

ГЕНЕТИКА

УДК 575.224: 577.151.6

**ЧУТЛИВІСТЬ ДО УМОВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ, ТРИВАЛІСТЬ ЖИТТЯ  
ТА НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНІ ЗМІНИ В СТРУКТУРІ МОЗКУ У МУТАНТІВ  
*DROSOPHILA MELANOGASTER* ЗА ГЕНАМИ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ**

**М. Вітушинська, Н. Матійців, Я. Черник**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: m.vitushynska@gmail.com*

У роботі простежена зміна інтенсивності проходження в організмі процесів перекисного окиснення ліпідів, життєздатності й виникнення дегенеративних змін у структурі мозку імаго *D. melanogaster*, мутантних за генами *Sod1* та *Sod2*, за стандартних умов і за умов оксидативного стресу (ОС). Всі показники свідчать про підвищену чутливість до умов ОС у мутантних мух, а фенотипові прояви залежать від генотипу та віку особин.

*Ключові слова:* дрозофіла, оксидативний стрес, супероксиддисмутаза, тривалість життя, нейродегенерація.

Оксидативний стрес (ОС) проявляється у стійкому зсуві балансу про- й антиоксидантних процесів і зумовлює різні цитотоксичні порушення. Він призводить до пошкодження найважливіших біополімерів клітини: нуклеїнових кислот, білків і ліпідів [1]. Високі концентрації активних форм кисню (АФК) і ліпідних гідропероксидів пошкоджують ДНК, впливають на поділ клітин і можуть активувати апоптоз [3]. Дослідження останніх років показують, що оксидативний стрес часто супроводжує процеси нейродегенеративних розладів у тварин і людини [15]. Його розглядають як важливий чинник патогенезу хвороб Альцгеймера і Паркінсона, аміотрофічного латерального склерозу, епілепсії та розсіяного склерозу [15]. Захист від дії АФК здійснюється ферментами (супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза), а також низькомолекулярними акцепторами кисневих радикалів (аскорбінова кислота,  $\alpha$ -токоферол,  $\beta$ -каротин, глутатіон) [8, 16]. Пусковим ферментом антиоксидантної системи захисту організму є супероксиддисмутаза (СОД) [10]. Є кілька ізоформ цього ферменту, всі вони є металоензимами і каталізують реакцію дисмутації супероксиданіона  $O_2^-$  у пероксид водню, який є менше реакційноздатним [14]. Cu/Zn СОД (кодується геном *Sod1*) – чутлива до ціаніду і міститься в ядрі, цитоплазматичному матриксі, пероксиосомах і міжмембранному просторі мітохондрій клітин еукаріот [20, 21]. Невелика фракція Cu/Zn СОД наявна також у внутрішньомембранному просторі мітохондрій [14]. Mn СОД (кодується геном *Sod2*) – ціанідрезистентна форма, локалізована в мітохондріях і матриксі хлоропластів еукаріот [20].

При дослідженні молекулярних і клітинних механізмів нейродегенерацій у живих істот моделювання на дрозофілі має низку переваг [6]. Близько 70% генів людини, причетних до виникнення нейродегенеративних захворювань, мають у дрозофілі щонайменше одного гомолога. Короткий життєвий цикл цієї комахи, велика кількість потомства, добре відома анатомічна будова нервових гангліїв і широкі можливості отримання мутантів є зручними характеристиками дрозофіли як модельного генетичного об'єкта для вивчення

безпосередньої ролі супероксиддисмутази в антиоксидантній системі захисту організму і пов'язаних із нею патологічних процесів [6].

#### Матеріали та методи

Матеріалом дослідження слугували дві мутантні лінії *D. melanogaster*: *Sod[X-39]* – характеризується зниженим синтезом Cu/Zn СОД, отримана унаслідок Р-інсерційного мутагенезу; *Sod2Δ02* – характеризується зниженим синтезом Mn СОД, отримана шляхом впливу γ-випромінювання. Контролем слугувала лінія дикого типу *Oregon R*. Дослідні лінії одержано з Bloomingthon Stock Center (США, штат Індіана). Культури утримували на стандартному середовищі за температури 25°C [22].

*Тест на стійкість до умов ОС* проводили за методикою Ландера [19]. Прооксидантами були використані 5% розчин пероксиду водню, 10 мМ і 20 мМ розчини метилвіологену; позитивним контролем слугував 10% розчин сахарози. Вибірка становила 200 самців (3-денного віку). Особин, затравлених прооксидантами, використовували для визначення вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів дієнових кон'югатів (ДК), продуктів взаємодії тіобарбітурової кислоти із малоновим діальдегідом (ТБК–ПП) та для виготовлення парафінових зрізів мозку.

