



## Возрастные изменения тканевой антиоксидантной защиты у лесной мышовки (*Sicista betulina*, Rodentia) на северной периферии ареала обитания

Е.П. Антонова<sup>1, 2, \*</sup> , В.А. Илюха<sup>2, 3</sup> , А.Е. Якимова<sup>1</sup> ,  
И.В. Баишникова<sup>1</sup> , Т.Н. Ильина<sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Институт биологии, Федеральный исследовательский центр «Карельский научный центр Российской академии наук», Россия, 185910, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, д. 11;

<sup>2</sup> Петрозаводский государственный университет, Россия, 185910, г. Петрозаводск, пр. Ленина, д. 33;

<sup>3</sup> Институт биологии внутренних вод имени И.Д. Папанина, Российская академия наук, Россия, 152742, Ярославская обл., Некоузский р-н, п. Борок  
\*e-mail: antonova88ep@mail.ru

Проведено исследование уровня тканевых антиоксидантов у молодых и взрослых (зимовавших) особей зимоспящего вида – лесной мышовки (*Sicista betulina* Pallas, 1779), обитающей вблизи северной границы ареала распространения (Республика Карелия). Показана гетерохронность возрастных изменений показателей антиоксидантной системы: активность каталазы в почках снижалась, а в сердце, напротив, увеличивалась с возрастом; у взрослых особей лесной мышовки активность супероксиддисмутазы в почках, сердечной и скелетной мышце выше, чем у молодых животных. У молодых особей отмечен более низкий уровень низкомолекулярных антиоксидантов – восстановленного глутатиона (почки и сердце) и  $\alpha$ -токоферола (сердце и скелетная мышца) – по сравнению с зимовавшими животными, что, вероятно, связано не только с активным ростом и высокой степенью подвижности молодых особей в период расселения, но и с напряженностью физиологических систем в связи с обитанием в условиях Севера и подготовкой к зимней спячке. Обнаружены более высокие уровни восстановленного глутатиона и  $\alpha$ -токоферола в сердце зимовавших особей лесной мышовки по сравнению с другими зимовавшими представителями отряда Rodentia, обитающими в Республике Карелия, что подчеркивает важную роль низкомолекулярных антиоксидантов в защите тканей от окислительных повреждений у этого вида.

**Ключевые слова:** млекопитающие, антиоксиданты, зимоспящие, старение, гомеостаз, витамин E

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-80-2-2

### Введение

Окислительный стресс представляет собой универсальное звено развития как возрастных изменений, так и патологического процесса многих заболеваний [1, 2]. Обусловлено это тем, что с возрастом в результате ухудшения функционального состояния митохондрий усиливается образование активных форм кислорода (АФК), которые легко вступают во взаимодействие с липидами и нуклеиновыми кислотами, карбоксильными, амидными и заряженными аминокислотными группами аминокислотных остатков белков, вызывая их окислительную модификацию. Наряду с этим, снижается устойчивость антиоксидантной системы (АОС), что также способствует свободнорадикальному поврежде-

нию клеток и развитию возрастных патологий [1]. Возрастные изменения антиоксидантной защиты тканей у млекопитающих, как правило, асинхронны и могут значительно варьировать между видами [3, 4]. Особый интерес в этом плане представляют мелкие зимоспящие виды, адаптированные к условиям гипоксии и реоксигенации и способные значительно изменять уровень метаболизма и окислительно-восстановительные процессы в тканях [5, 6].

Лесная мышовка (*Sicista betulina* Pallas, 1779) – представитель семейства мышовковые (Sminthidae), обитающий преимущественно в таежной зоне, относится к мелким зимоспящим видам и обладает уникальными характеристиками гиберна-

ции [7]. Во-первых, период зимней спячки у лесной мышовки может длиться более семи месяцев [8]. Во-вторых, скорости охлаждения (cooling rate, CR) и разогревания (warming rate, WR) при пробуждении от гибернации у лесной мышовки очень высоки (CR – 1,53°C ч<sup>-1</sup>, а WR – 72,0°C ч<sup>-1</sup>). Для сравнения, у схожих по массе тела гибернирующих видов – северной карликовой мыши (*Baiomys taylori* Thomas, 1887) и ночницы Наттерера (*Myotis nattereri* Kuhl, 1817) – эти показатели равны: CR – 1,44 и 0,77, а WR – 20,4 и 63,0, °C ч<sup>-1</sup> соответственно [7]. Температура тела лесной мышовки может повышаться на величину до 1°C в минуту, а потребление кислорода в течение 30 мин увеличиться в 25 раз, что значительно выше, чем у других гибернирующих видов млекопитающих [7, 9]. Известно, что резкое повышение температуры и скорости метаболизма в период пробуждения сопровождается окислительным стрессом, ассоциированным с увеличением потребления кислорода [10]. Особое значение в этих условиях приобретает система антиоксидантной защиты, которая минимизирует окислительные повреждения тканей. Несмотря на колоссальные метаболические изменения, средняя продолжительность жизни зимоспящей лесной мышовки в условиях Севера составляет 2,5–3 г. [8], при том, что у близкого по размеру негибернирующего вида грызунов – рыжей полевки (*Myodes glareolus* Schreber, 1780) – она равняется 13–15 мес. [11]. В связи с этим, интересным является вопрос о влиянии гибернации на механизмы биологического старения, в которых, безусловно, важное значение имеют повреждения биомолекул внутренними и внешними факторами при окислительном метаболизме [5]. В доступной нам литературе встречаются исследования, выполненные на разных гибернирующих видах сусликов, хомячков, а также рукокрылых [5, 6, 10, 12–15], в то время как сведения о возрастных изменениях АОС у мелких зимоспящих представителей отряда Rodentia отсутствуют.

