

УДК 574.2 + 577.121 + 539.1.047

doi: 10.17223/19988591/26/11

Н.А. Орехова

Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия

Биохимический анализ печени лесных мышей (*Apodemus uralensis*), отловленных в зоне Восточно-Уральского радиоактивного следа

Работа выполнена при поддержке Программы ориентированных фундаментальных исследований между Институтами УрО РАН и госкорпорациями РФ (проект № 12-4-002-ЯЦ).

Проведен биохимический анализ на содержание воды, гликогена, общих липидов, ядерных и цитоплазматических белков, ДНК и РНК печени лесных мышей, отловленных на фоновой (контрольной) территории и в зоне влияния Восточно-Уральского радиоактивного следа (ВУРС; результат Кыштымской радиационной аварии 1957 г. на Южном Урале). В изучаемых выборках не созревших сегментов изменчивость массы печени (от 480 до 1 400 мг) и составляющих ее компонентов положительно взаимосвязана с массой тела (от 12 до 23 г) и определяется варьированием возраста животных (от 2 до 4 месяцев). К числу механизмов, лежащих в основе возрастных изменений органа на ВУРСе, следует отнести менее выраженное, чем в контроле, участие гликоген- и ДНК-синтетических процессов в увеличении массы печени, усиление ее гидратации, накопления цитоплазматических белков, липидов и РНК как признаков активизации тканеспецифического метаболизма и наличия функционально более зрелых форм клеток. Эффекты радиационного воздействия рассматриваются в связи с онтогенетической изменчивостью скорости роста и дифференцировки ткани, сформированной в рамках эпигенетических траекторий развития организма.

Ключевые слова: зона ВУРСа; *Apodemus uralensis*; биохимический анализ; печень; онтогенетическая изменчивость.

Введение

Оценка воздействия последствий радиоактивного загрязнения окружающей среды на живые организмы является важной комплексной задачей современной биологии и медицины в связи с появлением обширных территорий, пострадавших в результате крупных аварий, выбросов радиоактивных веществ на объектах ядерного топливного цикла и испытаний ядерного оружия. Исследования на мелких млекопитающих, обитающих на загрязненных территориях, могут послужить отправной точкой для экстраполяции данных наблюдений на физиологию человека.

Структурно-функциональные оценки состояния печени рассматриваются многими авторами как неспецифические интегральные показатели био-

логического действия на организм различных неблагоприятных факторов [1, 2]. В работах последних лет [3–5] показана высокая чувствительность гепатоцитов к повреждающему воздействию малых доз радиации в природной среде обитания мелких млекопитающих. Между тем практически отсутствуют данные по модификации возрастных изменений этого органа животных в условиях радиоактивного загрязнения. Исходя из этого целью данного исследования явилось изучение структурно-функциональных особенностей ткани печени, формирующихся под влиянием радиационного фактора (зона Восточно-Уральского радиоактивного следа – ВУРС), с учетом возрастной гетерогенности особей в популяции.

Материалы и методики исследования

Объектом исследования послужила малая лесная мышь (*Apodemus uralensis* Pallas, 1811) как доминирующий вид в фауне мелких грызунов территории ВУРСа. Животные отловлены в августе – октябре 2002–2010 гг. на участке головной части ВУРСа (55°46' с.ш., 60°52' в.д.) с плотностью загрязнения почвы по ^{90}Sr от 6740 до 16690 кБк/м², расположенном в 13 км от эпицентра Кыштымской аварии, и сопредельном к нему фоновом участке (55°48' с.ш., 60°00' в.д.), принятом за контроль с уровнем ^{90}Sr 43,7 кБк/м² [6]. Расстояние между участками отлова по прямой составляет около 8 км; доля мигрантов по радиометрическим данным – от 0 до 18%, что подтверждает относительную изоляцию облучаемых популяций грызунов зоны ВУРСа [7].

В исследование включено 115 особей в возрасте от 2 до 4 месяцев, не созревших и не размножающихся в год своего рождения, отличающихся замедленными темпами роста и развития (II тип онтогенеза) с общей продолжительностью жизни 13–14 месяцев. Принадлежность зверьков к этой группировке определяли по массе тела, состоянию зубной и генеративной систем [8, 9].

