

РЕГУЛЯЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ОРГАНАХ МЫШЕЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ ХИМИЧЕСКИХ И ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В МАЛЫХ ДОЗАХ

© 2021 г. А.Г. Кудяшева*, Н.Г. Загорская*, О.В. Раскоша*, Л.Н. Шишкина**

*Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, 167982, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28

**Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4

E-mail: shishkina@sky.chph.ras.ru

Поступила в редакцию 29.11.2019 г.

После доработки 13.04.2021 г.

Принята к публикации 20.04.2021 г.

Изучено влияние раздельного и совместного действия нитрата свинца в широком диапазоне доз, уранилнитрата и хронического γ -излучения в малой дозе на формирование окислительного стресса в печени мышей линии СВА (самцы) и морфофункциональное состояние щитовидной железы в ранние и отдаленные сроки после окончания воздействий. Выявлен сложный и неоднозначный характер изменений параметров системы регуляции окислительных процессов в печени мышей и морфофизиологические перестройки в щитовидной железе. Масштаб и направленность этих изменений зависели от возраста животных, химической природы токсикантов и их концентрации, времени после окончания воздействий. Анализ литературы и полученные данные позволяют сделать заключение о невозможности прогнозирования последствий обитания млекопитающих в неблагоприятных экологических условиях путем экстраполяции результатов из области больших доз к малым дозам поллютантов.

Ключевые слова: регуляция, перекисное окисление липидов, нитрат свинца, уранилнитрат, хроническое облучение, малые дозы.

DOI: 10.31857/S0006302921040141

В настоящее время не вызывает сомнения, что воздействие любых повреждающих факторов на биологические объекты вызывает формирование комплекса биохимических реакций, рассматриваемых как окислительный стресс. Это обусловлено нарушением регуляции окислительных процессов в тканях, стационарный уровень которых в норме поддерживается физико-химической системой регуляции, функционирующей как на мембранном, так и органном уровнях [1, 2]. Анализ взаимосвязей между различными показателями данной регуляторной системы позволил предложить новый подход для оценки биологических последствий воздействия повреждающих факторов разной природы и мощности по изменению масштаба и направленности корреляций между тесно взаимосвязанными в норме разными пока-

зателями физико-химической системы регуляции в тканях опытных животных [3].

Хозяйственная деятельность человека способствует появлению новых территорий, биота которых подвергается хроническому воздействию факторов разной природы. Среди загрязнителей распространены ионы свинца, уранилнитрат, низкоинтенсивное ионизирующее излучение. Поступление свинца в организм человека в течение длительного времени вызывает повреждение головного мозга и почек, оказывает токсическое воздействие на развитие плода и процесс сперматогенеза [4–6]. Природа токсичности соединений урана при поступлении в организм обусловлена как радиоактивными свойствами изотопов урана, так и их химическим влиянием на обмен веществ [7–9]. Установлено, что при длительном обитании природных популяций мышевидных грызунов на территориях с повышенным радиационным фоном в Республике Коми или загрязненных радионуклидами в зоне аварии на Чернобыльской АЭС процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) участвуют в их адаптации к изменившимся условиям окружающей сре-

Сокращения: ПОЛ – перекисное окисление липидов, ПДК – предельно допустимая концентрация, ФЛ – фосфолипиды, ФХ – фосфатидилхолин, ФЭ – фосфатидилэтанолламин, ФИ – фосфатидилинозит, ФС – фосфатидилсерин, КЛ – кардиолипид, ФК – фосфатидная кислота, ЛФХ – лизоформы фосфолипидов, СМ – сфингомиелин.

ды за счет перехода системы регуляции на новый уровень функционирования [10, 11].

Эффективность действия стресс-факторов может быть связана и с изменением состояния щитовидной железы, так как синтезируемые ее фолликулярными клетками тиреоидные гормоны оказывают влияние практически на все виды обмена веществ, усиливают окислительные процессы в организме, стимулируют теплообразование, пролиферацию и дифференцировку клеток [12].

Изучению последствий сочетанного действия факторов разной природы на организм млекопитающих уделяется значительно меньше внимания по сравнению с действием отдельных факторов [13]. Способность токсикантов перемещаться на значительные расстояния от источника загрязнения и непредсказуемость их совместного действия требуют более детального исследования механизма формирования ранних и отдаленных эффектов при хроническом поступлении токсикантов в организм в течение длительного времени.

Целью работы являлось изучение ранних и отдаленных биофизических и биохимических эффектов в тканях мышей линии СВА, подвергавшихся хроническому низкоинтенсивному γ -излучению в малой дозе в сочетании с нитратом свинца в широком диапазоне доз или уранилнитрата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования были половозрелые мыши линии СВА (самцы), обычно используемые при оценке токсических свойств разных соединений. Животные были получены из научной коллекции экспериментальных животных ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН (<http://www.ckr-fg.ru/usu/471933/>). В течение одного месяца мышшей ежедневно подвергали воздействию хронического γ -излучения с мощностью дозы 2 мР/ч, одновременно с этим животные потребляли с питьевой водой токсиканты. Были проведены две серии экспериментов.

