



УДК 577.156 + 612.015

**ОЦЕНКА ЗАГРЯЗНЕНИЯ КЕРЧЕНСКОГО ПРОЛИВА С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НЕЙРОГЛИАЛЬНЫХ БЕЛКОВ ДОННЫХ РЫБ
THE ASSESSMENT OF KERCH GULF'S ENVIRONMENTAL POLLUTION WITH
NEUROGLIAL PROTEINS OF GROUND FISH MEASURING**

**Е.В. Сухаренко¹, В.С. Недзвецкий², О.А. Петренко³
N.V. Sukharenko¹, V.S.Nedzvetsky², O.A.Petrenko³**

¹ Керченский государственный морской технологический университет, Россия, 298309, Республика Крым, г. Керчь, ул. Орджоникидзе, 82

² Днепрпетровский национальный университет им. О. Гончара, Украина, 49010, г. Днепрпетровск, пр. Гагарина, 72

³ Южный научно-исследовательский институт морского рыбного хозяйства и океанографии, Россия, 298300, Республика Крым, г. Керчь, ул. Свердлова, 2

¹ Kerch State Marine Technical University, 82, Ordzhonikidze St, Kerch, Republic of Crimea, 298309, Russia

² O. Honchar Dnipropetrovsk National University, 72, Gagarin Av., Dnepropetrovsk, 49010, Ukraine

³ Southern Scientific Research Institute of Marine Fisheries and Oceanography, 2, Sverdlov St, Kerch, Republic of Crimea, 298300, Russia

E-mail: nedzvetskyvictor@mail.ru; helenasuhar@gmail.com

Ключевые слова: молекулярные маркеры, глиальный фибриллярный кислый белок (ГФКБ), донные рыбы, промышленное загрязнение.

Key words: molecular markers, glial fibrillary acidic protein (GFAP), industrial pollution of water bioresources.

Аннотация. Современная экологическая ситуация в водах Керченского пролива требует оценки нарушений в биотопах и мониторинга степени влияния промышленных загрязнений на экосистему.

Проведено исследование цитоскелетного маркера астроцитов глиального фибриллярного кислого белка (ГФКБ) в мозге бычка-песочника (*Neogobius fluviatilis*), который является типичным представителем промысловых донных рыб Керченского пролива.

Результаты сравнительного анализа содержания ГФКБ в мозге рыб из прибрежных вод бухты Керченской и рыб из условно чистого участка р. Ворскла показали достоверное возрастание ГФКБ в 2.18 раза в промышленно загрязненном регионе. Повышение содержания ГФКБ указывает на развитие астроглиоза в результате метаболических нарушений, которые могут быть вызваны повышенным содержанием нефтепродуктов в придонных биотопах бухты Керченской. В ткани мозга группы рыб выловленных в Керченской бухте выявлено увеличение продуктов перекисного окисления липидов, что рассматривается как биохимический маркер.

Представленные результаты нарушений состояния цитоскелета астроцитов и окислительный стресс в мозге бычка-песочника Керченской бухты, свидетельствуют о проявлении сублетального биологического эффекта промышленных загрязнителей у гидробионтов данной акватории. Результаты исследования также результаты указывают на необходимость постоянного экологического мониторинга и комплексного исследования популяций гидробионтов промышленных регионов и зон экологических катастроф.

Resume. Modern ecology situation into Kerch gulf water requires the measuring of the disturbance in biotopes and monitoring the extent of industrial pollutants affect the ecosystems.

Sensitive test for measuring the degree of toxic effect on the vertebrates are neural tissue cells. Most sensitive for destructive factors effects are neuroglial cells – astrocytes.

There was executed the investigation of cytoskeleton marker of astrocytes glial fibrillary acidic protein (GFAP) in brain of the bullhead (*Neogobius fluviatilis*) that is typical representative of the ground fish into Kerch gulf.

The results of comparative analysis of GFAP content in a brain of the fish from Kerch gulf's lateral water and fish brain from conditionally clear area of the Vorskla river show the reliable increasing of GFAP of 2.18 times into industrial polluted area. The rising of GFAP content indicates that astrogliosis development is a result of metabolic disturbance and it may be induced by higher content of oil products into lateral ground biotopes of Kerch gulf. The rising of lipid peroxidation level observed in the brain of fishes from Kerch gulf, that is a biochemistry marker.

