

УДК 577.155: 594.124

СПЕКТР ИЗОФОРМ КИСЛОЙ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕАЗЫ В ТКАНЯХ МИДИЙ *MYTILUS EDULIS* В УСЛОВИЯХ МОДЕЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НЕФТЕПРОДУКТАМИ

В. С. Скидченко, Р. У. Высоцкая, Н. Н. Немова

Институт биологии Карельского научного центра РАН

В аквариальных экспериментах изучено влияние различных концентраций (1,9–38,8 мг/л) нефтепродуктов (дизельное топливо) на активность лизосомальной дезоксирибонуклеазы беломорских мидий *Mytilus edulis* L. Установлено, что наиболее значительные изменения в активности и наборе изоформ ДНКазы происходили в мягких тканях моллюсков под воздействием малых (1,9 мг/л) и умеренных (8,4 и 17,4 мг/л) доз дизельного топлива. При высоких концентрациях нефтяных углеводородов (38,8 мг/л) нуклеазная активность и фракционный состав фермента в опыте и контроле отличались незначительно. Обсуждаются возможные механизмы, обеспечивающие высокую устойчивость мидий к нефтяному загрязнению, и роль нуклеаз в выбираемых стратегиях биохимической адаптации, отличающихся степенью вовлечения генома в реализацию компенсаторных перестроек метаболизма, при воздействии на моллюсков разных доз поллютанта.

Ключевые слова: *Mytilus edulis* L., кислая ДНКазы, изоформы, влияние нефтепродуктов.

V. S. Skidchenko, R. U. Vysotskaya, N. N. Nemova. THE RANGE OF ACID DEOXYRIBONUCLEASE ISOFORMS IN THE TISSUES OF *MYTILUS EDULIS* MUSSELS IN MODEL EXPERIMENTS WITH PETROLEUM HYDROCARBON POISONING

The effect of various concentrations (1.9–38.8 mg/l) of oil products (diesel fuel) on the activity of lysosomal deoxyribonuclease in White Sea mussels *Mytilus edulis* L. were studied in aquarium experiments. The most significant changes in the activity and range of DNase isoforms occurred in soft tissues under the impact of low (1.9 mg/l) and medium (8.4 & 17.4 mg/l) doses of diesel fuel. When the concentrations of petroleum hydrocarbons were high (38.8 mg/l) differences in the nuclease activity and the fractional composition of the enzyme between the treatment and the control were minor. We discuss the potential mechanisms behind the high resistance of the mussels to oil pollution, and the role of nucleases in the selected biochemical adaptation strategies, which differ in the involvement of the genome in the compensatory adjustments of the metabolism in response to different doses of the pollutant.

Key words: *Mytilus edulis* L., acid DNase, isoforms, effect of oil products.

Введение

Изучению биологических эффектов нефти и нефтепродуктов (НП) уделяется большое внимание [Яблоков, Остроумов, 1985; Патин, 2001]. В последние десятилетия, однако, среди такого рода работ наблюдается некоторый дисбаланс. Подавляющее большинство исследований направлено на тестирование токсичности индивидуальных компонентов нефти, главным образом, ароматических и полициклических углеводородов как наиболее опасных поллютантов нефтяного происхождения [Мионов и др., 1990; Головина, Бочко, 2005; Гайсина, 2007]. В реальности же организмы, как правило, подвергаются воздействию многокомпонентных смесей, каковыми являются сырая нефть, различные виды тяжелого и легкого топлива, попадающие в воды морей и океанов при аварийных сбросах нефтепродуктов. Токсичность смеси часто выше, чем отдельных ее составляющих. В связи с этим, на наш взгляд, особенно важно изучать биологические эффекты нефтепродуктов именно в этих формах, что позволит экстраполировать данные, полученные в модельных экспериментах, на реальные экологические ситуации.

Двустворчатые моллюски рода *Mytilus* традиционно используются в биотестировании состояния морских экосистем. Обоснование этого детально изложено в публикациях проекта «The Mussels Watch» [Farrington et al., 1983; Goldberg, 1986].

