

**НАКОПЛЕНИЕ ЛАКТАТА И БЕЛКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА (БТШ) ПРИ ОСТРОМ
ТЕМПЕРАТУРНОМ СТРЕССЕ У БАЙКАЛЬСКИХ ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ
EULIMNOGAMMARUS VITTATUS И *EULIMNOGAMMARUS MARITUJI* (CRUSTACEA, AMPHIPODA)**

**В.В. Павличенко^{1,2}, Ж.М. Шатилина^{1,2}, Д.С. Бедулина^{1,2}, М.В. Протопопова^{1,2}, Е.А. Сапожникова^{1,2},
Д.В. Аксёнов-Грибанов^{1,2}, Б.К. Бадиев^{2,3}, М.А. Тимофеев^{1,2}**

[Pavlichenko V.V., Shatilina Z.M., Bedulina D.S., Protopopova M.V., Sapozhnikova E.A., Axenov-Gribanov D.V., Baduev B.K., Timofeyev M.A. Lactate and heat shock proteins (HSP) accumulation at acute temperature stress in Baikalian thermosensitive *Eulimnogammarus vittatus* and *Eulimnogammarus marituji* (Crustacea, Amphipoda)]

¹ Байкальский исследовательский центр. 664003 Иркутск, ул. К. Маркса, 5-10, Россия. E-mail: m.a.timofeyev@gmail.com.

² Иркутский государственный университет. 664003 Иркутск, ул. К. Маркса, 2, Россия.

³ Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН. 664033 Иркутск, ул. Лермонтова, 132, Россия.

¹ Baikalian Research Centre, Karl Marx str. 5-10, 664003, Irkutsk, Russia. E-mail: m.a.timofeyev@gmail.com.

² Irkutsk State University, Karl Marx str. 1, 664003, Irkutsk, Russia.

³ Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Lermontova str.132, 664033, Irkutsk, Russia.

Ключевые слова: Байкал, температурный стресс, амфиподы, лактат, белки теплового шока.

Key words: Baikal, thermal stress, amphipods, lactate, heat shock proteins.

Резюме. Проводили оценку метаболизма лактата и уровня БТШ при воздействии температурного стресса (25°C) у байкальских эндемичных амфипод. В экспериментах использовали два вида из оз. Байкал – *Eulimnogammarus vittatus* (Dyb., 1874) и *Eulimnogammarus marituji* Baz., 1945. В качестве маркеров стресса использовали белки теплового шока семейств БТШ70 и нмБТШ. Обнаружена общая для обоих исследованных видов тенденция к увеличению содержания БТШ70, нмБТШ и лактата. Сделан вывод об участии БТШ70 и нмБТШ в механизме терморезистентности у исследованных видов амфипод. Также рассмотрены предположения о возможных причинах изменения содержания лактата при температурном стрессе у исследованных видов амфипод.

Summary. Estimation of lactate metabolism and HSP level under influence of temperature stress (25 °C) in Baikalian endemic amphipods was made. Two species from Lake Baikal - *Eulimnogammarus vittatus* (Dyb., 1874) and *Eulimnogammarus marituji* Baz., 1945 were used in experiments. Heat shock proteins from HSP70 and sHSP families were chosen as stress markers. The general tendency to the increasing of HSP70, sHSP and lactate levels was found in all investigated species. It may be considered that HSP70 and sHSP take part in thermoresistance mechanisms in the investigated amphipod species. The hypotheses on the possible reasons of lactate level changes at temperature stress in the investigated amphipod species were discussed.

ВВЕДЕНИЕ

Длительное время считалось, что лактат – это побочный продукт метаболизма, ответственный за истощение организма при физической нагрузке [Davis, 1985]. Последние исследования свидетельствуют о том, что лактат это активный метаболит, способный перемещаться между клетками, тканями и органами, где он может быть окислен в качестве источника энергии или повторно преобразован в пируват или глюкозу [Philp et. al., 2005]. Лактат является важным окисляемым субстратом и предшественником глюкозы в глюконеогенезе [Roef et al., 2003]. Лактат способен регулировать окислительно-восстановительные процессы в клетке (посредством перехода в пируват) и NAD⁺/NADH баланс, тем самым регулируя метаболизм в разных тканях [Philp et. al., 2005]. Представления о лактате, как о сигнальной молекуле заключаются в его способности выходить из клетки через белковую систему переноса монокарбоксильных соединений типа «челнок» и преобразовываться в пируват (и обратно в лактат) с помощью различных изоформ лактатдегидрогеназы [McClelland et. al, 2003]. Таким образом, лактат может выполнять роль псевдогормона, регулируя запасы глюкозы и гликогена в разных тканях и поддерживая его на нужном уровне, тем са-

мым сохраняя энергетический баланс организма [Brooks, 2002].

На воздействие различных стрессовых факторов организм отвечает активацией основных защитных систем. В том числе увеличивается интенсивность дыхания и поглощение кислорода, при недостатке которого может возникнуть клеточная гипоксия. Вследствие клеточной гипоксии в клетке начинает преобладать анаэробный гликолиз с накоплением лактата как конечного продукта. Таким образом, лактат может использоваться как стресс-маркер, так как увеличение его содержания может быть использовано для индикации стрессового воздействия.

