

Изменение содержания белков теплового шока (БТШ70) и продуктов перекисного окисления липидов у лабораторной линии легочного моллюска *Stagnicola corvus* в условиях гипертермии

А. С. ХОМИЧ¹, А. П. ГОЛУБЕВ¹, Д. В. АКСЕНОВ-ГРИБАНОВ^{2,3}, О. А. БОДИЛОВСКАЯ¹, Ю. А. ШИРОКОВА², Ю. В. ЛОШАКОВА², Ю. А. ЛУБЯГА^{2,3}, Ж. М. ШАТИЛИНА^{2,3}

¹ Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова
Белорусского государственного университета
220070, Минск, ул. Долгобродская, 23/1
E-mail: andy3331@mail.ru

² Научно-исследовательский институт биологии
Иркутского государственного университета
664003, Иркутск, ул. Ленина, 3
E-mail: zhshatilina@gmail.com

³ Байкальский исследовательский центр
664003, Иркутск, ул. Ленина, 21
E-mail: brc@contact@gmail.com

Статья поступила 14.04.2017

Принята к печати 03.07.2017

АННОТАЦИЯ

В ходе проведенного исследования оценена динамика изменения содержания стрессовых белков теплового шока семейства БТШ70 и продуктов перекисного окисления липидов при воздействии острого температурного стресса на лабораторную культуру пресноводных легочных моллюсков вида *Stagnicola corvus* (Gmelin, 1791). Показано, что воздействие острой гипертермии 35 °С приводит к активации неспецифических механизмов стресс-адаптации у данных моллюсков, что выражается в увеличении содержания исследуемых стрессовых белков и снижении содержания продуктов перекисного окисления липидов.

Ключевые слова: стресс, белки теплового шока 70 (БТШ70), перекисное окисление липидов (ПОЛ), диеновые конъюгаты, триеновые конъюгаты, основания Шиффа, *Stagnicola corvus*.

Жизнь в водоеме, в отличие от наземных условий, характеризуется большей зависимостью обитателей от факторов окружающей среды. Поэтому водные экосистемы и населяющие их организмы особо чувствительны к изменению условий среды обитания [Parris, 2016].

Температура воды является важнейшим экологическим фактором, оказывающим влияние на все без исключения компоненты гидробиоценоза, в том числе и на пресноводных моллюсков, доминирующих в водоемах умеренной зоны Евразии [Gnatishina et al., 2011; Golubev et al., 2015]. Повышение температуры среды в водных экосистемах, как правило, приводит к снижению их устойчивости и упрощению структуры сообществ. На популяционном уровне это выражается в обеднении видового состава, снижении численности и повышении риска биологических инвазий [Панин, 2009] в нарушенную экосистему. При этом наиболее подверженными негативному влиянию внешних условий среды являются стенобионтные и редко встречающиеся виды, к которым относится *Stagnicola corvus* (Gmelin, 1791) [Kantor et al., 2009]. Ареал этого вида достаточно обширен – от Британских островов до бассейнов рек Черного и Балтийского морей и от юга Скандинавии до Передней Азии, однако его численность в ареале достаточно низка [Jakubic et al., 2014]. По критериям Международного союза охраны природы *S. corvus* имеет охранный статус LC (Least Concern, т. е. вызывающий наименьшие опасения); тем не менее данный вид включен в Красную книгу Чехии [Prie et al., 2011]. В Беларуси *S. corvus* встречается повсеместно, но также – очень редок [Лаенко, 2012]. Поэтому биохимические механизмы стресс-адаптации вида остаются неисследованными.

Исследование механизмов стресс-резистентности у редких видов гастропод актуально с точки зрения расширения списка модельных видов-индикаторов, развития методов биомониторинга, позволяющих оценить последствия антропогенного воздействия на экосистемы континентальных водоемов, которые подвергаются воздействию теплового загрязнения подогретыми водами ГРЭС и АЭС, а также глобального потепления.

В связи с этим цель настоящего исследования – проведение оценки динамики изменения молекулярных маркеров стрессовых состояний – содержания белков теплового шока семейства БТШ70 и ряда продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) при воздействии острого температурного стрес-

са на лабораторную культуру пресноводных легочных моллюсков вида *S. corvus*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Ввиду низкой численности *S. corvus* в водоемах Беларуси, получить достаточное число особей из природных популяций для экспериментальных исследований не представлялось возможным. Поэтому эксперимент проведен на лабораторной культуре *S. corvus*, полученной от трех половозрелых особей (высота раковины 30–35 мм), отловленных в июле 2015 г. в Борщевском затоплении (51°53'6,581 с. ш. и 29°09'36,213 в. д.) Полесского государственного радиационно-экологического заповедника (Республика Беларусь). Моллюсков доставили в лабораторию, где их поместили в аквариум объемом 5 л. Через неделю полученные кладки переместили в сосуд объемом 3 л для инкубации эмбрионов и начального подращивания молоди. Через месяц выжившую молодь перенесли в емкости объемом 30 л, где дорастивали до достижения половой зрелости.