Для анализа структурных компонентов ткани исследовали содержание в печени общих липидов, воды, ядерных и цитоплазматических белков, гликогена и нуклеиновых кислот (ДНК, РНК). Орган взвешивали, гомогенизировали в трис-НСl (0,025 моль/л) буферном растворе (рН = 7,4), содержащем 0,175 моль/л хлорида калия. Из приготовленного гомогената извлекали нуклеиновые кислоты (РНК и ДНК) путем щелочного (0,6 моль/л КОН) и кислотного (0,5 моль/л HClO₄) гидролизом [10], липиды – с помощью смеси (2:1) этанол : петролейный эфир [11], гликоген – путем щелочного гидролиза с последующей обработкой гидролизата этанолом [12]. Выделение ядерных и цитоплазматических белков проводили методом дифференциального центрифугирования [13] с модификацией [14]. Для учета содержания воды в органах навески тканей подвергали тепловой обработке в сушильном шкафу при 105°C [11]. Количественный анализ проводили колориметрическими и спектрометрическими методами по качественной реакции: общих липидов –

с фосфованилиновым реагентом [15]; белка – с органическим красителем кумасси бриллиантовый голубой G250 [16]; РНК и ДНК – с дифениламином [17]; гликогена – с йодным реактивом [18].

Статистическая обработка полученных данных и построение графиков выполнены в программе Statsoft STATISTICA for Windows 7.0 с использованием регрессионного, дисперсионного и дискриминатного анализов [19], статистическая значимость установлена по t-критерию Стьюдента при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение

Масса тела в изучаемых выборках варьирует от 12 до 23 г, что связано, прежде всего, с одновременным присутствием на участках отлова представителей различных когорт (весенних, летних и осенних), различающихся календарным возрастом – от 2 до 4 месяцев. Регрессионный анализ указывает на прямую зависимость массы печени от массы тела животных как в контроле ($R^2 = 0,67$; $p < 10^{-5}$), так и на ВУРСе ($R^2 = 0,69$; $p < 10^{-5}$). Статистически значимое увеличение у животных зоны ВУРСа значения коэффициента b_1 уравнения регрессии (ВУРС: $68,4 \pm 6,1$; контроль: $47,1 \pm 4,3$), графически выражающееся повышением угла наклона кривой к оси абсцисс (рис. 1), свидетельствует о более высокой интенсивности роста органа на радиоактивно загрязненной территории с возрастанием степени отклонения от «нормы» по мере увеличения массы (возраста) животных.

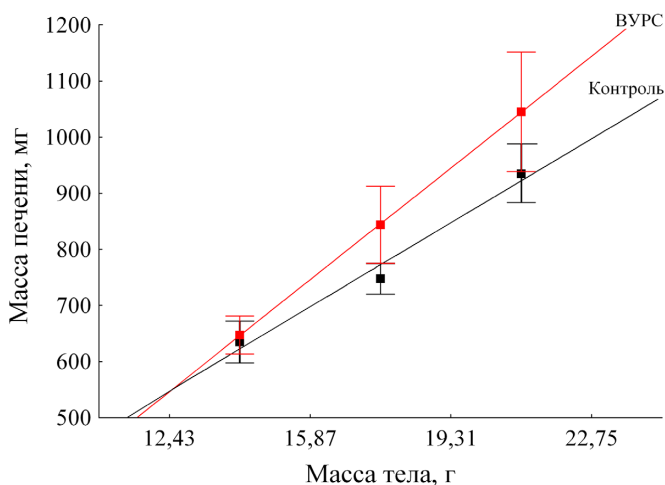


Рис. 1. Зависимость массы печени от массы тела животных, отловленных на контрольной и радиоактивно загрязненной (ВУРС) территориях /

Fig. 1. Dependence of the liver weight from the body weight of the animals trapped on the control (Контроль) and radioactively polluted territories (ВУРС).

Mean value and 95% confidence interval (on the ordinate axis – Liver weight (mg), on the abscissa axis – Body weight (g))

В качестве клеточно-тканевых механизмов, обуславливающих увеличение массы печени, авторами [20–22] рассматриваются процессы пролиферации гепатоцитов, их полиплоидия, а также увеличение цитоплазматического объема за счет гидратации и накопления в клетках резервных питательных веществ в виде гликогена и липидов.

