

Проблемы изучения, рационального использования и охраны ресурсов Белого моря.
Материалы IX международной конференции
11-14 октября 2004 г., Петрозаводск, Карелия, Россия
Петрозаводск, 2005. С. 55-61.

ВЛИЯНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПРИБРЕЖНОЙ АКВАТОРИИ БЕЛОГО МОРЯ НА ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ПРОТЕОЛИЗ У БЕНТОСНЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

Л.А. БОНДАРЕВА¹, Н.Н. НЕМОВА¹, Е.И. КЯЙВЯРЯЙНЕН¹, М.Ю. КРУПНОВА¹, Г.А. ШКЛЯРЕВИЧ²

¹ Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

² Кандалакиский государственный природный заповедник, Мурманская обл.

Исследовали влияние комплексного загрязнения (органические вещества, тяжелые металлы, нефтепродукты) на ферменты внутриклеточного протеолиза у амфипод *G. duebeni* и мидий *M. edulis*, выловленных в зонах прибрежной акватории Белого моря в летний период. Параметры белкового обмена являются достаточно информативными показателями изменений статуса организма, обусловленных факторами внешней среды. Показаны изменения в протеолитической активности у беспозвоночных, отражающие степень загрязнения акватории. Отмечено, что при т.н. «умеренном» уровне загрязнения среды обитания бентосных организмов характер изменения активности исследуемых ферментов имеет, по-видимому, адаптивное значение. У особей из зоны с высокой антропогенной нагрузкой наблюдаются изменения в протеолизе, характерные для развития патологического процесса: перераспределение Ca^{2+} -зависимой протеолитической активности между белковыми фракциями с различным молекулярным весом, лабилизация ферментных белков. Вероятнее всего, в ответной реакции клеток водных организмов на воздействие поллютантов участвуют генетически обусловленные механизмы модификации белкового метаболизма.

L.A. Bondareva, N.N. Nemova, E.I. Kaivarainen, M.Yu. Krupnova & G.A. Shklyarevitch. The effect of the White Sea coastal waters contamination on intracellular proteolysis in benthic invertebrates // The study, sustainable use and conservation of natural resources of the White Sea. Proceedings of the IXth International Conference, October, 11-14, 2004. Petrozavodsk, Karelia, Russia. Petrozavodsk, 2005. P. 55-61.

The effect of complex contamination (by organic substances, heavy metals, oil products) on intracellular proteolytic enzymes in amphipods *G. duebeni* and mussels *M. edulis* from some coastal zones of the White Sea in summer period was investigated. The parameters of protein turnover are rather informative at estimation of the alterations in the organism status caused by environmental factors. The modifications in proteolytic activity in the invertebrates are shown to reflect the pollution level of the area of water. It was shown that at so-called "slight" contamination the dynamics of the studied enzymes in benthic organisms has obviously adaptive significance. The features characterizing the development of pathological process, such as the redistribution in Ca^{2+} -dependent proteolytic activity between protein fractions of various molecular weight and the native enzyme instability, were detected in specimens from highly contaminated zone. Presumably, the genetically derived mechanisms of cellular protein metabolism modification participate in observed response reaction of the aquatic organisms at the effect of contamination.

Введение

Представители макрозообентоса являются удобными и часто используемыми объектами экологических и экотоксикологических исследований, благодаря их повсеместному распространению в водоемах неустойчивого соленостного режима и ключевой трофической роли как промежуточного звена между первичными продуцентами и высшими звеньями пищевой цепи (Moloney, Ryan, 1995; Loeb et al., 1997). Водная биота эстуариев проявляет устойчивость к широкому диапазону температур, солености и доступности кислорода (Ritz, 1980; Shearer, 1983). Имея такую выраженную устойчивость к абиотическим факторам, беспозвоночные прибрежной зоны могут быть преадаптированы к жизнедеятельности в загрязненных водоемах (Gray, 1981). Существует и иное мнение (McLusky et al., 1986): эстуарные виды, обитая на пределе своего диапазона устойчивости, могут быть более чувствительны к какому-либо дополнительному стрессу. В любом случае, их ответные реакции на воздействие

поллютантов более информативны, чем у видов, обитающих в открытом море, постоянство условий среды обитания которых приводит к отсутствию приспособлений к изменяющимся факторам и неразвитости механизмов устойчивости (Fisher, 1991; Ozoh, 1994; Lawrence, Poulter, 1998). Поллютанты доступны для амфипод как из растворенного вещества на поверхности соприкосновения осадка и воды, так и через пищу и последующее всасывание в пищеварительном тракте (Lawrence, Poulter, 1998). Моллюски поглощают загрязнители как из воды, так и из суспендированных частиц вещества, при этом исследования показывают, что доминантный путь поступления - вода (Pruell et al., 1986; Bergen et al., 1993; Bruner et al., 1994).

