

## БИОИНДИКАЦИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ МОРСКИХ АКВАТОРИЙ С ПОМОЩЬЮ БИОМАРКЕРОВ РЫБ

© 2011 г. И. И. Руднева\*, Е. Н. Скуратовская\*, И. И. Дорохова\*, Ю. А. Граб\*\*, И. Н. Залевская\*\*, С. О. Омельченко\*\*\*

\*Институт биологии южных морей Национальной академии наук Украины  
99011 Севастополь, просп. Нахимова, 2

\*\*Таврический национальный университет  
95036 Симферополь, ул. Ялтинская, 2

\*\*\*Крымский региональный научно-производственный центр стандартизации, метрологии и сертификации  
95000 Симферополь, ул. им. Газеты “Крымская правда”, 61

Поступила в редакцию 22.07.2010 г.

Исследовано влияние содержания токсичных элементов Zn, Cu, As, Pb, Hg, Cd в мышцах шести видов черноморских рыб на концентрацию модифицированных форм белков и среднемолекулярных пептидов в сыворотке рыб. На основе корреляционного анализа установлено, что влияние токсичных элементов на содержание модифицированных форм белков убывает в ряду  $Zn + Pb > As > Hg > Cu > Cd$ , а среднемолекулярных пептидов – в ряду  $Pb > Cu > Zn > Hg > As + Cd$ . Рассмотрена возможность использования содержания модифицированных форм белков и среднемолекулярных пептидов в крови рыб в качестве биомаркеров для оценки их состояния и влияния на них среды обитания.

*Ключевые слова:* морские рыбы, загрязнение, биомаркеры, мониторинг, токсичные элементы.

Экологическая оценка качества водных объектов – важнейший этап разработки программ хозяйственного использования водоемов и мероприятий по их охране. Традиционно мониторинг акваторий базируется на изучении гидрохимических, гидрологических и токсикологических показателей, где доминирующую роль играют различные нормативные индексы (ПДК, ПДС). Однако такой подход в последнее время явно не удовлетворяет исследовательским и прикладным задачам, в связи с чем все чаще в практику экотоксикологической оценки качества природных вод внедряются методы биоиндикации и биотестирования [8, 9, 15]. В этом случае используются различные биомаркеры и биоиндикаторы, характеризующие ответные реакции гидробионтов на действие неблагоприятных факторов среды, в том числе загрязняющих веществ (ЗВ) антропогенного происхождения [20].

Наиболее часто в диагностических целях в тканях гидробионтов анализируют содержание различных ксенобиотиков, которые могут вызывать существенные нарушения обмена веществ и повреждение важнейших биомолекул [12, 23]. В этом случае по характерным биохимическим параметрам (биомаркерам) можно оценить степень этих нарушений, адаптивный или токсический ответ организма на качество среды обитания.

Некоторые биомаркеры – неспецифичные и не могут быть использованы при тестировании кон-

кретных ЗВ воды, в других случаях биоиндикаторы применяются для выявления определенных токсикантов, находящихся в среде и поступающих в организм. В то же время комплексное загрязнение морской среды вызывает окислительный стресс в тканях морских рыб, сопровождающийся нарушением баланса прооксидантно-антиоксидантных процессов в организме. Совершенно очевидно, что отклики ключевых антиоксидантных ферментов выражают ответную реакцию неспецифических защитных систем на действие неблагоприятных факторов и, следовательно, могут характеризовать качество среды и ее пригодность для обитания рыб [13, 22].

В последнее время для оценки повреждающего действия ксенобиотиков используются биомаркеры “присутствия”, отклики которых свидетельствуют о наличии в воде токсикантов и характеризуют негативное действие последних на организм [20]. В частности, к таким показателям относятся параметры перекисного окисления липидов, степень повреждения окисленных молекул белков и ДНК, их фрагментов, содержание белков теплового шока, металлотioneинов и так далее. [12, 21]. Для оценки загрязнения морских акваторий в качестве биомаркеров было предложено использовать содержание модифицированных форм белков в сыворотке крови рыб [14]. Ранее эти показатели применяли для анализа различных патологических состояний человека и животных [2].

