

На правах рукописи

ОРЕХОВА Наталья Александровна

**АНАЛИЗ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ГОМЕОСТАЗА ГРЫЗУНОВ
РАЗНОЙ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ СПЕЦИАЛИЗАЦИИ,
ОБИТАЮЩИХ В РАДИОАКТИВНОЙ СРЕДЕ**

03.00.16 – экология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Екатеринбург – 2010

Работа выполнена в Институте экологии растений и животных
Уральского отделения Российской академии наук

Научный руководитель кандидат биологических наук
Расина Лариса Николаевна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Тестов Борис Викторович

доктор биологических наук
Васильева Ирина Антоновна

Ведущая организация **Институт биологии Коми НЦ УрО РАН**

Защита состоится 16 марта 2010 г. в 11 часов на заседании
диссертационного совета Д 004.005.01 при Институте экологии растений
и животных УрО РАН по адресу:

620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202

Факс: 8 (343) 260-82-56; адрес сайта Института: <http://www.ipae.uran.ru>

E-mail: dissovet@ipae.uran.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института экологии
растений и животных УрО РАН.

Автореферат разослан «___» _____ 2010 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат биологических наук



Золотарева Н.В.

Введение

Актуальность темы. Комплексный анализ биологических последствий радиоактивного загрязнения окружающей среды включает исследования у разных видов животных особенностей метаболических реакций, обуславливающих возможность адаптации к неблагоприятным условиям.

Общие закономерности антропогенной эволюции животных, в частности, селекция, исследованные при воздействии нерадиоактивных поллютантов (Большаков, Моисеенко, 2009), играют важнейшую роль в микроэволюционных преобразованиях популяции под влиянием хронического облучения. Ряд авторов (О генетических процессах..., 1972; Ильенко, Крапивко, 1989; Новые материалы..., 2002) полагают, что у мелких млекопитающих на радиоактивно загрязненных территориях в ряду поколений развивается генетическая радиоадаптация, другие исследователи (Тестов, 1993) подчеркивают роль физиологической адаптации, развивающейся в онтогенезе в рамках каждого поколения.

К настоящему времени в зоне Восточно-Уральского радиоактивного следа – ВУРСа (Радиационная авария..., 1989) исследуются популяционные и морфофизиологические характеристики мелких млекопитающих (Популяции млекопитающих..., 1993; Тестов, 1998; Жизнеспособность популяций..., 2000; Мамина, Жигальский, 2000; Тарасов, 2000; Чибиряк и др., 2005; Григоркина и др., 2008), феногенетические и цитогенетические особенности (Васильев и др., 1996; Гилева, 2002; Феногенетический анализ..., 2003; Ялковская, Григоркина, 2009), иммунологические и гематологические изменения (Тарахтий, Кардонина, 1995; Любашевский, Пашнина, 2002).

Эколого-биохимический анализ метаболизма (Кудяшева, 1996; Биохимические механизмы..., 1997; Бурлакова и др., 2001; Шевченко, 2001; Устинова, Рябинин, 2003, 2005; Биологические эффекты..., 2004) актуален как базис для расшифровки механизмов адаптации организмов и популяций к хроническому облучению. Исследования на экологически различающихся видах грызунов, позволяют анализировать эффекты хронического облучения в зависимости от функционально-метаболических особенностей вида и степени радиоактивного загрязнения среды обитания.

Цель работы: изучить особенности метаболического гомеостаза в популяциях трех видов мелких грызунов разной экологической специализации,

определяющие стратегии физиологической адаптации к радионуклидному загрязнению среды обитания.

Задачи исследования:

1. Изучить исходный уровень метаболических процессов в организмах трех видов мелких грызунов – малой лесной мыши, красной полевки, обыкновенной слепушонки, обитающих на контрольных фоновых участках вне зоны радиоактивного загрязнения.
2. Определить особенности метаболических реакций изучаемых видов грызунов на обитание в зоне ВУРСа.
3. Оценить значимость исходного уровня метаболических процессов в формировании адаптационной стратегии организмов к хроническому облучению.
4. Выявить взаимосвязь метаболических изменений с концентрацией ^{90}Sr в костной ткани, полем животных, годом их отлова, временем содержания в виварии.

Научная новизна. Сформирован комплекс биохимических показателей для оценки метаболического гомеостаза, позволяющий впервые исследовать на клеточно-тканевом и организменном уровнях стратегии физиологической адаптации к неблагоприятным факторам среды обитания.

Впервые проведен сравнительный анализ исходного уровня основных составляющих метаболического гомеостаза (липидного, углеводного, белкового обмена и окислительных, энергообразующих, процессов) у видов разной экологической специализации – малой лесной мыши, красной полевки и обыкновенной слепушонки.

Установлены особенности метаболических реакций трех видов мелких грызунов разной экологической специализации на обитание в зоне ВУРСа.

У обыкновенной слепушонки впервые изучены метаболические реакции на обитание в зоне ВУРСа.

Впервые показана динамика метаболического гомеостаза мелких грызунов из зоны ВУРСа в зависимости от времени разобщения с радиоактивной средой (при содержании отловленных животных в виварии).

Впервые определен вклад исходных параметров метаболизма и концентрации ^{90}Sr в костной ткани мелких грызунов в формирование стратегии физиологической адаптации к радиоактивной среде обитания.