Прибрежные морские экосистемы Кандалакшского залива Белого моря подвержены трансформации вследствие значительного антропогенного загрязнения. В изучаемой части Белого моря существуют локальные проблемы органической перегрузки и эвтрофикации (Bryazgin, Klimov, 1995), являю-

щиеся результатом сбросов бытовых сточных вод небольших населенных пунктов. Другой тип загрязнения - тяжелые металлы: Cu, Ni, Zn, Cr, Pb, которые накапливаются по трофической цепи. Определенную опасность представляет также нефтяное загрязнение Белого моря: кроме химического воздействия, нефть образует пленку на поверхности, препятствующую газообмену между морем и атмосферой. По этим показателям Кандалакшский залив признан сравнительно неблагополучной зоной (Наумов, 1981). Ряд зон прибрежной акватории с наименьшей антропогенной нагрузкой могут расцениваться как условно «чистые» (мыс Турий, губа Порья).

При изучении беспозвоночных в качестве эко-токсикологического объекта в первую очередь принимаются к рассмотрению показатели популяционного благополучия, такие как численность и биомасса, а также поведенческие ответные реакции. Такие показатели, однако, не в полной мере отражают влияние факторов на данные организмы (Шкляревич, 2002). Целесообразно для систематического биомониторинга оценивать изменение показателей клеточного метаболизма организмов на биохимическом уровне. Насыщение среды ксенобиотиками нарушает эволюционно сформированное взаимодействие между организмом и средой, что приводит к негативным последствиям, проявляющимся первично на биохимическом, а в последствии - на более высоких уровнях организации жизни. Известно, что практически все метаболические реакции катализируются ферментами, поэтому регуляция метаболизма сводится к регуляции типа и интенсивности ферментативных функций (Хочачка, Сомеро, 1988). Протеиназы действуют на первом, ключевом этапе мобилизации белковых резервов клетки, поэтому велика их роль в механизмах биохимических адаптаций (Bohley, 1987; Немова, 1996). Реактивность системы внутриклеточного протеолиза в условиях поступления ксенобиотиков имеет выраженные межвидовые различия, зависящие от степени аккумуляции загрязнителя, интенсивности детоксикационных процессов, степени изменения свойств макромолекул генетического аппарата и ферментных систем клетки (Хочачка, Сомеро, 1988; Немова, 1996).

Учитывая вышесказанное, была изучена активность ферментов внутриклеточного протеолиза у типичных представителей макрзообентоса Беломорского побережья: ракообразных амфипод и двустворчатых моллюсков мидий из различных по степени загрязнения зон Кандалакшского залива Белого моря.

Материалы и методы

Исследовали влияние комплексного загрязнения на некоторые биохимические показатели у амфипод *Gammarus duebeni* (Lilljeborg, 1851) и мидий *Mytilus edulis* (L., 1758), собранных в определенных зонах прибрежной акватории в летний период. Параметры внутриклеточного протеолиза, такие как активность внутриклеточных протеиназ (лизосомальных катепсинов В и D, Ca²⁺-зависимых ней-

тральных протеиназ цитозоля, или кальпаинов), содержание и спектр водорастворимых белков, являются достаточно информативными показателями изменений белкового обмена, обусловленными факторами внешней среды и отражающими статус организма в условиях загрязнения (Немова, 1996).

Зоны отбора проб расположены на различном расстоянии от населенных пунктов (Таблица 1). Кроме того, они могут быть дифференцированы по принципу близкого расположения к: (а) эстуариям крупных рек, которые могут выступать в качестве мест повышенной аккумуляции загрязнителей среды, включая тяжелые металлы (точки 3, 4); (б) стокам гавани, обогащенным соединениями кальция и фосфора из состава апатитового концентрата (точки 5-8); (в) местам локального радиоактивного загрязнения (точки 9,10); (г) источникам нефтяного загрязнения (точки 11, 12) и/или (д) районам интенсивной промышленной активности (точка 13). Контролем служили особи из условно чистых прибрежных зон Белого моря - мыс Турий и губа Порья (точки 1, 2).