В клетках эукариот лизосомальный аппарат представляет собой «вторую линию защиты» [Moore et al., 2007] от различного рода токсинов, вступающую в действие после ферментов биотрансформации и детоксификации. Протекторная функция лизосом заключается в удалении из клетки поврежденных макромолекул, белков, синтезированных с ошибочной первичной или пространственной структурой, поврежденных органелл и даже частей ядра с содержащейся в нем ДНК [Bergamini et al., 2003; Cuervo, 2004; Ji, Kaplowitz, 2006]. В случае, когда аутофагической защиты оказывается недостаточно, лизосомы могут инициировать апоптоз необратимо поврежденных клеток [Lockshin, Zakeri, 2004; Kiffin et al., 2007]. Из сказанного понятно, что исследование состояния лизосомального аппарата клетки позволяет не только диагностировать наличие токсического эффекта поллютанта, но и составить прогноз о возможности восстановления организма после этого воздействия [Высоцкая, Немова, 2008; Köhler et al., 2002; Moore et al., 2006a, b].

В последние десятилетия опубликован ряд работ, рассматривающих возможность использования лизосомальных нуклеаз в биомониторинге состояния морских и пресноводных экосистем [Попов и др., 2003; Коничев и др., 2005; Амелина, 2006; Мензорова, Рассказов, 2007]. Активация лизосомальных нуклеаз направлена на реализацию компенсаторных перестроек нуклеинового и тесно связанного с ним белкового обмена. В качестве индикаторных показателей предлагается как общий уровень ферментативной активности нуклеаз в различных органах гидробионтов, так и состав изоформ ферментов.

В свете сказанного целью данной работы было исследование изменения активности и фракционного состава кислой ДНКазы в тканях двустворчатых моллюсков *Mytilus edulis* (Linnaeus 1758) под воздействием различных концентраций дизельного топлива.

Материал и методы

Схема эксперимента. Эксперимент был поставлен на базе Беломорской биологической станции Зоологического института РАН, расположенной в устье губы Чупа Кандалакшского залива [Bakhmet et al., 2009].

Объектом исследования служили двустворчатые моллюски вида мидия съедобная *Mytilus edulis* L., собранные с обрастаний искусственных субстратов в непосредственной близости от биостанции. Для работы отбирали одноразмерных мидий (средняя длина раковины $66,5 \pm 3,9$ мм), возраст – 7+. В период проведения эксперимента (октябрь) моллюски находились преимущественно в состоянии посленерестового покоя.

До начала эксперимента мидий акклимировали к лабораторным условиям в течение семи суток. Моллюсков содержали в аквариумах из оргстекла в аэрируемой морской воде с соленостью 25 ‰, при постоянной температуре 10 °С и круглосуточном освещении. Ежедневно проводили частичную смену воды. При акклимации и на протяжении всего эксперимента дополнительного кормления мидий не производилось.

За сутки до начала эксперимента мидий рассаднили в пять аквариумов объемом 15 л по 15 особей в каждый. В качестве нефтепродуктов использовали дизельное топливо. Во избежание расслоения дизтопливо вносили в экспериментальные аквариумы в виде смеси, приготовленной следующим образом: 100 мл дизтоплива добавляли к 900 мл морской воды и энергично взбалтывали в течение 10 минут. В

каждый из четырех аквариумов добавляли 15, 50, 75 и 150 мл полученной смеси. Расчетные концентрации нефтепродуктов приведены в таблице. Концентрации выбирали с расчетом охвата от ПДК до сублетальных. Добавление эмульсии нефтепродуктов производили ежедневно после частичной смены морской воды в аквариумах. В пятый аквариум нефтепродукты не добавляли. Моллюски из этого аквариума служили контролем. Экспозиция опыта составляла 6 суток. По окончании экспозиции из каждого варианта отбирали по три мидии, у которых извлекали мягкие ткани. Общую активность ДНКазы определяли в мантии и краевой части мантии. Пробы, предназначенные для изучения фракционного состава ферментов, готовили из мидий целиком, не разделяя на органы. Использование проб цельных моллюсков является общепризнанной техникой [Shepard et al., 2000; Fung et al., 2004]. Для нивелирования индивидуальных различий полученные три образца объединяли в одну сборную пробу. Число определений каждого биохимического показателя составляло не менее трех.