В это время моллюсков кормили свежими листьями одуванчика (летом) и ботвой салата (зимой). Их содержали в водопроводной воде, которую меняли не реже одного раза в неделю. Особи находились в хорошем физиологическом состоянии, о чем свидетельствовало их прикрепление к вертикальным стенкам сосудов и активное перемещение [Кошелев, Овсепян, 2012]. Таким образом, содержание в лабораторных условиях не являлось стрессовым, и гибель моллюсков в этот период не отмечали.

Экспериментальная работа проведена весной 2016 г. с половозрелыми особями *S. corvus* с высотой раковины 10–15 мм. Для проведения экспериментов, выборки из 45–50 особей помещали в сосуды объемом 1 л при плотности 8–9 особей на сосуд, которые вносили в ультратермостат, где поддерживали постоянную температуру $+35 \pm 0,1$ °С. Выбранная температура превышает среднегодовую температуру водоема, в котором проводили отлов моллюсков ($+20$ – 22 °С) и близка к верхнему пределу зоны температурной толерантности для брюхоногих моллюсков [Nguyen et al., 2011; Болотов и др., 2012].

Живых моллюсков из экспериментальной группы фиксировали в жидком азоте: первая группа отобрана через 1 ч после начала экспозиции, вторая – через 4 ч, и далее фиксацию материала производили каждые 4 ч на протяжении 32 ч. В каждой выборке содержалось не менее пяти особей. Эксперимент выполняли трехкратно. Для определения исходного уровня исследуемых параметров часть моллюсков зафиксирована непосредственно перед началом экспозиции.

В замороженных образцах оценивали содержание стрессовых белков БТШ70 и продуктов ПОЛ. Выделение общего белка проводили в 0,1 М *Tris* HCl буфере (pH 7,6) [Bedulina et al., 2013]. Количество белка в пробах определяли по методу М. Брэдфорд [Bradford, 1976] при длине волны 595 нм. Содержание БТШ70 определяли стандартным методом денатурирующего электрофореза с ДДС-Na в 12,5%-м полиакриламидном геле [Laemmli, 1970] с последующим Вестерн-блоттингом [Bers, Garfin, 1985]. Для визуализации БТШ70 полученные мембраны инкубировали сначала с антителами к БТШ70 (мышинные антитела к Hsp70; Sigma-Aldrich, # H5147, разведение 1 : 10 000). Затем, после промывания от непрореагировавших антител, их инкубировали в растворе вторичных антител конъюгированных с щелочной фосфатазой (антитела к иммуноглобулину мыши IgG:AP Conj., Sigma-Aldrich # A3562, разведение 1 : 1000). В качестве референтного белка использован актин. Для визуализации актина использовали следующие поликлональные антитела: к β -актину (кроличьи антитела Sigma-Aldrich #A266, разведение 1 : 1000) и к иммуноглобулину кролика (Sigma-Aldrich #A9919, разведение 1 : 1000). Полуколичественный анализ содержания исследуемого белка на мембранах проводили с помощью программы Fiji. Относительное содержание белка выражено в условных единицах (усл. ед.), полученных путем деления значения оптической плотности БТШ70 на значение оптической плотности соответствующего актина.

Содержание продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов, триеновых конъюгатов и оснований Шиффа) определяли спектрофотометрически [Хышиктуев и др., 1996]. Для этого

моллюсков гомогенизировали в экстрагирующей смеси гептан : изопропанол в объемном соотношении 1 : 1. Объем гомогената довели экстрагирующей смесью до 4,5 мл. К полученной суспензии добавляли 1 мл воды и оставляли инкубироваться на 30 мин при температуре 25 °С для разделения фаз, после чего фракции разделяли центрифугированием при 1000 об/мин в течение 3 мин и каждую из фракций смешивали с трехкратным объемом 96%-го этилового спирта. Замер оптических плотностей гептановой и изопропанольной фракций (Е) проводили на спектрофотометре UNICO 2802. Спектр и оптическую плотность каждой фракции оценивали против соответствующей холостой пробы при длинах волн 220 нм (поглощение изолированных двойных связей), 232 нм (поглощение диеновых конъюгатов, ДК), 278 нм (поглощение триеновых конъюгатов, ТК) и 400 нм (поглощение оснований Шиффа, ОШ). Содержание ДК, ТК и ОШ оценивали по относительным величинам экстинкции E232/E220, E278/E220, E400/E220 и выражали в относительных (условных) единицах [Хышиктуев и др., 1996].

