

Чутливість нейродегенеративних мутантів *Drosophila melanogaster* групи *Swiss cheese* до умов оксидативного стресу

І. І. Могиляк, Н. П. Матійців, Н. І. Груник, Я. І. Черник

Львівський національний університет імені Івана Франка
Вул. Грушевського, 4, Львів, Україна, 79005

irynamohyliak@yahoo.com

Мета. Дослідити чутливість нейродегенеративних мутантів *D. melanogaster* групи *Swiss cheese* до умов оксидативного стресу (ОС). **Методи.** Визначення показників тривалості життя, виживання, вмісту продуктів ПОЛ та кількості дофамінергічних нейронів у гангліях досліджуваних ліній комарів за умов ОС. **Результати.** Виявлено збільшену чутливість до ОС, зниження параметрів середньої та максимальної тривалості життя, інтенсифікацію процесів ПОЛ та дегенерацію дофамінергічних нейронів. **Висновки.** Нейродегенерація пов'язана з процесами вільнорадикального окиснення, супроводжується накопиченням продуктів ПОЛ та підвищенням чутливості до умов ОС.

Ключові слова: дрозофіла, нейродегенерація, дофамін, оксидативний стрес.

Вступ. Дослідження останніх років показують, що оксидативний стрес (ОС) часто супроводжує процеси нейродегенеративних розладів у людини і тварин [1]. Він проявляється у стійкому зсуві балансу про- і антиоксидантних процесів та зумовлює різні цитотоксичні порушення. Фактори, що спричиняють розвиток ОС, різноманітні, але всі вони в кінцевому підсумку викликають оксидативну модифікацію макромолекул. У хребетних це перш за все надлишок O_2 , гему, Fe^{2+} і Cu^+ , іонізуюче та ультрафіолетове випромінювання. ОС призводить до пошкодження найважливіших біополімерів клітини: нуклеїнових кислот, білків і ліпідів. Високі концентрації активних форм кисню (АФК) і ліпідних гідропероксидів пошкоджують ДНК, поділ клітин і можуть активувати апоптоз [2].

Пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) є наслідком ОС і в першу чергу порушує мембрани. Крім того, продукти ПОЛ (4-гідроксіалкени, малоновий диальдегід (МДА)) є мутагенними і цитотоксични-

ми [3, 4]. За умов ОС у біологічних системах утворюються дієнові кон'югати (ДК), молекули з двома спряженими подвійними зв'язками, формування яких вказує на наявність вільнорадикальної стадії механізму окиснення ліпідів [3]. Внаслідок переважачого окиснення ненасичених жирних кислот з віком відбувається їхня заміна на насичені; змінюються функціональні властивості, проникність і стабільність мембрани аж до повного її руйнування [5].

Як правило, оксиданти виробляються самою клітиною у процесі клітинного кисневого дихання. Отже, у високоактивних клітинах (нервові, м'язові) оксидантів більше, ніж в інших. Крім того, нервова тканина є мішенню для гіперпродукції вільних радикалів через високий вміст жирних кислот, значні внутрішньоклітинні концентрації перехідних металів, низькі рівні антиоксидантів і знижену здатність до регенерації. Останніми роками ОС для людини розглядають як важливий чинник патогенезу хвороб Альцгеймера і Паркінсона (дегенерація ДА нейронів), аміотрофічного латерального склерозу, епілепсії та розсіяного склерозу [1].

Захист від дії АФК здійснюється ферментами (супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, пероксидаза), а також низькомолекулярними акцепторами кисневих радикалів (аскорбінова кислота, α -токоферол, β -каротин і хелатори). Вони містять кофактори, такі як ферум, купрум, цинк і манган, для максимальної каталітичної активності та ефективних механізмів антиоксидантного захисту [6].

При дослідженні молекулярних і клітинних механізмів нейродегенеративних пошкоджень у живих істот моделювання на дрозофілі має низку переваг. Мозок дрозофіли організований в скупчення з відокремленими спеціалізованими функціями [8]. Геном дрозофіли секвеновано і функцію багатьох генів встановлено. Показано високий ступінь функціональної консервативності генів дрозофіли. Приблизно 75 % генів людини, причетних до виникнення спадкових захворювань, мають у дрозофіли щонайменше одного гомолога [7]. Короткий життєвий цикл цієї комахи, велика кількість потомства, добре відома анатомічна будова нервових гангліїв і широке розмаїття мутантів є зручними характеристиками дрозофіли як модельного генетичного об'єкта для вивчення ОС.