Концентрации нефтепродуктов в эксперименте

Номер аквариума	1	2	3	4	Контроль
Объем добавленной смеси, мл	150	75	50	15	0
Расчетные, мл/л	1,0	0,5	0,3	0,1	0
Расчетные, мг/л	700	350	210	70	0
Истинные, мг/л	38,80	17,40	8,41	1,88	0,35

Определение биохимических показателей. Из тканей моллюсков готовили 10%-е гомогенаты в 0,25 М растворе сахарозы (рН 7,4), содержащем 0,001 М ЭДТА и 0,1% неионного детергента тритона X-100, для учета мембранно-связанной ферментативной активности. Гомогенаты центрифугировали при 10 000 г в течение 30 минут при 4 °С. Полученный супернатант использовали для определения общей активности кислой ДНКазы (КФ 3.1.4.6) и разделения множественных молекулярных форм фермента.

Активность кислой ДНКазы определяли спектрофотометрически по методу А. А. Покровского с соавт. [1968]. Содержание общего белка в пробе определяли по методу Лоури [Lowry et al., 1951]. Активность фермента выражали в единицах прироста поглощения при λ 260 нм в минуту на мг белка (ΔE 260/мин/мг б).

Фракционирование изоформ кислой ДНКазы осуществляли с помощью энзим-электрофореза в ПААГ по методике J. В. Boyd [1970] в модификации, описанной А. П. Поповым с соавторами [2003].

Определение концентрации нефтепродуктов. Учитывая то, что отдельные фракции добавленных нефтеуглеводородов могли испаряться, а другие оседать на стенках аквариума и раковинах моллюсков, уменьшая, таким образом, действующую концентрацию дизтоплива в эксперименте, ежедневно перед каждой сменой воды из опытных аквариумов брали пробы для определения истинной концентрации нефтепродуктов (см. табл.). Количественное определение нефтеуглеводородов в воде проводили методом ИК-фотометрии после хроматографического отделения нефтепродуктов от сопутствующих органических соединений других классов на колонке, заполненной оксидом алюминия [РД 52.24.476-95].

Результаты исследований обрабатывали общепринятыми статистическими методами, оценивая достоверность различий по непараметрическому критерию U Вилкоксона-Манна-Уитни [Гублер, Генкин, 1969].

Результаты

Активность кислой ДНКазы. Изменение активности кислой ДНКазы в опыте представлено на рис. 1. Выдерживание мидий в растворе дизельного топлива наименьшей концентрации 1,88 мг/л приводило к статистически значимому повышению активности фермента в обоих исследованных органах (край мантии $U = 0$, $p = 0,049$; мантия $U = 0$, $p = 0,049$). В краевой мантии активность ДНКазы также была выше контрольного уровня у мидий из аквариума с содержанием нефтепродуктов в воде 17,40 мг/л ($U = 0$, $p = 0,049$). При концентрации нефтепродуктов 8,41 мг/л у моллюсков наблюдалось резкое (порядка 170 %) повышение активности ДНКазы в мантии по сравнению с контролем ($U = 0$, $p = 0,049$). У моллюсков, выдержанных в среде с максимальной дозой нефтепродуктов 38,80 мг/л, отличий в активности кислой ДНКазы от показателя контрольной группы выявлено не было.

Изоформы фермента. Спектры изоформ кислой ДНКазы мидий в норме и при интоксикации нефтепродуктами представлены на схеме (рис. 2). Согласно полученным энзимограммам, у моллюсков контрольной группы было выявлено четыре белка, обладающих способностью гидролизовать ДНК в кислой среде, с относительной электрофоретической подвижностью (R_f) 0,08, 0,16, 0,24 и 0,47. Максимальную и приблизительно равную между собой гидролитическую активность демонстрировали изоформы с R_f 0,16 и 0,24.

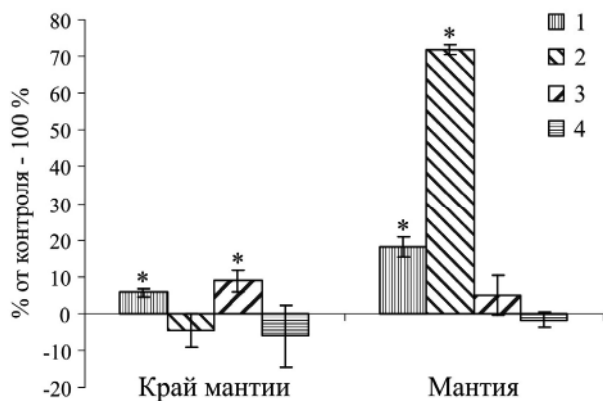


Рис. 1. Изменение активности кислой ДНКазы у мидий *M. edulis* L. под действием различных концентраций дизтоплива