Теоретическое и практическое значение. Выявление различий исходного уровня метаболизма у мелких грызунов разной экологической специализации и особенностей метаболических реакций на обитание в зоне ВУРСа являются вкладом в комплексный анализ биологических последствий радиоактивного загрязнения окружающей среды и механизмов адаптации к неблагоприятным факторам. Сформированный комплекс биохимических показателей может быть использован для тестирования функционально-метаболических изменений при хроническом радиационном воздействии и прогнозирования путей и стратегий адаптационных процессов. Материалы диссертации используются в Институте органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН для изучения механизмов действия вновь синтезированных медикаментозных средств коррекции физиологического состояния облученных млекопитающих и человека.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Радионуклидное загрязнение среды обитания в зоне ВУРСа вызывает существенные сдвиги показателей метаболического гомеостаза у грызунов разной экологической специализации (малая лесная мышь, красная полевка, обыкновенная слепушонка).
2. Особенности метаболических реакций трех изучаемых видов грызунов на обитание в радиоактивной среде базируются на различиях в исходном уровне метаболизма, концентрации ^{90}Sr в костной ткани животных и формируют стратегии физиологической адаптации.
3. Выраженные метаболические сдвиги, являющиеся лишь частью морфофункциональных изменений при данном уровне радионуклидной нагрузки, недостаточны для изменения сформированных в процессе эволюции видовых особенностей гомеостаза.

Апробация работы. Результаты исследований были представлены на Всероссийских конференциях молодых ученых в ИЭРиЖ УрО РАН в 2002–2008 гг.; на международной научной конференции «Экологические проблемы горных территорий» (Екатеринбург, 2002); III международном симпозиуме «Механизмы действия сверхмалых доз» (Москва, 2002); III съезде физиологов Урала «Актуальные проблемы иммунофизиологии» (Екатеринбург, 2006); IV молодежной научно-практической конференции «Ядерно-промышленный комплекс Урала: проблемы и перспективы» (Озерск, 2007); международной

конференции «Радиоэкология: итоги, современное состояние и перспективы» (Москва, 2008); IV съезде физиологов Урала (с международным участием) (Екатеринбург, 2009); III международной конференции «Радиоактивность и радиоактивные элементы в среде обитания человека» (Томск, 2009); международной конференции «Биологические эффекты малых доз ионизирующей радиации и радиоактивное загрязнение среды» (Сыктывкар, 2009).

Личный вклад автора. При непосредственном участии автора собран и обработан весь необходимый материал, проведена статистическая обработка данных и проанализированы полученные результаты, осуществлена подготовка к печати научных работ, освещающих итоги проведенных исследований.

Публикации. По теме диссертации было опубликовано 18 печатных работ, в том числе 5 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Объём и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, четырех глав, выводов и списка литературы, включающего 494 наименования, из которых 65 на иностранных языках. Объем работы составляет 172 страницы, содержит 16 таблиц и 27 рисунков.

Глава 1. Исследования приспособительных реакций у млекопитающих к радионуклидному загрязнению среды обитания (литературный обзор)

Анализируются механизмы приспособительных реакций организмов и популяций к радионуклидному загрязнению среды обитания. Особое внимание уделено влиянию хронического низкоинтенсивного радиационного воздействия на биохимические параметры метаболического гомеостаза.

Глава 2. Материал и методы

2.1 Радиоэкологическая характеристика района исследований.

Наибольший вклад в загрязнение района исследований внесла Кыштымская авария в 1957 г., а также ветровой перенос радиоактивных ила и песка с берегов оз. Карачай в 1967 г., выбросы радионуклидов из организованных источников ПО «Маяк». К 1991 г. загрязнение территории ВУРСа на 99.3 % было обусловлено ^{90}Sr (Заключение комиссии..., 1991).

Отловы мелких грызунов проводились на четырех стационарных участках (рис. 1), расположенных в зоне ВУРСа и сопредельных к ней территориях. Участок «Бердениш» ($55^{\circ}46'$ с.ш., $60^{\circ}52'$ в.д.) расположен в 13

км от эпицентра аварии (рис. 1, т. 1). Плотность загрязнения почвы по ^{90}Sr на участке составляет от 6740 до 16690 кБк/м², ^{137}Cs – от 210 до 700 кБк/м², $^{239,240}\text{Pu}$ – от 33.2 до 62.2 кБк/м²; γ -фон на уровне почвы колеблется от 27 до 76 мкР/ч, β -фон – от 98 до 921 частиц·мин⁻¹·см⁻² (Современное состояние..., 2008; Модоров, 2009). Участок «Метлино» (55°48′ с.ш., 60°00′ в.д.) использовался в качестве контроля, он расположен в 10 км от центральной оси следа, в 2 км к северо-востоку от одноименного поселка (рис. 1, т. 2). Согласно данным указанных выше авторов, плотность загрязнения почвы по ^{90}Sr составляет 43.7 кБк/м², по ^{137}Cs – 20.3 кБк/м²; γ -фон – 12 мкР/ч, β -фон – 12 частиц·мин⁻¹·см⁻².



