

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ КОМИ НАУЧНОГО ЦЕНТРА
УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

УДК 574.24

На правах рукописи 

Чернышова Дарья Олеговна

ВОЗРАСТ-ЗАВИСИМЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ И ПРОФИЛЬ
ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СТРЕСС-ОТВЕТА *DROSOPHILA MELANOGASTER* ПРИ
ВОЗДЕЙСТВИИ ХИМИЧЕСКИХ И ФИЗИЧЕСКИХ СТРЕСС-ФАКТОРОВ

Специальность: 03.02.08 - экология (биология)

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук, доцент
А.А. Москалев

Сыктывкар, 2017

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| СОДЕРЖАНИЕ | |
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ | 4 |
| ВВЕДЕНИЕ | 5 |
| ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ | 13 |
| 1.1 Биологическое действие и токсические свойства тетрахлордibenзо- <i>p</i> -диоксина (ТХДД)..... | 13 |
| 1.1.1 Общая характеристика и механизм токсического действия на биологические системы..... | 13 |
| 1.1.2 Влияние ТХДД на живые системы | 16 |
| 1.2. Биологическое действие и токсические свойства формальдегида | 19 |
| 1.2.1. Общая характеристика и механизм токсического действия формальдегида .. | 19 |
| 1.2.2. Влияние формальдегида на живые системы..... | 23 |
| 1.3 Биологическое действие и токсические свойства толуола..... | 26 |
| 1.3.1 Общая характеристика, механизм токсического действия толуола | 26 |
| 1.4 Биологическое действие малых доз ионизирующих излучений..... | 32 |
| ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ | 38 |
| 2.1 Линии <i>Drosophila melanogaster</i> | 38 |
| 2.2 Условия содержания <i>Drosophila melanogaster</i> | 38 |
| 2.3 Обработка экотоксикантами и ионизирующим излучением..... | 38 |
| 2.4 Анализ продолжительности жизни..... | 39 |
| 2.5 Оценка возрастной динамики плодовитости самок <i>Drosophila melanogaster</i> после изучаемых воздействий..... | 40 |
| 2.6 Оценка возрастной динамики локомоторной активности особей <i>Drosophila melanogaster</i> после изучаемых воздействий | 41 |
| 2.7 Оценка влияния изучаемых воздействий на экспрессию генов стресс-ответа методом GFP-репортеров..... | 41 |
| 2.8 Оценка влияния изучаемых воздействий на экспрессию генов стресс-ответа методом qRT-PCR анализа | 42 |
| ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ | 45 |
| 3.1 Влияние изучаемых факторов на основные показатели продолжительности жизни особей <i>Drosophila melanogaster</i> линии дикого типа <i>Canton-S</i> | 45 |
| 3.1.1 Влияние формальдегида, толуола и ТХДД на параметры продолжительности жизни особей <i>Drosophila melanogaster</i> линии дикого типа <i>Canton-S</i> | 46 |
| 3.1.2 Влияние малых доз ионизирующего излучения на параметры продолжительности жизни особей <i>Drosophila melanogaster</i> линии дикого типа <i>Canton-S</i> .. | 55 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.2 Влияние факторов химической и физической природы на плодовитость самок <i>Drosophila melanogaster</i> линии дикого типа <i>Canton-S</i> | 59 |
| 3.2.1 Влияние формальдегида, толуола и ТХДД на плодовитость самок..... | 59 |
| 3.2.2 Влияние малых доз ионизирующего излучения на плодовитость самок <i>Drosophila melanogaster</i> линии дикого типа <i>Canton-S</i> | 66 |
| 3.3 Влияние факторов химической и физической природы на спонтанную локомоторную активность особей <i>Drosophila melanogaster</i> линии дикого типа <i>Canton-S</i> .. | 70 |
| 3.3.1 Влияние толуола, формальдегида и ТХДД) на спонтанную локомоторную активность особей <i>Drosophila melanogaster</i> линии дикого типа <i>Canton-S</i> | 71 |
| 3.3.2 Влияние малых доз ионизирующего излучения на спонтанную локомоторную активность особей <i>Drosophila melanogaster</i> линии дикого типа <i>Canton-S</i> | 74 |
| 3.4 Анализ влияние факторов химической и физической природы на экспрессию генов стресс-ответа особей <i>Drosophila melanogaster</i> линии дикого типа <i>Canton-S</i> с использованием qRT-PCR метода..... | 76 |
| 3.4.1 Влияние малых доз формальдегида, толуола, ТХДД и ионизирующего излучения на экспрессию генов иммунного ответа и воспаления | 77 |
| 3.4.2 Влияние малых доз формальдегида, толуола, ТХДД и ионизирующего излучения на экспрессию генов регуляции стресс-ответа и апоптоза | 81 |
| 3.4.3 Влияние малых доз формальдегида, толуола, ТХДД и ионизирующего излучения на экспрессию генов детоксикации свободных радикалов и ксенобиотиков, генов поддержания конформации белков | 86 |
| 3.4.4 Влияние малых доз формальдегида, толуола, ТХДД и ионизирующего излучения на экспрессию генов репарации ДНК..... | 90 |
| 3.5 Анализ влияния малых доз формальдегида, толуола, ТХДД и ионизирующего излучения на экспрессию генов стресс-ответа самцов <i>Drosophila melanogaster</i> линии дикого типа <i>Canton-S</i> с использованием метода GFP-репортеров | 95 |
| 3.5.1 Влияние формальдегида, толуола и ТХДД на экспрессию генов стресс-ответа <i>Drosophila melanogaster</i> линии дикого типа <i>Canton-S</i> | 96 |
| 3.5.2 Влияние малых доз ионизирующего излучения на экспрессию генов стресс-ответа <i>Drosophila melanogaster</i> линии дикого типа <i>Canton-S</i> | 101 |
| ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ | 104 |
| ВЫВОДЫ | 116 |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | 117 |

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИИ – ионизирующее излучение

МД – малые дозы

НК – нуклеиновые кислоты

МПЖ – медианная продолжительность жизни

ОС – окружающая среда

ПЖ – продолжительность жизни

ПРФ – природный радиационный фон

ТХДД – 2, 3, 7, 8-тетрахлордibenзо-*p*-диоксин

AhR – арилгидрокарбоновый рецептор

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Одной из основных задач факториальной экологии является изучение воздействия факторов окружающей среды (ОС) на биологические системы, физиологических и морфологических адаптаций видов, популяций и отдельных организмов к этим факторам а также изучение механизмов реагирования организмов на загрязнения среды факторами химической и физической природы (включая радиоактивное загрязнение) (Васильев, 2005).

Основной причиной появления в этом разделе экологии новых задач стало развитие современного общества, неразрывно связанного с развитием промышленности и сельского хозяйства, которое, в свою очередь, обуславливает систематическое загрязнение окружающей среды. Так, за период существования цивилизации в биосферу было внесено более миллиона новых химических веществ, синтез которых интенсивно продолжается и сегодня, достигая нескольких тысяч наименований в год (Савченко, Жилиева, 2013). Таким образом, деятельность человека все сильнее определяет структуру и функцию биогенетического покрова Земли, функцию биосферы и, следовательно, становится фактором планетарного значения.

Растущее производство и использование различных химических соединений ведет за собой пагубные глобальные изменения. Некоторые токсические агенты, попадающие в окружающую среду – побочные продукты производственных процессов; другие разработаны для специфического применения и намеренно выбрасываются в окружающую среду, например, пестициды, использующиеся в агрокультуре. Несмотря на то, что целый спектр пестицидов запрещено использовать в развитых странах, их производство продолжается, и они экспортируются в развивающиеся регионы, где активно используются в сельскохозяйственной деятельности, а продукты, выращенные таким методом, отправляются в промышленно развитые страны. Таким образом, несмотря на запрет использования токсичных химических агентов, они все равно попадают в окружающую среду и в руки потребителя в том или ином виде (Galt, 2008).

Иногда большие количества токсических веществ выбрасываются в результате несчастных случаев. Различные чрезвычайные ситуации природного и антропогенного характера, нерациональное природопользование и чрезмерное энергопотребление становятся причинами аварий в различных сферах деятельности человека, что, в свою очередь, наносит ущерб не только самому человеку, но и окружающей среде (Баришполец, 2010; Акимов, Соколов, 2013а; Акимов, Соколов, 2013b; Акимов, Соколов, 2014b; Акимов, Соколов, 2014а).

На протяжении нескольких последних десятилетий быстро растет общественное понимание рисков, вызванных производством человеком различных химических агентов, особенно после публикации книги Рейчел Карсон (Rachel Carson) «Безмолвная весна» в 1962 г. В этой книге описывается то, как перед коммерческим использованием несколько химических веществ были тщательно протестированы на токсический эффект в живой природе. В последующие годы после этого наблюдались различные негативные эффекты в окружающей среде и живой природе. После этого был введен термин «химический загрязнитель окружающей среды» («environmental chemicals») (Bernanke, Köhler, 2009). Именно с этого момента началось активное изучение эффектов различных химических веществ антропогенного происхождения, тем или иным образом попадающих в окружающую среду.

В большом количестве работ показано, что химическое загрязнение ОС вызывает различные изменения на всех уровнях организации живой природы, начиная с биосферного и заканчивая молекулярным, во всех группах живых организмов, снижает биоразнообразие и влияет на экосистемы в целом (Colborn et al., 1993; Depledge, Fossi, 1994; Fry, 1995; Depledge, Billingham, 1999; Effects of chemical contaminants..., 2000; Edwards, 2002; Bernanke, Köhler, 2009; Transcriptomic underpinning of toxicant-mediated..., 2010; Effect of endocrine..., 2011; Direct and indirect responses..., 2014; Risks of large-scale use..., 2015).

Несмотря на то, что большинство работ ориентируется на изучение изменений, вызванных воздействием различных химических соединений антропогенной природы, на организменном и молекулярном уровнях есть исследования затрагивающие и популяционный уровень, так, например, показано, что воздействие химических агентов приводит к изменению активности, пищевого поведения, полового поведения и снижению плодовитости, нарушению процесса развития и снижению численности популяций во всех классах позвоночных животных (Fry, 1995; Effect of dichlorodiphenyltrichloroethane..., 1999; Quantitative evidence for global..., 2000; Organochlorine contaminants in Morelet's..., 2000; Endocrine toxicants and reproductive..., 2001; Willingham, 2001; Organochlorine concentrations in the Saimaa..., 2002; Organochlorine pesticides, PCBs..., 2003; Organochlorines affect the major..., 2003; Organochlorine concentrations in bonnethead..., 2005; Storelli et al., 2005; Fox et al., 2005; Velando, 2005; Burn, Doroff, 2005; Relyea, 2005; Bernanke, Köhler, 2009; Ezemonye, Tongo, 2010; Bruhl et al., 2011; Effect of endocrine..., 2011; Endocrine disrupting chemicals..., 2011a; Relationships of polychlorinated biphenyls..., 2014; Orton, Tyler, 2015; Wood, Welch, 2015; In situ effects of pesticides..., 2015).

Человек также подвержен негативному действию химических загрязнителей ОС – интенсивное загрязнение среды обитания приводит к сильным изменениям структуры

популяции: снижению рождаемости, увеличению заболеваемости и смертности (Стожаров, 2007; Kampa, Castanas, 2008; Mortality and morbidity..., 2015). Показано, что у людей, проживающих на территориях, характеризующихся высоким уровнем содержания различных поллютантов, повышен риск развития злокачественных новообразований и хронических заболеваний различных систем органов, увеличена частота развития иммунодепрессивных состояний и, в связи с этим, инфекционных заболеваний, снижен средний возраст продолжительности жизни (Brody, Rudel, 2003; Air pollution and cardiovascular..., 2004; The effect of air pollution..., 2004; Kampa, Castanas, 2008).

Такие химические соединения, как диоксин (2,3,7,8-тетрахлордibenзо-парадиоксин, ТХДД) толуол и формальдегид являются широко распространенными экотоксикантами, так, например, при сгорании любого хлорорганического соединения в ОС попадают диоксины (Dioxin- and POP-contaminated sites..., 2008; White, Birnbaum, 2009), источником формальдегида служат различные производства, автотранспорт, топливосжигающие установки и др. (Greenberg, 1982; Liebert, 1984; Formaldehyde carcinogenicity research..., 2013), а воздействию толуола подвергаются как сотрудники различных предприятий, чья деятельность связана с использованием или производством таких веществ, как бензол, фенол, бензойная кислота, стирол и др., так и люди, сталкивающиеся в быту с использованием бензина, резинового клея, различных растворителей, пятновыводителей, а также подвергающиеся влиянию табачного дыма (Wilkins-Haug, 1997).

Последние два века – эпоха не только «химической», но и «нефтяной» цивилизации, и не секрет, что природные запасы данного вида топлива близки к истощению, решением этой проблемы стало использование атомной энергии (Аврорин, 2002; Abu-Khader, 2009). С момента открытия феномена радиоактивности Анри Беккерелем в 1896 г. (Allisy, 1996) к концу XX века окружающая среда систематически загрязняется большим количеством радиоактивных веществ антропогенной природы. Уже в 1902 г. появляется первое сообщение о радиационном раке кожи, в 1924 – 1931 гг. публикуются работы об обнаружении остеосарком и рака придаточных пазух черепа у рисовальщиц циферблатов, вызванных инкорпорацией радия, входившего в светосоставы для рисования (Москалёв, 1991).

Аварии и катастрофы, связанные с изучением атомной энергии и развитием атомной промышленности, не оставили сомнений в опасности данного вида энергии. Одной из первых аварий в этой области можно считать взрыв в Ок-Риджской национальной лаборатории (США, штат Теннесси) в 1944 г., сюда же можно отнести аварии на комбинате «Маяк» (г. Озерск, Челябинская область, СССР) в 1948, 1949, 1953, 1957, 1958 гг., первая в

мире авария на АЭС Чолк-Ривер произошла в Канаде в 1952 г., этот список, безусловно, дополняют авария на Чернобыльской АЭС в 1986 г., аварии на атомных подводных лодках, использование атомной энергии в качестве оружия массового поражения – взрывы атомных бомб в Хиросиме и Нагасаки (1945 г.) (A review of criticality..., 2000), недавняя авария на АЭС Фукусима-1, произошедшая в 2011 г. Подобные аварии приводят не только к массовой гибели людей, но и к широкомасштабному загрязнению ОС (The impact of nuclear accidents..., 2014). Основная опасность данного вида загрязнения связана с распространением радиоактивных веществ на большие расстояния, их аккумуляция в среде, долгий период полураспада, а также легкое перемещение по трофической цепи, что тоже способствует распространению загрязнения (The impact of nuclear accidents..., 2014). Большую опасность представляют отдаленные последствия ионизирующих излучений (Москалёв, 1991).

В связи с активными испытаниями ядерного оружия в 50-60-е годы, что привело к выбросу большого количества радионуклидов в атмосферу, выпадавших с осадками и создававших обширные зоны повышенной радиоактивности, в 1955 г. при Организации Объединенных Наций создается Научный комитет по изучению воздействия атомной радиации на человека. На первом заседании данного комитета (1958 г.) впервые четко формулируется понятие естественного природного радиационного фона (ПРФ). На этом этапе развития представлений об ионизирующих излучениях ПРФ рассматривается как низший предел вреда, наносимый данным видом воздействия живым организмам. Однако уже в 1966 г. Х. Плanel опубликовал статью о негативном влиянии пониженного ПРФ на парameций (Planel et. al., 1966). В 1980 г. после изучения ряда работ и анализа большого количества материала такому явлению, как способность организмов противоположно реагировать на большие и малые дозы атомной радиации было дано название «радиационный гормезис» (Luskey, 1980; Кузин, 2002). С этого момента становится актуальным изучение не только влияния больших доз различных стрессовых факторов на живые организмы и механизмов их повреждающего действия, но и влияния малых доз неблагоприятных факторов, которые зачастую приводят к улучшению жизненных показателей организмов. Живые организмы постоянно сталкиваются с воздействием различных факторов именно низкой интенсивности, но стохастичность и слабая выраженность их эффектов не позволяют получить четкой картины, характеризующей основные механизмы ответа клеток и организма на данный тип воздействия.

Плодовая мушка *Drosophila melanogaster* является удобным модельным объектом для изучения механизмов влияния факторов различной природы, а также механизмов стрессоустойчивости и регуляции продолжительности жизни. Данный модельный объект

характеризуется относительно коротким циклом развития (около 12 суток) и сравнительно небольшой максимальной продолжительностью жизни (ПЖ) (до 3 месяцев), что дает возможность исследователю получать достаточно большое количество данных за небольшой период времени (Ashburner, 1989). Геном *Drosophila melanogaster* полностью отсеквенирован, причем значительная часть генов является ортологами генов высших млекопитающих (Роль репарации повреждений..., 2015), что предполагает общность механизмов реакций в том числе на воздействие стресс-факторов на молекулярном и клеточном уровне у насекомых и человека. Кроме того, *Drosophila melanogaster* является общепринятым модельным объектом в токсикологических исследованиях (Validation of *Drosophila melanogaster*..., 2005). Таким образом, мы предполагаем, что экспериментальные данные, полученные с использованием данного модельного объекта, могут быть экстраполированы на высшие организмы.