В первой серии с нитратом свинца мышши (возраст два с половиной-три месяца) были разделены на семь групп по семь-десять особей в каждой:

А – контроль;

Б – облучение;

Г – облучение + нитрат свинца в дозе 0.003 г/кг;

Д – облучение + нитрат свинца в дозе 0.01 г/кг;

Е – облучение + нитрат свинца в дозе 0.03 г/кг;

Ж – облучение + нитрат свинца в дозе 0.1 г/кг;

З – облучение + нитрат свинца в дозе 0.3 г/кг.

Мыши групп А и Б пили чистую воду, остальные группы мышшей с питьевой водой получали растворы нитрата свинца (квалификации «ч.д.а.») в расчетных концентрациях, обеспечивающих поступление в организм ионов Pb^{2+} в указанных выше концентрациях за весь период эксперимента. Предельно допустимая концентрация (ПДК) ионов свинца в питьевой воде для водных объектов бытового пользования составляет 0.03 мг/л, следовательно, общее потребление токсиканта превышает ПДК в 2–200 раз. При этом поступление в организм нитрат-иона за месяц даже при концентрации нитрата свинца 0.3 мг/кг в 75 раз ниже его ПДК.

В экспериментах с уранилнитратом мышши (возраст пять месяцев) были разделены на четыре группы по восемь-десять особей в каждой:

группа 1 – контроль;

группа 2 – облучение;

группа 3 – уранилнитрат ($UO_2(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$);

группа 4 – облучение + уранилнитрат;

Удельная активность уранилнитрата составляла 25 Бк/л (0.00428 г/л), что соответствует содержанию солей урана в природных водах на территории с повышенным уровнем естественной радиоактивности в Республике Коми [10]. Каждое животное за 30 суток получало вместе с водой в среднем 0.18 мг уранилнитрата.

γ -Облучение мышшей обеспечивали два источника ^{226}Ra с активностью $0.474 \cdot 10^6$ и $0.451 \cdot 10^6$ кБк, разнесенные на расстоянии 2.5 м. Геометрия их расположения обеспечивала сравнительно однородное облучение всех животных (неравномерность облучения не превышала 6%). Данный уровень излучения имитировал условия низкоинтенсивного внешнего γ -излучения на участках с повышенным фоном естественной радиоактивности в Республике Коми [10]. Суммарную поглощенную дозу (1.6 сГр) определяли термолюминесцентными дозиметрами с детекторами ДТГ-4 (LiF) с последующей регистрацией на термолюминесцентной установке ДВГ-02ТМ (НПП «Доза», Россия).

Забой мышшей одновременно опытных и контрольных групп осуществляли в первые сутки (ранний период) и спустя 30 суток (отдаленный период) после окончания воздействия при соблюдении принципов биоэтики и гуманного обращения с животными [14] в утренние часы, чтобы избежать влияния суточных колебаний на исследуемые показатели. Необходимо также отметить, что эксперименты проводили в весенний сезон (март – май).

Печень сразу после забоя помещали на лед. Липиды из гомогената печени выделяли по методу Блая и Дайера в модификации Кейтса [15]. Качественный и количественный состав фосфолипидов (ФЛ) определяли методом тонкослойной

Состав фосфолипидов печени мышей в опытах с нитратом свинца и уранилнитратом в контрольных группах и спустя сутки после хронического γ -облучения в дозе 1.6 сГр.

Фракции фосфолипидов	Относительное содержание фракции (%P)			
	Группа 1 (контроль). Возраст 6 месяцев, $n = 12$	Группа 2 (γ -облучение). Опыт с уранилнитратом, $n = 20$	Группа А (контроль). Возраст 3.5–4.0 месяца, $n = 25$	Группа Б (облучение). Опыт с нитратом свинца, $n = 22$
ЛФХ	3.37 ± 0.24	$1.65 \pm 0.20^{***}$	3.90 ± 0.20	$7.09 \pm 0.31^{***}$
СМ	3.34 ± 0.05	$2.15 \pm 0.22^{***}$	4.43 ± 0.39	3.70 ± 0.19
ФХ	52.2 ± 0.9	$57.3 \pm 0.7^{***}$	47.1 ± 0.7	$42.50 \pm 0.65^{***}$
ФИ+ФС	9.57 ± 0.10	$6.20 \pm 0.17^{**}$	10.37 ± 0.50	10.85 ± 0.62
ФЭ	26.9 ± 1.0	28.70 ± 0.19	28.9 ± 0.6	28.84 ± 0.23
КЛ+ФК	4.58 ± 0.45	3.96 ± 0.42	5.30 ± 0.65	7.03 ± 0.59

Примечание. n – Количество хроматографических дорожек; здесь и далее (на рисунках): различия между контролем и вариантом эксперимента достоверны при * – $p < 0.1$, ** – $p < 0.05$ *** – $p < 0.01$.