**Таблица 1.** Содержание токсичных элементов  $M \pm m$ , мг/кг, в мышечных тканях рыб Черного моря, отловленных в прибрежной части Черного моря в районе Севастополя

Исследованные виды рыб	Cu	Pb	Cd	Zn	As	Hg
Морской ерш	0.60 ± 0.10	0.16 ± 0.04	0.04 ± 0.01	5.14 ± 1.25	0.80 ± 0.10	0.06 ± 0.01
Морской налим	0.66 ± 0.19	0.07 ± 0.02	0.01 ± 0.00	4.95 ± 1.50	1.31 ± 0.20	0.09 ± 0.02
Султанка	0.48 ± 0.10	0.07 ± 0.02	0.02 ± 0.00	4.06 ± 0.23	0.66 ± 0.20	0.05 ± 0.01
Мерланг	0.57 ± 0.15	0.07 ± 0.02	0.02 ± 0.01	3.64 ± 0.84	0.60 ± 0.11	0.05 ± 0.00
Смарида	0.58 ± 0.08	0.08 ± 0.02	0.05 ± 0.02	4.59 ± 0.72	1.10 ± 0.29	0.07 ± 0.01
Ставрида	0.53 ± 0.07	0.08 ± 0.03	0.01	5.41 ± 1.21	0.71 ± 0.24	0.05 ± 0.00
ПДК (Украина)	10.0	1.0	0.2	40.0	5.0	0.4

Морские организмы очень чувствительны к изменяющимся факторам среды, в том числе к ее антропогенному загрязнению различными химическими элементами, включая металлы. Чем выше загрязнение среды ксенобиотиками, тем в большей степени они накапливаются в тканях рыб, нарушая нормальную жизнедеятельность. В связи с этим цель настоящей работы – изучение взаимосвязи между содержанием токсичных элементов в тканях, окислительной модификацией белков и концентраций среднемoleкулярных олигопептидов в сыворотке крови черноморских рыб.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектами исследования служили прибрежные виды черноморских рыб, относящиеся к разным экологическим группам: морской ерш *Scorpaena roscus* (L.), морской налим *Gaidropsarus mediterraneus* (L.), султанка *Mullus barbatus ponticus* (Essipov), мерланг *Merlangus merlangus euxinus* (Nordmann), смарида *Spicara smaris* (L.), ставрида средиземноморская *Trachurus mediterraneus* (Steindachner). Рыб отлавливали в прибрежной зоне Черного моря в районе г. Севастополя в 2003–2005 гг.

Токсичные элементы Cu, Pb, Cd, Zn, As, Hg определяли в мышечных тканях рыб атомно-абсорбционным методом на спектрофотометре ААС1N “Hitachi” (Япония) и полярографическим методом на полярографе универсальном специализированном “ПЛС-1” (Россия) [7]. Для этого использовали суммарные образцы тканей, полученные от пяти–десяти особей каждого вида. Исследования проводили в трех–пяти повторах.

Кровь рыб отбирали из хвостовой артерии, сыворотку получали по методу О.В. Троицкой [19]. Окислительную модификацию белков в сыворотке крови анализировали по методу Е.Е. Дубининой [2], основанному на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белка с 2,4-динитрофенилгидрозином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов. Оптическую плотность образовавшихся 2,4-динитрофенилгидразонов регистрировали при длинах волн D 346,

370, 430, 530 нм на спектрофотометре “СФ-46” (Россия).

Содержание среднемoleкулярных пептидов в сыворотке крови рыб определяли по спонтанной окислительной модификации белков в 0.1 М фосфатном буфере. Оптическую плотность кислоторастворимых пептидов регистрировали при длинах волн D 254, 272, 280 нм на спектрофотометре “СФ-46” (Россия) [1].

Сравнительный анализ данных осуществляли с использованием *t*-критерия Стьюдента. Результаты считали достоверными в случае, если  $p \leq 0.05$ . С целью выявления зависимости между исследуемыми параметрами рассчитывали коэффициент корреляции для каждой пары значений с помощью стандартной программы “EXCEL”, учитывая, что при коэффициентах корреляций  $0 < r < 0.3$  имеет место слабая связь, при  $0.3 < r < 0.5$  – умеренная, при  $0.5 < r < 0.7$  – значительная, при  $0.7 < r < 0.9$  – сильная [5].