Реакцию лизосомального аппарата водных беспозвоночных оценивали по изменению активности основных протеиназ лизосом - катепсинов В и D. Готовили 10%-ные гомогенаты тканей в 0.25 М сахарозе с добавлением детергента тритон X-100 (0.1%). Активность катепсина В определяли по расщеплению 0.065 М раствора этилового эфира гидрохлорида N-бензил L-аргинина в 0.2 М ацетатном буфере (pH 5.0) (Matsuda, Misaka, 1974), а катепсина D - модифицированным методом Ансона по гидролизу 1% р-ра бычьего гемоглобина в 0.2 М ацетатном буфере (pH 3.6) (Алексеев, 1968) во фракции лизосом после дифференциального центрифугирования исходных гомогенатов тканей (Покровский, Тутельян, 1976). Единица активности катепсинов В и D определялись в единицах изменения оптического поглощения (E₅₂₅ и E₂₈₀, соответственно) на 1 г сырой массы ткани за время инкубации (37°C).

Активность Ca²⁺-зависимых протеиназ цитозоля (кальпаинов) определяли после предварительной гель-хроматографии образцов на колонках (5×95 см) с Sephacryl S200, на которые наносили 25%-ные супернатанты цитозольных фракций тканей (105 тыс.г.×60 мин) в буфере А, содержащем 0.25М сахарозы (pH 7.5). Элюцию белков проводили со скоростью 24 мл/ч буфером А (10 mM трис-HCl (pH 7.5), содержащим 50 mM NaCl, 4 mM EDTA, 5 mM меркаптоэтанол). Во фракциях элюента объемом 4.0 мл определяли Ca²⁺-зависимую протеолитическую активность стандартным методом по гидролизу казеина в 50 mM имидазол-HCl буфере (pH 7.5) (Murachi et al., 1981). Единица активности кальпаинов определялась как количество фермента во фракции, вызывающее увеличение на 1.0 оптического поглощения (E₂₈₀) за 1ч инкубации (30°C).

Количественное содержание водорастворимого белка в тканях (мг/мл центрифугата) определяли спектрофотометрически (E₅₉₅) методом Брэдфорд (Bradford, 1976).

Таблица 1. Характеристика зон сбора бентосных макрозообеспозвоночных *G. duebeni* и *M. edulis* в Кандалакшском заливе Белого моря

№	Зона сбора	Близость к населенным пунктам	Преобладающий тип загрязнения
1.	мыс Турий	150 км от г. Кандалакша и 30 км от пос. Умба	наиболее чистый район
2.	губа Порья	90 км от г. Кандалакша и 30 км от пос. Умба	чистый район
3.	о. Ряшков	5 км от пос. Умба	бытовые сточные воды
4.	пос. Лувеньга	побережье пос. Лувеньга	бытовые сточные воды, агрохимия
5.	о. Большой Березовый	5 км от г. Кандалакша	бытовые сточные воды, повышенное содержание соединений Са и Р из апатитового концентрата от морского порта в г. Кандалакша
6.	о. Еловый	5 км от г. Кандалакша	
7.	губа Овечья	4 км от г. Кандалакша	
8.	о. Большой Лупчостров	1 км от г. Кандалакша	
9.	Большая Половинница	2 км от г. Кандалакша	радиоактивное точечное загрязнение ^{90}Sr и ^{90}Y (апрель 2001 г.)
10.	о. Малый	1,4 км от г. Кандалакша	
11.	корга у о. Оленьего	2,5 км от нефтебазы	нефтепродукты
12.	о. Олений губа Коровья	3 км от нефтебазы	
13.	механический завод	в городской черте г. Кандалакша	неорганические кислоты от аккумуляторов, нефтепродукты, опилки древесные с лесозавода, бытовые стоки

Результаты исследований обработаны статистически с применением непараметрического критерия различий Вилкоксона-Манна-Уитни (Гублер, Генкин, 1969).

Результаты и обсуждение

Активность лизосомальных протеиназ.

Показаны изменения в протеолитической активности лизосом у беспозвоночных, отражающие степень загрязнения акватории моря. У амфипод (Табл. 2) зафиксировано снижение активности кислых протеиназ лизосом (катепсинов D и B).

Для мидий характерна достоверная активация катепсина D (аспартильной протеиназы) и снижение

активности катепсина B (цистеиновой протеиназы) (Рис. 1 а, б). В данном случае лизосомальный аппарат клетки, по-видимому, участвует не только в процессах биотрансформации ксенобиотиков, но и в адаптивной перестройке белкового обмена клетки. Об этом свидетельствуют также многочисленные результаты, полученные ранее на рыбах при изучении действия различного рода токсикантов и их смесей, а также при патологиях, вызванных бактериальными и вирусными инфекциями (Немова, Сидоров, 1990; Немова, 1991; Немова и др., 1994; Немова, 1996; Высоцкая, 1999).