Рисунок 1 – Карта-схема района исследований

1 – Бердениш, 2 – Метлино (участки отлова малой лесной мыши и красной полевки); 3 – Лежневка, 4 – Аминево (участки отлова обыкновенной слепушонки)

Участок «Лежневка» (55°45′

с.ш., 60°54′ в.д.) находится в 6 км от эпицентра аварии (рис. 1, т. 3). Плотность загрязнения почвы по ^{90}Sr составляет от 23 900 до 39 800 кБк/м², по ^{137}Cs – от 657.7 до 1244.0 кБк/м², по $^{239,240}\text{Pu}$ – от 40.9 до 101.6 кБк/м²; γ -фон на уровне почвы колеблется от 290 до 450 мкР/ч, β -фон – от 2000 до 3000 частиц·мин⁻¹·см⁻² (Тарасов, 2000; Современное состояние..., 2008). Участок «Аминево» (рис. 2, т. 4) использовался в качестве контроля, он не входит в зону влияния ВУРСа и удален от крупных промышленных центров.

2.2 Экологическая характеристика объектов исследования. В разделе рассмотрены систематическое положение, климато-географическое распространение, биотопическая приуроченность, жизненная форма, пищевая специализация, репродуктивная активность, особенности терморегуляции, поведенческих реакций и социальной организации малой лесной мыши (*Apodemus (S.) uralensis* Pall., 1811), красной полевки (*Clethrionomys (Cl.) rutilus* Pall., 1779) и обыкновенной слепушонки (*Ellobius (E.) talpinus* Pall., 1770). Краткая характеристика экологических различий изучаемых видов мелких грызунов представлена основными из них.

Особенность климато-географического распространения: малая лесная мышь – типичный представитель лесной и лесостепной зон юго-западных областей Евразийского континента, красная полевка – лесной, лесотундровой и тундровой зон северной части Евразии, обыкновенная слепушонка – степной, полупустынной и пустынной зон южных областей Евразийского континента (Ивантер, 1975; Громов, Ербаева, 1995; Пантелеев, 1999; Павлинов, 1999).

Специфика образа жизни: малая лесная мышь и красная полевка – активно мигрирующие наземные виды грызунов, с высокими темпами полового созревания, репродукции и относительно низкой продолжительностью жизни, обыкновенная слепушонка – вид, специализированный к подземнороему образу жизни, с низкими темпами полового созревания, репродукции и высокой продолжительностью жизни (Наумов, 1963; Большаков, 1972; Суточная активность..., 1976; Башенина, 1977; Летицкая, 1984; Садыков, 1984; Колчева, 1992; Евдокимов, 2001).

Концентрация ^{90}Sr в костной ткани животных, обитающих на территории ВУРСа: малая лесная мышь – от 89 до 161 Бк/г сырой кости (Тарасов, 2000; Стариченко, 2004; Григоркина и др., 2009); красная полевка – 288 ± 99 Бк/г (Стариченко, 2004); обыкновенная слепушонка – от 225 до 1652 Бк/г (Стариченко, 2002, 2004, 2007).

2.3 Методы отлова, лабораторного содержания и камеральной обработки грызунов. Отлов проводили методом безвозвратного изъятия из популяции с помощью живоловушек (Система мониторинговых..., 2005). Малая лесная мышь и красная полевка отловлены на участках «Бердениш» и «Метлино» в 2002–2008 гг., обыкновенная слепушонка – на участках «Лежневка» и «Аmineво» в 2001 г. В виварии диких грызунов содержали согласно опубликованным рекомендациям (Покровский, Большаков, 1979). Отловленных грызунов подвергали первичной камеральной обработке, определяя вес животного и стандартные промеры длины тела, хвоста, ступни, учитывая степень развития генеративных органов (Шварц и др., 1968). Общее количество зверьков в эксперименте составило 149 особей, из них малая лесная мышь – 82 особи (45 – контроль, 37– ВУРС), красная полевка – 34 (23 – контроль, 11– ВУРС), обыкновенная слепушонка – 37 особей (15– контроль, 18 – ВУРС). Однородность выборки по возрастному и репродуктивному статусу сформировали, используя функционально-онтогенетический подход (Оленев, 2002, 2004), и представили неполовозрелыми сеголетками. Отлов

обыкновенной слепушонки, определение возраста и репродуктивного статуса проведен сотрудниками ИЭРиЖ УрО РАН канд. биол. наук Н.Г. Евдокимовым и канд. биол. наук Н.В. Синевой.

2.4 Биохимические методы исследования метаболического гомеостаза:

- углеводный обмен оценивали по содержанию гликогена печени, концентрации глюкозы в плазме крови, активности глюкозофосфатизомеразы в эритроцитах периферической крови;
- липидный обмен – путем определения концентрации общих липидов, холестерина и малонового диальдегида (МДА), как продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ), в тканях печени, надпочечников, миокарда и плазме периферической крови;
- белковый обмен изучали по содержанию общего белка и белка ядерной, митохондриальной и постмитохондриальной фракций в тканях печени, надпочечников, миокарда, головного мозга, селезенки и плазме крови;
- окислительные, энергообразующие, процессы определяли на основании активности цитохромоксидазы в митохондриях печени, миокарда и головного мозга;
- про- и антиоксидантные процессы исследовали путем определения концентрации МДА и активности каталазы в митохондриях печени, миокарда, головного мозга;
- кислород-транспортную функцию эритроцитов изучали по содержанию гемоглобина и метгемоглобина, по активности каталазы в эритроцитах периферической крови с учетом их численности;
- функциональную активность генома клеток определяли на основании отношений ДНК/общий белок и РНК/ДНК в печени и селезенке.