Целью нашего исследования стало изучение уровня антиоксидантов в тканях (сердце, печень, почки и скелетные мышцы) у молодых (сеголетки) и взрослых (зимовавшие) особей лесной мышовки, обитающих вблизи северной границы ареала распространения (Республика Карелия).

Таблица 1

Характеристика лесных мышовок, отловленных для исследования

Возраст	Количество, самцы / самки	Масса тела, г	Длина тела, мм
Молодые (сеголетки)	8/5	7,12 (6,23; 7,72)	59,20 (57,10; 63,30)
Взрослые (зимовавшие)	7/5	8,94* (6,62; 9,60)	64,85 (55,80; 68,75)

Примечание: \* – различия статистически значимы по сравнению с молодыми животными (p < 0,05).

## Материалы и методы

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук» с соблюдением международных принципов Директивы Евросоюза 2010/63/EU о гуманном отношении к животным и правил проведения работ с использованием экспериментальных животных. Объектами исследования антиоксидантного статуса тканей являлись добытые в июле-августе в подзоне средней тайги на Северо-Западе России особи лесной мышовки (*Sicista betulina*): молодые (сеголетки, 8♂ и 5♀) и взрослые (зимовавшие, 7♂ и 5♀) (табл. 1).

Животных отлавливали стандартными методами в основных типах биотопов, используя ловушки (давилки) фабричного производства и ловчие канавки. После отлова животных взвешивали, измеряли длину тела, определяли возраст, пол и отбирали образцы тканей, которые замораживали до проведения анализа. При отнесении животного к той или иной возрастной группе учитывались следующие признаки: развитие тимуса, строение черепа, состояние репродуктивной системы. Необходимо отметить, что в условиях Северо-Запада России лесные мышовки впервые начинают размножаться в возрасте около года, после первой зимовки и в год рождения никаких изменений в их гонадах, характерных для полового созревания, не обнаруживается [8]. Размеры тела и тимуса прибылых особей достоверно отличаются от размеров зимовавших, что также позволяет разделить выборку на зимовавших и прибылых зверьков.

Спектрофотометрически (приборы Thermo Spectronic Genesys 20 spectrophotometer (Thermo-Fisher Waltham, США), спектрофотометр СФ-2000 (Россия), мультимодальный ридер SuPerMax 3000FA (Китай)) исследовали активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы, а также содержание восстановленного глутатиона (GSH). Анализ проб проводили в трех повторностях. Для определения активности антиоксидантных ферментов и содержания белка гомогенаты тканей готовили в 0,05 М фосфатном буферном растворе (рН 7,0). После центрифугирования при 6000g в течение 15 мин в полученных супернатантах измеряли активность ферментов: СОД – по модифицированной адrenoхромной методике [16], а каталазы – по количеству разложенного H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [17]. За 1 усл. ед. активности СОД принимали количество фермента, способное затормозить реакцию автоокисления адреналина на 50%, а за 1 ед. активности каталазы – количество мкмоль H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, разложенного за 1 мин. Содержание белка определяли по методу Лоури [18] с использованием в качестве стандарта бычьего сывороточного альбумина. Удельную активность антиоксидантных ферментов рассчитыва-

ли на 1 мг белка. Содержание GSH определяли по методу Элмана и выражали в мкмоль/г ткани [19].

Содержание  $\alpha$ -токоферола (витамин Е) определяли в печени, почках, сердце и скелетной мышце методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (Милихром-6, Россия) [20]. Образцы тканей (100 мг) гомогенизировали в 0,9 мл 0,25 М раствора сахарозы (рН 7,4) в качестве суспендирующей среды. К гомогенату добавляли 0,025%-ный раствор бутилгидрокситолуола в этиловом спирте и тщательно смешивали для осаждения белков (конечная концентрация бутилгидрокситолуола составила 0,0125%). Приливали 0,0125%-ный раствор бутилгидрокситолуола в н-гексане (конечная концентрация бутилгидрокситолуола – 0,0125%), смесь встряхивали в течение 5 мин, затем центрифугировали при 3000g в течение 10 мин и выдерживали в течение 40 мин при 4°C. Пробу для хроматографического анализа отбирали из верхнего гексанового слоя, элюентом служила смесь гексана с изопропанолом в соотношении 98,5:1,5. Детектирование проводили при 292 нм. При построении калибровочных кривых использовали стандартные растворы  $\alpha$ -токоферола (Sigma-Aldrich, США).

Полученные данные обработаны статистическими методами и были представлены в виде медианы (Me) и процентилей (25%, 75%) (распределение, отличное от нормального). Сравнение

проводили с применением непараметрического U-критерия Манна-Уитни (выявление различий между медианами двух выборок с распределением данных, отличным от нормального). Не обнаружено значимых различий между самками и самцами по исследуемым показателям, поэтому данные были объединены для последующего анализа. Для выявления взаимосвязей между изучаемыми показателями, а также оценки их силы и направления использовали корреляционный анализ. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты

В результате проведенного исследования выявлены тканеспецифические особенности антиоксидантной защиты тканей у лесной мышовки. В печени животных не обнаружено статистически значимых различий активности СОД и каталазы (рис. 1), а также содержания GSH и  $\alpha$ -токоферола (табл. 2) между молодыми и взрослыми животными.

В почках у лесной мышовки наблюдалось увеличение активности СОД и содержания GSH с возрастом, однако активность каталазы, напротив, была ниже у взрослых зимовавших животных по сравнению с молодыми (рис. 1). В сердце у сеголеток обнаружен более низкий уровень антиоксидантов (рис. 2 – активности каталазы и СОД, табл. 2 – содержание GSH и  $\alpha$ -токоферола) по сравнению с показателями зимовавших особей.