Данные представлены в виде отклонений от контрольного значения. Содержание нефтепродуктов в мг/л: 1 – 1,88; 2 – 8,41; 3 – 17,4; 4 – 38,80. * – отличие от контроля достоверно при $p \leq 0,05$

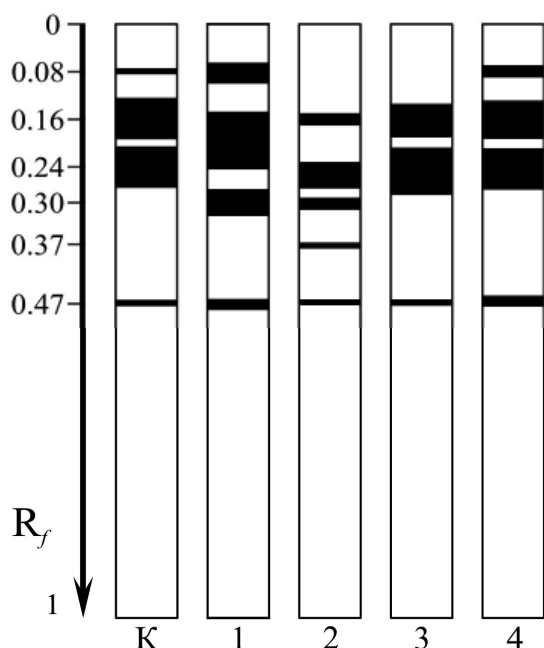


Рис. 2. Схема энзимограмм изоформ кислой ДНКазы в мягких тканях мидий *M. edulis* L. под действием различных концентраций дизтоплива

Содержание нефтепродуктов в мг/л: 1 – 1,88; 2 – 8,41; 3 – 17,4; 4 – 38,80; К – контроль

У мидий, выдержанных при концентрации нефтепродуктов 1,9 мг/л, проявлялась одна дополнительная полоса активности с R_f 0,30, сравнимая по интенсивности гидролиза с основными формами фермента (R_f 0,16 и 0,24) в контроле. В то же время у моллюсков этой экспериментальной группы две наиболее активные изоформы (R_f 0,16 и 0,24) не разделялись при электрофорезе, обнаруживаясь на энзимограммах в виде одной широкой полосы активности с промежуточным значением R_f 0,2.

В тканях мидий, помещенных в среду с содержанием нефтепродуктов 8,4 мг/л, отмечено две дополнительные формы с R_f 0,30 и 0,37, не обнаруживавшиеся на энзимограмме контроля. Активность наиболее медленно мигрирующей формы фермента с R_f 0,08 не проявлялась.

При концентрации нефтепродуктов 17,4 мг/л на энзимограммах моллюсков наблюдалось лишь одно отличие от контрольной группы – отсутствие полосы активности в зоне R_f 0,08.

У подопытных мидий, содержащихся в аквариуме с максимальным уровнем нагрузки 38,8 мг/л, качественных изменений в спектре множественных форм ДНКазы в сравнении с контролем не происходило.

Обсуждение

Биологические эффекты нефти и различных ее производных могут проявляться на организменном, клеточном и молекулярно-генетическом уровнях. В частности, у морских моллюсков под действием нефтепродуктов отмечено повышение содержания РНК [Дивавин, Ерохин, 1978], повреждение ДНК [Taban et al., 2004], подавление протеолиза в цитозоле [Канцерова, Лысенко, 2010], изменение иммунного статуса [Durynda et al., 2000; Ordas et al., 2007], структурные и функциональные изменения лизосом и эндоплазматического ретикулума [Nott, Moore, 1987; Axiak et al., 1988; Moore et al., 2007]. Согласно результатам нашей работы, эффект нефтепродуктов проявляется и на уровне лизосомальной ДНКазы. В экспериментальных условиях у моллюсков под влиянием эмульсии дизельного топлива наблюдались как количественные, так и качественные изменения лизосомальной ДНКазы.