хроматографии с использованием силикагеля типа G (Sigma, США) [16]. В качестве подвижной фазы использовали смесь «хлороформ–метанол–ледяная уксусная кислота–вода» в соотношении 50 : 30 : 8 : 4. Проявление хроматограмм проводили в парах йода. Количественный анализ отдельных фракций ФЛ проводили на спектрофотометре Спекол-211 (Carl Zeiss Jena, Германия) при длине волны 800 нм по образованию фосфорно-молибденового комплекса в присутствии аскорбиновой кислоты. Оценивали количественные соотношения отдельных фракций ФЛ и обобщенные показатели состава липидов: процентное содержание ФЛ в составе общих липидов и отношение содержания основных фракций ФЛ клеток млекопитающих фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина (ФХ/ФЭ), отражающие структурное состояние мембранной системы органа; соотношение сумм более легкоокисляемых и более трудноокисляемых фракций ФЛ (Σ ЛОФЛ/ Σ ТОФЛ), характеризующее способность липидов к окислению [2]. Последнее соотношение вычисляли по формуле:

$$\Sigma \text{ЛОФЛ} / \Sigma \text{ТОФЛ} = (\text{ФИ} + \text{ФС} + \text{ФЭ} + \text{КЛ} + \text{ФК}) / (\text{ЛФХ} + \text{СМ} + \text{ФХ}),$$

где ФИ – фосфатидилинозит, ФС – фосфатидилсерин, КЛ – кардиолипин, ФК – фосфатидная кислота, ЛФХ – лизоформы фосфолипидов, СМ – сфингомиелин. Для определения состава ФЛ для каждой пробы анализировали по четыре-шесть параллельных дорожек. Все измерения проводили для каждого животного индивидуально. Общее количество мышей в экспериментах составило 174 особи.

Щитовидную железу сразу после извлечения помещали в 10%-й формалин с последующей стандартной гистологической обработкой. Парафиновые срезы тиреоидной ткани толщиной 4–5 мкм окрашивали реактивом Шиффа с докраской ядер гематоксилином Карачи. На гистологических препаратах с использованием окулярной линейки измеряли высоту клеток фолликулярного эпителия, а также длинный (L) и короткий (B) поперечники фолликулов (от 50 до 100 замеров). Средний диаметр фолликулов рассчитывали по формуле $D = (L + B)/2$. По отношению среднего диаметра фолликула к высоте фолликулярного эпителия рассчитывали индекс функции железы [17]. Морфометрические параметры анализировали при помощи программы AxioVision LE под микроскопом AxioScope A1 (Carl Zeiss, Германия) при увеличении от 250 \times до 1250 \times , осуществляя их измерение в соответствии с имеющимися в литературе методическими рекомендациями, в том числе разработанными для эндокринных органов [18, 19].

Результаты обрабатывали методами вариационной статистики [20], используя Microsoft Office Excel 2007, программу Statistica 6.0. и пакет программ KINS [21]. Для оценки результатов статистического анализа использовали стандартные параметры: R – коэффициент корреляции, b – коэффициент линейной регрессии, p – уровень достоверности различий (вероятность ошибки) и критерий Стьюдента. В таблице и на рисунках результаты представлены в виде среднеарифметических значений с указанием их среднеквадратичных ошибок ($M \pm m$).

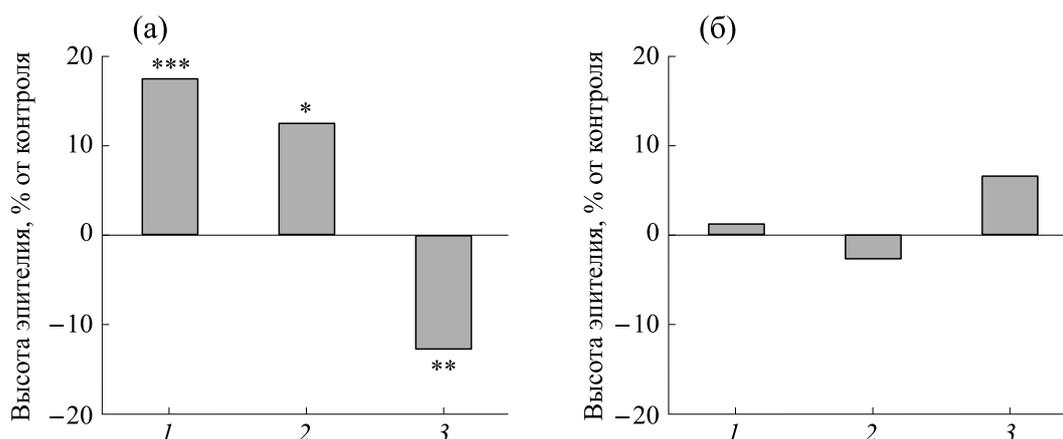


Рис. 1. Высота фолликулярного эпителия (% от контроля) в щитовидной железе мышей линии СВА (самцы) в ранние (а) и отдаленные (б) сроки после воздействия γ -излучения и уранилнитрата: 1 – хроническое γ -облучение в суммарной дозе 1.6 сГр; 2 – потребление с питьевой водой уранилнитрата в течение 30 суток; 3 – совместное действие обоих факторов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Воздействие на организм любых неблагоприятных факторов вызывает существенные изменения во всех его системах. Так, в работе [22] были выявлены достоверные изменения состояния процессов ПОЛ в головном мозге и крови мышей при совместном действии низкоинтенсивного излучения в малой дозе и наличии нитрата свинца в питьевой воде. Так как интенсивность процессов ПОЛ обуславливает влияние физико-химических свойств липидов на координацию взаимосвязей между различными параметрами системы регуляции и баланс биохимических функций в биологических объектах [23, 24], то необходимо отметить, что липиды головного мозга и эритроцитов крови, в отличие от липидов печени, обладают низким антиоксидантным статусом [25].