Использовано 20 методов, от 16 до 45 показателей для каждой особи. Животных декапитировали, плазму крови и эритроциты получали центрифугированием. Количество эритроцитов в периферической крови подсчитывали в камере Горяева (Лабораторные методы..., 1987). Органы взвешивали, гомогенизировали в трис-HCl буферном растворе (0.025моль/л; рН 7.4) (Современные методы ..., 1977). Гликоген печени выделяли путем щелочного гидролиза (Davidson, Berliner, 1974). Экстракцию общих липидов и осаждение тканевого белка проводили по методу J. Folch et al. (1957) в модификации М. Кейтса (1975). Нуклеиновые кислоты выделяли путем

осаждения кислотонерастворимой фракции, МДА – обработкой 17 % - ным раствором трихлоруксусной кислоты (Современные методы ..., 1977). Субклеточные фракции получали дифференциальным центрифугированием гомогената ткани по методу С.W.Schneider (1948) в модификации Л.А. Романовой и И.Д. Стальной (Современные методы..., 1977).

Количественное определение показателей проводили фотоколориметрическими, спектрометрическими и титрометрическими методами (Асатиани, 1956; Биохимические методы..., 1969; Bradford, 1976; Современные методы ..., 1977; Метод определения..., 1988).

2.5 Методы статистического анализа данных. Для сравнения выборок по показателям с распределением, не отличающимся от нормального, использовали ковариационный анализ (Афифи, Эйзен, 1982). Многомерное сравнение проводили посредством дискриминантного, кластерного и факторного анализов (Sneath, Sokal, 1973; Прикладная статистика..., 1989; Ким и др., 1998). Взаимосвязь между показателями определяли регрессионным анализом (Айвазян и др., 1985).

Глава 3. Сравнительный анализ метаболического гомеостаза грызунов, обитающих на фоновых участках вне зоны радиоактивного загрязнения

Малая лесная мышь как наиболее многочисленный вид на изучаемых территориях (Популяции млекопитающих..., 1993; Мелкие млекопитающие..., 2007) служила основным объектом исследований метаболического гомеостаза. Среди трех изучаемых видов малая лесная мышь занимает промежуточное положение между красной полевкой и обыкновенной слепушонкой по содержанию основных метаболических резервов организма (гликоген и липиды печени), интенсивности окислительного метаболизма в тканях (концентрация МДА в печени и миокарде, активность глюкозофосфатазимы в эритроцитах), уровню кислород-транспортной функции эритроцитов (содержание гемоглобина и метгемоглобина, активность каталазы). Характерная особенность этого вида – высокое содержание общего и митохондриального белка в тканях печени, миокарда, головного мозга, надпочечников и селезенки животных, что указывает на повышенный уровень пластических, белок-синтезирующих, процессов.

Красная полевка среди трех изучаемых видов отличается наиболее низким уровнем углеводных и липидных резервов организма, что обусловлено их интенсивным использованием в окислительном метаболизме тканей (высокая концентрация глюкозы и общих липидов в плазме крови, МДА – в печени и миокарде, высокая активность глюкозофосфатизомеразы в эритроцитах) и энергообразующих процессах (высокая активность цитохромоксидазы митохондрий печени, миокарда, головного мозга). Уровень белок-синтезирующих процессов, напротив, более низкий. Выявленные особенности характеризуют энергозатратные механизмы приспособительных реакций, направленные прежде всего на высокую функциональную активность клеток и тканей, что согласуется с приуроченностью данного вида к обитанию в суровых климато-географических условиях Севера (Шварц, 1963; Большаков, 1977; Ковальчук, Ястребов, 2003; Млекопитающие Полярного..., 2007).

Для **обыкновенной слепушонки** характерны высокий уровень углеводных и липидных резервов в организме, низкий уровень их потребления в окислительном метаболизме и низкая кислород-транспортная функция крови, снижающая степень кислородного обеспечения тканей (низкая численность эритроцитов и содержание гемоглобина, высокое – метгемоглобина). Это свидетельствует о пониженном уровне энергетического гомеостаза и функциональной активности клеток и тканей. Особенности ресурсосберегающих механизмов приспособительных реакций, обусловлены в первую очередь подземно-колониальным образом жизни этого вида (McNab, 1966; Слоним, 1979; Большаков и др., 1982; Евдокимов, 2001; Новиков, 2007).

