активності клітин [8, 9, 30, 36—38]. У відповідь на ХХС активуються складні адаптаційні механізми, спрямовані на підтримання гомеостатичної рівноваги. Проте надмірне або тривале навантаження на ці механізми може призводити до функціонального виснаження

провідних регуляторних систем, що супроводжується зниженням імунної реактивності, метаболічною дестабілізацією та підвищеною схильністю до розвитку патологічних станів різноманітної етіології [8, 9, 22, 30, 32, 36]. Одним із найчутливіших показників стрес-індукованих порушень є стан периферичної крові. Морфофункціональні характеристики високоспеціалізованих клітин крові, зокрема еритроцитів і лейкоцитів, виступають надійними маркерами, які відображають рівень неспецифічної резистентності організму, ступінь вираженості патологічних змін, а також його функціональні резерви щодо активації компенсаторно-адаптаційних реакцій у відповідь на дію стресогенних чинників [15].

Цитування: Мирний ВГ, Моїсєєва НМ. Вплив хронічного холодового стресу та даларгіну на показники крові морських свинок. *Проблеми кріобіології і кріомедицини*. 2025; 35(3): 119–26. <https://doi.org/10.15407/cryo35.03.115>
© Видавець ВД «Академперіодика» НАН України, 2025. Стаття опублікована на умовах відкритого доступу за ліцензією CC BY-NC-ND license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

Не менш важливим критерієм є електролітний гомеостаз, що відіграє вирішальну роль у забезпеченні нормального функціонування клітин. Основні іони (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , P) беруть участь у регуляції осмотичного тиску, підтриманні трансмембранного потенціалу, активації ензимів, скороченні м'язів та передачі нервових імпульсів [5, 7, 12, 14, 16, 28, 29]. Зокрема, натрій і калій забезпечують електрохімічний градієнт, необхідний для нейром'язової провідності та транспорту метаболітів, кальцій відіграє ключову роль у м'язовій скоротливості, активації ензиматичних систем і згортанні крові, магній стабілізує нервову провідність і знижує збудливість клітин, а фосфати беруть участь в енергетичному обміні, регуляції кислотно-лужного стану та побудові клітинних мембран [26, 31].

Комплексна оцінка змін у системі крові та електролітного балансу в умовах ХХС дає змогу цілісно охарактеризувати адаптаційні реакції організму та ефективність застосування фармакологічних засобів, здатних модулювати ці процеси. Відомо, що однією з основних ланок адаптаційної відповіді за умов дії екстремальних факторів є нейропептиди, зокрема опіоїдного ряду, які беруть участь у модуляції імунної, ендокринної та нервової регуляції [10, 11, 17]. У цьому аспекті особливий інтерес викликає даларгін — синтетичний аналог лей-енкефаліну, що характеризується вираженим протекторним, мембраностабілізуювальним і антистресовим ефектом. Раніше було продемонстровано його здатність знижувати метаболічні та структурні порушення після дії низьких температур [10, 11]. Проте, вплив даларгіну на гематологічні параметри та електролітний баланс за умов саме хронічного холодового стресу досліджено не було.

Мета роботи — з'ясування впливу синтетичного аналога лей-енкефаліну (даларгіну) на електролітний баланс і гематологічні показники морських свинок після хронічного холодового стресу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводили на 5—6-місячних статево-зрілих самцях морських свинок лінії Dunkin-Hartley із середньою масою 600—800 г. Тварини утримувались у стандартних умовах віварію Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (м. Харків).

Експерименти на тваринах, що були схвалені комітетом із біоетики інституту (протокол № 5 від 22.11.2022 р.), проводили відповідно до положень Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження». Всі маніпуляції з тваринами виконували відповідно до правил і рекомендацій Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986).

Тварини були поділені на групи: 1 — інтактна (тварини, яких не піддавали дії ХХС і утримували при температурі 18 °С); 2 — контрольна (тварини, яким вводили 0,5 мл фізіологічного розчину під шкіру за 30 хв до моделювання ХХС); 3 — тварини, яким вводили препарат даларгін (ЗАТ «Біолік», Україна) у дозі (100 мкг/кг) під шкіру за 30 хв до моделювання ХХС. Група «інтакт + даларгін» не представлена у статті, оскільки проведені дослідження показали, що введення препарату в умовах фізіологічної норми не спричиняло достовірних змін показників, представлених у роботі.