Поскольку синтезируемые клетками щитовидной железы тиреоидные гормоны усиливают окислительные процессы в организме, то обнаруженное изменение морфофункциональных параметров тиреоидной ткани мышей в ответ на действие хронического γ -излучения и уранилнитрата также свидетельствует об участии щитовидной железы мышей в формировании последствий действия исследуемых факторов. Результаты, представленные на рис. 1 и 2, позволяют заключить, что выраженность и направленность состояния щитовидной железы зависели от времени, прошедшего после воздействия. Так, в ранний период после окончания облучения животных и/или наличия в питьевой воде уранилнитрата в тиреоидной паренхиме обнаружено статистически значимое увеличение высоты фолликулярного эпителия, в то время как при их совместном действии значения этого показателя были ниже

контрольной величины (рис. 1). При этом в отдаленный период во всех вариантах эксперимента наблюдается нормализация данного параметра. Как показано в работах [18, 26], высота фолликулярного эпителия является информативным показателем, отражающим функциональное состояние щитовидной железы. Достоверные различия этого показателя от контрольного значения во всех опытных группах в ранние сроки после окончания воздействий (рис. 1) свидетельствуют о существенных изменениях индекса функции щитовидной железы.

Измерение диаметров фолликулов в тиреоидной паренхиме показало, что у облученных животных средние значения этого показателя были выше нормы как в ранние, так и в отдаленные сроки после радиационного воздействия (рис. 2). При этом в ранние сроки после потребления только уранилнитрата средний диаметр фолликулов достоверно ($p \leq 0.001$) увеличивается относительно контрольных значений, а спустя месяц после прекращения его потребления – уменьшается (рис. 2). В щитовидной железе мышей, которые испытывали одновременно воздействие обоих факторов, средний диаметр фолликулов и индекс функции были в пределах контрольных значений независимо от времени, прошедшего после окончания воздействия факторов.

Выбор печени как основного органа для изучения механизма формирования последствий совместного действия повреждающих факторов разной природы на регуляцию процессов ПОЛ не случаен. Именно печень является одним из основных органов как биосинтеза липидов, так и биотрансформации поступающих в организм ксенобиотиков. Известно, что показатели системы регуляции ПОЛ обладают выраженной суточной и сезонной вариабельностью [23, 27]. Чтобы

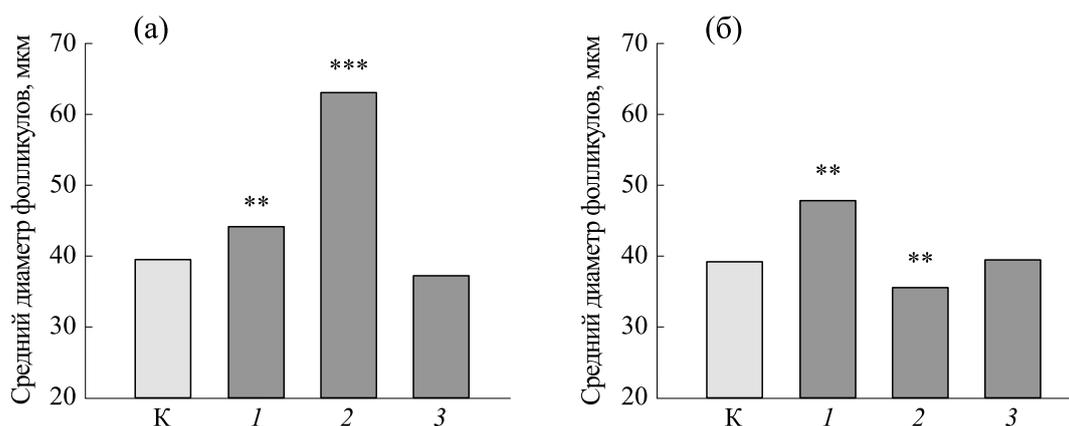


Рис. 2. Средний диаметр фолликулов щитовидной железы мышей линии СВА (самцы) в ранние (а) и отдаленные (б) сроки после воздействия γ -облучения и уранилнитрата: К – контроль; 1 – хроническое γ -облучение в суммарной дозе 1.6 сГр; 2 – потребление с питьевой водой уранилнитрата в течение 30 суток; 3 – совместное действие обоих факторов.

минимизировать влияние сезонных колебаний исходного состояния параметров системы регуляции ПОЛ, обе серии экспериментов проводили в весенний период. Для адекватной оценки механизма формирования последствий воздействий токсикантов разной природы прежде всего было необходимо сопоставить ответ процессов ПОЛ в печени мышей разного возраста на воздействие хронического ионизирующего излучения в малой дозе. Это обусловлено высокой чувствительностью окислительных процессов к низкоинтенсивному облучению млекопитающих в малых дозах, которая была выявлена в лабораторных экспериментах [28] и в исследованиях на природных популяциях грызунов [10, 11]. Состав ФЛ печени интактных мышей СВА в контрольных группах и в ранние сроки после окончания одного облучения в обоих вариантах опытов представлен в таблице.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что мембранная система печени более молодых особей характеризуется достоверно менее жесткой структурированностью ($\Phi\text{X}/\Phi\text{Э} = 1.629 \pm 0.019$) по сравнению с аналогичным показателем для более старых особей ($\Phi\text{X}/\Phi\text{Э} = 1.940 \pm 0.035$, $p < 0.01$). При этом липиды печени являются более окисляемыми ($\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ} = 0.877 \pm 0.015$) в опыте с нитратом свинца по сравнению со значением 0.697 ± 0.008 в опыте с уранилнитратом ($p < 0.01$). Это обусловлено более высоким содержанием ФЛ в составе общих липидов в печени более молодых мышей ($50.4 \pm 1.4\%$) по сравнению с их долей в составе общих липидов в возрастной группе мышей ($37.7 \pm 1.4\%$), поскольку именно ФЛ являются основными субстратами окисления в биологических мембранах. При этом закономерно, что коэффициент линейной регрессии обратной взаимосвязи между окисляемостью липидов и

