

УДК 599.323.43:591.111.2:504.5:66.67

ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМЫ КРОВИ РЫЖЕЙ ПОЛЕВКИ (*Clethrionomys glareolus*) В ГРАДИЕНТЕ ХРОНИЧЕСКОГО ХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДЫ

© 2011 г. Э. А. Тарахтий, С. В. Мухачева

Институт экологии растений и животных УрО РАН,

620144 Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202

E-mail: tar@ipae.uran.ru

Поступила в редакцию 08.06.2010 г.

Исследованы в градиенте химического загрязнения среды количественно-структурные параметры крови и кроветворных органов половозрелых и неполовозрелых сеголеток рыжей полевки из природных популяций. Установлена изменчивость показателей системы крови в зависимости от уровня токсической нагрузки и репродуктивного состояния животных. Изменение клеточного состава эритроцитов и лейкоцитов, структуры эритроцитов, фракций гемоглобина, функции лейкоцитов отражает адаптивный ответ к условиям трансформированной среды в большей мере, чем концентрация лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина крови.

Повышенное поступление тяжелых металлов в атмосферу в результате деятельности горнодобывающих и перерабатывающих предприятий Среднего Урала оказывает негативное влияние на качество природной среды, превышает норму химическая нагрузка на организм животных и человека (Уткин и др., 2004). Загрязнение промышленными выбросами больших территорий ставит необходимость решать вопросы о пригодности трансформированных природных экосистем. Актуальными являются вопросы влияния поллютантов на живой организм, взаимосвязи организма с окружающей средой, его устойчивости и закономерности функционирования в условиях измененной среды.

К настоящему времени накоплен большой материал по содержанию химических элементов антропогенного происхождения в различных компонентах природных экосистем, их миграции по пищевым цепям, способности накапливаться в организме (Семенов, Трегубенко, 1984; Гильденскиольд и др., 1992; Мухачева, Безель, 1995, 2007; Кохонов, 2005; Мухачева, 2005; Безель и др., 2007; Донник и др., 2007). Меньше внимания уделялось изучению биологических эффектов на животных из природных популяций (Дмитрова и др., 1994; Leffler, Nyholm, 1996; Ковальчук и др., 2002; Rogival *et al.*, 2006; Давыдова, Мухачева, 2007). Для оценки состояния экосистемы среди множества физических, химических и других тестов наиболее информативным является комплексный биологический ответ мелких млекопитающих, постоянно и тесно контактирующих со средой. В качестве тест-системы может служить комплекс показателей системы крови организма, чувстви-

тельной к различным сдвигам во внешней и внутренней среде и тонко реагирующей изменениями своего морфологического состава (Козинец и др., 1993; Rogival *et al.*, 2006). Исследование концентрации и состава клеток крови с акцентом изучения их структуры и функции может выявить, с одной стороны, состояние организма и механизм адаптивных реакций, с другой – влияние факторов среды.

В оценке экологического риска может быть использован надежный и непосредственно связанный с жизнеспособностью организма показатель функционального состояния клеток – активность системы пероксидаза–пероксид водорода лейкоцитов, являющейся молекулярной основой неспецифического иммунитета и обладающей антимикробным, антивирусным и противоопухолевым действием (Муштакова и др., 2005).

Задача данного исследования – оценить комплекс гематологических показателей системы крови у особей рыжей полевки разного репродуктивного статуса в градиенте хронического химического загрязнения среды с целью изучения механизмов адаптации организма к измененным условиям.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы животные с территорий, находящихся на разном удалении от Среднеуральского медеплавильного завода (СУМЗ), функционирующего более 70 лет. Основные ингредиенты его выбросов – газообразные соединения серы и пылевые частицы с сорбированными химическими элементами (Cu, Pb, Cd, Zn, As, Hg,

Таблица 1. Характеристика участков и объектов исследования

Показатель	Участок исследования			
	Ф1	Ф2	Б	И
Удаление от источника эмиссии, км	30	20	5–6	1–2
Суммарная токсическая нагрузка, усл. ед.*	1		3.6	6.3–7
Исследовано животных	22	15	8	7
самцы/самки	10/12	8/7	1/7	7/0
неполовозрелые	17	15	6	3
половозрелые	5	0	2	4

Примечание. Ф1, Ф2 – фоновые, Б – буферный, И – импактный участки (для табл. 1–4).

* Мухачева, 2005.

Fe и др.). В результате многолетнего воздействия поллютантов на окружающую среду вокруг завода сформировались зоны с различной степенью изменения экосистемы (Воробейчик и др., 1994). В западном направлении от источника эмиссии против господствующего направления ветров были выделены три зоны: импактная (И), буферная (Б) и фоновая (Ф2 и Ф1, где техногенная нагрузка не отличалась от регионального фона). В каждой из зон в одни и те же сроки в июле 2004, 2007 и 2008 г. проводили отлов животных с помощью живоловок. Объектом изучения выбрана рыжая полевка (*Clethrionomys glareolus*, Shreber 1780) – доминирующий вид населения мелких млекопитающих на исследованных территориях. Животных доставляли в лабораторию, давали в неограниченном количестве сочный зеленый корм и выдерживали в течение суток с целью минимизации эффекта поимки и транспортировки.

В анализе использованы только неполовозрелые и половозрелые сеголетки. К неполовозрелым сеголеткам относили зверьков с массой тела 16–18 г, не вступавших в размножение в год рождения, к половозрелым – с массой тела 21–23 г, активно растущих и размножающихся. Экспериментальный материал и характеристика участков представлены в табл. 1.