Анализ проверки нормальности распределения выполняли при помощи критерия Колмогорова – Смирнова, согласно которому исследуемые выборки не подчинялись нормальному закону распределения ($p < 0,05$), в связи с чем, статистическую обработку данных проводили по методу Манна – Уитни, а корреляционный анализ с помощью непараметрического коэффициента корреляции Спирмена в пакете программ STATISTICA 8.0 [Боровиков, 2003]. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе настоящего исследования у представителей *S. corvus* контрольной группы отмечали конститутивный синтез белка семейства БТШ70 с молекулярной массой 70,2 кДа. Экспозиция гастропод при температуре 35 °С вызывала увеличение содержания БТШ70 уже после 1 ч (рис. 1, а–б). Через 4 ч экспозиции при гипертермии содержание белка увеличивалось в 2,5 раза относительно исходного уровня и достигало максимального зна-

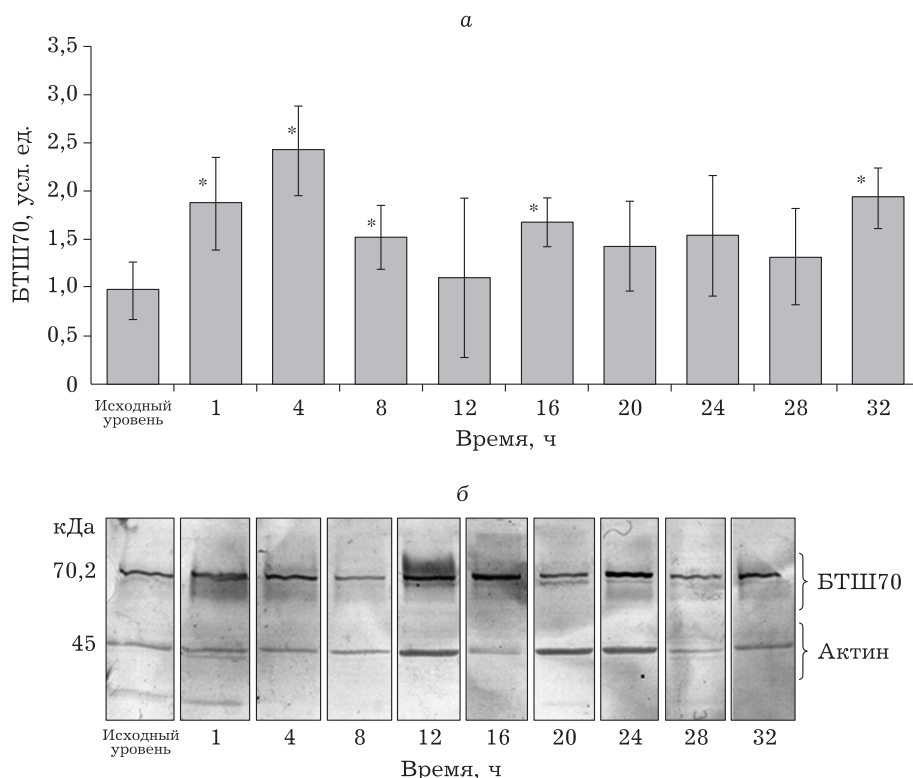


Рис. 1. Изменение содержания БТШ70 у *S. corvus* при экспонировании при температуре 35 °С. а – полуколичественная оценка содержания БТШ70; б – типовая мембрана; * – статистически значимые различия ($p < 0,05$).

На графике указаны средние значения \pm стандартное отклонение

чения. Средние значения содержания БТШ70 оказались достоверно выше исходного уровня через 1, 4, 8, 16 и 32 ч экспозиции.

При оценке исходных уровней продуктов ПОЛ в гептановой фракции у *S. corvus* установлено, что содержание диеновых конъюгатов составило $0,28 \pm 0,07$ усл. ед., триеновых конъюгатов – $0,28 \pm 0,11$ усл. ед. и оснований Шиффа – $0,49 \pm 0,16$ усл. ед. (рис. 2, а–в). В ответ на предъявляемое температурное воздействие у гастропод наблюдали достоверное кратковременное снижение содержания диеновых конъюгатов после 8 и 24 ч экспозиции. Кроме того, экспозиция при повышенных температурах среды вела и к кратковременному снижению содержания оснований Шиффа спустя 1, 8 и 32 ч эксперимента. Выраженных изменений в содержании триеновых конъюгатов не отмечали в ходе всего срока стрессового воздействия.

Показано, что исходные уровни содержания продуктов ПОЛ в изопропановой фрак-

ции были следующими: диеновых конъюгатов – $0,64 \pm 0,06$ усл. ед., триеновых конъюгатов – $0,39 \pm 0,06$ усл. ед. и оснований Шиффа – $0,22 \pm 0,06$ усл. ед. (рис. 3, а–в). В ответ на предъявляемое температурное воздействие у особей *S. corvus* наблюдали незначительное снижение содержания триеновых конъюгатов после 4, а оснований Шиффа через 32 ч экспозиции. Статистически значимых изменений в содержании диеновых конъюгатов не выявлено.