Матеріали і методи. *Лінії дрозофіли.* Матеріалом дослідження слугували комахи лінії нейродегенеративних мутантів *D. melanogaster*, отримані індукцією етилметансульфонатом [9]. Мутанти характеризуються швидким розвитком дегенеративних змін у структурі церебральних гангліїв та скороченням показників тривалості життя комах. Мутації картовано у ділянці 7D1 X-хромосоми і віднесено до однієї групи комплементарності з геном *Swiss cheese (sws)*, що кодує ортолог естерази ссавців (Neuropathy target esterase) [10]. Контролем була лінія дикого типу Oregon. Як негативний контроль використано лінію sniffer, отриману методом Р-інсерційного мутагенезу (надана проф. Ш. Шнойлі) [11]. Лінію sws¹ передано нам д-ром Д. Кретчмар, sws^{oIE} – одержано від Bloomington Stock Center. Культури утримували на стандартному середовищі за температури 25 °С [12].

Побудова кривих виживання. Для побудови кривих виживання самців триденного віку розсаджували по 20 особин (загалом 200 особин кожної лінії) в пробірки на стандартне поживне середовище. Пробірки змінювали кожних два дні та рахували живих мух. За отриманими даними будували криві вижи-

вання, визначали показники середньої (СТЖ) та максимальної тривалості життя (МТЖ): S_{75} і S_{50} – термін у днях, за якого залишалися живими 75 і 50 % мух відповідно; S_{max} – максимальна тривалість життя.

Біохімічні дослідження. Гомогенат (10 %-й розчин) готували в 0,1 М трис-НСІ-гомогенатному буфері, рН 8,6. Гомогенізацію проводили за температури 0–4 °С, центрифугували протягом 10 хв при 4000 об/хв [13]. Концентрацію білка встановлювали за стандартною методикою [14].

Вміст ТБК (тіобарбітурова кислота)-позитивних продуктів (ТБК-ПП) визначали за стандартною методикою [15]; коефіцієнт екстинкції – спектрофотометрично за довжини хвилі 532 нм проти бутанолу.

Визначення вмісту дієнових кон'югатів проводили за стандартною методикою [15]; коефіцієнта екстинкції – спектрофотометрично за довжини хвилі 233 нм проти гептану.

Тест на стійкість до умов ОС здійснювали за [14]. Стійкість до прооксидантів. 200 триденних самців поміщали в пробірки з агарозним середовищем (по 20 особин), на фільтр наносили по 200 мкл 5 %-го H_2O_2 (або по 200 мкл 10 і 20 мМ розчинів метилвіологену) в 10 %-й сахарозі. Через кожні дві доби мух пересипали у свіжі пробірки. Після 96 год визначали відсоток виживання особин. Також затравлених восьмиденних мух використовували для визначення вмісту продуктів ПОЛ.

Імунологічна детекція нейрональної тканини D. melanogaster. Мозок препарували методом «whole-mount» і проводили імуногістохімічне фарбування за стандартною методикою [17]. Первинними антитілами для дофамінергічних нейронів слугували anti-TH antiserum antimouse при розведенні 1:500. Детекцію здійснювали флуоресцентно міченими антитілами Cy2 Alexa 488 «goat antimouse», 1:200.

Препарати аналізували на лазерному конфокальному мікроскопі Carl Zeiss Axiovert 100M із застосуванням комп'ютерної програми («Carl Zeiss LSM Image», Німеччина).

Активність супероксиддисмутази визначали за методикою, адаптованою до гомогенатів дрозофіли в серіях розведень та концентрацій [18]. Інгібування СОД реакції перетворення нітротетразолію синього на формазан відстежували спектрофотометрично за довжини хвилі світла 560 нм.

Результати і обговорення. Для з'ясування чутливості нейродегенеративних мутантів до умов ОС

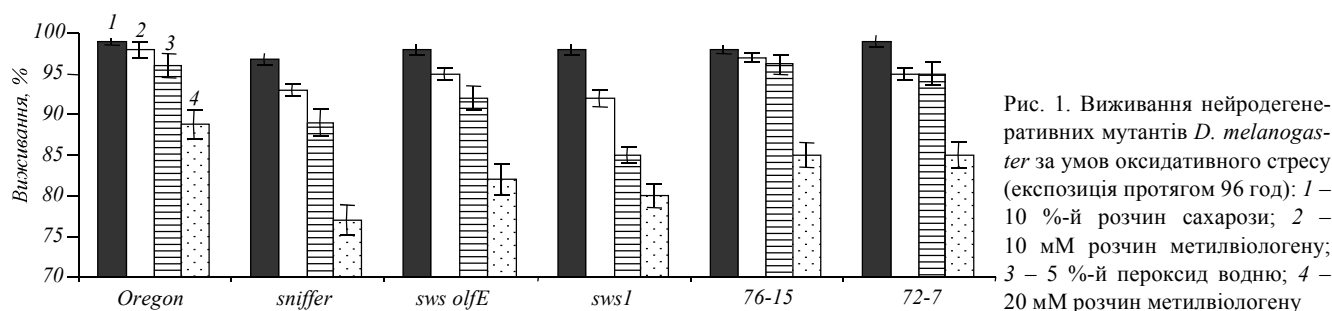


Рис. 1. Вживання нейродегенеративних мутантів *D. melanogaster* за умов оксидативного стресу (експозиція протягом 96 год): 1 – 10 %-й розчин сахарози; 2 – 10 мМ розчин метилвіологену; 3 – 5 %-й пероксид водню; 4 – 20 мМ розчин метилвіологену

у дослідженнях використано сполуки, здатні індукувати ОС, а саме – пероксид водню та метилвіологен. Метилвіологен – 1,1-диметил-4,4-біпіридиндихлорид – гербіцид, що спричиняє виснаження НАДФН і загальне надмірне продукування АФК. Механізм токсичності метилвіологену включає утворення пероксидного аніона та гідроксильного радикала, а також високий рівень окиснення НАДФН у клітинах.