Цель и задачи исследования

Цель данного исследования – выявить возраст-зависимые изменения физиологических показателей и проанализировать профиль экспрессии генов стресс-ответа особей *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия малых доз факторов химической (формальдегид, толуол, диоксин) и физической природы (ионизирующее излучение). Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

- 1) Изучить влияние формальдегида, толуола, 2,3,7,8-тетрахлордibenзо-парадиоксина, малых доз ионизирующего гамма-излучения на медианную и максимальную продолжительность жизни особей *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.
- 2) Проанализировать возрастную динамику плодовитости и спонтанной локомоторной активности.
- 3) Исследовать влияние этих факторов на профиль экспрессии генов стресс-ответа самцов и самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.
- 4) Выявить универсальные и специфические молекулярные механизмы воздействия исследуемых факторов.

Положения, выносимые на защиту

1. Показан стохастический характер воздействия малых доз формальдегида, толуола, ТХДД и ионизирующего излучения на организм *Drosophila melanogaster*, проявляющийся в разнонаправленности изменений параметров продолжительности жизни и локомоторной активности у самцов и самок.
2. Основным механизмом ответа *Drosophila melanogaster* на воздействие малых доз формальдегида, толуола, ТХДД и ионизирующего излучения является активация генов

детоксификации активных форм кислорода, генов репарации ДНК и генов поддержания конформации белков.

Научная новизна исследования

Впервые проведен сравнительный анализ эффектов и молекулярных механизмов влияния малых доз экотоксикантов – формальдегида, толуола и 2,3,7,8-тетрахлордibenзо-пара-диоксина на организм *Drosophila melanogaster*. Установлено, что воздействие этих ксенобиотиков может приводить к гормезису, выраженному в увеличении различных параметров продолжительности жизни, локомоторной активности и плодовитости. На основе анализа изменений профиля экспрессии генов стресс-ответа выявлены специфические (репродуктивная токсичность, нейротоксичность, иммуносупрессия и др.) и универсальные (оксидативный стресс, индукция апоптоза, повреждение ДНК, генотоксический стресс, цитотоксический стресс) механизмы воздействия исследуемых веществ и ионизирующего излучения, установлены общие механизмы ответа – активация генов антиоксидантной защиты, генов репарации ДНК и генов поддержания нативной структуры белков.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Установлены закономерности влияния малых доз 2,3,7,8-тетрахлордibenзо-пара-диоксина, толуола, формальдегида и γ -излучения на самцов и самок *Drosophila melanogaster*. Результаты работы раскрывают роль исследуемых генов стресс-ответа в реакции целого организма на ионизирующее излучение и действие экотоксикантов. Углублены представления об основных механизмах влияния малых доз изучаемых факторов на живой организм. Доказано, что основные механизмы влияния малых доз 2,3,7,8-тетрахлордibenзо-пара-диоксина, толуола, формальдегида и γ -излучения на живой организм – оксидативный стресс, индукция апоптоза, повреждение ДНК, генотоксический стресс, цитотоксический стресс.

Наличие ортологов исследуемых генов в геноме человека и других млекопитающих дает возможность экстраполировать полученные данные на эти группы организмов, позволяя выявлять механизмы стресс-ответа и адаптации организмов к неблагоприятным условиям окружающей среды. Полученные данные могут быть использованы в лекционных курсах (генотоксикология и экотоксикология, радиационная генетика) и при планировании работ по экобиомониторингу.

Диссертационная работа являлась разделом госбюджетной темы «Молекулярно-генетические механизмы взаимосвязи стрессоустойчивости и продолжительности жизни на модели *Drosophila melanogaster*» (№ Гр. 115012130067), целевой программы «Молекулярная и клеточная биология» (№ 12-П-4-1005), проекта Программы Президиума

РАН «Экологическая генетика продолжительности жизни модельных животных (*Drosophila melanogaster*, *Mus musculus*)» (№ 12-П-4-1005), гранта Президента РФ «Сравнение механизмов ответа *Drosophila melanogaster* на оксидативный, тепловой, холодовой, и генотоксический стрессы с использованием полногеномного анализа транскриптомов» (№ МД-1090.2014.4), научного проекта для молодых ученых и аспирантов УрО РАН «Изучение влияние активации генов стресс-ответа и циркадных ритмов на старение и стрессоустойчивость *Drosophila melanogaster*» (№ 14-4-НП-103), выполняемых в лаборатории молекулярной радиобиологии и геронтологии Отдела радиозоологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук. Работа поддержана из средств темы НИР «Сохранение коллекций экспериментальных животных для фундаментальных исследований».

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, четырех глав (обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение результатов), выводов, приложения и списка цитируемой литературы, содержащего 414 источников публикаций, в том числе 383 публикации из зарубежных изданий. Работа изложена на 149 страницах машинописного текста и содержит 12 таблиц и 49 рисунков.

Публикации

По материалам диссертационной работы опубликовано 15 работ, в том числе 4 статьи в рецензируемых журналах из списка изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Апробация и реализация диссертации

Результаты работы докладывались на международной IX конференции «Генетика старения и долголетия» (Сочи, 2014), на международной конференции «Биологические эффекты малых доз ионизирующего излучения и радиоактивное загрязнение окружающей среды» (Сыктывкар, 2014), на девятой Международной конференции по биоинформатике регуляции и структуры генома и системной биологии (Новосибирск, 2014), на Ежегодном съезде европейского общества по радиационным исследованиям (Греция, 2014), на международной Пущинской школе-конференции молодых ученых «Биология - наука XXI века» (Пущино, 2015), на IV международной конференции «Современные проблемы генетики, радиобиологии, радиозоологии и эволюции посвященной Н.В. Тимофееву-Ресовскому и его научной школе» (Санкт-Петербург, 2015), на международной конференции "Биомедицинские инновации для здорового долголетия" (Санкт Петербург, 2016), на научной конференции молодых ученых Института биологии (Сыктывкар, 2016).

Благодарности

Автор выражает благодарность научному руководителю д.б.н., доценту Москалёву А.А. за идею, лежащую в основе данной работы. Особую благодарность автор выражает коллегам по работе Шапошникову М.В. и Прошкиной Е.Н. за помощь в постановке экспериментов, разработку методик и помощь в оформлении текста диссертации. Коллективу отдела радиозэкологии Института биологии за полезные советы и замечания в ходе работы над текстом диссертации. Всем близким и родным за поддержку и терпение.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе рассмотрены основные механизмы и последствия влияния изучаемых факторов химической (диоксин, толуол и формальдегид) и физической природы (ионизирующее излучение) на живые организмы.

1.1 Биологическое действие и токсические свойства тетрахлордibenzo-*p*-диоксина (ТХДД)

1.1.1 Общая характеристика и механизм токсического действия на биологические системы

Диоксинами называют обширную группу полициклических хлорорганических соединений. В органической химии данным термином называют шестичленный гетероцикл, в котором два атома кислорода связаны двумя двойными углерод-углеродными связями. В токсикологии под термином “диоксин” понимают производное данного соединения – 2,3,7,8-тетрахлордibenzo-*p*-диоксин (2,3,7,8 ТХДД), являющийся членом большой группы очень опасных ксенобиотиков из ряда полихлорированных полициклических соединений.

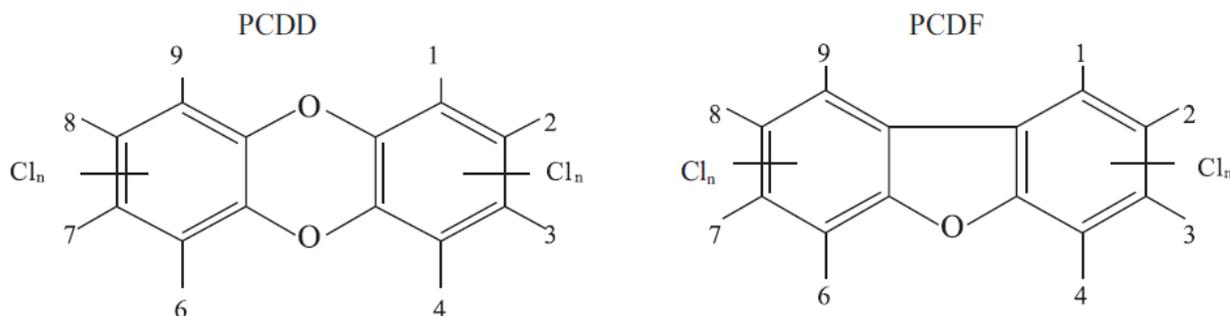


Рисунок 1 – Строение молекул диоксинов, а – дибензодиоксин, б - дибензофуран

В молекулах диоксинов два бензольных кольца соединены друг с другом через один (дибензофураны) (Рисунок 1б) или два (дибензодиоксины) (Рисунок 1а) кислородных мостика, и несколько атомов водорода замещены на атомы хлора. В молекуле тетрахлордibenzo-*p*-диоксина атомы водорода замещены на хлор в положениях 2, 3, 7 и 8 (Рисунок 2). Молекула ТХДД плоская и характеризуется высокой симметрией. Максимум электронной плотности в молекуле 2,3,7,8 ТХДД находится в зоне атомов кислорода и хлора, а минимум – в центрах бензольных колец.

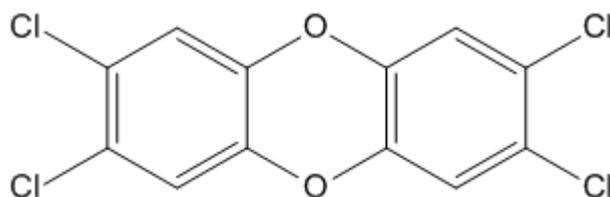


Рисунок 2 – Строение молекулы 2, 3, 7, 8-тетрахлордibenzo-*p* диоксина

Именно эти особенности строения и распределения электронной плотности обуславливают наблюдаемые свойства молекулы диоксина. При комнатной температуре ТХДД в чистом виде имеет вид бесцветных или беловатых игл; молекулярная масса – 322 Да; температура плавления – 305-306°C, для данного вещества характерна высокая термическая стабильность (эффективное разложение при температуре 1000°C); соединение нерастворимо в воде, и малорастворимо в органических растворителях (2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin..., 2011).

Диоксин химически очень инертен. Это соединение устойчиво к термическому воздействию кислот и оснований, в реакции хлорирования и сульфирования, характерные для других представителей класса ароматических углеводородов, вступает только в присутствии катализаторов в сочетании с жесткими условиями протекания реакции. Замещение атомов хлора происходит только в условиях свободнорадикальных реакций. Некоторые из этих превращений, например, взаимодействие с натрий-нафталином и восстановительное дехлорирование при ультрафиолетовом облучении, используются для элиминации небольших количеств диоксина, также показано, что диоксин полностью распадается при температуре 800° С (21 с), а период полураспада этого соединения при температуре 1200° С составляет 10^{-4} с. Характерной чертой данного поллютанта является его способность к формированию устойчивых комплексов с природными и синтетическими полициклическими соединениями (Маршалл, 1989; Любкин, Андреева, 2013).

Благодаря своим химическим и физическим свойствам данная группа органических соединений относится к персистентным органическим загрязнителям, которые на протяжении долгого времени сохраняются в депонирующих средах – почве и донных отложениях, период полураспада в окружающей среде составляет примерно 7-11 лет.

В качестве естественных источников диоксинов могут выступать пожары или извержения вулканов, однако основная масса диоксинов образуется в результате деятельности человека (White, Birnbaum, 2009). Антропогенными источниками являются химические предприятия, производящие хлорорганические пестициды, хлорбензолы и полихлорированные бифенилы (используются в качестве технических жидкостей), растворители ряда хлорзамещенных алканов, целлюлозно-бумажные производства,

мусоросжигательные заводы, и даже автомобильный транспорт. Диоксины попадают в воду в некотором количестве при ее хлорировании (Dioxin- and POP-contaminated sites..., 2008; White, Birnbaum, 2009).

Одним из наиболее ярких примеров загрязнения ОС диоксинами является использование военными США во время войны во Вьетнаме данного экотоксиканта в качестве так называемых дефолиантов – веществ, направленных на уничтожение листвы с целью борьбы с партизанами, результатом чего стало внесение в среду более чем 366 кг диоксина (The extent and patterns..., 2003; Young, 2006; Young et al., 2008). И только после вступления в силу Стокгольмской Конвенции 17 мая 2004 года проблема распространения диоксина в ОС была взята под строгий контроль (Fiedler, 2007).

Диоксины – ксенобиотики, являются крайне токсичными для живых существ соединениями; вследствие их липофильной природы, для данного класса соединений характерна высокая способность к биоаккумуляции по пищевой цепи с максимальным содержанием в верхушке, в том числе и в организме человека. Диоксины очень долго метаболизируются, и поэтому их опасность в первую очередь связана с долгосрочным действием. Концентрация диоксинов увеличивается по мере следования по пищевой цепи, в тканях хищников они достигают наивысших концентраций, накапливаясь, прежде всего, в жировой ткани и печени. Основной путь попадания – через желудочно-кишечный тракт с водой или пищей (White, Birnbaum, 2009). Благодаря своему строению (плоская молекула размером $3 \times 10 \text{ \AA}$) молекулы диоксина обладают высоким сродством к рецепторам живых организмов, основная мишень данного соединения – AhR (арилгидрокарбонный рецептор) – лиганд-активируемый транскрипционный фактор, член надсемейства PAS – семейства транскрипционных факторов, регулирующих широкий спектр физиологических реакций, связанных с ответом на внешние воздействия (Gu et al., 2000; McIntosh et al., 2010).

AhR – это высоко консервативный белок позвоночных и беспозвоночных (у *C. elegans*, *D. melanogaster* и других модельных животных обнаружены гомологи данного белка) животных (Hahn, 2002), играющий важную роль в процессах развития, старения, гипоксии и регуляции циркадных ритмов (Carlson, Perdew, 2002). В клетках в состоянии, не связанном лигандом, AhR существует в виде цитоплазматического полипротеинового комплекса, включающего две молекулы белка теплового шока Hsp90 и по одной молекуле ко-шаперона p23 и XAP2 (X-ассоциированный белок 2) (Kazlauskas et al., 1999; Xenobiotics and loss of cell..., 2012). Присоединение лиганда (в данном случае молекулы ТХДД) вызывает конформационные изменения Ah-рецептора, выраженные в диссоциации молекул p23, XAP2 и одной молекулы Hsp90 и в образовании AhR-лиганд комплекса (White, Birnbaum, 2009), который далее переносится в ядро. В ядре происходит димеризация AhR-

лиганд комплекса с соответствующим ядерным белком – Arnt (aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator), далее лиганд-ассоциированный AhR/Arnt комплекс связывается с элементами ответа на ксенобиотики (XRE – xenobiotic response elements) в регуляторных регионах генов-мишеней AhR и инициирует транскрипцию данных генов.

Токсическое действие ТХДД связано с тем, что в отличие от физиологических активаторов Ah-рецептора, которые, вероятнее всего, индуцируют быструю on/off сигнализацию, молекулы диоксина, как предполагают, вызывают постоянную активацию AhR, препятствуя этим нормальному функционированию рецептора и выполнению его роли в поддержании гомеостаза (Denison, Nagy, 2003; Exactly the same but different..., 2011).

Существует также путь влияния ТХДД на живые организмы, не связанный с транспортом AhR-лиганд комплекса в ядро и последующей регуляцией генов семейства XRE, а именно – диоксин-индуцированное воспаление (Matsumura, 2009). Было показано, что на ранних этапах стресс-ответа после воздействия ТХДД происходит быстрое увеличение концентрации Ca^{2+} во внутриклеточном пространстве (источником служит как Ca^{2+} , содержащийся в межклеточном пространстве, так и Ca^{2+} , содержащийся в митохондриях) (White, Birnbaum, 2009). На следующем этапе происходит комплекс взаимодействий, включающий в себя синтез протеинкиназ и фосфатаз, а именно – активация cPLA2 (цитозольная фосфолипаза A2), высвобождающей арахидоновую кислоту (AA), выработка Cox2 (циклооксигеназа 2 – ведет к активации синтеза простагландинов) и Ca^{2+} -стимулируемой протеинкиназы C; далее происходит простагландин-зависимая активация PKA (протеинкиназа A) и AA-индуцированная активация Src киназы (богатые тирозином ITAM-последовательности (Immunoreceptor tyrosine-based activation motif) цитоплазматических участков иммунорецепторов) (Non-genomic action of TCDD..., 2010).