Глава 4. Особенности метаболического гомеостаза грызунов, обитающих на территории ВУРСа

4.1 Малая лесная мышь характеризуется следующими особенностями метаболического гомеостаза:

– концентрация глюкозы в плазме крови более низкая, чем в контроле (до 62 %), активность глюкозофосфатизомеразы в эритроцитах более высокая (до 169 %), содержание гликогена печени не изменяется. Эти результаты свидетельствуют об интенсивном использовании в окислительном метаболизме тканей углеводных резервов и их возмещении за счет глюконеогенеза, что направлено на сохранение энергетического потенциала при длительном воздействии неблагоприятных факторов среды обитания (Mayer, Rosen, 1977;

Панин, 1978). Повышение активности лактатдегидрогеназы в печени и миокарде животных из радиоактивно загрязненной среды (Биохимические механизмы..., 1997; Устинова, Рябинин, 2005) также показывает усиление процессов окисления глюкозы в тканях;

– концентрация общих липидов в печени, надпочечниках, плазме крови (табл.1) выше, чем в контроле, в миокарде – ниже, что при выраженном увеличении продуктов ПОЛ (МДА) указывает на возрастание доли липидов в окислительном метаболизме. Более высокая концентрация холестерина при низком отношении белок/липид свидетельствует о возрастании атерогенной фракции липопротеидов периферической крови. Значительные изменения липидного обмена в печени, головном мозге, селезенке были обнаружены у полевок-экономок из районов с повышенной естественной радиоактивностью и аварийной зоны Чернобыльской АЭС (Биохимические механизмы..., 1997; Роль антиоксидантного..., 2000; Состав фосфолипидов..., 2000; Шевченко, 2001; Показатели антиоксидантного..., 2005).

Результаты указывают на повышение уровня липидного и углеводного обмена в организме животных из зоны ВУРСа и характеризуют активацию следующих метаболических функций: стероидогенной – надпочечников, гликоген- и липопротеидсинтезирующей – печени, транспортной – плазмы крови, кислород-транспортной – эритроцитов (Расина, Орехова, 2007).

Таблица 1 – Показатели липидного обмена в тканях малой лесной мыши контрольной и загрязненной радионуклидами (ВУРС) территорий (результаты ковариационного анализа)

Показатели	Скорректированные средние		Средний квадрат		F (1.76)
	Контроль	ВУРС	MS _B	MS _R	
Концентрация общих липидов:					
печень, мг/г сух. массы	62.8	93.0	20137.1	195.10	103.2
надпочечники, мг/г сух. массы	288.4	457.6	658140.4	6137.36	107.2
миокард, мг/г сух. массы	89.5	81.9	1392.6	114.21	12.19
плазма крови, мг%	300.1	463.1	624635.9	7484	83.5
Концентрация МДА:					
печень, нмоль/г сух. массы	58.5	101.2	39267.4	242.97	161.6
надпочечники, нмоль/г сух. массы	2.8*	3.1*	2.9	0.06	50.4
миокард, нмоль/г сух. массы	47.8	53.6	761.2	6.34	119.9
плазма крови, пмоль/мл	3.5*	3.6*	0.2	0.02	12.7
Концентрация холестерина в плазме крови, мкмоль/мл	2.0	3.4	43.5	0.317	137.4
Отношение белок/липид в плазме крови, г/г	36.1	21.8	3934.5	48.27	81.5

Примечания – различия по всем показателям статистически значимы ($p < 0.05$);

*данные логарифмированы

Выявленные функционально-метаболические изменения в условиях ВУРСа можно отнести к хронической форме неспецифической адаптационной реакции, направленной через мобилизацию стресс-реализующей гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы на формирование резистентности организма (Регуляция энергетического..., 1978; Панин, 1983; Меерсон, 1981).

Уровень окислительных, энергообразующих, процессов в тканях животных из зоны ВУРСа, более высокий, чем в контроле, судя по активации цитохромоксидазы в митохондриях печени, миокарда и головного мозга (рис. 2), более высокое содержание ПОЛ (МДА) при сохранении уровня антиоксидантной защиты – активности каталазы (табл. 2), характеризует возросшее использование в окислительных циклах энергоемких субстратов – липидов и сукцината (Владимиров и др., 1966; Osmundsen et al., 1991; Виноградов, Гривенникова, 2005).

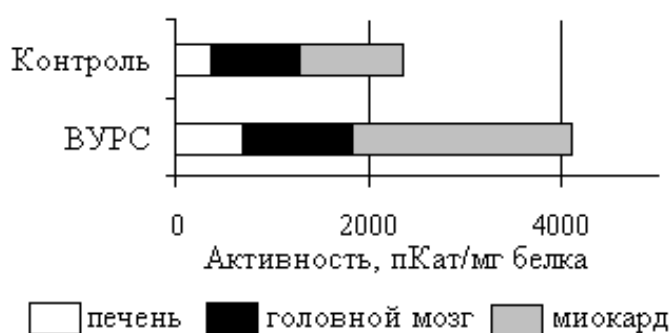


Рисунок 2 – Активность цитохромоксидазы в митохондриях малой лесной мыши на контрольной и загрязненной радионуклидами (ВУРС) территориях.

Примечание – на рис. 2-5 различия по всем показателям статистически значимы при $p < 0.05$

Таблица 2 – Состояние про-антиоксидантных систем в митохондриях малой лесной мыши на контрольной и загрязненной радионуклидами (ВУРС) территориях (результаты ковариационного анализа)

Показатели	Скорректированные средние		Средний квадрат		F (1.76)
	Контроль	ВУРС	MS _B	MS _R	
Содержание МДА, нмоль/мг белка:					
головной мозг	1.29	1.62	2.02	0.03	73.2
миокард	0.26	0.51	1.21	0.01	115.9
Активность каталазы, мкКат/мг белка:					
головной мозг	42.14	42.27	0.31	58.121	0.0
миокард	26.76	30.23	217.95	59.326	3.7

Примечание – полужирным шрифтом выделены статистически значимые ($p < 0.05$) различия

Незначительное повышение содержания общего белка в печени, миокарде, головном мозге и надпочечниках, снижение – в селезенке (рис. 3) определяет в условиях ВУРСа преимущественный расход энергии на

функциональную активность, а не на пластические, белок-синтезирующие, процессы, что характерно (Шапот, 1952; Меерсон, 1963) для напряженной работы физиологических систем.