Для исследования брали кровь из орбитально-го синуса у наркотизированных животных и в течение 10 мин с момента взятия определяли на гемоанализаторе Abacus junior vet (Австрия) концентрацию эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина (Hb), гематокрит (HT), содержание (MCH) и концентрацию гемоглобина (MCHC) в эритроците, средний объем эритроцитов (MCV). С помощью Celloscope 401 (Lars Yungberg & Co, Швеция) определяли распределение эритроцитов по диаметру (D) в диапазоне 3.5–8.9 мкм, всего 10 точек. Вычисляли толщину (T), сферичность (D/T), площадь поверхности эритроцитов каждого диаметра, концентрацию гемоглобина на единицу площади поверхности (Kostelecka-Murcya, 2002), индекс деформируемо-

сти эритроцитов (S/MCV – отношение площади поверхности к объему). Морфологический анализ клеток крови, состав лейкоцитов проводили на мазках, окрашенных по Паппенгейму, концентрацию ретикулоцитов – на мазках, окрашенных бриллиант-крезиловым голубым, активность системы пероксидаза – пероксид водорода лейкоцитов – на мазках с применением 3,3'-диаминобензидин тетрагидрохлорид дигидрата (Fluka, США), окрашенных 1%-ным метиленовым зеленым (Роговин, Бут, 1994). Фракционирование гемоглобина крови проводили методом электрофореза с использованием оборудования фирмы BIORAD (США). У животных, забитых дислокацией шейных позвонков, определяли массу тела и селезенки, с помощью камеры Горяева – число клеток селезенки и костного мозга в бедренной кости. Концентрацию эритроцитов и клеток костного мозга нормировали на массу тела (Юшков и др., 1999).

Концентрацию металлов (Pb, Cd, Cu, Zn) в почках определяли методом атомной абсорбции на спектрометре AAS 6 Vario (Analytik Jena AG, Германия) с использованием пламенного и электротермического варианта атомизации в аккредитованной аналитической лаборатории (№ РОСС.RU0001.515630). Образцы высушивали, взвешивали (на весах KERN-770 (Германия) с точностью 0.00001 г) и озоляли методом мокрой минерализации в 65%-ной азотной кислоте в микроволновой печи MWS-2 (Berg-hof, Германия). Для оценки влияния поллютантов на организм животных использовали интегральный показатель токсической нагрузки (табл. 1), вычисленный по данным концентрации разных элементов в содержимом желудка (Мухачева, Безель, 1995).

Полученные данные анализировали с помощью “Statistica for Windows” (дискриминантный, дисперсионный, ковариационный анализ), при оценке различий показателей использовали Tukey-тест для разного числа животных.

Таблица 2. Результаты дискриминантного анализа

Участок	И	Б	Ф1	Ф2
Неполовозрелые сеголетки*				
И		2.682	2.907	3.603
Б	22.094		3.05	5.98
Ф1	19.737	9.941		5.884
Ф2	24.23	19.103	3.37	
Половозрелые сеголетки				
И		22.259*	5.43**	—
Б	296.7882*		33.709*	—
Ф1	32.027**	421.365*		—

Примечание. Под диагональю — квадрат расстояния Махаланобиса, над диагональю — $F_9; 26$ -критерий.

* $p < 0.05$ (для табл. 2–4).

** $p < 0.06$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На основании различий в адаптивном ответе системы крови у особей рыжей полевки разного репродуктивного состояния к условиям измененной среды сезонного характера (Тарахтий, Давыдова, 2007), а также разного уровня накопления у них поллютантов (Мухачева, Безель, 1995, 2007) параметры системы крови рыжей полевки, обитающей в условиях химического загрязнения среды, анализировали в группах половозрелых и неполовозрелых сеголеток. В этих выборках средние значения показателей системы крови не различались от пола ($R\text{-}Pa_{010}$; $2 = 6.677$, $p = 0.137$) и года отлова животных ($R\text{-}Pa_{020}$; $2 = 2.801$, $p = 0.296$), где $R\text{-}Pa_{0}$ — критерий, использующий F -статистику для аппроксимации λ -Уилкса, что установлено с помощью дисперсионного анализа. В градиенте загрязнения среды выборки полевок различимы между собой, что установлено по комплексу морфологических и гематологических показателей с помощью дискриминантного анализа (табл. 2). Различие показателей системы крови между группами половозрелых и неполовозрелых животных в градиенте загрязнения среды оценено с помощью дисперсионного анализа.

У неполовозрелых особей с участков Ф1, Ф2, Б по мере приближения к источнику выбросов в “красной” крови нарастает (при $p < 0.05$) концентрация нормированных к массе тела эритроцитов (0.55–0.74 млн/бедро/г массы тела), клеток костного мозга (0.57–0.91 млн/мкл/г массы тела), селезенки (1.45–1.64 млн/мг органа). У особей с участка И число эритроцитов снижается и не различается с исходным значением, клеток костного мозга и селезенки, соответственно, на 16 и 82% меньше, чем с Ф1, меньше масса (31 мг против 73.6 мг) и индекс (1.97 против 3.98) селезенки, число ретикулоцитов в крови (2.16% против 9.58%, с участка Б оно составляет 3.51%). Кон-

центрация гемоглобина в крови по данным Богач с соавт. (1988) может служить биоиндикатором промышленных загрязнений, в нашем случае показатель проявляет тенденцию к нарастанию (15.5–16.9 мг%, $p < 0.3$) до участка И, однако изменяется соотношение его фракций. В норме в порядке уменьшения электрофоретической подвижности первая из двух выделенных фракций составила основную долю (82.7–84%), вторая — существенно меньшую (16–17.3%). В градиенте загрязнения среды на 13.8% возросла доля второй фракции (с 2.5 до 2.9 г%, $p < 0.05$), что можно рассматривать как адаптацию к способу ассимиляции кислорода (Физиология ..., 1979; Авцын, Марачев, 1994). Повышение содержания фетального гемоглобина, сродство к кислороду которого в среднем на 15% выше, чем гемоглобина А, наблюдали при воздействии экстремальных факторов или патологических состояниях у взрослых людей (Авцын, Марачев, 1994).

