

СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ И НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ В ОРГАНИЗМЕ КОПЫТНЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ РЕСПУБЛИКИ КАРЕЛИЯ

© 2024 г. С. Н. Калинина^{1, *}, В. А. Илюха², В. Т. Комов², И. А. Зайцева¹,
И. В. Баишникова¹, Д. В. Панченко¹, Е. П. Антонова¹

¹ Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ “Карельский научный центр РАН”, Петрозаводск, Россия

² Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,
пос. Борок, Некоузский р-н, Ярославская обл., Россия

* e-mail: cvetnick@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.12.2023 г.

После доработки 07.02.2024 г.

Принята к публикации 17.03.2024 г.

Высокая токсичность ртути (Hg) представляет опасность для окружающей среды и человека, однако исследования концентрации этого металла у организмов наземных экосистем немногочисленны. Также мало внимания экотоксикологи уделяют изучению роли антиоксидантных витаминов в защите клетки от токсичных металлов. Республика Карелия является одним из северо-западных регионов России, биогеохимические особенности которого могут способствовать увеличению подвижности и биодоступности Hg в пищевых цепях. Цель работы состояла в определении концентрации Hg в печени, почках, мышце и шерсти копытных млекопитающих Республики Карелия (дикого кабана *Sus scrofa* L. и лося *Alces alces* L.) и анализе взаимосвязей между уровнем этого токсичного металла и содержанием некоторых низкомолекулярных антиоксидантов — восстановленного глутатиона, ретинола и α -токоферола. Отмечены видовые и тканевые особенности изученных показателей у кабанов и лосей. Подтверждены обнаруженные другими исследователями наблюдения о том, что всеядные виды по сравнению с растительноядными накапливают в своем организме больше Hg, а также что этот токсичный металл преимущественно аккумулируется в почках, тогда как мышцы содержат его минимальное количество. Концентрация Hg в большинстве проб печени и почки кабанов и во всех исследуемых пробах этих же органов лосей находились в пределах норм, зарегистрированных для домашних свиней и оленей соответственно. Зафиксированные нами уровни Hg в тканях и шерсти кабанов и лосей, в основном, были сопоставимы или ниже уровней этого металла, отмеченных у животных из других регионов России и других стран мира. У кабанов и лосей Карелии статистически значимых взаимосвязей между уровнем Hg и содержанием исследуемых антиоксидантов во внутренних органах обнаружено не было. Лоси характеризовались более высоким содержанием α -токоферола в организме, чем кабаны, что является особенностью данного вида растительноядных копытных млекопитающих. Результаты исследования свидетельствуют об относительно низком уровне загрязнения ртутью наземных экосистем Карелии.

Ключевые слова: токсичность, ртуть, ретинол, α -токоферол, глутатион, кабан, лось

DOI: 10.31857/S0044452924030022, **EDN:** YXVQXW

ВВЕДЕНИЕ

Ртуть (Hg, Hydrargyrum) является элементом, чья токсичность представляет серьезную угрозу для природы в целом и здоровья человека в частности [1, 2]. Металл попадает в окружающую среду в результате вулканической деятельности, выветривания горных пород, а также промышленной деятельности человека [3], далее ртуть транспортируется и перераспределяется между основными компонентами окружающей среды (воздухом, почвой и водой), пока в конечном итоге не будет удалена из системы путем залегания в прибрежных и глубоководных океанических и озерных отложениях и подземных почвах.

В окружающей среде металл может присутствовать в элементарной форме или в виде различных химических соединений, включая неорганические и органические. Последние, особенно метилртуть (CH_3Hg), обладают большей токсичностью для растений и животных, чем неорганические [3].

Ртуть поступает в организм животных и человека с пищей, при дыхании, а также через кожу и аккумулируется, в основном, в ЦНС, почках и печени [4]. У человека, птиц и млекопитающих [4, 5] повышенные уровни CH_3Hg приводят к нарушениям функции нервной, гормональной и выделительной систем, нарушениям двигательных функций, снижению репродуктивной способности и гибели. Око-

ло 90 % соединений CH_3Hg выводится с желчью через желудочно-кишечный тракт, в меньшей степени через почки с мочой.

Считается, что токсическое действие металлов (в том числе и Hg) при хроническом воздействии во многом аналогично окислительному стрессу, индуцированному активными формами кислорода (АФК) [2, 6]. Для противодействия окислительным повреждениям, опосредованным металлами, крайне важно взаимодействие как эндогенных, так и экзогенных антиоксидантов. В экотоксикологических исследованиях достаточно часто фигурирует группа эндогенных антиоксидантов — глутатион (GSH, γ -глутамил-цистеинил-глицин), ферменты супероксиддисмутаза, глутатион-зависимые ферменты и каталаза [7], тогда как мало внимания уделяется изучению роли антиоксидантных витаминов (ретиноиды, α -токоферол и аскорбиновая кислота) в защите клетки от токсичных металлов [8–10].

Витамины — это органические соединения, которые присутствуют в рационе в очень небольших количествах. Витамин Е является жирорастворимым природным антиоксидантом, в организме млекопитающих его наиболее распространенной и биологически активной формой является α -токоферол [11]. Антиоксидантные свойства витамина Е обеспечивают защиту компонентов клеточных мембран путем передачи фенольного водорода свободным радикалам, ингибируя тем самым цепные реакции распространения свободных радикалов. Воздействие токсичных металлов может опосредованно влиять на уровень витамина Е в клетке, который способен предотвращать окислительные повреждения свободными радикалами, вызванные CH_3Hg [12] и Pb [9].

Ретиноиды — это натуральные или синтетические соединения со структурой, сходной с ретинолом, и среди этого обширного комплекса молекул те природные формы, которые способны проявлять биологическую активность, объединены термином “витамин А” [13]. Ретиноиды необходимы для жизненно важных биологических функций — роста, развития, дифференцировки клеток, иммунитета, размножения и зрения. Ретинол является предшественником для биосинтеза двух важнейших биологически активных метаболитов ретиналя и ретиноевой кислоты. Ретиноевая кислота регулирует физиологические процессы, являясь лигандом ядерных рецепторов, тогда как альдегидная форма важна для зрения [13]. Имеются сведения, что ретиноиды защищают клетки от окислительного стресса, удаляя свободные радикалы и препятствуя выработке АФК [14]. Предполагают, что положительная взаимосвязь между концентрацией Cd в почках и концентрацией ретиноидов в печени у рыб, обитающих в загрязненных районах, является механизмом защиты от окислительного повреждения, вызванного

Cd [8]. В других работах сообщается об увеличении уровней ретиноидов у диких животных в связи с загрязнением Fe, Zn, Cu [15], Hg [16] и Pb [9, 10].