Снижение отношения ДНК/общий белок и увеличение – РНК/ДНК в печени и селезенке (рис. 4) как показателей функционирования генома, а также уменьшение относительной доли ядерных белков (рис.5), свидетельствуют об ограничении доли пролиферирующих и возрастании доли дифференцированных клеток в тканях, что соответствует процессам ускоренного старения при хроническом облучении низкой мощности (Корогодин, Поликарпов, 1958; Wangenheim, 1976; Волчков, 1992).

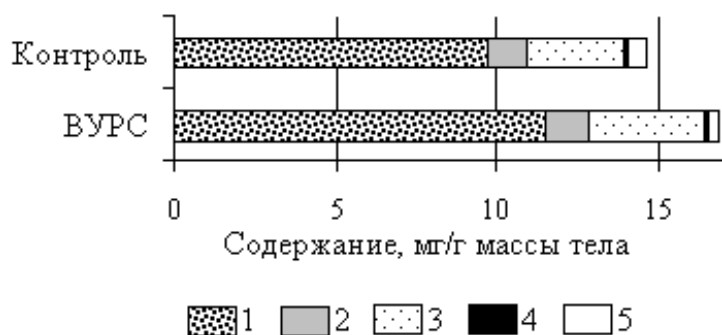


Рисунок 3 – Содержание общего белка в тканях малой лесной мыши, отловленной на контрольной и загрязненной радионуклидами (ВУРС) территориях
 1 – печень, 2 – миокард, 3 – головной мозг, 4 – надпочечники, 5 – селезенка

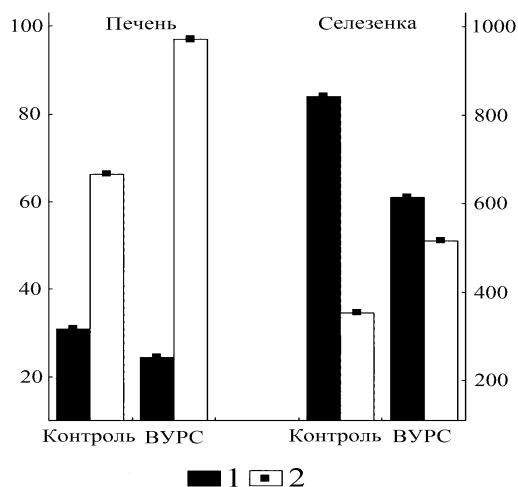


Рисунок 4 – Соотношение показателей ДНК/общий белок (1) и РНК/ДНК (2) в тканях печени и селезенки малой лесной мыши на контрольной и загрязненной радионуклидами (ВУРС) территориях
 Примечание – ДНК/общий белок (мг/г) по левой оси ординат, РНК/ДНК (мг/г) по правой оси ординат

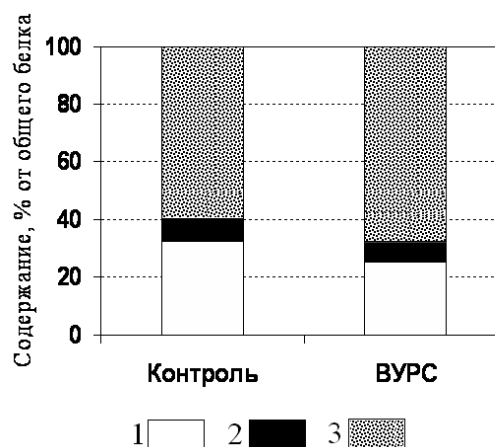


Рисунок 5 – Содержание белка ядерной (1), митохондриальной (2) и постмитохондриальной (3) фракций клеток печени малой лесной мыши на контрольной и загрязненной радионуклидами (ВУРС) территориях

Установленные изменения метаболического гомеостаза у малой лесной мыши из зоны ВУРСа определяют стресс-реализующую стратегию физиологической адаптации с признаками ускоренного старения организма.

Влияние пола животных на метаболические показатели. Реакция самцов на обитание в зоне ВУРСа более выражена, чем у самок, и характеризует их большую чувствительность к радионуклидному загрязнению.

Межгодовая изменчивость метаболического гомеостаза взаимосвязана с динамикой численности популяции. Высокий уровень и более выраженные отклонения параметров метаболического гомеостаза у животных из зоны ВУРСа, относительно контрольного уровня, наблюдаются в годы высокой численности – 2005, 2006 гг.

Метаболический гомеостаз в зависимости от времени содержания животных в виварии в контрольной группе не изменяется в течение 45 сут, у животных из зоны ВУРСа – приближается к контрольным значениям и в соответствии с линиями регрессии через 40–60 сут большинство показателей возвращается к исходному уровню. Динамика изменений согласуется с установленным (Стариченко, Любашевский, 1998) снижением до 25 % суммарной бета-активности в организме мелких грызунов ВУРСа через три недели содержания в виварии. Обратимость ответной реакции после снятия радионуклидной нагрузки указывает на отсутствие генетически закрепленных изменений среди изучаемых нами метаболических показателей и характеризует фенотипическую (индивидуальную) адаптацию малой лесной мыши к условиям среды обитания ВУРСа (Орехова, Расина, 2009).