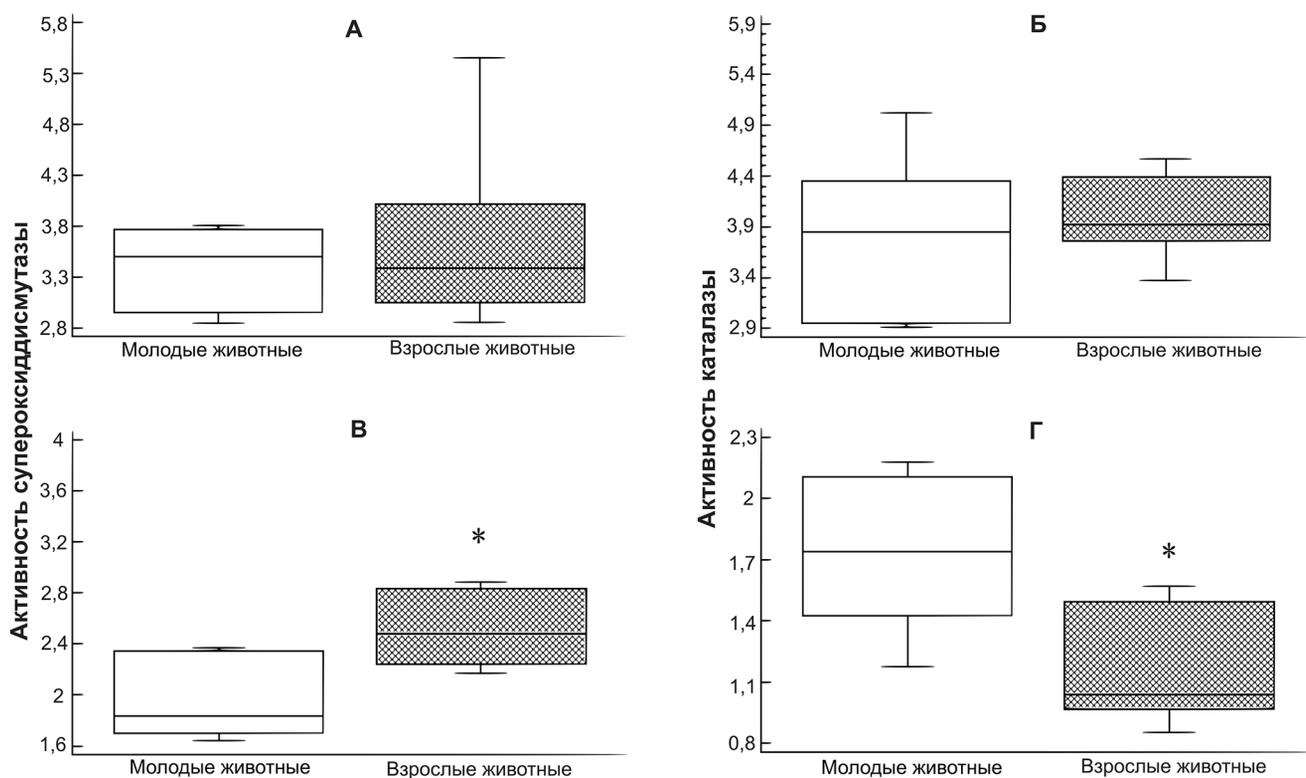


Рис. 1. Активность супероксиддисмутазы (А, В) и каталазы (Б, Г) в тканях печени (А, Б) и почек (В, Г) у лесных мышовок разного возраста.

Здесь и на Рис. 2: \* – различия значимы по сравнению с молодыми животными ( $p < 0,05$ ).

Таблица 2

Медианы значений уровня восстановленного глутатиона (GSH) и  $\alpha$ -токоферола в органах лесной мышовки (в скобках указаны нижний и верхний квартили)

Возраст	Исследуемая ткань			
	Печень	Почки	Сердце	Скелетная мышца
<i>GSH (мкмоль/г ткани)</i>				
Молодые (сеголетки)	18,47 (17,29; 19,33)	11,86 (10,64; 13,46)	23,33 (21,93; 24,59)	12,92 (10,69; 13,46)
Взрослые (зимовавшие)	19,06 (16,87; 19,51)	17,72* (17,46; 22,59)	30,13* (29,14; 32,66)	14,35 (12,58; 14,64)
<i><math>\alpha</math>-токоферол (мкг/г ткани)</i>				
Молодые (сеголетки)	14,29 (10,35; 23,04)	7,75 (6,23; 9,85)	11,09 (9,07; 13,11)	5,68 (4,14; 7,80)
Взрослые (зимовавшие)	17,94 (12,04; 39,29)	16,20 (12,48; 20,13)	56,19* (33,18; 88,59)	12,43* (12,06; 20,37)

Примечание: \* – различия статистически значимы по сравнению с молодыми животными в тех же тканях ( $p < 0,05$ ).