Проведенный корреляционный анализ показал тесную взаимосвязь как между динамикой содержания отдельных продуктов ПОЛ, так и между продуктами ПОЛ и временем экспозиции (см. таблицу). Высокая положительная корреляция найдена между содержанием ТК и основаниями Шиффа ($r = 0,85$; $p < 0,05$) – продуктами окисления в гептановой фракции, а также между ДК и ТК ($r = 0,83$; $p < 0,05$) – продуктами окисления в изопропанольной фракции. Высокая отри-

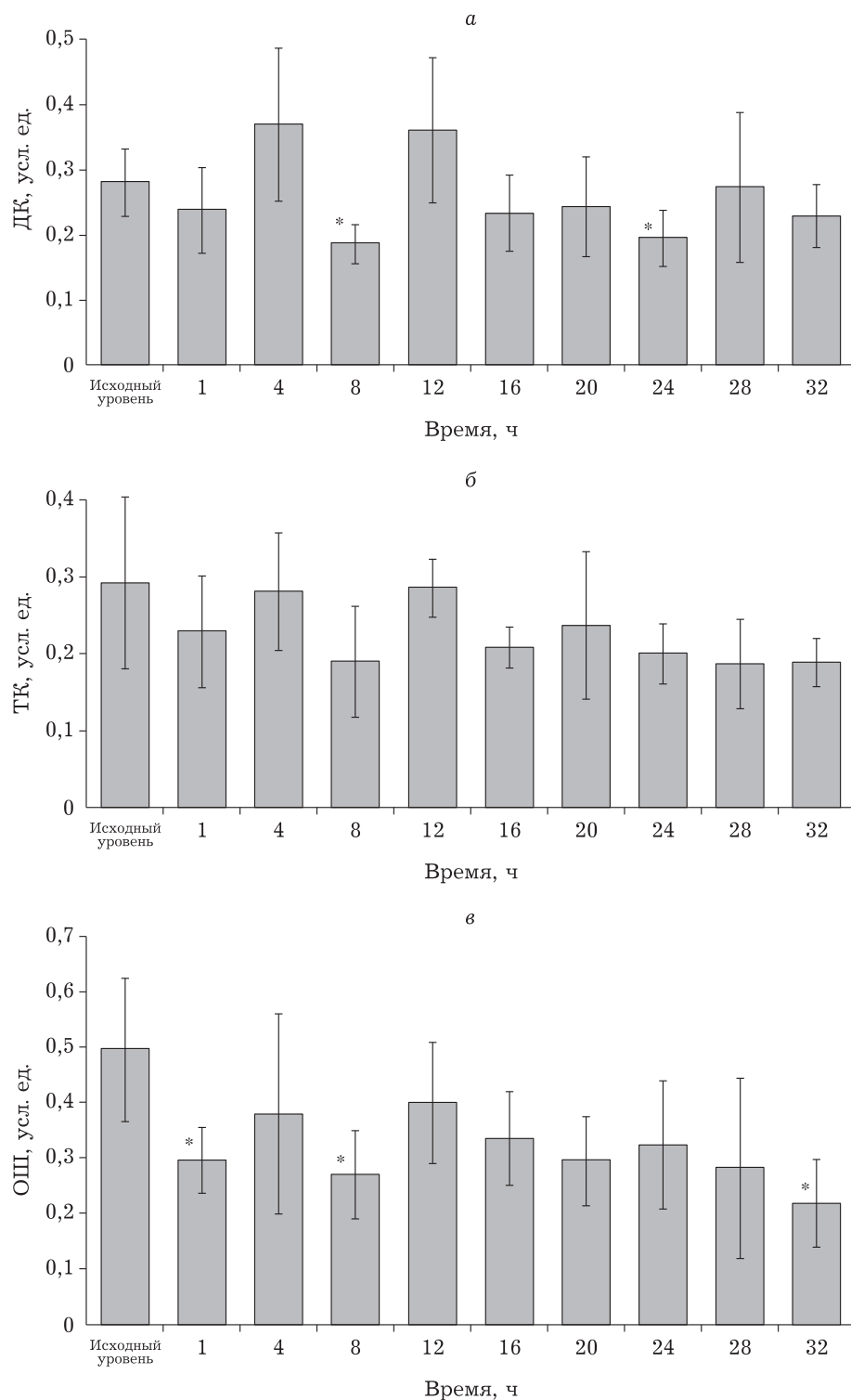


Рис. 2. Содержание продуктов ПОЛ в гептановой фракции при температурном стрессе у *S. corvus*: а – диеновые конъюгаты, б – триеновые конъюгаты, в – основания Шиффа; * – статистически значимые различия ($p < 0,05$).