1.1.2 Влияние ТХДД на живые системы

ТХДД включен в список канцерогенов с 1981 года (2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin..., 2011). Способность диоксинов вызывать развитие опухолей подтверждена множеством эпидемиологических и экспериментальных исследований, основной причиной наличия канцерогенных свойств у данного экотоксиканта является его высокое сродство к Ah-рецептору, который, как уже было сказано ранее, принимает участие в регуляции широкого спектра физиологических процессов, включающих контроль клеточного цикла, пролиферации и дифференциации клеток, регуляцию экспрессии генов, а также трансдукцию инсулиновой сигнализации и др. (2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin..., 2011), кроме того, есть данные свидетельствующие о снижении интенсивности апоптоза в опухолевых клетках, подвергшихся, воздействию ТХДД (Chopra, Schrenk, 2011; The aryl

hydrocarbon receptor..., 2015). Нарушения в регуляции данных физиологических процессов приводит к неконтролируемому делению и росту клеток, к нарушению процессов элиминации поврежденных клеток, что и является одной из основных причин онкообразования. Считается, что диоксины в условиях недостаточного контроля за качеством продуктов питания, попадая в организм с молоком, рыбой и мясными продуктами, могут приводить к неопластической трансформации клеток, фибросаркомам и лимфомам. В экспериментах на животных показана способность ТХДД вызывать рак печени, легких, щитовидной железы, ротовой полости (Environmental factors in causing..., 2012). Воздействию диоксинов могут подвергаться и обычные люди, и, разумеется, отдельные профессиональные группы. В одном из недавних исследований показано наличие достоверной корреляции между заболеваемостью раком и полученной дозой диоксинов у персонала одного из автомобильных заводов (Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans..., 2013). Одной из наиболее крупномасштабных катастроф считается авария, произошедшая в г. Севезо, Италия в 1976 г., в результате которой в атмосферу было выброшено облако диоксина (The Seveso studies..., 1998; TCDD and cancer..., 2011). Показано, что у людей, проживавших на территории данного города и подвергшихся долгому хроническому воздействию диоксина увеличен риск развития саркомы (Sarcoma risk and dioxin..., 2007), лимфомы (Risk for non Hodgkin's lymphoma..., 2008) и других видов новообразований (Dioxins and human toxicity..., 2010; Chopra, Schrenk, 2011). В результате большого количества эпидемиологических работ было показано, что у населения города Севезо достоверно увеличено число случаев развития злокачественных новообразований в различных системах органов, особенно в лимфо-гемопоетической, и количество заболевших миелоидным лейкозом, также было увеличено число смертей от различных видов рака, особенно в мужской части популяции (Dioxins and human toxicity..., 2010). Тем не менее, несмотря на большое количество данных, свидетельствующих о канцерогенности диоксинов, длительный инкубационный период действия этой группы поллютантов существенно осложняет идентификацию диоксина как основного фактора канцерогенеза (TCDD and cancer..., 2011).

Одной из специфичных мишеней действия диоксинов являются клетки иммунной системы. Воздействие ТХДД приводит к атрофии тимуса и ведет к иммуносупрессии, опосредованной индукцией апоптоза в активных Т-клетках (Chopra, Schrenk, 2011). ТХДД влияет и на гуморальный иммунитет, воздействуя на В-клетки и нарушая процесс их активации и дифференциации, аттенуируя раннюю активацию MAPK (mitogen-activated protein kinases, участвует в регуляции процессов метаболизма, пролиферации и подвижности клеток) и Akt-сигнализацию (протеинкиназа В, участвует в регуляции

клеточного цикла, клеточного роста, ингибирует апоптоз) в этих клетках (2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin-mediated disruption..., 2011; Phadnis-Moghe et al., 2015). Также показано, что влияние данного экотоксиканта приводит к снижению активности интерлейкина-8 (IL-8), что в свою очередь приводит к снижению хемотаксиса нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов и Т-клеток в зону воспаления (The inflammation and estrogen metabolism..., 2015). Кроме того, способность AhR выступать в качестве сенсора воздействий окружающей среды на уровне барьерных органов (кожа, легкие, пищеварительный тракт) предопределяет предрасположенность ТХДД к модуляции стресс-ответа организма в целом (The aryl hydrocarbon receptor..., 2014).

Так как по молекулярной структуре диоксины похожи на липофильные гормоны, то есть все основания полагать, что одним из основных механизмов его токсического действия является нарушение функций эндокринной системы из-за сродства этого экотоксиканта к рецепторам гормонов щитовидной железы, эстрогенов и андрогенов и рецептору инсулиноподобного фактора роста (Whitlock, 1994). Показано, что диоксины нарушают синтез, секрецию, транспорт, активность и элиминацию различных гормонов (Endocrine disrupting chemicals..., 2011b; Hormones and endocrine-disrupting chemicals..., 2012), вносят дисбаланс в соотношение половых гормонов, нарушая половое созревание и влияя на качество гамет (Dioxin exposure, from infancy..., 2008). Отмечается, что ТХДД может быть одной из причин развития сахарного диабета 2 типа (Bodin et al., 2015).

Ввиду своего влияния на эндокринную систему диоксины могут быть причиной гинекологических заболеваний (Dioxin-like compounds and endometriosis..., 2004; Environmental toxicants and effects..., 2006) и мужского бесплодия (Assessment of an association between..., 2011; Wong, Cheng, 2011). Показано, что ТХДД влияет на синтез и процессы активации эндометриальных цитокинов и хемокинов, изменяя уровень активности и распределение лейкоцитов в слизистых оболочках женского полового тракта и дестабилизируя, тем самым, иммунитет в этих тканях (Correlation between dioxin..., 2015). Причиной мужского бесплодия в результате воздействия этого поллютанта служат процесс воспаления и апоптоз и некроз клеток тестикулярной ткани (Wong, Cheng, 2011).

Диоксины обладают нейротоксическим действием и могут стать причиной развития синдрома дефицита внимания и гиперреактивности (Sex-specific enhanced behavioral..., 2014). Показано, что данная группа веществ оказывает влияние как на нейроны, так и на клетки глии, препятствует распространению постсинаптического потенциала, причиной этого, как полагают, является нарушение гомеостаза кальция и оксидативный стресс (Kakeyama, Tohyama, 2003). Кроме того, ТХДД запускает апоптоз нервных клеток, основной причиной служит нарушение функционирования AhR (Sanchez-Martin et al., 2011;

Role of mitogen-activated protein..., 2013), а в развивающейся нервной системе нарушает пролиферацию клеток-предшественниц (Neural precursor cell proliferation..., 2011).

Также диоксины оказывают негативное влияние на развитие зародышей и детей, и функционирование у взрослых сердечно-сосудистой системы (Kopf, Walker, 2010). Хроническое действие диоксинов ассоциируется с развитием гипертензии, левожелудочковой дисфункцией (Lind, Lind, 2012; 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced hypertension..., 2015), атеросклерозом. Основным механизмом повреждающего действия диоксинов на клетки органов сердечно-сосудистой системы является генерация активных форм кислорода цитохромоксидазой P450, функционирование которой меняется под воздействием диоксинов (Cytochrome P4501A1 is required..., 2010). Эпидемиологические исследования подтверждают наличие корреляции между высокой смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний и воздействием диоксинов (Dioxins and cardiovascular disease..., 2008).

Не вызывает сомнений то, что особую чувствительность к воздействию диоксинов проявляет развивающийся организм. Диоксины нарушают формирование нервной (Kakeyama, Tohyama, 2003), дыхательной, иммунной (Effects of persistent organic..., 2013), сердечно-сосудистой систем у плода (Goldstone, Stegeman, 2006; Kopf, Walker, 2009), являются одним из факторов риска развития тератогенных изменений (Teratology - past, present..., 2012), могут стать причиной внутриутробной смерти плода (Kakeyama, Tohyama, 2003).

Исходя из вышеописанного механизма действия ТХДД можно сделать вывод, что основными мишенями для данного экотоксиканта служат практически все системы организма – сердечно-сосудистая, эндокринная, иммунная, нервная и репродуктивная. Показано, что диоксины обладают свойствами канцерогенности, эмбриотоксичности и тератогенности. (Dioxins and human toxicity..., 2010). Таким образом, не вызывает сомнений то, что данный поллютант является одним из наиболее опасных среди всех известных на сегодняшний день загрязняющих агентов антропогенной природы.

1.2. Биологическое действие и токсические свойства формальдегида

1.2.1. Общая характеристика и механизм токсического действия

формальдегида

Формальдегид – это первый член гомологического ряда алифатических альдегидов, альдегид муравьиной кислоты (Рисунок 3), в свободном виде в форме мономера – бесцветный легко воспламеняющийся газ с резким, удушливым запахом, хорошо растворимый в воде, спиртах и полярных растворителях. Молярная масса – 30,03 г/моль.

Формальдегид обладает очень высокой реакционной способностью и характеризуется многообразием химических превращений: вступает в реакции с представителями подавляющего большинства классов органических соединений, за исключением насыщенных углеводородов и эфиров, легко превращается в метанол и муравьиную кислоту. Важным химическим свойством этого соединения является способность к интрамолекулярному взаимодействию с образованием олигомеров и полимеров, как линейного, так и циклического строения. (Огородников, 1984).

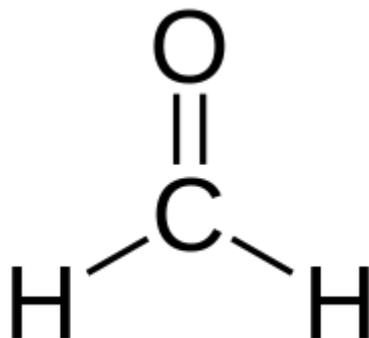


Рисунок 3 – Строение молекулы формальдегида

Формальдегид может образовываться как в ходе жизнедеятельности организма, так и попадать в клетки извне. Соответственно, различают эндогенные и экзогенные формы формальдегида. Эндогенный формальдегид образуется во всех живых клетках, он является побочным продуктом клеточного метаболизма: образуется в процессе метаболизма аминокислот (серина, глицина, метионина, холина), при окислении метанола, перекисном окислении липидов, в реакциях, катализируемых некоторыми альдозазами (триметиламиноксидалядозой, диметиланилин-N-оксидалядозой, кетотетрозосфальдозой). Образующийся в клетках эндогенный формальдегид постоянно подвергается детоксикации под действием ферментов формальдегидтранскетолазы, формальдегиддегидрогеназы, формальдегиддисмутазы (Liebert, 1984; Casanova-Schmitz et al., 1984; Histochemical localization of formaldehyde..., 1990; Heck, Casanova, 2004; Cytoprotective effects of triphlorethol-A..., 2010; Formaldehyde carcinogenicity research..., 2013). Концентрация эндогенного формальдегида в крови крыс, обезьян и человека около 0.1 ммоль (Heck, Casanova, 2004; Distribution of DNA adducts..., 2010).

Экзогенный формальдегид встречается повсеместно в окружающей среде. Он образуется естественным путем в тропосфере в процессе окисления углеводородов, которые вступают в реакцию с гидроксильными радикалами и озоном, а также образуется на ранних стадиях разложения растительных остатков в почве (Liebert, 1984).

Антропогенными источниками данного экотоксиканта являются промышленные предприятия, использующие формальдегид и содержащие его материалы (древесные плиты, фенопластики) в своей деятельности; автотранспорт и стационарные топливосжигающие установки; лесные, торфяные и городские пожары, свалки бытовых и промышленных отходов, табачный дым (Greenberg, 1982; Liebert, 1984; Formaldehyde carcinogenicity research..., 2013). Кроме того, формальдегид используется в качестве консерванта при изготовлении многих биологических препаратов (человеческих и ветеринарных). Вирусные вакцины содержат 0.05% раствор формалина, как инактивирующий агент (Liebert, 1984). Из-за сильного дубящего эффекта, формальдегид также является сильным антисептиком, обладает противомикробной активностью в отношении грамположительных, грамотрицательных бактерий, дрожжеподобных и плесневых грибов и широко используется в медицине и для консервации биологических материалов, в качестве противомикробного агента во многих косметических продуктах (мыло, шампуни, дезодоранты, лосьоны, моющие средства и др.) (Orth, 1980; Liebert, 1984; Effect of formaldehyde inhalation..., 2010).

Токсичность формальдегида связана с его высокой способностью к взаимодействию с биологическими молекулами – нуклеиновыми кислотами и белками. Опасность влияния этого вещества обусловлена образованием метильных аддуктов с нуклеиновыми кислотами, белками, включая гистоны, и взаимодействием с аминокислотами (Liebert, 1984; Toth, Biggin, 2000), денатурацией, агрегацией и полимеризацией белков – молекулы формальдегида легко реагируют с тиоловыми и аминогруппами полипептидных молекул (Reactions of formaldehyde plus..., 2003; Identification of formaldehyde..., 2004; Vitamin E against oxidative damage..., 2005). В экспериментах на макаках-резус (Covalent binding of inhaled..., 1991) и крысах (DNA-protein cross-links..., 1994), продемонстрировано ковалентное связывание формальдегида с ДНК и образование ДНК-белковых сшивок в клетках эпителия дыхательных путей. У людей, чья профессиональная деятельность связана с хроническим воздействием формальдегида, было показано что воздействие этого поллютанта способствует росту числа ДНК-белковых сшивок в лимфоцитах периферической крови, и приводит к повышению содержания мутантной формы белка p53, что можно рассматривать как начальные стадии канцерогенеза (DNA-protein crosslinks and p53..., 2003).

Оксидативный стресс и его токсическое действие, связанное с образованием активных форм кислорода, которые ковалентно связываются с внутриклеточными белками и ДНК, также являются одним из механизмов токсического действия формальдегида (Songur et al., 2010). Было показано, что данный экотоксикант приводит к нарушению

функций антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза, каталаза и глутатион-пероксидаза (Protective effects of omega-3..., 2006; Melatonin prevents formaldehyde..., 2007; Formaldehyde induces lung..., 2011). При попадании формальдегида в дыхательную систему наблюдается повышение активности белка теплового шока hsp70, что является маркером клеточного стресса (The effects of the inhaled formaldehyde..., 2003; Effect of formaldehyde inhalation..., 2005). Надо отметить, что молекулы формальдегида и активные формы кислорода синергически взаимодействуют в клетке, усиливая эффект друг друга, и приводят к клеточной гибели (Cytotoxic effect of formaldehyde..., 2005), что играет немаловажную роль в процессах старения организма, затрагивающих, в частности, сердечно-сосудистую систему (The effect of endogenous formaldehyde..., 2005).

В экспериментах на гепатоцитах крыс, инкубированных при низком содержании паров формальдегида, отмечалось снижение митохондриального мембранного потенциала и ингибирование митохондриального дыхания, сопровождавшееся образованием активных форм кислорода, и истощение глутатиона (GSH) – одного из основных звеньев цепи детоксикации свободных радикалов. А при повышении концентрации формальдегида происходит перекисное окисление липидов, за которым следует гибель клеток (The formaldehyde metabolic..., 2001).

Оксидативный стресс и влияние формальдегида на систему антиоксидантной защиты, как и образование ДНК-белковых сшивок (S-phase sensing of DNA-protein..., 2012) предполагают его способность к индукции апоптоза. Показано, что данный экотоксикант опосредует апоптоз в эпителиальных клетках легких путем уменьшения экспрессии гена пероксиредоксина Prx2 (одного из основных ферментов системы антиоксидантной защиты) посредством увеличения активации p38 MAPK (p38 митоген-активируемая протеинкиназа – ключевой фермент сигнального каскада клеточного стресс-ответа) (Formaldehyde induces apoptosis..., 2010). Вдыхание паров формальдегида индуцирует гибель клеток не только эпителия дыхательной системы (Inhalation of formaldehyde..., 2009; Kastner et al., 2011), но и лимфоидной ткани, ассоциированной с бронхами, а также опосредует апоптоз и увеличивает частоту хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови (Formaldehyde-induced chromosomal aberrations..., 2010)

Способность формальдегида образовывать аддукты с жизненно важными биологическими молекулами – нуклеиновыми кислотами, аминокислотами и белками – может оказывать мутагенное и канцерогенное действие, повреждая ДНК, а именно, вызывая образование одностранных разрывов, и ингибируя репликацию и репарацию ДНК (Formaldehyde damage to DNA..., 1983; Casanova-Schmitz et al., 1984; Liebert, 1984; Genotoxicity of formaldehyde..., 1985; Takahashi et al., 1985; Snyder, Van Houten, 1986).

Анализ реакций формальдегида *in vitro* с аминокислотами, дезоксинуклеозидами и их олигомерами показал, что молекулы этого вещества реагируют преимущественно с дезоксигуанозином (dG), образуя N²-гидрокси-метил-dG-аддукты, кроме того, влияние этого экотоксиканта может приводить к образованию ДНК моноаддуктов, ДНК-ДНК сшивков и ДНК-белковых сшивков (Structural characterization of formaldehyde..., 2010).

Таким образом, можно сделать вывод, что основа токсического действия диоксина – повреждение основных биологических молекул, таких как нуклеиновые кислоты, аминокислоты и белки, и ассоциированные с этими повреждениями нарушения структуры ДНК, индукция апоптоза и оксидативного стресса.

1.2.2. Влияние формальдегида на живые системы

Формальдегид токсичен: смертельная доза 40 % водного раствора формальдегида (формалина) составляет 10 – 50 г. При остром ингаляционном отравлении отмечаются конъюнктивит, острый бронхит, а при высоких дозах – отёк лёгких. Известно, что формальдегид оказывает раздражающее действие, обладает нейро-, гепато-, нефро- и иммунотоксичностью.