Таблица 2. Активность катепсинов D и B, содержание водорастворимого белка в гомогенатах цельных амфипод *G. duebeni* из различных по степени антропогенной нагрузки зон Белого моря (точки сбора приведены в порядке возрастания степени загрязнения)

Зоны сбора амфипод	Катепсин D, $E_{280}/\text{г ткани/ч}$	Катепсин B, $E_{525}/\text{г ткани/30 мин}$	Белок, мг/мл центрифугата
мыс Турий (контроль)	$1,3 \pm 0,1$	$7,60 \pm 0,4$	$2,18 \pm 0,2$
о. Ряшков	$1,43 \pm 0,1$	$11,65 \pm 0,7^*$	$1,22 \pm 0,1^*$
дер. Лувеньга	$1,97 \pm 0,2^*$	$9,20 \pm 0,6$	$1,40 \pm 0,1$
о. Большой Березовый	$1,20 \pm 0,1$	$5,25 \pm 0,3$	$0,92 \pm 0,1^*$
о. Еловый	$1,11 \pm 0,1$	$4,80 \pm 0,2^*$	$1,48 \pm 0,1$
губа Овечья	$0,88 \pm 0,1^*$	$4,05 \pm 0,3^*$	$1,12 \pm 0,1^*$
о. Большая Половинница	$1,12 \pm 0,1$	$6,20 \pm 0,3$	$1,62 \pm 0,3$
о. Малый	$1,19 \pm 0,3$	$5,50 \pm 0,4$	$1,04 \pm 0,1^*$
о. Большой Лупчостров	$0,38 \pm 0,1^*$	$11,60 \pm 0,7^*$	$1,74 \pm 0,2$
корга у о. Оленьего	$0,54 \pm 0,1^*$	$5,40 \pm 0,3$	$1,12 \pm 0,1^*$
о. Олений, губа Коровья	$0,97 \pm 0,2$	$6,05 \pm 0,4$	$1,10 \pm 0,1^*$
«механический завод»	$1,45 \pm 0,1$	$16,20 \pm 0,9^*$	$4,88 \pm 0,2^*$

* достоверность отклонения при $P \leq 0,05$

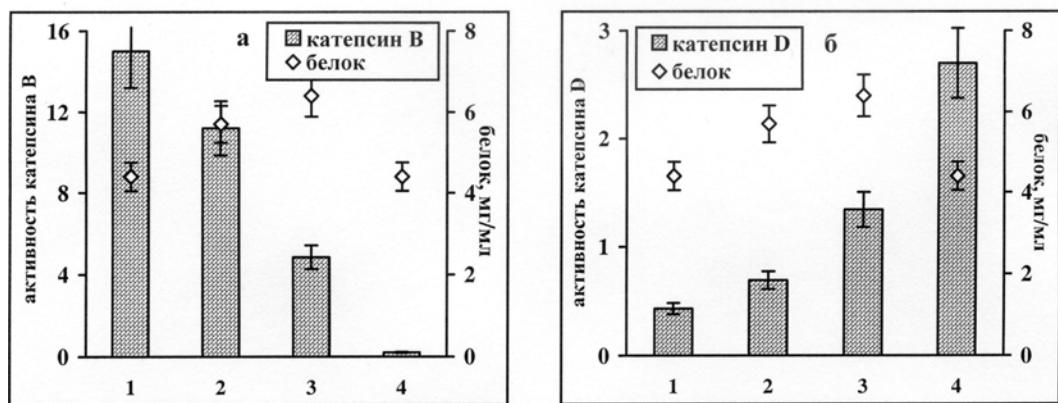


Рис. 1. Активность катепсина В (E_{525} /г ткани/30 мин) (а), катепсина D (E_{280} /г ткани/ч) (б) и содержание водорастворимого белка (мг/мл) в гомогенатах мидий *M. edulis* из зон Белого моря:

1 - губа Порья, 2 - о.Ряшков, 3 - корга у о.Телячий, 4 - о.Овечий (в порядке возрастания степени загрязнения)

Разнонаправленная тенденция в изменении активности цистеиновой протеиназы (катепсина В) у разных объектов может являться указанием на отсутствие специфического взаимодействия загрязнителей с реакционными SH-группами активного центра фермента. Многие ксенобиотики, включая металлы, аккумулируются в лизосомах, вызывают повышение проницаемости лизосомальных мембран, что ускоряет гидролиз белков и обуславливает клеточную атрофию (Lowe, Clarke, 1989). Степень лабильности мембран пропорциональна силе стресса (Moore, 1985; Nicholson, 1999), и эта цитологическая реакция является первичным цитотоксическим эффектом действия загрязнителей.