На даний час існує низка нейродегенеративних мутантів *Drosophila*, які характеризуються надмірною чутливістю до умов ОС. Мутанти лінії sniffer мають вкорочену тривалість життя та піддаються нейродегенерації за умов гіпероксії [13]. Білок Sniffer є НАДФ(Н)-залежною карбонілредуктазою, що належить до родини ферментів коротколанцюгових дегідрогеназ/редуктаз, відповідальних за перетворення великої кількості біологічних та ксенобіотичних карбонільних сполук [19].

Вживання за умов ОС у мутантних ліній *D. melanogaster* знижується за дії всіх застосованих прооксидантів (рис. 1). Вживання особин лінії дикого типу Oregon з використанням 5 %-го H₂O₂ та 10 мМ метилвіологену становить 98 та 96 % відпо відно, а за дії 20 мМ розчину метилвіологену – 89 %, тобто зі збільшенням концентрації прооксиданта зростає чутливість до ОС. Таку ж закономірність спостерігали при аналізі вживання нейродегенеративних ліній *D. melanogaster*. У мутантів *sws¹* та *sws^{olfE}* виявлено високу чутливість до ОС, створеного всіма діючими речовинами порівняно з особинами цих ліній при утриманні їх на середовищі з розчином сахарози. Лінія sniffer характеризується надчутливістю до високих концентрацій метилвіологену, що пояснюється механізмом впливу даної речовини (рис. 1).

Оскільки встановлено негативну дію прооксидантів на вживання мутантів, було вирішено пе-

ревірити, як оксидативні умови впливають на показники тривалості життя досліджуваних ліній коммах. Порівняльний аналіз кривих вживання ліній дикого типу та нейродегенеративних мутантів за умов ОС показав зниження тривалості життя мух. За дії 5 %-го розчину пероксиду водню у лінії Oregon показник S₇₅ зменшується на 29 %, S₅₀ – на 53 %, а S_{max} – на 59 %; за дії 10 мМ розчину метилвіологену на кривих вживання мутантних ліній коммах не визначено плато, активне відмирання особин починається вже з 4-го дня імаго, що свідчить про відсутність періоду активної життєздатності (рис. 2).

Серед продуктів пероксидного окиснення ліпідів, який має важливе значення для кількісного визначення стану процесів ПОЛ, є МДА – проміжний продукт окиснення ліпідів, що утворюється внаслідок вільнорадикальної атаки і подальшого окиснення гідропероксидів. Він утворює кольоровий комплекс з ТБК, що реєструється спектрофотометрично. Саме за кількістю утвореного МДА визначають швидкість пероксидного окиснення в тканинах.

Досліджено також інтенсивність проходження реакцій ПОЛ у двох вікових категорій мух, щоб з'ясувати, чи зростає вміст продуктів окиснення у нейродегенеративних мутантів з віком. Серед особин триденного віку найвищий вміст ТБК-ПП відмічено для лінії *sws^{olfE}*. Для неї цей показник був у 2,4 разу вищим порівняно з контролем, а для ліній 76-15 і sniffer таке збільшення становило 1,5 разу. Для молодих особин всіх ліній характерним виявилось також підвищення вмісту ДК у порівнянні з контролем. Найвищий рівень утворення ДК серед мутантів триденного віку притаманний лінії sniffer, для якої цей показник був у 3,5 разу вищим, ніж у лінії дикого типу (рис. 3). Виявлено, що у всіх ліній – і контрольній, і мутантних вміст ТБК-ПП та ДК у