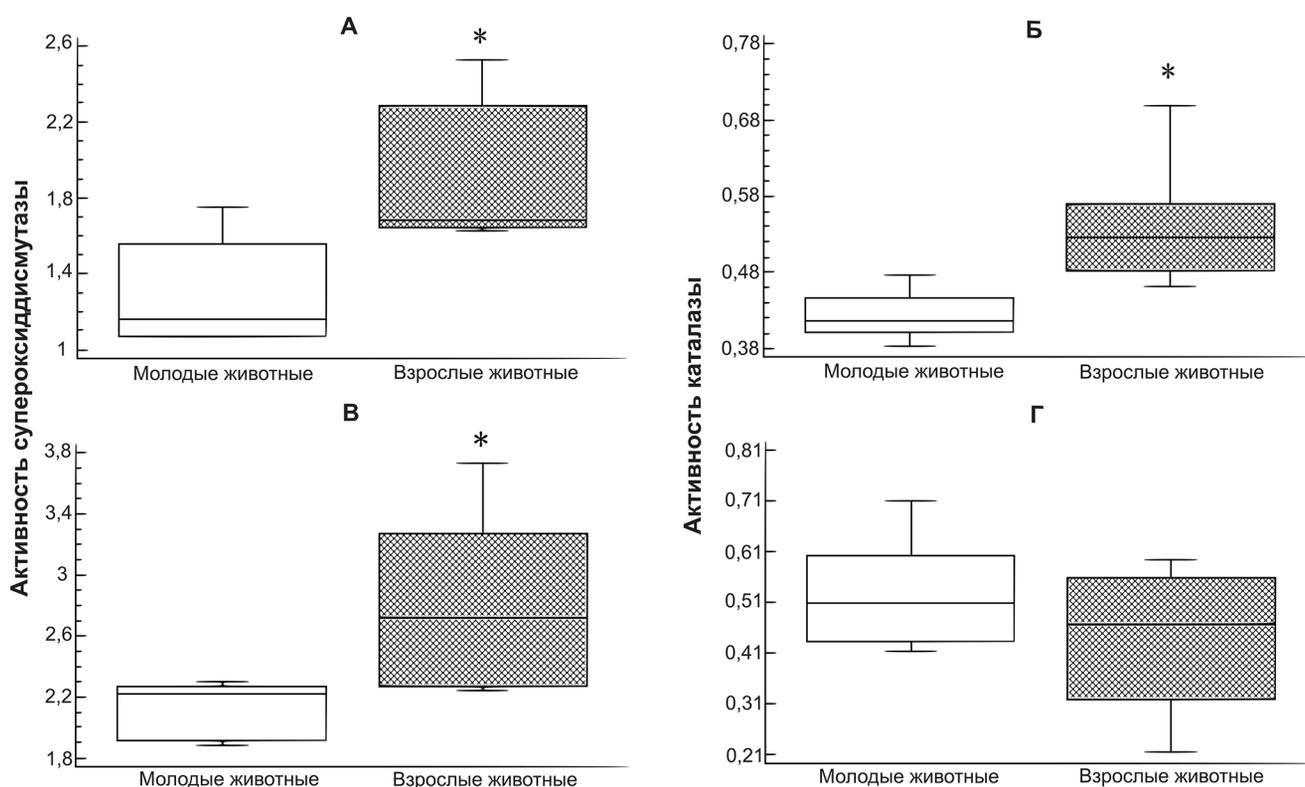


Рис. 2. Активность супероксиддисмутазы (А, В) и каталазы (Б, Г) в тканях сердечной (А, Б) и скелетной мышц (В, Г) у лесных мышовок разного возраста.

\* – различия значимы по сравнению с молодыми животными ( $p < 0,05$ ).

В скелетных мышцах тенденции к изменению изученных показателей были схожи с таковыми для тканей почек, но статистически значимые различия были обнаружены только для активности СОД (рис. 2) и уровня  $\alpha$ -токоферола (табл. 2): у молодых животных данные показатели были ниже, чем у взрослых.

Корреляционный анализ показал наличие положительных взаимосвязей между некоторыми исследуемыми показателями лесных мышовок (табл. 3). Большинство отмеченных статистически значимых связей между показателями являлись сильными ( $r \geq 0,75$ ). Наряду с этим не обнаружено статистически значимых связей между массой тела и уровнями антиоксидантов в тканях.

Таблица 3

Статистически значимые положительные корреляционные связи между исследуемыми показателями у лесной мышовки

Параметры корреляции	Коэффициент Спирмена	
	<i>r</i>	<i>p</i>
АТ печень – АТ сердце	0,76	0,043
АТ печень – АТ скелетная мышца	0,74	0,034
АТ почки – АТ сердце	0,9	0,011
АТ почки – АТ скелетная мышца	0,75	0,025
АТ сердце – АТ скелетная мышца	0,83	0,018
GSH почки – GSH сердце	0,89	0,029

Примечание: АТ –  $\alpha$ -токоферол, GSH – глутатион.

## Обсуждение

В ходе исследования нами были выявлены тканеспецифические возрастные изменения антиоксидантной защиты тканей зимоспящего вида грызунов – лесной мышовки. Почти во всех исследованных органах (исключение – печень) обнаружено статистически значимое увеличение активности СОД с возрастом. Реакция дисмутации супероксидных радикалов ( $O_2^{\cdot-}$ ), катализируемая СОД, приводит к образованию пероксида водорода ( $H_2O_2$ ) и кислорода. Несмотря на это, у лесной мышовки только в сердечной ткани наблюдался рост активности каталазы с возрастом. В почках, напротив, активность каталазы была ниже у взрослых животных по сравнению с молодыми. Наши результаты свидетельствуют о гетерохронности возрастных изменений антиоксидантного статуса тканей лесной мышовки и частично согласуются со сведениями, ранее полученными на других видах млекопитающих. В скелетных мышцах лабораторных крыс (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) активности антиоксидантных ферментов (СОД, каталаза, глутатионпероксидаза (ГПО) и глутатионредуктаза (ГР)), а также уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) увеличиваются в ходе онтогенеза, однако в печени активности СОД и глутатион-S-трансферазы снижались, тогда как активности ГПО и ГР повышались с возрастом [21]. Схожие данные были получены на болотной бурозубке (*Sorex palustris* Richardson, 1828), мелком полуводном млекопитающем, и обыкновенной короткохвостой бурозубке (*Blarina brevicauda* Say, 1823): активность антиоксидантных ферментов (СОД, каталаза, ГПО) в скелетных мышцах у взрослых животных была выше, чем у молодых, при этом с возрастом происходило увеличение содержания только одного маркера окислительного стресса – ПОЛ [3]. В дополнение к этому, у песчанок, лабораторных крыс и мышей (*Mus musculus* L., 1758) показано увеличение скорости образования  $O_2^{\cdot-}$  и  $H_2O_2$ , с возрастом [22]. Авторы предполагают [22], что, в сочетании с возможными возрастными потерями эффективности нейтрализации кислородных радикалов, старые особи должны быть более восприимчивы к воздействию АФК. Интересные результаты были получены на двух видах летучих мышей, различающихся как по средней продолжительности жизни, так и по экологии: пещерной ночницы (*Myotis velifer* J. A. Allen, 1890, продолжительность жизни 8–12 лет, насекомоядная, впадающая в зимнюю спячку) и обыкновенного вампира (*Desmodus rotundus* E. Geoffroy, 1810, 12–20 лет, не впадает в зимнюю спячку) [5]. Установлено, что активность антиоксидантных ферментов выше у *D. rotundus*, чем у *M. velifer*. Кроме того, обнаружено возрастное увеличение активности СОД и снижение активности ГПО и каталазы в тканях (печень, легкие и мозг) как