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание токсичных элементов в тканях рыб различается, но не превышает нормативов, принятых на Украине (табл. 1).

Содержание Cu слабо варьирует у исследуемых видов, однако прослеживается тенденция увеличения этого элемента в тканях донных рыб – ерша и налима. Максимальное содержание Pb отмечено у морского ерша, Cd – также у ерша и смариды. Наибольшее содержание Zn выявлено у пелагической ставриды, наименьшее – у мерланга, а содержание As изменяется в более широких пределах: максимальные значения обнаружены у налима и смариды. Высокая концентрация Hg также установлена у налима, у остальных рыб этот показатель значительно ниже. Таким образом, содержание токсичных элементов в мышцах рыб имеет определенные видовые особенности, что могло повлиять на концентрацию модифицированных форм белков и среднемoleкулярных олигопептидов в сыворотке крови рыб.

**Таблица 2.** Содержание модифицированных форм белков при разных оптических плотностях в сыворотке крови исследуемых видов рыб  $M \pm m$ , на 1 мл сыворотки (здесь и в табл. 4 в скобках – доля, %)

Исследованные виды рыб	Условные оптические единицы				Общее содержание
	<i>D</i> 346	<i>D</i> 370	<i>D</i> 430	<i>D</i> 530	
Морской ерш	2.82 ± 0.43 (31)	3.86 ± 0.59 (43)	1.95 ± 0.35 (22)	0.40 ± 0.06 (4)	9.03 (100)
Морской налим	4.06 ± 0.40 (32)	5.54 ± 0.48 (43)	2.83 ± 0.22 (22)	0.32 ± 0.04 (3)	12.75 (100)
Султанка	4.76 ± 0.38 (31%)	6.40 ± 0.51 (41)	3.56 ± 0.35 (23)	0.79 ± 0.06 (5)	15.51 (100)
Мерланг	2.98 ± 0.29 (31)	4.09 ± 0.42 (42)	2.25 ± 0.24 (23)	0.43 ± 0.05 (4)	9.75 (100)
Смарида	4.28 ± 0.80 (31)	5.78 ± 1.0 (42)	3.07 ± 0.53 (23)	0.57 ± 0.06 (4)	13.70 (100)
Ставрида	2.95 ± 0.71 (36)	3.59 ± 0.83 (43)	1.41 ± 0.42 (17)	0.37 ± 0.10 (4)	8.32 (100)

**Таблица 3.** Коэффициенты корреляции между концентрациями модифицированных форм белков в сыворотке крови и токсичных элементов в тканях исследуемых видов рыб

Токсичный элемент	Условные оптические единицы				Общее содержание
	<i>D</i> 346	<i>D</i> 370	<i>D</i> 430	<i>D</i> 530	
Cu	-0.21	-0.13	-0.14	-0.74	-0.20
Pb	-0.53	-0.48	-0.44	-0.27	-0.48
Cd	0.10	0.15	0.20	0.19	0.15
Zn	-0.30	-0.36	-0.53	-0.53	-0.41
As	0.38	0.41	0.30	-0.32	0.34
Hg	0.33	0.36	0.27	-0.38	0.29
ΣMe	-0.13	-0.13	-0.33	-0.57	-0.23

В табл. 2 приведены показатели содержания модифицированных форм белков в сыворотке крови. Наибольшие величины характерны для султанки, наименьшие – для ставриды. Параметры остальных видов рыб имеют промежуточные значения. При этом следует отметить, что соотношение различных компонентов модифицированных белков в сыворотке крови рыб в целом одинаково: наибольшая концентрация характерна для продуктов, регистрируемых при *D*370, наименьшая – при *D*530.