Presented results on the state disturbance of astrocyte cytoskeleton and oxidative stress in the brain of bullhead from Kerch gulf is an evidence of sublethal biology effect in the hydrobionts from this area that is industrially polluted. The results of this investigation indicate the barest necessity of permanent ecology monitoring and combined study hydrobiont populations in both industrial and ecology accident areas.

Введение

На протяжении последних десятилетий экологическое состояние Керченского пролива неуклонно ухудшается [Бланк и др., 2004; Фашук, Петренко, 2008]. Это обусловлено рядом причин. Так с 2000 г. по 2005 г. ежегодное количество судов, проходящих по Керчь-

Еникальскому каналу, возросло в три раза [Фашук и др., 2007], значительно увеличился объем перегрузок, большая часть которых приходится на уголь, кокс, кальцинированную соду, ферросплавы, минеральные удобрения. Интенсификация судоходства привела к росту эрозионных процессов и прогрессирующей реседиментации донных отложений. Увеличению загрязнения акватории способствовала работа нескольких морских портов, расположенных на территории Керченского полуострова (Керченский морской торговый порт, Керченский морской рыбный порт, порт Крым, порт Камыш-Бурун), а также рейдово-перегрузочных комплексов [Матишов и др., 2008].

Мониторинг состояния водной среды Керченского пролива проводился на базе лаборатории охраны морских экосистем ЮгНИРО, аккредитованной в Госстандарте Украины. Схема станций отбора проб для проведения комплексного наблюдения состояния акватории представлена на рисунке 1.

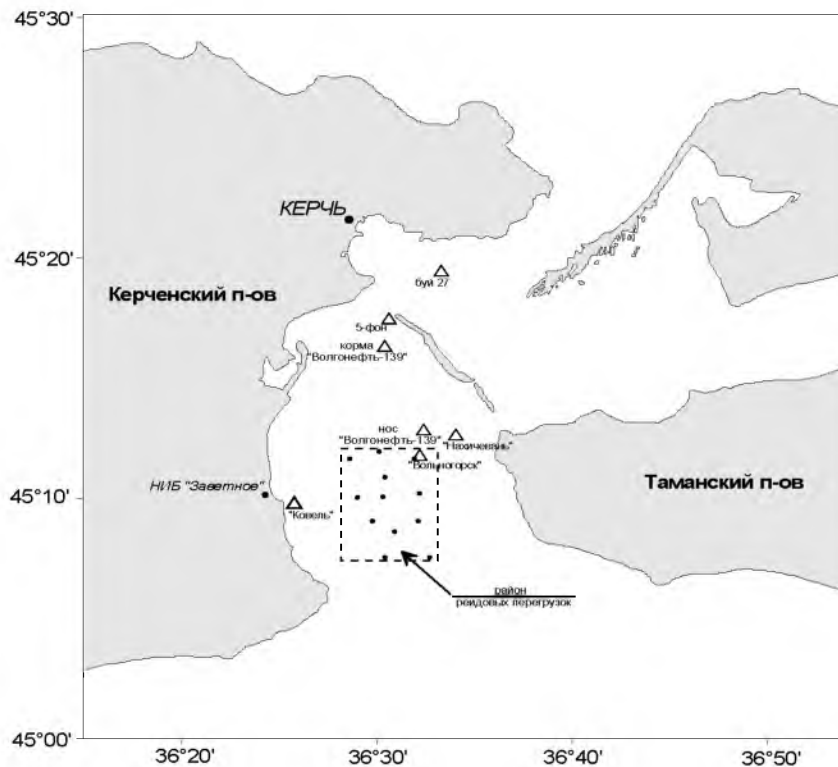


Рис. 1. Расположение станций мониторинга акватории Керченского пролива
 Fig. 1. The location of monitoring station into Kerch channel area

При проведении исследований акватории Керченского пролива установлено, что значительная часть попавших в море нефтепродуктов осела на морское дно. В результате десорбции нефтепродуктов из донных отложений количество малотрансформируемой фракции смол и асфальтенов в придонных и поверхностных водах устойчиво возрастало, достигнув пиковых значений в ноябре 2008 г. (0.223 мг/л). Причем в водах придонного горизонта концентрация смол и асфальтенов значительно превышала (3.2 ПДК) аналогичные показатели в водах поверхностного горизонта (2.4 ПДК). В 2009 г. уровень загрязнения придонных вод был также значительно выше уровня загрязнения вод поверхностного горизонта. Отличительной особенностью состава придонных вод марта-июня 2009 г., являлось высокое содержание фракции смол и асфальтенов, в 5.3–31.0 раза превышающее максимальное содержание данной фракции в придонных водах до аварии (0.021–0.124 мг/л и 0.004 мг/л соответственно) [Петренко и др., 2009].