Активность Ca^{2+} -зависимых протеиназ цитозоля

Ca^{2+} -зависимая протеолитическая активность у амфипод и мидий после гель-хроматографического разделения тканевых белков на Sephacryl S200 элюируется в трех пиках с M_r 110, 80 и 65 кДа (Рис. 2). В исходном центрифугате активность не регистрируется из-за наличия в цитозоле эндогенного ингибитора - кальпастина (наличие определено во фракции с $M_r \sim 130$ кДа) (Suzuki, 1988). Значения рН оптимума, ингибиторный анализ, абсолютная зависимость протеолитической активности от присутствия Ca^{2+} позволяют идентифицировать выделенные протеиназы как цистеиновые кальцийактивируемые нейтральные протеиназы цитозоля - CANP, или кальпаин-подобные ферменты. По значениям M_r и термостабильности эти фракции могут быть отнесены, соответственно, к гомологам кальпаинов высших животных: кальпаина II (активируемого mM $[Ca^{2+}]_i$), кальпаина I (активируемого μM $[Ca^{2+}]_i$) и каталитически активной субъединицы (Murachi et al., 1981; Мухин, 1998). Следует отметить, что значительное сходство выделенных ферментов беспозвоночных с кальпаинами из тканей рыб и млекопитающих (Dayton et al., 1976; Toyohara, Makinodan, 1989; Melloni et al., 1992; Немова, 1996) указывает на их определенную эволюционную консервативность.

Уровень активности Ca^{2+} -зависимых протеиназ морских беспозвоночных в норме сравним с таковым у исследованных ранее рыб и млекопитающих. Обмен белков в цитозоле включает как посттрансляционную модификацию синтезированных de novo белков, так и реакции ограниченного протеолиза, имеющие регуляторное значение при развитии биохимических адаптаций. Выявлена специфика ответной реакции кальпаинов при воздействии изучаемых факторов среды, обусловленная различным сродством к активатору - кальцию. Для амфипод и мидий из загрязненных акваторий характерна активация Ca^{2+} -зависимых протеиназ (Рис. 3 а, б). Достоверное возрастание общей Ca^{2+} -зависимой активности при этом происходит в основном за счет активации кальпаин I-подобной протеиназы (μM -формы), наблюдается лабильзация ферментных белков (прирост субъединичной активности), что указывает на повышение общего уровня обмена белков. У амфипод из прибрежной зоны моря с высокой антропогенной нагрузкой («механический завод») зафиксировано перераспределение Ca^{2+} -зависимой протеолитической активности между фракциями фермента с различными M_r (Рис. 4). Ранее для позвоночных животных было показано, что экспрессия кальпаина II, активируемого нефизиологично высокой mM $[Ca^{2+}]_i$, возрастает именно при патологических изменениях в тканях (Johnson, 1990; Немова, 1996). Вместе с тем, для тканей, в которых зафиксировано развитие адаптивных перестроек и отсутствие нарушений кальциевого гомеостаза, характерна активация кальпаина I.

Имеющиеся в литературе данные о разнообразии биологических процессов с участием кальпаинов, а также об их высокой протеолитической способности у водных беспозвоночных (Mykles, Skinner, 1990) (по данным авторов до 60% белков мышечной ткани беспозвоночных гидролизуются Ca^{2+} -зависимыми протеиназами в цитозоле) позволяют предположить их участие в развитии адаптивных реакций у исследованных нами беспозвоночных Белого моря в ответ на изменение среды обитания.

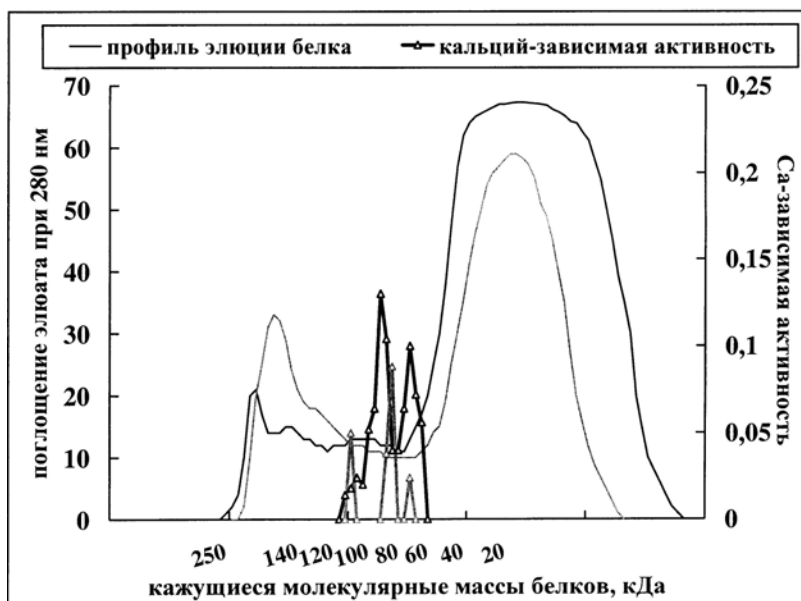


Рис. 2. Профиль элюции водорастворимых белков и уровень Ca^{2+} -зависимой протеолитической активности ($E_{280}/\text{г ткани/ч}$) в гомогенатах цельных амфипод *G. duebeni* (—) и мидий *M. edulis* (—) после гель-хроматографии на колонках с Sephacryl S200