Поскольку водные экосистемы являются важным компонентом глобального биогеохимического цикла ртути, хорошо изучены происходящие в них метилирование и биомagniфикация этого металла [17]. Трансформация неорганической Hg анаэробными микроорганизмами донных отложений в толще воды приводит к образованию CH_3Hg , которая последовательно аккумулируется на разных трофических уровнях пищевой цепи [18]. Рыбоядные птицы, водные и околотовные млекопитающие, а также человек подвергаются гораздо более высокому риску накопления Hg в печени, почках и мышцах, чем типичные наземные гомеотермные хищники, предпочитающие питаться наземной добычей [2]. Дикие животные наземных экосистем, скорее всего, хронически испытывают воздействие низких доз ртути, содержащейся в пище, воде и окружающем воздухе, но исследования концентрации Hg у организмов наземных экосистем немногочисленны [2, 9, 10]. Однако ввиду высокого уровня глобального загрязнения окружающей среды ртутью такие работы крайне важны и необходимы [1, 2].

Проведенное нами исследование было сосредоточено на диких копытных млекопитающих (кабанах *Sus scrofa* L. и лосях *Alces alces* L.), обитающих на северо-западе России в Республике Карелия. Эти виды животных часто используются в экотоксикологических исследованиях в качестве биоиндикаторов загрязнения окружающей среды [2], они представляют один из высших трофических уровней лесных экосистем, предшествующий хищникам и человеку; кабан является всеядным, а лось — растительноядным животным. В настоящее время сведения о содержании Hg у копытных животных России и Европы фрагментарны и малочисленны [2, 19–22].

При изучении накопления ртути в основных естественных природных и урбанизированных средах Карелии [23] выявлено, что уровни этого металла в почве и растительности в некоторых исследованных районах не превышают принятых в России нормативов и близки к фоновым. Также близки к фоновым и значения концентрации Hg в воде и донных отложениях. Тем не менее, особенностью поверхностных вод Карелии является повышенная кислотность, что увеличивает подвижность и биодоступность ртути в пищевых цепях [24].

Цель работы состояла в определении концентрации ртути в печени, почках, мышце и шерсти наземных копытных млекопитающих Республики Карелия, а также анализе взаимосвязей между уровнем этого токсичного металла и содержанием низкомолекулярных антиоксидантов — GSH, ретинола и α -токоферола. Ранее [25] нами были исследованы в возрастном

аспекте уровни указанных антиоксидантов у кабанов, обитающих на северо-западе России (территории Республики Карелия и Ленинградской области).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования

Биологический материал был получен от кабанов (*Sus scrofa* L.) и лосей (*Alces alces* L.), добытых в результате легальной охоты в Республике Карелия во время охотничьих сезонов 2017–2022 гг. Учитывали пол, возраст (по прорезыванию зубов и их замене [26]) и массу тела каждого животного. Использовали образцы тканей шерсти, печени, почки и мышцы задней конечности у 35 диких кабанов и 16 лосей, обитающих в естественной среде на территории Лахденпохского, Сортавальского и Пряжинского районов Республики Карелия. Поскольку влияния района обитания на исследуемые показатели обнаружено не было, данные, полученные на животных трех исследуемых районов Республики Карелия, были объединены в общий пул. Выборка кабанов состояла из 15 самцов и 20 самок, 0.5–6 лет, массой тела 20–70 кг; выборка лосей — из 10 самцов и 6 самок, 1.5–8 лет, массой тела 100–350 кг. Животные были разделены на возрастные группы: сеголетки (< 1 года), молодые (1.5 года для кабанов и 1.5–2.5 лет для лосей) и взрослые (> 2 лет для кабанов и > 3 лет для лосей). Поскольку биологический материал собирался в полевых условиях охотниками, по разным техническим причинам набор биоматериала (печень, почка, мышца, шерсть) от животных не в каждом случае был полным. Согласно рекомендациям [27], образцы внутренних органов были взяты у животных в течение первых 2 ч после смерти и были немедленно помещены охотниками в сухой лед для транспортировки в лабораторию, где впоследствии хранились при температуре –80 °С до анализа.

Методы исследования

Содержание ртути в образцах определяли на ртутном анализаторе РА-915+ с приставкой ПИРО (“Люмэкс”, г. Санкт-Петербург) атомно-абсорбционным методом холодного пара без предварительной пробоподготовки [28]. Точность аналитических методов измерения контролировали с использованием сертифицированного биологического материала DORM-2 и DOLM-2 (Институт химии окружающей среды, Оттава, Канада). Концентрацию ртути измеряли в мкг/кг сырой массы ткани.

Определение содержания ретинола, токоферола, глутатиона и общего белка выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования ФИЦ “Карельский научный центр Российской академии наук”.

Для определения содержания витаминов [29] навески тканей (100 мг) гомогенизировали в 0.9 мл 0.25 М раствора сахарозы (рН 7.4), содержащей 0.001 М динатриевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА- Na_2). В конические полиэтиленовые пробирки вносили 0.25 мл гомогената и добавляли 0.25 мл 0.025 % раствора бутилгидрокситолуола в этаноле, после чего тщательно смешивали содержимое пробирки для осаждения белков. Затем добавляли 0.5 мл 0.0125 % раствора бутилгидрокситолуола в н-гексане, энергично встряхивали в течение 5 мин, центрифугировали 10 мин при 3000 g и оставляли образцы на холоде (4 °С) в течение 40 мин. В гексановом слое на микроколоночном жидкостном хроматографе “Милихром-6” (Россия) с УФ-детектором определяли концентрации α -токоферола и ретинола при длине волны 292 и 324 нм соответственно. Использовали хроматографическую колонку с прямой фазой (КАХ-5-80-4, Россия), элюирование проводили в изократическом режиме, скорость потока элюента 200 мкл/мин. Элюентом служила смесь гексана с изопропанолом в соотношении 98.5:1.5. Для построения калибровочных кривых использовали стандартные растворы ретинола и α -токоферола (Sigma, США), расчет содержания витаминов проводили методом внешнего стандарта.