структурным состоянием мембранной системы печени в 2.65 раза выше в группе более молодых мышей: $b = 0.53 \pm 0.11$ и 0.20 ± 0.05 соответственно.

Различия исходных величин параметров системы регуляции ПОЛ вызывает и неодинаковый характер изменения в соотношении фракций ФЛ в ранние сроки после окончания хронического облучения. Так, в группе более молодых мышей облучение приводит к уменьшению доли ФХ и росту в 1.8 раза доли лизоформ ФЛ, в то время как в группе мышей старшего возраста доля ФХ в составе ФЛ печени достоверно увеличивается при снижении доли лизоформ ФЛ в два раза. Необходимо обратить внимание на практически постоянное относительное содержание и у мышей разных возрастных групп, и в ранние сроки после хронического облучения в малой дозе второй основной фракции ФЛ печени – ФЭ, который локализуется преимущественно на внутренней стороне мембран [29].

Сохранение функционирования системы регуляции ПОЛ в группах животных, подвергнутых различным воздействиям, оценивают, сопоставляя масштаб и характер обратной корреляционной взаимосвязи между соотношением способности липидов к окислению ($\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ}$) и структурным состоянием мембранной системы органа ($\Phi\text{X}/\Phi\text{Э}$) в группах контрольных и опытных животных [2]. Данная взаимосвязь выявлена в обеих контрольных группах мышей с коэффициентами корреляции $R = -0.87 \pm 0.10$ ($n = 6$) и $R = -0.83 \pm 0.11$ ($n = 8$) в экспериментах с нитратом свинца и уранилнитратом соответственно. Следовательно, регуляция процессов ПОЛ в группах мышей линии СВА разного возраста относительно стабильна. Однако в ранние сроки после окончания радиационного воздействия более существенные нарушения регуляции ПОЛ наблюдаются в экспериментах с нитратом

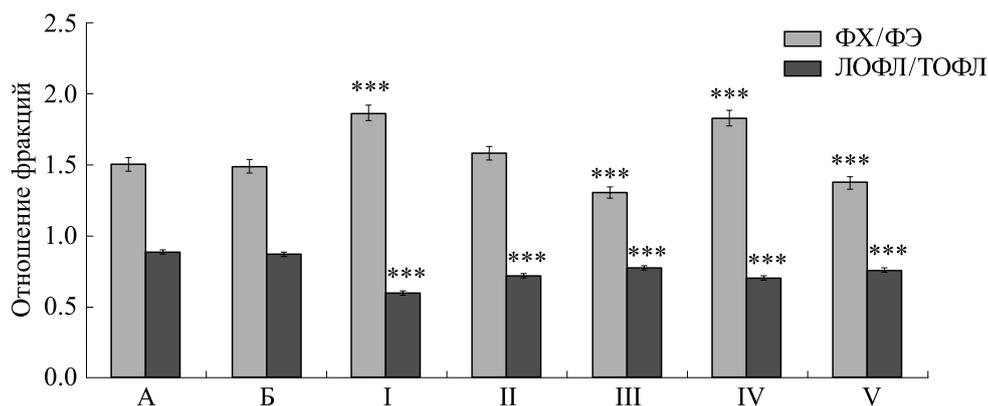


Рис. 3. Отношение основных фракций (ФХ/ФЭ) и соотношение сумм более легко- и трудноокисляемых фосфолипидов в печени мышей линии СВА (самцы) спустя 30 суток после окончания воздействия γ -излучения и нитрата свинца: А – возрастной контроль; Б – хроническое γ -облучение в суммарной дозе 1.6 сГр; совместное действие облучения и нитрата свинца в дозах 0.003 г/кг (I), 0.01 г/кг (II), 0.03 г/кг (III), 0.1 г/кг (IV) и 0.3 г/кг (V).

свинца (аналогичная корреляции отсутствует, $R = -0.54$), в то время как для более возрастной группы мышей в экспериментах с уранилнитратом обнаружено только уменьшение взаимосвязанности между данными показателями ($R = -0.75 \pm 0.19$) относительно контроля. Тем не менее ответ процессов ПОЛ в печени мышей разных возрастных групп на хроническое облучение в малой дозе имеет однотипный характер.

Как известно, среди органов интактных лабораторных грызунов печень характеризуется самой низкой интенсивностью процессов ПОЛ и наиболее высокой обеспеченностью липидов антиоксидантами [25, 28]. Это приводит к тому, что нарушения взаимосвязей между каталазной активностью печени и интенсивностью процессов ПОЛ в ранние сроки и после отдельного действия облучения, и при его совместном действии с нитратом свинца не столь значительны [22].