Так как основной мишенью действия формальдегида является дыхательная система, то не удивительно, что влияние этого вещества вызывает развитие патологий, в первую очередь, в носоглотке, причиной чего помимо формирования ДНК-аддуктов является также увеличение уровня пролиферации клеток слизистых оболочек (Induction of squamous cell..., 1980; Carcinogenicity of formaldehyde..., 1983; Correlation of regional and nonlinear..., 1996; Formaldehyde carcinogenicity research..., 2013) и неполная репарация ДНК-белковых сшивков, приводящая к образованию хромосомных мутаций и микроядер в пролиферирующих клетках (Speit, Schmid, 2006). С воздействием этого экотоксиканта связывают увеличение частоты аллергических заболеваний дыхательных путей (Thrasher et al., 1990; Occupational asthma due to formaldehyde..., 1995; Asthma and the indoor environment..., 1997) и риска возникновения астмы у детей в раннем возрасте (Increased risk of allergy..., 1999; Domestic exposure to formaldehyde..., 2002). Формальдегид повышает уровень экспрессии молекул адгезии слизистых оболочек носа, что является причиной развития ринитов (Changes in nasal lavage..., 1993; Asthma and the indoor environment..., 1997; Inflammation markers in nasal..., 1999; Effect of formaldehyde..., 2002), повреждение респираторного эпителия, зависящего больше от концентрации, чем от продолжительности воздействия (Subacute (4-week) inhalation..., 1987; Subchronic (13-week) inhalation..., 1989). Формальдегид вызывает воспалительную реакцию в легких, причиной чего является окислительный стресс и высвобождение медиаторов активированными эозинофилами, нейтрофилами,

альвеолярными макрофагами и эпителиальными клетками в легких (Effects of subchronic exposure..., 2014).

Несмотря на ярко выраженные эффекты формальдегида в месте непосредственного контакта с ним, в клетках существует адаптивный механизм, который достаточно эффективно осуществляет устранение последствий воздействия данного экотоксиканта, но на реализацию действия которого, необходимо некоторое время (Characterization of the genotoxic potential..., 2007). Хотя было показано, что экзогенный формальдегид индуцирует повреждения ДНК только в месте контакта (Structural characterization of formaldehyde..., 2010; Is individual nasal sensitivity..., 2011), при высоких концентрациях в клетках периферической крови человека также достигаются цитотоксические и генотоксические эффекты, которые, впрочем, полностью устраняются до момента перехода лимфоцитов к репликации (Schmid, Speit, 2007). Надо отметить, что быстрое восстановление функциональности клеток после воздействия формальдегида характерно только для кратковременного воздействия, в то время как у людей, подверженных хроническому воздействию этого вещества в производственной среде (на примере работников гистопатологических лабораторий), было показано статистически значимое увеличение частоты появления цитогенетических маркеров генотоксического воздействия (Genotoxicity biomarkers in occupational..., 2011), показана повышенная частота хромосомных aberrаций (Combined analysis of chromosomal..., 2011), и увеличение частоты появления микроядер (A combination of micronucleus assay..., 2013) в лимфоцитах периферической крови персонала.

Формальдегид оказывает токсические эффекты на центральную нервную систему, вызывая резкую головную боль, недомогание, бессонницу и головокружение (Harris et al., 1981; Solomons, Cochrane, 1984; Formaldehyde neurotoxicity in animal..., 2000), а его длительное воздействие может привести к нейродегенеративным расстройствам (Kilburn, 1994). Отмечена связь между воздействием этого экотоксиканта и болезнью Альцгеймера (Stroup et al., 1986; He et al., 2010; Songur et al., 2010), показаны морфологические изменения в структуре головного мозга крыс, и выявлены сопутствующие им расстройства поведения животных (Sorg, Hochstatter, 1999; Formaldehyde neurotoxicity in animal..., 2000; Protective effects of omega-3..., 2006; Aging-associated excess formaldehyde..., 2013). Ингаляция формальдегидом существенно ухудшает обучаемость и память мышей (Formaldehyde-induced histone modifications..., 2008).

С одной стороны, токсическое действие формальдегида на нервную систему обусловлено его взаимодействием с β -амилоидом, что приводит к образованию нейротоксичных амилоидно-подобных комплексов (Amyloid-like aggregates of neuronal...,

2007), а также ведет к тау-агрегации, которая в свою очередь вызывает апоптоз клеток гиппокампа у человека и нейробластомных клеток (Formaldehyde at low concentration..., 2007). С другой стороны, обработка формальдегидом приводит к нарушениям функций эндоплазматического ретикулума в нейронах, что является фактором их гибели (Induction of endoplasmic reticulum..., 2012). При этом происходит снижение экспрессии гена белка Trx-1 (thioredoxin-1), который участвует в ответе на различные виды стресса: вирусные инфекции, окислительный стресс, рентгеновское и УФ-облучение, регулирует окислительно-восстановительный баланс клетки, ингибирует апоптоз (Adult T cell leukemia..., 1994; Proceedings of the National Academy..., 1999; Thioredoxin as a neurotrophic cofactor..., 2004). Также происходит ингибирование активности и экспрессии параоксоназы 1, фермента обладающего антиоксидантной активностью (Tang et al., 2011) и снижение образования H₂S, который является эндогенным газом-трансммитером, защищающим нейроны от окислительного стресса. Избыточное образование NO при действии формальдегида ингибирует активность фермента цистатионин-бета-синтазы (CBS), являющимся превалирующим ферментом, генерирующим H₂S в центральной нервной системе (Tang et al., 2013).

Кроме вышеперечисленных эффектов при обработке парами формальдегида у крыс и мышей наблюдаются разнообразные токсические эффекты в ткани печени: некроз печени, печеночная гипертрофия, уменьшение веса и гепатоцеллюлярная жировая дистрофия (Beall, Ulsamer, 1984; Results of a 28-month chronic..., 1997; Heck, Casanova, 2004). Длительное воздействие этого поллютанта может привести к дегенеративным изменениям в проксимальных канальцах и некрозу в почках (Greenberg, 1982).

Не менее чувствительна к действию формальдегида иммунная система. Влияние этого экотоксиканта характеризуется угнетением пролиферации лимфоцитов и утратой ими хромосом (Pongsavee, 2011); повышенной частотой образования микроядер и обменом сестринскими хроматидами в лимфоцитах; значительным снижением содержания В клеток в крови (Cytogenetic and immunological effects..., 2013). Также было показано, что абсолютное число и процент Т-лимфоцитов и естественных клеток-киллеров, и уровни TNF- α у работников, сталкивающихся на производстве с повышенным содержанием паров формальдегида были выше, чем в контрольной группе, в то время как уровни IgG и IgM были ниже (Assessment of immunotoxicity..., 2013).

Уже давно предполагалось, что формальдегид может вызывать неблагоприятные эффекты на репродуктивные функции. Однако полученные ранее сведения были неубедительны из-за недостаточно продуманной схемы многих исследований. Основу ретроспективных исследований на человеке составляет поиск доказательств существования

связи между воздействиями формальдегида на женский организм и неблагоприятными последствиями в репродуктивных функциях. Оценка такой связи показала повышенный риск самопроизвольного аборта и неблагоприятных исходов беременности у подвергшихся воздействию формальдегида женщин (Reproductive and developmental toxicity..., 2011). Исследования на экспериментальных животных, в том числе с учетом путей воздействия, доз и режимов воздействия, показали выраженную связь между воздействием формальдегида и репродуктивной токсичностью, в основном у самцов. Потенциальные механизмы, лежащие в основе формальдегида, влияющих на репродуктивные функции и развитие токсических эффектов включают в себя: повреждения хромосом и ДНК (генотоксичность), окислительный стресс, изменение активности и функций ферментов, изменение уровня гормонов и содержания белков, индукция апоптоза, токсикогеномные и эпигеномные эффекты (такие, как метилирование ДНК) (Reproductive and developmental toxicity..., 2011).

При оценке долгосрочного влияния низких доз формальдегида на яичники у крыс, и изучении потенциальных механизмов окислительного стресса, как решающего фактора, обуславливающего репродуктивную токсичность было показано, что эффект зависит от дозы: малые дозы не влияли на структуру и функциональность яичников, в то время как увеличение экспозиционной дозы приводило к значительному снижению активности супероксиддисмутазы, так же как и количества и размера зрелых фолликулов, появились сосудистые заторы и интерстициальный отек в яичниках крыс (Effects of low-dose, long-term..., 2013).

Таким образом, можно сделать вывод, что формальдегид, являясь высоко реакционноспособным соединением, легко вступающим во взаимодействие с нуклеиновыми кислотами, аминокислотами и белками, способен активно влиять на функционирование клеток, тканей, органов и организма в целом. В многочисленных исследованиях показаны общая токсичность высоких концентраций формальдегида, его способность к индукции окислительного стресса и апоптоза, мутагенность и генотоксичность. В то же время, наличие эндогенных форм формальдегида и простота строения его молекулы, дают возможность клеткам быстро адаптироваться и устранять последствия токсического действия этого экотоксиканта. Формальдегид представляет опасность для организма в том случае, когда его концентрации в окружающей среде велики и/или режим воздействия носит постоянный или хронический характер.

1.3 Биологическое действие и токсические свойства толуола

1.3.1 Общая характеристика, механизм токсического действия толуола

Толуол (фенилметан, метилбензол, метацид) – это общеупотребительное название химического вещества, относящегося к классу моноциклических ароматических углеводородов, образующегося при замещении одного атома водорода в молекуле бензола метильной группой (Рисунок 4). При комнатной температуре толуол – прозрачная, бесцветная, летучая жидкость с бензольным запахом (Fishbein, 1988).

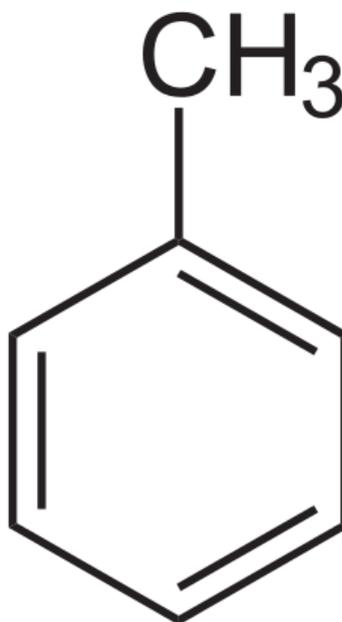


Рисунок 4 – Структурная формула молекулы толуола

Воздействию толуола могут быть подвержены не только сотрудники различных предприятий, чья деятельность связана с использованием или производством таких веществ, как бензол, фенол, бензойная кислота, стирол и др., но и люди, сталкивающиеся в быту с использованием бензина, резинового клея, различных растворителей, пятновыводителей, а также подвергающиеся влиянию табачного дыма (Wilkins-Naug, 1997).

Основной путь абсорбции толуола в организм – дыхательная система, желудочно-кишечный тракт и кожные покровы, причем, попадая в организм путем ингаляции, молекулы толуола диффундируют в кровь быстрее. После абсорбции толуол быстро накапливается в высоко васкуляризированных органах – мозге, печени, почках и, конечно, в жировой ткани. Период полураспада в организме млекопитающих – 1-2.6 часа (Cruz et al., 2014).

В организме 95% толуола метаболизируется в печени. Преобразование толуола в бензиловый спирт, окисляющийся до бензойной кислоты и последующее преобразование последней до ее глицинового конъюгата – гипсуровой кислоты, которая выводится из организма через мочевыделительную систему – основной путь детоксикации и элиминации

этого поллютанта. Этот путь связан с цитохром-Р450-катализируемой реакцией, которая происходит прямо в печени, а именно с изоформой цитохрома Р450 2Е1 (СУР2Е1) (Nakajima, Wang, 1994). Небольшое количество толуола в организме, как было показано, метаболизируется до крезола (токсичность сопоставима с фенолом), образование этого фенольного метаболита также связано с участием цитохрома Р450 (Low et al., 1988). Также показано, что толуол усиливает свой метаболизм, индуцируя СУР2Е1 в печени и лимфоцитах периферической крови (СУР2Е1 regulation by benzene..., 2003).

Молекулярные механизмы токсического действия толуола на организм связаны с такими процессами, как оксидативный стресс, воспаление, апоптоз, а также этот экотоксикант оказывает генотоксическое действие (Murata et al., 1999; Genotoxicity and apoptosis in Drosophila..., 2011; Evaluation of genotoxicity..., 2012; СУР2Е1 epigenetic regulation..., 2015).

В работах *in vivo* на крысах (Mattia et al., 1993) и *in vitro* на клеточных культурах (Induction of apoptosis in human..., 2011) показано, что воздействие толуола приводит к достоверному доза-зависимому увеличению индукции активных форм кислорода (АФК) и оксидативному стрессу. Причиной этого является работа фермента СУР2Е1, активация которого различными летучими органическими соединениями приводит к индукции активных форм кислорода (Ethanol and oxidative stress..., 2001). В свою очередь, активные формы кислорода, такие, как пероксид водорода (H_2O_2), супероксид анион ($O_2^{\cdot-}$) и гидроксильный радикал ($OH\bullet$), в больших концентрациях способны взаимодействовать с биологическими макромолекулами, приводя к инактивации различных ферментов, перекисному окислению жиров, повреждению ДНК и клеточной гибели (Надеев, Гончаров, 2014).

Помимо этого, показано, что некоторые продукты метаболизма толуола (бензиловый спирт и бензиловый альдегид) обладают более высокой способностью к индукции АФК в печени, чем он сам (Mattia et al., 1993).

В результате увеличения количества АФК под действием данного экотоксиканта выявлено достоверное повышение концентрации фермента НМОХ1 (heme oxygenase-1) в организме (Induction of apoptosis in human..., 2011), играющего важную роль в развитии оксидативного стресса, воспаления и др. (Regulation of heme..., 2004). Также увеличивается концентрация фермента Ноха, который является медиатором апоптотической сигнализации (BH3-only proteins that..., 2001). И показано, что экспрессия этих двух ферментов не изменяется при предварительной обработке клеток N-ацетил цистеином, который, как известно, является акцептором активных форм кислорода (Induction of apoptosis in human..., 2011). Вышесказанное свидетельствует о непосредственном участии АФК в развитии таких

токсических эффектов толуола, как апоптоз, воспаление и оксидативный стресс. Основной причиной повреждения ДНК и генотоксического действия толуола также считается повышение концентрации активных форм кислорода в результате метаболизма этого ароматического углеводорода (Genotoxicity and apoptosis in Drosophila..., 2011).

Надо отметить, что большую роль в развитии токсических эффектов толуола на клеточном уровне играют доза и время воздействия (Induction of hsp70, hsp60..., 2009; Genotoxicity and apoptosis in Drosophila..., 2011), а также сопутствующие факторы (Micronuclei in bone marrow..., 2014).

1.3.2 Влияние толуола на живые организмы

Несмотря на то, что в отличие от бензола толуол не считается канцерогеном (Toxicological profile for toluene..., 2000), есть работы, свидетельствующие о противоположном. Показано, что у людей, регулярно сталкивающихся с воздействием этого ароматического углеводорода, как, например, работников лакокрасочной и нефтехимической промышленности, чаще развиваются злокачественные образования различной локализации (Lundberg, Milatou-Smith, 1998), а именно, рак пищевода, различных отделов кишечника, дыхательных путей и легких (Associations between several sites..., 1998).

Как упоминалось ранее в процессе метаболизма этого ароматического углеводорода принимает непосредственное участие цитохром P450 2E1. Несмотря на то, что активация CYP2E1 актуальна в случае воздействия толуола, так как этот фермент принимает участие в процессе детоксикации ксенобиотиков (Guengerich, Shimada, 1991), ввиду способности этого энзима к метаболическому преобразованию более 85 ксенобиотиков в соединения, обладающие гепатотоксичными и канцерогенными свойствами, данный процесс можно рассматривать, как первое свидетельство химически индуцированного канцерогенеза (Lieber, 1997; Gonzalez, 2005). Кроме того, показано, что воздействие толуола вызывает *de novo* метилирование в CpG позициях промоторного участка гена *CYP2E1* (CYP2E1 epigenetic regulation..., 2015). Что свидетельствует о влиянии толуола на механизмы эпигенетической регуляции экспрессии генов, а именно выключение генов (Hackett, Surani, 2013), а это также играет важную роль в процессах клеточного патогенеза и канцерогенеза (Szyf, 2011).