Моделювання ХХС здійснювали за методикою А. Namimatsu та співавт. [20], адаптованою до умов лабораторії шляхом модифікації температурного режиму, що забезпечило відтворюваність стресової відповіді зі збереженням етичних стандартів утримання тварин: яких по черзі утримували при температурі 18 та 4 °С спочатку протягом однієї години, а потім протягом 5 діб — 12 годин при температурі 4 °С і 12 годин при 18 °С. Стресове навантаження припиняли на 6-ту добу і проводили забір крові шляхом пункції яремної вени. Температуру тіла морських свинок після індукції гіпотермії вимірювали за допомогою електронного термометра на глибині 2 см, при цьому температура знижувалась на 1—3 °С від початкової 38 °С.

Концентрацію іонів K^+ , P , Cl^- , Ca^{2+} та Na^+ визначали в сироватці крові спектрофотометричним методом з використанням набору реагентів («Філісіт-Діагностика», Україна). Результати виражали в ммоль/л.

Гематологічні показники визначали за допомогою ветеринарного автоматичного гематологічного аналізатора «URIT-2900 Vet Plus» (URIT Medical Electronic Co., Китай) відповідно до інструкції фірми-виробника. Для оцінки імунної відповіді на ХХС і введення даларгіну у дослідженні визначали індекс адаптації, який є мар-

кером активності специфічної та неспецифічної імунної відповіді організму, який розраховували за співвідношенням: відсоток лімфоцитів/відсоток сегментоядерних лейкоцитів [15].

Для статистичної обробки експериментальних даних використовували програми «Statistica 10» (StatSoft, США) та «Excel» (Microsoft, США). Статистичну значущість відмінностей між незалежними групами визначали з використанням непараметричного критерію Манна–Уїтні при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

На першому етапі роботи досліджували динаміку показників електролітного балансу за концентрацією Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , P . З представлених у табл. 1 результатів видно, що ХХС призводив до значущого збільшення концентрації K^+ , Cl^- та Ca^{2+} в крові морських свинок у середньому у 1,3 раза і відносно інтактних значень. При цьому концентрація Na^+ та P у крові тварин в умовах ХХС значуще не змінювалась відносно значень інтактної групи. Отримані результати корелюють з дослідженнями S. Mu та співав. [19], в яких показано, що після перебування у крижаній воді концентрація Ca^{2+} в сироватці крові підвищувалася у два рази, супроводжуючись збільшенням концентрації загального P та Mg^{2+} . Такі зміни можуть вказувати на порушення електролітного балансу, яке може викликати ризик функціональних розладів в умовах холодового стресу. З огляду на цей факт важливим є контроль електролітів.

Введення даларгіну до моделювання ХХС зумовило зміну динаміки електролітного обміну (табл. 1). Зокрема, було виявлено значуще підвищення концентрації K^+ у 1,2 раза та зниження концентрації P у 2,1 раза порівняно з інтактною групою. Водночас концентрації іонів Na^+ , Cl^- та Ca^{2+} не відрізнялися від показників інтактного контролю.

На другому етапі роботи досліджували вплив даларгіну на гематологічні показники морських свинок після ХХС. Кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну та показники гематокриту незалежно від групи значуще не змінювались (табл. 2). Однак, суттєві зміни в умовах ХХС були виявлені в крові тварин стосовно кількості тромбоцитів (див. табл. 1). Так, кількість тромбоцитів у крові після ХХС значуще зменшувалась в середньому в 1,1 раза порівняно з інтактною гру-

пою тварин (див. табл. 1), що узгоджується з даними A. Teleglow та співавт. [34], S. Van Rouske та співавт. [36] і може пояснюватися маргінацією тромбоцитів під впливом гіпотермії, зумовленою зміною форми клітин, зниженням кровотоку та зростанням експресії молекул адгезії [36].