В отдаленные сроки после хронического облучения в малой дозе незначительные изменения в относительном содержании некоторых минорных фракций ФЛ выявлены в обоих экспериментах, что обуславливает поддержание обобщенных показателей состава ФЛ на близких к контрольным значениям величинах. В серии эксперимента с уранилнитратом самые существенные изменения в составе ФЛ печени спустя месяц после окончания воздействий выявлены только при наличии в питьевой воде мышей уранилнитрата (группа 3). Интересно отметить, что достоверные различия в составе ФЛ в этой группе мышей обнаружены именно для более легкоокисляемых ФЛ: уменьшение доли ФЭ на 5.7% ($p < 0.01$) и снижение в 1.9 раза доли суммарной фракции ФИ + ФС при росте относительного содержания КЛ + ФК в 2.5 раза.

Существенные различия как в соотношении фракций ФЛ, так и обобщенных показателей со-

става ФЛ в печени мышей выявлены спустя 30 суток после окончания совместного действия факторов в экспериментах со свинцом, что следует из данных, представленных на рис. 3 и 4. Спустя месяц после прекращения воздействий наличие в питьевой воде мышей нитрата свинца при одновременном действии облучения вызывает достоверное уменьшение окисляемости липидов печени по сравнению с аналогичным показателем в контроле при всех исследованных дозах токсиканта. Отношение же ФХ/ФЭ возрастает при дозах нитрата свинца 0.003 и 0.1 г/кг, снижается при 0.03 и 0.3 г/кг при сохранении приблизительно на уровне контрольных значений при дозе 0.01 г/кг (рис. 3).

Среди продуктов деградации ФЛ важную роль играют лизоформы ФЛ, обладающие детергентными свойствами [29]. В отдаленные сроки после окончания воздействий достоверный рост относительного содержания лизоформ ФЛ наблюдается как после хронического облучения, так и при совместном действии облучения и нитрата свинца, кроме мышей группы IV, получивших токсикант в дозе 0.1 г/кг (рис. 4).

В группах мышей более старшего возраста (эксперименты с уранилнитратом) хроническое облучение в малой дозе вызывает достоверный рост отношения ФХ/ФЭ и доли лизоформ в ФЛ печени, а также уменьшение способности липидов к окислению в отдаленные сроки после воздействия (рис. 5 и 6). Спустя 30 суток после окончания воздействий выявлено уменьшение отношения ФХ/ФЭ после совместное действие низкоинтенсивного облучения и уранилнитрата (рис. 5) и доли лизоформ ФЛ при потреблении мышами только уранилнитрата (рис. 6).

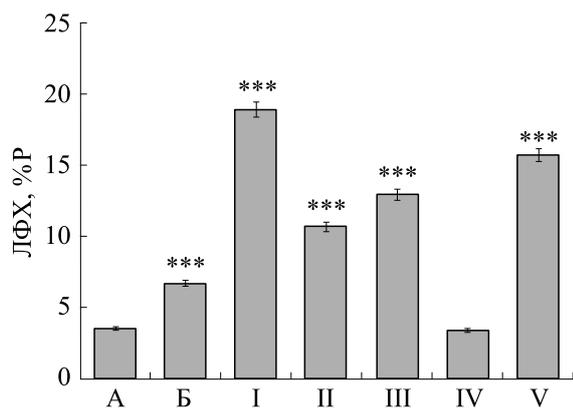


Рис. 4. Доля лизоформ в составе фосфолипидов в печени мышей линии СВА (самцы) спустя 30 суток после окончания воздействия γ -излучения и нитрата свинца: А – возрастной контроль; Б – хроническое γ -облучение в суммарной дозе 1.6 сГр; совместное действие облучения и нитрата свинца в дозах 0.003 г/кг (I), 0.01 г/кг (II), 0.03 г/кг (III), 0.1 г/кг (IV) и 0.3 г/кг (V).

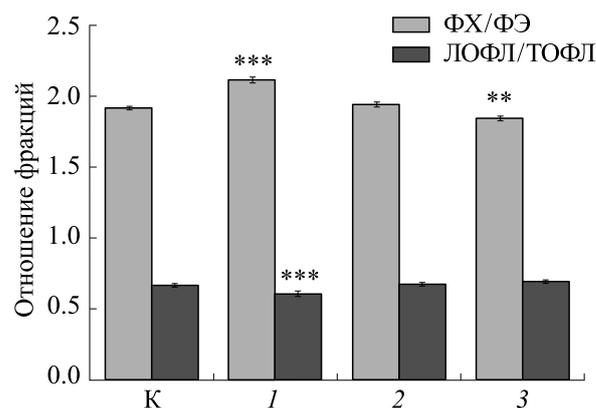


Рис. 5. Отношение основных фракций (ФХ/ФЭ) и отношение сумм более легко- и более трудноокисляемых фосфолипидов в печени мышей линии СВА (самцы) спустя 30 суток после окончания воздействия γ -излучения и уранилнитрата: К – контроль; 1 – потребление с питьевой водой уранилнитрата в течение 30 суток; 2 – хроническое γ -облучение в суммарной дозе 1.6 сГр; 3 – совместное действие обоих факторов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ представленных выше данных свидетельствует о том, что исходное состояние параметров системы регуляции ПОЛ оказывает существенное влияние на механизм формирования последствий воздействия хронического γ -излучения в малой дозе. Так, более существенные изменения структурного состояния мембранной системы печени и способности липидов к окислению в ранние сроки после облучения выявлены в печени более молодых мышей по сравнению с животными старшей возрастной группы.