Установленная зависимость содержания структурных компонентов печени от массы тела (рис. 2) указывает на особенности в механизмах увеличения массы органа у животных из зоны ВУРСа. По мере роста животных зоны ВУРСа содержание цитоплазматических белков, РНК, воды и общих липидов в печени увеличивается в большей степени, чем в контроле, что подтверждается при сравнении коэффициентов b_1 уравнений регрессии (таблица: b_1 контроль < b_1 ВУРС). Менее выраженный вклад в возрастную изменчивость органа вносит содержание ДНК, гликогена и ядерных белков: b_1 контроль > b_1 ВУРС.

Таким образом, более высокая интенсивность роста печени на загрязненной территории определяется, прежде всего, процессами гипертрофии цитоплазмы клеток за счет гидратации, накопления липидов и РНК. При этом менее выраженные по сравнению с контролем процессы биосинтеза ДНК и ядерных белков, гликогена свидетельствуют об ограничении участия пролиферации, полиплоидизации гепатоцитов и их гликоген-синтезирующей активности в увеличении массы печени.

Значение коэффициента b_1 уравнений регрессии на базе зависимости содержания структурных компонентов печени (Y) от массы тела (X): результаты простой линейной регрессии $Y = b_0 + b_1 \cdot X$

Value of regression equations coefficient b_1 , basing on dependence of the content of structural liver components (Y) from the body weight (X): results of simple linear regression $Y = b_0 + b_1 \cdot X$

Y	Контроль / Control		ВУРС / The EURT area	
	$b_1 \pm \mu$	t (55)	$b_1 \pm \mu$	t (56)
Вода / Water	33,1 \pm 6,2	10,8	55,2 \pm 9,4	11,7
Цитоплазматические белки / Cytoplasmic proteins	5,5 \pm 1,1	9,8	12,0 \pm 1,4	15,7
Ядерные белки / Nucleoproteins	1,4 \pm 0,1	10,8	1,0 \pm 0,1	18,9
Гликоген / Glycogen	10,2 \pm 1,6	13,0	7,0 \pm 0,8	15,7
Общие липиды / Total lipids	1,8 \pm 0,5	7,0	5,2 \pm 0,8	11,9
ДНК / DNA	0,52 \pm 0,16	6,3	0,30 \pm 0,05	10,3
РНК / RNA	0,27 \pm 0,10	5,1	0,84 \pm 0,16	9,4

Примечание. В таблице приведено значение коэффициента b_1 , его 95%-ный доверительный интервал (μ) /

Note. The table shows the value of the coefficient b_1 its 95% confidence interval (μ).

Эти изменения отражают проявление у животных ВУРСа, согласно этапам онтогенеза [20–22], функционально более зрелых гепатоцитов, для ко-