у *D. rotundus*, так и у *M. velifer* [5]. В исследовании на голых землекопах (*Heterocephalus glaber* Rüppell, 1842) и лабораторных мышах выявили следующие видоспецифические особенности антиоксидантной системы: в печени у мышей активность Мп-СОД возрастала, а активности каталазы и ГПО снижались с возрастом, при этом в печени у голого землекопа не было обнаружено возрастных изменений активности антиоксидантных ферментов и показателей окислительного стресса [22]. Кроме того, у голого землекопа базальный уровень маркеров окислительного стресса был выше, чем у лабораторной крысы и мыши [22]. Несмотря на это, голые землекопы имеют экстремальную продолжительность жизни (до 32 лет в неволе и 17 лет в дикой природе) [23].

Хорошо известно, что большое значение в адаптациях к условиям гипоксии-реоксигенации (ныряние, гибернация) у млекопитающих играют низкомолекулярные антиоксиданты. В нашем исследовании мы обнаружили возрастное увеличение уровня GSH в почках и сердце у лесной мышовки (для сердца оно было максимальным). GSH участвует во многих клеточных функциях, часто посредством регуляции окислительно-восстановительного гомеостаза клеток [24]. Необходимо обратить внимание на тот факт, что содержание GSH в тканях почек и сердца зимовавшей лесной мышовки в этом исследовании было выше, чем у ранее изученных нами рыжей полевки и полевки-экономки (*Alexandromys oeconomus* Pallas, 1776) [25]. Возможно, что высокий базальный уровень этого низкомолекулярного антиоксиданта позволяет лесной мышовке избежать окислительных повреждений при переходе от оцепенения к пробуждению и обратно в период зимней спячки.

При исследовании содержания  $\alpha$ -токоферола у лесной мышовки выявлено повышенное накопление витамина во всех изученных органах с возрастом, для сердечной и скелетной мышцы статистически значимое. Данные по возрастным изменениям уровня  $\alpha$ -токоферола у других видов млекопитающих достаточно противоречивы, что обусловлено целым рядом факторов (полом, видовой принадлежностью, пищевыми предпочтениями, возрастным диапазоном исследований, сезоном). Так, например, результаты исследований на лабораторных грызунах свидетельствуют о накоплении  $\alpha$ -токоферола в тканях органов [26]. Схожие результаты были получены на насекомоядной обыкновенной бурозубке (*Sorex araneus* L., 1758), но при этом не обнаружено возрастных изменений уровня  $\alpha$ -токоферола у растительноядной рыжей полевки, обитающей в этом же регионе [27]. Следует подчеркнуть, что содержание  $\alpha$ -токоферола в тканях сердца зимовавшей лесной мышовки, для которой характерна эврифагия, было значительно выше, чем у рыжей полевки и обыкновен-

ной бурозубки, обитающих в Республике Карелия [27]. Сердце зимоспящих является уникальной моделью повышенной устойчивости к гипоксии [28]. Ранее было выявлено, что перестройки метаболизма у зимоспящих млекопитающих затрагивают, прежде всего, сердце – в связи с переключением энергообеспечения с углеводов как основного источника энергии на жиры. Изоферментные спектры лактатдегидрогеназы сердца лесной мышовки в летний период отличаются наибольшим содержанием анаэробной фракции лактатдегидрогеназы, что можно рассматривать как адаптивный механизм, обеспечивающий функционирование организма в условиях периодически возникающего дефицита кислорода [29].

Для зимоспящих видов млекопитающих витамин Е крайне важен, поскольку является антиоксидантом. Так у сирийских хомяков (*Mesocricetus auratus* Waterhouse, 1839) содержание  $\alpha$ -токоферола в плазме крови увеличивается при гибернации в 3,5 раза по сравнению с периодами до и после пробуждения [12]. Авторы предполагают, что это связано с балансом высвобождения  $\alpha$ -токоферола вместе с липопротеинами из печени и поглощением его клетками посредством эндоцитоза [12]. Кроме того, у зимоспящих летучих мышей, обитающих на Северо-Западе России, уровень  $\alpha$ -токоферола в печени выше в период зимней спячки по сравнению с периодом летней активности [15]. У более крупных зимоспящих млекопитающих накопление жира перед спячкой сочетается с аккумуляцией в организме витамина Е [30]. В нашем исследовании, несмотря на различия в массе тела между молодыми и взрослыми мышовками, мы не обнаружили статистически значимых связей между массой тела и уровнем  $\alpha$ -токоферола. Корреляционный анализ показал наличие положительных взаимосвязей между содержанием витамина в разных органах лесных мышовок, что может быть связано с распределением  $\alpha$ -токоферола внутри организма.