Сложившаяся ситуация требует комплексной оценки на всех уровнях организации биологических систем. Необходимо установить степень влияния существующих загрязнений на экосистему Керченского пролива. Согласно классификации, разработанной ИнБЮМ НАН Украины, уровень загрязнений донных отложений нефтепродуктами, при котором начинается деградация донных биоценозов и изменяется трофическая структура бентоса, составляет 1 мг/г сухого веса. Представители зообентоса являются основными объектами питания донных промысловых рыб Керченского пролива, поэтому загрязнение донных осадков, может негативно отразиться на популяциях бычков кругляка и песочника (*Neogobius melanostomus*, *N. fluviatilis*), кефали сингиля (*Liza aurata*) и лобана (*Mugil cephalus*), камбалы-калкана (*Psetta maeotica*), камбалы-гlossы (*Platichthys flesusluscus*) и пр.



Существуют разнообразные методы оценки неблагоприятного влияния поллютантов на водные организмы. Наиболее широко используемыми являются морфологические, морфофизиологические, генетические и гистологические методы. Анатомо-морфологические характеристики рыб не всегда являются объективными показателями уровня загрязнения, часто эти показатели у рыб из загрязненных и условно чистых водоемов не имеют существенных различий. В современных условиях особую актуальность приобретают исследования молекулярных механизмов, которые лежат в основе физиологических, репродукционных и других биологических процессов, являясь ответной реакцией организма на изменения окружающей среды. Чувствительным индикатором уровня комбинированного воздействия токсинов на организм позвоночных являются клетки нервной ткани. Наиболее восприимчивы к воздействию повреждающих факторов клетки нейроглии - астроциты. Несмотря на разнообразие, количество и локализацию астроцитов, обусловленную их видовыми особенностями, обязательным компонентом цитоскелета этих клеток является глиальный фибриллярный кислый белок (ГФКБ). Исследования ГФКБ-позитивных клеток астроглии показали, что этот белок консервативен по структуре и функциям, а повышенный синтез ГФКБ является ответной реакцией астроцитов на повреждения в результате действия неблагоприятных факторов различной природы.

Цель настоящей работы заключалась в исследовании особенностей астроглиального цитоскелета бычка-песочника (*N. fluviatilis*), являющегося типичным представителем промысловых донных рыб Керченского пролива, а также в оценке возможности использования ГФКБ в качестве молекулярного маркера состояния гидробионтов биотопа данного региона.

Материал и методы исследования

Основой для статьи послужили комплексные ихтиотоксикологические исследования, сбор материала и наблюдения, проведенные на акватории низовьев реки Ворскла (Днепродзержинское водохранилище) в границах существующего ихтиологического заказника, практически не поддающегося под техногенное влияние, и прибрежной зоны бухты Керченской – основной бухты Керченского пролива, в которой расположен ряд действующих портовых комплексов. Экспериментальные данные сравнивались также с аналогичными показателями, полученными на загрязненных участках реки Самара Днепровская (правый приток р. Днепр) в прибрежьях, примыкающих к промышленным зонам и жилым массивам Днепропетровска.

Ихтиологический материал (35 экземпляров бычка-песочника (*N. fluviatilis*) отбирался в соответствии с общепринятыми методиками в водах Керченской бухты в мае – июне 2009 г. Проводился полный биологический анализ исследуемых рыб. Визуально наблюдались особенности фенотипа рыб, анализировались морфологические экстерьерные и интерьерные характеристики. Оценивалась доля рыб с различными морфологическими и физиологическими аберрациями [Правдин, 1966].