Как упоминалось ранее, толуол – липофильное соединение, действию которого сильно подвержены органы и системы органов, характеризующиеся сильным кровоснабжением и высокой васкуляризацией. Одной из первых от действия этого экотоксиканта страдает нервная система. Хроническое воздействие этого ароматического

углеводорода приводит к морфофункциональным и нейробиологическим нарушениям нервной системы человека, например, к лейкодистрофии – повреждению белого вещества мозга (Filley, Kleinschmidt-DeMasters, 2001; Filley et al., 2004). Причем аксоны более подвержены негативному воздействию толуола, нежели дендриты (Cranial MR findings..., 2002). Также после воздействия этого экотоксиканта наблюдаются изменения в работе нейрогормонов, нейромедиаторов и их рецепторов, а именно, увеличению концентрации дофамина и активности дофаминэргических нейронов (Behavioral and neurochemical effects..., 2003; Effects of inhaled toluene..., 2003), серотонина (Behavioral and neurochemical effects..., 2003) ацетилхолина (Honma, Suda, 2004), глутамата, глутамина и моноаминоксидазы (Toluene induces rapid..., 2007; Binge toluene exposure..., 2011). Также показано, что воздействие толуола приводит к изменению работы как потенциал-, так и лиганд-зависимых ионных каналов, отвечающих за возбудимость нейронов (Cruz et al., 2014). На мышах показано, что толуол вызывает снижение концентрации внеклеточного ацетилхолина в таких отделах мозга, как стриатум (принимает участие в процессах регуляции мышечного тонуса, работы внутренних органов, формирования условных рефлексов, а также в осуществлении поведенческих реакций) и гиппокамп (участвует в механизмах формирования эмоций, консолидации памяти и процессах удержания внимания) (Honma, Suda, 2004). Исходя из вышесказанного, на организменном уровне действие толуола может вызывать нарушение памяти, снижение IQ (intelligence quotient – уровень интеллекта), повышение импульсивности и снижение рассудительности (Toluene misuse and long-term..., 2008), проблемы с координацией (атаксия), головокружение, головные боли и галлюцинации (Benignus, 1981; Cruz et al., 2014), а также другие патологии, связанные с нарушением работы нервной системы. Кроме того, показано, что этот экотоксикант вызывает эффекты, подобные амфитамину и фенциклидину, а именно эйфорию и расслабленность, то есть, оказывает наркотическое действие на организм (Cruz et al., 2014).

Ввиду того, что детоксикация толуола происходит в печени, этот орган сильно подвержен негативному действию данного углеводорода. Как упоминалось ранее, в процессе метаболизма толуола выделяется большое количество АФК, которые и являются одной из основных причин токсического действия этого экотоксиканта. В печени источником активных форм кислорода помимо фермента CYP2E1 являются Купферовские клетки и нейтрофилы. В результате непосредственного воздействия толуола Купферовские клетки продуцируют провоспалительные цитокины, такие, как интерлейкины IL-1, IL-6 и фактор некроза опухолей TNF- α , любой из этих факторов способен индуцировать продукцию АФК нейтрофилами (Toxic hepatitis in occupational..., 2012). Вышеупомянутые

цитокины обладают способностью регулировать активность генов, индуцирующих и/или способствующих развитию апоптотических процессов, или генов, стимулирующих пролиферацию клеток печени, кроме того они могут опосредовать многие патологические процессы в печени, такие как воспаление, липогенез, фиброгенез и холестаз (застой желчи) (Tilg, 1993).

В работах *in vivo* и *in vitro* показано, что в результате действия толуола на организм наблюдается повышение концентрации малондиальдегида (MDA) (конечный продукт перекисного окисления липидов) и снижение концентрации глутатиона (GSH) и ферментов тканевой антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы (SOD) и глутатионпероксидазы (GSH-Px) в клетках печени (Effect of thinner inhalation..., 2000; The oxidative and morphological effects..., 2005; Effect of toluene on erythrocyte..., 2009), что свидетельствует об окислительном стрессе.

О повреждении тканей печени свидетельствует увеличение концентрации аланинаминотрансферазы (AST), аспартатаминотрансферазы (ASP), щелочной фосфатазы (ALP) и сывороточного билирубина, а также снижение концентрации сывороточного альбумина (Bae, Yoon, 2001; Hepatotoxic activity of toluene..., 2011), данные соединения широко используются в медицине для выявления патологий печени.

С точки зрения морфофункциональных изменений в результате воздействия толуола можно выделить следующие: на клеточном уровне это некроз и фиброз клеток печени, нарушение клеточной архитектуры, гиперплазия Купферовских клеток (Hepatotoxic activity of toluene..., 2011; Toxic hepatitis in occupational..., 2012); на органном уровне к патологическим изменениям печени можно отнести гипертрофию печени, балонную дистрофию, жировое перерождение различных участков этого органа (Hepatotoxic activity of toluene..., 2011). В конечном итоге хроническое воздействие толуола может привести к полной потере функциональности печени и летальному исходу.

Ранее упоминалось, что конечным продуктом метаболизма толуола в организме является гиппуровая кислота, которая выводится с мочой. Однако гиппуровые анионы могут выводиться не только в комплексе с аммонием, но и с натрием и калием, что ведет к развитию гипокалиемии, результатом чего может быть хроническая усталость, мышечная спастичность, сердечная аритмия, почечноканальцевый ацидоз и другие осложнения (Cruz et al., 2014).

Репродуктивная система также страдает от токсического действия толуола. Показано, что хроническое воздействие этого экотоксиканта приводит к снижению репродуктивного возраста (Hannigan, Bowen, 2010) и плодовитости женщин в связи со снижением фертильности (фактический репродуктивный потенциал, измеряемый в

количестве гамет) (Environmental factors in infertility..., 2000). Токсический эффект толуола в мужской репродуктивной системой связан со снижением числа и подвижности сперматозоидов, увеличением количества морфологических нарушений строения этих клеток и, в связи с этим, пониженной способностью к оплодотворению (Reproductive and developmental toxicity..., 1996). Наличие липофильных свойств позволяет толуолу легко проникать через биологические мембраны, включая плацентарный барьер, что приводит к нарушениям в развитии, образованию различных патологий и даже внутриутробной гибели плода (Reproductive and developmental toxicity..., 1996; Cruz et al., 2014).

Таким образом, токсичность толуола не вызывает сомнений. Данный экотоксикант благодаря своим липофильным свойствам оказывает неблагоприятное влияние практически на все системы органов организма. В различных работах показаны общая токсичность высоких концентраций и хронического воздействия толуола, его способность к индукции АФК, окислительного стресса и апоптоза, мутагенность и генотоксичность.

1.4 Биологическое действие малых доз ионизирующих излучений

Ионизирующие излучения (ИИ) – абиотический фактор окружающей среды, сопровождающий ее с начала существования нашей Вселенной (Банников, 1990). Ионизирующее излучение радиационного фона планеты и космического излучения влияло и влияет на биоту Земли и ее эволюцию (Moller, Mousseau, 2013; Shahbazi-Gahrouei et al., 2013). После открытия ионизирующего излучения в конце XIX столетия и к 1987 году сформировалась устойчивая парадигма, утверждающая, что ионизирующее излучение вредно и только вредно для живых организмов, однако уже с 1955 г. публикуются экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что ионизирующие излучения природного радиоактивного фона необходимы для нормальной жизнедеятельности живых организмов (Кузин, 2002).

В последние десятилетия усилился вклад антропогенного радиационного загрязнения в результате испытаний ядерного оружия, деятельности атомных электростанций, использования неорганических удобрений, содержащих радиоизотопы, в сельском хозяйстве (Anthropogenic radioactivity in..., 1999; Survey on radioactive contamination..., 2013; Kozhakhonov et al., 2014). Кроме того, дополнительными источниками радиоактивного воздействия являются некоторые медицинские процедуры, авиаперелеты и некоторые виды промышленности (McGeoghegan, Binks, 2000; Applicability of discovery science..., 2004; American College of Radiology..., 2007; Radiation dose associated..., 2009). Даже очень малые дозы (МД) ионизирующего излучения повышают риск возникновения серьезных патологических заболеваний человека и нарушений в

компонентах экосистем (Morgan, Bair, 2013). Особое значение имеют отдаленные последствия облучения – злокачественные и доброкачественные новообразования, широкий спектр неопухолевых заболеваний различных органов, изменение продолжительности жизни и эффекты, оказываемые на потомство родителей, облученных как до, так и после зачатия (Москалёв, 1991; Moskalev et al., 2009).

Доза ионизирующего излучения – это рассчитанная на единицу массы облученного вещества поглощенная энергия (Бердоносков, Сапожников, 2001; Цыб и др., 2005). Понятие малых доз ионизирующего излучения варьирует в зависимости от видовой принадлежности, возраста организма и изучаемых тканей, типа клеток и стадии клеточного цикла (Моссэ, 1990). Так, одним из наиболее радиостойчивых организмов на Земле на данный момент считается бактерия *Deinococcus radiodurans*, обнаруженная в канале ядерного реактора, чьи колонии не только не погибали, но и размножились в условиях повышенной радиации (Blasius et al., 2008). А наиболее чувствительными к действию ионизирующего излучения считаются активно пролиферирующие ткани. Так, например, показано, что чувствительность личинок особей *Drosophila melanogaster* сопоставима с чувствительностью млекопитающих (Radiation effects on human..., 2013), в то время, как для имаго данного вида характерна радиостойчивость, которая почти в 100 раз выше, чем у млекопитающих, что связано не только с особенностями морфологического строения представителей данного вида, но и с тем, что практически все клетки взрослых особей *Drosophila melanogaster* находятся на постмитотической стадии развития (Ogaki, Nakashima-Tanaka, 1966).

Несмотря на то, что эффекты воздействия ИИ во многом сопоставимы с эффектами стрессового влияния других факторов окружающей среды (Stress and radiation-induced activation..., 2003), принципиальное отличие повреждающего действия ИИ заключается в преобладающей роли повреждения ДНК (Ravanat et al., 2001; Lavelle, Foray, 2014).

ИИ может вызывать как прямое повреждение макромолекул клетки при передаче энергии атомам (ионизации), так и действовать опосредованно путем свободнорадикальных реакций (Moskalev et al., 2009). В обоих случаях происходит образование модифицированных оснований, одно- и двунитевых разрывов ДНК, перекрестных сшивок ДНК-ДНК и ДНК-белок (Газиев, 1999), окислительных модификаций и агрегатов белков (Protein carbonyls and traditional..., 2013); увеличение частоты клеточной гибели (Long-term cellular effects..., 2010), увеличение частоты образования микроядер, хромосомных перестроек и транслокаций, дицентрических хромосом, преждевременной конденсации хромосом во время митоза (Ionizing radiation biomarkers..., 2012). Однако вышеперечисленные эффекты более характерны для больших доз ИИ.

Надо отметить, что понятие малых доз в радиационной биологии обычно связано с величиной дозы, при которой эффект начинает проявляться, малыми считают дозы, при которых не наблюдается заметных изменений жизнедеятельности организма, в связи с этим некоторые авторы предлагают считать малыми дозы меньше 20 сГр (Mining gene expression data..., 2014).

Биологическое действие ИИ в области МД имеет две характерные особенности - немишенный характер и нелинейность действия. Немишенный характер проявляется в возникновении радиационно-индуцированных эффектов в клетках и тканях, напрямую не подвергавшихся облучению, (эффект свидетеля и опосредованный им адаптивный ответ, а также абскопальный эффект соответственно) и генетической нестабильности, которая способна передаваться на протяжении нескольких клеточных делений или потомкам облученных родителей и обуславливать отдаленные последствия генотоксического стресса (Dubrova, 2005). Надо отметить, что не смотря на наличие большого количества высококачественных работ, посвященных исследованию немишенного действия ИИ в области МД, такие аспекты этого вопроса, как основные механизмы, связанные с ДНК-ненаправленным эффектом данного воздействия, связь между немишенным характером и различиями стресс-ответа различных организмов и клеточных линий, остаются малоизученными и вызывают множество споров и вопросов (Non-targeted effects of ionising..., 2013).

Модель нелинейного действия ИИ в МД противопоставлена линейной безпороговой гипотезе, согласно которой повреждающее действие данного фактора прямопропорционально накопленной дозе (Pollycove, Feinendegen, 2003), однако надо отметить, что данное утверждение справедливо только в отношении больших доз. Согласно теории Поликова и Файнендигена (Pollycove, Feinendegen, 2003; Feinendegen, 2005), эффект нелинейности формируется благодаря сочетанию трех факторов: линейный прирост числа повреждений ДНК в результате увеличения дозы облучения; высокий фоновый уровень повреждений эндогенного происхождения; нелинейный ответ различных систем стресс-ответа клеток и организма. Именно последняя компонента вносит основной вклад в развитие вышеописанного явления.

Эффект действия ИИ в МД может отклоняться как в сторону увеличения негативных последствий по сравнению с линейной зависимостью «доза-эффект» (гиперрадиочувствительность) (Low-dose radiation hypersensitivity..., 2004; Effect of Low Doses (5-40 сGy)..., 2015), так и в сторону их уменьшения до величин, находящихся ниже контрольного уровня (радиационный гормезис) (Moskalev et al., 2007; Effect of Low Doses (5-40 сGy)..., 2015). Кроме того, после облучения в МД у клеток и организмов может

повышаться устойчивость к острому действию стрессоров радиационной и нерадиационной природы (радиоадаптивный и адаптивный ответ) (Moskalev et al., 2009; Moskalev et al., 2011; Low-dose radiation induces..., 2013; Tang, Loke, 2015).

Реакция клетки и организма на действие ИИ в МД обусловлена стохастическими эффектами (возникновением мутаций, генетической нестабильностью, бласттрансформацией и т.д.) и активным ответом живой системы на воздействие (Non-targeted effects of ionising..., 2013). Последние зависят от способности транскрипционного аппарата клетки быстро реагировать на воздействие и изменять паттерны генной экспрессии. В результате воздействия ИИ в МД часть генов увеличивает экспрессию, тогда как активность других генов снижается. При этом изменение транскрипционной активности может являться специфическим для определенного диапазона доз (Gene expression profiles..., 2007).

Поскольку ИИ характеризуется, прежде всего, генотоксическим воздействием, одними из первых изменяют экспрессию гены детоксикации свободных радикалов и ответа на повреждение ДНК. Так, при действии ИИ в МД происходит активация генов антиоксидантной защиты (Gene expression profiles..., 2007; Genome-wide analysis..., 2011). У дрожзифил после γ -облучения в дозе 20 сГр увеличивается экспрессия генов глутатион трансферазы (*GstS1*), тиоредоксин редуктаз (*Trxr-1*, *Trxr-2*) и эндопептидаз (*Jon65Ai*, *Jon65Aiv*, *Jon66Ci*, *Jon99Ci*, *Jon99Cii*, *Mmd*) (Genome-wide analysis..., 2011).

Обнаружение повреждений ДНК и запуск каскада ответных реакций обеспечивают киназы АTR и АТМ и транскрипционные факторы p53, FOXO и NF- κ B. Они регулируют контрольные точки клеточного цикла, репарацию ДНК и апоптоз, обеспечивая выживание клеток и поддержание стабильности генома (Gene expression profiles..., 2007; Low dose radiation response..., 2011; Transcription profile of DNA..., 2012). Повышение количества транскриптов генов данных белков детектируется в диапазоне доз от 1 сГр (Low dose radiation response..., 2011). Кроме того, ответные реакции клетки на действие МД ИИ опосредуются митоген-активируемыми протеинкиназами (МАРК), регулирующими апоптоз, выживание клеток и развитие организма.

При радиационном воздействии в области МД показана активация генов эксцизионной репарации нуклеотидов и оснований (*GADD45a*, *XPC*, *PCNA*, *DDB2*) (Dose-dependent expression changes..., 2007; High and low dose responses..., 2013) и гомологичной рекомбинации (*RAD51L1*) (Gene expression profiles..., 2007). Воздействие ИИ в дозах 2-60 сГр на клетки млекопитающих индуцирует экспрессию генов контроля клеточного цикла (*CDKN1A*, *Cyclin E*, *GADD45a*) и апоптоза (*BAX*) (Gene expression profiles..., 2007; Low dose radiation response..., 2011; Transcription profile of DNA..., 2012).

ИИ в МД вызывает значительные изменения профилей экспрессии генов, вовлеченных в метаболизм белков и аминокислот, нуклеиновых кислот, липидов и жирных кислот, гормонов и других веществ (Genome-wide analysis..., 2011; Low dose radiation response..., 2011; Transcriptional response of BALB/c..., 2012). Например, воздействие γ -излучения в дозе 20 сГр на яйца дрозофил повышало активность 30 % рибосомальных генов у развивавшихся имаго, обеспечивая высокий уровень трансляции (Genome-wide analysis..., 2011). Облучение лимфобластоидов человека в диапазоне доз 1-10 сГр изменяет активность генов ответа на стресс эндоплазматического ретикулума (*EIF2AK3*, *XBPI1*, *HSPA5*), продукты которых участвуют в формировании вторичной и третичной структуры белков (Low dose radiation response..., 2011). Кроме того, ИИ в МД индуцирует гены энергетического метаболизма, связанные с циклом трикарбоновых кислот, транспортом электронов и синтезом АТФ (Genome-wide analysis..., 2011; Low dose radiation response..., 2011). Таким образом, МД ИИ стимулируют процессы биосинтеза, которые необходимы для выживания клеток в условиях стресса, однако требуют больших энергетических затрат.