Наибольшие изменения в активности и наборе изоформ тестируемого фермента происходили у моллюсков под действием наименьших в условиях данного эксперимента концентраций нефтепродуктов – 1,9 и 8,4 мг/л, которые, однако, превышают ПДК (ПДК нефти и НП для морских вод составляет 0,05 мг/л). У мидий из этих групп наблюдалась активация лизосомальной ДНКазы, выражавшаяся в резком повышении активности и появлении новых форм фермента на энзимограммах. Максимальная активация происходила в тканях мидий, выдержанных в среде, содержащей нефтепродукты в концентрации 8,41 мг/л.

Наблюдаемая у экспериментальных моллюсков активация лизосомальной дезоксирибонуклеазы, по всей видимости, имеет адаптивное значение. В ряде исследований показано, что мидии, будучи помещенными в среду с не-

большим содержанием нефтеуглеводородов, способны не только накапливать, но и до определенной степени метаболизировать некоторые компоненты нефти благодаря собственным детоксикационным системам или с участием микрофлоры [Проблемы химического загрязнения..., 1985]. Значение повышения нуклеазной активности при этом, вероятно, заключается в перераспределении ресурсов клетки для обеспечения новых синтезов в соответствии с изменившимися условиями среды. Подтверждением высказанного предположения может служить тот факт, что у мидий при экспонировании с сырой нефтью значительно увеличивается содержание нуклеиновых кислот в клетках [Дивавин, Ерохин, 1978; Pisoni et al., 2004]. Причем в большей степени стимулируется синтез РНК, нежели ДНК [Проблемы химического загрязнения..., 1985]. Однако следует заметить, что существуют данные, указывающие на пониженную способность мидий *Mytilus edulis* метаболизировать нефтяные углеводороды [Lee et al., 1972; Narbonne et al., 1991], что несколько противоречит высказанному выше предположению. Вполне вероятно, что большая часть поглощенных углеводородов выводится из организма мидий путем экскреции.

Признаки становления у мидий неспецифического адаптационного синдрома под действием нефтепродуктов в концентрациях 1,9–17,4 мг/л отмечены также нашими коллегами по изменению показателей системы кальций-зависимого протеолиза [Канцерова, Лысенко, 2010].

В отличие от эффекта «умеренных доз» нефтепродуктов, в тканях моллюсков, содержащихся при более высоких концентрациях дизтоплива в воде (17,4 и 38,8 мг/л), обнаруживаются незначительные отличия от контроля как в активности, так и в спектрах изоформ кислой ДНКазы.

Как известно, основной адаптивной стратегией литоральных мидий является переживание неблагоприятного воздействия с максимальной экономией энергетических и пластических ресурсов организма за счет снижения общего уровня метаболизма. Невыраженная биохимическая и физиологическая акклимация при обитании в изменчивой среде может компенсироваться адаптивным поведением, направленным на избегание или минимизацию воздействия фактора. У мидий такой поведенческой реакцией является изоляция от окружающей среды путем рефлекторного смыкания створок раковины [Хлебович, 1981]. Кроме того, при высокой концентрации нефтепродуктов у мидий развивается гипоксия и переход на

анаэробные пути обеспечения энергией [Головина, Бочко, 2005]. Данное положение подтверждают и полученные нами ранее результаты, свидетельствующие о значительном повышении активности ферментов углеводного обмена, в частности лизосомальных гликозидаз, в органах мидий при интоксикации нефтепродуктами [Высоцкая и др., 2009].

Дозозависимый эффект действия нефтепродуктов на биохимические показатели мидий, помимо прочего, может быть обусловлен хорошо изученной неспецифической реакцией лизосомального аппарата на метаболический стресс. Она заключается в вариативности активности лизосомальных гидролаз и дифференциальном изменении стабильности мембран лизосом в зависимости от химической структуры, дозы и продолжительности воздействия ксенобиотиков [Viarengo et al., 1981; Regoli, 1992; Marigómes, Baybay-Villacorta, 2003; Moore et al., 2007; Высоцкая, Немова, 2008]. Обсуждая причины высокой устойчивости мидий к воздействию нефтепродуктов в проведенных экспериментах, следует учитывать еще одно обстоятельство. Из-за «всепроникающей» способности нефтяных углеводородов очень трудно избавиться от их присутствия в воде. Как показал специально проведенный анализ, в контрольных аквариумах, куда дизельное топливо не вносили, всегда присутствует некоторый фоновый уровень нефтяных углеводородов. Моллюски, используемые в эксперименте, могут адаптироваться к данному виду воздействия. При повышении дозы действующего вещества (минимальные и средние концентрации) наблюдается адаптивный всплеск в активности ферментов, изменения их фракционного состава и другие преобразования метаболизма. При дозах поллютанта, достигающих некоего порога (высокие концентрации), мидии избирают другую стратегию биохимической адаптации: резкого снижения интенсивности метаболизма и поддержания жизнедеятельности за счет анаэробного обеспечения энергией. При этом геном активно не вовлекается в происходящие перестройки, о чем можно судить по незначительным отличиям от контроля как общей активности ДНКазы, так и ее изоформ при воздействии на мидий максимальной дозы дизельного топлива.