*Побудова кривих виживання.* Для побудови кривих виживання 160 самців 3-денного віку розсаджували по 20 особин у пробірки на поживне середовище. Пересаджування на свіже поживне середовище та підрахунок живих мух проводили кожних два дні. Будували криві виживання, визначали показники максимальної тривалості життя (МТЖ) і середньої тривалості життя (СТЖ, показник:  $S_{75}$  – термін у днях, при якому залишилися живими 75% мух,  $S_{50}$  – термін у днях, при якому залишилися живими 50% мух,  $S_{25}$  – термін у днях, при якому залишилися живими 25% мух).

*Гістологічні зрізи мозку* виготовляли за методикою Хейзенберга. Виготовлені препарати аналізували в ультрафіолетовому світлі на мікроскопі *Laboval-3 Carl Zeiss Jena* при збільшенні 15x40.

*Приготування гомогенатів* [13]. Готували 10% гомогенат: 50 мг мух розтирали в гомогенізаторі з додаванням 0,5 мл 0,1 М тріс-НСІ гомогенатного буферу, рН=8,6. Гомогенізацію проводили в охолодженому гомогенізаторі при температурі 0–4°C. Гомогенати центрифугували при 4000 об/хв, 10 хв.

*Визначення вмісту дієнових кон'югатів* [11, 17]. Принцип методу полягає в тому, що внаслідок перекисного окиснення ліпідів на стадії утворення вільних радикалів у молекулах ненасичених жирних кислот виникає система спряжених подвійних зв'язків із появою нового максимуму поглинання при  $\lambda=233$  нм. Екстинцію визначали за допомогою спектрофотометра при довжині хвилі  $\lambda=233$  нм проти гептану.

Обчислення проводили за формулою: концентрація дієнових кон'югатів (ДК) =  $E \times V_e / e \times V \times C$  кмоль мг<sup>-1</sup>білка (де  $E$  – різниця екстинцій холостої та дослідної проб,  $e$  – молекулярний коефіцієнт екстинції, 28000 м<sup>-1</sup>см<sup>-1</sup>,  $V_e$  – кінцевий об'єм верхнього гептанового шару,  $V$  – об'єм гомогенату,  $C$  – концентрація білка).

*Визначення вмісту ТБК-позитивних продуктів* [11, 17]. Принцип методу ґрунтується на активації перекисного окиснення ліпідів іонами двовалентного феруму до рівня, який реєструється спектрофотометрично. При високій температурі в кислому середовищі малоновий діальдегід реагує з тіобарбітуровою кислотою, утворюючи забарвлений триметиновий комплекс із максимумом поглинання при  $\lambda=532$  нм. Екстинцію визначали за допомогою спектрофотометра (фіолетовий фільтр, чутливість – 1, лампа розжарювання) при довжині хвилі  $\lambda=532$  нм проти бутанолу.

Обчислення проводили за формулою [ТБК-позитивні продукти] =  $E \times V_1 \times V_2 / e \times V \times C_6$  [мкМ/мг] (де  $E$  – екстинція проби;  $V_1$  – об'єм бутанолу;  $V_2$  – об'єм лізату;  $e$  – молярний коефіцієнт екстинції,  $156000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ;  $V$  – об'єм надосадової рідини;  $C_6$  – концентрація білка в дослідній пробі).

*Статистична обробка результатів* [5]. Для статистичної обробки використовували пакет аналізу даних прикладної програми MS Excel.

Біохімічні показники представлені у вигляді  $M \pm m$ , де  $m$  – стандартна похибка середнього. Чутливість до умов оксидативного стресу визначали у відсотках виживання особин. Рівні значущості позначали “\*” для  $P \leq 0,05$ , “\*\*” для  $P \leq 0,01$ , “\*\*\*” для  $P \leq 0,001$ .

Для дослідження тривалості життя будували криві виживання, кожна точка на яких відповідає середньому значенню  $M$ . Розраховували стандартну середню похибку  $m$ . Статистичну обробку параметрів тривалості життя проводили з використанням показника “ $t$ ” (критерій Стьюдента). Відмінність між величинами вважали статистично значущою при  $P \leq 0,05$ . Рівні значущості позначали “\*” для  $P \leq 0,05$ , “\*\*” для  $P \leq 0,01$ , “\*\*\*” для  $P \leq 0,001$ .