На графике указаны средние значения \pm стандартное отклонение

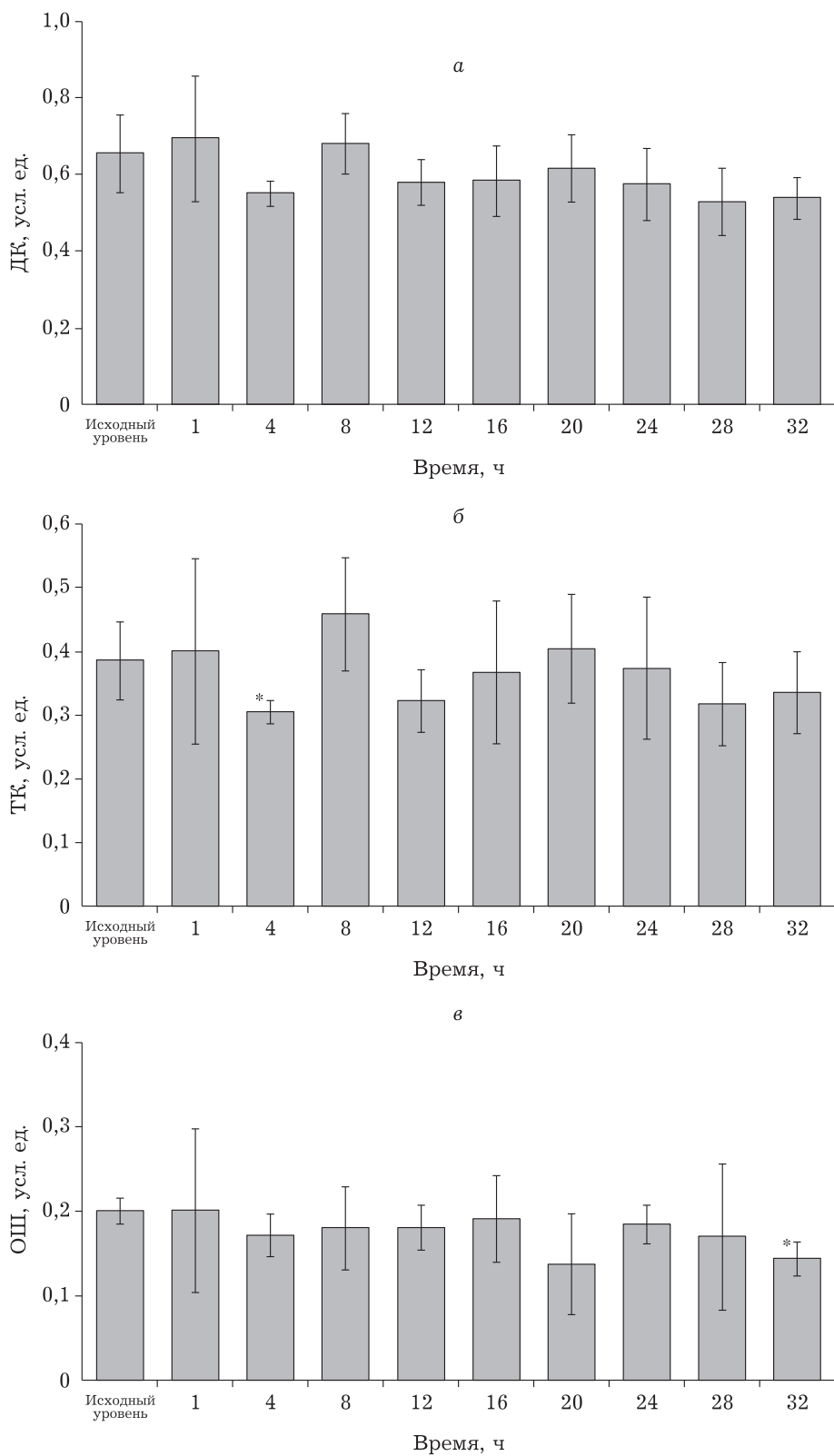


Рис. 3. Содержания продуктов ПОЛ в изопропанольной фракции при температурном стрессе у *S. corvus*: а – диеновые конъюгаты, б – триеновые конъюгаты, в – основания Шиффа; * – статистически значимые различия ($p < 0,05$).

На графике указаны средние значения \pm стандартное отклонение

Корреляционный анализ некоторых клеточных и метаболических параметров оценки влияния острой гипертермии на адаптивный потенциал *S. corvus*

	БТШ70	ДК изо-пропанольная фракция	ДК гептановая фракция	ТК изо-пропанольная фракция	ТК гептановая фракция	Основания Шиффа изопропанольная фракция	Основания Шиффа гептановая фракция	Время экспозиции
БТШ70		-0,18	-0,24	-0,20	-0,28	-0,09	-0,31	0,12
ДК изопропанольная фракция	-0,18		-0,21	0,83	0,41	0,56	0,16	-0,71
ДК гептановая фракция	-0,24	-0,21		-0,58	0,66	-0,03	0,65	-0,37
ТК изопропанольная фракция	-0,20	0,83	-0,58		0,03	0,21	-0,25	-0,27
ТК гептановая фракция	-0,28	0,41	0,66	0,03		0,37	0,85	-0,72
Основания Шиффа изопропанольная фракция	-0,09	0,56	-0,03	0,21	0,37		0,56	-0,65
Основания Шиффа гептановая фракция	-0,31	0,16	0,65	-0,25	0,85	0,56		-0,61
Время экспозиции	0,12	-0,71	-0,37	-0,27	-0,72	-0,65	-0,61	

Примечание. Полужирным шрифтом выделены коэффициенты корреляции с высокой теснотой связи.