Для определения содержания GSH [30] 50 мг ткани гомогенизировали в 2 мл 0.02 М ЭДТА- Na_2 . После центрифугирования (15 мин при 5000 g) 1 мл супернатанта смешивали с 4 мл дистиллированной воды и 1 мл 50 % трихлоруксусной кислоты. Смесь периодически встряхивали в течение 10–15 мин, затем центрифугировали 15 мин при 3000 g. После центрифугирования 1 мл супернатанта смешивали с 2 мл 0.4 М трис-буферного раствора, добавляли 0.1 мл реактива Элмана и встряхивали смесь. Оптическую плотность измеряли спектрофотометрически ($\lambda = 412$ нм, СФ 2000, Россия) и выражали в мкмоль/г белка.

Содержание белка определяли по методу Лоури [31] с использованием бычьего сывороточного альбумина в качестве стандарта.

Следует отметить, что существует частичное пересечение данных по уровням ретинола, α -токоферола и глутатиона в печени, почке и мышце у 24 кабанов Республики Карелия между данной работой и уже опубликованным исследованием [25]. То есть в этих двух статьях только частично использовались одни и те же данные по некоторым кабанам, обитающим в Карелии. Однако, несмотря на это, цели этих двух статей — совершенно разные. Статья [25] содержит данные по уровням низкомолекулярных антиоксидантов у кабанов ($n=65$) разного возраста, обитающих на территории северо-запада России (Республики Карелия и Ленинградская область). Настоящая работа рассматривает степень загрязнения ртутью наземных экосистем (на примере копыт-

ных млекопитающих, как кабана ($n=35$), так и лося ($n=16$) Республики Карелия и включает в себя оценку возможных взаимосвязей уровня этого токсиканта с низкомолекулярными антиоксидантами.

Статистическая обработка данных

Полученные данные обрабатывали общепринятыми методами статистики в программах MS Excel и Statgraphics Plus 5.0 согласно рекомендациям [32]. Выборки имели распределение, отличающееся от нормального, поэтому данные в таблице представлены в виде медиан, а также нижнего и верхнего квартилей [Me (Q1; Q3)]. Для оценки влияния пола и возраста на исследуемые показатели использовали критерий Краскела—Уоллиса (Kruskal—Wallis H -test, непараметрический дисперсионный анализ). В связи с тем что статистически значимого влияния этих факторов обнаружено не было (за исключением влияния возраста на уровень ретинола в печени кабанов), данные по самкам и самцам одного вида разного возраста были объединены. Для оценки межвидовых различий показа-

телей использовали непараметрический критерий Манна—Уитни (Mann—Whitney test). Для выявления взаимосвязей, а также оценки их силы и направленности между изучаемыми показателями использовали корреляционный анализ (ранговый критерий Спирмена). Статистически значимыми считали различия при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявлено влияние возраста на уровень ретинола в печени кабанов ($H=8.57$, $p < 0.01$): у животных 3-й возрастной группы (взрослые) [13.36 (11.96; 14.75)] этот показатель был выше, чем у сеголетков [31.93 (26.56; 37.30)]. Концентрации Hg, α -токоферола и GSH в органах (печень, почка, мышца) и шерсти (для Hg) кабанов и лосей в исследованные возрастные периоды статистически не различались ($p > 0.05$). С учётом этого данные по животным разного возраста одного вида были объединены. Содержание Hg, ретинола, α -токоферола и GSH в биологическом материале кабанов и лосей без разделения на возрастные группы представлено в табл. 1.

Таблица 1. Содержание ртути и антиоксидантов в организме кабанов и лосей [Me (Q1; Q3)]

Показатель	Биоматериал	Вид животного		Межвидовые различия (критерий Манна—Уитни, p)
		Кабан	Лось	
Ртуть, мкг/кг	печень	11.0 (5.0; 18.0) $n=28$	2.0 (1.0; 5.0) $n=15$	< 0.01
	почка	46.0 (29.0; 66.0) $n=29$	45.5 (29.0; 70.0) $n=14$	> 0.05
	мышца	4.0 (1.0; 6.0) $n=19$	1.0 (0.3; 1.0) $n=13$	< 0.01
	шерсть	23.0 (4.0; 27.0) $n=9$	5.0 (2.0; 8.0) $n=8$	> 0.05
Глутатион, мкмоль/г белка	печень	5.96 (4.96; 7.68) $n=29$	10.19 (6.09; 16.11) $n=4$	> 0.05
	почка	8.81 (6.22; 13.13) $n=29$	15.29 (8.43; 16.10) $n=4$	> 0.05
	мышца	7.09 (5.51; 10.17) $n=17$	22.89 (13.26; 28.95) $n=4$	> 0.05
α -Токоферол, мкг/г	печень	2.84 (1.44; 4.43) $n=27$	16.83 (10.36; 33.41) $n=14$	< 0.001
	почка	1.63 (0.87; 2.66) $n=26$	9.01 (4.64; 13.25) $n=12$	< 0.001
	мышца	1.48 (1.22; 3.87) $n=17$	5.35 (2.78; 12.04) $n=10$	< 0.05
Ретинол, мкг/г	печень	20.36 (12.74; 32.02) $n=27$	20.37 (6.18; 31.60) $n=14$	> 0.05
	почка	1.04 (0.45; 1.57) $n=26$	1.32 (0.82; 2.22) $n=12$	> 0.05
	мышца	0.33 (0.25; 0.39) $n=16$	0.33 (0.28; 0.43) $n=10$	> 0.05

Уровни исследованных показателей различались между тканями у одного вида (табл. 1). Так, среди органов кабанов и лосей именно почка отличалась самой высокой концентрацией ртути, тогда как в печени накапливались ретинол и α-токоферол. Уровень GSH был выше в почке кабана и мышце лося по сравнению с другими органами.

Межвидовые различия показателей (критерий Манна–Уитни, $p < 0.05$) выразились в более высоком уровне ртути в печени и мышце у кабанов по сравнению с лосями, в более высокой концентрации α-токоферола в печени, почке и мышце лосей по сравнению с кабаном (табл. 1).

