

ОЧЕРКИ  
ПО  
ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ  
ДИАГНОСТИКЕ

СВЕРДЛОВСК



ОЧЕРКИ  
ПО ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ  
ДИАГНОСТИКЕ

СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ

---

УДК 574.502.591

**Очерки по экологической диагностике:** Сб. науч. трудов. Свердловск: УрО АН СССР, 1991. — ISBN—5—7691—0114—8.

Рассматриваются актуальные теоретические и прикладные вопросы экодиагностики состояния природных территориальных комплексов. Экодиагностика необходима для определения устойчивости экосистем к антропогенным нагрузкам и составляет необходимый этап прогноза и выработки рекомендаций по оптимизации окружающей среды. В статьях обсуждаются методические, методологические и социальные аспекты вопроса, особенности поражения почвенной флоры и фауны, гидробионтов, наземных растений и биогеоценозов в целом. Ряд работ посвящен экодиагностике популяций и отдельных особей мелких млекопитающих. Описаны диагностически существенные и гигиенически значимые сдвиги в их состоянии. Значительное внимание уделено генетическим оценкам. Исследуются тонкие биохимические изменения, приводящие к диагностически важным и относительно легко определяемым визуально поражениям. В той или иной мере в каждой публикации приводится феноменология, а также рассматривается генез различий показателей в норме и при патологии.

Материалы сборника рассчитаны на экологов, токсикологов и специалистов в области проблем экологизации общественного сознания.

Ответственный редактор  
кандидат биологических наук **В. И. Стариченко**

Рецензенты  
кандидат биологических наук **О. Ф. Садыков**  
доктор медицинских наук **В. И. Токарь**

*В. И. СТАРИЧЕНКО, И. А. ВАСИЛЬЕВА, А. Г. ВАСИЛЬЕВ*

### **К ОЦЕНКЕ ГЕНЕЗА ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ СКЕЛЕТА МЫШЕЙ**

Признание важности проблемы онтогенетической изменчивости организмов — давно утвердившийся в биологии факт, однако причины ее возникновения до сих пор неясны. Много неизученного, во-первых, в механизме реализации наследственной информации в течение онтогенеза, во-вторых, в путях реализации ненаследственной информации, получаемой организмом непосредственно от среды, в которой он существует [4]. Оценка соотношения наследственной и ненаследственной изменчивости в онтогенезе крайне затруднена, поскольку во многом остается неясным отношение внутренних и внешних факторов, под влиянием которых складывается развитие организма. Влияние экзогенных факторов, а также сложные взаимодействия генных продуктов приводят к фенотипической вариации признаков.

В экспериментах на животных и при наблюдениях за людьми установлено, что параметры, характеризующие костную систему и весь скелет в целом, подвержены индивидуальным вариациям, однако степень их проявления может быть неодинакова у разных индивидов. Изменчивости подвержены как морфологические структуры, так и метаболические реакции скелета [14, 17], в совокупности определяющие скелетный метаболизм.

Поскольку фенотипические особенности (в том числе и реактивность минерального обмена скелета) могут быть обусловлены как генотипически, так и возникать в процессе онтогенеза под влиянием воздействий различных факторов среды, существенный интерес представляет генез скелетных и регуляторных структур и процессов, ответственных за реактивность костной ткани.

В настоящей работе сделана попытка оценить вклад генотипической и средовой составляющих в изменчивость некоторых фенотипических признаков скелета. При этом допускается, что высокоинбредные линии животных, имеющие очень близкий генотип, приближенно могут быть аппроксимированы генотипу отдельной особи.

## Материал и методика

Работа проведена на лабораторных мышах разных линий. Изучали костный материал (череп, бедренные кости, лопатки), полученный от 45-дневных животных, умерщвленных при помощи эфирного наркоза. Определяли массу тела, бедренных костей и лопаток. Для облегчения изъятия костей производили непродолжительную обработку тушки текучим паром. Проводили промеры отдельных участков черепа (длины верхнего ряда коренных зубов, лобной кости, резцового отверстия).