Результати дослідження загальної кількості лейкоцитів та їх типів показали, що перший показник в умовах ХХС значуще не змінювався. Однак, окремі типи лейкоцитів зазнавали суттєвих змін під впливом ХХС, що вказує на перебудову імунної відповіді. Зокрема в умовах ХХС було зареєстровано значне збільшення відсотка паличкоядерних нейтрофілів. Даний факт може бути ознакою того, що кістковий мозок виробляє більше молодих нейтрофілів у відповідь на стрес. Натомість відсоток сегментоядерних нейтрофілів зменшувався в 1,2 раза по відношенню до інтактних значень, що також узгоджується з динамікою дозрівання нейтрофільного типу клітин. Відсоток моноцитів в периферичній крові тварин після ХХС також значуще зменшувався як по відношенню до групи з введенням даларгіну, так й інтактних значень, що може свідчити про послаблення фагоцитарної ланки вродженого імунітету. Найбільш виражені зміни спостерігались у лімфоцитарній ланці: кількість лімфоцитів в умовах ХХС зменшувалась у 2,1 раза порівняно з інтактною групою. Це вказує на потенційне порушення адаптивного імунітету і може бути результатом глюкокортикоїд-індукованої атрофії тимуса або апоптозу Т-клітин — явищ, які часто супроводжують стресові стани. Доведено, що

Таблиця 1. Вміст іонів в крові гомойотермних тварин після ХХС і введення даларгіну, $n = 12$

Електроліти сироватки крові (ммоль/л)	Інтактна група	ХХС	ХХС + даларгін
Na^+	$133 \pm 0,8$	$135 \pm 1,4$	$132 \pm 0,9$
K^+	$4,16 \pm 0,21$	$5,8 \pm 0,1^*$	$4,9 \pm 0,05^{*,\#}$
Cl^-	$95 \pm 1,6$	$120,6 \pm 2,3^*$	$100 \pm 0,7^\#$
Ca^{2+}	$2,2 \pm 2,3$	$2,9 \pm 0,1^*$	$2,3 \pm 0,08^\#$
P	$1,99 \pm 0,05$	$2,14 \pm 0,1$	$0,94 \pm 0,01^{*,\#}$

Примітки: * відмінності значущі порівняно до інтактною групою, $p < 0,05$; # відмінності значущі порівняно з ХХС, $p < 0,05$.

типовими маркерами стрес-індукованої імунної відповіді є атрофія центральних органів імуногенезу (зокрема, тимуса), гранулоцитоз, пригнічення лімфоїдної ланки та зміни активності гемопоетичних стовбурових клітин [1, 6, 24]. Останні забезпечують регенерацію імункомпетентних клітин і є критичними у відновленні гомеостазу імунної системи після стресового впливу.

Після введення даларгіну тваринам за умов ХХС спостерігалась інша динаміка гематологічних показників: відзначалося значне підвищення кількості тромбоцитів відносно інтактних і контрольних значень у 1,3 і 1,4 раза відповідно (див. табл. 2) і еритроцитів при одночасному зниженні середньої концентрації гемоглобіну в еритроцитах. Цей ефект може бути пов'язаний із протекторною дією даларгіну, зокрема його здатністю модулювати процеси стрес-індукованого ушкодження судин і гемопоезу. Щодо лейкоцитарної ланки крові було виявлено суттєві зміни у кількісному та якісному складі лей-

коцитів порівняно з показниками тварин, які зазнали дії ХХС. Загальна кількість лейкоцитів значуще збільшувалась, водночас відсотковий вміст паличкоядерних нейтрофілів не відрізнявся від рівня інтактної групи. Це може бути ознакою нормалізації функціонального стану окремих ланок імунної системи та відновлення ефективності неспецифічного імунітету на фоні введення даларгіну. Про що свідчить і збільшення відсотка сегментоядерних нейтрофілів у 1,4 раза відносно інтактних тварин і в 1,7 раза відносно контрольної групи (ХХС) (див. табл. 2). Подібна реакція розцінюється як прояв підвищення резистентності організму в умовах впливу даларгіну, що обумовлюється його імуномодулюючими властивостями. Відсоток лімфоцитів у крові тварин значуще не відрізнявся від інтактних значень (табл. 2). Отже, даларгін сприяє відновленню балансу між гуморальною та клітинною ланками імунної системи, знижуючи вираженість порушень, спричинених ХХС.