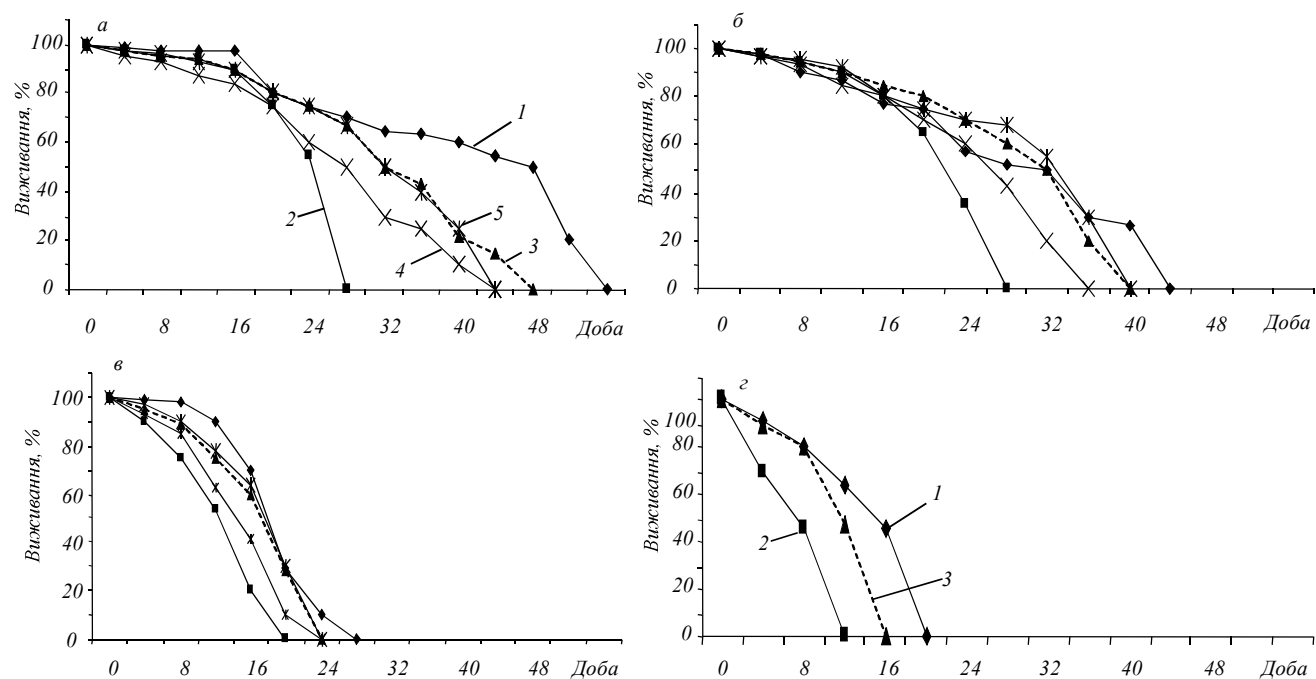


Рис. 2. Криві виживання нейродегенеративних мутантів *D. melanogaster*. а – стандартне середовище; б – 10 %-й розчин сахарози; в – 5 %-й пероксид водню; г – 10 мМ розчин метилвіологену; 1 – Oregon; 2 – sniffer; 3 – 76-15; 4 – sws; 5 – 72-7

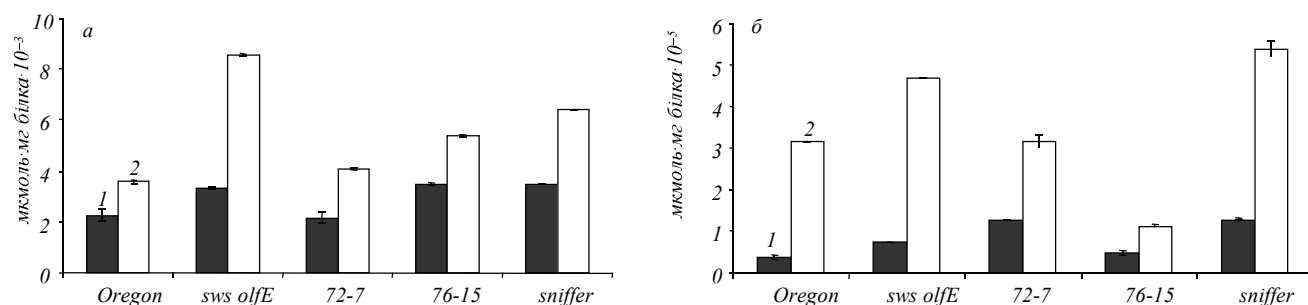


Рис. 3. Вікові зміни вмісту ТБК позитивних продуктів (а) та дієнових кон'югатів (б) у нейродегенеративних мутантів *D. melanogaster*: 1 – триденні; 2 – 21-денні особи

21-денному віці був значно вищим, ніж у молодих особин.

Відомо, що в процесі старіння організму знижується активність одного з головних ферментів антиоксидантного захисту – СОД [20]. Порівнявши її активність у дослідних ліній двох вікових категорій, ми також знайшли дану закономірність, проте лінії нейродегенеративних мутантів характеризувалися вищою, ніж у контролі, активністю ферменту у молодих мух. У 21-денних особин активність СОД різко знижувалася, але була досить високою порівняно з контролем, хоча це не рятувало мух від надмірного утворення ДК і ТБК-ПП (рис. 4).