Одним из важных факторов окружающей среды является температура. Повышение или понижение температуры является стрессом, лимитирующим существование всех живых организмов. Особенно это актуально для водных организмов, жизнедеятельность которых целиком зависит от стабильной температуры окружающей среды. Одним из путей адаптации к повышению температуры окружающей среды у гидробионтов является переход на анаэробный метаболизм с использованием лактата в качестве основного источника энергии [Хочачка, Сомеро, 1977].

В ряде публикаций показано изменение содержания лактата у гидробионтов под действием повышен-

ных температур [Forster et al., 1989; Greenaway et al., 1992; Stillman and Somero, 1996; Frederich and Pörtner, 2000; Sokolova and Pörtner, 2002; Selvacumar and Geraldine, 2004], что может свидетельствовать об усилении анаэробных процессов в организме, сопровождающихся нарушением работы электрон-транспортной сети митохондрий и энергетического обеспечения организма в целом.

Особый интерес для изучения влияния повышенных температур на анаэробный метаболизм представляют организмы, обитающие в стабильных условиях среды, в том числе при стабильных низких температурах. Одним из уникальных древних пресноводных низкотемпературных водоемов является озеро Байкал (Восточная Сибирь, Россия). Отличительными особенностями Байкала являются его богатейшее биоразнообразие и высокий процент эндемизма фауны. В озере представлено 2595 видов беспозвоночных животных, от 60 до 80 % из которых эндемики [Kozhova and Izmeteva, 1998; Тимошкин и др., 2001]. Эволюция фауны Байкала длительное время проходила в стабильных условиях: низкие температуры, значительная чистота и прозрачность воды, высокая насыщенность воды кислородом. Участие анаэробного метаболизма у представителей байкальской фауны под действием высоких температур до сих пор остается неизученным.

Целью данного исследования была оценка стрессового воздействия температурного фактора на изменение метаболизма лактата у представителей байкальских термочувствительных видов-эндемиков.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объектов исследования были выбраны амфиподы (Crustacea, Amphipoda). В Байкале данная группа достигла большого видового разнообразия и насчитывает 272 вида и 76 подвидов амфипод (99% эндемики) [Тахтеев, 2000].

В исследовании использовали два эндемичных вида амфипод оз. Байкал – *Eulimnogammarus vittatus* (Dyb., 1874) и *Eulimnogammarus marituji* Baz., 1945. *E. vittatus* – литоральный вид, основная зона обитания которого расположена ниже уреза воды (0-30 м) [Тимошкин и др., 2001]. Распространен по всему Байкалу, а также в р. Ангара [Вейнберг, 1995, 1998]. *E. marituji* – литоральный вид (0,75-1 м), привержен к каменистым и галечным субстратам литорали [Базикалова, 1945; Гаврилов, 1949; Тимошкин и др., 2001]. Оба вида обладают близкими резистентными способностями, являясь термочувствительными. Экспериментально показано, что 50% и 100% гибель при 25°C у *E. vittatus* наступает к 6,5 и 24 часам соответственно, а у *E. marituji* уже к 1 и 10 часам [Тимофеев, 2000].

Сбор амфипод проводили с использованием гидробиологического сачка. Байкальских амфипод отлавливали в прибрежной зоне озера Байкал в районе пос. Листвянка (Южный Байкал) в начале июня 2009 года. Температура вылова составляла 8 °С. Перед экспериментами проводили преаклимацию амфипод в лабораторных условиях: отдельно по видам, в аэрируемых, аквариумах при температуре 6-8°C не менее

1-2 суток. При данных условиях у рачков наблюдали равномерный рост и высокую двигательную активность. Во всех экспериментах использовали здоровых и активно плавающих рачков.

Оценку температурного воздействия проводили экспонированием амфипод в термостатируемых камерах при температуре 25°C. Длительность экспериментов составляла от 30 минут до 3 часов. После экспериментов рачков замораживали в жидком азоте и проводили последующие анализы из недифференцируемых тканей.

Суммарный белок выделяли в 0,1 М Трис-НСl буфере (pH 7,6). Гомогенат центрифугировали 15 мин при 7 000 g, осадок растворяли в буфере для образца (pH 6,8), содержащем 1 mM ЭДТА, 1% ДДС-Na, 20% глицерин, 5% β-меркаптоэтанол, 0,001% бромфеноловый синий. Полученные белковые пробы хранили при температуре –20°C. Количество белка в пробах определяли по методу Лоури [Lowry, 1951] при длине волны 750 нм.

Определение характера синтеза БТШ70 и нмБТШ проводили, используя стандартный метод денатурирующего электрофореза с ДДС-Na в 12,5 % полиакриламидном геле [Wang and Spector, 2000], с последующим Вестерн-блоттингом [Willmer et al., 2000] с антителами к БТШ70 (monoclonal anti-heat shock protein 70 clone BRM-22, Sigma Chemical Co) и с антителами к нмБТШ (Anti-α/A-α/B Crystallin Rabbit polyclonal antibodies, Stressgen Bioreagents). Полуколичественный анализ содержания белка на мембранах проводили с помощью программы Gel Explorer. Относительное количество белка выражали в условных единицах (ус. ед.).