В градиенте загрязнения среды у неполовозрелых сеголеток изменяется состав популяции эритроцитов и структура клеток ($R\text{-}Pa_{05}$; $19 = 3.972$, $p < 0.012$), что играет определенную роль в обеспечении тканей кислородом. С увеличением токсической нагрузки снижается доля крупных эритроцитов и нарастает мелких (рис. 1). Так, у полевок с участка И на 2–40% меньше, чем с Ф1 доля эритроцитов в диапазоне 5.4–9.6 мкм, больше на 15% клеток диаметром 3.5 мкм, при этом у эритроцитов (табл. 3) меньше средняя площадь поверхности (на 9%), сечение (на 5%), средний диаметр (на 2.5%), но больше ($p < 0.05$) толщина (на 24%), сферичность (на 19%), ниже (на 20%) их стойкость, больше объем клетки (на 19%), содержание гемоглобина в эритроците (на 22%) и на единицу площади поверхности (на 25%). Последний показатель более информативный и важный в оксигенации тканей, чем концентрация гемоглобина в

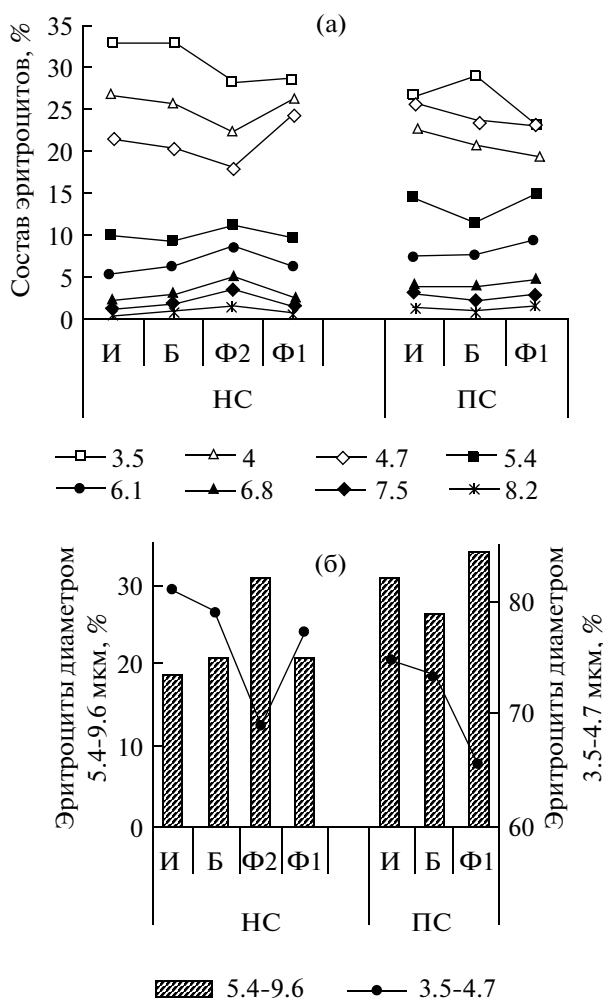


Рис. 1. Состав эритроцитов диаметром 3.5–8.2 мкм (а) и средних значений в диапазоне 3.5–4.7 и 5.4–9.6 мкм (б) у неполовозрелых (НС) и половозрелых (ПС) сеголеток рыжей полевки в градиенте загрязнения среды. Ф1, Ф2 – фоновые, Б – буферный, И – импактный участки (для рис. 1–3).

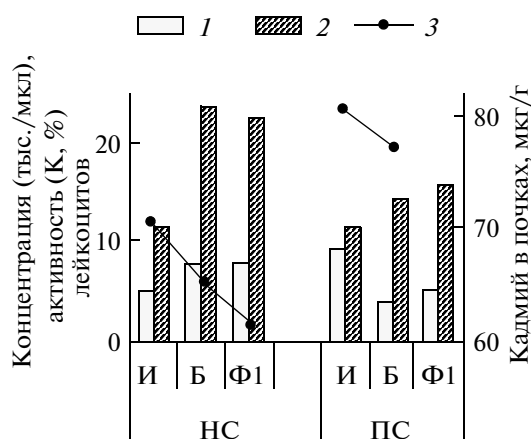


Рис. 2. Концентрация лейкоцитов (1), активность (К) системы пероксидаза–эндогенная перекись водорода лейкоцитов (2), концентрация кадмия в почках (3) неполовозрелых (НС) и половозрелых (ПС) сеголеток рыжей полевки в градиенте загрязнения среды.

крови, практически одинаковая у многих видов млекопитающих (Kostelecka-Murcya, 2002). Концентрация и размеры эритроцитов имеют связь с величиной гематокрита (коэффициент корреляции $r = 0.81-0.68$), которая у особей с загрязненных участков больше ($p < 0.04$), чем с фоновых (46.7 и 46.2% с участков И и Б против 41.9 и 41.5% с Ф1 и Ф2), что соответствует данным литературы (Богач и др., 1988).

В “белой” крови неполовозрелых сеголеток с ростом токсической нагрузки концентрация лейкоцитов сохраняется ($p > 0.05$), но изменяются их клеточный состав (табл. 4) и функциональная активность (рис. 2). У особей с участка И по сравнению с Ф1 практически втрое больше (при $p < 0.05$) относительное число нейтрофилов за счет сегментоядерных, в меньшей мере возрастает число моноцитов, меньше насчитывается лимфоцитов, не найдено эозинофилов и базофилов. У этих полевок активность системы пероксидаза–пероксид водорода лейкоцитов минимальна, ниже, чем у особей с территории Б, где коэффициент активности (К) составляет 27.3% против 18% за счет увеличения долей всех типов клеток, особенно максимально активных.