цательная корреляция найдена между изменением времени экспозиции и содержанием ДК ($r = -0,71$; $p < 0,05$) – продуктами окисления в изопропанольной фракции, ТК ($r = -0,72$; $p < 0,05$) – продуктами окисления в гептановой фракции.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследованиями на многих видах живых организмов из разных экологических и таксономических групп показано, что повышение температуры среды приводит к локальным адаптациям и активации ряда как специфических, так и неспецифических механизмов стресс-резистентности на биохимическом уровне [Di Lorenzo et al., 2016]. Одним из базовых элементов системы стрессовой защиты организмов, являются белки теплового шока семейства БТШ70 [Dongwu, Zhiwei, 2013; Cantinha et al., 2013; Wang et al., 2013]. Их синтез происходит при различных стрессовых воздействиях – температурном, окислительном, токсическом и биотическом

[Morimoto, Nollen, 2009; Baby et al., 2012; Подлипаева и др., 2016]. Из всех стрессовых белков, семейство БТШ70, или шапероны – самая многочисленная и наиболее изученная группа у организмов разных типов. Их основной функцией является регулировка транспорта, восстановления и связывания клеточных белков, а также укладка белковых молекул [The HSP70 Molecular Chaperone Machines, 2017].

Наблюдаемое повышение содержания БТШ70 у исследованного *S. corvus*, по-видимому, связано с повреждением белковых молекул, происходящим в ответ на предъявляемую гипертермию. Температурное воздействие требует немедленной активации механизмов защиты и поддержания белкового гомеостаза, что и наблюдали у данного вида организмов. Ранее показано, что БТШ70 является одним из основных механизмов стресс-резистентности моллюсков к воздействию повышенной температуры и его содержание при стрессовом воздействии увеличивается [Axenov-Gribanov et al., 2014,

2015]. В свою очередь, литоральные сообщества гастропод *Lottia* sp. используют так называемую стратегию “подготовительной обороны”. Эта стратегия предусматривает поддержание конститутивных БТШ70 на высоком уровне в клетке, что является одним из главных механизмов устойчивости к резкому воздействию теплового шока [Dong et al., 2008]. Выявлено изменение экспрессии генов БТШ70 в ответ на повышение температуры у антарктических морских моллюсков *Laternula elliptica* и *Nacella concinna*. При этом температура, при которой происходит активация защитных систем, видоспецифична [Clark, 2008].

Помимо влияния на белковый состав и содержание отдельных белков, воздействие стрессовых факторов, в том числе и повышенных температур, может приводить к изменению состава и нарушению структуры липидов мембран [Hochachka, Somero, 2014]. Известно, что в нормальных условиях жизнедеятельности клетки присутствует определенный уровень процессов ПОЛ, который поддерживается на постоянном уровне благодаря многоуровневой системе антиоксидантной защиты [Меньщикова и др., 2006]. Сбалансированность между обеими частями этой системы – перекисным окислением, с одной стороны, и антиоксидантной активностью – с другой, является необходимым условием для поддержания нормальной жизнедеятельности клетки. Отмечаемые в работе изменения содержания продуктов ПОЛ косвенно указывают на усиление роли антиоксидантной защиты, высвобождение низкомолекулярных антиоксидантов [Аксенов-Грибанов и др., 2013; Ильина и др., 2016] и адаптивные изменения, происходящие в ответ на температурный стресс. В то же время в силу того, что эти изменения являлись кратковременными, можно предположить, что предъявляемое стрессовое воздействие не оказывает для вида критическим и не вызывает необратимых изменений в структуре мембран.

Положительные корреляции, вероятно, связаны с цепным характером протекания процессов ПОЛ. В результате окисления жирных кислот в качестве первичных продуктов образуются гидроперекиси липидов.

Первичные продукты ПОЛ посредством различных механизмов преобразуются во вторичные (альдегиды, кетоны, спирты и др.), которые являются более стабильными и более токсичными. Их накопление приводит к повреждению и гибели клеток [Gueraud et al., 2010].

Таким образом, воздействие острой гипертермии приводит к активации неспецифических механизмов стресс-адаптации у *S. corvius*, что выражается в увеличении содержания БТШ70 и изменении содержания продуктов ПОЛ. При этом изменение содержания стрессовых белков выступает высокочувствительным биомаркером стрессового состояния стенобионтных гастропод.

Работа выполнена в рамках Задания № 5.3.14 Государственной программы научных исследований Республики Беларусь “Химические технологии и материалы, природно-ресурсный потенциал”, а также при частичной финансовой поддержке проектов Минобрнауки РФ (ГЗ 6.1387.2017/4.6), РФФИ (17-14-01063), РФФИ (15-54-04062, 15-04-06685, 16-34-00687, 16-34-60060) и ФГБОУ ВО “ИГУ”.

