

22. Борисова Е.В., Бондаренко В.М., Борисов В.А. Иммуносупрессивное действие различных фракций липополисахарида *Salmonella typhimurium* // Журн. микробиол. - 1997. - № 5. - С. 120-123.
23. Моложжава О.С., Шиліна Ю.В. Фітотоксичність модифікованих ліполісахаридів бактерій // Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія. – 2007. – Вип. 2 (11). – С. 76-82.
24. <http://fr.wikipedia.org>
25. Ran H., Hassett D.J., Lau G.W. Human targets of *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2003. – Vol. 100, N 24. – P. 14315–14320.
26. Sorensen R.U., Klinger J.D., Cash H.A., Chase P.A., Dearborn D.G. In vitro inhibition of lymphocyte proliferation by *Pseudomonas aeruginosa* phenazine pigments. // Infect. Immun. - 1983. – 41. – P. 321-330.
27. Mavrodi, D.V., Bonsall R.F., Delaney S.M., Soule M. J., Phillips G., Thomashow L.S. Functional analysis of genes for biosynthesis of pyocyanin and phenazine-1-carboxamide from *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 // J. Bacteriol. - 2001. – 183. – P. 6454–6465.

Резюме.

В огляді розглянуто механізми експресії факторів патогенності з точки зору адаптивної відповіді бактерій та роль SOS-системи репарації в цих процесах. В якості прикладів наведені механізми експресії таких факторів вірулентності, як пектинліаза, ліпополісахарид та піоціанін.

В обзоре рассмотрены механизмы экспрессии факторов патогенности с точки зрения адаптивного ответа бактерий и роль SOS-системы репарации в этих процессах. В качестве примеров приведены механизмы экспрессии таких факторов вирулентности, как пектинлиаза, липополисахарид и пиоцианин.

The mechanisms of pathogenicity factors expression are considered from the point of view the adaptive answer of bacteria and role of SOS-repair system in these processes. For examples the mechanisms of expression of such factors of virulence, as pectinlyase, lipopolysaccharide and pyocyanine are examined.

**ЩЕРБАКОВА О.В., МОГИЛЯК І.І., МАТІЙЦІВ Н.П., МАКСИМІВ Д.В.,
ЧЕРНИК Я.І.**

Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна e-mail: oksana_kysla@yahoo.com

ЗМІНИ У ТКАНИНІ МОЗКУ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНОГО МУТАНТА 4.14 DROSOPHILA MELANOGASTER В НОРМІ ТА ЗА УМОВ ГІПЕРОКСІЇ

На даний час відомо багато захворювань нервової системи людини, які пов'язані з ураженням структур головного мозку. Існує чимало гіпотез щодо виникнення кожного конкретного захворювання, однак жодна з них остаточно не пояснює ні етіології, ні патогенезу розвитку нейродегенерації. Подібні процеси описані в багатьох тварин. Дослідження на модельних об'єктах, таких як *Drosophila melanogaster*, дають можливість виявити генетичні і молекулярні механізми виникнення дегенерацій, а також сприяють пошуку фармакологічних засобів, спрямованих на усунення причин їх розвитку. Метою роботи було дослідити вплив гіпероксії на розвиток і природу нейродегенеративних процесів у мутанта з ураженням тканини мозку 4.14. *D.melanogaster*.

Матеріали та методи.

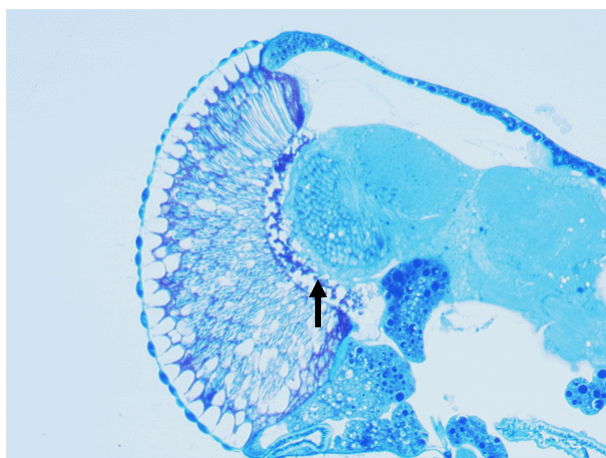
В роботі були використані лінії нейродегенеративних мутантів, отримані індукцією етилметансульфонатом; делеційні лінії з Bloomington Stock Center (США): 3340 Df (3R) e-R1 Ki [1] / TM3 Sb [1] Ser [1] 093B06-07, 093D02; 1931 Df (3R) by 10 red [1] e [1] / TM3 Sb [1] Ser [1] 085D08-12, 085E07-F014; 3013 Df (3R) e-BS2 rsd [1] / TM3 Sb [1] 093C03-06, 093F14-094A01; 3011 Df (3R) Cha7 red [1] / TM6B Tb [1] 090F01-F04, 091F05; музейна лінія *loechrig*; контролем слугувала лінія дикого типу *Oregon*.