Измерение содержания лактата проводили энзиматическим, спектрофотометрическим методом с помощью стандарт-набора согласно протоколу фирмы производителя (Vital diagnostic, СПб). Концентрацию лактата определяли с использованием стандартного раствора лактата (производитель – Vital diagnostic, СПб). Под воздействием лактатоксидазы из лактата и кислорода образуются пировиноградная кислота и H₂O₂, количественно равные присутствующему лактату, а затем в процессе взаимодействия 4-аминоантипирина и п-хлорфенола с H₂O₂ в присутствии пероксидазы образуется окрашенный в красный цвет хинониминный продукт, с максимумом поглощения в области 505 нм. Количественный расчет лактата проводили на мг сырого веса. Анализ выполняли на UV/VIS спектрофотометре UNICO 2802 (США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Влияние повышенной температуры на содержание БТШ

У амфипод *E. vittatus* отмечали конститутивный синтез БТШ70 с молекулярной массой, близкой к 70 кДа (рис. 1). Экспозиция амфипод при температуре 25°C вызывала многократное увеличение содержания БТШ70 уже через 30 минут эксперимента. Максимальное содержание исследуемого белка отмечали у амфипод к 3 ч экспозиции.

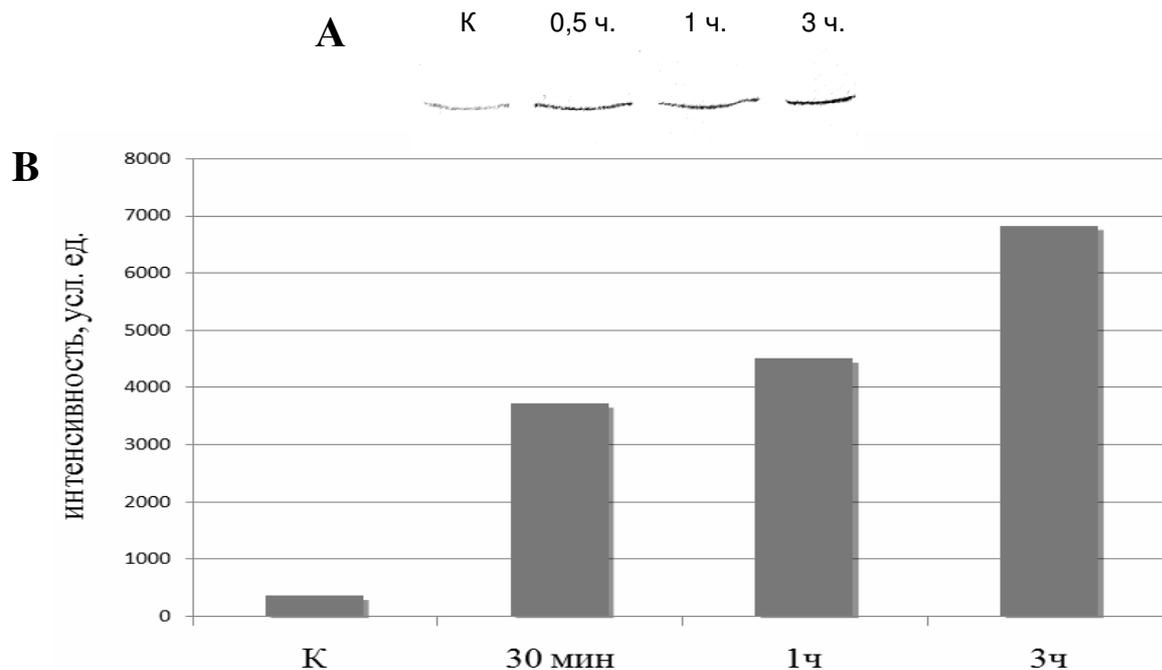


Рис. 1. **A** – вестерн-блоттинг на БТШ70 амфипод вида *E. vittatus*, экспонированных при температуре 25°C; **B** – изменение количества БТШ70 у амфипод вида *E. vittatus*, экспонированных при температуре 25°C (в условных единицах).

Fig. 1. **A** – western-blotting of HSP70 levels in *E. vittatus* exposed to 25°C; **B** – change of quantity of HSP70 in *E. vittatus* exposed to 25°C (in reference units).