Изучали встречаемость 26 альтернативных неметрических (пороговых) признаков скелета (рис. 1) [16]. Это в основном мелкие качественные вариации в строении скелета (наличие или отсутствие отверстий для кровеносных сосудов и нервов, дополнительные костные элементы, выпадение фрагментов кости и т. д.). Большая часть признаков относится к черепу [19, 20]. В ряде работ было показано, что генетический вклад в их изменчивость достаточно велик [25, 26]. По совокупности частот встречаемости этих признаков рассчитывали фенетические дистанции между сравниваемыми группами животных. В данной работе использован статистический метод их определения по Хартману [24].

Проведены две серии исследований. В первой в целях определения генетической обусловленности особенностей строения скелета сравнивали четыре группы лабораторных мышей, из которых три линейные (*CBA*, *BALB/c*, *C57BL/6*) и одна группа — белые мыши стадного разведения — нелинейные. Исследовано 160 животных летней генерации (по 40 в группе), содержащихся в обычных условиях вивария.

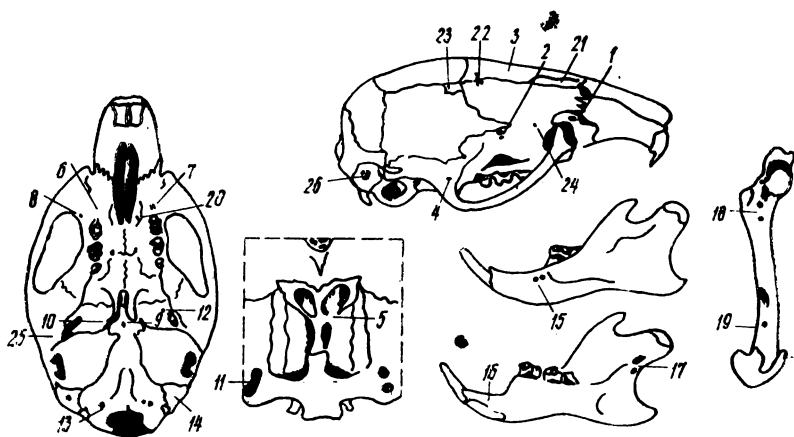


Рис. 1. Расположение неметрических признаков на черепе и бедренной кости мыши,

1—26 — номера признаков.

Во второй серии исследовали влияние факторов среды на изменчивость тех же скелетных признаков у мышей линии *BALB/c*. Учитывая, что пороговые неметрические признаки скелета формируются в процессе эмбриогенеза, подвергали воздействиям беременных самок, полагая при этом, что изменения нейро-гуморального статуса материнского организма должны привести к заметным отклонениям морфофизиологических характеристик плода. В качестве факторов применены классический стрессирующий агент — различные режимы охлаждения [27], близкие к природным ситуациям, инъекции гормональных препаратов (паратиреоидина — ПТГ, адренокортикотропного гормона — АКТГ) и включение в диету ингибитора щитовидной железы метилтиоурацила — МТУ. Эти воздействия выбраны как факторы, изменяющие эндокринный статус материнского организма и участвующие в процессах минерального обмена и морфогенеза. При выборе величины и продолжительности воздействий мы стремились, чтобы на фоне явно выраженных сдвигов физиологического состояния материнского организма не нарушалось протекание беременности и появление в срок жизнеспособного потомства.

Опыт поставлен на взрослых нерожавших самках. Период спаривания при соотношении полов 3:1 продолжался семь суток, после чего животные были разделены на шесть групп соответственно применяемому воздействию — по 20 животных в группе: контроль, инъекции ПТГ (7 ед. на животное), инъекции АКТГ (2 ед. на животное), включение в пищу МТУ (25 мг на животное), холод I (температура от  $-15^{\circ}$  до  $-20^{\circ}$  °C в течение 4—5 ч в сутки), холод II (температура от  $-2^{\circ}$  до  $-4^{\circ}$  °C в течение 5—6 ч в сутки). Инъекции гормонов производили подкожно через день, МТУ давали ежедневно с пищей. Воздействия начинали сразу после прекращения периода спаривания и продолжали до появления потомства. Содержание животных групповое (5—6 самок в клетке). Незадолго до родов беременных самок изолировали для предотвращения каннибализма потомства со стороны других особей. Неродивших самок забивали для установления причин стерильности. Забой потомства каждой самки производили в полуторамесячном возрасте. Исследовано 174 детеныша.