Однако следует отметить увеличение относительной доли компонентов, максимальная оптическая плотность которых фиксируется при *D*346 в сыворотке крови ставриды, и снижение таковых при *D*430 (8 : 9.6 : 3.8 : 1) по сравнению с другими видами: 7 : 9.7 : 5 : 1 у ерша, 6 : 8 : 4.6 : 1 у султанки, 7 : 9.5 : 5.2 : 1 у мерланга и 7 : 11 : 5.5 : 1 у смариды. В отличие от других рыб, у налима доля компонентов, оптическая плотность которых регистрируется при *D*530, в два раза ниже (6.3 : 8.6 : 4.4 : 0.5).

Значения коэффициентов корреляций между содержанием токсичных элементов в тканях рыб и содержанием модифицированных белков в сыворотке крови приведены в табл. 3.

Связь между содержанием Cu и концентрацией модифицированных форм белков в сыворотке крови рыб отсутствует, за исключением компонентов,

определяемых при *D*530. Корреляция между концентрациями Pb, Cd, As, Hg и модифицированных форм белков слабая и умеренная. Умеренная корреляция установлена между содержаниями Zn и компонентов, определяемых при *D*346 и *D*370, тогда как содержание продуктов, регистрируемых при *D*430 и *D*530, имеет значительную корреляцию с концентрацией токсичных элементов в тканях.

Содержание среднемoleкулярных олигопептидов в сыворотке крови рыб приведено в табл. 4.

Наибольшее содержание среднемoleкулярных олигопептидов установлено в сыворотке крови морского ерша при всех длинах волн, у остальных рыб эти параметры колеблются незначительно. Однако в отличие от модифицированных форм белков, соотношение среднемoleкулярных олигопептидов в сыворотке исследуемых видов рыб варьирует в большей степени. У донных рыб соотношения компонентов среднемoleкулярных олигопептидов имеют сходство (2 : 1 : 1 у морского ерша и 3 : 1.1 : 1 у морского налима). Однако у придонно-пелагических (султанки, мерланга и смариды) и пелагических (ставрида) рыб эти соотношения изменяются в порядке увеличения относительной доли компонентов, определяемых при *D*254 (5 : 2.4 : 1, 4.8 : 1.2 : 1, 3.3 : 1.3 : 1 и 3.9 : 1.4 : 1 соответственно), что может свидетельствовать о наличии видовых и экологиче-

**Таблица 4.** Содержание среднемолекулярных олигопептидов в сыворотке крови исследуемых видов рыб  $M \pm m$ , на 1 мл сыворотки

Исследованные виды рыб	Условные оптические единицы			
	D254	D272	D280	Общее содержание
Морской ерш	1.57 ± 0.05 (50)	0.84 ± 0.03 (27)	0.72 ± 0.02 (23.0)	3.13 (100)
Морской налим	1.51 ± 0.02 (57)	0.61 ± 0.01 (23)	0.52 ± 0.01 (20)	2.64 (100)
Султанка	1.23 ± 0.03 (59)	0.60 ± 0.03 (29)	0.25 ± 0.02 (12)	2.08 (100)
Мерланг	1.54 ± 0.03 (67)	0.43 ± 0.01 (19)	0.33 ± 0.01 (14)	2.30 (100)
Смарида	1.16 ± 0.03 (58)	0.47 ± 0.02 (24)	0.35 ± 0.02 (18)	1.98 (100)
Ставрида	1.33 ± 0.04 (62)	0.48 ± 0.02 (22)	0.35 ± 0.02 (16)	2.16 (100)

ских особенностей метаболизма и продукции среднемолекулярных олигопептидов.

Значения коэффициентов корреляции между содержанием токсичных элементов в тканях рыб и содержанием среднемолекулярных олигопептидов в сыворотке крови приведены в табл. 5.

Из представленных данных можно заключить, что значительные и высокие корреляции установлены между содержанием Cu, Pb, Zn и концентрацией компонентов, регистрируемых при D280 нм. В остальных случаях связь между концентрациями токсичных элементов в тканях и сывороточных среднемолекулярных олигопептидов слабая и умеренная.

Таким образом, результаты исследований позволили установить существенные различия в содержании модифицированных форм белков и низкомолекулярных олигопептидов в сыворотке крови рыб в зависимости от накопления в тканях токсичных элементов. Следует отметить, что именно металлы переменной валентности (Cu, Fe, Zn), а также неэссенциальные токсичные элементы (Pb, Cd, Hg) играют важную роль в образовании и метаболизме данных компонентов в тканях организма [12, 21, 22].