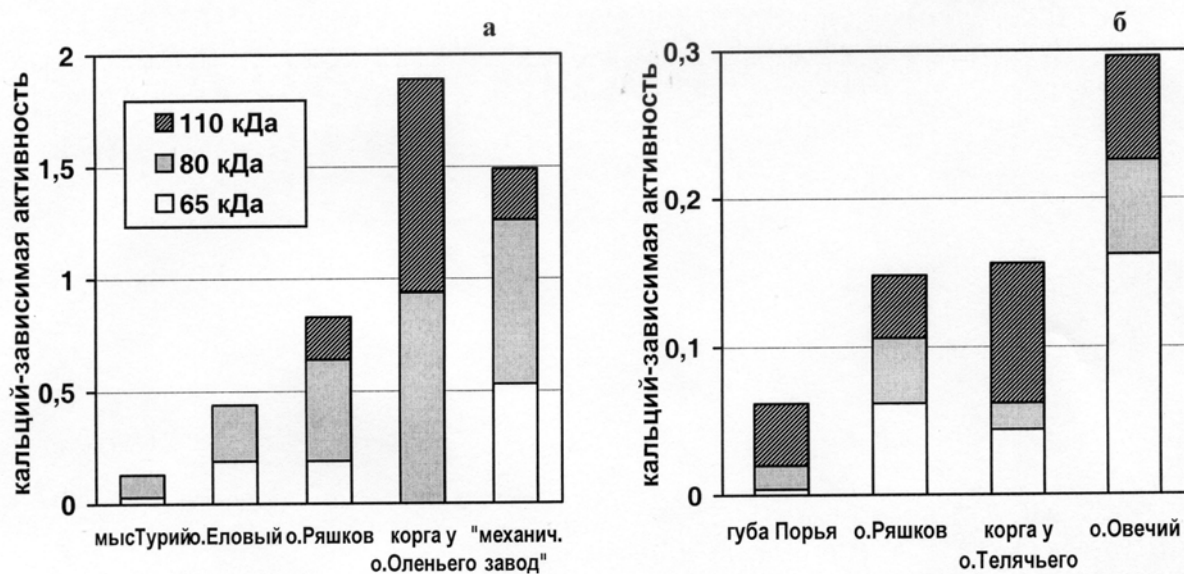


Рис. 3. Ca^{2+} -зависимая протеолитическая активность (M_r 65, 80 и 110 кДа) ($E_{280}/\text{г ткани/ч}$) в гомогенатах цельных амфипод *G. duebeni* (а) и мидий *M. edulis* (б) из различных по степени антропогенной нагрузки зон Белого моря (зоны приведены в порядке возрастания уровня загрязнения)

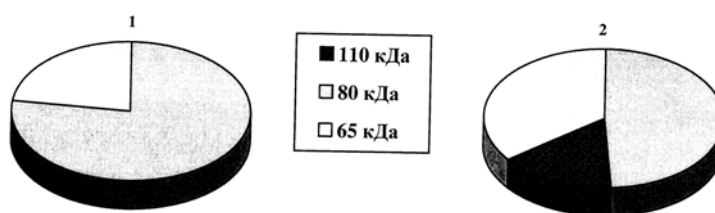


Рис. 4. Распределение общей Ca^{2+} -зависимой протеолитической активности между молекулярными формами кальпаин-подобных протеиназ (M_r 65, 80 и 110 кДа) в гомогенатах цельных амфипод *G. duebeni*: 1 - в норме (мыс Турий - контроль) и 2 - при воздействии загрязнителей (зона «механический завод»)

Содержание белка

Характерно, что у беспозвоночных из наиболее загрязненных зон акватории на фоне высокого уровня активности протеиназ происходит накопление высокомолекулярных белков (Табл. 2). Этот эффект показан также Porte с сотр. (Porte et al., 2001): наибольшее «истощение» низкомолекулярных соединений наблюдается в течение первой фазы воздействия поллютанта на мидий, напротив, высокомолекулярные белки значительно индуцируются при действии загрязнения. Наиболее важны не столько количественные, сколько качественные изменения состава тканевых белков: так, для ракообразного *G. marinogammarus olivii* из зоны городского стока показано снижение числа белковых фракций (Руднева, 2000). Изменения белкового состава могут быть как следствием действия неблагоприятных факторов среды на генетический аппарат, приводящего к изменениям структуры и физико-химических свойств белков, нарушению метаболических процессов так и непосредственной модификации белков в результате их повреждения или комплексообразования с ксенобиотиками и их метаболитами. Первый путь является долговременным, его результаты проявляются у достаточно большого числа особей популяции, в течение десятилетий находящихся под воздействием фактора/ов, тогда как второй путь иллюстрирует оперативную ответную реакцию организма на загрязнение среды.