ЛИТЕРАТУРА

- Аксенов-Грибанов Д. В., Шаханова Н. С., Верещагина К. П., Щапова Е. П., Лубяга Ю. А. Сравнительное исследование влияния повышения температуры среды на активность механизмов терморезистентности и состояние энергетического метаболизма у байкальских и палеарктических гастропод // Матлы VI Всерос. науч. конгресса молодых ученых с междунар. участием (Иркутск, 19–28 августа 2013 г.): тез. докл. Иркутск, 2013. С. 129–131.
- Болотов И. Н., Беспалая Ю. В., Усачева О. В. Экология и эволюция гидробионтов в горячих источниках Субарктики и Арктики: формирование аналогичных сообществ, адаптации видов и микроэволюционные процессы // Успехи соврем. биологии. 2012. Т. 132, № 1. С. 77–86.
- Боровиков В. П. Искусство анализа данных на компьютере. СПб.: Statistica, 2003. 700 с.
- Ильина Т. Н., Илюха В. А., Баишникова И. В., Белкин В. В., Сергина С. Н., Антонова Е. П. Сравнительное исследование антиоксидантной системы полуводных и наземных млекопитающих // Труды КарНЦ РАН. 2016. № 6. С. 16–24.
- Кошелёв А. В., Овсепян М. С. Выживаемость и поведенческие изменения *Potamopyrgus antipodarum* в градиенте солености // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету

- імені Володимира Гнатюка. Сер.: Біологія. 2012. № 2 (51). С. 148–151.
- Лаенко Т. М. Фауна водних моллюсков Беларуси / Нац. акад. наук Беларусі, Науч.-практ. центр по биоресурсам. Минск: Беларус. навука, 2012. 128 с.
- Меньшикова Е. Б., Ланкин В. З., Зенков Н. К., Бондарь И. А., Круговых Н. Ф., Труфакин В. А. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М.: Слово, 2006. 556 с.
- Панин В. Ф. Защита биосферы от энергетических воздействий: конспект лекций. Томск: ТПУ, 2009. 62 с.
- Подлипаева Ю. И., Гудков А. В., Бергер В. Я. Изменение содержания стрессового белка 70 кДа в процессе акклимации моллюсков *Mytilus edulis* L. к пониженной солености // Цитология. 2016. Т. 58, № 7. С. 562–566.
- Хышиктуев Б. С., Хышиктуева Н. А., Иванов В. Н. Методы определения продуктов перекисного окисления липидов в конденсате выдыхаемого воздуха и их клиническое значение // Клиническая лабораторная диагностика. 1996. № 3. С. 13–15.
- Axenov-Gribanov D. V., Bedulina D. S., Shatilina Z. M., Lubyaga Y. A., Vereshchagina K. P., Timofeyev M. A. A cellular and metabolic assessment of the thermal stress responses in the endemic gastropod *Benedictia limnaeoides ongurensis* from Lake Baikal // The comparative physiology and biochemistry. Part B. 2014. Vol. 167. P. 16–22.
- Axenov-Gribanov D., Vereshchagina K., Lubyaga Y., Gurkov A., Bedulina D., Shatilina Z., Homich A., Golubev A., Timofeyev M. Stress response at the cellular and biochemical levels indicates the limitation of the environmental temperature range for Eastern Siberia populations of the common gastropod *Limnaea stagnalis* // Malacologia. 2015. Vol. 59, Iss. 1. P. 33–44.
- Baby J., Jency G., Jeevitha M. V. Impact of heavy metals and Hsp response // Int. Journ. Biosci. 2012. Vol. 2, N 9. P. 51–64.
- Bers G., Garfin D. Protein and nucleic acid blotting and immunobiochemical detection // Bio Techniques. 1985. Vol. 3. P. 276–288.
- Bedulina D. S., Evgen'ev M. B., Timofeyev M. A., Protopopova M. V., Garbuz D. G., Pavlichenko V. V., Luckenbach T., Shatilina Z. M., Axenov-Gribanov D. V., Gurkov A. N., Sokolova I. M., Zatsepina O. G. Expression patterns and organization of the hsp70 genes correlate with thermotolerance in two congener endemic amphipod species (*Eulimnogammarus cyaneus* and *E. verrucosus*) from Lake Baikal // Molec. Ecol. 2013. Vol. 22. P. 1416–1430.
- Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analytical Biochemistry. 1976. Vol. 72, N 1. P. 248–254.
- Cantinha R., Borrelly S., Oguiura N., Polpo A., Pereira C. A. B., Nakano E. Thermotolerance and induction of HSP70 in *Biomphalaria glabrata* // Greener Journ. Cell and Animal Biol. 2013. Vol. 2, N 3. P. 1–7.
- Clark M. S., Geissler P., Waller C., Fraser K. P., Barnes D. K., Peck L. S. Low heat-shock thresholds in wild Antarctic inter-tidal limpets (*Nacella concinna*) // Cell Stress Chaperones. 2008. Vol. 13, N 1. P. 51–58.
- Di Lorenzo T., Cannicci S., Spigoli D., Cifoni M., Baratti M., Galassi D. M. Bioenergetic cost of living in polluted freshwater bodies: respiration rates of the cyclopoid *Eucyclops serrulatus* under ammonia-N exposures // Fundament. and Appl. Limnol. 2016. Vol. 188, N 2. P. 147–156.
- Dong Y., Miller L. P., Sanders J. G., Somero G. N. Heat-shock protein 70 (Hsp70) expression in four limpets of the genus *Lottia*: Interspecific variation in constitutive and inducible synthesis correlates with in situ exposure to heat stress // Biol. Bull. 2008. Vol. 215, N 2. P. 173–181.
- Dongwu L., Zhiwei C. The expression and induction of heat shock proteins in molluscs // Protein & Peptide Lett. 2013. Vol. 20, N 5. P. 602–606.
- Gnatishina L. L., Fal'fushinskaya G. I., Golubev A. P., Dallinger R., Stoliar O. B. Role of metallothioneins in adaptation of *Lymnaea stagnalis* (Mollusca: Pulmonata) to environment pollution // Hydrobiol. Journ. 2011. Vol. 47, N 5. P. 56–66.
- Golubev A. P., Bodilovskaya O. A., Khomich A. S., Korotchikova N. V., Vereshchagina K. P., Lubyaga Y. A., Shchapova E. P., Shatilina Z. M., Axenov-Gribanov D. V. The influence of trematode invasion on the thermoresistance of *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda, Pulmonata) population from the floodplain reservoir of Angara river // J. Stress Physiol. & Biochem. 2015. Vol. 11, N 2. P. 28–39.
- Gueraud F., Atalay M., Bresgen N., Cipak A., Eckl P. M., Huc L., Jouanin I., Siems W., Uchida K. Chemistry and biochemistry of lipid peroxidation products // Free Radical Res. 2010. Vol. 44, N 10. P. 1098–1124.
- Hochachka P. W., Somero G. N. Biochemical Adaptation. Princeton Legacy Library, 2014. 560 p.
- Jakubic B., Koperski P., Lewandowski K. Diversity of mollusks in lowland river-like system: lentic versus lotic patches // Polish Journ. Ecol. 2014. Vol. 62. P. 335–348.
- Kantor Y. I., Schileyko A. A., Vinarski M. V., Sysoev A. V. Catalogue of the Continental Mollusks of Russia and Adjacent Territories. 2009. 295 p. URL: www.ruthenica.com/documents/Continental_Russian_miluscs_ver1-0.pdf
- Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assemble of the head bacteriophage T4 // Nature. 1970. Vol. 227. P. 680–685.
- Morimoto R. I., Nollen E. A. A. The heat shock response and the stress of misfolded proteins // Handbook of cell signaling. 2009. P. 267–274.
- Nguyen K. D. T., Morley S. A., Lai C. H., Clark M. S., Tan K. S., Bates A. E., Peck L. S. Upper temperature limits of tropical marine ectotherms: Global Warming implications // PLoS ONE. 2011. Vol. 6, N 12. e29340.