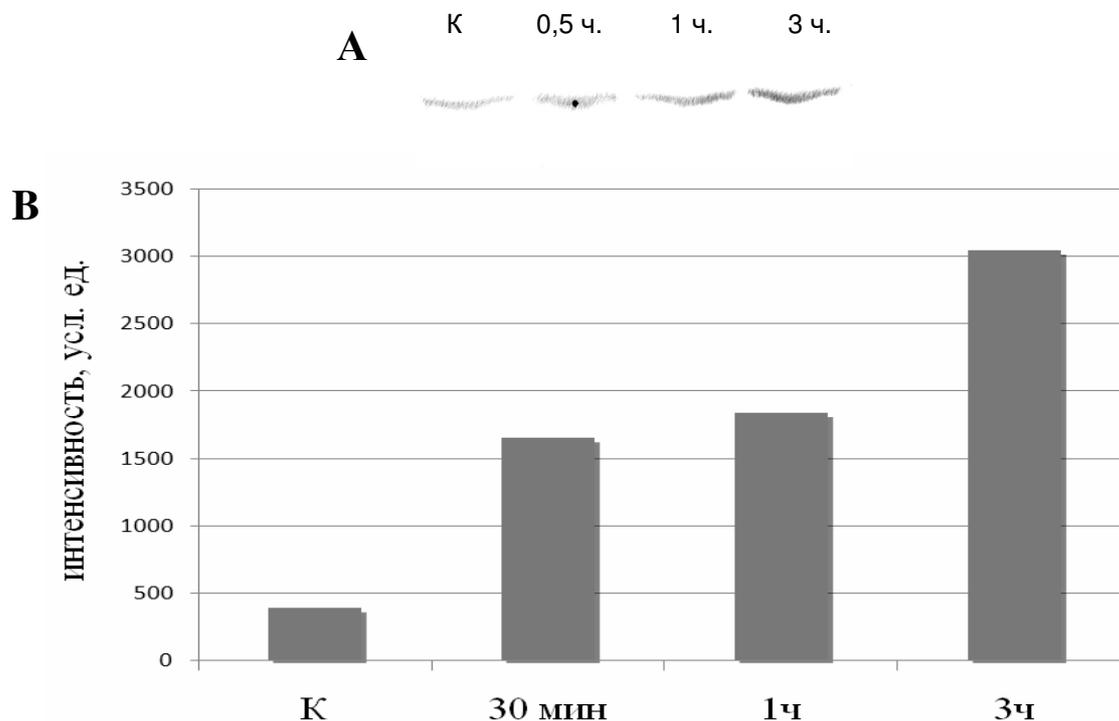


Рис. 2. **A** – вестерн-блоттинг на нмБТШ амфипод вида *E. vittatus*, экспонированных при температуре 25°C; **B** – изменение количества нмБТШ у амфипод вида *E. vittatus*, экспонированных при температуре 25°C (в условных единицах).

Fig. 2. **A** – western-blotting of sHSP levels in *E. vittatus* exposed to 25°C; **B** – change of quantity of sHSP in *E. vittatus* exposed to 25°C (in reference units).

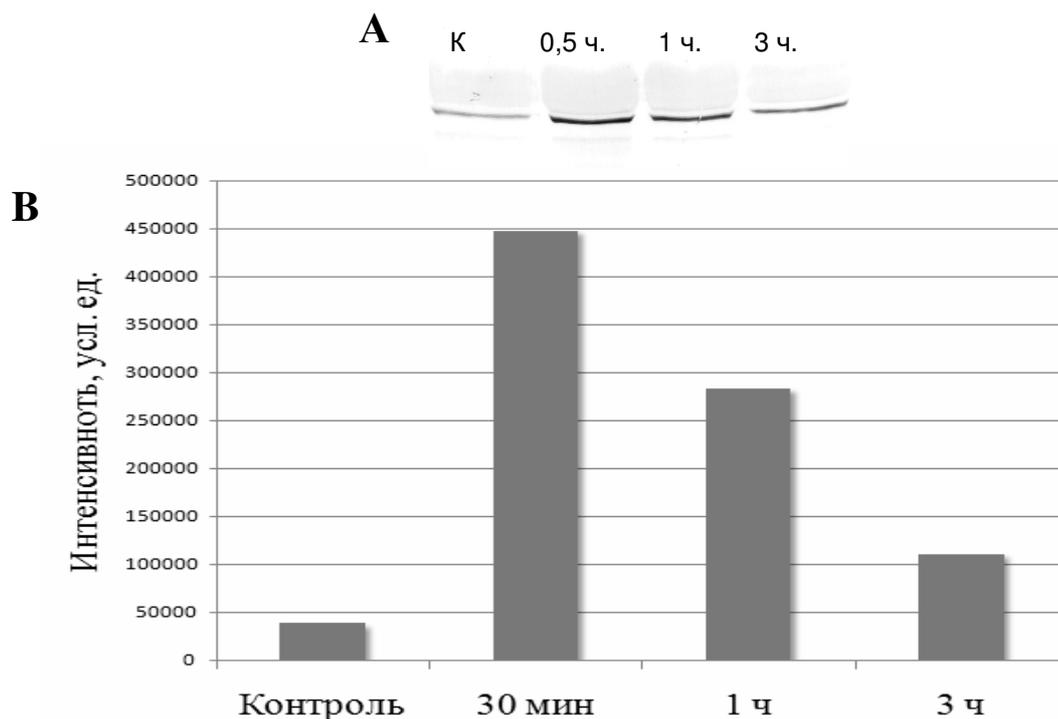


Рис. 3. **A** – вестерн-блоттинг на БТШ70 амфипод вида *E. marituji*, экспонированных при температуре 25°C; **B** – изменение количества БТШ70 у амфипод вида *E. marituji*, экспонированных при температуре 25°C (в условных единицах).

Fig. 3. **A** – western-blotting of HSP70 levels in *E. marituji* exposed to 25°C; **B** – change of quantity of HSP70 in *E. marituji* exposed to 25°C (in reference units).