Заключение

Вероятнее всего, наблюдаемые изменения в активности ферментов внутриклеточного протеолиза у беспозвоночных Белого моря, обитающих в зонах комплексного загрязнения, являются следствием модификации белкового метаболизма клеток как части развития механизмов биохимической адаптивной реакции организмов, выработанной и закрепленной в ходе эволюции. Об этом также свидетельствует значительное сходство в специфике ответной реакции протеолиза у исследованных в данной работе морских беспозвоночных и ранее изученных водных организмов (Строганов, 1979; Немова и др., 1994). Реактивность показателей обмена белков у водных беспозвоночных позволяет предложить их в качестве дополнительного биотеста при оценке качества вод обитания гидробионтов.

Работа поддержана проектами РФФИ (02-04-48451), грантом Президента РФ «Ведущие научные школы» НШ-894.2003.4.

Литература

Алексеев Л.П. 1968. Определение активности протеиназ по расщеплению белковых субстратов // В кн.: Современные методы в биохимии. М.: Медицина. Т. 2. С. 112-137.

Войскокая Р.У. 1999. Лизосомальные ферменты у рыб и влияние на них природных, антропогенных и патогенных факторов. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Петрозаводск. 42 с.

Гублер Е.В., Генкин А.А. 1969. Применение критериев непараметрической статистики для оценки различий двух групп наблюдений в медико-биологических исследованиях. М.: Медицина. С. 9-24.

Мухин В.А. 1998. Протеолитические ферменты в тканях некоторых морских беспозвоночных: Дис. ... канд. биол. наук. Москва.

Наумов А.Д., Оленев А.В. 1981. Зоологические экскурсии на Белом море. Под ред. А.А. Стрелкова. Л.: Изд-во Ленингр. Ун-та. 176 с.

Немова Н.Н. 1991. Свойства и физиологическая роль внутриклеточных протеиназ в тканях рыб // Усп. совр. биол. Т. III, вып. 6. С. 948-954.

Немова Н.Н. 1996. Внутриклеточные протеолитические ферменты у рыб. Петрозаводск: изд-во КНЦ РАН. С. 56-83.

Немова Н.Н., Крупнова М.Ю., Кяйвярайнен Е.И., Волков И.В. 1994. Влияние токсических факторов на протеолитическую активность в икре и ранних личинках рыб // Известия РАН. Сер. биол. № 4. С. 605-610.

Немова Н.Н., Сидоров В.С. 1990. Влияние некоторых токсических факторов на лизосомальные протеиназы пресноводных рыб // Гидробиол. журнал. Т. 26. № 4. С. 69-73.

Покровский А.А., Тутельян В.А. 1976. Лизосомы. М.: Наука. С. 244-294.

Руднева И.И. 2000. Ответные реакции морских животных на антропогенное загрязнение Черного моря. Автореф. ... докт. биол. наук. М.

Строганов Н.С. 1979. Моделирование возможных изменений экосистемы при загрязнениях по чувствительности гидробионтов к токсикантам. Л.: Изд-во Ленингр. Ун-та. С. 142-149. Хочачка П., Сомеро Дж. 1977. Стратегия биохимической адаптации. М.: Мир. 260 с.

Bergen B.J., Nelson W.G., Pruell R.J. 1993. Bioaccumulation of PCB congeners by blue mussels (*Mytilus edulis*) deployed in New Bedford Harbor, Massachusetts // Environ. Toxicol. Chem. Vol. 12. P. 1671-1681.

Bohley P. 1987. Intracellular proteolysis // Hydrolytic enzymes. Biomedical division. P. 307-332.

Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. Vol. 72. P. 248-254.

Bruner K.A., Fisher S.W., Landrum P.F. 1994. The role of zebra mussels, *Dreissena polymorpha*, in contaminant accumulation from algae and suspended particles, and transfer to the benthic invertebrate, *Gammarus fasciatus* // J. Great Lakes Res. Vol. 20. P. 735-750.

Bryazgin, V., Klimov A. 1995. Evaluation of the present state of the Pomor and Karelian coast and the Onega Bay of the White Sea // In: The Projects of the Investment Programs developed for the Republic of Karelia by NEFCO/AMAP. Information Paper. Petrozavodsk. P. 6.