В наибольших количествах в тканях исследуемых видов рыб содержится Zn (3.64–5.41 мг/кг), который поступает с пищей и является важным эссенциальным элементом. Zn входит в состав >20 ферментов, он необходим для процесса деления клетки, поддержания обмена веществ, размножения и так далее. Однако при повышенных концентрациях Zn в воде и в тканях рыб происходит снижение pH крови, темпа роста, нарушение репродукции [10, 16].

Обращает на себя внимание тот факт, что коэффициенты корреляции между концентрациями Zn и всех форм модифицированных белков выше по сравнению с соответствующими показателями для других токсичных элементов. Известно, что Zn входит в состав многих ферментов, в том числе участвующих в процессах детоксикации и выведения из организма молекул двуокиси углерода, образующихся при повреждении белковых молекул и их катабо-

лизме [16]. Возможно, что увеличение содержания Zn в организме позволяет повысить скорость этих процессов в определенных пределах, о чем свидетельствует также наличие умеренной и значительной корреляции между концентрациями Zn и среднемолекулярных олигопептидов, определяемых при D272 и D280.

Другой важнейший биофильный элемент – Cu, содержание которого достаточно стабильно в тканях рыб. Cu входит в состав многих ферментов, катализирующих окислительно-восстановительные и гидролитические реакции [16]. Ионы Cu при высоких концентрациях в воде вызывают интоксикацию рыб, которая выражается в нарушении тканевого дыхания, кроветворения, минерального и азотистого обмена. Действие Cu синергично в сочетании с Zn и Cd [10]. Коэффициенты корреляции между концентрациями окисленных белков, среднемолекулярных олигопептидов и Cu выражены в меньшей степени и значительны только для компонентов, определяемых при D530 и D280 соответственно. Из этого следует, что участие Cu в основном определяется окислительно-восстановительными реакциями, в том числе в нейтрализации свободных радикалов.

**Таблица 5.** Коэффициенты корреляции между содержанием токсичных элементов в мышцах и уровнем среднемолекулярных олигопептидов в сыворотке крови рыб

Токсичный элемент	Условные оптические единицы			
	D254	D272	D280	Общее содержание
Cu	0.57	0.26	0.68	0.59
Pb	0.39	0.81	0.84	0.77
Cd	-0.30	0.16	0.25	0.03
Zn	0.04	0.41	0.56	0.38
As	-0.04	0.11	0.34	0.15
Hg	0.12	0.25	0.44	0.30
ΣMe	0.07	0.40	0.63	0.42

Мышьяк относится к условно жизненно необходимым элементам, оказывает влияние на окислительные процессы в митохондриях, участвует в других биологических процессах. В высоких концентрациях мышьяк содержится в липидах рыб (до 10 мг/кг), что может приводить к опасным отравлениям человека, употребляющего эти продукты [16]. В настоящих исследованиях установлена умеренная корреляция между концентрациями As и окисленных белков, тогда как корреляция с уровнем среднемолекулярных олигопептидов практически отсутствует.

Токсическая роль Pb, Hg и Cd обусловлена их способностью связываться с большим числом анионов, SH-группами, фосфатами и так далее. В результате угнетается синтез белков, активность ферментов, синтез гема- и гемоглобина, происходит нарушение конформации, инактивация активного центра ферментов, а также агрегация молекул, что, в конечном итоге, приводит к образованию модифицированных форм белков [3, 16]. Ионы Pb, Hg и Cd взаимодействуют с белками крови и всего организма, а не только тканей, в которых происходит их накопление [11, 17]. В то же время один из важнейших механизмов, снижающих интоксикацию соединениями токсичных элементов (Cd, Zn, Pb, Cu) в организме, — синтез металлотионеинов, которые взаимодействуют с тяжелыми металлами и блокируют их токсическое действие. Следует отметить, что индукция синтеза металлотионеинов происходит как в результате накопления высоких концентраций токсичных элементов, так и под действием эндотоксинов. Совершенно очевидно, что в этом случае модифицированные формы белков и среднемолекулярных олигопептидов играют роль биохимических маркеров, отражающих уровень патологического белкового метаболизма, инициированного прямым и косвенным действием накопленных в тканях токсичных элементов [4, 6].