Большую долю среди генов, повышающих экспрессию при облучении в МД, имеют гены внутриклеточного и межклеточного транспорта катионов и анионов, кислорода, нуклеотидов, аминокислот, жирных кислот, глюкозы, а также регуляторных белков и гормонов (Genome-wide analysis..., 2011; Low dose radiation response..., 2011; Transcriptional response of BALB/c..., 2012).

МД ИИ влияют на гены, связанные с развитием организма, клеточной дифференциацией и пролиферацией, иммунным ответом (Genome-wide analysis..., 2011; Transcriptional response of BALB/c..., 2012). Например, облучение мышей в дозе 5 сГр повысило экспрессию генов общего иммунного ответа и селекции Т-клеток в тимусе (Transcriptional response of BALB/c..., 2012). У дрозофил при воздействии γ -излучения в дозе 20 сГр показана индукция генов антимикробного ответа (*LysB*, *LysS*, *Lola*, *Mask*, *Rab11*) (Genome-wide analysis..., 2011).

В последние десятилетия повысилось внимание к эпигенетическим механизмам клеточного ответа на действие ИИ. Показано участие метилирования ДНК и модификаций гистонов в регуляции генной экспрессии в ответ на облучение в МД (Pnytskyu, Kovalchuk, 2011) и формировании специфических биологических эффектов. Например, предполагают, что состояние генетической нестабильности связано с дерегуляцией метилирования ДНК, которое обеспечивает «клеточную память» об облучении предшествующих поколений клеток (Methyltransferases mediate cell..., 2011). Еще одним важным эпигенетическим элементом являются некодирующие РНК. При воздействии ИИ в МД происходит количественное и качественное изменение уровня экспрессии микро РНК (миРНК),

обратно пропорционально концентрациям экспрессии их мишеней (Changes in MicroRNA expression..., 2008). В нормальных фибробластах кожи человека хроническое и острое воздействие γ -излучения в дозе 10 сГр повышает уровень микро РНК (миРНК) семейства *miR-let-7*, которые негативно регулируют онкоген *RAS*. Снижение экспрессии последнего уменьшает риск возникновения рака легких, поджелудочной железы и кишечника (Micro RNA responses..., 2012). Мишенями миРНК *miR-21*, также экспрессирующейся при воздействии ИИ в дозах 10-20 сГр, являются гены апоптоза и супрессии опухолей (*hPDCD4*, *hPTEN*, *hSPRY2*, *hTPM1*, *Myb*). Их активность падала после острого облучения, но, напротив, возрастала при хроническом воздействии (Micro RNA responses..., 2012). Ген *c-MYC*, являющийся транскрипционным фактором и регулирующий до 15% всех генов человека (Gearhart et al., 2007) и участвующий в формировании структуры хроматина (N-Myc regulates a widespread..., 2008) регулируется миРНК *miR-17-3p*, *miR-17-5p*, *miR-142-3p*, *miR-142-5p*, *miR-18a*, *miR-19b*. Активность этих миРНК значительно снизилась при γ -облучении в дозе 10 сГр. При этом экспрессия самого *c-MYC* повышалась или не изменялась по сравнению с необлученным контролем (Micro RNA responses..., 2012). Таким образом, ИИ в МД оказывает благоприятное антиканцерогенное влияние на клетки посредством перечисленных миРНК. Также имеются данные о регуляции с помощью миРНК активности генов ответа на повреждение ДНК (*CDK6*, *GADD45a*), обмена веществ (*PPAR α*) и регуляции транскрипции (*SMAD4*) при радиационном воздействии в дозах 6.25-50 сГр (Low dose irradiation..., 2012).

Таким образом, несмотря на отсутствие ярко выраженных повреждающих эффектов, можно сделать вывод о том, что малые дозы ионизирующего излучения оказывают сильное влияние на функционирование и жизнеспособность организма, связанные, в первую очередь, с изменениями в работе генетического аппарата клеток организма.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Линии *Drosophila melanogaster*

Для проведения экспериментов в рамках данной работы использовали линию дикого типа *Canton-S*, линия получена из коллекции дрозофилиного Центра в Блумингтоне, Университета штата Индиана (Блумингтон, США). А также линии, содержащие конструкции, меченные репортерным белком GFP: *Defensin-GFP*, *Drosomycin-GFP*, *Metchnikowin-GFP* (любезно предоставлены Dr. Won-Jae Lee, Сеульский университет, Корея) – содержат GFP-репортеры генов антимикробных пептидов, активируемых по Toll-зависимому сигнальному пути. *D-GADD45-GFP* (сконструирована по заказу лаборатории молекулярной радиобиологии и геронтологии Института биологии Коми НЦ УрО РАН, GenetiVision, Техас, США) – содержит GFP-репортер гена ответа на повреждение ДНК *D-GADD45*. *GstD1-GFP* (любезно предоставлена John Tower, Университет Южной Калифорнии, США) – содержит GFP-репортер гена глутатион-S-трансферазы, отвечающей за детоксификацию ксенобиотиков и принимающей участие в антиоксидантной защите. *Hsp22-GFP* и *Hsp70-GFP* (любезно предоставлены John Tower, Университет Южной Калифорнии, США) – содержат GFP-репортеры генов белков теплового шока 70 и 22.

2.2 Условия содержания *Drosophila melanogaster*

Мухи в течение всей жизни содержались в климатических камерах Binder KBF720-ICH (Binder, Германия) при 25°C, относительной влажности 60% и 12-ти часовом режиме освещения, в пробирках объемом 20 мл с 5 мл стандартной агарно-дрожжевой питательной среды. В состав питательной среды входит (на 1 л воды): дрожжи сухие – 8 г, агар – 7 г, сахар – 30 г, крупа манная – 30 г, кислота пропионовая – 4 мл (Ashburner, 1989). Для получения экспериментальной выборки дрозофил самцов и самок рассаживали в пробирки по 10 пар, культивировали в течение 24 часов. После появления имаго мух анестезировали при помощи системы CO₂ анестезии The Flowbuddy (Genesee Scientific, USA) и рассаживали на свежую питательную среду по 30 шт. на пробирку, самцов и самок отдельно, два раза в неделю мух пересаживали на свежую питательную среду.

2.3 Обработка экотоксикантами и ионизирующим излучением

В 5-ти дневном возрасте мух подвергали воздействию исследуемых факторов. Обработку ионизирующим излучением в дозе 20 и 40 сГр проводили с помощью источника гамма-излучения ²²⁶Ra. Мощность экспозиционной дозы составила 36 мГр/ч, время воздействия – 5 ч 34 мин и 11 ч 8 мин, соответственно.

Для оценки эффектов 2,3,7,8-тетрахлордibenзо-*p*-диоксина (ТХДД) мух помещали в пробирки, содержащие питательную среду (5 мл) с 0.822 и 1.644 мкмоль/л ТХДД (ООО «Экохим», Россия) и выдерживали в течение 3 сут. В качестве растворителя ТХДД был использован толуол и его концентрация в среде составила 50 и 100 мкмоль/л, соответственно.

При обработке толуолом мухи помещались в баночки с питательной средой (5 мл) с содержанием толуола (Sigma-Aldrich, USA) 50 и 100 мкмоль/л и выдерживали в течение 3 сут (Measurements of the cytosolic Ah..., 1985).

Для обработки парами формальдегида мух помещали в специально сконструированные баночки и в течение 24 ч. содержали в парах 7% и 14% раствора формальдегида. Раствор формальдегида изготавливали на основании формалина (Panreac Química S.L.U., Spain), разбавленным дистиллятом до нужной концентрации.

2.4 Анализ продолжительности жизни

Для анализа продолжительности жизни использовали по 150-170 особей на вариант эксперимента, по 3 повторности для каждого варианта. Самцы и самки содержались отдельно. Мух пересаживали на свежую среду 2 раза в неделю, ежедневно подсчитывали количество умерших особей.

По результатам обработки полученных данных строили функции дожития (Kaplan, Meier, 1958). Рассчитывали медианную продолжительность жизни и возраст смертности 90% популяции (максимальную продолжительность жизни), такой показатель как выборочное среднее исключили из анализа, так как этот параметр исключительно чувствителен к появлению в выборке даже небольшого числа экстремальных значений (Крутько и др., 2002; Крутько, Донцов,

2008). Статистический анализ данных производили с использованием непараметрических методов (Pyke, Thompson, 1986; Tollefsbol, 2013). Сравнение функций дожития проводили с использованием модифицированного критерия Колмогорова-Смирнова (Modifid Kolmogorov-Smirnov test..., 1980). Статистически значимые изменения медианной продолжительности жизни выявляли с помощью критерия Гехан-Бреслоу-Вилкоксона (Breslow, 1970) (оценивает достоверность изменений в верхней части кривой) и Мантеля-Кокса (Cox, 1959; Mantel, 1966; Cox, Oakes, 1984) (оценивает достоверность изменений в нижней части кривой), максимальной продолжительности жизни – с помощью критерия Ванг-Алисона (Statistical methods for testing..., 2004).

Хорошо известно, что уравнение Гомпертца применимо для оценки изменений продолжительности жизни особей *Drosophila melanogaster* (Гаврилов, Гаврилова, 1991), поэтому мы аппроксимировали все кривые дожития уравнением Гомпертца (1):

$$\mu(x) = \exp R_0(\alpha x) \quad (1)$$

Рассчитывали параметры α and R_0 данного уравнения (Tollefsbol, 2013), характеризующие уровень зависимой от возраста смертности и уровень начальной смертности, соответственно (Крутько и др., 2002; Крутько, Донцов, 2008). После вычисления необходимых параметров рассчитывалось время удвоения интенсивности смертности (MRDT) по формуле (2) (Tollefsbol, 2013):

$$\text{MRDT} = \frac{\ln 2}{\alpha} \quad (2)$$

Для оценки достоверности изменений данного показателя использовался метод максимального правдоподобия (Pletcher, 1999).

Также проводили анализ интенсивности смертности изучаемых особей $\hat{\mu}(x)$, которая равна числу умерших в интервале времени $[x, x + \Delta x]$, деленному на число живых особей в возрасте x и на ширину интервала, уравнение (3) (Крутько и др., 2002; Крутько, Донцов, 2008):

$$\hat{\mu}(x) = \frac{l(x) - l(x + \Delta x)}{l(x)\Delta x} \quad (3)$$

Полученные данные визуализировали в виде логарифма интенсивности смертности, аппроксимированные линией тренда, рассчитывали уравнение прямой и коэффициент аппроксимации R^2 , характеризующий качество аппроксимации.

Для анализа полученных данных использовали следующее программное обеспечение: STATISTICA, версия 6.1 (StatSoft Inc, USA), пакет программ Microsoft Office Excel (Microsoft, USA). Вычисление параметров продолжительности жизни и их статистический анализ проводили с использованием среды для статистического программирования R (<http://www.r-project.org/>) и онлайн сервиса OASIS (OASIS: online application..., 2011), программа WinModest версия 1.0.2. (Pletcher, 1999) использовалась для вычисления параметров интенсивности смертности.

2.5 Оценка возрастной динамики плодовитости самок *Drosophila melanogaster* после изучаемых воздействий

Для анализа возрастной динамики плодовитости самок *Drosophila melanogaster* отбирали по 60-75 виргинных самок на вариант эксперимента, которых рассаживали по 3 штуки в пробирки, содержащие стандартную агарно-дрожжевую питательную среду, подкрашенную активированным углем, в каждую пробирку помещали по 3 самца линии

дикого типа *Canton-S*. Мух после обработки экотоксикантами и ИИ содержали при одинаковых условиях, 2 раза в неделю переносили на свежую среду. Вели учет числа умерших самок. Раз в месяц старых самцов линии *Canton-S* заменяли на молодых. Раз в неделю оценивали количество яиц, отложенных самками за одни сутки (фекундность). Также подсчитывали количество имаго, развившихся из яиц на 10-14 сутки после кладки (фертильность). Достоверность различий между точками оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. Для статистической обработки полученных данных использовали программу Statistica 6.1 (Stat Soft Inc, USA).

2.6 Оценка возрастной динамики локомоторной активности особей *Drosophila melanogaster* после изучаемых воздействий

Для оценки спонтанной локомоторной активности в каждом варианте эксперимента анализировали 3 пробирки (по 10 мух в каждой). Активность самцов и самок оценивали отдельно. Мух содержали при одинаковых условиях (стандартная агарно-дрожжевая среда, температура 25 °С, 12-часовой режим освещения), 2 раза в неделю переносили на свежую среду. Измерение спонтанной локомоторной активности осуществляли с помощью аппаратно-программного комплекса Locomotor Activity Monitor (TriKinetics Inc. Waltham, USA). Достоверность различий между точками оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни. Для статистической обработки полученных данных использовали программу Statistica 6.1 (Stat Soft Inc., USA).

2.7 Оценка влияния изучаемых воздействий на экспрессию генов стресс-ответа методом GFP-репортеров

Экспрессию исследуемых генов оценивали путем регистрации изменения уровня флуоресценции репортерного белка GFP. Для этого пятидневных самцов *Drosophila melanogaster* исследуемых линий подвергали воздействиям стресс-факторов; у анестезированных особей с помощью люминесцентного микроскопа «МИКМЕД-2 вар.11» (ЛОМО, Россия) и видеосистемы на основе цифровой камеры Olympus C7070 (Olympus, Japan) визуализировали уровень флуоресценции через 24-48-72 ч после воздействия. Количественный и качественный анализ снимков проводили с помощью программы ImageJ 2x 2.1.4.7. Вычисляли коэффициент CTCF (Corrected total cell fluorescence) в пикселях. Статистическую обработку результатов выполняли с использованием t-критерия Стьюдента (Yang, Tower, 2009). Данный анализ проводили только у самцов в связи с высоким уровнем флуоресценции половой системы самок, что приводит к получению плохо анализируемых данных.

2.8 Оценка влияния изучаемых воздействий на экспрессию генов стресс-ответа методом qRT-PCR анализа

Экспрессию генов измеряли методом количественного ПЦР в «реальном времени» с этапом обратной транскрипции (ОТ-ПЦР). РНК выделяли с помощью Aurum Total RNA mini kit (Bio-Rad) по инструкции изготовителя. Из полученного раствора РНК синтезировали кДНК по инструкции изготовителя: SuperScript III First Strand Synthesis System for RT-PCR (Invitrogen). Реакционную смесь для проведения реакции ПЦР готовили по инструкции изготовителя Applied Biosystems (Invitrogen) с использованием красителя SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems) и праймеров (СИНТОЛ) (табл. 1). Полимеразную цепную реакцию проводили в амплификаторе CFX96 (Bio-Rad), используя следующую программу:

- 1) 95 °C в течение 10 мин
- 2) 95 °C в течение 15 с
- 3) 60 °C в течение 60 с
- 4) этапы 2-3 повторяли 50 раз.

В качестве референсных использовались гены *β-Tubulin*, *Act5c*, *Rpl32*, *EF1alpha* (Evaluation of potential reference..., 2011). После анализа стабильности референсных генов с использованием четырех методов – ΔCT (Selection of housekeeping genes..., 2006), BestKeeper (Determination of stable housekeeping..., 2004), Normfinder (Andersen et al., 2004), Genorm (Accurate normalization of real-time..., 2002) – только три из вышеперечисленных генов были выбраны для оценки дифференциальной экспрессии исследуемых генов стресс-ответа особей *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*, а именно гены *β-Tubulin*, *Act5c*, *Rpl32*, ген *EF1alpha* был исключен из анализа. Значения пороговых циклов (Ct), полученные в результате эксперимента были нормализованы относительно пороговых циклов референсных генов. Относительную экспрессию изучаемых генов рассчитывали по формуле:

$$R_{ij} = \frac{E_i^{-Ct_{ij}}}{\sqrt[n]{E_{r1j}^{-Ct_{r1j}} * \dots * E_{rnj}^{-Ct_{rnj}}}} \quad (4)$$

где R_{ij} – относительная экспрессия гена i в образце j ; E_i , E_{r1j} , E_{rnj} – эффективность реакции для исследуемого и референсного генов, соответственно; Ct_{ij} , Ct_{r1j} , Ct_{rnj} – значения пороговых циклов для исследуемого и референсного гена, соответственно.

Для оценки изменения экспрессии рассчитывали показатель Fold Change (FC):

$$FC = R_{i \text{ exp}} - R_{i \text{ contr}} \quad (5)$$

На гистограммах отображали показатель \log_2FC . Достоверность отличий экспрессии изучаемых генов в опытных образцах от экспрессии в контрольной группе оценивали с использованием U-критерия Манна-Уитни. Кроме того, достоверными считались только те изменения, для которых не только уровень значимости был ниже порогового (0.05), но и показатель $\log_2FC \geq |1|$, т.е., те изменения, значения которых не менее, чем в 2 раза отличались от контрольной группы, что связано с вариабельностью референсных генов (Validation of housekeeping genes..., 2004).

Большую часть описанных математических процедур проводили автоматически с использованием программного обеспечения амплификатора.