Содержание и полипептидный состав глиального фибриллярного кислого белка (ГФКБ) астроглии определяли иммунохимическим методом. После декапитации головной мозг рыб гомогенизировали (на холоду) в 10-х кратном объеме 50 мМ трис-буфера pH 7.8, содержащего 2 мМ этилендиаминтетраоацетат (ЭДТА), 1 мМ 2-меркаптоэтанол, 0.1 мМ фенолметилсульфонилфторид (PMSF) и 5 мМ соевого ингибитора трипсина. Гомогенат центрифугировали 50 мин при 60 000 g. После центрифугирования отбирали с надосадочной жидкостью фракцию водорастворимых белков. Для экстракции цитоскелетных белков, к полученному осадку добавляли 4-х кратный объем трис-буфера, содержащий дополнительно 4М мочевины. Центрифугировали 60 мин при 60 000 g и отбирали фракцию водонерастворимых белков. Белки разделяли методом электрофореза в градиенте полиакриламидного геля (7–18%) с 0.1% додецилсульфатом натрия. Определение полипептидного состава глиальных филаментов проводили с помощью иммуноблоттинга с использованием поликлональной моноспецифической антисыворотки в разведении 1:2500 [Nedzvetskii et al., 2006].

Относительную интенсивность плотности окраски полипептидных зон выявляли с помощью компьютерной обработки сканированных результатов иммуноблоттинга. Количественный анализ ГФКБ проводили путем сравнения интенсивности окрашивания соответствующих полипептидных зон полученных проб, отнесенной к количеству общего белка во фракциях. Общий белок определяли методом Лоури в модификации Миллера [Miller, 1959]. Уровень перекисного окисления липидов измеряли с использованием тест-набора LPO-586 (Oxis, Int.Inc., USA) по методу, который основан на реакции N-метил-2-фенилиндола с малоновым диальдегидом и 4-гидроксисалкенами [Ohkawa et al., 1979]. Обработку полученных

данных проводили методами математической статистики для малых выборок. Относительное содержание ГФКБ выражали в виде средней величины $M \pm m$, достоверность различий между группами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента ($P < 0.01$) после проверки гипотез о нормальности распределения и различии между генеральными дисперсиями.

Результаты и их обсуждение

В результате проведенного анатомо-морфологического исследования рыб во всех группах отклонения от нормального развития, аберрации и уродства не обнаружены. Однако результаты количественной оценки содержания белка глиальных промежуточных филаментов в мозге рыб показали достоверные отличия исследованных групп от контрольной выборки (рис. 2).

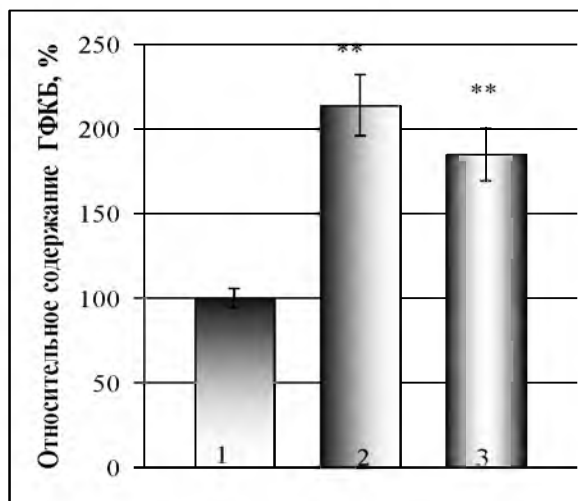


Рис. 2. Относительное содержание ГФКБ в мозге бычка-песочника бухты Керченской (2) по сравнению с контрольным участком реки Ворскла (1) и участком реки Самара Днепроvская (3); ** – достоверность отличий групп 2 и 3 относительно группы 1 при $P < 0.01$

Fig. 2. Relative content of GFAP in bullhead brain from Kerch channel (2) compared with control area Vorskla river (1) and area Samara-Dneprovskaya (3); ** – the reliability of differences groups 2 and 3 relatively to group 1 under $P < 0.01$

В мозге бычка-песочника, выловленного в прибрежных водах бухты Керченской и в загрязненных зонах р. Самара Днепроvская, выявлено достоверное возрастание ГФКБ в 2.18 раза ($P < 0.01$) и 1.76 раза, соответственно, по сравнению с группой рыб из условно чистого участка (р. Ворскла). Повышение содержания ГФКБ указывает на развитие астроглиоза в результате метаболических нарушений, которые могут быть вызваны повышенным содержанием токсинов в придонных биотопах бухты Керченской и реки Самара Днепроvская.