Сравнение данных по содержанию ртути в печени и почке кабанов и лосей Карелии с уровнями этого металла, указанными для домашних свиней и оленей соответственно [33], показало, что большинство проб органов кабанов и все исследуемые пробы органов лосей содержали оптимальный уровень ртути (табл. 2).

Таблица 2. Процент (%) образцов тканей дикого кабана и лося, содержащих концентрацию ртути, сопоставимую с референсными значениями элемента для домашних свиней и оленей соответственно [33]

Вид животного	Орган	Процент (%) образцов тканей	Референсные значения Hg, мкг/кг
Кабан	печень	89.3 % ($n = 25$)	< 30
	почка	86.2 % ($n = 25$)	< 100
Лось	печень	100 % ($n = 15$)	< 100
	почка	100 % ($n = 14$)	< 100

Корреляционный анализ показал наличие только положительных взаимосвязей между некоторыми исследуемыми показателями (рис. 1). У каба-

нов большинство связей между показателями были средней силы ($r = 0.3–0.7$), только связь между концентрациями ртути в печени и шерсти являлась сильной ($r \geq 0.7$). У лосей все отмеченные статистически значимые связи (между уровнями α-токоферола в исследуемых органах) оказались сильными ($r \geq 0.7$). Не обнаружено статистически значимых связей между концентрацией ртути и уровнями антиоксидантов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследование содержания ртути в органах и шерсти двух видов копытных млекопитающих Республики Карелия показало существенные межвидовые различия в накоплении этого токсичного металла в организме. С большой долей вероятности можно утверждать, что пищевые предпочтения кабана, а именно его всеядность, послужили причиной более высокого содержания ртути в печени и мышце этого вида животных по сравнению с лосем. Рацион кабана на 80–90 % состоит из пищи, добытой из почвы, и включает растительные (культурные растения, травы, корни, кору деревьев и кустарников, ягоды), и животные корма (черви, насекомые, мелкие млекопитающие, яйца и птенцы наземногнездящихся птиц, остатки павших животных), а также грибы [34, 35]. Такая диета делает кабана подходящим животным для исследований уровней токсикантов в дикой природе. Лось относится к типичным дендрофагам, но в бесснежный период поедает много травянистых кормов. Список употребляемых лосем в пищу кормов весьма широк и в разных частях ареала составляет от 33 до 133 видов растений, лишайников и грибов [36]. Другие исследователи также отмечают, что всеядные виды по сравнению с растительноядными и хищниками накапливают больше токсичных элементов (в том числе и ртути) в своем организме [37].

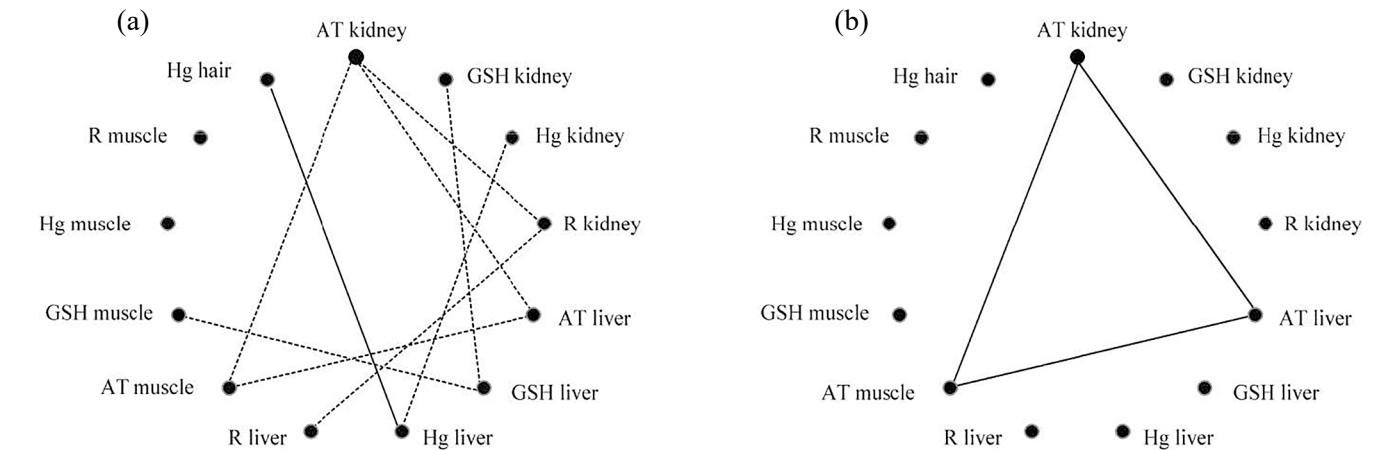


Рис. 1. Статистически значимые ($p < 0.05$) положительные корреляционные связи (критерий Спирмена) между изученными показателями у кабанов (а) и лосей (б) Республики Карелия. Показатели: AT – α-токоферол, GSH – глутатион, Hg – ртуть, R – ретинол. Биологический материал: kidney – почка, liver – печень, muscle – мышца, hair – шерсть. Сплошная линия – сильная взаимосвязь ($r \geq 0.7$) между показателями, пунктирная линия – взаимосвязь средней силы ($r = 0.3–0.7$).

Также мы отметили тканеспецифичность распределения ртути в организме исследованных животных: содержание этого металла уменьшалось в ряду почка — шерсть — печень — мышца. Подобная закономерность отмечается и другими исследователями [38]. В то время как печень является органом, отвечающим за метаболизм Hg, и индикатором кратковременного воздействия этого токсиканта на организм, именно почки наряду с ЦНС являются органами-мишенями ртути и могут накапливать неорганические формы Hg [4]. Из-за накопления ртути в почках часто наблюдается острая почечная недостаточность [4].

На сегодняшний день референсные значения концентрации Hg в организме диких копытных животных не определены, поэтому мы сравнивали полученные нами данные с данными, указанными для печени и почки домашних свиней и оленей [33]. Значения этого показателя для домашних животных могут не совпадать с уровнями металла, присутствующими в тканях диких кабанов и лосей, но такое сравнение дает некоторое представление о том, является ли уровень Hg у диких животных высоким или низким. Согласно данным [33], концентрация Hg в большинстве проб печени и почки кабанов и во всех исследуемых пробах этих же органов лосей находились в пределах оптимальных значений, зарегистрированных для свиней и оленей, соответственно.