У половозрелых сеголеток в градиенте загрязнения среды не изменяется ($p > 0.4$) концентрация гемоглобина в крови (15.1–16.6 г%), эритроцитов (9.7–11.7 млн/мкл), в том числе нормированных к массе тела (0.43–0.51 млн/мкл/г массы тела). Однако состав популяции эритроцитов и параметры клеток изменяются и отличаются от соответствующих показателей неполовозрелых особей уже с исходных значений (Ф1). Так, у половозрелых особей с участка Ф1 больше средний диаметр эритроцитов (табл. 3) за счет большей доли (рис. 1) эритроцитов диаметром 5.4–6.8, 8.2 мкм и меньшей – диаметром 4 мкм ($p < 0.05$). Менее различимы параметры эритроцитов между выборками с участка Б, здесь у половозрелых особей возрастает доля клеток диаметром 3.5–4.7 мкм, что сопоставимо с максимальной величиной гематокрита (45.7%). На участке И у них существенно больше ($p < 0.05$) средний диаметр эритроцитов за счет большей доли крупных (диаметром 8.2 мкм при $p < 0.05$, а также 8.9, 6.8, 5.4, 4.7 мкм при $p < 0.1$ (рис. 1а)) и меньшей – мелких (в диапазоне 3.5–4.7 мкм (рис. 1б)) клеток. Эритроциты этих полевок менее сферичны, чем у неполовозрелых с участка И, а также половозрелых с Ф1 (высота меньше на 63 и 14% соответственно). Сферичность эритроцитов отражает способность клеток к деформации, ее снижение улучшает микроциркуляцию, повышает стойкость, у них больше площадь поверхности, но меньше, чем у неполовозрелых объем, содержание гемоглобина в эритроците и концентрация гемоглобина на единицу площади поверхности эритроцита (табл. 3). Увеличение доли крупных эритроцитов у особей с

Таблица 3. Параметры эритроцитов половозрелых и неполовозрелых особей рыжей полевки в градиенте загрязнения среды

Показатель эритроцитов	Результат дисперсионного анализа		Участок исследования							$p < 0.05$
	$MS_{ост}$	$F_{2; 23}$	Неполовозрелые			Половозрелые				
			И (1)	Б (2)	Ф2 (3)	Ф1 (4)	И (5)	Б (6)	Ф1 (7)	
Диаметр, мкм	0.032	2.95*	4.35	4.43	4.71	4.46	4.95	4.59	4.7	1-2, 4, 5
Толщина, мкм	0.171	3.422*	3.52	2.78	2.26	2.84	2.16	2.37	2.47	1-5, 6**, 7**
Площадь поверхности, мкм ²	10.382	3.11**	36.9	38.31	43.61	38.71	47.74	41.0	43	1-5; 3-4
Сечение, мкм ²	1.689	3.11**	14.88	15.45	17.59	15.61	19.26	16.54	17.35	1-5
Сферичность (D/T)	0.095	3.619*	1.28	1.62	2.19	1.61	2.35	1.94	1.93	1, 2, 4-5
Деформируемость (S/MCV)	0.018	3.391*	0.72	0.91	1.13	0.89	1.17	1.05	1.02	1-5
Объем, мкм ³	23.005	2.369	52.15	42.63	38.54	43.91	41.13	39.19	42.88	1-5**
Гемоглобин в эритроците содержание, пг	3.215	2.9632*	19.47	14.69	14.52	15.91	15.36	14.2	15.87	1-2, 5, 6
концентрация, %	13.974	0.141	37.34	34.45	37.68	35.4	37.33	36.38	37.08	
Гемоглобин на единицу площади поверхности, пг/мкм ²	0	2.866*	0.05	0.04	0.03	0.04	0.03	0.03	0.03	1-5, 7**
Число животных	43		3	6	14	10	4	2	4	

Примечание. $MS_{ост}$ – остаточный средний квадрат, $F_{2; 23}$ -критерий (для табл. 3, 4).** $p < 0.1$ (для табл. 3, 4).

Таблица 4. Концентрация и состав лейкоцитов крови половозрелых и неполовозрелых сетелеток рыжей полевки в градиенте загрязнения среды

Показатель	Результат дисперсионного анализа		Участок исследования							$p < 0.05$
	$MS_{ост}$	$F_{2; 23}$	Неполовозрелые			Половозрелые				
			И (1)	Б (2)	Ф2 (3)	Ф1 (4)	И (5)	Б (6)	Ф1 (7)	
Лейкоциты, тыс./мкл	12.994	3.131**	5.1	7.71	6.78	7.99	9.33	3.79	4.03	4-1, 5, 6
Нейтрофилы (Н) %	25.606	9.779*	23.14	12.67	13.93	6.71	14.5	35	7	5-4, 6, 2, 3
Миелоциты, %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Метамиелоциты, %	0.784	0.39	1.33	0.33	0.27	0.18	0.63	0	0.2	
Палочкоядерные (П), %	6.872	6.506*	5.97	3	3.8	2.27	4.5	14	2.2	5-4, 6, 2, 3
Сегментоядерные (С), %	12.396	9.477*	15.83	9.33	9.87	4.26	6.88	21	4.6	5-4, 6, 2, 3
Эозинофилы, %	0.835	3.103**	0	0.33	1.33	0.91	1.75	0	0.6	
Моноциты, %	44.903	0.026	9.97	1	4.6	3.52	14.25	4	6.4	
Базофилы, %	0	0	0	0	0.2	0	0	0	0	
Лимфоциты (Л), %	76.59	2.858**	67.22	86.67	79.87	88.86	71.38	62	86	1-2, 3; 5-6
Л/Н	326.28	0.383	3.31	6.92	8.86	13.24	8.6	1.77	13.09	
П/С	0.35	0.094	0.54	0.4	0.43	0.48	0.5	0.67	0.62	
Число животных		27	3	3	15	11	4	2	5	

Таблица 5. Зависимость показателей периферической крови от клеточности селезенки (КС, млн/орган) и костного мозга (ККМ, млн/бедро) рыжей полевки