Возрастание содержания белка глиальных филаментов является следствием увеличения числа субполюляции глиоцитов, в первую очередь, за счет дифференциации глиальных предшественников в зрелые астроциты. В ходе дифференциации в астроцитах активируется экспрессия белка глиальных промежуточных филаментов. Астроциты являются специализированными глиальными клетками, число которых более чем в 5 раз превышает количество нейронов ЦНС. Они плотно окружают поверхность нейронов и выполняют много жизненно важных функций ЦНС в норме. Астроциты отвечают на все формы ЦНС-инсультов реактивцией через посредничество характерного процесса, который получил название астроглиоза [Sofroniew, Vinters, 2010]. Астроглиоз индуцируется разными по природе факторами и является признаком патогенетических и структурных повреждений ЦНС.

Участие астроцитов в репарации повреждений ЦНС подтверждается результатами многих исследований. Использование современных достижений молекулярной и клеточной биологии позволило раскрыть природу и некоторые механизмы астроглиального реактивного ответа на действие физических, химических факторов и метаболических нарушений. Показано, что этот процесс является тонко градуированной последовательностью изменений, которые реализуются ситуационно-зависимым способом и во многом регулируются, как внешними сигналами, так и нейрон-глиальным взаимодействием [Verkhatsky et al., 2014]. При этом метаморфозы, сопровождающие астроглиоз, могут варьировать в широких пределах – от обратимых изменений экспрессии генов с сохранением доменов и структуры тканей до долговременного формирования рубцов и перестройки структуры участков мозга.

Результаты определения полипептидного состава ГФКБ мозга рыб, обитающих в прибрежных зонах бухты Керченская и реки Самара Днепроvская, показали значительное возрастание количества деградированных полипептидов ГФКБ (рис. 3). Наиболее значительные изменения состава полипептидных фрагментов ГФКБ выявлены в цитоскелетных фракциях белков.

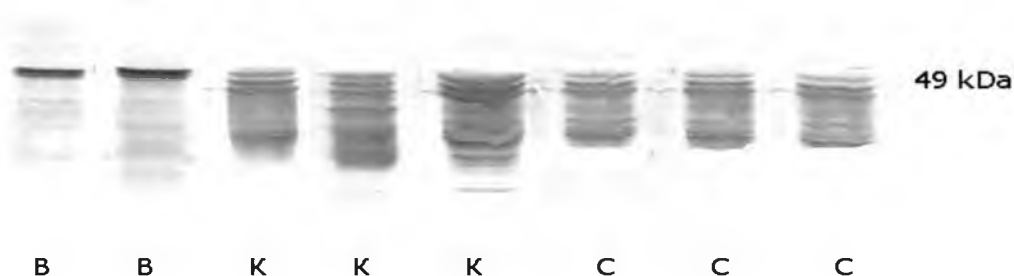


Рис. 3. Результаты иммуноблотинга цитоскелетных фракций белков из мозга бычка-песочника реки Ворскла (В), бухты Керченской (К) и участка реки Самара Днепроовская (С)

Fig. 3. The results of immunoblotting of cytoskeletal proteins in bullhead brain from Vorskla river (B), Kerch bay (K) and Samara-Dneprovskaya river (C)

Содержание конечных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в ткани мозга рыб, обитающих в зонах техногенного загрязнения, свидетельствует о процессах, характеризующих развитие оксидативного стресса (рис. 4). Показатели оксидативного стресса и цитоскелетных изменений бычка-песочника бухты Керченская, реки Самара Днепроовская и реки Ворскла имели высокий коэффициент корреляции ($r = 0.69 \pm 0.091$ и $r = 0.74 \pm 0.087$ соответственно). Изучение цитоскелетных перестроек нейроглии рыб и характера поврежденных органических молекул в ходе оксидативного стресса в тканях донных рыб является актуальной задачей при оценке воздействия различных неблагоприятных факторов, в том числе и десорбции нефтепродуктов из донных отложений, т. к. рыбы являются удобными объектами в экотоксикологических исследованиях в силу своей высокой численности, широкого распространения и доступности для изучения реакции организмов на действие поллютантов.