Концентрации Hg в тканях и шерсти кабанов и лосей Карелии были сопоставимы или ниже уровней этого металла, зафиксированными у животных из других регионов России (Вологодская обл. [20, 21]; Кемеровская обл. [22]) и других стран мира [38–42]. Тем не менее у кабанов и лосей Карелии содержание Hg оказалось выше по сравнению с таковым у животных Алтая и Белгородской области [43, 44]. Также мы обнаружили положительные взаимосвязи между концентрациями Hg в печени и почке и в печени и шерсти диких кабанов Карелии.

Характерной особенностью токсичности металлов является нарушение работы ферментных систем и индукция окислительного стресса за счет генерации АФК, которые способны повреждать липиды и ДНК [6]. Активация механизмов антиоксидантной защиты организма зависит от многих факторов окружающей среды, включая загрязнение токсичными элементами. Так, предыдущие исследования выявили изменения антиоксидантов у млекопитающих и человека в ответ на окислительный стресс, вызванный Cd и Pb [9, 10]. Соединения As, Pb и Hg приводили к повышению уровня АФК, перекисного окисления липидов и активности глутатионпероксидазы, что сопровождалось снижением активности супероксиддисмутазы и каталазы и снижению концентраций окисленной и восстановленной форм глутатиона в крови и тканях крыс [45]. Введение в организм мышей соединений Hg приводило к увеличению активностей антиоксидантных ферментов

и повышению уровня GSH [46]. В организме ртуть легко и прочно связывается с сульфгидрильными (тиоловыми) группами (—SH) белков, пептидов, аминокислот и небелковых тиолов цистеина и GSH. Последний является важным антиоксидантом млекопитающих, который предотвращает повреждение клеточных структур, вызванное АФК и другими факторами, включая Hg(II) и CH₃Hg.

У кабанов и лосей Карелии статистически значимых взаимосвязей между уровнем ртути и содержанием исследуемых антиоксидантов (GSH, ретинол и токоферол) во внутренних органах обнаружено не было. По всей видимости, концентрация Hg в организме животных недостаточно высока, чтобы вызывать активацию антиоксидантной защиты внутренних органов. У диких млекопитающих Украины (кабан, косуля, заяц и лисица) уровень Hg в печени, почке и мышце также не коррелировал с уровнями антиоксидантов (активностью антиоксидантных ферментов) [38]. Восстановленная форма глутатиона (GSH) и связанные с ней ферменты считаются наиболее надежными биомаркерами окислительного стресса, лежащего в основе токсичности металлов при антропогенном загрязнении среды [6]. Другие исследователи [9, 10] обнаружили увеличение содержания GSH в печени дикого кабана из региона с высокой антропогенной нагрузкой (загрязнение свинцом). У кабанов Карелии отмечены положительные взаимосвязи умеренной силы между концентрациями GSH в печени и почке и в печени и мышце.

В нашем исследовании мы также определяли содержание витаминов-антиоксидантов α-токоферола и ретинола. Их роль в антиоксидантной защите организма наземных млекопитающих от токсичности металлов в литературе изучена слабо. У крыс предварительное добавление ретинола в пищу приводит к толерантности к гепатотоксичности Cd за счет индукции металлотионеина в печени [47]. Введение в рацион крыс витамина Е предотвращало и смягчало последствия токсического воздействия Pb на структуру и функцию почек [48]. Ранее были обнаружены [9, 10] изменения в статусе витаминов А и Е у диких кабанов из зоны добычи Pb. У животных наблюдалось значительное снижение содержания ретинилстеарата в печени, повышение уровня свободного ретинола и отрицательная взаимосвязь между α-токоферолом в печени и Pb в костях.

Лоси Карелии характеризовались более высоким содержанием α-токоферола в организме, чем кабаны. По всей вероятности, это является особенностью данного вида растительноядных копытных млекопитающих [49], которые получают витамин Е, поедая растения, в частности их зеленые части, богатые α-токоферолом. Лабильный пул витамина Е имеется в плазме и печени; депонируется витамин в жировой ткани [50]. Дефицит витамина Е (совместно с дефицитом селена) приводит к феталь-

ной смертности и абортam, а также к беломышечной болезни. У лосей Карелии мы обнаружили сильные взаимосвязи между концентрациями α -токоферола в исследованных органах, у кабанов эти связи были умеренной силы. Выявленные взаимосвязи, очевидно, свидетельствуют об адекватном поступлении витамина Е с пищей. Печень является основным органом, который регулирует гомеостаз витамина Е в организме и обеспечивает потребность периферических органов и тканей в этом витамине [51].

Отмечают, что α -токоферол может действовать как регулятор активности некоторых антиоксидантных ферментов [52], витамин обладает выраженным синергетическим действием с ретинолом и улучшает его доступность для организма животных [9, 10, 53]. Антиоксидантные свойства α -токоферола сохраняют целостность молекул ретинола и каротина от окислительного разрушения на разных стадиях их метаболизма в организме животных. Вероятно, поэтому у кабанов Карелии мы выявили взаимосвязь между уровнями ретинола и токоферола в почке. Возраст дикого кабана оказался значимым фактором, влияющим на содержание ретинола в печени этого вида животных. Аналогичные результаты были получены ранее на нескольких видах птиц и млекопитающих [54]. Печень играет важную роль в гомеостазе витамина А в качестве основного органа депонирования этого витамина и биотрансформации ретиноидов. Ретинол является метаболически активной формой витамина А, а его возрастное накопление в печени кабанов отражает достаточное поступление этого витамина с пищей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном исследовании мы ставили перед собой цель сравнить концентрацию ртути в организме двух видов копытных млекопитающих Республики Карелия и проанализировать взаимосвязи между уровнем этого токсичного металла и содержанием некоторых антиоксидантов — глутатиона, ретинола и α -токоферола. Подобных исследований на объектах наземных экосистем ранее не проводилось. Обнаружены видовые и тканеспецифичные особенности изученных показателей у кабанов и лосей. Концентрация ртути в большинстве проб печени и почки кабанов и во всех исследуемых пробах этих же органов лосей находились в пределах оптимальных значений, зарегистрированных для домашних свиней и оленей, соответственно. Зафиксированные нами уровни ртути в тканях и шерсти карельских кабанов и лосей, в основном, были сопоставимы или ниже уровней, отмеченных у животных из других регионов России и других стран мира. У кабанов и лосей Карелии статистически значимых взаимосвязей между уровнем ртути и содержанием исследуемых низкомолекулярных антиоксидантов во внутренних органах обна-