Таблиця 2. Гематологічні показники морських свинок після впливу ХХС і введення даларгіну, $n = 12$

Показники крові	Групи піддослідних тварин		
	Інтактна	ХХС + NaCl	ХХС + даларгін
<i>Показники еритроцитарної ланки</i>			
Гемоглобін, г/л	158,2 ± 0,5	157,2 ± 0,6	155,6 ± 1,28
Еритроцити, ×10 ¹² /л	5,86 ± 0,03	5,83 ± 0,01	6,12 ± 0,1
Гематокрит, %	45,8 ± 0,17	45,9 ± 0,1	48,6 ± 0,74
Середній об'єм еритроцита	78,6 ± 0,26	77,12 ± 0,41	81,8 ± 0,58
Середня концентрація гемоглобіну в еритроциті	402,4 ± 1,53	405,6 ± 0,76 **	339 ± 3,34 *
Тромбоцити, ×10 ⁹ /л	439,3 ± 3,1	413,8 ± 1,9 *,**	564,2 ± 6,9 *
<i>Показники лейкоцитів, ×10⁹/л</i>			
Лейкоцити, ×10 ⁹ /л	9,8 ± 0,06	11,5 ± 0,3	15,5 ± 0,4 *
<i>Типи лейкоцитів, %</i>			
Паличкоядерні лейкоцити, %	3,3 ± 0,01	9,4 ± 0,7 *,**	5,1 ± 0,5
Сегментоядерні лейкоцити, %	30,6 ± 1,4	25,4 ± 0,6 *,**	43,1 ± 3,8 *
Лімфоцити, %	53,1 ± 2,0	24,9 ± 0,9 *,**	39,3 ± 0,8 *
Моноцити, %	4,4 ± 0,9	2,79 ± 0,2 *,**	4,1 ± 0,6
Клітини Фoa-Карлофа, ×10 ⁹ /л	1,5 ± 0,01	2,91 ± 0,2 *,**	5,8 ± 0,3 *
Відношення відсотка лімфоцитів до сегментоядерних нейтрофілів	1,44 ± 0,12	0,8 ± 0,05 *,**	1,14 ± 0,08

Примітки: * відмінності значущі порівняно з інтактними тваринами, $p < 0,05$; ** відмінності значущі порівняно з тваринами після ХХС і введення даларгіну, $p < 0,05$.

Вплив ХХС на кількість клітин Фoa-Карлофа — маркерних макрофагальних елементів, які з'являються в крові у відповідь на стресорні впливи та сигналізують про активацію імунної відповіді — представлено в табл. 2. Встановлено, що після введення даларгіну кількість цих клітин значуще (у 2 рази) збільшилась порівняно як з контрольною, так і інтактною групою. Отримані результати свідчать про підвищення фагоцитарної активності та загальну активацію імунної системи за умов ХХС під впливом синтетичного нейропептиду даларгіну. Це узгоджується зі збільшенням відсоткового вмісту сегментоядерних нейтрофілів у периферичній крові тварин після ХХС та введення даларгіну, що вказує на активацію неспецифічного імунітету. Підтвердженням зазначених змін є зниження індексу адаптації — співвідношення лімфоцитів до сегментоядерних нейтрофілів. Як показано в табл. 2, у тварин після дії ХХС даний показник значуще зменшувався до $0,8 \pm 0,05$, що є нижчим за одиницю. Такі зміни указують на переважну активацію неспецифічної ланки імунної відповіді (нейтрофіли) на тлі пригнічення адаптивного імунітету (лімфоцити) і можуть свідчити про імунну дестабілізацію або функціональне виснаження. У тварин, яким вводили даларгін, індекс адаптації значуще не відрізнявся від показників інтактної групи (див. табл. 2), що, як вже було зазначено вище, є ознакою балансу між основними ланками імунної системи.

Як показав аналіз результатів дослідження, ХХС призводить до ряду змін в іонному гомеостазі, що свідчить про активацію адаптативних механізмів організму (див. табл.2). Зокрема було зафіксовано підвищення концентрації K^+ та Cl^- у сироватці крові, яке може бути пов'язане з порушенням роботи мембранних іонних насосів, внаслідок активації стресових сигнальних каскадів [5, 12]. У свою чергу, підвищення концентрації Cl^- є ознакою змін кислотно-лужного балансу та активації процесів осморегуляції та компенсаторних механізмів у відповідь на стрес [16, 28]. Такі порушення іонного обміну можуть мати низку негативних наслідків. Вони здатні знижувати ефективність систем гомеостатичної регуляції, порушувати функціональну активність клітин, впливати на імунну відповідь, зокрема на процеси фагоцитозу, які чутливі до рівнів K^+ , Ca^{2+} [21, 39].