Заключение

Проведенные исследования показали, что под влиянием различных концентраций дизельного топлива в мягких тканях беломорских мидий происходили адаптивные перестройки

обмена веществ, которые проявлялись, в частности, на уровне лизосомальной ДНКазы. Выявленные изменения в активности и качественном составе молекулярных форм фермента свидетельствуют об участии лизосомальных нуклеаз в частичной биотрансформации поллютанта, поддержании гомеостаза и обеспечении процессов жизнедеятельности в токсичной среде.

Изменение активности фермента и спектра его изоформ зависело от дозы испытуемого вещества, а также от специфики выполняемых органом функций. Самое большое адаптивное повышение общей активности ДНКазы под влиянием малых и умеренных доз нефтяных углеводородов отмечено в мантии моллюсков. В краевой части мантии колебания уровня активности этой лизосомальной гидролазы были менее выраженными. При высоких концентрациях нефтепродуктов в среде обитания мидий нуклеазная активность и фракционный состав фермента в опыте и контроле отличались незначительно. Это позволяет сделать вывод о том, что при воздействии различных концентраций нефтепродуктов на мидий включаются разные стратегии биохимической адаптации, отличающиеся степенью вовлечения генома в реализацию компенсаторных перестроек метаболизма.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президента РФ для ведущих научных школ НШ-3731.2010.4 и НШ-1642.2012.4, программ ОБН РАН «Биологические ресурсы 2009–2011» и Президиума РАН «Биоразнообразия 2009–2011».

Литература

- Амелина В. С. Кислые нуклеазы и их роль в приспособительных реакциях водных организмов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петрозаводск, 2006. 26 с.
- Высоцкая Р. У., Немова Н. Н. Лизосомы и лизосомальные ферменты рыб. М.: Наука, 2008. 284 с.
- Высоцкая Р. У., Амелина В. С., Бахмет И. Н. Влияние нефтепродуктов на активность лизосомальных ферментов мидий в аквариальных экспериментах // Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов европейского Севера: Материалы XXVIII междунар. конф. (Петрозаводск, 5–8 окт. 2009 г.). Петрозаводск: Карельский НЦ РАН, 2009. С. 123–126.
- Гайсина А. А. Динамика активности серотонинергической системы в эмбриогенезе под влиянием нефтяного загрязнения // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов: Материалы 2-й науч. конф. с участием стран СНГ (Петрозаводск, 11–14 сент. 2007 г.). Петрозаводск: Карельский НЦ РАН, 2007. С. 38–39.
- Головина И. В., Бочко О. Ю. Влияние полихлорбифенилов на активность ферментов в тканях мидий *Mytilus galloprovincialis* // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Петрозаводск: Карельский НЦ РАН, 2005. С. 45–48.
- Гублер Е. В., Генкин А. А. Применение критериев непараметрической статистики для оценки различий двух групп наблюдений в медико-биологических исследованиях. М.: Медицина, 1969. 29 с.
- Дивавин И. А., Ерохин В. Е. Изменение биохимических показателей некоторых прибрежных гидробионтов Баренцева моря при экспериментальной нефтяной интоксикации // Гидробиол. журн. 1978. Т. 14, № 5. С. 73–77.
- Канцерова Н. П., Лысенко Л. А. Влияние нефтепродуктов на кальций-зависимую протеолитическую активность в тканях мидий *Mytilus edulis* L. // Молодежь в науке – 2009. Прил. к журн. «Весті нацыянальнай акадэміі навук Беларусі». Ч. 4. Минск: Белорусская наука, 2010. С. 132–135.
- Коничев А. С., Попов А. П., Цветков И. Л., Филков П. В. Ферменты как биохимические маркеры загрязнения воды // Приложение к Вестнику МГОУ. Сер. «Естественные науки». География, экология, экономика: актуальные проблемы науки и образования. М.: МГОУ, 2005. С. 151–153.
- Мензорова Н. И., Рассказов В. А. Использование различных тест-систем и биохимической индикации для мониторинга экологического состояния бухты Троицы (Японское море) // Биология моря. 2007. Т. 33, № 2. С. 144–149.
- Миронов О. Г., Писарева Н. А., Щекатурина Т. Л., Лапин Б. П. Исследование состава аренов в черноморских мидиях методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) // Гидробиол. журн. 1990. Т. 26, № 4. С. 59–62.
- Патин С. А. Нефть и экология континентального шельфа. М.: ВНИРО, 2001. 247 с.
- Покровский А. А., Арчаков А. И. Методы разделения и ферментной идентификации субклеточных фракций // Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1968. С. 5–59.
- Попов А. П., Коничев А. С., Цветков И. Л. Влияние токсичных соединений техногенного происхождения на активность и множественные формы кислой ДНКазы живородки речной (*Viviparus viviparus* L.) // Прикладная биохимия и микробиология. 2003. Т. 39, № 5. С. 518–523.
- Проблемы химического загрязнения вод Мирового океана. Т. 4: Влияние нефти и нефтепродуктов на морские организмы и их сообщества / Ред. О. Г. Миронов. Л.: Гидрометеиздат, 1985. 136 с.
- РД 52.24.476-95 Методические указания. ИК-фотометрическое определение нефтепродуктов в водах. Утверждены Росгидрометом. Гидрохимический институт. Ростов-на-Дону, 1995. 14 с.
- Хлебович В. В. Акклимация водных животных. Л.: Наука, 1981. 136 с.
- Яблоков А. Я., Остроумов С. А. Уровни охраны живой природы. Л.: Наука, 1985. 176 с.