### Результаты и обсуждение

Сравнение трех групп линейных интактных мышей показало значительные достоверные различия между ними по массе тела, массе бедренной кости, а также ряду размерных признаков черепа (рис. 2). Оказались велики и фенетические дистанции по комплексу неметрических пороговых признаков скелета (табл. 1). Масштаб этих различий соответствует подвидовому уровню, обнаруживаемому на природных популяциях [3]. Нелинейные

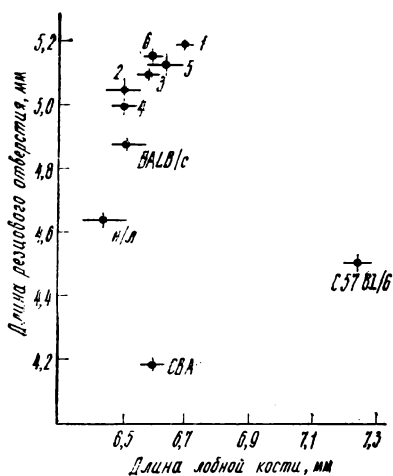


Рис. 2. Соотношение различий между линиями и экспериментальными группами мышей по двум размерным признакам черепа.

1 — контроль; экспериментальные группы: 2 — МТУ, 3 — АКТГ, 4 — ПТГ, 5 — холод I, 6 — холод II.

мышы, как по весовым и размерным, так и по неметрическим признакам занимают промежуточное положение.

Результаты экспериментов, проведенных на животных линии *BALB/c*, представлены в табл. 2. Отчетливо выражено влияние факторов воздействия на весовые показатели потомства, за исключением группы холод I, наблюдается достоверное снижение массы тела и лопатки, во всех группах — массы бедренной кости по сравнению с контрольными животными. Группа холод I не отличается от контроля и по длине лобной кости, в то время как в других группах она укорочена. У потомков животных, подвергнутых гормональным воздействиям, достоверно меньше длина резцового отверстия, тогда как обе холодовые группы по этому признаку не отличаются от контрольной. Длина верхнего ряда коренных зубов достоверно уменьшилась в группе МТУ, несколько увеличилась в группе холод II, а в остальных не изменилась.

Обращает на себя внимание различие в размерных показателях животных линии *BALB/c*, взятых для межлинейного сравнения летом, и контрольной группы животных этой же линии, выращенных и забитых весной, одновременно с экспериментальными (см. рис. 2, 1, *BALB/c*). Эти различия связаны, очевидно, с принадлежностью животных к разным генерациям и отражают сезонную динамику размеров зверьков, хорошо известную для диких видов грызунов в природе и сохраняющуюся при их лабораторном разведении [12]. Кроме того, животные второй серии до забоя содержались отдельными семьями (самка и ее потомство), в то время как животные первой серии после отъема от матери в возрасте 3—4 недель содержались в условиях относительной скученности.

Сравнение экспериментальных животных по неметрическим признакам скелета представлено в табл. 3. Контрольные животные разного сезона рождения практически не отличаются друг от друга. Не обнаружено достоверных различий между животными группы МТУ и контрольными. Наиболее велики различия, вызванные воздействием АКТГ и холодом I. Следует

Таблица 1

**Фенетические дистанции по комплексу неметрических признаков скелета между линейными и нелинейными (н/л) мышами**

Линия	<i>СВА</i>	<i>BALB/c</i>	Н/л
<i>C57BL/6</i>	0,727	0,785	0,485
<i>СВА</i>	<i>0,060</i>	<i>0,062</i>	<i>0,053</i>
<i>BALB/c</i>	—	0,583	0,465
		<i>0,052</i>	<i>0,053</i>
	—	—	0,117
			<i>0,022</i>

Примечание. Здесь и в табл. 3: курсив — среднеквадратические отклонения; отрицательные значения недостоверны.