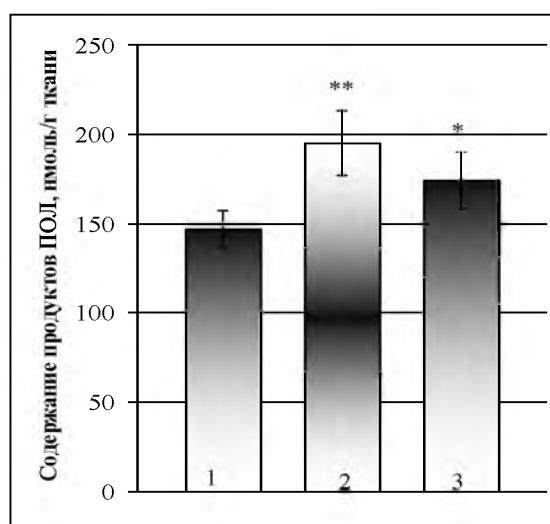


Рис. 4. Содержание конечных продуктов перекисного окисления липидов в мозге бычка-песочника реки Ворскла (1), бухты Керченской (2) и реки Самара Днепроовская (3). Достоверность отличий групп 2 и 3 относительно группы 1: * – $P < 0.05$; ** – $P < 0.01$

Fig. 4. The content of final products lipid peroxidation in bullhead brain from Vorskla river (1), Kerch bay (2) and Samara-Dneprovskaya river (3). The reliability of differences groups 2 and 3 relatively to group 1: * – $P < 0.05$; ** – $P < 0.01$

Морфологические аномалии, хотя и не могут служить биомаркерами раннего обнаружения потенциальной опасности антропогенного воздействия, являются важным звеном экологических и биологических исследований. Рассмотрение в комплексе биохимических и физиологических параметров при оценке влияния загрязнения на окружающую среду показывает перспективность применения молекулярных биомаркеров. Использование в качестве биомаркеров именно гистоспецифических цитоскелетных белков нервной ткани, которые выполняют жизненно необходимые функции нервной системы и необычайно чувствительны к воздействию неблагоприятных факторов, является наиболее перспективным направлением [Nedzvetskii et al., 2006]. У рыб, так же как и у других позвоночных, нейроглия играет жизненно важную роль в обеспечении метаболитами и поддержании стабильного функционирования нейронов. Нейроглиальные клетки принимают непосредственное участие в поддержании гомеостаза мозга, репарации повреждений, защите нейронов от эксцитотоксичных и экзогенных повреждающих факторов. Астроглиоз, т. е. реактивация астроцитов в ответ на неблагоприятные воздействия различной природы всегда сопровождается активацией фибрилlogenез и синтез ГФКБ [Nedzvetskii, Nerush, 2011].

Чрезмерно интенсивный фибриллогенез является главным показателем реактивного ответа астроцитов на нейрональные повреждения. Перестройка промежуточных филаментов астроглии может быть необходимым условием для адекватного функционирования глиальных клеток при воздействии повреждающих факторов.

Выявленное нами достоверное повышение экспрессии белка глиальных промежуточных филаментов свидетельствует о функциональном ответе нейроглии на неблагоприятное воздействие, т. е. индуцированном астроглиозе. Характерное увеличение количества деградированных полипептидных фрагментов ГФКБ является признаком цитоскелетных перестроек, которые ассоциированы с нарушением биохимических, молекулярных процессов определяющих функционирование клеток нервной ткани. Одной из главных причин подобных нарушений является неконтролируемое повышение активности протеолитических ферментов, например, калпаинов [Недзвецкий и др., 1991]. Результаты проведенного исследования, несомненно, свидетельствуют о том, что основной причиной нарушений состояния цитоскелета астроцитов выступает токсическое воздействие нефтяного загрязнения акватории Керченского пролива.

Несмотря на то, что воздействия, индуцирующие астроглиоз, в настоящее время изучаются многими исследователями, взаимосвязь между глиальными перестройками и физиологическими процессами, обеспечивающими выживание и жизнеспособность организма, остается не раскрытой. Известно, что профиль астроглиального ответа значительно варьирует в зависимости от интенсивности и природы повреждающего фактора, при этом защитные эффекты глиальной реактивности особенно ярко проявляются в первые дни и недели после воздействия повреждений различной природы. В более поздние сроки, при хроническом влиянии повреждающих факторов, клеточный ответ может проявляться в виде мягкого, умеренного или строгого астроглиоза. В ходе первых двух вариантов проявления астроглиоза количество реактивных клеток и их метаболическая активность могут вернуться к показателям физиологической нормы. В то же время, строгий астроглиоз сопровождается образованием характерного глиального рубца, препятствующего прорастанию нейритов и затрудняющего восстановительные процессы.