В печени в отдаленные сроки после совместного действия облучения и нитрата свинца выявлен нелинейный (полимодалный) характер изменения доли лизоформ ФЛ (рис. 4) и обобщенных показателей состава ФЛ (рис. 3) в зависимости от концентрации нитрата свинца: максимальный эффект проявляется при минимальной из исследованных доз токсиканта (0.003 г/кг). Ранее нелинейный характер аналогичных показателей состава ФЛ был обнаружен в головном мозге и эритроцитах крови мышей в ранние сроки после совместного действия данных факторов [22].

Формирование последствий зависит и от природы токсиканта. Так, структурно-функциональные изменения тиреоидной ткани в ранние сроки после окончания воздействия более выражены в группах мышей при раздельном действии изученных факторов (рис. 1 и 2). Совместное действие облучения и уранилнитрата вызвало достоверное изменение только одного из изученных показателей (рис. 1). Необходимо отметить, что в отдален-

ные сроки после изученных воздействий изменения показателей состава ФЛ в печени мышей более выражены при раздельном действии облучения или уранилнитрата (рис. 5 и 6), в то время как при их совместном действии достоверные изменения обнаружены лишь для отношения основных фракций ФЛ (рис. 5). Это может быть обусловлено как разной чувствительностью показателей и их нормализацией в зависимости от природы повреждающего воздействия, так и неодинаковой способностью хронического излучения в малых дозах и уранилнитрата влиять на процессы гемодинамики и микроциркуляции в

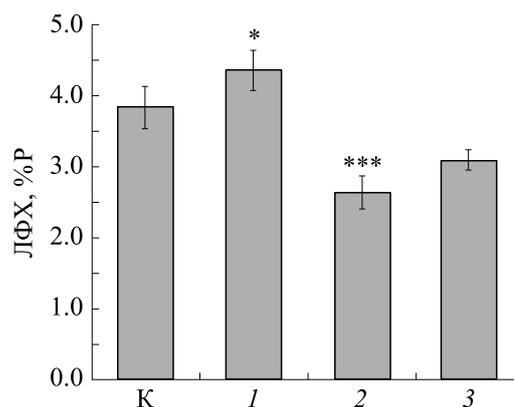


Рис. 6. Доля лизоформ в составе фосфолипидов печени мышей линии СВА (самцы) спустя 30 суток после окончания воздействия γ -излучения и уранилнитрата: К – контроль; 1 – потребление с питьевой водой уранилнитрата в течение 30 суток; 2 – хроническое γ -облучение в суммарной дозе 1.6 сГр; 3 – совместное действие обоих факторов.

тканях, взаимосвязанных с процессами инактивации токсикантов в печени и их экскреции с мочой.

Существенные изменения количественных соотношений среди минорных фракций ФЛ при действии хронического облучения и химических токсикантов могут оказывать влияние и на их функционирование как сигнальных молекул, поскольку наличие сигнальных функций у минорных фракций ФЛ и продуктов их окисления показано во многих исследованиях [30–34].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, действие хронического низкоинтенсивного излучения в малых дозах и химических токсикантов разной природы приводит к возникновению нарушений в органах лабораторных животных, что характерно для формирования окислительного стресса, обусловленного нарушениями в физико-химической системе регуляции ПОЛ. Масштаб и направленность изменений показателей морфофункционального состояния щитовидной железы и параметров системы регуляции ПОЛ в печени мышей линии СВА зависят от времени после окончания воздействия, природы токсиканта и его концентрации в питьевой воде, возраста мышей. Выявление более выраженных изменений морфофизиологических параметров в щитовидной железе в ранние сроки после воздействий облучения и уранилнитрата свидетельствует о высокой чувствительности ее функционального состояния к неблагоприятным экологическим факторам.