Гістологічні препарати зрізів головного мозку для світлової та електронної мікроскопії готували за стандартною методикою [2]. Фарбування тканини мозку антитілами проводили згідно протоколів [7].

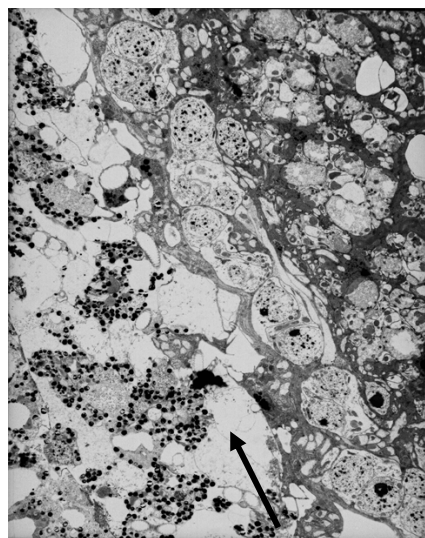
Результати та обговорення.

Оксидативний стрес є однією з причин виникнення дегенеративних процесів [4], тому колекцію нейродегенеративних мутантів тестували на стійкість до високих концентрацій кисню (гіпероксії). Більшість мутантних ліній в умовах гіпероксії показували подібні з контролем показники виживання. Після виготовлення гістологічних препаратів серед досліджуваних мутантів, у яких проявлялася слабка дегенерація мозку, було виявлено лінію 4.14. зі значними змінами в структурі мозкової тканини. За нормальних умов перші ознаки дегенерації у мутантів 4.14. з'являлися після 20 дня життя імаго і найбільш значна вакуолізація спостерілася у центральних ділянках мозку. Показники кривих виживання даних мутантів до 40 дня залишалися на рівні контролю, проте після 45 дня всі особини даної лінії гинули (контрольні особини гинули після 70 днів життя). В умовах гіпероксії мутант прожив 6 днів, а на 4-5 день виявлялися пошкодження всієї тканини мозку (окремі вакуолі), значна дегенерація в кортексі ламіни – «розбухання» нейронів та глії (що є ознакою некрозу), а також дегенерація клітин субретинальної глії (Рис.1). Зовні морфологія ока мутантів 4.14 виглядала нормальною, проте при аналізі зрізів ока мух після гіпероксії при світловій та електронній мікроскопії виявляли значну вакуолізацію ретини, дегенерацію рецепторних клітин, порушення в будові пігментних клітин.

Для виявлення причин нейродегенерацій проводили фарбування тканини мозку антитілами. Фарбування антитілами 24B10 показало часткове відмирання фоторецепторних аксонів R7-R8, антитілами anti-elav - зменшення кількості нейронів в ділянці ламіни. Використання антитіл до активної каспази 3 виявило її присутність у клітинах кортексу ламіни та центральної частини мозку, що свідчило про проходження апоптичних процесів.