Незначительное по интенсивности или кратковременное воздействие загрязнителей, как правило, вызывает клеточный ответ в виде мягкого или умеренного астроглиоза. В ходе такого ответа реализуются молекулярные и клеточные механизмы, направленные на восстановление повреждений, вызванных токсикантом. С другой стороны, более интенсивное и/или хроническое воздействие индуцирует чрезмерно активную клеточную реактивацию и формирование глиального рубца. Учитывая тот факт, что в нервной ткани именно астроциты являются основными продуцентами цитокинов и молекул межклеточного матрикса, обеспечивают целостность гемато-энцефалического барьера, такой клеточный ответ ведет к развитию воспалительного и угнетению репаративных процессов [Goussev et al., 2003].

Нарушения состояния цитоскелета астроцитов и оксидативный стресс, выявленные в мозге бычка-песочника Керченской бухты, свидетельствуют о проявлении сублетального биологического эффекта промышленных загрязнителей у гидробионтов данной акватории.

Оксидативный стресс является наиболее характерным метаболическим нарушением при действии неблагоприятных факторов. Промежуточные высокореактивные продукты оксидативного стресса являются важной причиной нейродегенерации и снижения жизнеспособности в условиях воздействия токсических загрязнителей различной природы.

Чрезвычайно актуальным является изучение повреждающих эффектов отдельных загрязнителей и ксенобиотиков, обладающих окислительным потенциалом в условиях хронического воздействия и/или сублетальных концентраций, в частности, в регионах с развитой тяжелой промышленностью и зонах техногенных катастроф.

Особого внимания, в качестве объекта исследования, заслуживают гидробионты, поскольку водные организмы довольно чувствительны к промышленным загрязнителям с высоким окислительным потенциалом, обладают способностью избирательной аккумуляции загрязнителей в органах и тканях. Биологические особенности гидробионтов позволяют создавать удобные и адекватные для экотоксикологических исследований модели биологических эффектов современных загрязнителей.

Учитывая вышесказанное, выявленная положительная корреляция показателей астроглиоза и оксидативного стресса в мозге бычка-песочника из загрязненных и условно чистых водоемов указывает на то, что окислительные повреждения могут быть одним из основных механизмов реализации токсичных эффектов загрязнителей.

Заключение

Полученные в мае–июне 2009 г. данные о нарушениях метаболизма специфического белка цитоскелета нейроглии бычка-песочника Керченской бухты, свидетельствуют о



негативном влиянии нефтепродуктов на донные биотопы этого региона. Представленные результаты указывают на необходимость постоянного экологического мониторинга и комплексного исследования популяций гидробионтов промышленных регионов и зон экологических катастроф.