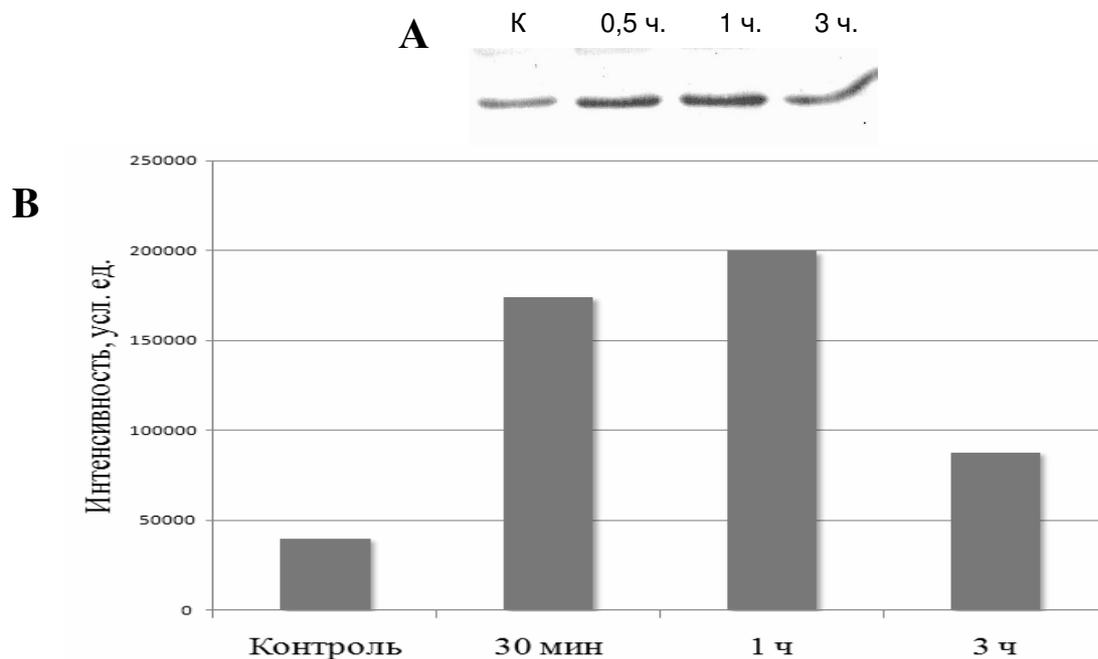


Рис. 4. **A** – вестерн-блоттинг на нмБТШ амфипод вида *E. marituji*, экспонированных при температуре 25°C; **B** – изменение количества нмБТШ у амфипод вида *E. marituji*, экспонированных при температуре 25°C (в условных единицах).

Fig. 4. **A** – western-blotting of sHSP levels in *E. marituji* exposed to 25°C; **B** – change of quantity of sHSP in *E. marituji* exposed to 25°C (in reference units).

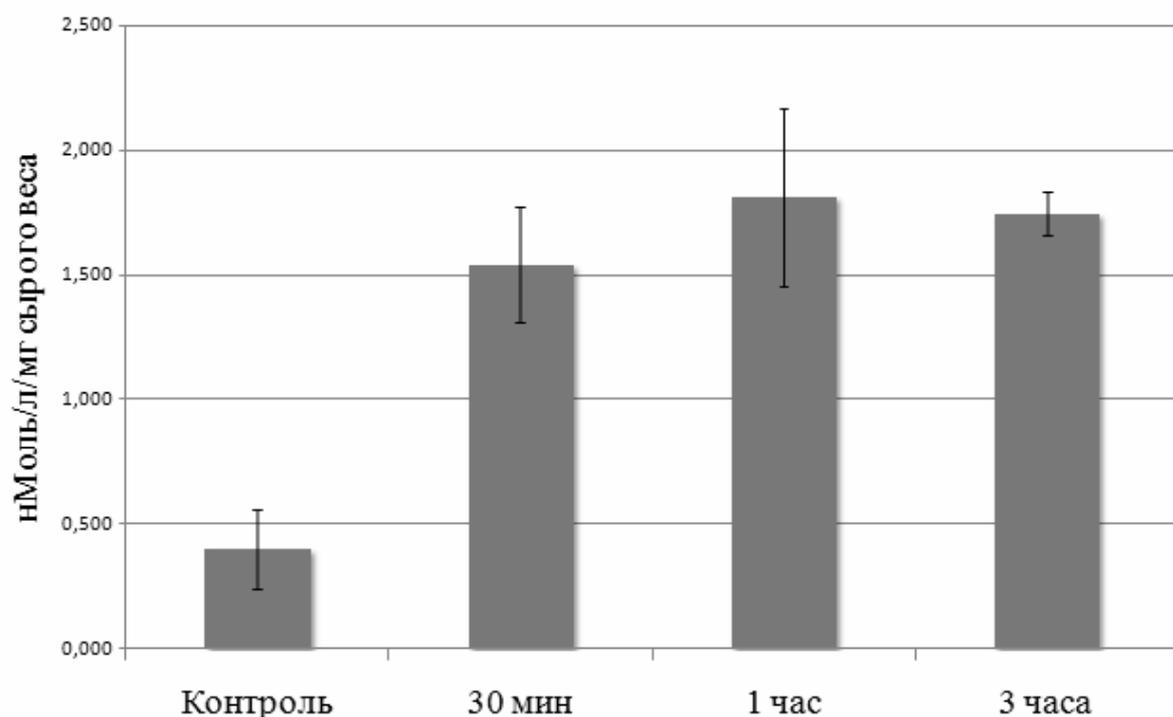


Рис. 5. Содержание лактата в недифференцированных тканях амфипод вида *E. vittatus*, экспонированных при температуре 25°C.