Parris K. M. Ecology of Urban Environments. John Wiley & Sons, 2016. 240 p.

Prie V., von Proschwitz T., Seddon M. B. *Stagnicola corvus*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. 2011. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2011-2.RLTS.T155596A4805799.en>

The HSP70 Molecular Chaperone Machines / eds. M. P. Mayer, P. Goloubinoff. Lausanne: Frontiers Media, 2017. 69 p.

Wang L., Yang C., Song L. The molluscan HSP70s and their expression in hemocytes // ISJ. 2013. Vol. 10. P. 77–83.

Change of HSPs70 Amount and Products of Lipid Peroxidation in the Laboratory Culture of Pulmonate Mollusk *Stagnicola corvus* Exposed at Hyperthermia

A. S. KHOMICH¹, A. P. GOLUBEV¹, D. V. AXENOV-GRIBANOV^{2,3}, O. A. BODILOVSKAYA¹,
Y. A. SHIROKOVA², Y. V. LOSHAKOVA², Y. A. LUBYAGA^{2,3}, Z. M. SHATILINA^{2,3}

¹ International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University
220070, Minsk, Dolgobrodskaya str., 23/1
E-mail: andy3331@mail.ru

² Research Institute of Biology at Irkutsk State University
664003, Irkutsk, Lenin str., 3
E-mail: zhshatilina@gmail.com

³ Baikal Research Centre
664003, Irkutsk, Lenin str., 21
E-mail: brc@contact@gmail.com

Dynamic of changes HSPs70 amount and products' of lipid peroxidation by hyperthermia of the laboratory culture of freshwater pulmonate mollusk *Stagnicola corvus* (Gmelin, 1791) were evaluated.

It was concluded that the impact of acute hyperthermia led to activation of stress adaptation mechanisms in *S. corvus* which was expressed in increasing of HSPs70 amount and decreasing the level of LPO products.

Key words: stress, heat shock proteins 70 (HSP70), lipid peroxidation, diene conjugates, triene conjugates, Schiff bases, *Stagnicola corvus*.