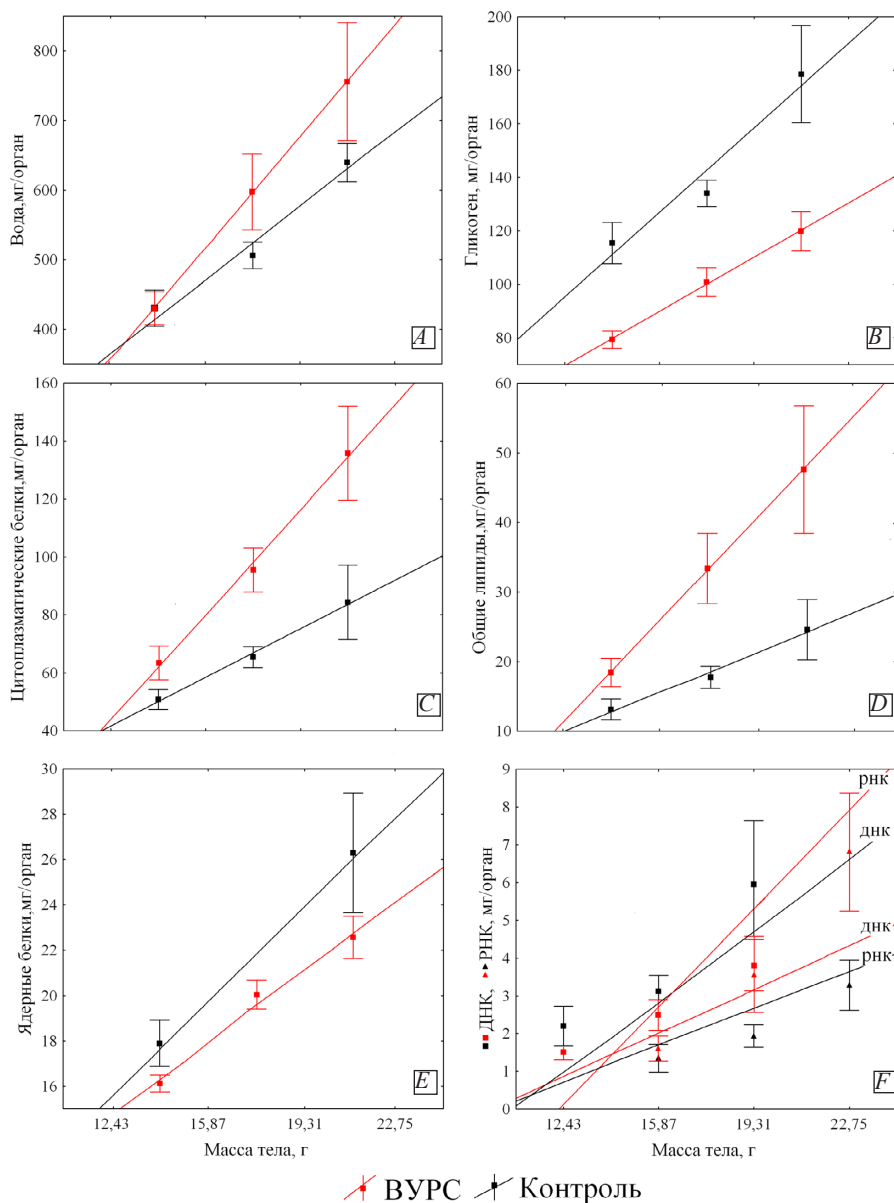


Рис. 2. Зависимость содержания структурных компонентов печени от массы тела животных, отловленных на контрольной и радиоактивно загрязненной (БУРС) территориях /

Fig. 2. Dependence of the content of liver structural components (mg, on the ordinate axes) from the body weight (g, on the abscissa axis) of the animals trapped on the control and radioactively polluted territories: *A* – Water, mg/organ; *B* – Glycogen, mg/organ; *C* – Cytoplasmic proteins, mg/organ; *D* – Total lipids, mg/organ; *E* – Nucleoproteins, mg/organ; *F* – RNA, DNA, mg/organ

торых характерна более высокая насыщенность субклеточными компонентами в виде липидных капель, гидропических вакуолей, рибосомальных структур как результат активизации тканеспецифических функций. Рост отклонений от «нормы» по мере увеличения массы (возраста) животных (рис. 3) отражает значимость такого фактора, как время жизни организма в условиях радиоактивного загрязнения.

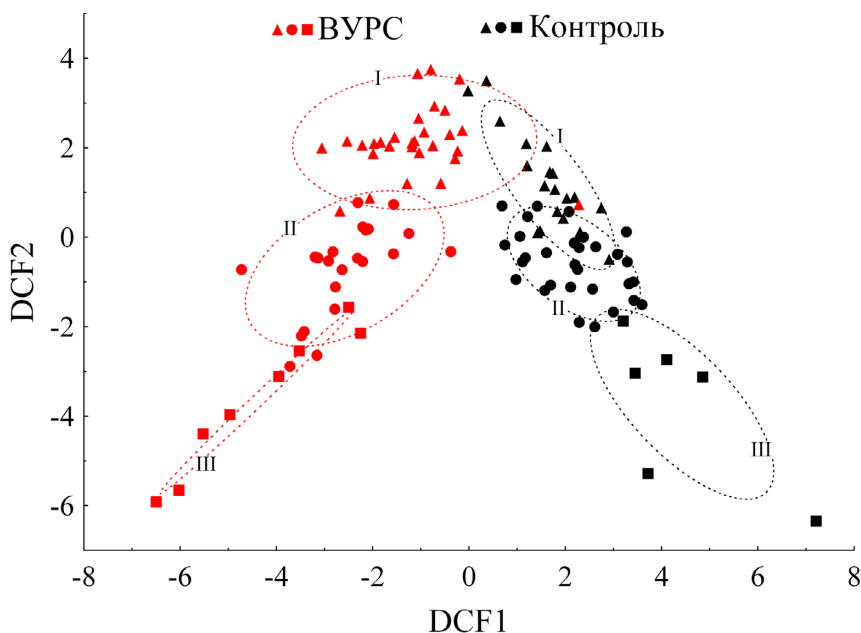


Рис. 3. Положение групп животных с различной массой тела (I, II, III) в пространстве двух дискриминантных канонических функций (DCF): 95%-ные эллипсоиды.