Dayton W.R., Revill W.J., Goll D.E., Stromer M.H. 1976. A Ca²⁺-activated protease possibly involved in myofibrillar protein turnover. Purification from porcine muscle // Biochem. Vol. 15. № 10. P. 2150-2158.

Fisher S.W. 1991. Changes in the toxicity of three pesticides as a function of environmental pH and temperature // Bull. Environ. Contam. Toxicol. Vol. 46. P. 197-202.

Gray J.S. 1981. The ecology of marine sediments. Cambridge: Cambridge University Press. 217 p.

Johnson P. 1990. Calpains (intracellular calcium - activated cysteine proteinases): structure - activity relationships

- and involvement in normal and abnormal cellular metabolism // *Int. J. Biochem.* Vol. 22. № 8. P. 811-822.
- Lawrence A.J., Poulter C.* 1998. Development of a sub-lethal pollution bioassay using the estuarine amphipod *Gammarus duebeni* // *Wat. Res.* Vol. 32. № 3. P. 569-578.
- Loeb V., Siegel V., Holm-Hansen O., Hewitt R., Fraser W., Trivelpiece W., Trivelpiece S.* 1997. Effects of sea-ice extent and krill or salp dominance on the Antarctic food web // *Nature.* Vol. 387. P. 897-900.
- Lowe D.M., Clarke K.R.* 1989. Contaminant-induced changes in the structure of the digestive epithelium of *Mytilus edulis* // *Aquat. Toxicol.* Vol. 15. P. 345-358.
- Matsuda K., Misaka E.* 1974. Studies on cathepsin D of rat liver lysosomes. I. Purification and multiple forms // *Biochem.* Vol. 76. P. 639-649.
- McLucky D., Bryant V., Campbell R.* 1986. The effects of temperature and salinity on the toxicity of heavy metals to marine and estuarine invertebrates // *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* Vol. 24. P. 481-520.
- Melloni E., Salamino F., Sparatore B.* 1992. The calpain - calpastatin system in mammalian cells: properties and possible functions // *Biochem.* Vol. 74. №3. P. 217-223.
- Moloney C.L., Ryan P.G.* 1995. Antarctic marine food webs // In: *Encyclopedia of Environmental Biology.* Nierenberg, W.A. (Ed.). Vol. 1. Academic Press, San Diego.
- Moore M.N.* 1985. Cellular responses to pollutants // *Mar. Pollut. Bull.* Vol. 16. P. 134-139.
- Murachi T., Hatanaka M., Yasumoto Y., Tanaka K.* 1981. A quantitative distribution study on calpain and calpastatin in rat tissues and cells // *Biochem. Int.* Vol. 2. № 6. P. 651-656.
- Mykles D.L., Skinner D.M.* 1990. Atrophy of crustacean somatic muscle and the proteinases that do the job // *J. Crust.* Vol. 10. № 4. P. 577-594.
- Nicholson S.* 1999. Cardiac and lysosomal responses to periodic copper in the mussel *Perna viridis* // *Mar. Pollut. Bull.* Vol. 38. P. 1157-1162.
- Ozoh P.T.E.* 1994. The effect of salinity, temperature and time on the accumulation and depuration of copper in ragworm, *Nereis diversicolor* (O.F. Muller) // *Environ. Monitor. Assess.* Vol. 29. P. 155-166.
- Porte C., Biosca X., Sole M., Albaiges J.* 2001. The integrated use of chemical analysis, cytochrome P450 and stress proteins in mussels to assess pollution along the Galician coast (NW Spain) // *Environ. Pollut.* Vol. 112. P. 261-268.
- Pruell R.J., Lake J.L., Davis W.R., Quinn J.G.* 1986. Uptake and depuration of organic contaminants by blue mussels (*Mytilus edulis*) exposed to environmentally contaminated sediment // *Mar. Biol.* Vol. 91. P. 497-507.
- Ritz D.A.* 1980. Tolerance of amphipods to fluctuating conditions of salinity, oxygen and copper // *J. Mar. Biol. Ass. UK.* Vol. 60. P. 489-498.
- Sheader M.* 1983. The reproductive biology and ecology of *Gammarus duebeni* (Crustacea: Amphipoda) in southern England // *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* Vol. 63. P. 517-540.
- Suzuki K., Imajoh S., Emori Y., Kawasaki H., Minami Y., Ohno S.* 1988. Regulation of activity of calpain // *Adv. Enz. Reg.* Vol. 27. P. 153-162.
- Toyohara H., Makinodan Y.* 1989. Comparison of calpain I and calpain II from carp muscle // *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 92. № 3. P. 577-581.