Таблица 1

Нуклеотидные последовательности праймеров изучаемых генов стресс-ответа и референсных генов

| Ген | Прямой праймер | Обратный праймер |
|-----------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| <i>β-Tubulin</i> | 5'-GCAACTCCACTGCCATCC-3' | 5'-CCTGCTCCTCCTCGAACT-3' |
| <i>Act5c</i> | 5'-GCCAGCAGTCGTCTAATCCA-3' | 5'-ACACATTTTGTAAGATTTGGTGTGT-3' |
| <i>Rpl32</i> | 5'-ACAGGCCCAAGATCGTGAAG-3' | 5'-TGTTGTTCGATACCCTTGGGC-3' |
| <i>EF1alpha</i> | 5'-CCTGGTTCAAGGGATGGTCC-3' | 5'-TTCCGATGCCTCCGATCTTG-3' |
| <i>Drosomycin</i> | 5'-AAGTACTTGTTTCGCCCTCTTCGC-3' | 5'-ACAGGGACCCTTGTATCTTCCG-3' |
| <i>Metchnikowin</i> | 5'-TCGCCCTTCAATCCTAACCAACC-3' | 5'-ACGACATCAGCAGTGTGAATTTCC-3' |
| <i>Defensin</i> | 5'-GTTCTTCGTTCTCGTGGCTATCG-3' | 5'-ATCCACATCGGAAACTGGCTGAG-3' |
| <i>Mst-1 (Hippo)</i> | 5'-TGGAGTCGAACTTGGGCACTATG-3' | 5'-GATCGAAGTGCTCCAGGAACTG-3' |
| <i>Wrinkled/Hid</i> | 5'-GGAAGCGGATAAGGACAA-3' | 5'-ATGCGGAGGACGAAGATGA-3' |
| <i>D-Gadd45</i> | 5'-CATCAACGTGCTCTCCAAGTC-3' | 5'-CGTAGATGTCGTTCTCGTAGC-3' |
| <i>dSir2 (Sirt1)</i> | 5'-TCCAGGACAGTTAGCAGCAGTG-3' | 5'-GGCTACGATTTTCGCAGCTTCTC-3' |
| <i>FOXO</i> | 5'-TAGCAGTGCCGGATGGAAGAAC-3' | 5'-ACCCTCATAAAGCGGTTGTGCAG-3' |
| <i>JNK (basket)</i> | 5'-TGATGCTGAGGAAGTGGATGCTC-3' | 5'-TGCTCCACAGTGTGTTCCCTTTC-3' |

| | | |
|----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| <i>Hsp70AA</i> | 5'-TCCTCAGCGGAGACCAGA-3' | 5'-CACGTTGCGCCCTCATACA-3' |
| <i>Cyp4e2</i> | 5'-AGGAGCAACGCGAAGTAATGGGTA-3' | 5'-AATCGTCCAATGAAAGGCACGCTG-3' |
| <i>Sod1</i> | 5'-TGCACGAGTTCGGTGACAACAC-3' | 5'-TCCTTGCCATACGGATTGAAGTGC-3' |
| <i>Sod2</i> | 5'-GGAGCACGCCTACTATCTGC-3' | 5'-GTGCTTAGCAACCGAGCTTC-3' |
| <i>Catalase</i> | 5'-TTCCTGGATGAGATGTCGCACT-3' | 5'-TTCTGGGTGTGAATGAAGCTGG-3' |
| <i>Mus209</i> (<i>PCNA</i>) | 5'-TCTGCTCAATGAGGCAACCTTCG-3' | 5'-TGTCCATGGCCTGTAGCTGAATG-3' |
| <i>mus210</i> (<i>XPC</i>) | 5'-AGAAGACGGTGCATTTGAGATTGC-3' | 5'-CCTCGCAAACAATGAAGCCATCG-3' |
| <i>Rrp1</i> | 5'-AGGATGGTCTGCAGTTGATTGAC-3' | 5'-GTTTGCGCACTTGGTTTCCTG-3' |
| <i>Brca2</i> | 5'-TCGTCGCCGTGGAGGATCTTATTT-3' | 5'-TCTGCGTATGTTGGAGACGAGCAA-3' |
| <i>spn-B</i> | 5'-AGATTGCTGCAGATGAGCAAAGCC-3' | 5'-TTTATAACGCACGCCAGGAGAGGT-3' |
| <i>Ku80</i> | 5'-GAGCTTCAGAATGTCGCAACTACC-3' | 5'-GGAAAGTCGTTGAAATCGAAGAGC-3' |
| <i>PARP-1</i> | 5'-TCTCGCCAAGGAGAAGCAAG-3' | 5'-ATAACCTGTTGGTGGTGGCGCTT-3' |

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

Жизнь любого организма неразрывно связана с окружающей средой, в которой он существует. Именно ОС – основной источник необходимых для жизнедеятельности ресурсов органического и неорганического происхождения, энергии. Однако, помимо этого ОС представляет собой источник множества факторов, оказывающих стрессовое воздействие на организм, результатом чего является ответная реакция – стресс-ответ. Стресс – это неспецифический ответ организма на любой внешний раздражитель (Selye, 1973). В основе такого ответа лежит изменение дифференциальной экспрессии генов и, как следствие, изменение различных физиологических показателей, таких как продолжительность жизни, плодовитость, локомоторная активность и др. В рамках данной работы изучалось изменение вышеперечисленных физиологических показателей и экспрессии генов стресс-ответа, как результат воздействия факторов химической (формальдегид, толуол и диоксин) и физической природы (ионизирующее излучение) в разных концентрациях и дозах, соответственно.

Выбранные воздействия являются широко распространенными и опасными факторами окружающей среды, воздействию которых в малых дозах регулярно подвергаются как человек, так и другие организмы (Greenberg, 1982; Liebert, 1984; Wilkins-Naug, 1997; Dioxin- and POP-contaminated sites..., 2008; White, Birnbaum, 2009; Formaldehyde carcinogenicity research..., 2013; Mining gene expression data..., 2014). Исходя из анализа литературных данных нами были выбраны следующие концентрации исследуемых экотоксикантов: толуол – 50 и 100 мкмоль/л, так как ранее Синг и соавторы показали, что толуол в концентрации, не превышающей 1 ммоль/л, не обладает генотоксическим и апоптоз-индуцирующим действием (Genotoxicity and apoptosis in *Drosophila*..., 2011); 2,3,7,8-тетрахлордибензо-пара-диоксин – 0.822 и 1.644 мкмоль/л, при этом в качестве растворителя был использован толуол и его концентрация в среде составила 50 и 100 мкмоль/л, соответственно; как было показано ранее, 7% раствор формальдегида обладает небольшим мутагенным эффектом у дрозофилы (Stumm-Tegethoff, 1969), поэтому мы использовали 7% и 14% раствор формальдегида. ЛД50 при воздействии ИИ на *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* равна 1238 Гр (The effects of age..., 2008), таким образом, выбранные нами дозы – 20 и 40 сГр являются для дрозофилы малыми.

3.1 Влияние изучаемых факторов на основные показатели продолжительности жизни особей *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*

Продолжительность жизни – показатель, характеризующий не только видовые, адаптационные и генетические особенности организма, но и влияние на этот организм

факторов окружающей среды. Об этом свидетельствуют изменения данного показателя у мутантов модельных организмов по ряду генов, белковые продукты которых вовлечены в каскады передачи сигналов. (Геронтология *in silico*..., 2007). Что, безусловно, указывает на значимость роли сигнальных механизмов передачи информации об ОС и содержательной части этой информации на скорость старения.

3.1.1 Влияние формальдегида, толуола и ТХДД на параметры продолжительности жизни особей *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*

По результатам проделанной экспериментальной работы было показано, что воздействие факторов химической природы – паров раствора формальдегида, растворов толуола и диоксина (ТХДД) в концентрации 7%, 50 мкмоль/л и 0.822 мкмоль/л, соответственно, вызвало увеличение таких показателей как медианная (МПЖ) и максимальная продолжительность жизни (возраст смерти 90% популяции), как у самцов, так и у самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* (Рисунок 5, 7).

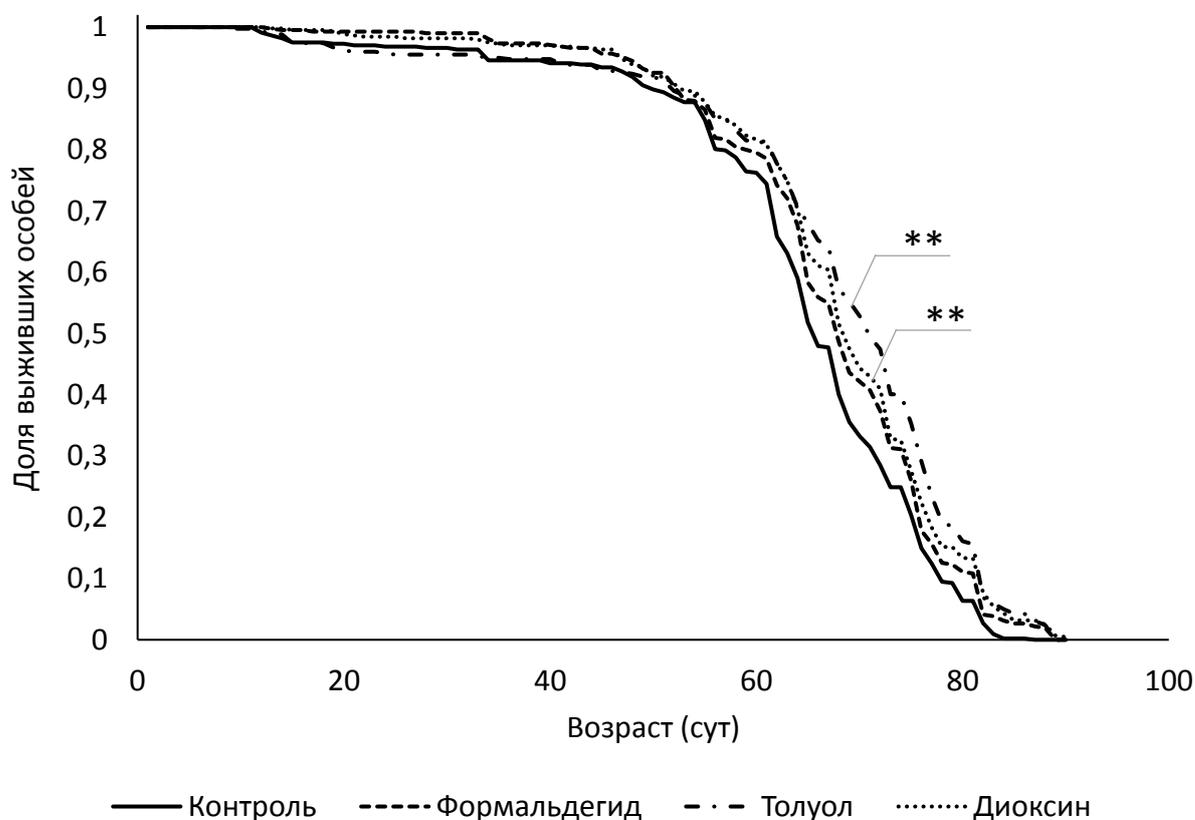


Рисунок 5 – Кривые выживаемости самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (50 мкмоль/л), диоксина (0.822 мкмоль/л) и паров формальдегида (7%).

Обозначения: Здесь и далее:

* – отличия достоверны, $p < 0.05$ (критерий Колмогорова-Смирнова)
 ** – отличия достоверны, $p < 0.01$ (критерий Колмогорова-Смирнова)

У самцов медианная продолжительность жизни увеличилась на 3, 7.6 и 4.5% ($p < 0.01$) после воздействия паров формальдегида (7%), растворов толуола (50 мкмоль/л) и диоксина (0.822 мкмоль/л), соответственно; изменения в максимальной продолжительности жизни составили 5.1% ($p < 0.05$) для всех вариантов эксперимента (Таблица 2). Достоверных отличий в возрасте удвоения интенсивности смертности (MRDT) и в зависимой от возраста интенсивности смертности (α) не наблюдалось (Рисунок 6, Таблица 2)

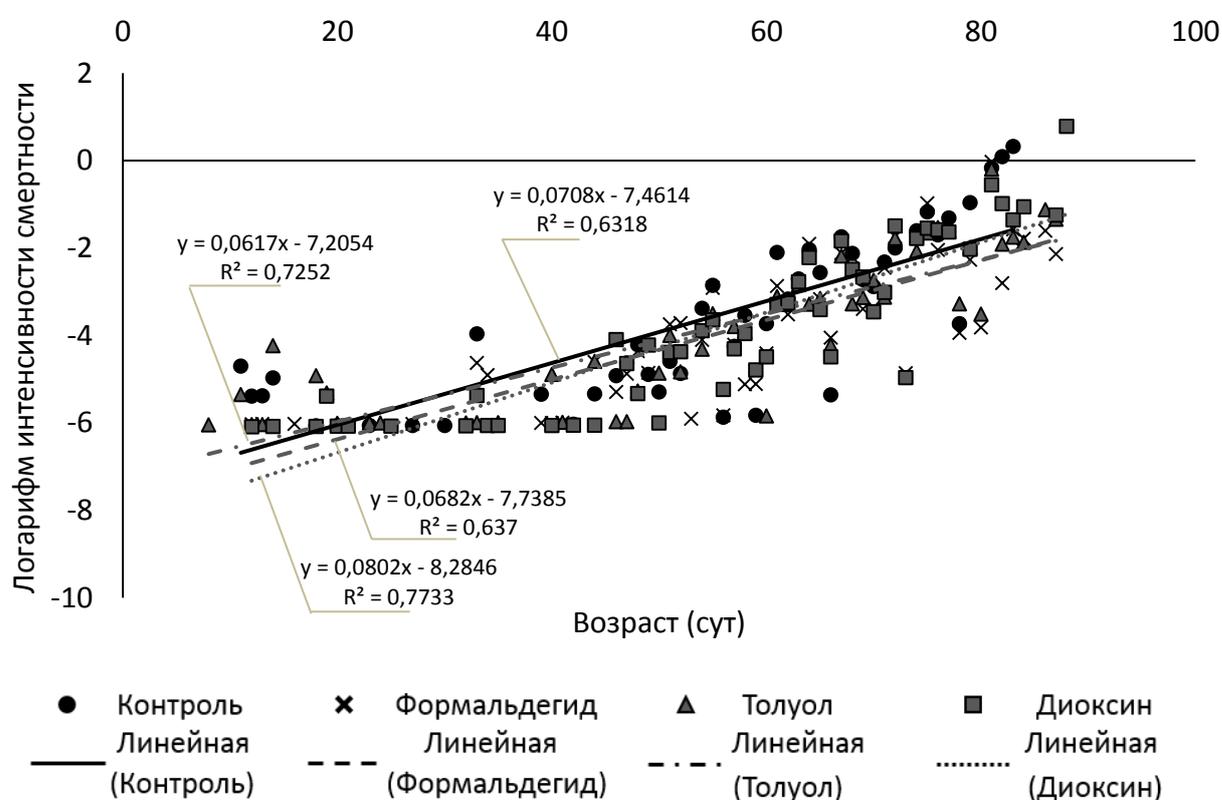


Рисунок 6 – Логарифм интенсивности смертности самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (50 мкмоль/л), диоксина (0.822 мкмоль/л) и паров формальдегида (7%).

Обозначения: *Здесь и далее:*

$y=kx+b$ – уравнение прямой, аппроксимирующей точки логарифма интенсивности смертности, где тангенс угла наклона прямой k равен параметру α уравнения Гомперца, а b – значение натурального логарифма параметра R_0 данного уравнения, R^2 – коэффициент аппроксимации.