Надалі вивчали інтенсивність проходження реакцій ПОЛ за умов ОС. Виявлено, що за дії проок-

сидантів вміст ТБК-ПП зростає у всіх досліджуваних ліній; особливо різке підвищення рівня ТБК-ПП спостерігали за дії 5 %-го розчину перексиду водню та 20 мМ розчину метилвіологену. При використанні останнього вміст ТБК-ПП зростав у всіх досліджуваних ліній порівняно з особинами на контрольному середовищі. Для лінії 72-7 це збільшення становило 6 %, для ліній Oregon та *sws^{olfE}* – 22 %, для лінії 76-15 – 29 % (рис. 5).

Високий вміст ДК спостерігали у нейродегенеративних мутантів та лінії Oregon при утриманні їх на середовищі з розчинами метилвіологену. Так, у особин лінії Oregon за дії 10 та 20 мМ метилвіологену цей показник зростав на 6 і 20 %, у лінії 72-7 – на 7 і 9 %, а у 76-15 – на 9 і 20 % відповідно. Найвищий

Fig. 1 to article by Skorokhod O. M. et al.

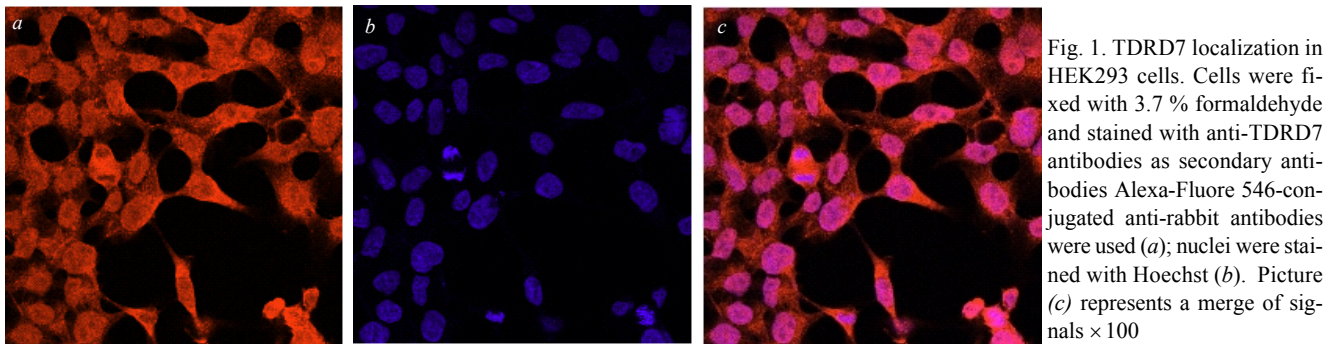


Fig. 6 to article by Mohylyak I. I. et al.