### Результати і їхнє обговорення

Оскільки з літературних джерел відомо [3, 4, 10], що захист від дії АФК у різних організмів залежить від рівня експресії генів супероксиддисмутази, ми у своїх дослідженнях використали делеційних мутантів *D. melanogaster* за генами *Sod1* та *Sod2*, а саме лінії *Sod[X-39]* та *Sod2Δ02*. ОС індукували розчинами пероксиду водню та метилвіологену. Отримані результати показали, що виживання за умов оксидативного стресу лінії дикого типу *Oregon* і мутантних ліній знижується за дії всіх використаних прооксидантів: 5% розчину пероксиду водню, 10 мМ та 20 мМ розчинів метилвіологену (рис. 1).

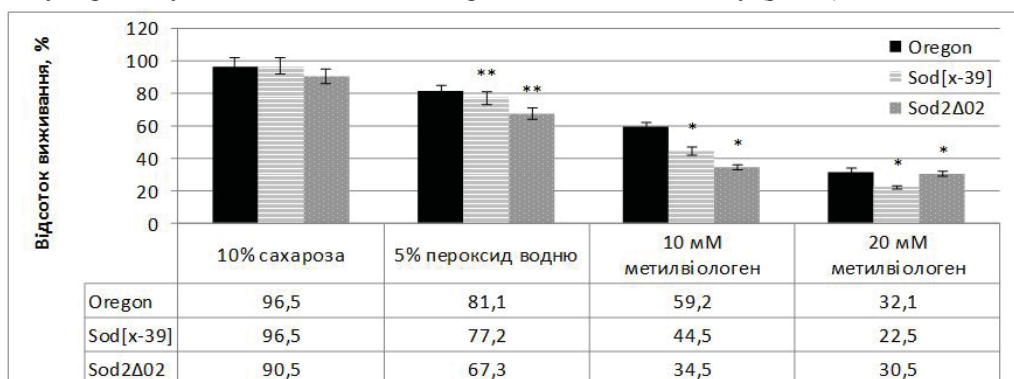


Рис. 1. Виживання ліній *D. melanogaster* за умов оксидативного стресу. Розраховували виживання дослідних особин у %; \*\* – різниця при рівні значущості  $P \leq 0,01$ ; \* –  $P \leq 0,05$ , розрахована на основі критерію Стьюдента.

Виживання особин лінії дикого типу *Oregon* за дії 5% пероксиду водню та 10 мМ метилвіологену становило 81,10% та 59,20% відповідно, а за умов оксидативного стресу, зумовленого 20 мМ розчином метилвіологену, – 32,10%. Таким чином, зі збільшенням концентрації прооксиданта зростала чутливість до умов оксидативного стресу. Таку ж закономірність спостерігали у разі аналізу виживання мутантних ліній *D. melanogaster*. Усі мутанти виявилися високочутливими до дії прооксидантів (рис. 1). У мух досліджуваних ліній за дії прооксидантів відсоток виживання різко знижувався порівняно з особинами, яких утримували на середовищі з 10% розчином сахарози, що слугував позитивним контролем. У лінії *Sod2Δ02* на середовищах з 10 мМ і 20 мМ розчинами метилвіологену виживало

тільки 34,50% і 30,50% мух відповідно. Для особин лінії *Sod[X-39]* цей показник становив 44,50% за дії 10 мМ метилвіологену та лише 22,5% у разі 20 мМ метилвіологену (рівень значущості різниці становив  $P \leq 0,05$ , розрахований на основі критерію Стьюдента).

Оскільки мутації в генах *Sod1* та *Sod2* негативно впливали на виживання мутантів *D. melanogaster*, ми вирішили з'ясувати, як впливатимуть створені умови на показники тривалості життя досліджуваних ліній. Результати досліджень представлені в табл. 1 та на рис. 2–4.