I – от 12,43 до 15,87 г; II – от 15,87 до 19,31 г; III – от 19,31 до 22,75 г.

Дискриминантный анализ проведен по комплексу
7 исследованных биохимических показателей /

Fig. 3. Position of groups of animals with different body weight (I, II, III) in the space of two discriminant canonical functions (DCF): 95 percent ellipsoids.

I – 12.43-15.87 g; II – 15.87-19.31 g; III – 19.31-22.75 g.

Discriminant analysis was carried out basing on 7 studied biochemical parameters

Учитывая поливалентность грызунов с неспецифическим «триггер-механизмом» переключения развития со II типа онтогенеза на I тип, отличающийся укороченным (3–5 месяцев) жизненным циклом [8, 23], выявленные различия между контрольными и импактными животными следует рассматривать как онтогенетическую внутривидовую изменчивость в скорости роста и дифференцировки ткани [24].

Радиационное воздействие, требующее функционально-метаболической активации жизненно важных физиологических систем, обуславливает укороченный период становления дефинитивных структур органа и их фиксацию на более ранних, чем в контроле, этапах онтогенеза. Установленный ранее факт увеличения на ВУРСе доли особей I типа онтогенеза [25] и собственные результаты характеризуют эффекты хронического облучения как эпигенетический механизм переключения развития грызунов на более короткий жизненный цикл.

Заключение

Проведенный биохимический анализ печени лесных мышей (*Apodemus uralensis*), отловленных на фоновой (контрольной) территории и в зоне влияния Восточно-Уральского радиоактивного следа, позволил установить структурно-функциональные изменения органа, формирующиеся под влиянием радиационного фактора. Печень не созревших сеголеток зоны ВУРСа в возрасте от 2 до 4 месяцев и массой тела от 12 до 23 г характеризуется более высокой, по сравнению с контролем, интенсивностью роста, обусловленной усилением гидратации, накопления цитоплазматических белков, липидов и РНК как признаков активизации тканеспецифического метаболизма и наличия функционально более зрелых форм клеток. Менее выраженные процессы биосинтеза ДНК и ядерных белков, гликогена указывают на ограничение участия пролиферации, полиплоидизации гепатоцитов и их гликоген-синтезирующей активности в увеличении массы печени. При этом степень отклонения от «нормы» структурно-функциональных характеристик органа по мере увеличения массы (возраста) животных возрастает. Выявленные эффекты радиационного воздействия следует рассматривать как эпигенетический механизм переключения развития грызунов на более короткий жизненный цикл, обуславливающий увеличение скорости роста и дифференцировки ткани.

Литература

1. Орлова Е.В., Балыкин М.В., Габитов В.Х. Структурные изменения в печени собак при адаптации к высокогорью // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1997. Т. 123, № 6. С. 714–717.
2. Нерсесова Л.С., Газарянц М.Г., Мкртчян З.С. и др. Влияние ионизирующей радиации на ферментные активности и состояние ядерно-ядрышкового аппарата гепатоцитов крыс // Радиационная биология. Радиоэкология. 2013. Т. 53, № 1. С. 55–62.
3. Шишкина Л.Н., Материй Л.Д., Кудяшева А.Г. и др. Структурно-функциональные нарушения в печени диких грызунов из районов аварии на Чернобыльской АЭС // Радиобиология. 1992. Т. 32, № 1. С. 19–29.
4. Ustinova A.A., Ryabinin V.E. Adaptation effects in the 70th generation of mice from radionuclide-polluted territories in the South Urals, RUSSIA // International Journal of Environmental Studies. 2003. Vol. 60, № 5. P. 463–467.
5. Москвитина Н.С., Кохонов Е.В. Некоторые показатели состояния животных из разных популяций красной полевки (*Clethrionomys rutilus* Pall.) Горного Алтая // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2012. № 2(18). С. 186–193.