Связь между концентрациями Pb в тканях и окисленных белков — умеренная, однако, между концентрациями среднемолекулярных олигопептидов и Pb — высокая. Умеренная корреляция отмечена также между содержанием Hg и среднемолекулярных олигопептидов. Сходные результаты были получены другими исследователями, изучавшими действие Hg на фракционный состав пептидов мускулатуры речного окуня. Было показано, что динамика количественных трансформаций в спектре низкомолекулярных пептидов коррелировала с накоплением Hg в мышцах [18].

Таким образом, полученные данные демонстрируют корреляционную связь между концентрациями токсичных элементов в тканях и модифицированных форм белков и среднемолекулярных олигопептидов в сыворотке крови рыб. При этом наблюдаемые эффекты неоднозначны и зависят от биофильности элемента, особенностей биологии

вида, принадлежности его к той или иной экологической группе, а также белкового метаболизма и адаптационных возможностей. Следует учитывать также, что соотношение содержания модифицированных форм белков и среднемолекулярных олигопептидов может отражать адаптивные реакции организма, направленные на деградацию окисленных белков, не способных выполнять свои функции.

В целом, можно заключить, что степень влияния накопленных в мышцах рыб токсичных элементов на модифицированные формы белков убывает в ряду  $Zn + Pb > As > Hg > Cu > Cd$ , а на среднемолекулярные олигопептиды — в ряду  $Pb > Cu > Zn > Hg > As + Cd$ . По-видимому, полученные закономерности могут отражать совокупность нескольких процессов, приводящих к образованию модифицированных форм белков и олигопептидов. Авторы статьи выдвигают следующие объяснения этим явлениям:

агрегация молекул белков посредством SH-групп, с которыми взаимодействуют токсичные элементы (Hg, Cd, Pb), с последующей их деградацией с помощью лизосомальных протеаз с образованием среднемолекулярных олигопептидов;

повреждение белковых молекул в результате их окислительной модификации под действием металлов переменной валентности (Zn, Cu) с последующим катаболизмом с образованием среднемолекулярных олигопептидов;

образование среднемолекулярных олигопептидов в результате действия лизосомальных ферментов, разрушающих модифицированные и нефункциональные формы белков, поврежденные накопленными в тканях токсичными элементами;

образование металлотионеинов и белков теплового шока для нейтрализации действия токсичных элементов.

Согласованность данных реакций и их баланс — по-видимому, видоспецифические признаки, определяющие адаптационный потенциал организма и его ответ на содержание токсичных элементов в среде и в тканях. В связи с этим, применение указанных биомаркеров в экотоксикологических исследованиях позволяет не только оценить состояние организма, его устойчивость к действию неблагоприятных факторов, но и охарактеризовать его адаптивные возможности в условиях хронического антропогенного воздействия на прибрежные морские экосистемы. Следует отметить, что при планировании и разработке мониторинговых программ необходимо учитывать биологические и экологические особенности тест-объектов (рыб), так как все они оказывают существенное влияние на процессы накопления ксенобиотиков в тканях гидробионтов и на характер ответных реакций на их действие.

## ВЫВОДЫ

Установлены видовые особенности содержания токсичных элементов в тканях черноморских рыб.

У рыб, относящихся к придонно-пелагической и пелагической группам, содержание средномолекулярных олигопептидов, регистрируемых при D254, выше по сравнению с показателями рыб донной группы.

Степень влияния накопленных в мышцах рыб токсичных элементов на модифицированные формы белков убывает в ряду  $Zn + Pb > As > Hg > Cu > Cd$ , а на средномолекулярные олигопептиды – в ряду  $Pb > Cu > Zn > Hg > As + Cd$ .