Таблиця 1

Тривалість життя ліній *D. melanogaster* у нормі та за дії прооксидантів

Середовище культивування	Лінія	СТЖ, доби			МТЖ, доби
		S <sub>75</sub> M±m	S <sub>50</sub> M±m	S <sub>25</sub> M±m	
Стандартне середовище	<i>Oregon</i>	23,9±0,01	35,8±0,01	42,5±0,03	56,0±0,02
	<i>Sod[X-39]</i>	20,6±0,03 *	28,3±0,02 *	29,0±0,04 *	33,0±0,03 *
	<i>Sod2Δ02</i>	11,4±0,01 *	12,0±0,04 *	18,0±0,01 *	30,0±0,02 *
10% розчин сахарози	<i>Oregon</i>	24,3±0,03	33,0±0,02	35,2±0,01	42,0±0,02
	<i>Sod[X-39]</i>	14,7±0,02 *	15,6±0,02 *	16,9±0,02 *	24,00±0,03 *
	<i>Sod2Δ02</i>	13,6±0,02 *	13,9±0,01 *	14,7±0,02 *	21,0±0,021 *
5% розчин пероксиду водню	<i>Oregon</i>	13,0±0,12	16,0±0,02	21,8±0,21	27,0±0,03
	<i>Sod[X-39]</i>	7,6±0,02 *	8,9±0,02 *	11,3±0,02*	15,0±0,02 *
	<i>Sod2Δ02</i>	7,2±0,02 *	8,0±0,02 *	8,7±0,02 *	12,0±0,02 *
10 мМ розчин метилвіологену	<i>Oregon</i>	6,8±0,02	7,4±0,60	7,6±0,12	15,0±0,50
	<i>Sod[X-39]</i>	5,7±0,12 *	6,2±0,41 *	9,5±0,17 *	12,0±0,01 *
	<i>Sod2Δ02</i>	4,9±0,01 *	5,7±0,23 *	5,9±0,19 *	9,0±0,02 *
20 мМ розчин метилвіологену	<i>Oregon</i>	7,2±0,19	7,8±0,21	8,2±0,21	12,0±0,24
	<i>Sod[X-39]</i>	5,8±0,21 *	6,4±0,23 *	7,3±0,19 *	9,0±0,23 *
	<i>Sod2Δ02</i>	4,6±0,24 *	5,1±0,32 *	6,3±0,22 *	9,0±0, 21 *

Примітка. Різниця при рівні значущості \* –  $P \leq 0,05$ .

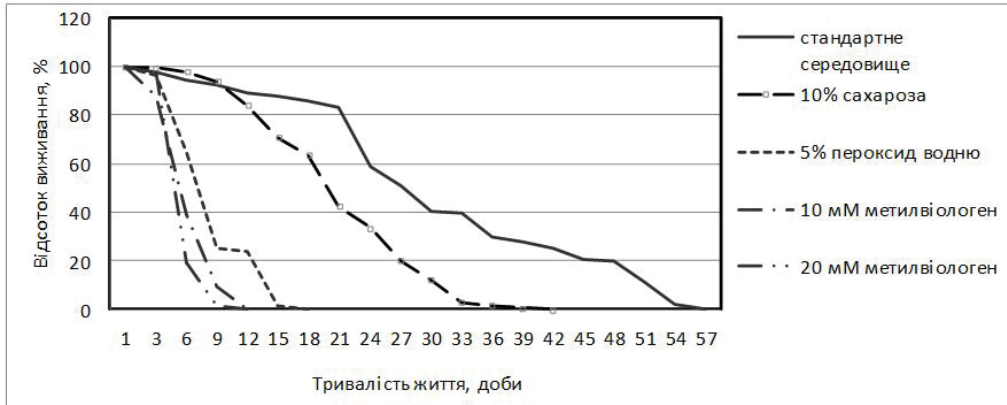
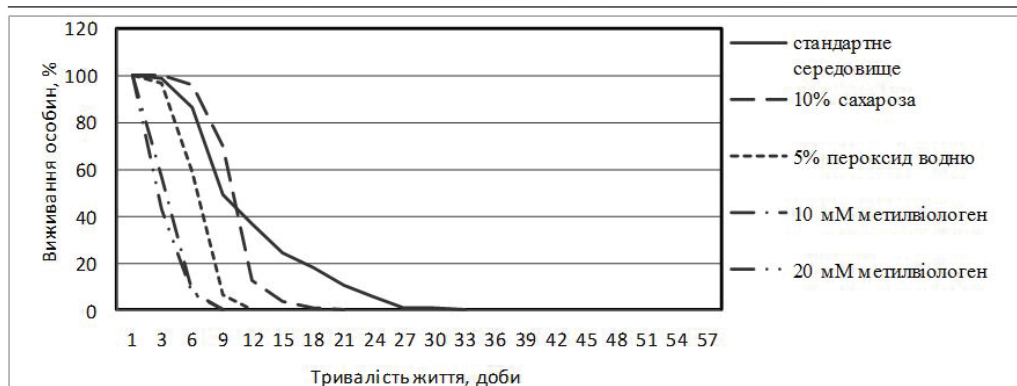
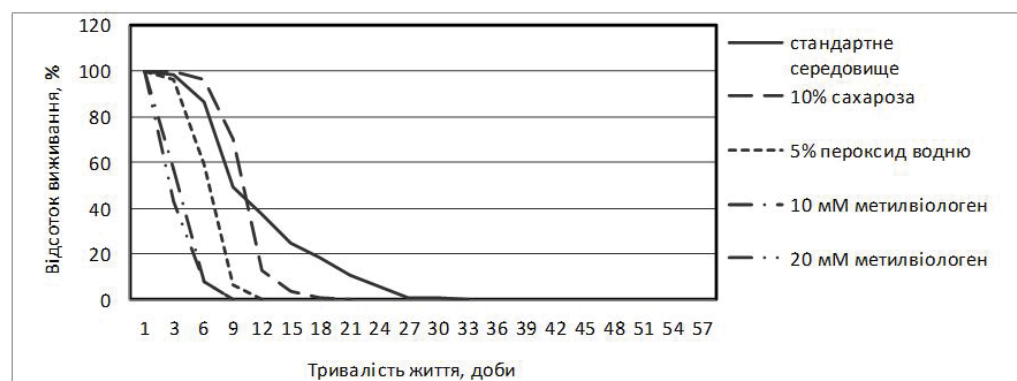