Fig. 5. Lactate level in nondifferentiated tissues of *E. vittatus* exposed to 25°C.

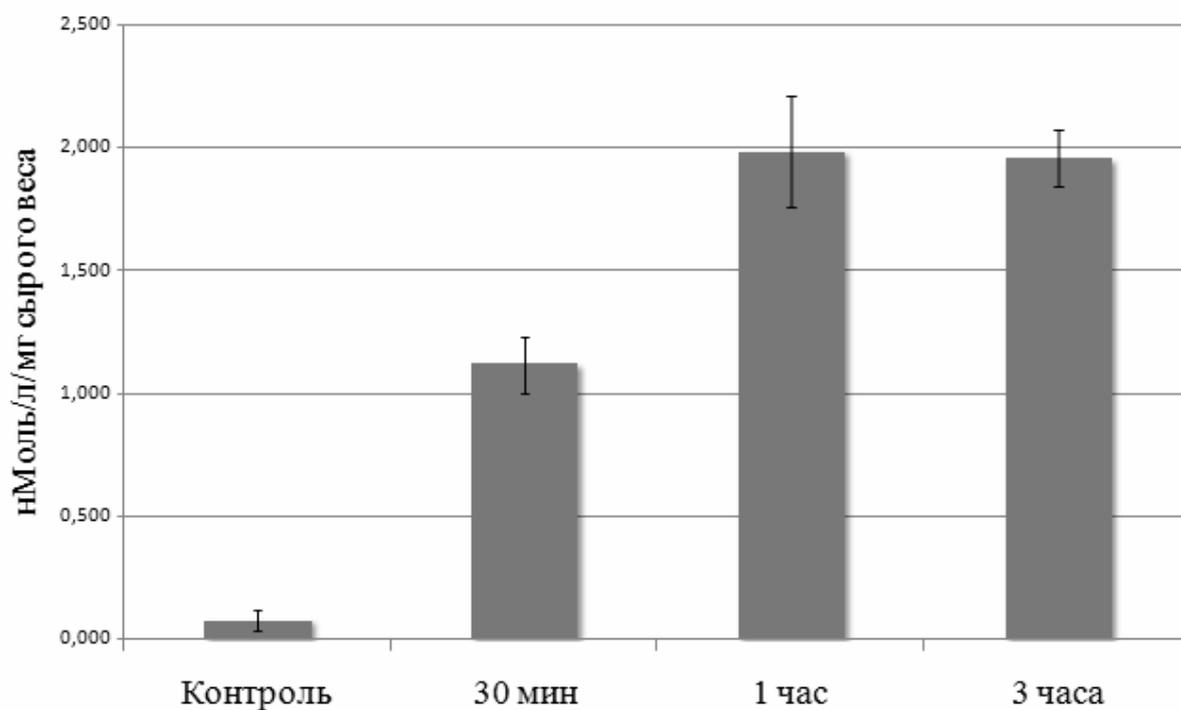


Рис. 6. Содержание лактата в недифференцированных тканях амфипод вида *E. maritiji*, экспонированных при температуре 25°C.

Fig. 6. Lactate level in nondifferentiated tissues of *E. maritiji* exposed to 25°C.

На рис. 2 представлены результаты Вестерн-блоттинга на нмБТШ у особой вида *E. vittatus*, экспонированных при 25°C. У амфипод отмечен конститутивный синтез нмБТШ с молекулярной массой 35 кДа. Воздействие температурного стресса 25 °C вызывало увеличение содержания данного белка уже через 30 минут экспозиции. Дальнейшее экспонирование (до 3 ч) вызывало шестикратное увеличение содержания исследуемого белка.

У амфипод *E. marituji* также отмечали конститутивный синтез БТШ70 с молекулярной массой близкой к 70 кДа (рис. 3). Многократное увеличение содержания БТШ70 в ходе экспозиции амфипод при температуре 25°C отмечали уже через 30 минут эксперимента с дальнейшим понижением к 3 ч экспозиции.

На рисунке (рис. 4) представлены результаты Вестерн-блоттинга на нмБТШ у *E. marituji*, экспонированных при 25°C. У амфипод отмечен конститутивный синтез нмБТШ с молекулярной массой 35 кДа. Воздействие температурного стресса 25°C вызывало увеличение содержания данного белка уже через 30 минут экспозиции с максимумом к 1 часу эксперимента и небольшим снижением к 3 часам.