Таблица 2

**Весовые и размерные характеристики контрольной и экспериментальных групп мышей (*BALB/c*)**

Показатель	Контроль <i>n</i> =26	МТУ <i>n</i> =13	АКТГ <i>n</i> =45
<b>Масса</b>			
Тела, г . . . . .	19,67±0,37	16,69±0,46 **	18,70±0,23 ***
Бедренной * кости, мг . . . . .	47,0±0,5	36,9±0,7 **	42,6±0,4 **
Лопатки, мг * . . . .	12,0±0,2	9,5±0,2 **	10,8±0,1 **
<b>Длина, мм</b>			
Лобной кости . . . .	6,69±0,03	6,50±0,06 ***	6,58±0,03 ***
Резцового отверстия	5,20±0,01	5,05±0,04 **	5,10±0,02 **
Верхнего ряда коренных зубов . . . .	3,86±0,02	3,76±0,02 **	3,86±0,02
Показатель	ПТГ <i>n</i> =25	Холод I <i>n</i> =17	Холод II <i>n</i> =48
<b>Масса</b>			
Тела, г . . . . .	17,48±0,40 **	18,77±0,48	18,41±0,21 **
Бедренной * кости, мг . . . . .	38,8±0,7 **	43,6±0,7 **	41,4±0,4 **
Лопатки, мг * . . . .	9,7±0,2 **	11,6±0,2	11,2±0,1 **
<b>Длина, мм</b>			
Лобной кости . . . .	6,50±0,03 **	6,63±0,06	6,59±0,03 ***
Резцового отверстия	5,00±0,03 **	5,13±0,04	5,16±0,02
Верхнего ряда коренных зубов . . . .	3,86±0,02	3,91±0,03	3,92±0,02 ***

\* Число наблюдений равно 2*n* (взяты обе кости); \*\* —  $p < 0,05$ ; \*\*\* —  $p < 0,01$ .



Фенетические дистанции по комплексу неметрических признаков скелета между экспериментальными группами мышей линии BALB/c

Группа	Контроль (весна)	МТУ	АКТГ	ПТГ	Холод I	Холод II
Контроль (лето)	0,008 0,010	—0,004 —	0,062 0,024	0,049 0,022	0,053 0,025	0,056 0,021
Контроль (весна)	—	—0,011 —	0,041 0,021	0,015 0,010	0,034 0,019	0,017 0,010
МТУ	—	—	0,045 0,030	0,045 0,028	0,044 0,028	0,036 0,026
АКТГ	—	—	—	0,022 0,013	—0,001 —	0,030 0,014
ПТГ	—	—	—	—	—0,002 —	0,038 0,016
Холод I	—	—	—	—	—	—0,003 —

отметить, что животные экспериментальных групп в целом достаточно устойчиво сохраняют частоту встречаемости большинства признаков, характерную для линии, несмотря на значительные изменения условий эмбриогенеза. Интересно отметить, что уменьшение размеров и массы тела животных группы МТУ не сопровождается изменениями по встречаемости пороговых признаков скелета. Из сравнения данных, приведенных в табл. 1 и 3, следует, что максимальные дистанции пороговых признаков между подопытными группами на порядок меньше межлинейных. Значительные межлинейные различия не являются неожиданными, поскольку в литературе имеются сведения об особенностях весовых и размерных характеристик отдельных линий мышей [10]; подробно изучены различия по альтернативным признакам между линиями [23]. Тем не менее параллельное сравнение одних и тех же показателей на межлинейном уровне и между подопытными группами одной линии позволяет соотнести масштаб этих различий. Как было показано, ни в одном случае не удалось с помощью экспериментальных воздействий получить различий, сопоставимых с межлинейными. К сожалению, в данной работе исследовано влияние экзогенных воздействий на развитие скелета плода только одной линии мышей, поэтому вопрос о специфике реактивности скелета разных линий остается открытым. Известно, что разные линии отличаются по реакции на стрессирующие воздействия, ответу на стимуляцию коры надпочечников введением АКТГ [9, 13], плодовитости в условиях стресса [1, 9], а также по морфофизиологическим показателям потомства матерей, подвергаемых стрессу и влиянию химических агентов [21, 22].