4.2 Красная полевка характеризуется следующими особенностями метаболической реакции на радиоактивное загрязнение среды обитания:

– концентрация глюкозы в плазме крови и содержание гликогена печени ниже, чем в контроле – 76 % и 80 % соответственно, что свидетельствует о повышенном использовании углеводных резервов в окислительном метаболизме тканей;

– концентрация общих липидов в плазме крови ниже, чем в контроле – 66 %, в печени и миокарде выше – 125 % и 116 %, в надпочечниках – не изменялась, что при сниженной до 48 %, 85 %, 63 % продукции ПОЛ (МДА) в этих органах указывает на ограничение доли липидов в окислительном метаболизме;

– активность цитохромоксидазы в митохондриях печени, миокарда и

головного мозга как показателя уровня окислительных, энергообразующих, процессов в условиях ВУРСа ниже, чем в контроле, и составляет 85 %;

- содержание общего белка в тканях печени, головного мозга, миокарда, надпочечников и селезенки выше – 133 %, 124 %, 124 %, 118 %, 145 % соответственно, что указывает на активацию белок-синтезирующих процессов;
- отношение ДНК/белок в печени и селезенке выше, чем в контроле – 147 % и 169 % соответственно, что при менее выраженных изменениях РНК/ДНК – 118 % и 80 % характеризует увеличение доли пролиферирующих и уменьшение доли дифференцированных клеток в тканях. Морфофункциональные исследования (Материй и др., 2003) также выявили стимуляцию клеточного деления, увеличение относительной доли полиплоидных гепатоцитов и появление менее зрелых клеточных форм в печени полевок-экономок из зоны аварии Чернобыльской АЭС.

Установленные изменения метаболического гомеостаза у красной полевки из зоны ВУРСа определяют гипобиотическую стратегию физиологической адаптации, направленную на замедление процессов старения.

4.3 Обыкновенная слепушонка отличается гетерогенностью уровня и направленности изменений метаболического гомеостаза на основании существенного увеличения стандартных отклонений средних значений большинства показателей. Гетерогенность метаболических реакций обыкновенной слепушонки согласуется прежде всего с установленными В.И. Стариченко (2002, 2004, 2007) существенными межсемейными различиями в концентрации ^{90}Sr в костной ткани животных, которая составляет 627 ± 26 , 847 ± 66 , 1269 ± 27 , 1411 ± 77 Бк/г для четырех семей соответственно.

Метаболические реакции, рассмотренные относительно концентрации радионуклида, характеризуют:

- стресс-реализующую стратегию адаптации при 627 ± 26 и 847 ± 66 Бк/г, направленную на повышение уровня кислородного обеспечения тканей с преимущественным вкладом липидов, как источников функциональной активации, в энергетический гомеостаз;
- гипобиотическую стратегию при ^{90}Sr 1269 ± 27 и 1411 ± 77 Бк/г, основанную на снижении кислородного обеспечения тканей и вклада липидов в энергопродукцию с преимущественной активацией пластических, белок-синтезирующих, процессов и усилением расхода углеводных резервов (Орехова, Расина, 2009).

4.4 Сравнение радиационного воздействия на показатели исходного уровня метаболизма у трех видов мелких грызунов было проведено с помощью дискриминантного и кластерного анализов. Кластерный анализ показал (рис.6) порядок расположения видов по степени выраженности ответной реакции: обыкновенная слепушонка (1269 ± 27 и 1411 ± 77 Бк/г) > красная полевка (288 ± 99 Бк/г) > обыкновенная слепушонка (847 ± 66 Бк/г) > малая лесная мышь (от 89 до 161 Бк/г) \geq обыкновенная слепушонка (627 ± 26 Бк/г). Ответная реакция обыкновенной слепушонки в зависимости от концентрации радионуклида в костной ткани менее выражена, что свидетельствует о меньшей чувствительности этого вида и согласуется с результатами цитогенетических, гематологических и иммунологических исследований (Гилева, 2002; Пашнина, 2003).



Рисунок 6 – Кластерный анализ (UPGMA) девяти групп животных трех видов на основе комплекса метаболических параметров

Несмотря на существенные метаболические сдвиги различия между видами по изученным показателям гомеостаза сохраняются и характеризуют недостаточность радионуклидной нагрузки для нивелирования сформированных в процессе эволюции видовых особенностей.

Выводы

1. У трех экологически различающихся видов мелких грызунов (красной полевки, обыкновенной слепушонки, малой лесной мыши) установлены

различия исходного уровня метаболического гомеостаза, сформировавшиеся в процессе эволюционного развития:

- для малой лесной мыши установлен средний уровень энергозатрат на функциональную активность клеток и тканей при высокой белок-синтезирующей активности;
- для красной полевки характерны выраженные энергозатратные механизмы приспособительных реакций, направленные на высокую функциональную активность клеток и тканей в результате интенсивного использования углеводных и липидных резервов в окислительном метаболизме при низком уровне белок-синтезирующих процессов;
- у обыкновенной слепушонки определены ресурсосберегающие механизмы с ограниченным использованием углеводных и липидных резервов в окислительном метаболизме, ведущие к низким уровням функциональной активности и белок-синтезирующих процессов.