Влияние повышенной температуры на содержание лактата

У обоих исследованных видов амфипод было отмечено присутствие лактата в контроле в концентрации 0,402 нМоль/л/мг сырого веса у *E. vittatus* и 0,074 нМоль/л/мг сырого веса у *E. marituji*. Экспозиция амфипод вида *E. vittatus* (рис. 5) и *E. marituji* (рис. 6) при температуре 25°C вызывала многократное увеличение содержания лактата уже через 30 минут эксперимента у обоих исследованных видов. Максимальное содержание лактата отмечали у амфипод к 1 ч экспозиции с небольшим снижением к 3 часам эксперимента. Показан сходный характер роста содержания лактата для исследуемых видов амфипод.

ОБСУЖДЕНИЕ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе нами показано изменение в метаболизме лактата на фоне температурного стресса, подтвержденного индукцией БТШ. Материалы исследования показали общую для обоих видов тенденцию к усилению синтеза нмБТШ и БТШ70. Анализируя этот факт, необходимо обратиться к функциям БТШ. Установлено, что БТШ выполняют функции молекулярных шаперонов [Wang, Spector, 1995; Farnsworth, Sing, 2000] и вовлечены в поддержание белкового гомеостаза клеток, участвуют в предотвращении агрегации белков, а также помогают правильному сворачиванию денатурированного белка [de Jong et. al., 1993; Ito et. al., 2003]. Наличие конститутивного синтеза БТШ отмечено у многих водных организмов и связано с функциональной ролью, выполняемой данным белком в нестрессовых клетках [Heikkila et. al., 1982, Gusev et. al., 2002]. Усиление синтеза БТШ у амфипод в нашем исследовании свидетельствует о

нарушении структуры белков вследствие воздействия повышенных температур.

Показанное изменение метаболизма лактата может иметь под собой несколько причин. Это может быть связано с нарушением работы электронтранспортной цепи митохондрий в условиях температурного стресса и, как следствие, накоплением избытка пирувата и перевод его в лактат для того, чтобы освободить ФАД и НАД для обеспечения работы гликолиза. Повышенная температура может вызывать недостаточное снабжение тканей кислородом (т.е. клеточную гипоксию), тем самым активируя анаэробный гликолиз и накопление лактата. Избыток лактата в тканях может быть обусловлен ингибированием лактатдегидрогеназы высокой температурой и неспособностью перевести его накопившийся лактат в пируват. При этом, у амфипод, экспонированных при гипертермии, может быть нарушен межклеточный транспорт лактата в гепатопанкреас, где он утилизируется.

Ранее рядом авторов проводилось измерение содержания лактата, вызванного температурным стрессом, при этом были получены противоречивые данные. Так, если при повышенной температуре у морских гастропод *Littorina saxatilis* не происходит изменения содержания лактата [Sokolova, Pörtner, 2002], то у морского паука *Maja squinado* достоверно повышается содержание лактата в гемолимфе, гепатопанкреасе и мускулатуре [Frederich, Pörtner, 2000]. Достоверное повышение содержания лактата во всех тканях показано у пресноводной креветки *Macrobrachium malcolmsonii* [Selvacumar, Geraldine, 2003] и у крабов видов *Petrolisthes eriomerus* [Stillman, Somero, 1996] и *Leptograpsus variegatus* [Forster et al. 1989; Greenaway et al. 1992]. Напротив, у фарфорового краба *Petrolisthe cincipes* отмечали снижение содержания лактата при воздействии повышенных температур [Stillman, Somero, 1996].

Исследователи связывают изменения в содержании лактата с недостаточным снабжением клеток кислородом при температурном стрессе, возникновением клеточной гипоксии и увеличением доли анаэробного метаболизма [Stillman, Somero, 1996; Frederich, Pörtner, 2000; Sokolova, Pörtner, 2003].

Наблюдаемые нами изменения в метаболизме лактата скорее всего связаны с нарушением в энергетическом обеспечении организма при температурном стрессе. Повышенная температура увеличивает скорость всех метаболических процессов в организме, ускоряя в том числе и потребление кислорода. Из-за недостатка кислорода возникает клеточная гипоксия, и анаэробный метаболизм начинает преобладать над аэробным – видимо, это и вызвало накопление лактата.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ 09-04-00398-а, программы "Развитие научного потенциала высшей школы" (РОСОБРАЗОВАНИЕ) проект № 2.1.1/982, ФЦП (РОСОБРАЗОВАНИЕ) «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» и со-

вместной программы Министерства образования РФ и Германской службы академических обменов (DAAD) «Михаил Ломоносов – II».