Исследованиям по изучению влияния условий внешней среды на развивающийся организм были предпосланы специальные опыты [15], на основании которых выбраны методы и сроки воздействий.

Данные литературы, которыми мы пользовались при выборе сроков воздействий, указывают на активный органогенез во второй трети беременности [6], однако один и тот же фактор приводит к специфическим нарушениям развития определенной ткани или органа в зависимости от стадии эмбриогенеза [11]. Поскольку периоды формирования изучаемых нами пороговых признаков точно неизвестны, мы сочли целесообразным применять воздействия в течение всего срока беременности после отсадки самцов.

Кроме примененных в данной работе, опробован ряд других режимов охлаждения беременных самок (круглосуточное содержание при температуре 2—4 °С или 0—(-2) °С; воздействие температуры от -25° до -30 °С в течение части суток), которые резко увеличивают количество случаев каннибализма взрослых особей (иногда до 100 %), повышают долю резорбированных зародышей на всех стадиях беременности, нарушают процесс ее протекания (гибель самок на последних сроках беременности и во время родов) и вызывают полную элиминацию потомства. Такие резкие сдвиги физиологических и поведенческих реакций мы вправе трактовать как сдвиги в нейро-эндокринном статусе материнского организма. Действительно, в литературе имеются данные по изменению гормонального фона беременных самок при стрессе [18]; известно также, что холодное воздействие вызывает резкое изменение уровня эндокринной активности [7].

Результаты наших наблюдений могут говорить о специфичности эффекта различных воздействий. Нам неизвестны специальные работы, направленные на изучение механизмов нейро-эндокринного влияния на скелет плода. Можно предположить как прямое влияние гормонов, проникающих через плаценту, так и опосредованное, например, через плацентарные гуморальные факторы [5].

Определенный интерес в связи с обсуждением механизмов действия гормонов на развитие плода представляют сравнения с влиянием тератогенов, которые легко проходят через плацентарный барьер. Очевидно, при этом происходит прямое действие тератогена на развивающиеся ткани плода. Влияние на развитие плода могут оказывать и сдвиги в концентрации низкомолекулярных компонентов крови, например, повышение или понижение уровня кальция плазмы материнского организма под влиянием экзогенных факторов [2].

В целом результаты настоящего исследования показывают, что ведущая роль в генезисе изученных скелетных показателей принадлежит генотипу, в то время как опосредованное через

организм матери действие факторов среды проявляется в относительно меньшей степени.