Рис. 2. Криві виживання лінії дикої типу *Oregon D. melanogaster* у нормі та за дії прооксидантів.

Як видно з представлених результатів (табл. 1, рис. 2), особини лінії *Oregon* характеризувалися такими показниками: максимальна тривалість життя становила 56,0±0,02 днів, показники середньої тривалості життя: S<sub>75</sub> – 23,9±0,01 днів, S<sub>50</sub> – 35,8±0,01 днів, S<sub>25</sub> – 42,5±0,03 днів. Мутантні лінії мали знижені параметри тривалості життя порівняно з лінією дикої типу *Oregon*. У лінії *Sod[X-39]* МТЖ становила 33,0±0,03 днів, а СТЖ: S<sub>75</sub> – 20,6±0,03 днів, S<sub>50</sub> – 28,3±0,02 днів, S<sub>25</sub> – 29,0±0,04 днів. Найнижчими параметрами як СТЖ (S<sub>75</sub> – 11,4±0,01 днів, S<sub>50</sub> – 12,0±0,04 днів, S<sub>25</sub> – 18,0±0,01 днів), так і МТЖ (30,0±0,02 днів) характеризувалася лінія *Sod2Δ02* (рис. 2–4).

Рис. 3. Криві виживання лінії *Sod[X-39] D. melanogaster* у нормі та за дії прооксидантів.Рис. 4. Криві виживання лінії *Sod2Δ02 D. melanogaster* у нормі та за дії прооксидантів.

У разі культивування дрозофіли ліній *Oregon*, *Sod[X-39]* та *Sod2Δ02* на середовищі з 10% розчином сахарози, який слугував позитивним контролем, відбувалося незначне зниження параметрів тривалості життя, порівняно з мухами, які утримувались на стандартному середовищі (табл. 1, рис. 2–4).

Використані нами прооксиданти (5% розчин перексиду водню, 10 мМ і 20 мМ розчини метилвіологену), які індують ОС в організмі, виявили чіткий негативний ефект на тривалість життя досліджуваних ліній дрозофіли.

За дії 5% розчину перексиду водню відбувалося зменшення тривалості життя у всіх досліджуваних ліній (табл. 1, рис. 2–4). Для лінії *Oregon* показники середньої тривалості життя були:  $S_{75}$  –  $13,00 \pm 0,12$  днів,  $S_{50}$  –  $16,0 \pm 0,02$  днів,  $S_{25}$  –  $21,8 \pm 0,21$  днів, МТЖ –  $27,00 \pm 0,03$  днів. Усі вони були достовірно нижчими від отриманих у разі аналізу тривалості життя особин лінії *Oregon*, утримуваних на стандартному середовищі – на 54,3, 44,6, 49,4 і 48,2% відповідно. Для особин лінії *Sod2Δ02* показники тривалості життя були найнижчими: МТЖ –  $12,0 \pm 0,02$  днів,  $S_{50}$  –  $8,0 \pm 0,02$  днів. Щодо лінії *Sod[X-39]*, то МТЖ у неї становила  $15,0 \pm 0,02$  днів, а  $S_{50}$  –  $8,9 \pm 0,02$  днів.

За дії 10 мМ розчину метилвіологену спостерігалось різке зниження показників тривалості життя мух (табл. 1, рис. 2–4). У лінії *Sod2Δ02* МТЖ досягала тільки  $9,0 \pm 0,02$  днів, а у *Sod[X-39]* –  $12,0 \pm 0,01$  днів.