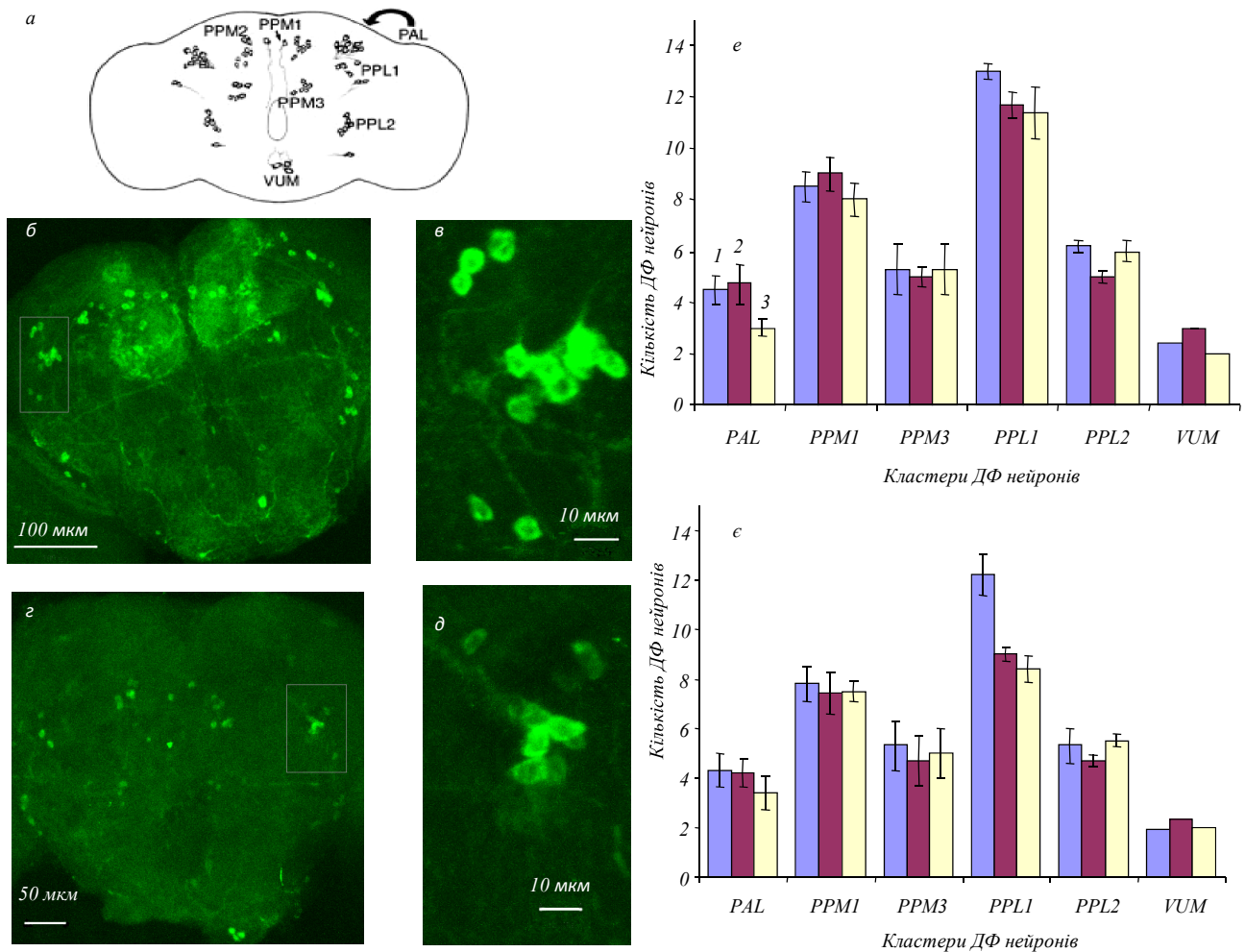


Рис. 6. Кластери дофамінергічних нейронів (ДФ) у мозку *D. melanogaster*: а – схема розміщення кластерів ДФ нейронів у мозку: PAL – protocerebral anterior lateral; PPM – protocerebral posterior medial; VUM – ventral unpaired medial; PPL – protocerebral posterior lateral [26, 27]; б–д – Z-проекція серії зображень тканини мозку 23-денних особин після імунологічної детекції антитілами anti-TH, одержаних на конфокальному мікроскопі (б – дикий тип, $\times 20$; в – дикий тип, $\times 40$; г – мутант 72-7, $\times 20$; д – мутант 72-7, $\times 40$); кількість ДФ нейронів основних кластерів головного мозку *D. melanogaster*: е – триденних; е' – 21-денних особин (1 – лінія Oregon; 2 – *sws^{olIE}*; 3 – 76-15)

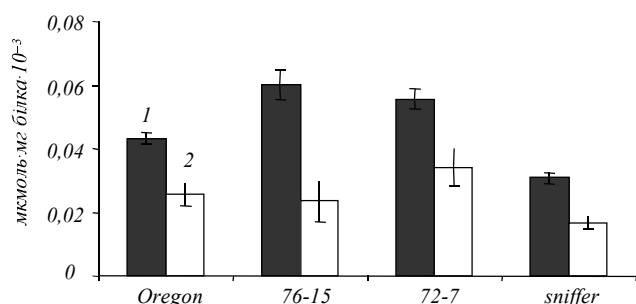


Рис. 4. Активність супероксиддисмутази у нейродегенеративних мутантів *D. melanogaster*: 1 – триденні; 2 – 21-денні особини

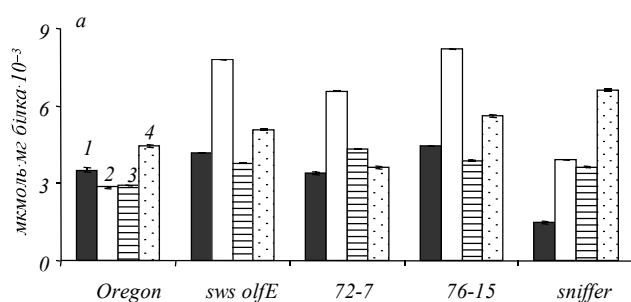


Рис. 5. Вміст ТБК-позитивних продуктів (а) та дієнових кон'югатів (б) у нейродегенеративних мутантів *D. melanogaster* за умов оксидативного стресу: 1 – 10 %-й розчин сахарози; 2 – 10 мМ розчин метилвіологену; 3 – 5 %-й H_2O_2 ; 4 – 20 мМ розчин метилвіологену

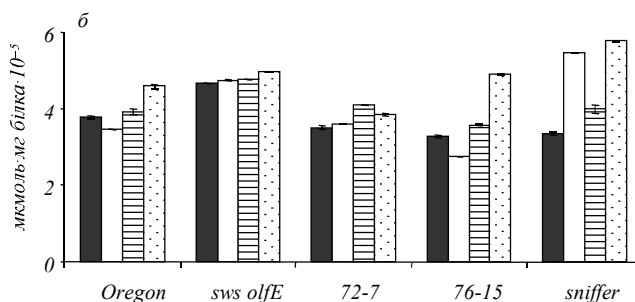
вміст ДК та ТБК-ПП відмічено для лінії *sniffer* – у неї рівень ДК з використанням 20 мМ розчину метилвіологену як прооксиданта зростає на 48 %, а ТБК-ПП – у 4,5 рази порівняно з контролем.