Токоферол может защищать полиненасыщенные жирные кислоты или липиды клеточной мембраны от ПОЛ во время пробуждения от оцепенения [12]. Помимо этого, отмечают, что особое значение  $\alpha$ -токоферол имеет при гипотермии [30, 31]. Холодоустойчивость (4°C) гепатоцитов сирийского хомяка *in vitro* зависит от рациона питания животных, используемых для культивирования клеток: диеты с высоким содержанием витамина Е (более >150 мг/кг) поддерживают большую устойчивость гепатоцитов к низким температурам по сравнению с диетами с более низким количеством витамина (менее <70 мг/кг) [30]. Интересно, что подобная диета с высоким содержанием токоферола не обеспечила устойчивость к холоду клеток печени лабораторных мышей, что указывает на видовые особенности [30]. В исследовании Кличханова и соавт. [31] обнаружено снижение разви-

тия окислительного стресса в эритроцитах при совместном внутрибрюшинном введении витаминов С (100 мг/кг) и Е (40 мг/кг) лабораторным крысам при острой умеренной гипотермии (30°C).

Различия в уровне антиоксидантной защиты между молодыми и взрослыми особями лесной мышовки можно объяснить множеством факторов, включая скорость основного обмена и экологические характеристики (например, двигательная активность, рацион питания, особенности онтогенеза и др.). Известно, что максимальная скорость потребления кислорода и удельная скорость обмена веществ у млекопитающих снижаются с увеличением массы тела [32]. Следовательно, необходимо учитывать эффект масштабирования в зависимости от массы тела. Ожидается, что более мелкое молодое животное будет обладать большей скоростью окислительного метаболизма, чем взрослое [32]. В дополнение к этому, особенности двигательной активности грызунов тесно связаны с возрастом животных и типом их питания. Молодые особи лесной мышовки при переходе к самостоятельному образу жизни приспосабливаются к новым условиям существования, активно расселяются и в то же время интенсивно растут [33]. Сеголетки лесной мышовки, по сравнению с зимовавшими особями, обладают относительно большей длиной кишечника и не отличаются от взрослых животных по индексу сердца и почек, что свидетельствует о высокой степени подвижности прибылых особей, напряженности их метаболизма и большим расходом энергетических субстратов [33]. Вполне вероятно, что именно поэтому молодые особи лесной мышовки отличаются от взрослых, как правило, более низким уровнем тканевых антиоксидантов. Также необходимо подчеркнуть, что животные были отловлены в Республике Карелия – вблизи северной границы ареала распространения. Обитание в условиях Севера требует дополнительных функциональных резервов для поддержания гомеостаза у млекопитающих.

Дискуссионным остается вопрос о том, влияет ли гибернация на продолжительность жизни млекопитающих. Предполагается, что при сниженном метаболизме риск окислительных повреждений кислородом также уменьшен. Однако межвидовые сравнения внутри систематических групп обычно приводят к выводу, что гибернация мало влияет на продолжительность жизни. Один из примеров – это продолжительность жизни представителей семейства беличьих. Самым долгоживущим является не впадающий в спячку вид белок и некоторые из видов гибернантов этой группы (например, суслики, сурки, бурундуки) [34]. В исследовании Лимана и др. [35], была показана положительная корреляция между долей времени, проведенного в оцепенении, и долголетием хомяков Брандта (*Mesocricetus brandti* Nehring, 1898). Другая группа – летучие мыши,

которые живут почти в 3,5 раза дольше, чем нележащие млекопитающие того же размера. При этом зимоспящие летучие мыши живут в среднем на 5 лет больше негибернарующих летучих мышей [35, 36]. Однако и для не впадающих в зимнюю спячку летучих мышей характерны оцепенение в дневное время, а также пусть и не столь значительное, но значимое снижение температуры тела. Максимальная продолжительность жизни лесной мышовки в естественных условиях составляет 4 года [8], для сравнения – максимальная продолжительность жизни рыжей полевки в условиях Карелии равняется 15 месяцам [11].

### Заключение

Таким образом, полученные результаты указывают на асинхронное возрастное изменение антиоксидантной защиты тканей лесной мышовки. Молодые особи характеризовались, как правило, более низким уровнем антиоксидантов по сравнению с зимовавшими, что, возможно, связано с напряженностью физиологических процессов и значительным расходом энергетических ресурсов на другие физиологические функции в данный период онтогенеза в условиях Севера – приспособление к новым условиям существования, активное расселение, интенсивный рост организма и подготовка к зимней спячке. Также необходимо подчеркнуть важную роль низкомолекулярных антиоксидантов (глутатион,  $\alpha$ -токоферол) в антиоксидантной защите тканей взрослых особей лесной мышовки.

Полученные результаты дополняют имеющиеся сведения по регуляции поддержания постоянства внутренней среды мелких зимоспящих видов млекопитающих, однако существует еще много нерешенных вопросов в этой области исследований – в частности, большое значение приобретает молекулярно-генетические механизмы активации антиоксидантной системы при переходе от оцепенения к пробуждению и обратно.