За дії 20 мМ розчину метилвіологену відбувалося різке відмирання особин як лінії дикого типу, так і мутантних ліній (табл. 1, рис. 2–4). Максимальна тривалість життя лінії

*Oregon* становила тільки  $12,0 \pm 0,24$  днів (на стандартному середовищі  $56,0 \pm 0,02$  днів), для ліній *Sod[X-39]* та *Sod2Δ02* цей показник становив  $9,0 \pm 0,02$  днів. На кривих виживання ми бачимо відсутність плато, що свідчить про низьку життєздатність особин (рис. 3, 4).

Отже, порівняльний аналіз кривих виживання показав, що як мутантні лінії, так і контрольна лінія дикого типу характеризувалися достовірно скороченими показниками тривалості життя за умов ОС, індукованого прооксидантами.

Із літератури відомо [2, 4, 9], що негативним наслідком ОС є перекисне окиснення ліпідів, головним маркером якого є ДК – молекули з двома спряженими подвійними зв'язками. Вони з'являються на стадії утворення вільних радикалів, тому їх наявність у продуктах окиснення підтверджує вільнорадикальний механізм перекисного окиснення ненасичених жирних кислот. Ми дослідили вміст цих продуктів у 3-денних особин і за дії на них пероксиду водню.

У всіх досліджуваних ліній *D. melanogaster* спостерігалось зростання вмісту ДК (табл. 2). Найсуттєвішим зростанням характеризувалася лінія *Sod2Δ02*, для якої цей показник зріс до  $5,214 \pm 0,033$  (у 3-денних особин  $1,023 \pm 0,004$ ).

Таблиця 2

Вміст ДК в контролі та за дії 5% пероксиду водню у ліній *D. melanogaster*

Лінія	3-денні M±m	8-денні за дії 5% пероксиду водню M±m
<i>Oregon</i>	$0,379 \pm 0,002$	$3,569 \pm 0,021$ *
<i>Sod[X-39]</i>	$0,961 \pm 0,001$	$4,987 \pm 0,003$ *
<i>Sod 2Δ02</i>	$1,023 \pm 0,004$	$8,564 \pm 0,004$ *

**Примітка.** \* – рівень значущості різниці становив  $P \leq 0,05$ .

Ще одним продуктом перекисного окиснення ліпідів є МДА – проміжний продукт окиснення ліпідів, який утворюється внаслідок вільнорадикальної атаки і подальшого окиснення гідрпероксидів. Він утворює кольоровий комплекс з ТБК, що реєструється спектрофотометрично при  $\lambda = 532$  нм. Саме за кількістю утвореного МДА судять про швидкість перекисного окиснення в тканинах.

Серед молодих особин 3-денного віку найвищим вмістом ТБК-ПП характеризувалася лінія *Sod2Δ02*, для якої цей показник становив  $4,125 \pm 0,02$  (контроль  $2,251 \pm 0,02$ ), для лінії *Sod[X-39]* –  $3,956 \pm 0,01$ . Виявлено, що у всіх ліній – і контрольної, і мутантних, вміст ТБК-ПП за дії прооксиданту достовірно зростав (*Sod2Δ02* –  $8,564 \pm 0,04$ , *Sod[X-39]* –  $7,251 \pm 0,02$ ). Результати представлені в табл. 3.

Оскільки відомо [2, 12, 18], що винятково чутливою до оксидативного стресу є центральна нервова система, ми виготовили і проаналізували гістологічні зрізи головного мозку особин ліній дикого типу *Oregon* та мутантів за генами *Sod*.