Крім того, зниження здатності підтримувати електролітний баланс за ХХС може супроводжуватись розладами процесів згортання крові, що пов'язано з коливаннями концентрації іонів, зокрема K^+ , Ca^{2+} і Mg^{2+} [33, 35].

Таким чином, виявлені зміни вказують на те, що ХХС є значущим фактором порушення іонного балансу, який здатний знижувати адаптативний резерв організму та стійкість до тривалих екстремальних впливів. Варто зазначити, що вміст фосфору, важливого для енергетичного метаболізму та синтезу АТФ, залишався стабільним в умовах ХХС (див. табл. 1).

Введення даларгіну при ХХС суттєво впливало на іонний гомеостаз, а саме сприяло нормалізації концентрації Cl^- і Ca^{2+} в крові тварин. Одним з пояснень такого результату може бути підвищення концентрації стрес-гормонів під впливом ХХС, спричиною активацію сигнальних каскадів за цих умов, що корелює з проведеними раніше дослідженнями [18]. Одержані результати, які демонструють зниження концентрації P у крові після введення даларгіну, заслуговують на особливу увагу, оскільки можуть свідчити про його участь у регуляції енергетичного та мінерального обміну в умовах стресу. Подібний вплив нейропептидів на фосфатно-кальцієвий метаболізм описано в роботах Н. Park та співавт. [23] та S. Amar та співавт. [3], що дозволяє припустити потенційну роль даларгіну в інтенсифікації використання фосфатів для синтезу АТФ — ключового енергетичного носія, необхідного для відновлення порушеного гомеостазу в умовах ХХС [4, 25]. Крім того, з огляду на участь P у формуванні буферних систем крові та підтримці цілісності клітинних мембран за даними I. Shaw та співавт. [31] та Y. Posor та співавт. [26], його зменшення може свідчити про активацію адаптативних клітинних механізмів. Також це може бути пов'язано з активацією проліферації гемопоетичних стовбурових і прогениторних клітин (HSPC) та їх мобілізації, як показано у дослідженні M. Adamiak та співавт. [2]. Тобто зменшення вмісту P у поєднанні зі збільшенням кількості популяцій лейкоцитів у крові піддослідних тварин після введення даларгіну може свідчити про активацію метаболічної відповіді організму. Даний факт узгоджується з дослідженнями M.Z. Ratajczak та співавт. [27] та X. Zhang та співавт. [40], у яких доведено, що

підвищене утворення АТФ в умовах стресу стимулює лейкоцитоз і сприяє збільшенню кількості імунних клітин у периферичній крові.

З урахуванням викладеного на особливу увагу заслуговують результати щодо змін тромбоцитарної ланки. За умов ХХС спостерігалось зменшення кількості тромбоцитів, ймовірно, внаслідок температурно-індукованого апоптозу при поверненні до нормотермії [36]. Натомість введення даларгіну супроводжувалося значущим збільшенням кількості тромбоцитів, що може свідчити про активацію симпатичної нервової системи й мобілізацію клітин із депо, а також про стимуляцію кровотворення як складової адаптивної відповіді організму на холододовий стрес.

Отже, введення даларгіну в умовах ХХС впливає на іонний і кровотворний гомеостаз піддослідних тварин. Отримані результати підтверджують один із механізмів дії даларгіну, який полягає в його здатності стабілізувати мембрани клітин, що сприяє нормалізації функціонування іонних каналів і транспортерів. Завдяки цьому підтримується баланс таких іонів, як K^+ , Na^+ і Ca^{2+} , між внутрішнім середовищем клітини та зовнішнім середовищем, що є критично важливим для нормальної клітинної функції та загального гомеостазу організму в умовах ХХС. Дослідження змін іонного балансу та гематологічних показників під впливом холододового стресу й даларгіну є важливими для розуміння механізмів корекції адапцій-

ного потенціалу організму в умовах тривалого охолодження. У подальших дослідженнях доцільно вивчити дозозалежність і тривалість ефектів даларгіну на іонний і кровотворний гомеостаз, механізми його впливу на мембранні іонні канали та транспортні білки, можливе посилення ефекту у поєднанні з іншими нейропептидами, а також довгострокові наслідки корекції електролітного та гематологічного балансу для функціонального стану організму в умовах хронічного холододового стресу.