А



Б

Рис.1 Фенотиповий прояв тканини мозку в районі оптичних долей мутанта 4.14 після гіпероксії. Дегенерація клітин субретинальної глії (вказано стрілкою). А. Світлова мікроскопія (18x40). Б. Електронна мікроскопія (x1600)

З літератури [1] відомо, що одними з мішеней дії кисневих радикалів є ліпіди. Відбувається їх пероксидація, ушкодження мембран та апоптоз. Оскільки ліпіди беруть участь у побудові цитоскелету, мембран, а також в рецептор-опосередкованій передачі сигналів зміна їх кількості та перерозподіл компонентів може бути причиною виникнення дегенеративних процесів. За допомогою методу тонкошарової хроматографії в особин лінії 4.14. дослідили вміст різних фракцій ліпідів. Виявили зниження рівнів ергостеролу та фосфатидилінозиту порівняно з контролем за нормальних умов та зниження вмісту всіх фракцій фосфоліпідів і стеролів після гіпероксії (Рис.2).

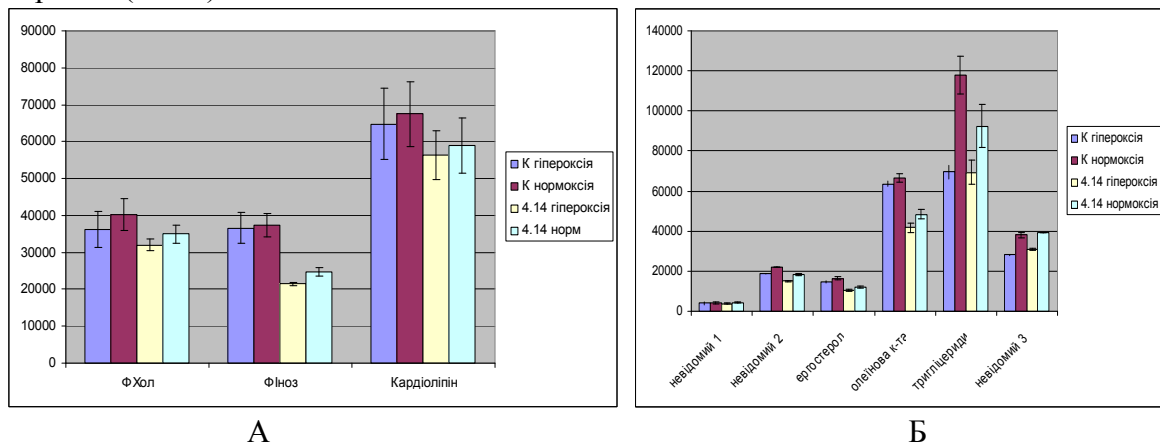


Рис.2. Вміст ліпідів в К – контрольна лінія, М – мутанти 4.14. А. Фосфоліпіди, Б. Стероли

Використовуючи лінії з делеціями в ділянках хромосоми, де локалізовані відомі нейродегенеративні мутанти, досліджувана мутація лінії 4.14. була картована в цитологічному районі 93C3-F14 третьої хромосоми. У цьому ж районі в положенні 93C1-93C3 групою авторів [6] була локалізована нейродегенеративна мутація *loechrig* (*loe*). Автори вказують, що основною причиною появи дегенеративних змін у даного мутанта є порушення метаболізму холестеролу, що узгоджується з одержаними нами результатами по дослідженню спектру ліпідів у мутанта 4.14. Однак, поява мутантного фенотипу в особин лінії *loe* спостерігалася на 7-й день життя імаго, в той час як у особин лінії 4.14 – на 20-й день. За умов гіпероксії у мутантів *loe* посилювалася вакуолізація тканини мозку, але не виявлялася дегенерація в кортексі ламіни, характерна для лінії 4.14. Можна припустити, що досліджувана мутація лінії 4.14. призвела до появи нового алеля *loe*, або виникла в іншому гені даного цитологічного району. Для підтвердження цього припущення проводяться молекулярні дослідження.

Таким чином, показано, що в умовах гіпероксії у нейродегенеративного мутанта 4.14. відбувається дегенерація в кортексі ламіни та субретинальній глії. Імуногістохімічні дослідження виявили відмирання фоторецепторних аксонів R7-R8 та зменшення кількості нейронів в ділянці ламіни. Порушення метаболізму ліпідів у даного мутанта може бути причиною появи нейродегенерацій.