Зависимая переменная	Ковариаты	b_i	s.e.(b_i)	β_i	$t(34)$	$p \leq$
Эритроциты, млн/мкл/г массы тела	КС	0.12	0.04	0.42	2.9	0.007
	ККМ	0.18	0.09	0.28	1.94	0.061
MCV , мкм ³	КС	3.76	1.33	0.44	2.88	0.008
Состав эритроцитов разного диаметра, %	КС	3.16	1.69	0.3	1.87	0.071
HT , %	КС	3.28	1.75	0.31	1.88	0.069
Hb , г%	КС	1.72	0.74	0.37	2.32	0.027
Лейкоциты, тыс./мкл	КС	2.03	1.16	0.28	1.75	0.088
Лимфоциты, тыс./мкл	КС	1.94	0.82	0.37	2.37	0.024
Моноциты, тыс./мкл	ККМ	0.34	0.18	0.29	1.85	0.074

Примечание. b_i – коэффициент регрессии (угол наклона), s.e.(b_i) – его стандартная ошибка, β_i – стандартизированный коэффициент регрессии, t – критерий Стьюдента, p – уровень значимости.

участка И сопоставимо с некоторым подъемом концентрации клеток в костном мозге (0.74, 0.54, 0.62 млн/бедро/г массы тела) и ретикулоцитов в крови (1.96, 0.58, 7.87% на И, Б, Ф1 соответственно), что можно считать ответной реакцией на большую дозу хронического действия токсикантов. У половозрелых особей на участках И, Б, Ф1 выше, чем у неполовозрелых концентрация клеток в селезенке (3.84, 4.58, 8.98 против 1.38, 3.41, 4.71 млн/г массы тела) и ее индекс (4.2, 2.3, 12.9 против 1.97, 2.07, 3.55).

В градиенте загрязнения среды у половозрелых полевок изменяются концентрация и состав лейкоцитов. Так, у особей с участков Ф1 и Б лейкоцитов меньше, чем у неполовозрелых, на участке И их число возрастает вдвое и превышает значение последних (табл. 4), что, вероятно, компенсирует их низкую функциональную активность (рис. 2). В “белой” крови половозрелых животных с участка Б больше нейтрофилов ($p < 0.05$) за счет сегментоядерных и палочкоядерных, меньше лимфоцитов. Подобный состав лейкоцитов у неполовозрелых особей отмечен на участке И. Общими признаками для этих полевок являются лейкопения, моноцитоз, эозинопения для половозрелых особей на участке Б, для неполовозрелых на И. Такие признаки относят к напряженности реакций и характеризуют как стресс (Гаркави и др., 1990). Увеличение числа моноцитов может влиять на пролиферацию, дифференцировку и поддержание кроветворных предшественников. Возрастает их роль в клеточном иммунитете (Ягунов и др., 2006).

При различимой динамике форменных элементов крови в градиенте загрязнения среды у половозрелых и неполовозрелых полевок уменьшается значение отношения лимфоциты/нейтрофилы и увеличивается палочкоядерные/сегментоядерные.

По аналогии с лабораторными животными отношение рассмотренных типов клеток характеризует реактивность организма и состояние крови (Машнева и др., 1984). У рыжей полевки в большей степени изменяется первый показатель. Его значение минимально у половозрелых особей с участка Б, где составляет 13% против 57% у неполовозрелых, с участка И величины показателя составляют 64% от исходного для каждой группы.

У особей рыжей полевки, обитающих в зоне СУМЗа, наряду с количественными, структурными и качественными изменениями клеток крови и кроветворных органов в мазках крови животных выявлены патологические формы клеток – стоматоциты, акантоциты, конденсация гемоглобина в клетках, морфологически измененные лейкоциты, моноцитоподобные лимфоциты с крупными азурофильными включениями в цитоплазме, лимфоретикулярные клетки.

Изменения показателей крови и кроветворных органов сопряжены, селезенка имеет связь не только с концентрацией клеток в крови, но и с размерами эритроцитов (табл. 5). Сопряженная изменчивость показателей отражает один из способов регуляции функций кроветворной системы, поскольку количественные изменения любого элемента системы крови невозможны без вовлечения в процесс других компонентов (Физиология ..., 1979). Встает вопрос, связаны ли изменения параметров системы крови рыжей полевки с влиянием химических веществ?

Изменчивость параметров системы крови рыжей полевки (концентрацию и активность лейкоцитов, диаметр эритроцитов, число клеток в костном мозге и селезенке) сопоставили с уровнем накопления поллютантов в организме на примере кадмия в почках (рис. 2, 3). Изменение этих показателей у половозрелых и неполовозре-