Содержание модифицированных форм белков и олигопептидов в крови рыб, обитающих в загрязненных акваториях, может быть использовано в качестве информативных биомаркеров в мониторинговых программах для оценки состояния рыб и среды их обитания.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дубинина Е.Е., Морозова М.Г., Леонова Н.В. и др. Окислительная модификация белков плазмы крови больных психическими расстройствами (депрессия, деперсонализация) // *Вопр. медицинской химии*. 2000. Т. 46. № 4. С. 398–409.
2. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Порохов И.Г. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // *Вопр. медицинской химии*. 1995. Т. 41. № 1. С. 24.
3. Комов В.Т., Степанова И.И. Ртутное загрязнение // *Экологическая проблема Верхней Волги*. Ярославль: ЯГТУ, 2001. С. 74–89.
4. Корякина Е.В., Белова С.В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы) // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2004. № 3. С. 3–7.
5. Лакин Р.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1990. 352 с.
6. Луцак В.И. Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма // *Биохимия*. 2007. Т. 72. Вып. 8. С. 995–1017.
7. Методика определения уровней токсичности поверхностных и глубинных вод для контроля пригодности их качества установленным нормативным требованиям. Киев: Мин. экоресурсов Украины, 2000. 28 с.
8. Моисеенко Т.И. Экотоксикологический подход к оценке качества вод // *Вод. ресурсы*. 2005. Т. 32. № 2. С. 184–195.
9. Моисеенко Т.И., Кудрявцева Л.П., Гашкина Н.А. Оценка геохимического фона и антропогенной нагрузки на биоаккумуляцию микроэлементов в организме рыб // *Вод. ресурсы*. 2005. Т. 32. № 6. С. 700–711.
10. Моисеенко Т.И., Кудрявцева Л.П., Гашкина Н.А. Рассеивание элементов в поверхностных водах суши. Технофильность, биоаккумуляция, экотоксикология. М.: Наука, 2006. 262 с.
11. Немова И.И. Биохимические эффекты накопления ртути у рыб. М.: Наука, 2005. 165 с.
12. Немова Р.И., Высоцкая Р.И. Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука, 2004. 215 с.
13. Руднева И.И. Ответные реакции морских животных на антропогенное загрязнение Черного моря. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М.: МГУ, 2000. 55 с.
14. Руднева И.И., Вахтина Т.Б., Скуратовская Е.Н. и др. Способ биологической оценки токсичности морской среды. Патент 27484 UA. МПК G 01 N 33/18. № 200603935 // *БИ*. 2007. № 18. 10 с.
15. Руднева И.И., Шевченко Н.Ф., Залевская И.Н., Жерко Н.В. Биомониторинг прибрежных вод Черного моря // *Вод. ресурсы*. 2005. Т. 32. № 2. С. 238–246.
16. Скальный А.В. Химические элементы в физиологии и экологии человека. М.: ОНИКС- Мир, 2004. 216 с.
17. Смирнов Л.П., Кирилук С.Д. Влияние загрязнения окружающей среды на фракционный состав низкомолекулярных пептидов из различных тканей сигов // *Изв. РАН. Сер. биол.* 1994. № 4. С. 617–622.
18. Суховская И.В., Смирнов Л.П., Немова Н.Н., Комов В.Т. Влияние ртути на фракционный состав низкомолекулярных пептидов мускулатуры речного окуня *Perca fluviatilis* // *Вопр. ихтиологии*. 2001. Т. 41. № 5. С. 699–703.
19. Троицкая О.В. Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. 387 с.
20. Adams S.M. Assessing cause and effect of multiple stressors on marine systems // *Mar. Pollut. Bull.* 2005. V. 51. № 8–12. С. 649–657.
21. Biomarqueurs en ecotoxicologie. Aspects fondamentaux /Eds. Lagadic L., Caquet Th., Amiard J.-C., Rameau F. Paris: Masson, 1997. 420 p.
22. Livingstone D. R., Martinez P. G., Winston G. W. Venadione-stimulated oxyradical formation in digestive gland microsomes of the common mussel *Mutilus edulis* L. // *Aquatic. Toxicol.* 1989. V. 15. P. 213 – 136.
23. Winston G.W. Oxidants and antioxidants in aquatic organisms // *Comp. Biochem. Physiol.* 1991. V. 100 C. № 1–2. P. 173–176.