Список литературы References

1. Бланк Ю.И., Себах Л.К., Петренко О.А. 2004. Экологические аспекты природопользования в районе Керченского пролива. В кн.: Проблемы экологической безопасности и развития морехозяйственного и нефтегазового комплекса. Материалы IV Международной научно-практической конференции (г. Севастополь, 30 августа – 3 сентября 2004 г.). Одесса, Изд-во Пассаж: 194–198.
Blank J.I., Sebah L.K., Petrenko O.A. 2004. Problems of environmental safety and marine economic development and oil and gas industry. In: Problemy jekologicheskoy bezopasnosti i razvitiya morehozjajstvennogo i neftegazovogo kompleksa. Materialy IV Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii (g. Sevastopol', 30 avgusta – 3 sentjabrja 2004 g.) [Problems of environmental safety and marine economic development and oil and gas industry. Materials of the IV International scientific and practical conference (Sevastopol, 30 August – 3 September, 2004)]. Odessa, Izd-vo Passazh: 194–198. (in Russian)
2. Матисов Г.Г., Бердников С.В., Савицкий Р.М. 2008. Экосистемный мониторинг и оценка воздействия разливов нефтепродуктов в Керченском проливе. Аварии судов в ноябре 2007 г. Ростов-на-Дону. Изд-во ЮНЦ РАН, 73.
Matishov G.G. Berdnikov S.V., Sawicki R.M. 2008. Jekosistemnyj monitoring i ocenka vozdeystviya razlivov nefteproduktov v Kerchenskom prolive. Avarii sudov v nojabre 2007 g. [Ecosystem monitoring and evaluation of the impact of oil spills in the Kerch Strait. Ship casualties in November 2007], Rostov-na-Donu, Izd-vo JuNC RAN, 73. (in Russian)
3. Недзвецкий В.С., Ушакова Г.А., Бусыгина С.Г. и др. 1991. Влияние малых доз ионизирующей радиации на промежуточные филаменты и Са-активируемую систему протеолиза головного мозга крысы. Радиобиология, 31 (3): 333–339.
Nedzveckij V.S., Ushakova G.A., Busygina S.G. et al. 1991. The effect of small doses of ionizing radiation on the intermediate filaments and Ca-activated proteolysis system rat brain. Radiobiologija, 31 (3): 333–339. (in Russian)
4. Петренко О.А., Авдеева Т.М., Себах Л.К. и др. 2009. Влияние техногенной катастрофы 11 ноября 2007 г. на состояние морской экосистемы Керченского пролива. В кн.: Основные результаты комплексных исследований в Азово-Черноморском бассейне и мировом океане. Труды ЮгНИРО. Керчь, ЮгНИРО: 55–60.
Petrenko O.A., Avdeeva T.M., Sebah L.K. et al. 2009. Influence of man-made disaster 11 November 2007 on the state of the marine ecosystem of the Kerc gulf's. In: Osnovnye rezul'taty kompleksnyh issledovanij v Azovo-Chernomorskom bassejne i mirovom okeane. Trudy JugNIRO [The main results of comprehensive research in the Azov-Black Sea basin and the world's oceans. Articles SouthSRFO], Kerch, JugNIRO: 55–60. (in Russian)
5. Правдин И.Ф. 1966. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных). М., Пищевая промышленность, 376.
Pravdin I.F. 1966. Rukovodstvo po izucheniju ryb (preimushhestvenno presnovodnyh) [Study Guide fish (mostly freshwater)]. Moscow, Pishhevaja promyshlennost', 376. (in Russian)
6. Фашук Д.Я., Овсиенко С.Н., Петренко О. А. и др. 2007. Экологические проблемы Боспора Киммерийского. Черноморский вестник, 1: 52–78.
Fashuk D.J. Ovsyenko S.N., Petrenko O.A. et al. 2007. Ecological problems of Cimmerian Bosphorus. Chernomorskij vestnik, 1: 52–78. (in Russian)
7. Фашук Д.Я., Петренко О.А. 2008. Керченский пролив – важнейшая транспортная артерия и рыбопромысловый район Азово-Черноморского бассейна. Юг России: экология, развитие, 1: 15–22.
Fashuk D.J., Petrenko O.A. 2008. The Kerch gulf's – an important transport artery and fishing area of the Azov-Black Sea basin. Jug Rossii: jekologija, razvitie, 1: 15–22. (in Russian)
8. Goussev S. Hsu J.Y., Lin Y. et al. 2003. Differential temporal expression of matrix metalloproteinases after spinal cord injury: relationship to revascularization and wound healing. Journal Neurosurgery, 99: 188–197.
9. Miller G.L. 1959. Protein determination for large numbers of samples. Analytical Chemistry, 31 (5): 964–966.
10. Nedzvetskii V.S., Nerush P.A. 2006. Effects of vitamin E against aluminum neurotoxicity in rats. Biochemistry (Moscow), 71 (3): 239–244.
11. Nedzvetskiy V.S., Nerush P.A. 2011. Hyperthyreosis Effects on the Learning, Memory and Glial Intermediate Filaments of a Rat Brain. Physiology and Pathophysiology, 2 (3): 269–278.
12. Ohkawa H., Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analytical Biochemistry, 95 (2): 351–358
13. Sofroniew M.V., Vinters H.V. 2010. Astrocytes: biology and pathology. Acta Neuropathologica, 119: 7–35.
14. Verkhratsky A., Parpura V., Pekna M. et al. 2014. Glia in the pathogenesis of neurodegenerative diseases. Biochemical Society Transactions, 42 (5): 1291–1301.