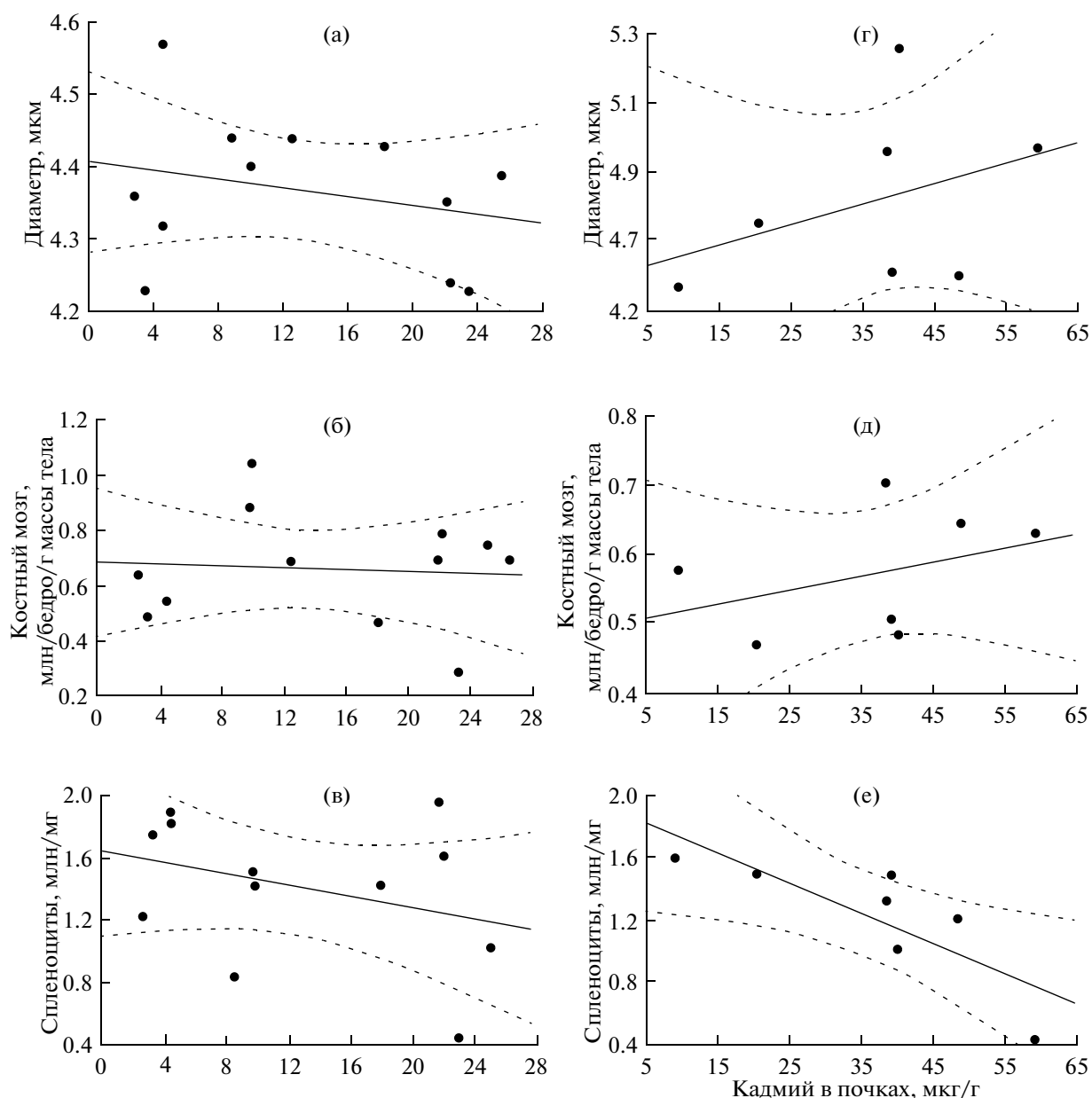


Рис. 3. Изменчивость диаметра эритроцитов (а, г), концентрации клеток в костном мозге (б, д) и селезенке (в, е) рыжей полевки относительно концентрации кадмия в почках у неполовозрелых (а–в) и половозрелых (г–е) сеголеток. Точки – экспериментальные данные, сплошные линии – линии регрессии, пунктирные линии – доверительные интервалы ($p < 0.05$).

лых сеголеток различается и имеет связь ($r = 0.6–0.8$) с концентрацией кадмия в почках, нарастающей с приближением к источнику эмиссии (рис. 2). Установлена корреляция уровня накопления кадмия в почках с концентрацией гемоглобина и в эритроцитах, и в крови, причем в большей мере с его основной фракцией ($r = -0.59–0.6$, $p < 0.07$).

Анализируя изменчивость параметров системы крови рыжей полевки, концентрацию тяжелых металлов в организме животных можно за-

ключить, что полевки подвержены влиянию поллютантов. Различный ответ неполовозрелых и половозрелых особей в градиенте загрязнения среды может быть обусловлен не только разным уровнем накопления металлов в организме (рис. 2, 3), но и разным их соотношением, эффект которых может быть реализован путем сочетанного, синергического или антагонистического действия. Так, известно, что избыток меди и цинка снижает нефротоксичность кадмия, конкурируя за места его связывания (ATSDR, July 1999. Cadmium ...).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ранее было установлено, что с увеличением токсической нагрузки в популяции рыжей полевки возрастает доля особей с повышенным содержанием тяжелых металлов в организме (Мухачева, 2005). При сравнении концентрации поллютантов в содержимом желудка с уровнем накопления в органах полевок показано, что барьерная функция желудочно-кишечного тракта обеспечивает гомеостаз физиологически необходимых элементов (Cu и Zn), но не дискриминирует переход токсических элементов (Cd и Pb) в депонирующий орган (Безель и др., 2007). Из желудочно-кишечного тракта резорбируется не более 1% кадмия, 10–20% свинца (Семенов, Трегубенко, 1984). Для кадмия показана прямая корреляция содержания его в пище и крови (Гильденскиольд и др., 1992; Rogival *et al.*, 2006). Ранее было показано, что среднесуточное поступление кадмия с пищей у животных с участка Б составляет 0.4–0.7, с И – до 1.8 мкг/г массы тела (Мухачева, 2005). При таких значениях токсикантов у лабораторных животных уже развиваются патологические нарушения. Вряд ли можно считать перераспределением в системе крови подъем числа эритроцитов у неполовозрелых особей рыжей полевки с участка Б, поскольку имеют место изменения клеточности в кроветворных органах, у половозрелых особей увеличивается доля мелких эритроцитов.