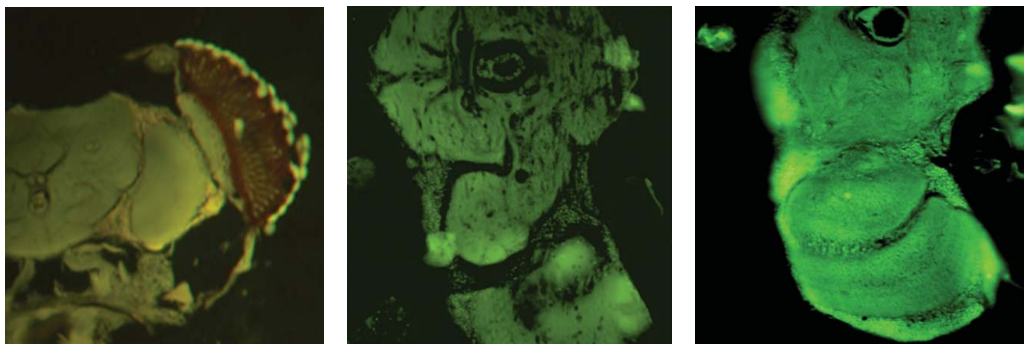
Таблиця 3

Вміст ТБК-ПП в контролі та за дії 5% пероксиду водню у ліній *D. melanogaster*

Лінія	3-денні M±m	8-денні за дії 5% пероксиду водню M±m
<i>Oregon</i>	$2,251 \pm 0,02$	$4,056 \pm 0,03$ *
<i>Sod[X-39]</i>	$3,956 \pm 0,01$	$7,251 \pm 0,02$ *
<i>Sod 2Δ02</i>	$4,125 \pm 0,02$	$8,564 \pm 0,04$ *

**Примітка.** \* – рівень значущості різниці становив  $P \leq 0,05$ .

У мутантних особин спостерігались дегенеративні зміни у тканині мозку вже у 3-денному віці імаго (рис. 5, Б, В). У 8-денних мух, які піддавалися впливу прооксиданта, нейродегенеративний фенотип був більше вираженим – збільшувалася кількість відмерлих ділянок тканини мозку та їх розмір (рис. 6, Б, В). У особин дикого типу *Oregon* такі зміни не відбувалися ні у 3-денних контрольних мух, ні за дії прооксиданта (рис. 5, А, рис. 6, А).

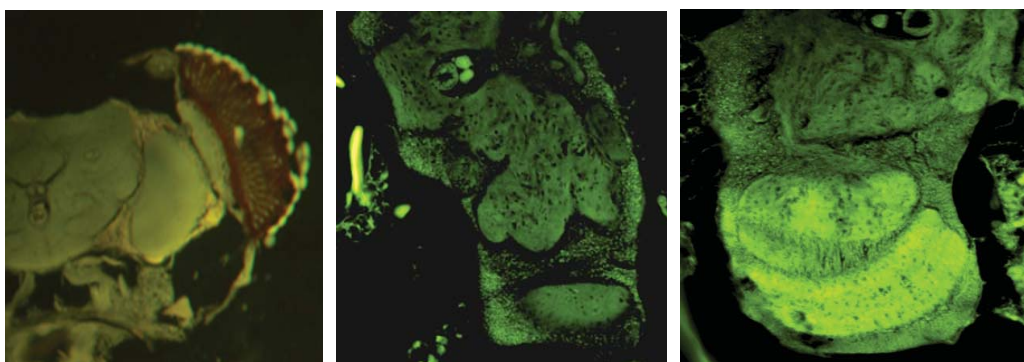


А

Б

В

Рис. 5. Зрізи головного мозку імаго ліній *D. melanogaster* у нормі: А – *Oregon*, Б – *Sod[X-39]*, В – *Sod 2Δ02*.



А

Б

В

Рис. 6. Зрізи головного мозку імаго ліній *D. melanogaster* за дії 5% пероксиду водню: А – *Oregon*, Б – *Sod[X-39]*, В – *Sod 2Δ02*.

Мутації в генах *Sod1* і *Sod2* призводять до зростання чутливості до умов ОС, скорочення тривалості життя у *D. melanogaster* і спричиняють дегенеративні зміни мозку особин дрозофіли вже у молодому віці. За дії усіх використаних прооксидантів спостерігався більш виражений нейродегенеративний фенотип.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Анисимов В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. М.: Наука, 2003. 468 с.
2. Болдырев А. А. Окислительный стресс и мозг // Сорос. образов. журнал. 2001. Т. 7. № 4. С. 21–25.
3. Владимиров Ю. А., Азизова О. А., Деев А. И. и др. Свободные радикалы в живых системах // Итоги науки и техники. Сер. биофизика. 1991. Т. 29. С. 3–250.