Відомо, що нейродегенеративні процеси у дрозофіли супроводжуються як апоптичними, так і некротичними змінами у нервових клітинах [21, 22]. Аналогічно впродовж нейродегенерації у людини апоптозу піддаються окремі нейрони, тобто відбувається вибіркова втрата нейронів у певних анатомічних структурах мозку, що зумовлює специфічність клінічних проявів кожного захворювання, або при старінні.

Деякі автори [21–23] вважають, що одними з основних патологічних механізмів, які призводять до втрати нейронів і нейродегенеративних змін, є окисні процеси та нітрозилування.

Винятково чутливими до ОС є ділянки мозку, збагачені катехоламін-, дофамін- або норадренергічними нейронами. Це пояснюється особливістю їхнього метаболізму та везикулярного транспорту. Дофамін за своєю природою є нестабільним, може безпосередньо руйнуватися вільними радикалами і окиснюватися з утворенням $O_2^{\cdot-}$ та H_2O_2 . Значна втрата дофамінергічних нейронів спостерігається у мутанта *sniffer*, хоча і цей фенотип успішно ниве-

люється надекспресією СОД [24, 25]. За допомогою імуногістохімічного фарбування проаналізовано кількість дофамінергічних нейронів у різних кластерах нейродегенеративних мутантів групи *Swiss cheese*. У лінії *sws^{olE}* та 72-7 відмічено специфічну дегенерацію дофамінергічних нейронів кластеру PPL1 (рис. 6, див. вклейку). Дегенерація саме дофамінергічних нейронів підтверджує зв'язок між оксидативним стресом та нейродегенеративними змінами в мозку мутантів даної групи.



Висновки. Прогресуюча нейродегенерація призводить до зниження життєздатності та скорочення тривалості життя у мутантів групи *Swiss cheese*. У свою чергу, як середня, так і максимальна тривалість життя різко зменшується за умов ОС, оскільки нейродегенеративні мутанти є високочутливими до дії АФК. Вміст МДА і ДК підвищується з віком, причому таке підвищення є стрімкішим в особин, у яких відбуваються дегенеративні зміни в структурі нейрональної тканини. За дії прооксидантів процеси ПОЛ інтенсифікуються і їх вже можна зафіксувати у молодих імаго. Той факт, що нейродегенеративні мутанти страждають від надмірного утворення АФК у мозку, підтверджується селективною втратою дофамінергічних нейронів, які є особливо чутливими до ОС як у комах, так і в різних тварин, а також людей.

I. I. Mohylyak, N. P. Matiytsiv, N. I. Hrunyk, Ya. I. Chernyk

Sensitivity of neurodegenerative mutants of *Drosophila melanogaster* from *Swiss cheese* group to the oxidative stress conditions

Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskoho Str., Lviv, Ukraine, 79005

Summary

Aim. To investigate sensitivity of the *D. melanogaster* neurodegenerative mutants from *Swiss cheese* group to oxidative stress (OS). **Me-**

thods. Measuring the life-span, OS resistance, level of lipid peroxidation products, and the number of dopaminergic neurons. **Results.** We have found decreased life-span, increased sensitivity to OS, increased formation of LPP and degeneration of dopaminergic neurons in brain tissue. **Conclusions.** Neurodegeneration is associated with the free radical oxidation and is accompanied by accumulation of LPP and increased sensitivity to OS.

Keywords: *drosophila*, neurodegeneration, oxidative stress.

И. И. Могиляк, Н. П. Матийцив, Н. И. Грунык, Я. И. Черник

Чувствительность нейродегенеративных мутантов

Drosophila melanogaster группы *Swiss cheese*

к условиям оксидативного стресса

Резюме

Цель. Исследовать устойчивость нейродегенеративных мутантов *D. melanogaster* группы *Swiss cheese* к условиям оксидативного стресса (ОС). **Методы.** Определение показателей продолжительности жизни, устойчивости к ОС, содержания продуктов ПОЛ и количества дофаминэргических нейронов. **Результаты.** Выявлено снижение показателей средней и максимальной продолжительности жизни, увеличенную чувствительность к ОС, интенсификацию процессов ПОЛ и дегенерацию дофаминэргических нейронов. **Выводы.** Нейродегенерация связана с процессами свободнорадикального окисления, сопровождается накоплением продуктов ПОЛ и повышением чувствительности к условиям ОС.