6. *Molchanova I.V., Pozolotina V.N., Karavaeva E.N. et al.* Radioactive inventories within the East-Ural radioactive state reserve on the Southern Urals // Radioprotection. 2009. Vol. 44, № 5. P. 747–757.
7. *Любашевский Н.М., Стариченко В.И.* Адаптивная стратегия популяций грызунов при радиоактивном и химическом загрязнении среды // Радиационная биология. Радиоэкология. 2010. Т. 50, № 4. С. 405–413.
8. *Оленев Г.В.* Альтернативные типы онтогенеза цикломорфных грызунов и их роль в популяционной динамике: (экологический анализ) // Экология. 2002. № 5. С. 341–350.
9. *Колчева Н.Е.* Стертость зубов как критерий возраста малой лесной мыши при анализе возрастной структуры популяции // Вестник Оренбургского государственного университета. 2009. Спецвыпуск. С. 77–80.
10. *Трудюлюбова М.Г.* Количественное определение РНК и ДНК в субклеточных фракциях клеток животных // Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховича. М. : Медицина, 1977. С. 313–316.
11. *Асатиани В.С.* Методы биохимических исследований. М. : Медгиз, 1956. 461 с.
12. *Davidson M.B., Berliner J.A.* Acute effects of insulin on carbohydrate metabolism in rat liver slices: independence from glucagon // Amer. J. Physiol. 1974. Vol. 227. P. 79–87.
13. *Schneider C.W.* Intracellular distribution of enzymes. 111. The oxidation of octanoic acid by rat liver fractions // J. Biol. Chem. 1948. Vol. 176. P. 259–266.
14. *Ильина Л.И.* Белковый обмен в ядрах печени и тонкого кишечника при экспериментальной острой лучевой болезни // Медицинская радиология. 1958. Т. 3, № 5. С. 20–24.
15. *Fletcher M.J.* A colorimetric method for estimating serum triglycerides // J. Clin. Chim. Acta. 1968. Vol. 22, № 3. P. 393–397.
16. *Bradford M.M.* A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principal of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. Vol. 72. P. 248–254.
17. *Токарева М.И., Селезнева И.С.* Биохимия : в 3 ч. Екатеринбург : ГОУ ВПО УГТУ–УПИ, 2005. Ч. 2. С. 23.
18. *Данченко Е.О., Чиркин А.А.* Новый методический подход к определению концентрации гликогена в тканях и некоторые комментарии по интерпретации результатов // Судебно-медицинская экспертиза. 2010. № 3. С. 25–28.
19. *Боровиков В.* STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов. 2-е изд. СПб. : Питер, 2003. 688 с.
20. *Саркисов Д.С.* О некоторых особенностях регенерации внутренних органов у млекопитающих // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. 1963. Т. 45, № 10. С. 3–12.
21. *Бродский В.Я., Урываева И.В.* Клеточная полиплоидия. Пролиферация и дифференцировка. М. : Наука, 1981. 217 с.
22. *Романова Л.К.* Регуляция восстановительных процессов. М. : МГУ, 176 с.
23. *Кряжмский Ф.В.* Механизм формирования альтернативных типов роста и выживаемость грызунов // Журнал общей биологии. 1989. Т. 50, № 4. С. 481–490.
24. *Шмальгаузен И.И.* Факторы эволюции. Теория стабилизирующего отбора. М. : Наука, 1968.
25. *Grigorkina E.B., Olenov G.V.* East urals radioactive trace: adaptive strategy of rodents' population // Radioprotection. Vol. 46, № 6. P. 437–443.

Поступила в редакцию 15.07.2013 г.;

повторно 19.01.2014 г.;

принята 15.02.2014 г.

Орехова Наталья Александровна – канд. биол. наук, н.с. лаборатории популяционной радиобиологии Института экологии растений и животных УрО РАН (г. Екатеринбург, Россия).
E-mail: naorekhova@mail.ru

Natalia A. Orekhova

Laboratory of Population Radiobiology, Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation.

E-mail: naorekhova@mail.ru

Biochemical analysis of liver in small wood mouse (*Apodemus uralensis*), trapped within the East-Urals radioactive trace

This work was supported by the Programme of interdisciplinary research between the Institute of UrB RAS and state-run corporations of the Russian Federation (project №12-M-24-2016).