Полученные данные связаны с интересующей нас метаболической активностью скелета не прямо, однако физиологическая корреляция между ними весьма высока, поскольку использованные в работе индикаторные пороговые признаки отражают процесс формообразования скелета и имеют отношение к таким важным морфофизиологическим факторам, как кровоснабжение, трофика, величина поверхности и объема кости [8], определяющим особенности обмена скелета. Возможно прикладное использование этих выводов — генетический (семейный) анализ — при профессиональном отборе для работы с остеотропными радиоактивными и токсическими веществами и в условиях патологических нагрузок на скелет (например, при гипокинезии). Еще более широкую практическую применимость найдут эти материалы в интерпретации различий между группировками мелких млекопитающих в техногенной среде.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беляев Д. К., Шюлер Л., Бородин П. М. Проблемы генетики стресса // Генетика. 1977. Т. 13, № 1. С. 52—58.
2. Блунк В. Детская эндокринология. М.: Медицина, 1981.
3. Васильев А. Г. Опыт эколого-фенетического анализа уровня дифференциации популяций с разной степенью пространственной изоляции // Фенетика популяций. М., 1982. С. 15—23.
4. Воробьева Э. И., Медведева И. М. К вопросу об эволюции онтогенеза и роли изменчивости // Внутривидовая изменчивость в онтогенезе животных. М., 1980. С. 5—18.
5. Дайнеко Л. Н. Эндокринные факторы развития генитального аппарата в пренатальном периоде // Эмбриология-1966. М., 1967. С. 95—130.
6. Дыбан А. П., Баранов В. С., Котин А. М. Действие некоторых антиметаболитов нуклеинового обмена на эмбриогенез млекопитающих // Внешняя среда и развивающийся организм: Проблемы биологии развития. М., 1977. С. 293—324.
7. Колпаков М. Г. Роль эндокринной системы в механизмах адаптации организма человека // Экологическая физиология человека. Л., 1980. С. 443—468.
8. Любашевский Н. М. Метаболизм радиоизотопов в скелете позвоночных. М.: Наука, 1980.
9. Маркель А. Л., Бородин П. М. Генетико-эволюционные аспекты стресса // Вопросы общей генетики. М., 1981. С. 262—271.
10. Мина М. В., Клевезаль Г. А. Рост животных. М.: Наука, 1976.
11. Нейфах А. А. О редукции пальцев у зародышей мыши после рентгеновского облучения // Архив анат., гистол. и эмбриол. 1960. Т. 39, № 11. С. 74—82.
12. Покровский А. В., Большаков В. Н. Экспериментальная экология полевок. М.: Наука, 1979.
13. Попова Н. К., Корякина Л. А., Колокольцев А. А. Генетическая детерминированность реакции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы мышей на холодовой и иммобилизационный стресс // Генетика. 1979. Т. 15, № 4. С. 715—719.

14. Прохончуков А. А., Жижина Н. А., Тигранян Р. А. Гомеостаз костной ткани в норме и при экстремальном воздействии. М.: Медицина, 1984.

15. Стариченко В. И., Любашевский Н. М. Влияние гормональных воздействий и холода на беременных мышей // Адаптации организмов к природным условиям. Сыктывкар, 1982. Т. 3. С. 60.

16. Стариченко В. И. Морфофизиологические факторы индивидуальной изменчивости скелетного метаболизма радионуклидов: Дис. ... канд. биол. наук. Свердловск, 1984.

17. Федоров И. В. Обмен веществ при гиподинамии // Проблемы космической биологии. М., 1982. Т. 44.

18. Шайэ Дж. Использование и значение наследственной изменчивости в эндокринной системе млекопитающих // Вопросы общей генетики. М., 1981. С. 226—230.

19. Berry R. J. Epigenetic polymorphism in wild populations of *Mus musculus* // *Genet. Res. Camb.* 1963. V. 4, N 2. P. 193—220.

20. Berry R. J., Searle A. G. Epigenetic polymorphism of the rodent skeleton // *Proc. Zool. Soc. London*, 1963. V. 140, N 4. P. 577—615.

21. Biddle F. G., Fraser F. C. Genetics of cortisone-induced cleftpalate in the mouse: embryonic and maternal effects // *Genetics*. 1976. V. 84, N 4. P. 743—754.

22. Brock N., Kreibig T. Experimenteller Beitrag zur Prüfunteratogener Wirkungen von Arzneimitteln an der Laboratoriumsratte // *Arch. Exptl. Pathol. und Pharmacol.* 1964. V. 249, N 2. S. 117—145.

23. Grüneberg H. The Pathology of development; a study of inherited skeletal disorders in animals. N.-Y.: Wiley and Sons, 1963.

24. Hartman S. E. Geographic variation analysis of *Dipodomys ordii* using nonmetric cranial traits // *J. Mammal.* 1980. V. 61, N 3. P. 436—448.

25. Hilborn R. Inheritance of skeletal polymorphism in *Microtus californicus* // *Here dity*. 1974. V. 33. P. 87—89.

26. Self S. G., Leamp L. Heritability of quasi-continuous skeletal traits in a randombred population of house mice // *Genetics*. 1978. V. 88. P. 109—120.

27. Selye H. The Physiology and pathology of exposure to stress. Montreal, 1950.