ружено не было. По всей видимости, концентрация ртути в организме животных недостаточно высока, чтобы вызывать активацию антиоксидантной защиты внутренних органов. Лоси характеризовались более высоким содержанием α -токоферола в организме, чем кабаны, что обусловлено особенностями питания данного вида растительноядных копытных млекопитающих. Результаты исследования могут свидетельствовать об относительно низком уровне загрязнения ртутью наземных экосистем Карелии.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Для данного исследования не требовалось одобрения биоэтического комитета ИБ КарНЦ РАН, поскольку биологический материал был получен от животных, добытых в результате легальной охоты, сроки которой были определены в соответствии с Приказом Минприроды России (от 16.11.2010 № 512 “Об утверждении Правил охоты”), Указом главы Республики Карелия (от 20.09.2012 № 122 “Об определении параметров осуществления охоты в охотничьих угодьях на территории Республики Карелия, за исключением особо охраняемых природных территорий федерального значения”). Животные были застрелены охотниками во время охотничьих сезонов 2017–2022 гг.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 23-24-10001, <https://rscf.ru/project/23-24-10001/>, проводимый совместно с Республикой Карелия с финансированием из Фонда венчурных инвестиций Республики Карелия (ФВИ РК)).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (С.Н.К., В.А.И.), сбор биоматериала (Д.В.П.), проведение лабораторных анализов и обработка данных (все авторы), написание манускрипта (С.Н.К., В.А.И.) и его редактирование (все авторы).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность сотрудникам Минприроды Республики Карелия М.Ю. Шилиеву и И.А. Бердникову за содействие в сборе биоматериала.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. WHO (2017) Ten chemicals of major health concern. http://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/chemicals_phc/en/index.html

2. *Kalisińska E* (ed.) (2019) Mammals and birds as bioindicators of trace element contaminations in terrestrial environments: an ecotoxicological assessment of the Northern Hemisphere. — Springer.
3. *Gworek B, Dmuchowski W, Baczevska-Dąbrowska AH* (2020) Mercury in the terrestrial environment: A review. *Environ Sci Eur* 32(1): 1–19.
<https://doi.org/10.1186/s12302-020-00401-x>
4. *UKHSA* (2022) Elemental Mercury and Inorganic Mercury: Toxicological Overview.
<https://www.gov.uk/government/publications/mercury-properties-incident-management-and-toxicology/elemental-mercury-and-inorganic-mercury-toxicological-overview#ref4>
5. *Scheuhammer AM, Meyer MW, Sandheinrich MB, Murray MW* (2007) Effects of environmental methylmercury on the health of wild birds, mammals, and fish. *Ambio* 36:12–17.
[https://doi.org/10.1579/0044-7447\(2007\)36\[12:EOEMOT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1579/0044-7447(2007)36[12:EOEMOT]2.0.CO;2)
6. *Isaksson C* (2010) Pollution and its impact on wild animals: a meta-analysis on oxidative stress. *EcoHealth* 7(3):342–350.
<https://doi.org/10.1007/s10393-010-0345-7>
7. *Lushchak VI* (2011) Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicol* 101(1):13–30.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.10.006>
8. *Defo MA, Pierron F, Spear PA, Bernatchez L, Campbell PGC, Couture P* (2012) Evidence for metabolic imbalance of vitamin A2 in wild fish chronically exposed to metals. *Ecotoxicol Environ Safety* 85:88–95.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.08.017>
9. *Rodríguez-Estival J, Martínez-Haro M, Monsalve-González L, Mateo R* (2011) Interactions between endogenous and dietary antioxidants against Pb-induced oxidative stress in wild ungulates from a Pb polluted mining area. *Sci Total Environ* 409:2725–2733.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.04.010>
10. *Rodríguez-Estival J, Taggart MA, Mateo R* (2011) Alterations in vitamin A and E levels in liver and testis of wild ungulates from a lead mining area. *Arch Environ Contam Toxicol* 60(2):361–371.
<https://doi.org/10.1007/s00244-010-9597-z>
11. *Engin KN* (2009) Alpha-tocopherol: looking beyond an antioxidant. *Mol Vision* 15:855.
12. *Peraza AM, Ayala-Fierro F, Barber DS, Casarez E, Rael L* (1998) Effects of micronutrients on metal toxicity. *Environ Health Persp* 106:(Suppl.1):1–27.
<https://doi.org/10.1289/ehp.98106s1203>
13. *Debier C, Larondelle Y* (2005) Vitamins A and E: metabolism, roles and transfer to offspring. *Br J Nutr* 93:153–174.
<https://doi.org/10.1079/BJN20041308>
14. *Alpsoy L, Yildirim A, Agar G* (2009) The antioxidant effects of vitamin A, C, and E on aflatoxin B1-induced oxidative stress in human lymphocytes. *Toxicol Industr Health* 25:121–127.
<https://doi.org/10.1177/0748233709103413>
15. *Pereira AA, van Hattum B, Brouwer A* (2012) Hepatic retinoid levels in seven fish species (teleosts) from a tropical coastal lagoon receiving effluents from iron-ore mining and processing. *Environment Toxicol Chem* 31:408–416.
<https://doi.org/10.1002/etc.740>
16. *Wayland M, Smits JEG, Gilchrist HG, Marchant T, Keating J* (2003) Biomarker responses in nesting, common eiders in the Canadian arctic in relation to tissue cadmium, mercury and selenium concentrations. *Ecotoxicol* 12:225–237.
<https://doi.org/10.1023/A:1022506927708>
17. *Lavoie RA, Jardine TD, Chumchal MM, Kidd KA, Campbell LM* (2013) Biomagnification of mercury in aquatic food webs: a worldwide meta-analysis. *Environ Sci Technol* 47(23):13385–13394.
<https://doi.org/10.1021/es403103t>
18. *Zillioux EJ, Porcella DB, Benoit JM* (1993) Mercury cycling and effects in freshwater wetland ecosystems. *Environ Toxicol Chem* 12:2245–2264.
<https://doi.org/10.1002/etc.5620121208>
19. *Medvedev N* (1999) Levels of heavy metals in Karelian wildlife, 1989–91. *Environ Monit Assess* 56:177–193.
<https://doi.org/10.1023/A:1005988511058>
20. *Eltsova L, Ivanova E* (2021) Total mercury level in tissues of commercial mammalian species (wild boar, moose) of the Russky Sever National Park (North-West of Russia). In *E3S Web of Conferences* (Vol. 265, p. 05009). EDP Sciences
21. *Степанова ИК, Комов ВТ* (1996) Ртуть в абиотических и биотических компонентах озер Северо-Запада России. *Экология* 3:198–203. [*Stepanova IK, Komov VT* (1996) Mercury in abiotic and biotic components of lakes in Northwestern Russia. *Ecology* 3:198–203. (In Russ)].
22. *Prosekov AY, Altshuler OG, Kurbanova MG* (2021) Quality and Safety of Game Meat from the Biocenosis of the Be-loosipovo Mercury Deposit (part 2). *Food Proc: Techniq Technol* 51(4):654–663.
<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-654-663>
23. *Горбунов АВ, Ляпунов СМ, Ермолаев БВ* (2019) Распределение ртути в природных и урбанизированных средах Карелии. *Экология человека* 4:10–17. [*Gorbinov AV, Lyapunov SM, Yermolaev BV* (2019) Distribution of mercury in natural and urban environments of Karelia. *Hum Ecol* 4:10–17. (In Russ)].
24. *Немова НН* (2005) Биохимическая адаптация накопления ртути у рыб. М.: Наука, 164 с. [*Nemova NN* (2005) Biochemical adaptation of mercury accumulation in fish. М.: Nauka, 164 p. (In Russ)].
25. *Zaitseva IA, Baishnikova IV, Panchenko DV, Kalinina SN, Ilyina TN, Antonova EP* (2023) The Content of Retinol, α-Tocopherol and Glutathione in Tissues of the Wild Boar (*Sus scrofa* L.) Inhabiting the Northwest of Russia. *J Evol Biochem Physiol* 59(3):744–755.
<https://doi.org/10.1134/S0022093023030092>
26. *Matschke GH* (1967) Aging European wild hogs by dentition. *J Wildl Manag* 31(1):109–113.
27. *Moore CD, Fahlman A, Crocker DE, Robbins KA, Trumble SJ* (2015) The degradation of proteins in pinniped skeletal muscle: viability of post-mortem tissue in physiological research. *Conserv Physiol* 3(1):1–8.
<https://doi.org/10.1093/conphys/cov019>
28. *Назаренко ИИ, Кислосева ИВ, Кашина ЛИ* (1986) Атомно-адсорбционное определение ртути в водах после сорбционного концентрирования на полимерном тизеофоре. *Журн аналитич хим* 11(8):1385–1390. [*Nazarenko II, Kisloeva IV, Kashina LI* (1986) Atomic adsorption determination of mercury in waters after sorption