We carried out a biochemical analysis of liver tissue for the contents of water, glycogen, total lipids, nuclear and cytoplasmic proteins, DNA and RNA in small wood mouse (*Apodemus uralensis* Pallas, 1811), trapped within natural and radioactivity habitat – the area of the East-Ural Radioactive Trace (EURT; The Kyshtym radiation accident in the South Urals in 1957) was carried out. The density of soil contamination by ^{90}Sr on the areas of trapping was 43.7 kBq/m² and 6740-16690 kBq/m², respectively. In the studied samples of immature yearlings of type II ontogeny, variability of liver weight (from 480 to 1400 mg) and its constituent components is positively correlated with body weight (12 to 23 g) and is due to varying age groups of animals (from 2 to 4 months). A substantial increase in liver weight was found in the process of growth of animals within the EURT area as compared with control ones. The regression model describing the dependence of the structural components content of the liver, expressed in mg /organ, on body weight indicates particularly mechanisms morphogenesis of the organ in animals within the EURT area. The content of cytoplasmic proteins, RNA, water and total lipids of the liver in the process of animals growth within the EURT area is increased to a greater extent than in control, as follows by comparing the coefficients of regression equations b_1 (b_1 control < b_1 EURT). Less pronounced contribution to the age variability of the organ is made by the content of DNA, glycogen and nuclear proteins: (b_1 control > b_1 EURT). Thus, the mechanisms underlying age-related changes in the liver on the EURT should include enhancing its hydration, accumulating cytoplasmic proteins, lipids and RNA as signs of tissue-specific metabolic activation and the presence of functionally more mature cell forms. Also, less pronounced, in comparison to control, processes of biosynthesis of DNA and nuclear proteins and glycogen indicate the confining proliferation, polyploidization and hepatocyte-synthesizing activity of glycogen in increasing the liver weight. The degree of deviation from the “norm” of structural and functional characteristics with increasing the weight (age) of animals increases, which reflects the importance of such factors as the lifetime of the organism in conditions of radioactive contamination. Taking into account the polyvalence of rodents with a nonspecific «trigger» mechanism of switching from the type II ontogeny with a total life duration of 13-14 months to the type I, featuring a shorter (3-5 months) lifecycle, revealed differences between control and impact animals are manifestations of a developmental intraspecific variation in the growth rate and differentiation of tissues. Radiation exposure, requiring functional metabolic activation of vital physiological systems, causes a shortened period of the definitive structures of the organ and their fixation on earlier, than in control, ontogeny stages. The identified

effects of radiation exposure should be considered as an epigenetic mechanism of switching rodents' development to a shorter life cycle, conditioning an increase in the growth rate and differentiation of tissues.

The article contains 3 figures, 1 table, 25 ref.

Key words: the EURT area; *Apodemus uralensis*; biochemical analysis; liver; ontogenetic variability.