ЛИТЕРАТУРА

- Базикалова А.Я. Амфиподы оз. Байкал: Тр. Байкальской лимнологической станции АН СССР. 1945. Т.11. 440 с.
- Вейнберг И.В. Сообщества макрозообентоса каменистого пляжа озера Байкал: Дис. ... канд. биол. наук. Иркутск, 1995. 180 с.
- Вейнберг И.В., Камалтынов Р.М. Сообщества макрозообентоса каменистого пляжа озера Байкал // Зоологический журнал. 1998. Т.77. № 3. С. 259 – 265.
- Гаврилов Г.Б. К вопросу о времени размножения амфипод и изопод оз. Байкал // Докл. АН СССР. 1949. Т.LXIV. № 5. С. 739 – 742.
- Тахтеев В.В. Очерки о бокоплавах озера Байкал (сиситематика, сравнительная экология, эволюция) – Иркутск: Изд-во Иркут. ут-та, 2000. - 355 с.
- Тимофеев М.А. Сравнительная оценка отношения байкальских гаммарид и голарктического *Gammarus lacustris* к абиотическим факторам: Дис. ... канд. биол. наук. 2000. 139 с.
- Тимошкин О.А., Ситникова Т. Я., Русинек О.Т., и др. Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна: В 2 томах. - Новосибирск: Наука, 2001. – Том. I: Озеро Байкал, кн. 1. – 832 с. под ред. Тимошкин О.А.; 2001; I. 832 с.
- Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. М.: Мир, 1977. 398 с.
- Brooks, G. A. Lactate shuttles in nature // Biochem. Soc. Trans. 2002. Vol. 30. P. 258-264.
- Davis, J. A. Anaerobic threshold: review of the concept and directions for future research // Med. Sci. sports. 1985. Vol. 17. P. 6-18.
- de Jong W.W., Leunissen J.A.M., Voorter C.E.M. Evolution of the alpha-crystallin/small heat-shock protein family // Mol. Biol. Evol. 1993. Vol. 10:1. P.103-126.
- Farnsworth P.N., Singh K. Self-complementary motifs (SCM) in alpha-crystallin small heat shock proteins // FEBS Letters. 2000.Vol. 482. P.175-179.
- Forster M.E., Waldron F.M., Taylor H.H. Recovery from exhausting exercise in a bimodally breathing crab, *Leptograpsus variegatus* (Decapoda: Grapsidae) // J. exp. mar. Biol. Ecol. 1989. Vol. 127. P. 165–173.
- Frederich M., Portner H.O. Oxygen limitation of thermal tolerance defined by cardiac and ventilatory performance in spider crab, *Maja squinado* // Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp Physiol. 2000. Vol. 279. P. 1531-1538.
- Greenaway P., Morris S., Sanders N., Adamczewska A. Blood gas transport and oxygen consumption in a supralittoral crab, *Leptograpsus variegatus* (Crustacea: Brachyura) // Aust. J. mar. freshwater Res. 1992. Vol. 43. P. 1573–1584.
- Gusev N.B., Bogatcheva N.V., Marston S.B. Structure and properties of small heat shock proteins (sHsp) and their interaction with cytoskeleton proteins // Biochemistry (Moscow). 2002. Vol. 67:5. P.511-519.
- Heikkila J.J., Schultz G.A., Iatrou K. et al. Expression of a set of fish genes following heat or metal ion exposure // J. Biol. Chem. 1982. Vol. 257. I. 20. P. 12000-12005.
- Ito H., Kamei K., Iwamoto I. et al. Hsp27 suppresses the formation of inclusion bodies induced by expression of R120Ga aB-crystallin, a cause of desminrelated myopathy // CMLS, Cell. Mol. Life Sci. 2003. Vol. 60. P.1217–1223.
- Kozhova O.M., Izmesteva L.R. (Ed.). Lake Baikal: Evolution and Biodiversity. The Netherlands: Backhuys Publishers. Leiden. 1998. 447 p.
- Lowry O., Rosebrough N., Farr A. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. V.193. P. 265–275.
- McClelland G.B., Khanna S., Gonzalez G.F., Butz C.E., Brooks G.A. Peroxisomal membrane monocarboxylate transporters: evidence for a redox shuttle system? // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2003. Vol. 304. P. 130-135.
- Philp A., Macdonald A.L., Watt P.W. Lactate – a signal coordinating cell and systemic function // The Journal of Experimental Biology. 2005. Vol. 208. P. 4561-4575.
- Roef, M. J., de Meer, K., Kalhan, S. C., Straver, H., Berger, R. and Reijngoud, D.-J. Gluconeogenesis in humans with hyperlactatemia during low-intensity exercise // Am. J. Physiol. 2003. Vol. 284. P. 1162-1171.
- Selvakumar S., Geraldine P. Thermal modulation of pyruvate metabolism in the freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii*: the role of lactate dehydrogenase // Fish physiology and biochemistry. 2003. Vol. 29. P. 149-157.
- Sokolova I.M., Pörtner H.O. Metabolic plasticity and critical temperatures for aerobic scope in a eurythermal marine invertebrate (*Littorina saxatilis*, Gastropoda: Littorinidae) from different latitudes // The Journal of Experimental Biology. 2003. Vol. 206. P. 195-207.
- Stillman J. H., Somero G.N. Adaptation to temperature stress and aerial exposure in congeneric species of intertidal porcelain crabs (genus *Petrolisthes*): correlation of physiology, biochemistry and morphology with vertical distribution // The journal of experimental biology. 1996. Vol. 199. P. 1845–1855.
- Wang K., Spector A. Alpha-crystallin can act as a chaperone under conditions of oxidative stress // Investigative Ophthalmology & Visual Science. 1995. V. 36. P. 311-321.
- Wang K., Spector A. a-Crystallin prevents irreversible protein denaturation and acts cooperatively with other heat-shock proteins to renature the stabilized partially denatured protein in an ATP-dependent manner // Eur. J. Biochem. 2000. Vol. 267. P. 4705-4712.
- Wilmer P., Stone G., Johnston I. Environmental physiology of animals. Oxford. Blackwell Science. 2000. 644 pp.