Возможность физиологической адаптации животного организма к условиям измененной среды действует до определенной степени нагрузки на организм. Так, при сопоставимых концентрациях Pb, Cd и Cu в суточном рационе рыжей полевки и коров из хозяйств, расположенных вблизи промышленных предприятий, концентрация этих металлов в почках рыжей полевки существенно выше, чем в почках коров, при этом уровень накопления металлов в органах и тканях у последних существенно превышает предельно допустимую концентрацию (ПДК) (Донник и др., 2007). В результате в крови находят снижение концентрации эритроцитов и преобладание микроцитарных их форм, моноцитоз, снижение фагоцитарной активности лейкоцитов, что нами выявлено у рыжей полевки. Особенно различия ответной реакции крови половозрелых и неполовозрелых животных выражены при большей токсической нагрузке (участок И), вероятно, также превышающей ПДК. Изменения, описанные у рыжей полевки, находят и у мышевидных грызунов рода *Apodemus*, обитающих в условиях техногенно загрязненной среды. Это раздражение красного ростка костного мозга и патологические формы эритроцитов (Барагунова и др., 2003), изменения показателей крови и клеток при концентрации в крови Cd и Pb, большей в 3–4 раза, чем у особей с чистых территорий (Rogival *et al.*, 2006).

Влияние Cd на количественные и качественные изменения эритроцитов доказано в экспериментах на крысах, изменения выявляются уже в первый месяц при хронической заправке животных в дозе 1 мкг/кг массы тела. При этом установлено, что Cd способен оказывать прямое действие как на эритроциты, так и на их предшественников в кроветворных органах (Тугарев, 2003). При хроническом поступлении в организм основная доля кадмия сначала концентрируется в плазме крови в виде комплекса с альбумином, со временем он концентрируется в эритроцитах (ATSDR, July 1999. Cadmium ...).

Патологические изменения в организме мышевидных грызунов из природных популяций находят при повышенных концентрациях Cu и Pb (Кохонов, 2005). При остром поступлении в организм Pb до 90% его связывают эритроциты, у работающих с Pb в эритроцитах накапливается до 1250 мкг% металла (Семенов, Трегубенко, 1984). При хронической заправке Pb лабораторных животных в дозах, на 2–3 порядка превышающих ПДК, изменяется структура клеток, уменьшается концентрация лимфоцитов и нейтрофилов (Машнева и др., 1984). По данным этих авторов морфологическим изменениям предшествует нарушение системы ферментов, накопление промежуточных продуктов обмена и распада тканей в избыточных количествах. Между интенсивностью накопления метаболитов и степенью выраженности морфологических нарушений они отмечают определенную связь.

В состав клеточных структур, многих ферментов, гормонов, витаминов входят Cu и Zn. Основная доля Zn (85%) приходится на форменные элементы крови (Человек ..., 1977), причем лейкоциты связывают его крепче, чем эритроциты (Семенов, Трегубенко, 1984).

Как видно, поступающие в организм разных видов животных Cd, Pb, Cu и Zn способны включаться в клетки крови, оказывать на них как прямое, так и опосредованное действие. Отмеченные нами и сопоставимые с данными литературы количественные, структурные и функциональные изменения в системе крови, а также наличие в крови патологических форм эритроцитов и лейкоцитов у особей рыжей полевки, обитающей на загрязненных территориях, обусловлены влиянием поллютантов, концентрация которых увеличивается с приближением к источнику выбросов, что показано на примере концентрации Cd в почках.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании комплексного исследования морфофизиологических и гематологических показателей, проведенных на молекулярном, клеточном и организменном уровнях, а также оценки содержания тяжелых металлов в организме

рыжей полевки, обитающей в условиях измененной среды, установлена изменчивость показателей системы крови, которая зависит от уровня токсической нагрузки и репродуктивного состояния животных.

Можно полагать, что у особей с территорий Ф1, Ф2, Б возрастание величин показателей крови и кроветворных органов связано с действием поллютантов в организме, вызывающих эффект, направленный на поддержание функции системы крови, что не ведет к нарушению течения жизненных процессов и свидетельствует об адаптационной возможности системы.

У особей с территории И изменение концентрации и структуры эритроцитов, числа ретикулоцитов, фракций гемоглобина, клеточности кроветворных органов, появление в крови патологических форм клеток дают основание полагать, что поддержание газотранспортной функции крови у неполовозрелых особей обусловлено продукцией потенциально короткоживущих эритроцитов с большим содержанием гемоглобина. У половозрелых особей такие изменения, как увеличение диаметра, площади поверхности, снижение сферичности эритроцитов, усиление пролиферативной активности можно рассматривать как раздражение костного мозга более высокими дозами токсикантов, что наряду со снижением функции лейкоцитов вызывает напряжение в работе системы крови и начальные признаки интоксикации организма.

В результате хронического действия поллютантов, поступающих в организм рыжей полевки, в кровь выходят клетки с иными качественными свойствами, отражающими особенности механизма адаптации половозрелых и неполовозрелых сеголеток, обусловленные разным уровнем метаболизма у этих особей. Данные комплексного биологического ответа на влияние среды обитания в окрестностях СУМЗа свидетельствуют о том, что качество жизни населения рыжей полевки требует контроля за состоянием окружающей среды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Авцын А.П., Марачев А.Г. Содержание фетального гемоглобина у жителей Севера // Вестн. АМН СССР. 1974. № 10. С. 49–50.

Барагунова Е.А., Байдаева Н.Г., Папиева М.С. и др. Особенности кроветворения мышевидных грызунов в условиях техногенного загрязнения // Матер. междунар. VII съезда Териолог. о-ва РАН “Териофауна России и сопредельных территорий”. Москва, 2003. Ч. 1. С. 21.

Безель В.С., Куценогий К.П., Мухачева С.В. и др. Элементный состав рационов питания и тканей мелких млекопитающих различных трофических уровней как биоиндикатор химического загрязнения

окружающей среды // Химия в интересах устойчивого развития. 2007. Т. 15. С. 33–42.

Богач Я., Седлачек Ф., Швецова З., Криволицкий Д.А. Животные – биоиндикаторы индустриальных загрязнений // Журн. общ. биологии. 1988. Т. XLIX. № 5. С. 630–635.

Воробейчик Е.Л., Садыков О.Ф., Фарафонов М.Г. Экологическое нормирование техногенных загрязнений наземных экосистем (локальный уровень). Екатеринбург: Наука, 1994. 280 с.

Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколов М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. Р.-на-Д.: Изд-во Рост. ун-та, 1990. 224 с.

Гильденскиольд Р.С., Новиков Ю.В., Хамидулин Р.С. и др. Тяжелые металлы в окружающей среде и их влияние на организм (обзор) // Гигиена и санитария. 1992. № 5–6. С. 6–9.

Давыдова Ю.А., Мухачева С.В. Микроморфология почки рыжей полевки, обитающей в градиенте химического загрязнения среды // Млекопитающие горных территорий. М.: Т-во науч. изд-й КМК, 2007. С. 95–101.

Донник И.М., Шкуратова И.А., Шушарин А.Д. и др. Влияние экологических факторов на организм животных // Ветеринария. 2007. № 6. С. 38–42.

Ковальчук Л.А., Сатонкина О.А., Тарханова А.Э. Тяжелые металлы в окружающей среде Среднего Урала и их влияние на организм // Экология. 2002. № 5. С. 358–361.

Козинец Г.И., Каюмова Д.Ф., Погорелов В.М. Клетки периферической крови и экологические факторы внешней среды // Клин. лаб. диагностика. 1993. № 1. С. 14–20.

Кохонов Е.В. Содержание и особенности накопления химических элементов в организме мелких млекопитающих юга Западной Сибири: Автореф. дис. канд. биол. наук. Томск: ТГУ, 2005. 19 с.

Машнева Н.И., Родионова Л.Ф., Сукальская С.Я. Сравнительная оценка радиационного и химического факторов. М.: Энергоатомиздат, 1984. 187 с.

Мухачева С.В. Особенности питания рыжей полевки (*Celthronomys glareolus*, Shreber 1780) в условиях техногенного загрязнения среды обитания // Сиб. экол. журн. 2005. Т. 3. С. 523–533.

Мухачева С.В., Безель В.С. Уровни токсических элементов и функциональная структура популяций мелких млекопитающих в условиях техногенного загрязнения // Экология. 1995. № 3. С. 237–240.

Мухачева С.В., Безель В.С. Химическое загрязнение среды: тяжелые металлы в пище мелких млекопитающих // Зоол. журн. 2007. Т. 86. № 4. С. 492–498.

Муштакова В., Фомина В.А., Роговин В.В. Токсическое действие тяжелых металлов на нейтрофилы крови человека // Изв. РАН. Сер. биол. 2005. № 3. С. 336–338.

Роговин В.В., Бут П.Г. Способ определения активности системы пероксидазы эндогенный пероксид водорода в лейкоцитах крови на мазках: Патент РФ № 2022241 С1 от 30.10.1994.

Семенов Д.И., Трегубенко И.П. Комплексоны в биологии и медицине. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1984. 280 с.

- Тарахтий Э.А., Давыдова Ю.А.* Сезонная изменчивость показателей системы крови рыжей полевки (*Clethrionomys glareolus*) разного репродуктивного состояния // Изв. РАН. Сер. биол. 2007. № 1. С. 14–25.
- Тугарев А.А.* Влияние кадмия на морфофункциональные характеристики эритроцитов: Автореф. дис. канд. биол. наук. М.: МПГУ, 2003. 20 с.
- Уткин В.И., Чеботина М.Я., Евстигнеев А.В., Любашевский Н.М.* Особенности радиационной обстановки на Урале. Екатеринбург: УрО РАН, 2004. 150 с.
- Физиология системы крови. Физиология эритропоэза. Л.: Наука, 1979. 360 с.
- Человек. Медико-биологические данные. М.: Медицина, 1977. 196 с.
- Юшков Б.Г., Климин В.Г., Северин М.В.* Система крови и экстремальные воздействия на организм. Екатеринбург: УрО РАН, 1999. 201 с.
- Ягунов А.С., Токалов С.В., Потявина Е.В. и др.* Сочетанные эффекты пролонгированного действия гамма-излучения и ионов тяжелых металлов на систему кроветворения крыс // Радиационная биология. Радиозэкология. 2006. Т. 46. № 1. С. 23–26.
- ATSDR, July 1999. Cadmium – ATSDR Toxicological profile. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta GA. 391 p.
- Дмитрова П.М., Мечева Р.П., Герасимов С.* Акумуляция на тежки метали и кръвна картина при жълтогърлата горска мишка от Странджа // Екология. 1994. № 25. С. 48–52.
- Kostelecka-Myrcha A.* The ratio of amount of haemoglobin to total surface area of erythrocytes in mammals // Acta Theriol. 2002. V. 47. Suppl. 1. P. 209–222.
- Leffler P., Nyholm N.E.* Nephrotoxic effect in free-living bank voles in a heavy metal polluted environment // Ambio. 1996. V. 25. № 3. P. 417–420.
- Rogival D., Scleeirs J., De Coen W. et al.* Metal blood levels and hematological characteristics in wood mice (*Apodemus sylvaticus*) along a metal pollution gradient // Env. Tox. Chem. 2006. V. 25. № 1. P. 149–157.

Blood System Peculiarities In Bank Vole (*Clethrionomys glareolus*) Under Chronic Environmental Pollution

E. A. Tarakhtii, S. V. Mukhacheva

*Institute of Plants and Animal Ecology, Ural Division,
Russian Academy of Sciences
ul. Vos'mogo Marta 202, Yekaterinburg, 620144 Russia
E-mail: tar@ipae.uran.ru*

Parameters of peripheral blood and hemopoietic organs in matured and immature bank voles inhabited area under chemical pollution were studied. The blood system indices are depended on maturation and toxic loads. Our results suggests that the peculiarities of erythrocyte shape, haemoglobin fraction, leukocyte composition are associated with adaptive response to environmental changes more stronger than total blood level in leukocyte, erythrocyte and haemoglobin concentration.

Keywords: Bank vole, blood system, chemical pollution