Сложный и неоднозначный характер ответных реакций органов млекопитающих на воздействие факторов разной природы в малых дозах, нелинейный характер изменения структурного состояния мембранной системы тканей и способности их липидов к окислению, зависимость эффекта от исходного состояния параметров системы регуляции ПОЛ свидетельствуют о невозможности прогнозирования последствий обитания млекопитающих в неблагоприятных экологических условиях путем экстраполяции результатов из области высоких доз к малым дозам поллютантов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнялась в рамках государственных заданий Института Биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН (№ гос. регистрации АААА-А18-118011190102-7) и Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН (№ 44.4, гос. № тем: 0084-2019-0014).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и институциональные принципы ухода и использования животных при выполнении работы были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ye. V. Burlakova, N. P. Pal'mina, and Ye. L. Mal'tseva, *Membrane Lipid Oxidation* (CRC Press, 1991).
2. Л. Н. Шишкина, Е. В. Кушнирева и М. А. Смотряева, Радиационная биология. Радиоэкология **44** (3), 289 (2004).
3. Л. Н. Шишкина, М. А. Климович и М. В. Козлов, Биофизика **59** (2), 380 (2014).
4. Ф. С. Дзугкоева, Р. Л. Беликова и С. Г. Дзугкоев, Нефрология и диализ **5** (3), 18 (2003).
5. S.E. Martin, W. Griswold, in *Environmental Science and Technology Briefs for Citizens* (Kansas State University, USA, 2009), No 15, pp. 1–6.
6. A. Agrawal, *Adv. Life Sci.* **2** (2), 29 (2012).
7. Ю. И. Москалев, *Радиобиология инкорпорированных радионуклидов* (Энергоатомиздат, М., 1989).
8. M. D. Sztajnkrycer and E. J. Otten, *Mil. Med.* **169** (3), 212 (2004).
9. S. V. Gudkov, A. V. Chernikov, and V. I. Bruskov, *Rus. J. Gen. Chem.* **86** (6), 1531 (2016).
10. A. G. Kudyasheva, L. N. Shishkina, O. G. Shevchenko, et al., *J. Environ. Radioactivity* **97**, 39 (2007).
11. L. N. Shishkina, A. G. Kudyasheva, and N. G. Zagorskaya, *The Lessons of Chernobyl: 25 Years Later* (Nova Science Publ., New York, 2012).
12. Л. К. Жункейра и Ж. Карнейро, *Гистология: атлас: учеб. пособие* (ГЭОТАР-Медиа, М., 2009).
13. В. Г. Петин и Б. И. Сынзыныс, *Комбинированное воздействие факторов окружающей среды на биологические системы* (ИА-ТЭ, Обнинск, 1998).
14. О. В. Раскоша и А. И. Кичигин, *Вестн. Института биологии Коми НЦ УрО РАН*, № 3, 19 (2016).
15. М. Кейтс, *Техника липидологии* (Мир, М., 1975).
16. *Биологические мембраны: Методы* (Мир, М., 1990).
17. В. Л. Быков, *Частная гистология человека (краткий обзорный курс)* (СОТИС, М., 2002).
18. Г. Г. Автандилов, *Медицинская морфометрия* (Медицина, М., 1990).
19. О. К. Хмельницкий, *Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний щитовидной железы* (СОТИС, М., 2002).
20. Г. Ф. Лакин, *Биометрия* (Высш. шк., М., 1990).
21. Э. Ф. Брин и С. О. Травин, *Хим. физика* **10** (6), 830 (1991).
22. L. N. Shishkina, A. G. Kudyasheva, O. G. Shevchenko, et al., *Heavy Metals and Other Pollutants in the Environment: Biological Aspects* (Apple Acad. Press, Toronto, 2017).
23. М. В. Козлов, В. В. Урнышева, Е. В. Кушнирева и др., *Биофизика* **52** (4), 693 (2007).

24. Н. В. Хрустова, М. В. Козлов и Л. Н. Шишкина, *Биофизика* **56** (4), 668 (2011).
25. Л. Н. Шишкина и Н. В. Хрустова, *Биофизика* **51** (2), 340 (2006).
26. О. В. Раскоша и О. В. Ермакова, *Теоретическая и прикладная экология*, № 2, 55 (2013).
27. L. N. Shishkina and E. V. Burlakova, in *Chemical and Biochemical Kinetics. New Horizons. Vol II: Biological Kinetics*, Ed. by E. V. Burlakova and S. D. Varfolomeev (VSP, Leden, Boston, 2005), pp. 334–364.
28. М. А. Климович, К. Ф. Сергейчев, Д. М. Карфилов, и др., *Технологии живых систем* **7** (8), 17 (2010).
29. Р. Геннис, *Биомембраны: Молекулярная структура и функции* (Мир, М., 1997).
30. G. Leonarduzzi, M. C. Arkan, H. Başağa, et al., *Free Radic. Biol. Med.* **28** (9), 1370 (2000).
31. V. E. Kagan, G. G. Borisenko, Y. Y. Tyirina, et al., *Free Radic. Biol. Med.* **37** (12), 11 (2004).
32. X. Wang, S. P. Devaiah, and W. Zhang, *Prog. Lipid Res.* **45**, 250 (2006).
33. Т. И. Торховская, О. М. Ипатов, Т. С. Захарова и др., *Биохимия* **72** (2), 149 (2007).
34. J. P. Slotte and B. Ramstedt, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **109**, 977 (2007).

Regulation of the Oxidative Processes in Organs of Mice under Action of the Chemical and Physical Factors at Low Doses

A.G. Kudyasheva*, N.G. Zagorskaya*, O.V. Raskosha*, and L.N. Shishkina**

**Institute of Biology, Komi Science Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Kommunisticheskaya ul. 28, Syktyvkar, Republic of Komi, 167982 Russia*

***Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, Moscow, 119334 Russia*

Influence of the separate and combined action of the lead nitrate at the wide range of doses, uranyl nitrate and the chronic γ -irradiation at the low dose on the development of the oxidative stress in organ of mice CBA (males) and morphophysiological state of thyroid gland was studied at the early and remote periods after action. Complex and significant different character of changes of parameters of the oxidation process regulation in liver of mice (males) and the morphological parameters in its thyroid gland is revealed. The scale and direction of these changes depend on the age of animals, the nature of toxicants and their concentrations, and also period after actions. Analysis of literature and the data obtained allow us to make a conclusion that the development of consequences for animals living under unfavorable ecological conditions may not predict using the extrapolation of data which were obtained at large doses to sphere of low doses.

Keywords: regulation, lipid peroxidation, lead nitrate, uranyl nitrate, chronic irradiation, low doses