References

1. Orlova EV, Balykin MV, Gabitov VKh. Structural changes in dog liver during adaptation to high altitude. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny – Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 1997;123(6):619-622.
2. Nersesova LS, Gazaryanz MG, Mkrtchyan ZS, Meliksetian GO, Pogolian LG, Pogolian SA, Pogolian LL, Karalova EM, Avetisyan AS, Abroian LO, Karalian ZA, Akopian ZhI. Influence of ionizing radiation on enzymatic activity and state of nucleus-nucleolar apparatus in rat hepatocytes. *Radiatsionnaya biologiya. Radioecologiya – Radiation Biology. Radioecology*. 2013;53(1):55-62. In Russian
3. Shishkina LN, Materii LD, Kudiasheva AG, Zagorskaia NG, Taskaev AI. The structural-functional disorders in the liver of wild rodents from areas of the accident at the Chernobyl Atomic Electric Power Station. *Radiobiologiya – Radiobiology*. 1992;32(1):19-29. In Russian
4. Ustinova AA, Ryabinin VE. Adaptation effects in the 70th generation of mice from radio-nuclide-polluted territories in the South Urals, RUSSIA. *International Journal of Environmental Studies*. 2003;60(5):463-467. doi:10.1080/0020723032000093964
5. Moskvitina NS, Kohonov EV. Some health indicators of various red-backed vole (*Clethrionomys rutilus* Pall.) population groups of Gorny Altai. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2012;2(18):186-193. In Russian, English Summary
6. Molchanova IV, Pozolotina VN, Karavaeva EN, Mikhailovskaya LN, Antonova EV, Antonov KL. Radioactive inventories within the East-Ural radioactive state reserve on the Southern Urals. *Radioprotection*. 2009;44(5):747-757. doi: 10.7868/S086980311401010X
7. Lyubashevskiy NM, Starichenko VI. The adaptive strategy of rodents populations at radioactive and chemical environmental pollution. *Radiation Biology. Radioecology*. 2010;50(4):405-413. In Russian
8. Olenov GV. Alternative types of ontogeny in cyclomorphic rodents and their role in population dynamics: an ecological analysis. *Ekologiya*. 2002;5:341-350.
9. Kolcheva NE. Tooth wear as a criterion of *Sylvaemus uralensis* age during the analysis of the population age structure. *Vestnik Orenburg State University*. 2009;Spec. Iss. (Part I):77-80. In Russian
10. Trudolyubova MG. Kolichestvennoe opredelenie RNK i DNK v subkletochnykh fraktsiyakh kletok zhivotnykh [Quantitative determination of DNA and RNA in subcellular fractions of animal cells]. *Sovremennye metody v biokhimi* [In: *Modern methods in biochemistry*]. Orekhovich VN, editor. Moscow: Medicine; 1977. p.313-316. In Russian
11. Asatiani VS. Metody biokhimicheskikh issledovaniy [Methods of biochemical research]. Moscow: Medgiz; 1956. 461 p. In Russian
12. Davidson MB, Berliner JA. Acute effects of insulin on carbohydrate metabolism in rat liver slices: independence from glucagon. *Amer. J. Physiol*. 1974;227:79-87.
13. Schneider CW. Intracellular distribution of enzymes. III. The oxidation of octanoic acid by rat liver fractions. *J. Biol. Chem*. 1948;176:259-266.
14. Ilina LI. Belkovyy obmen v yadrakh pecheni i tonkogo kishechnika pri eksperimental'noy ostroy luchevoy bolezni [Protein metabolism in the nuclei of liver and small intestine in

- experimental acute radiation sickness]. *Meditinskaya radiologiya*. 1958;3(5):20-24. In Russian
15. Fletcher MJ. A colorimetric method for estimating serum triglycerides. *J. Clin. Chim. Acta*. 1968;22(3):393-397.
 16. Congdon RW, Muth GW, Splittgerber AG. The binding interaction of Coomassie Blue with protein. *Analytical Biochemistry*. 1993;213(2):407-413. Available at: <http://dx.doi.org/10.1006/abio.1993.1439>
 17. Tokarev MI, Seleznev IS. Biokhimiya [Biochemistry]. In three parts. Part 2. Ekaterinburg: GOU VPO UGTU-UI; 2005. p.23. in Russian
 18. Danchenko EO, Chirkin AA. A new approach to the determination of glycogen concentration in various tissues and comments on the interpretation of its results. *Sud Med Ekspert*. 2010;3:25-28. In Russian
 19. Borovikov V. STATISTICA. Art of data analysis on PC: For professionals. Saint Petersburg: Piter; 2003. 688 p. In Russian
 20. Liozner LD. Organ regeneration. A study of developmental biology in mammals. Carlson BM, editor. Moscow: Institute of Experimental Biology, Academy of Medical Sciences of the USSR; 1974. 330 p.
 21. Brodskiy VY, Uryvaeva IV. Genome multiplication in growth and development. Biology of polyploid and polytene cells. Cambridge: University Press; 1985. 305 p.
 22. Romanova LK. Regulatsiya vosstanovitel'nykh protsessov [Regulation of regenerative processes]. Moscow: Moscow State University; 1984. 176p. In Russian
 23. Kryazhimskii FV. Mekhanizm formirovaniya al'ternativnykh tipov rosta i vyzhivaemost' gryzunov [Mechanism of formation of alternate growth types and rodent survival]. *Zhurnal Obshchei Biologii*. 1989;50(4):481-490. In Russian
 24. Shmalgausen II. Faktory evolyutsii. Teoriya stabiliziruyushchego otbora [Factors of evolution. Theory of stabilizing selection]. Moscow: Nauka; 1968. 452 p. In Russian
 25. Grigorkina EB, Olenov GV. East-Urals radioactive trace: adaptive strategy of rodents' population. *Radioprotection*. 2011;46(6):437-443.

Received 15 July 2013;

Revised 19 January 2014;

Accepted 15 February 2014