Література

1. Adibhatla R.M., Hatcher J.F. Role of lipids in brain injury and diseases // *Future Lipidol.* – 2007. – V.2(4). – P.403-422.
2. Ashburner M. *Drosophila: a laboratory manual* // Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory. – 1989. – P. 179-189.
3. Botella J.A., Ulschmid J.K., Gruenewald C., Kretschmar D., Schneuwly S. The *Drosophila* carbonil reductase sniffer prevents oxidative stress-induced neurodegeneration // *Current Biol.* – 2004. – V.14. – P.782-786.

4. *Ischiropoulos H., Beckman J.S.* Oxidative stress and nitration in neurodegeneration: cause, effect or association? // *J. Clin. Invest.* – 2003. – V.15. – P.163-169.
5. *Kanazawa I.* How do neurons die in neurodegenerative disease? // *Trends in Mol. Med.* – 2001. – Vol.1, №8. – P.339-344.
6. *Tschaeppe J-A, Hammerschmiedl C., Muehlig-Versenl M., Athenstaedt K., Daum G., Kretschmar D.* The neurodegeneration mutant loechrig interferes with cholesterol homeostasis and Appl processing // *EMBO Jour.* – 2002. – V.21, №23. – 6367-6376.
7. *Sullivan W., Ashburner M., Hawley R.S.* *Drosophila* Protocols // Cold Spring Harbor Laboratory Press. – 2000. – 697p.

Резюме

В результаті дії ЕМС був отриманий мутант 4.14 *D.melanogaster* з дегенерацією тканини мозку, мутація локалізована в цитологічному районі 93С3-F14 третьої хромосоми. В умовах гіпероксії в цих мутантів показана дегенерація в кортексі ламіни та субретинальній глії. Фарбування антитілами виявило відмирання фоторецепторних аксонів R7-R8 та зменшення кількості нейронів в ділянці ламіни. Порушення метаболізму ліпідів у даного мутанта може бути причиною появи нейродегенерацій.

С помощью химического мутагенеза получен мутант 4.14 *D.melanogaster* с дегенерацией структур мозга; мутация локализована в цитологическом районе 93С3-F14 3-ей хромосомы. После гипероксии в мутантов 4.14. фиксировались дегенерации в кортексе ламины и субретинальной глии. Проведено иммуногистохимические исследования ткани мозга. Нарушения в метаболизме липидов в этих мутантов могут быть одной из причин развития нейродегенераций.

Using chemical mutagenesis neurodegenerative mutant 4.14 of *D.melanogaster* was obtained; mutation was localized in cytological region 93С3-F14 of the 3rd chromosome. Under hyperoxia these mutants showed severe degeneration of lamina cortex. Immunohistochemical staining showed degeneration of photoreceptor axons R7-R8 and neurons of lamina region. In this mutant, probably, lipid metabolism disturbance is one of the reasons of neurodegeneration appearance.

ЯЦЕНКО А.С.¹, КУЧЕРЕНКО М.М.¹, ЩЕРБАТА Г.Р.², РУОХОЛА-БЕЙКЕР Х.², ГОЛУБ Н.Я.¹, МАКСИМІВ Д.В.¹, ЧЕРНИК Я.І.¹

¹ *Львівський національний університет імені Івана Франка, вул.Грушевського, 4, Львів 79005, Україна e-mail: anubius81@gmail.com*

² *Department of Biochemistry, University of Washington, Box 357350, Seattle, WA 98195, USA e-mail: hannele@u.washington.edu*

ДИСТРОФІН ТА ДИСТРОГЛІКАН Є НЕОБХІДНИМИ ДЛЯ ФУНКЦІОНУВАННЯ М'ЯЗІВ ТА ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ПОЛЯРНOSTІ ФОТОРЕЦЕПТОРНИХ АКСОНІВ ГОЛОВНОГО МОЗКУ У DROSOPHILA MELANOGASTER

Дистрофін та дистроглікан є центральними компонентами, які входять до складу дистрофін-глікопротеїнового комплексу (ДГК), що забезпечує структурну роль зв'язку білків зовнішньоклітинного простору, таких як ламінін, агрін і перлекан з компонентами цитоскелету. Втрата взаємозв'язку між компонентами комплексу призводить до розвитку м'язових дистрофій¹. Розроблені і вивчені на сьогоднішній день моделі м'язової дистрофії дали змогу виявити загальні процеси патологій².