- concentration on a polymer thioether. *J Analytical Chem* 11(8):1385–1390. (In Russ)].
29. Скурихин ВН, Двинская ЛМ (1989) Определение α -токоферола и ретинола в плазме крови сельскохозяйственных животных методом микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Сельскохозяйственная биология* 4:127–129. [Skurihin VN, Dvinskaya LM (1989) Determination of α -tocopherol and retinol in the blood plasma of farm animals using microcolumn high-performance liquid chromatography. *Agricult Biol* 4:127–129. (In Russ)].
 30. Sedlak J, Lindsay RH (1968) Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem* 25:192–205
 31. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randan RJ (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193(1):265–275.
 32. Унгуряну ТН, Гржибовский АМ (2011) Краткие рекомендации по описанию, статистическому анализу и представлению данных в научных публикациях. *Экология человека* 5:55–60. [Unguryanu TN, Grzhibovskii AM (2011) Brief recommendations for the description, statistical analysis and presentation of data in scientific publications. *Hum Ecol* 5:55–60. (In Russ)].
 33. Wisconsin Veterinary Diagnostic Laboratory (WVDL) (2015) Normal range values for WVDL Toxicology.
 34. Данилов ПИ (2017) Охотничьи звери Карелии (экология, ресурсы, управление, охрана). Петрозаводск: Карельский научный центр, 388 с. [Danilov PI (2017) Game animals of Karelia (ecology, resources, management, protection). Petrozavodsk: Karel Sci Centr, 388 p. (In Russ)].
 35. Ballari SA, Barrios-García MN (2014) A review of wild boar (*Sus scrofa*) diet and factors affecting food selection in native and introduced ranges. *Mammal Rev* 44(2):124–134. <https://doi.org/10.1111/mam.12015>
 36. Филонов КП (1983) Лось. М.: “Лесная промышленность”, 248 с. [Filonov KP (1983) Moose. М.: “Lesnaya promyshlennost”, 248 s. (In Russ.)]
 37. Squadrone S, Robetto S, Orusa R, Griglione A, Falsetti S, Paola B, Abete MC (2022) Wildlife hair as bioindicators of metal exposure. *Biol Trace Elem Res* 200(12):5073–5080. <https://doi.org/10.1007/s12011-021-03074-6>
 38. Tomza-Marciniak A, Pilarczyk B, Drozd R, Pilarczyk R, Juszcak-Czasnojć M, Havryliak V, Podlasinska J, Udała J (2023) Selenium and mercury concentrations, Se: Hg molar ratios and their effect on the antioxidant system in wild mammals. *Environment Pollut* 322:121234. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121234>
 39. Lazarus M, Crnić AP, Bilandžić N, Kusak J, Reljić S (2014) Cadmium, lead and mercury exposure assessment among Croatian consumers of free-living game. *Archiv Industr Hygien Toxicol* 65(3). <https://doi.org/10.2478/10004-1254-65-2014-2527>
 40. Piskorová L, Vasilková Z, Krupicer I (2003) Heavy Metal Residues in Tissues of Wild Boar (*Sus scrofa*) and Red Fox (*Vulpes vulpes*) in the Central Zemplin Region of the Slovak Republic. *Czech J Anim Sci* 48:134–138.
 41. Demirbaş Y, Erduran N (2017) Concentration of selected heavy metals in brown hare (*Lepus europaeus*) and wild boar (*Sus scrofa*) from central Turkey. *Balk J Wildl Res* 4:26–33. <https://doi.org/10.15679/bjwr.v4i2.54>
 42. Bilandžić N, Sedak M, Dokic M, Simic A (2010) Heavy Metal Concentrations in Tissues of Wild Boar of Continental Croatia. *Int J Environ Protect* 2:6–9.
 43. Бондарев АЯ (2012) Токсиканты в организмах волка и некоторых других млекопитающих Алтайского края. Вестник Алтайского государственного аграрного университета 91(5):44–49. [Bondarev AY (2012) Toxicants in the organisms of the wolf and some other mammals of the Altai Territory. *Bull Altai State Agr Univ* 91(5):44–49. (In Russ)].
 44. Курченко ГА (2002) Оценка содержания ртути в органах животных и окружающей среде [Белгородская обл.]. Экологическая безопасность в АПК. Реферативный журнал 1:5–5. [Kurchenko GA (2002) Assessment of mercury content in animal organs and the environment [Belgorod region]. *Environment Saf Agricult. Abstract J* 1:5–5. (In Russ.)]
 45. Agrawal S, Flora G, Bhatnagar P, Flora SJS (2014) Comparative oxidative stress, metallothionein induction and organ toxicity following chronic exposure to arsenic, lead and mercury in rats. *Cell Mol Biol* 60(2):13–21. <http://cellmolbiol.org/index.php/CMB/article/view/530>
 46. Hussain S, Atkinson A, Thompson SJ, Khan AT (1999) Accumulation of mercury and its effect on antioxidant enzymes in brain, liver, and kidneys of mice. *J Environ Sci Health B34(4):645–660*. <https://doi.org/10.1080/03601239909373219>
 47. Sauer JM, Waalkes MP, Hooser SB, Baines AT, Kuester RK, Sipes IG (1997) Tolerance induced by all-trans-retinol to the hepatotoxic effects of cadmium in rats: role of metallothionein expression. *Toxicol Appl Pharmacol* 143(1):110–119. <https://doi.org/10.1006/taap.1996.8050>
 48. Alasia D, Etem-Chioma P, Ojeka S (2020) An evaluation of the mitigating effects of α -tocopherol (vitamin E) and ascorbic acid (vitamin C) on the renal function and histology of adult male albino Wistar rats with sub-acute lead acetate exposure. *Occup Dis Environ Med* 8:35–49. <https://doi.org/10.4236/odem.2020.82003>
 49. Ильина ТН, Руоколайнен ТР, Белкин ВВ, Баишниковая ИВ (2011) Токоферол в физиологических адаптациях млекопитающих различного экотипа. Труды Карельского научного центра РАН 3:49–56. [Irina TN, Ruokolainen TR, Belkin VV, Baishnikova IV (2011) Tokoferol v fiziologicheskikh adaptatsiyah mlekopitayushchih razlichnogo ekotipa [Tocopherol in physiological adaptations of mammals of different ecogenesis]. *Proc Karelian Sci Center RAS* 3:49–56. (In Russ.)]
 50. Combs Jr GF, McClung JP (2016) The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health. Academic press.
 51. Traber MG (2013) Mechanisms for the prevention of vitamin E excess. *J Lipid Res* 54:2295–2306. <https://doi.org/10.1194/jlr.R032946>