ВИСНОВКИ

1. За умов ХХС порівняно з інтактними тваринами спостерігається перерозподіл типів лейкоцитів, який характеризується збільшенням відсотка паличкоядерних нейтрофілів у 2,8 раза, зменшенням відсотка сегментоядерних нейтрофілів у 1,2 раза, лімфоцитів і моноцитів — у 2 раза, та тромбоцитів — у 1,1 раза. Введення даларгіну значуще підвищує концентрацію тромбоцитів у 1,3 раза, нормалізує лейкоцитарний профіль, водночас сприяючи збільшенню відсотка сегментоядерних нейтрофілів у 1,4 раза.

2. В умовах ХХС концентрація K^+ , Ca^{2+} та Cl^- у крові збільшується у середньому в 1,3 раза порівняно з інтактною групою. Введення даларгіну значуще зменшує їх концентрацію, в середньому в 1,2 рази а Р — в середньому у 2 рази порівняно з контрольними і інтактними значеннями.

ЛІТЕРАТУРА

1. Семенова Я-МО. Вплив помірного холододового стресу на перерозподіл клітин імунної системи. Чоловіче здоров'я, гендерна та психосоматична медицина. 2019; (1): 33—42.
2. Adamiak M, Bujko K, Cymer M, et al. Novel evidence that extracellular nucleotides and purinergic signaling induce innate immunity-mediated mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells. *Leukemia*. 2018; 32: 1920—31.
3. Amar S, Kitabgi P, Vincent JP. Activation of phosphatidylinositol turnover by neurotensin receptors in the human colonic adenocarcinoma cell line HT29. *FEBS Lett*. 1986; 201(1): 31—6.
4. Brautbar N, Carpenter C, Baczynski R, et al. Impaired energy metabolism in skeletal muscle during phosphate depletion. *Kidney Int*. 1983; 24(1): 53—7.
5. Cairns SP. Potassium effects on skeletal muscle contraction: are potassium-metabolic interactions required for fatigue? *Eur J Appl Physiol*. 2023;123(11): 2341—3.
6. Costa MHG, de Soure AM, Cabral JMS, et al. Hematopoietic niche — exploring biomimetic cues to improve the functionality of hematopoietic stem/progenitor cells. *Biotechnol J* [Internet]. 2017 Nov 27 [cited 2025 Feb 25]; 13(2): 1700088. Available from: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/biot.201700088>
7. Fonseca C, Garagarza C, Silva G, et al. Hyperkalemia management: a multidisciplinary expert panel's perspective on the role of new potassium binders. *Heart Fail Rev*. 2024; 30: 271—86.
8. Gao R, Shi L, Guo W, et al. Effects of housing and management systems on the growth, immunity, antioxidation, and related physiological and biochemical indicators of donkeys in cold weather. *Animals* [Internet]. 2022 Sep 10 [cited 2025 Jul 10]; 12(18): 2405. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-2615/12/18/2405>