Авторы выражают признательность сотрудникам лаборатории экологической физиологии животных Института биологии КарНЦ РАН за помощь в проведении исследования. Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (ФМЭН-2022-0003) и ИБВВ (№124032500016-4). Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры на животных были одобрены независимым Комитетом по биоэтике Института биологии КарНЦ РАН (протокол № 3 от 14 августа 2023 года) в соответствии с Директивой 2010/63/ЕС Европейского парламента. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов исследований. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sohal R.S., Orr W.C. The redox stress hypothesis of aging. *Free. Radic. Biol. Med.* 2012;52(3):539–555.
2. Yang J., Luo J., Tian X., Zhao Y., Li Y., Wu X. Progress in understanding oxidative stress, aging, and aging-related diseases. *Antioxidants (Basel)*. 2024;13(4):394.
3. Hindle A.G., Lawler J.M., Campbell K.L., et al. Muscle aging and oxidative stress in wild-caught shrews. *Comp. Biochem. Physiol., Part B: Biochem. Mol. Biol.* 2010;155(4):427–434.
4. Andziak B., O'Connor T.P., Buffenstein R. Antioxidants do not explain the disparate longevity between mice and the longest-living rodent, the naked mole-rat. *Mech. Ageing Dev.* 2005;126(11):1206–1212.
5. Conde-Perezprina J.C., Luna-Lopez A., Gonzalez-Puertos V.Y., Zenteno-Savín T., León-Galván M.Á., Königsberg M. DNA MMR systems, microsatellite instability and antioxidant activity variations in two species of wild bats: *Myotis velifer* and *Desmodus rotundus*, as possible factors associated with longevity. *Age*. 2012;34(6):1473–1492.
6. Klichkhanov N.K., Nikitina E.R., Shihamirova Z.M., Astaeva M.D., Chalabov S.I., Krivchenko A.I. Erythrocytes of little ground squirrels undergo reversible oxidative stress during arousal from hibernation. *Front. Physiol.* 2021;12:730657.
7. Haase C.G., Fuller N.W., Hranac C.R., Hayman D.T.S., Olson S.H., Plowright R.K., McGuire L.P. Bats are not squirrels: revisiting the cost of cooling in hibernating mammals. *J. Therm. Biol.* 2019;81:185–193.
8. Ивантер Э.В. К популяционной экологии лесной мышовки (*Sicista betulina* Pall.) на северном пределе ареала. Сообщение II. Размножение, экологическая структура популяции, динамика численности. *Принципы экологии*. 2021;3(41):25–41.
9. Johansen K., Krog J. Diurnal body temperature variations and hibernation in the birch mouse, *Sicista betulina*. *Am. J. Physiol.* 1959;196(6):1200–1204.
10. Orr A.L., Lohse L.A., Drew K.L., Hermes-Lima M. Physiological oxidative stress after arousal from hibernation in Arctic ground squirrel. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 2009;153(2):213–221.
11. Ivanter E.V. The reproductive ecology of the bank vole *Myodes (Clethrionomys) glareolus* Schreb. In north periphery of its areal: I. sex cycles, course, dates, and intensive reproduction. *Biol. Bull.* 2020;47(5):535–547.
12. Okamoto I., Kayano T., Hanaya T., Arai S., Ikeda M., Kurimoto M. Up-regulation of an extracellular superoxide dismutase-like activity in hibernating hamsters subjected to oxidative stress in mid- to late arousal from torpor. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 2006;144(1):47–56.
13. James R.S., Staples J.F., Brown J.C., Tessier S.N., Storey K.B. The effects of hibernation on the contractile and biochemical properties of skeletal muscles in the thirteen-lined ground squirrel, *Ictidomys tridecemlineatus*. *J. Exp. Biol.* 2013;216(Pt. 14):2587–2594.