4. Владимиров Ю. А., Арчаков А. В. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 272 с.
5. Деркач М. П. Курс варіаційної статистики. К.: Вища школа, 1997. 207 с.
6. Дильман В. М. Четыре модели медицины. Л.: Медицина, 1987. С. 66–140.
7. Крутько В. Н. Старение: механизмы и пути преодоления. М.: БлокИнформсервис, 1997. 143 с.
8. Круглякова К. Е., Шишкіна Л. Н. Общие представления о механизме действия антиоксидантов // Сб. научн. статей: Исследование синтетических и природных антиоксидантов *in vitro* и *in vivo*. М.: Наука, 1992. С. 5–8.
9. Могіляк І. І., Матійців Н. П., Грунік Н. І, Черник Я. І. Чутливість нейродегенеративних мутантів *Drosophila melanogaster* групи *Swiss sheese* до умов оксидативного стресу. Біополімери і клітина. 2012. Т. 27. № 6. С. 453–458.
10. Федін А. І. Оксидантний стресс и применение антиоксидантов в неврологии // Атмосфера. Нервные болезни. 2002. № 1. С. 15–18.
11. Чевари С., Андял Т., Штиренгер Д. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в преклонном возрасте // Лаб. дело. 1991. № 10. С. 9–13.
12. Andersen J. K. Oxidative stress in neurodegeneration: Cause or consequence? // J. Nat. Med. 2004. Vol. 10. P. 18–25.
13. Bilokon E. Genetical experiment in *Drosophila* investigations. Lviv: Vyscha Shola, 1979. P. 108.
14. Chang L.-Y.; Slot J. W.; Geuze H. J.; Crapo J. D. Molecular immunocytochemistry of the CuZn superoxide dismutase in rat hepatocytes // J. Cell Biol. 1988. Vol. 107. P. 2169–2179.
15. Castellani R. J., Harris P. L., Sayre L. M. et al. Active glycation in neurofibrillary pathology of Alzheimer disease: N(epsilon)-(carboxymethyl) lysine and hexitol-lysine // Free Radical Biol. Med. 2001. Vol. 31. P. 175–180.
16. Durnyev A., Seredenyn A. Mutagenes. Screening and pharmacological prevention of exposure. M.: Medicine, 1998. P. 220–274.
17. Jazwinski S. M. Longevity, genes, and aging // Sci. 1996. Vol. 273. N 5271. P. 54–59.
18. Kretzschmar D. Neurodegenerative mutants in *Drosophila*: a means to identify genes and mechanisms involved in human diseases? // Invertebrate Neuroscience. 2005. Vol.5. P. 97–109.
19. Sharma S. K., Babitch J. A. Application of Bradford's protein assay to chick brain subcellular fractions // J. Biochem. Biophys. Methods. 1980. Vol. 2. N 4. P. 247–250.
20. Wan X. S., Devalaraja M. N., St. Clair D. K. Molecular structure and organization of the human manganese superoxide dismutase gene // DNA Cell Biol. 1994. Vol. 13. P. 1127–1136.
21. Lu Miao, Daret K. Regulation of Superoxide Dismutase Genes // J. Free Radic Biol. Med. 2009. N 4. P. 344–356.
22. Medvedyev N. Practical genetics. M.: Nauka, 1966. 244 p.

Стаття: надійшла до редакції 20.02.13

доопрацьована 26.03.13

прийнята до друку 09.04.13



**SENSITIVITY TO THE OXIDATIVE STRESS CONDITIONS LIFESPAN AND  
NEURODEGENERATIVE CHANGES IN THE BRAIN STRUCTURE  
OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* SUPEROXIDDISMUTASE MUTANTS**

**M. Vitushinska, N. Matiytsiv, Ya. Chernik**

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: m.vitushynska@gmail.com*

Have been traced the change in intensity of lipid peroxidation, viability and degenerative changes in the brain structure of adult *D. melanogaster Sod1* and *Sod2* mutants under standard conditions and under conditions of oxidative stress (OS). All the results indicate an increased sensitivity of mutant flies to OS conditions, and phenotype manifestations depend on the genotype and age of individuals.

*Keywords: Drosophila, oxidative stress, superoxidizedismutase, life span, neurodegeneration.*

**ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К УСЛОВИЯМ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА,  
ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ И НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫЕ  
ИЗМЕНЕНИЯ В СТРУКТУРЕ МОЗГА МУТАНТОВ  
*DROSOPHILA MELANOGASTER* ПО ГЕНАМ СУПЕРОКСИДИСМУТАЗЫ**

**М. Витушинская, Н. Матийцев, Я. Черник**

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина  
e-mail: m.vitushynska@gmail.com*

В работе прослежено изменение интенсивности прохождения в организме процессов перекисного окисления липидов, жизнеспособности и возникновения дегенеративных изменений в структуре мозга имаго *D. melanogaster* мутантных по генам *Sod1* и *Sod2* при стандартных условиях и в условиях оксидативного стресса (ОС). Все показатели свидетельствуют о повышенной чувствительности к условиям ОС у мутантных мух, а фенотипические проявления зависят от генотипа и возраста особей.

*Ключевые слова: дрозофила, оксидативный стресс, супероксиддисмутаза, продолжительность жизни, нейродегенерация.*