9. Gao Y, Liu Y, He J, et al. Effects of heat waves and cold spells on blood parameters: a cohort study of blood donors in Tianjin, China. *Environ Health Prev Med* [Internet]. 2024 Apr 15 [cited 2025 Jul 10]; 29: 25. Available from: <https://ehjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12199-024-01091-z>
10. Gulevskyy OK, Moisieieva NM, Gorina OL. Effect of leu-enkephalin (dalargin) on apoptosis and necrosis of leukocytes after cold stress. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2022; 32(1): 14–23.
11. Gulevskyy OK, Moisieieva NM, Gorina OL, et al. Preincubation of L929 line fibroblasts with synthetic leu-enkephalin Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg preserves their proliferative potential under cold stress. *Cytol Genet*. 2022; 56(4): 343–50.
12. Gumz ML, Rabinowitz L, Wingo CS. An integrated view of potassium homeostasis. *N Engl J Med*. 2015; 373(1): 60–72.
13. Hu Y, Liu Y, Li S. Effect of acute cold stress on neuroethology in mice and establishment of its model. *Animals* [Internet]. 2022 Sep 30 [cited 2025 Jul 9]; 12(19): 2671. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-2615/12/19/2671>
14. Lemieux P, Roudier E, Birot O. Angiostatic freeze or angiogenic move? Acute cold stress prevents angiokine secretion from murine myotubes but primes primary endothelial cells for greater migratory capacity. *Front Physiol* [Internet]. 2022 Oct 14 [cited 2025 Jul 9]; 13: 975652. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2022.975652/full>
15. Lomako VV, Pirozhenko LM. Blood leukocytes in young and aged rats after whole body cryostimulation (–120 °C). *Probl Cryobiol Cryomed*. 2021; 31(1): 23–37.
16. Marunaka Y. Physiological roles of chloride ions in bodily and cellular functions. *J Physiol Sci*. 2023 Nov 15 [cited 2025 Jul 9]; 73(1): 31. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12576-022-00833-6>
17. Moisieieva N, Gorina O, Akhatova Yu. Effect of dalargin on apoptosis of L929 fibroblasts during cold stress. *CryoLetters*. 2023; 44(6): 352–9.
18. Moisieieva N, Myrnyi V, Akhatova Y, Gorina O. Correction of hormonal disorders by chronic cold stress using synthetic neuropeptide. In: *Collection of Scientific Papers LOGOS (May 24, 2024; Zurich, Switzerland)* [Internet]. 2024 Jun 7 [cited 2025 Mar 11]; 121–3. Available from: <https://archive.logos-science.com/index.php/conference-proceedings/article/view/1961>
19. Mu S, Xia Y, Wu Q, et al. Response of bone metabolism markers to ice swimming in regular practitioners. *Front Physiol* [Internet]. 2021 Sep 14 [cited 2025 Jul 9]; 12: 731523. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2021.731523/full>
20. Namimatsu A, Go K, Hata T. Regulatory effect of neurotrophin on nasal mucosal hypersensitivity in guinea pigs caused by SART (intermittent exposure to cold) stress. *Jpn J Pharmacol*. 1992; 59(3): 371–7.
21. Nunes-Hasler P, Kaba M, Demaurex N. Molecular mechanisms of calcium signaling during phagocytosis. In: *Niedergang F, editor. Molecular and Cellular Biology of Phagocytosis* [Internet]. Cham: Springer; 2020 Feb 13 [cited 2025 Feb 28]. p. 103–28. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-40406-2_7
22. Nunes P, Demaurex N. The role of calcium signaling in phagocytosis. *J Leukoc Biol*. 2010; 88(1): 57–68.
23. Park HJ, Kim MK, Kim Y, et al. Neuromedin B modulates phosphate-induced vascular calcification. *BMB Rep*. 2021; 54(11): 569–74.
24. Park S, Lee MS, Jung S, et al. Echinacea purpurea protects against restraint stress-induced immunosuppression in BALB/c mice. *J Med Food*. 2018; (3): 261–8.
25. Porter C, Sousse LE, Irick R, et al. Interactions of phosphate metabolism with serious injury, including burns. *JBMR Plus*. 2017; 1(2): 59–65.
26. Posor Y, Jang W, Haucke V. Phosphoinositides as membrane organizers. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2022; 19(12): 797–816.
27. Ratajczak MZ, Kucia M. Hematopoiesis and innate immunity: an inseparable couple for good and bad times, bound together by a hormetic relationship. *Leukemia*. 2021; 36(1): 23–32.
28. Raut SK, Singh K, Sanghvi S, et al. Chloride ions in health and disease. *Biosci Rep* [Internet]. 2024 May 1 [cited 2025 Mar 5]; 44(5): BSR20240029. Available from: <https://portlandpress.com/bioscirep/article/44/5/BSR20240029/234283/Chloride-ions-in-health-and-disease>
29. Rodan AR. Potassium: friend or foe? *Pediatr Nephrol*. 2017; 32(7): 1109–21.
30. Saeki K, Obayashi K, Kurumatani N. Platelet count and indoor cold exposure among elderly people: a cross-sectional analysis of the HEIJO-KYO study. *J Epidemiol*. 2017; 27(12): 562–7.
31. Haw I, Gregory K. Acid-base balance: a review of normal physiology. *BJA Educ*. 2022; (10): 396–401.
32. Shi H, Yao R, Lian S, et al. Regulating glycolysis, the TLR4 signal pathway and expression of RBM3 in mouse liver in response to acute cold exposure. *Stress*. 2019; 22(3): 366–76.
33. Shrimanker I, Bhattarai S. Electrolytes. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; Updated 2023 Jul 24 [cited 2025 Mar 31]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541123/>