2. Выявленные особенности метаболического гомеостаза изучаемых видов грызунов в зоне ВУРСа базируются на исходном уровне метаболизма и влияют на формирование стратегий физиологической адаптации к радионуклидному загрязнению среды:

- для малой лесной мыши на базе исходно высокого уровня метаболических резервов и низкой напряженности функционирования клеточно-тканевых систем формируется стресс-реализующая стратегия адаптации с увеличением вклада липидов в окислительные, энергообразующие, процессы и повышением функционирования клеток и тканей;
- для красной полевки на базе исходно низкого уровня метаболических резервов и белок-синтезирующих процессов, высокой напряженности функционирования клеточно-тканевых систем формируется гипобиотическая стратегия с ограничением вклада липидов в окислительные, энергообразующие, процессы и снижением функциональной активности;
- для обыкновенной слепушонки характерен более широкий диапазон метаболических реакций на обитание в зоне ВУРСа с признаками гипобиотической, как у красной полевки, стратегии физиологической адаптации и стресс-реализующей, как у малой лесной мыши.

3. Установлена зависимость стратегий физиологической адаптации от концентрации ^{90}Sr у одного вида (обыкновенная слепушонка), что исключает влияние различий в исходном уровне метаболизма. Более низкая концентрация

^{90}Sr определила стресс-реализующую стратегию, более высокая концентрация – гипобиотическую.

4. Показана зависимость выраженности ответной метаболической реакции на радионуклидное загрязнение от пола, года отлова животных и их численности (малая лесная мышь), реакция показателей более выражена у самцов, а также в годы высокой численности (2005, 2006 гг.).

5. Снятие радионуклидной нагрузки в результате содержания животных в виварии (малая лесная мышь) приводит исследованные показатели метаболического гомеостаза к исходному уровню, что указывает на отсутствие генетически закрепленных изменений и характеризует фенотипическую составляющую адаптационного процесса.

6. Выраженные метаболические сдвиги, являющиеся лишь частью морфофункциональных изменений при данном уровне радионуклидной нагрузки, недостаточны для изменения сформированных в процессе эволюции видовых особенностей гомеостаза.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. Расина Л.Н. Показатели перекисного окисления липидов и систем его регуляции в тканях *Ellobius talpinus* Pall, обитающей на территории Восточно-уральского радиоактивного следа / Л.Н. Расина, **Н.А. Орехова** // Радиационная биология. Радиоэкология. 2003. Т. 43, № 2. С.206-209.

2. Расина Л.Н. Окислительный метаболизм как характеристика физиологической адаптации к низкоинтенсивному радиационному воздействию / Л.Н. Расина, **Н.А. Орехова** // Вестн. Урал. мед. акад. науки. 2006. № 3- 2(15). С. 89-90.

3. Расина Л.Н. Метаболический гомеостаз как характеристика адаптации организма к длительному низкоинтенсивному радиационному воздействию / Л.Н. Расина, **Н.А. Орехова** // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. 2008. № 3 (23). С. 138 – 139.

4. Расина Л.Н. Метаболический гомеостаз мелких млекопитающих в условиях Восточно-Уральского радиоактивного следа / Л.Н. Расина, **Н.А. Орехова** // Радиационная биология. Радиоэкология. 2009. Т. 49, № 2. С. 238-245.

5. **Орехова Н.А.** Стратегии физиологической адаптации мелких млекопитающих на территории Восточно-Уральского радиоактивного следа / Н.А. Орехова, Л.Н. Расина // Вестн. Урал. мед. акад. науки. 2009. № 2. С. 146-147.

Статьи и тезисы, опубликованные в других изданиях

6. Расина Л.Н. Биохимические характеристики метаболических процессов у *Apodemus (Sylvaemus) uralensis* в условиях ВУРСа / Л.Н. Расина, **Н.А. Орехова** // Вопр. радиац. безопасности. 2007. Спец. вып. С. 79-90.

7. **Орехова Н.А.** Структура метаболических процессов в механизмах радиорезистентности *Apodemus (S) uralensis* и *Clethrionomys rutilus* / Н.А. Орехова, Л.Н. Расина // Биосфера Земли: прошлое, настоящее, будущее: материалы конф. молодых ученых. Екатеринбург: Голицынский, 2008. С. 176-180.

8. **Орехова Н.А.** Механизмы адаптационных процессов у малой лесной мыши на территории ВУРСа / Н.А. Орехова, Л.Н. Расина // Биологические эффекты малых доз ионизирующей радиации и радиоактивное загрязнение среды: материалы междунар. конф. Сыктывкар, 2009. С. 91- 93.

9. **Орехова Н.А.** Метаболические механизмы устойчивости мелких млекопитающих на территории Восточно-Уральского радиоактивного следа (ВУРС) / Н.А. Орехова, Л.Н. Расина // Радиоактивность и радиоактивные элементы в среде обитания человека: материалы III междунар. конф. Томск: SST, 2009.С. 425-428.

Подписано в печать 15.01.2010 г.

Формат 60×84 1/16

Усл.п.л. 1,0

Тираж 120 экз.