- Axiak V., George J. J., Moore M. N. Petroleum hydrocarbons in the marine bivalve *Venus verrucosa*: accumulation and cellular responses // *Mar. Biol.* 1988. Vol. 97. P. 225–230.
- Bakhmet I. N., Fokina N. N., Nefedova Z. A., Nemova N. N. Physiological-biochemical properties of blue mussel *Mytilus edulis* adaptation to oil contamination // *Environ. Monit. Assess.* 2009. Vol. 155. P. 581–591.
- Bergamini E., Cavallini G., Donati A., Gori Z. The anti-ageing effects of caloric restriction may involve stimulation of macroautophagy and lysosomal degradation, and can be intensified pharmacologically // *Biomed. Pharmacother.* 2003. Vol. 57. P. 203–208.
- Boyd J. B. Characterization of an acid active deoxyribonuclease from the larval salivary gland of *Drosophila hydei* // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Nucleic Acids and Protein Synthesis.* 1970. Vol. 209, N 2. P. 349–356.
- Cuervo A. Autophagy: in sickness and in health // *Trends Cell. Biol.* 2004. Vol. 14. P. 70–77.
- Dyrynda E. A., Law R. J., Dyrynda P. E. J. et al. Changes in immune parameters of natural mussel *Mytilus edulis* populations following a major oil spill («Sea Empress», Wales, UK) // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 2000. Vol. 206. P. 155–170.
- Farrington J. W., Goldberg E. D., Risebrough R. W. et al. U.S. «Mussel Watch», 1976–1978: An overview of the trace metal. DDT, PCB, hydrocarbon and artificial radionuclide data // *Environ. Sci. and Technol.* 1983. Vol. 17. P. 490–496.
- Fung C. N., Lam J. C. W., Zheng G. J. et al. Mussel-based monitoring of trace metal and organic contaminants along the east coast of China using *Perna viridis* and *Mytilus edulis* // *Environ. Poll.* 2004. Vol. 127. P. 203–216.
- Goldberg E. D. The Mussel watch concept // *Environ. Monit. Assess.* 1986. Vol. 7. P. 101–125.
- Ji C., Kaplowitz N. ER stress: can the liver cope? // *J. Hepatol.* 2006. Vol. 45. P. 321–333.
- Kiffin R., Kaushik S., Zeng M. et al. Altered dynamics of the lysosomal receptor for chaperone-mediated autophagy with age // *J. Cell. Biol.* 2007. Vol. 120, N 5. P. 782–791.
- Köhler A., Wahl E., Soffker K. Functional and morphological changes of lysosomes as prognostic biomarkers of toxic liver injury in a marine flatfish (*Platichthys flesus* (L.)) // *Environ. Toxicol. Chem.* 2002. Vol. 21, N 11. P. 434–444.
- Lee R. F., Sauerheber R., Benson A. A. Petroleum hydrocarbons: uptake and discharge by the marine mussel *Mytilus edulis* // *Science.* 1972. Vol. 177. P. 344–346.
- Lockshin R. A., Zakeri Z. Apoptosis, autophagy, and more // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2004. Vol. 36. P. 2405–2419.
- Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin reagent // *J. Biol. Chem.* 1951. Vol. 193. P. 265–275.
- Marigómez I., Baybay-Villacorta L. Pollutant-specific and general lysosomal responses in digestive cells of mussels exposed to model organic chemicals // *Aquat. Toxicol.* 2003. Vol. 64. P. 235–257.
- Moore M. N., Allen J. I., McVeigh A. Environmental prognostics: an integrated model supporting lysosomal stress responses as predictive biomarkers of animal health status // *Mar Environ Res.* 2006a. Vol. 61, N 3. P. 278–304.