34. Teleglow A, Romanovski V, Skowron B, et al. The effect of extreme cold on complete blood count and biochemical indicators: a case study. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2021 Dec 29 [cited 2025 Jul 9]; 19(1): 424. Available from: <https://www.mdpi.com/1660-4601/19/1/424>
35. Timerga A, Kelta E, Kenenisa C, et al. Serum electrolytes disorder and its associated factors among adults admitted with metabolic syndrome in Jimma Medical Center, South West Ethiopia: Facility based cross-sectional study. *PLOS ONE* [Internet]. 2020 Nov 11 [cited 2025 Apr 4]; 15(11):e0241486. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0241486>
36. Van Poucke S, Stevens K, Marcus AE, et al. Hypothermia: effects on platelet function and hemostasis. *Thrombosis*. 2014 May 5 [cited 2025 Jul 9]; 12(1):31. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/thromb/2014/105828/>
37. Xu B, Lang Lmin, Li SZ, et al. Cortisol excess-mediated mitochondrial damage induced hippocampal neuronal apoptosis in mice following cold exposure. *Cells* [Internet]. 2019 Jun 12 [cited 2025 Jul 9]; 8(6): 612. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4409/8/6/612>
38. Xu B, Zang S, Li SZ, et al. HMGB1-mediated differential response on hippocampal neurotransmitter disorder and neuroinflammation in adolescent male and female mice following cold exposure. *Brain Behav Immun*. 2019; 76: 223–35.
39. Zhang S, Xin Y, Yang Y, et al. The polarization of macrophages regulated by KCNG3 via the activation of ASK1 mediated by potassium ion efflux. *Cell Biol Int* [Internet]. 2025 Apr 21 [cited 2025 Jun 9]; 49(7): 810–23. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cbin.70022>
40. Zhang X, Zink F, Hezel F, et al. Metabolic substrate utilization in stress-induced immune cells. *Intensive Care Med Exp* [Internet]. 2020 Dec 18 [cited 2025 Jul 9]; 8(Suppl 1): 28. Available from: <https://icm-experimental.springeropen.com/articles/10.1186/s40635-020-00316-0>

Отримано 18.03.2025

Прийнято до друку 11.09.2025

V.H. Myrnyi *, N.M. Moisieieva

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv

* vlad_mirnyi@ukr.net

EFFECT OF CHRONIC COLD STRESS AND DALARGIN ON BLOOD PARAMETERS IN GUINEA PIGS

This study investigates the effects of the synthetic neuropeptide dalargin on hematological parameters and blood electrolyte homeostasis in guinea pigs under conditions of chronic cold stress (CCS) at 4 °C over a five-day period. It was found that CCS led to a reduction in platelet count and disruption of the leukocyte profile, including an increase in band neutrophils accompanied by a decrease in segmented neutrophils, lymphocytes, and monocytes, as well as a decline in the adaptation index. Simultaneously, elevated concentrations of calcium, potassium, and chloride were observed, indicating disturbances in electrolyte balance and ionic homeostasis. Dalargin administration prevented these changes, promoting the restoration of physiological leukocyte ratios, increasing platelet counts, and normalizing key plasma electrolyte concentrations. Moreover, an increase in the adaptation index was recorded, indicating activation of the hematopoietic system and mobilization of the organism's adaptive potential. These findings support the potential of dalargin as an effective agent for maintaining blood system integrity, electrolyte balance, and adaptive capacity under CCS conditions.

Key words: adaptation, cold stress, cryobiology, hypothermia, dalargin, electrolyte balance, hematological parameters.