

На правах рукописи



00349365 1

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

- 4 МАР 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 «15» февраля 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, полом 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.

Объем 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 «Берденищ» (55°46' с.ш., 60°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 $\text{кБк}/\text{м}^2$, ^{137}Cs – от 210 до 700 $\text{кБк}/\text{м}^2$, $^{239,240}\text{Pu}$ – от 33.2 до 62.2 $\text{кБк}/\text{м}^2$; γ -фон на уровне почвы колеблется от 27 до 76 $\text{мкР}/\text{ч}$, β -фон – от 98 до 921 $\text{частиц}/\text{мин} \cdot \text{см}^2$ (Современное состояние..., 2008; Модоров, 2009). Участок «Метлино» ($55^{\circ}48'$ с.ш., $60^{\circ}00'$ 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 $\text{кБк}/\text{м}^2$, по ^{137}Cs – 20.3 $\text{кБк}/\text{м}^2$; γ -фон – 12 $\text{мкР}/\text{ч}$, β -фон – 12 $\text{частиц}/\text{мин} \cdot \text{см}^2$.

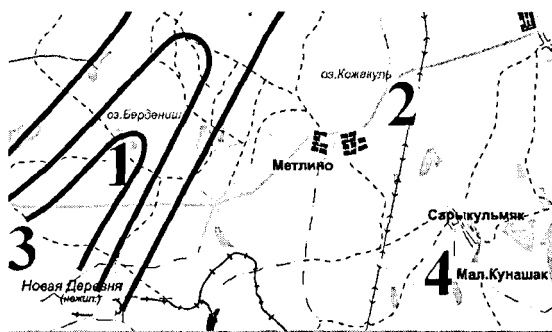


Рисунок 1 – Карта-схема района исследований

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

Участок «Лежневка» ($55^{\circ}45'$

с.ш., $60^{\circ}54'$ 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 $\text{кБк}/\text{м}^2$, по ^{137}Cs – от 657.7 до 1244.0 $\text{кБк}/\text{м}^2$, по $^{239,240}\text{Pu}$ – от 40.9 до 101.6 $\text{кБк}/\text{м}^2$; γ -фон на уровне почвы колеблется от 290 до 450 $\text{мкР}/\text{ч}$, β -фон – от 2000 до 3000 $\text{частиц}/\text{мин} \cdot \text{см}^2$ (Тарасов, 2000; Современное состояние..., 2008). Участок «Аминеве» (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 подземнороящему 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 «Аминево» 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 декапитуировали, 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 (0.025 моль/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 C.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 глюкозофосфатизомеразы 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.

Увеличение отношения ДНК/общий белок и снижение - 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).

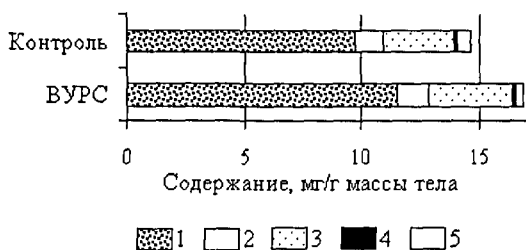


Рисунок 3 – Содержание общего белка в тканях малой лесной мыши, отловленной на контрольной и загрязненной радионуклидами (ВУРС) территориях
1 – печень, 2 – миокард, 3 – головной мозг, 4 – надпочечники, 5 – селезенка

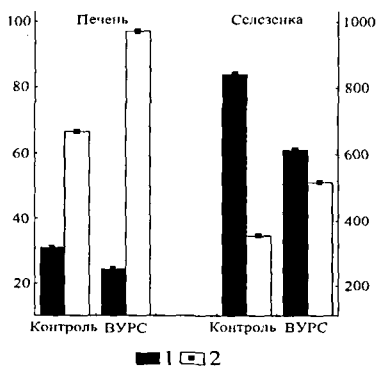


Рисунок 4 – Соотношение показателей ДНК/общий белок (1) и РНК/ДНК (2) в тканях печени и селезенки малой лесной мыши на контрольной и загрязненной радионуклидами (ВУРС) территориях
Примечание – ДНК/общий белок (мг/г) по левой оси ординат, РНК/ДНК (мг/г) по правой оси ординат

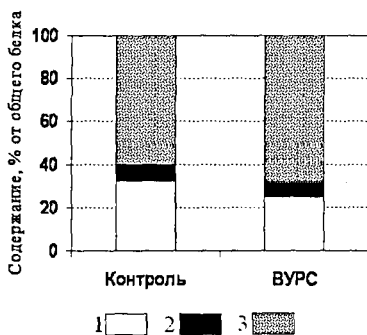


Рисунок 5 – Содержание белка ядерной (1), митохондриальной (2) и постмитохондриальной (3) фракций клеток печени малой лесной мыши на контрольной и загрязненной радионуклидами (ВУРС) территориях

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

⁹⁰Sr 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: Голицкий, 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.