52. Vertuani S, Angusti A, Manfredini S (2004) The antioxidants and pro-oxidants network: an overview. *Curr Pharm Des* 10:1677–1694.
<https://doi.org/10.2174/1381612043384655>
53. Tesoriere L, Bongiorno A, Pintaudi AM, D'Anna R, D'Arpa D, Livrea MA (1996) Synergistic interactions between vitamin A and vitamin E against lipid peroxidation in phosphatidylcholine liposomes. *Arch Biochem Bioph* 326(1):57–63.
<https://doi.org/10.1006/abbi.1996.0046>
54. Majchrzak D, Fabian E, Elmadfa I (2006) Vitamin A content (retinol and retinyl esters) in livers of different animals. *Food Chem* 98(4):704–710.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.035>

THE MERCURY AND LOW MOLECULAR-WEIGHT ANTIOXIDANTS LEVELS IN UNGULATES OF THE REPUBLIC OF KARELIA

S. N. Kalinina^{a, #}, V. A. Ilyukha, V. T. Komov^b, I. A. Zaitseva^a,
I. V. Baishnikova^a, D. V. Panchenko^a and E. P. Antonova^a

^a *Institute of biology of Karelian Research Centre of Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia*

^b *Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences, Borok, Russia*

[#] *e-mail: cvetnick@yandex.ru*

The high toxicity of mercury (Hg) poses a danger to the environment and humans, but studies of the concentration of this metal in organisms of terrestrial ecosystems are few. Ecotoxicologists also pay little attention to studying the role of antioxidant vitamins in protecting cells from toxic metals. The Republic of Karelia is one of the northwestern regions of Russia, the biogeochemical features of which can contribute to an increase in the mobility and bioavailability of Hg in food chains. The purpose of the work was to determine the concentration of Hg in the liver, kidneys, muscle and hair of ungulate mammals of the Republic of Karelia (wild boar *Sus scrofa* L. and moose *Alces alces* L.) and to analyze the relationship between the level of this toxic metal and the content of low molecular-weight antioxidants – reduced glutathione, retinol and α -tocopherol. Species and tissue-specific of the studied parameters in wild boars and moose are noted. The observations discovered by other researchers that omnivorous species accumulate more Hg in their tissues compared to herbivores, and also that this toxic metal is predominantly accumulated in the kidneys, while muscles contain a minimal amount, have been confirmed. Hg concentrations in most samples of liver and kidney of wild boars and in all samples of these same organs of moose were within the limits recorded for domestic pigs and deer, respectively. The levels of Hg we recorded in the tissues and hair of wild boars and moose were generally comparable to or lower than the levels of this metal noted in animals from other regions of Russia and other countries of the world. In wild boars and moose of Karelia, no statistically significant relationships were found between the Hg level and the content of the studied antioxidants in the internal organs. Moose were characterized by a higher content of α -tocopherol in the body than wild boars, which is a feature of this type of herbivorous ungulate mammal. The results of the study indicate a relatively low level of mercury pollution in terrestrial ecosystems in Karelia.

Keywords: toxicity, mercury, retinol, α -tocopherol, glutathione, wild boar, moose