14. Yin Q., Ge H., Liao C.C., Liu D., Zhang S., Pan Y. Antioxidant defenses in the brains of bats during hibernation. *PLoS One*. 2016;11(3):e0152135.
15. Ilyina T.N., Baishnikova I.V., Belkin V.V. Retinol and  $\alpha$ -tocopherol content in the liver and skeletal muscle of bats (*Chiroptera*) during hibernation and summer activity. *J. Evol. Biochem. Phys.* 2022;58(6):1697–1707.
16. Misra H.P., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 1972;247(10):3170–3175.
17. Beers R.F., Sizer I.N. A spectral method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J. Biol. Chem.* 1952;195(1):133–140.
18. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951;193(1):265–275.
19. Sedlak J., Lindsay R.H. Estimation of total, protein-bound and non-protein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem.* 1968;25:192–205.
20. Скурихин В.Н., Двинская Л.М. Определение  $\alpha$ -токоферола и ретинола в плазме крови сельскохозяйственных животных методом микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Сельскохозяйственная биология*. 1989;4:127–129.
21. Ji L.L., Dillon D., Wu E. Alteration of antioxidant enzymes with aging in rat skeletal muscle and liver. *Am. J. Physiol.* 1990;258(4 Pt. 2):R918–R923.
22. Andziak B., O'Connor T.P., Qi W. et al. High oxidative damage levels in the longest living rodent, the naked mole-rat. *Aging Cell*. 2006;5(6):463–471.
23. Saldmann F., Viltard M., Leroy C., Friedlander G. The naked mole rat: a unique example of positive oxidative stress. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019;4502819.
24. Aoyama K., Nakaki T. Glutathione in cellular redox homeostasis: association with the excitatory amino acid carrier 1 (EAAC1). *Molecules*. 2015;20(5):8742–8758.
25. Antonova E.P., Kalinina S.N., Yakimova A.E. et al. Antioxidant defenses in tissues of four species of Arvicolinae (Rodentia, Cricetidae). *Biol. Bull. Russ. Acad. Sci.* 2023;50(Suppl. 3):S428–S435.
26. Matsuo M., Gomi F., Dooley M.M. Age-related alterations in antioxidant capacity and lipid peroxidation in brain, liver, and lung homogenates of normal and vitamin E-deficient rats. *Mech. Ageing Dev.* 1992;64(3):273–292.
27. Ilyina T.N., Baishnikova I.V., Yakimova A.E., Zaitseva I.A. On the concentration of vitamins A and E in the tissues of the bank vole (*Myodes (Clethrionomys) glareolus*) and common shrew (*Sorex araneus*) inhabiting Karelia. *Adv. Gerontol.* 2024;14(1):21–27.
28. van Breukelen F., Martin S.L. The hibernation continuum: physiological and molecular aspects of metabolic plasticity in mammals. *Physiology (Bethesda)*. 2015;30(4):273–281.
29. Антонова Е.П., Сергина С.Н., Илюха В.А., Якимова А.Е. Характеристика видовых и возрастных особенностей лактатдегидрогеназной системы в тканях грызунов (Mammalia: Rodentia). *Труды Карельского научного центра РАН*. 2018;4:3–12.
30. Aneqawa D., Sugiura Y., Matsuoka Y., Sone M., Shichiri M., Otsuka R., Ishida N., Yamada K.I., Suematsu M., Miura M., Yamaguchi Y. Hepatic resistance to cold ferroptosis in a mammalian hibernator Syrian hamster depends on effective storage of diet-derived  $\alpha$ -tocopherol. *Commun. Biol.* 2021;4(1):796.
31. Klichkhanov N.K., Ismailova Z.G., Astaeva M.D., Chalabov Sh.I. Effects of vitamins C and E on free radical processes in the blood of rats in acute moderate hypothermia. *Biol. Bull. Russ. Acad. Sci.* 2019;46:536–543.
32. McNab B.K. An analysis of the factors that influence the level and scaling of mammalian BMR. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 2008;151(1):5–28.
33. Кухарева А.В. К экологии лесной мышовки (*Sicista betulina* Pall) на севере. *Современные проблемы науки и образования*. 2007;4:1–14.
34. Austad S.N. Diverse aging rates in metazoans: targets for functional genomics. *Mech. Ageing Dev.* 2005;126(1):43–49.
35. Lyman C.P., O'Brien R.C., Greene G.C., Papafrangos E.D. Hibernation and longevity in the Turkish hamster *Mesocricetus brandti*. *Science*. 1981;212(4495):668–670.
36. Brunet-Rossinni A.K., Austad S.N. Ageing studies on bats: a review. *Biogerontology*. 2004;5(4):211–222.

Поступила в редакцию 19.03.2025

После доработки 21.05.2025

Принята в печать 12.06.2025

## RESEARCH ARTICLE

# Age-related changes in the tissue antioxidant system of the northern birch mouse (*Sicista betulina*, Rodentia) at the northern periphery of its habitat area

E.P. Antonova<sup>1, 2, \*</sup> , V.A. Ilyukha<sup>2, 3</sup> , A. E. Yakimova<sup>1</sup> , I.V. Baishnikova<sup>1</sup> , T.N. Ilyina<sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Institute of Biology, Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, 11 Pushkinskaya Street, Petrozavodsk, Karelia, 185910, Russia;

<sup>2</sup> Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, 33 Lenina Street, Petrozavodsk, 185910, Russia;

<sup>3</sup> Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences Borok, Yaroslavl Oblast, Necouz Region, 152742, Russia

\*e-mail: antonova88ep@mail.ru

The study was aimed at determining tissue antioxidant levels in juvenile and adult the northern birch mouse (*Sicista betulina* Pallas, 1779) at the northern periphery of its range (Republic of Karelia). Our results are indicating a mixed pattern of age-related changes in the antioxidant defense system: aging was accompanied by a decrease the catalase activity in the kidneys as well

as an increase in heart catalase activity and kidney, cardiac and skeletal muscle superoxide dismutase activity. The levels of low-molecular antioxidants – reduced glutathione (GSH) (kidneys and heart) and  $\alpha$ -tocopherol (heart and skeletal muscle) were lower in the of the northern birch mouse young compared to adult animals, which is probably associated not only with the active growth and high mobility of the juvenile mouse during the dispersal period, but also with the stress of physiological systems due to living in the Northern conditions and preparing for hibernation. Higher levels of GSH and  $\alpha$ -tocopherol were found in the hearts of adult northern birch mouse compared to other small mammal species of the order Rodentia living in the Republic of Karelia, which indicates the important role of low-molecular weight antioxidants in protecting tissues against oxidative injury in this species.

**Keywords:** *mammals, antioxidants, hibernators, aging, homeostasis, vitamin E*

**Funding:** This study was carried out under state assignment to Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences (FMEN-2022-0003) and Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences (№124032500016-4).

### Сведения об авторах

*Антонова Екатерина Петровна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории экологической физиологии животных Института биологии Карельского научного центра РАН. Тел.: 8-8142-57-31-07; e-mail: antonova88ep@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4740-2141>

*Илюха Виктор Александрович* – доктор биол. наук, ст. науч. сотр. Института биологии внутренних вод имени И.Д. Папанина Российской академии наук. Тел.: 8-48547-24-349; e-mail: ilyukha.62@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7085-4154>

*Якимова Алина Евгеньевна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории зоологии Института биологии Карельского научного центра РАН. Тел.: 8-8142-57-31-40; e-mail: angelina73@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9196-1808>

*Башишникова Ирина Валерьевна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории экологической физиологии животных Института биологии Карельского научного центра РАН. Тел.: 8-8142-57-31-07; e-mail: iravbai@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5064-3731>

*Ильина Татьяна Николаевна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории экологической физиологии животных Института биологии Карельского научного центра РАН. Тел.: 8-8142-57-31-07; e-mail: ilyinatn59@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8708-7775>