Ключевые слова: дрозофила, нейродегенерация, оксидативный стресс.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Fedyn A. Oxidative stress and use of antioxidants in neurology // Atmosfera. Neurological diseases.–2002.–N 1.–P. 15–18.
2. Wiseman H., Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer // Biochem. J.–1996.–**313**, Pt 1.–P. 17–29.
3. Vladimirov Y., Archakov A. Peroxidation of lipids in biological membranes.–M.: Nauka, 1972.–272 p.
4. Husyev V. Freeradical theory of aging in gerontological paradigm // The Successes of Gerontology.–2000.–N 4.–P. 25–36.
5. Dilman V. M. Four models of medicine.–M.: Medicine, 1987.–288 p.
6. Durnyev A., Seredenyn A. Mutagenesis. Screening and pharmacological prevention of exposure.–M.: Medicine, 1998.–P. 220–274.
7. Kretschmar D. Neurodegenerative mutants in *Drosophila*: a means to identify genes and mechanisms involved in human diseases? // Invert. Neurosci.–2005.–**5**, N 3–4.–P. 97–109.
8. Cauchi R. J., van den Heuvel M. The fly as a model for neurodegenerative diseases: is it worth the jump? // Neurodegener. Dis.–2006.–**3**, N 6.–P. 338–356.
9. Ivanov Y., Pohorelyuk O. Handling of medical and biological research.–M.: Medicine, 1991.–129 p.
10. Matiytsiv N. Genetic mapping of *Drosophila melanogaster* X-bound neurodegenerative mutations in // Visnyk of L'viv Univ. Biology series.–2005.– Is. 39.–P. 54–59.
11. Botella J. A., Ulschmid J. K., Gruenewald C., Moehle C., Kretschmar D., Becker K., Schneuwly S. The *Drosophila* carbonyl reductase sniffer prevents oxidative stress-induced neurodegeneration // Curr. Biol.–2004.–**14**, N 9.–P. 782–786.
12. Medvedyev N. Practical genetics.–M.: Nauka, 1966.–244 p.
13. Bilokon E. Genetical experiment in *Drosophila* investigations.–Lviv.: Vyshcha Shkola, 1979.–108 p.
14. Sharma S. K., Babitch J. A. Application of Bradford's protein assay to chick brain subcellular fractions // J. Biochem. Biophys. Methods.–1980.–**2**, N 4.–P. 247–250.
15. Jazwinski S. M. Longevity, genes, and aging // Science.–1996.–**273**, N 5271.–P. 54–59.
16. Dean R. T., Fu S., Stocker R., Davies M. J. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation // Biochem. J.–1997.–**324**, Pt 1.–P. 1–18.
17. Helfrich-Forster C. Immunohistochemistry in *Drosophila*: sections and whole mounts // Methods Mol. Biol.–2007.–**362**.–P. 533–547.
18. Mockett R. J., Bayne A. C., Sohal B. H., Sohal R. S. Biochemical assay of superoxide dismutase activity in *Drosophila* // Methods Enzymol.–2002.–**349**.–P. 287–292.
19. Sgraja T., Ulschmid J., Becker K., Schneuwly S., Klebe G., Reuter K., Heine A. Structural insights into the neuroprotective-acting carbonyl reductase Sniffer of *Drosophila melanogaster* // J. Mol. Biol.–2004.–**342**, N 5.–P. 1613–1624.
20. Lee Y. M., Misra H. P., Ayala F. J. Superoxide dismutase in *Drosophila melanogaster*: biochemical and structural characterization of allozyme variants // Proc. Natl Acad. Sci. USA.–1981.–**78**, N 11.–P. 7052–7055.
21. Fang Y. Z., Yang S., Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition // Nutrition.–2002.–**18**, N 10.–P. 872–879.
22. Mollace V., Nisticim G. Release of nitric oxide from astroglial cells: a key mechanism in neuroimmune disorders // Adv. Neuroimmunol.–1995.–**5**, N 4.–P. 421–430.
23. Vila M., Przedborski S. Genetic clues to the pathogenesis of Parkinson's disease // Nat. Med.–2004.–**10**, Suppl.–P. S58–S62.
24. Botella J. A., Bayersdorfer F., Schneuwly S. Superoxide dismutase overexpression protects dopaminergic neurons in a *Drosophila* model of Parkinson's disease // Neurobiol. Dis.–2008.–**30**, N 1.–P. 65–73.
25. Gruenewald C., Botella J. A., Bayersdorfer F., Navarro J. A., Schneuwly S. Hyperoxia-induced neurodegeneration as a tool to identify neuroprotective genes in *Drosophila melanogaster* // Free Radic. Biol. Med.–2009.–**46**, N 12.–P. 1668–1676.
26. Whitworth A. J., Theodore D. A., Greene J. C., Benes H., Wes P. D., Pallanck L. J. Increased glutathione S-transferase activity rescues dopaminergic neuron loss in a *Drosophila* model of Parkinson's disease // Proc. Natl Acad. Sci. USA.–2005.–**102**, N 22.–P. 8024–8029.
27. Cantera R., Nassel D. R. Segmental peptidergic innervation of abdominal targets in larval and adult dipteran insects revealed with an antiserum against leucokinin I // Cell. Tissue. Res.–1992.–**269**, N 3.–P. 459–471.

UDC 575.24:577.7:591.481.1

Received 25.07.11