- Moore M. N., Allen J. I., Somerfield P. J. Autophagy: role in surviving environmental stress // *Mar Environ Res.* 2006b. Vol. 62. P. S420–S425.
- Moore M. N., Viarengo A., Donkin P., Hawkins A. J. S. Autophagic and lysosomal reactions to stress in the hepatopancreas of blue mussels // *Aquatic Toxicology.* 2007. Vol. 84, Issue 1. P. 80–91.
- Narbonne J. F., Aarab N., Clerandeanu C. et al. Scale of classification based on biochemical markers in mussels: application to pollution monitoring in Mediterranean coasts and temporal trends // *Biomarkers.* 2005. Vol. 10. P. 58–71.
- Nott J. A., Moore M. N. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on molluscan lysosomes and endoplasmic reticulum // *Histochem. J.* 1987. Vol. 19. P. 357–368.
- Ordas M. C., Costa M. M., Roca F. J. et al. Turbot TNF-alpha gene: molecular characterization and biological activity of the recombinant protein // *Mol. Immunol.* 2007. Vol. 44. P. 389–400.
- Pisoni M., Cogotzi L., Frigeri A. et al. DNA adducts, benzo(a)pirene monooxygenase activity, and lysosomal membrane stability in *Mytilus galloprovincialis* from different areas in Taranto coastal waters (Italy) // *Environ. Res.* 2004. Vol. 96. P. 163–175.
- Regoli F. Lysosomal responses as a sensitive index in biomonitoring heavy metal pollution // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1992. Vol. 84. P. 63–69.
- Shepard J. L., Olsson B., Tedengren M., Bradley B. Protein expression signatures identified in *Mytilus edulis* exposed to PCBs, copper and salinity stress // *Mar. Environ. Res.* 2000. Vol. 50, N 1–5. P. 337–340.
- Taban I. C., Bechmann R. K., Torgrinsen S. et al. Detection of DNA damage in mussels and sea urchins exposed to crude oil in comet assay // *Mar. Environ. Res.* 2004. Vol. 58. P. 701–705.
- Viarengo A., Zanicchi G., Moore M. N., Orumsu M. Accumulation and detoxication of copper by the mussel *Mytilus galloprovincialis* // *Aquat. Toxicol.* 1981. Vol. 1. P. 147–157.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Скидченко Виолетта Сергеевна

научный сотрудник, к. б. н.
 Институт биологии Карельского научного центра РАН
 ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
 Россия, 185910
 эл. почта: amelina_violetta@mail.ru
 тел.: (8142) 571879

Skidchenko, Violetta

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
 Russian Academy of Sciences
 11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
 e-mail: amelina_violetta@mail.ru
 tel.: (8142) 571879

Высоцкая Римма Ульяновна

главный научный сотрудник, д. б. н., проф.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: rimma@bio.krc.karelia.ru
тел.: (8142) 571879

Немова Нина Николаевна

директор ИБ КарНЦ РАН, чл.-корр. РАН, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: nemova@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 783615

Vysotskaya, Rimma

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: rimma@bio.krc.karelia.ru
tel.: (8142) 571879

Nemova, Nina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: nemova@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 783615