Основные параметры продолжительности жизни самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (50 мкмоль/л), диоксина (0.822 мкмоль/л) и паров формальдегида (7%).

| Вариант | M (сут) | ΔM (%) | 90% (сут) | Δ 90% (%) | MRDT (сут) | Δ MRDT (%) | α (сут ⁻¹) | R_0 (сут ⁻¹) | n (шт.) |
|--------------|------------|-----------------------------------|--------------|------------------------|---------------|-------------------------|----------------------------------|-------------------------------|------------|
| Контроль | 66 | - | 78 | - | 6.66 | - | 0.104 | 7e-05 | 442 |
| Формальдегид | 68 | 3 (**) ($\Delta\Delta$) | 82 | 5.1 (#) | 6.58 | -1.2 | 0.105 | 5e-05 | 415 |
| Толуол | 71 | 7.6 (**) ($\Delta\Delta$) | 82 | 5.1 (##) | 7 | 5.1 | 0.099 | 6e-05 | 422 |
| Диоксин | 69 | 4.5 (**) ($\Delta\Delta$) | 82 | 5.1 (##) | 6.58 | -1.2 | 0.105 | 5e-05 | 440 |

Обозначения: Здесь и далее: M – медианная продолжительность жизни; 90% – время гибели 90% выборки (максимальная продолжительность жизни); α и R_0 – параметры уравнения Гомпертца; MRDT – время удвоения интенсивности смертности; n – количество особей в выборке; Δ – изменения соответствующего показателя;

* – отличия достоверны, $p < 0.05$ (критерий Мантеля-Кокса);

** – отличия достоверны, $p < 0.01$ (критерий Мантеля-Кокса);

Δ – отличия достоверны, $p < 0.05$ (критерий Гехана-Бреслоу-Вилкоксона);

$\Delta\Delta$ – отличия достоверны, $p < 0.01$ (критерий Гехана-Бреслоу-Вилкоксона);

– отличия достоверны, $p < 0.05$ (критерий Ванг-Аллисона);

– отличия достоверны, $p < 0.01$ (критерий Ванг-Аллисона);

× – отличия достоверны, $p < 0.05$ (метод максимального правдоподобия);

×× – отличия достоверны, $p < 0.01$ (метод максимального правдоподобия);

У самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* в результате воздействия вышеперечисленных факторов наблюдалось увеличение медианной продолжительности жизни только после воздействия диоксина и толуола на 5.3 и 3.9% ($p < 0.01$), соответственно, по остальным изучаемым показателям достоверных отличий не наблюдалось (Рисунок 7, 8; Таблица 3)

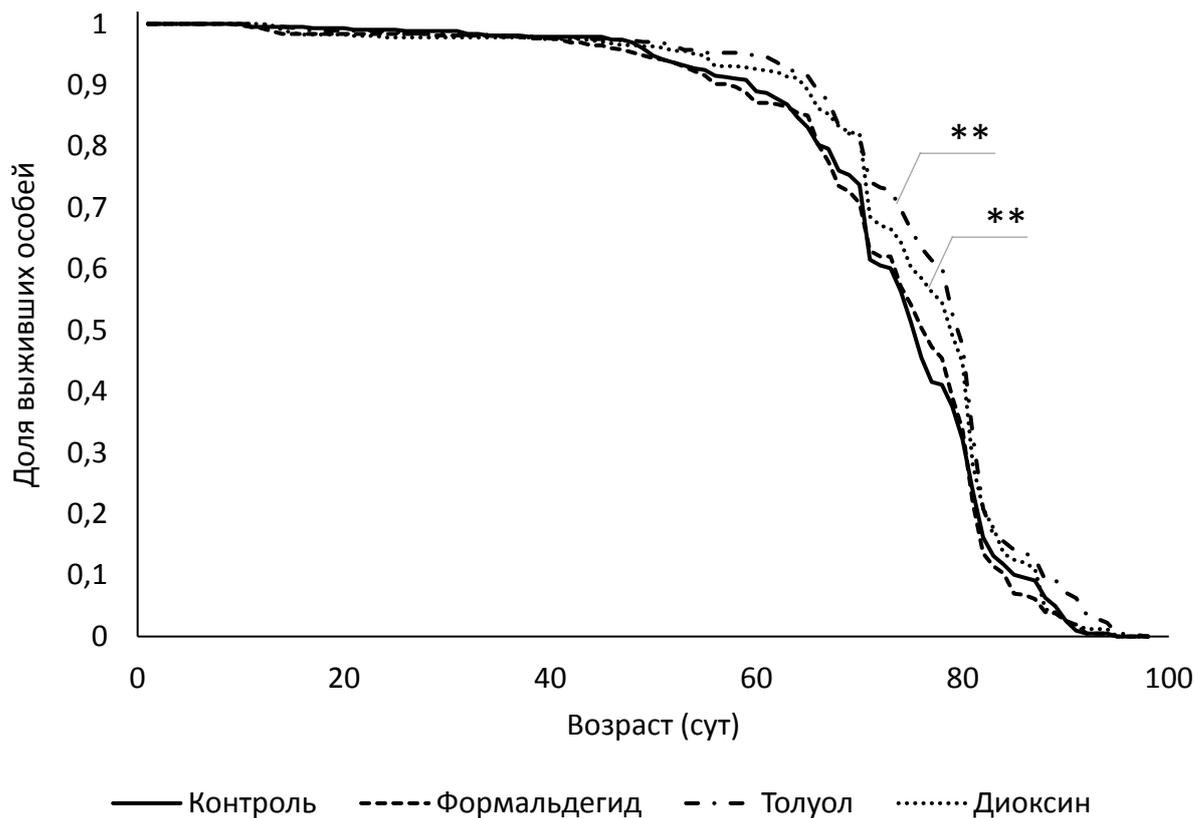


Рисунок 7 – Кривые выживаемости самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (50 мкмоль/л), диоксина (0.822 мкмоль/л) и паров формальдегида (7%).

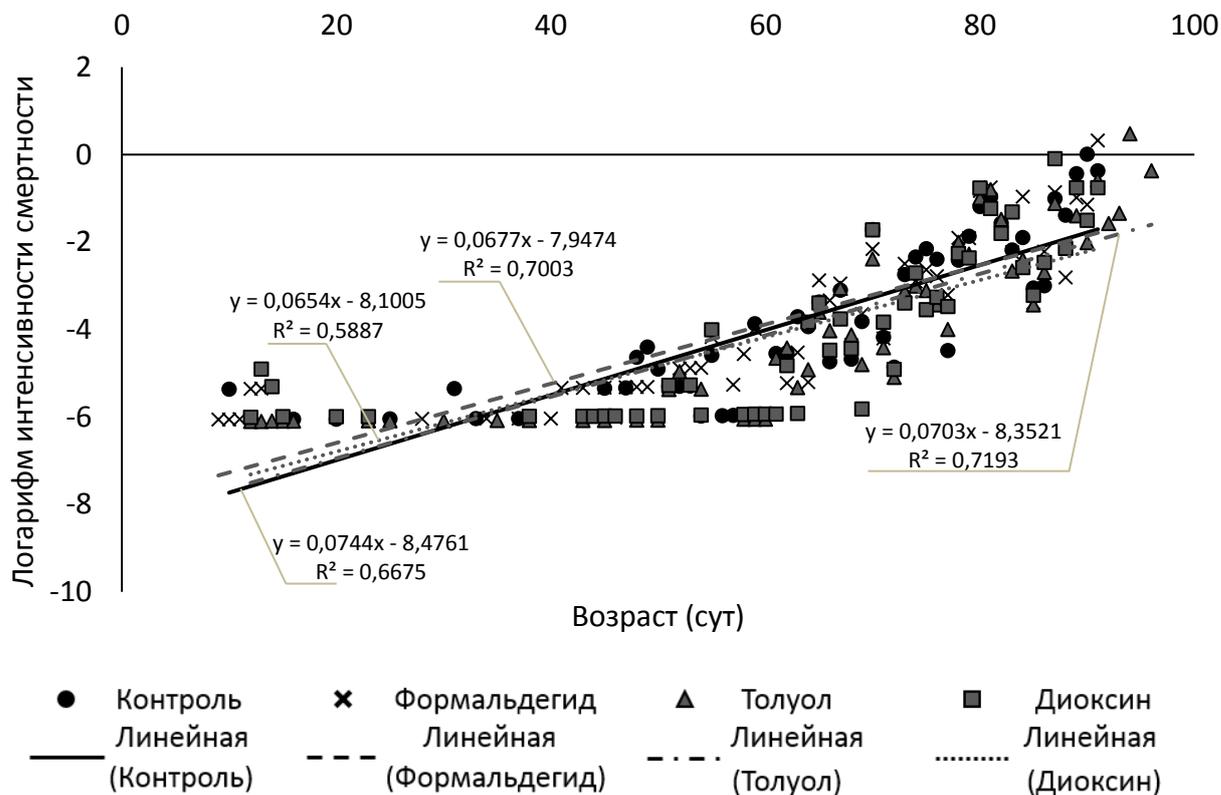


Рисунок 8 – Логарифм интенсивности смертности самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (50 мкмоль/л), диоксина (0.822 мкмоль/л) и паров формальдегида (7%).

Таблица 3

Основные параметры продолжительности жизни самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (50 мкмоль/л), диоксина (0.822 мкмоль/л) и паров формальдегида (7%).

| Вариант | M (сут) | ΔM (%) | 90% (сут) | Δ 90% (%) | MRDT (сут) | Δ MRDT (%) | α (сут ⁻¹) | R_0 (сут ⁻¹) | n (шт.) |
|--------------|---------|--------------------------------|-----------|------------------|------------|-------------------|-------------------------------|----------------------------|---------|
| Контроль | 76 | - | 86 | - | 6.07 | - | 0.114 | 1e-05 | 426 |
| Формальдегид | 77 | 1.3 | 85 | -1.2 | 6.06 | -0.2 | 0.114 | 1e-05 | 427 |
| Толуол | 80 | 5.3 (**) ($\Delta\Delta$) | 88 | 2.3 | 5.77 | -4.9 | 0.120 | 1e-05 | 446 |
| Диоксин | 79 | 3.9 (**) ($\Delta\Delta$) | 88 | 2.3 | 5.61 | -7.6 | 0.124 | 1e-05 | 407 |

В результате увеличения модальности воздействия изучаемых факторов в два раза у самцов и самок *Drosophila melanogaster* не наблюдалось изменений параметров продолжительности жизни после воздействия раствора толуола с концентрацией действующего вещества 100 мкмоль/л (Рисунок 9, 11).

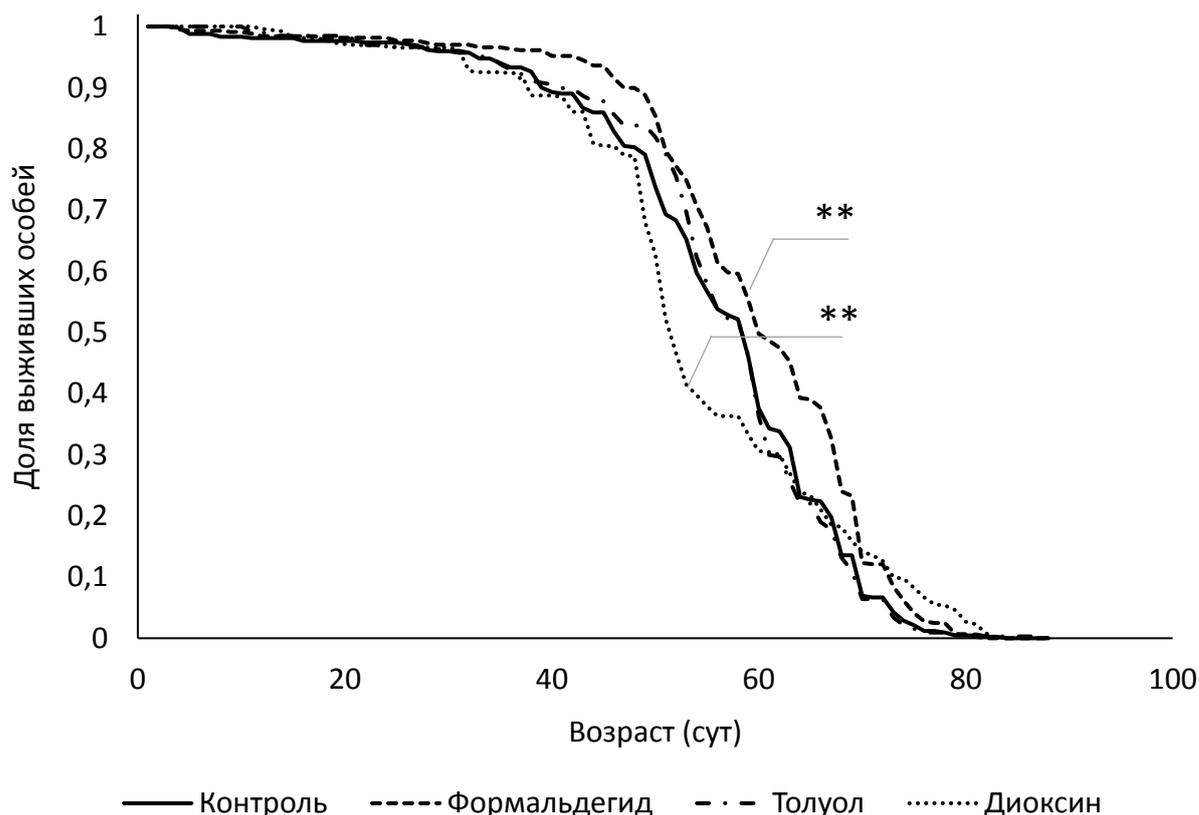


Рисунок 9 – Кривые выживаемости самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (100 мкмоль/л), диоксина (1.644 мкмоль/л) и паров формальдегида (14%).

После воздействия паров раствора формальдегида (14%) медианная продолжительность жизни самцов увеличилась на 1.7% ($p < 0.01$), максимальная – на 4.3% ($p < 0.01$), изменений в возрасте удвоения интенсивности смертности и зависимой от возраста интенсивности смертности не выявлено. Воздействие раствора диоксина (1.644 мкмоль/л) вызвало снижение МПЖ на 11.9% ($p < 0.01$), но мы наблюдали увеличение возраста смертности 90% популяции на 4.3% ($p < 0.01$) и показателя MRDT на 32%, а также снижение показателя α на 24.5%. Воздействие раствора толуола в концентрации 100 мкмоль/л не вызвало изменений параметров продолжительности жизни (Рисунок 9, 10; Таблица 4).

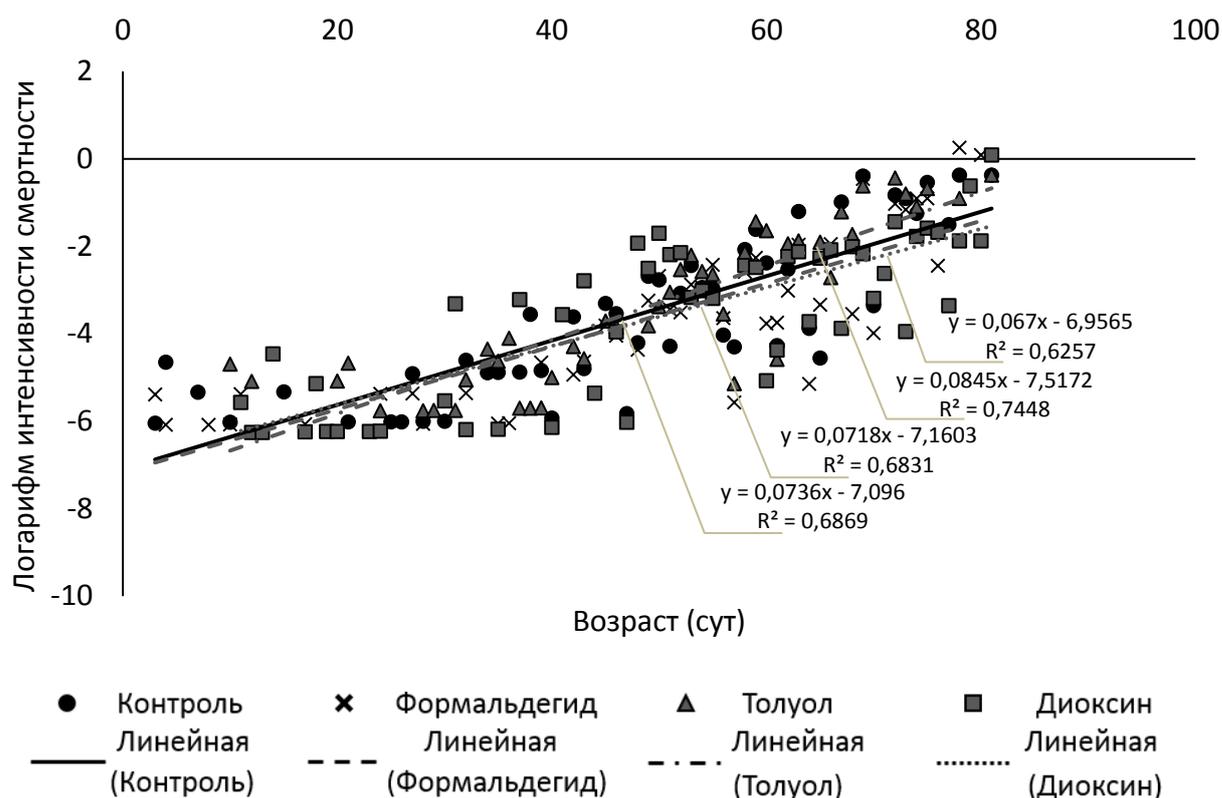


Рисунок 10 – Логарифм интенсивности смертности самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (100 мкмоль/л), диоксина (1.644 мкмоль/л) и паров формальдегида (14%).

Таблица 4

Основные параметры продолжительности жизни самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (100 мкмоль/л), диоксина (1.644 мкмоль/л) и паров формальдегида (14%).

| Вариант | М (сут) | ΔM (%) | 90% (сут) | $\Delta 90\%$ (%) | MRDT (сут) | $\Delta MRDT$ (%) | α (сут ⁻¹) | R_0 (сут ⁻¹) | n (шт.) |
|--------------|---------|----------------------------------|-----------|-------------------|------------|-------------------|-------------------------------|----------------------------|---------|
| Контроль | 59 | | 70 | | 7.07 | | 0.098 | 0.00023 | 420 |
| Формальдегид | 60 | 1.7 (**) ($\Delta\Delta$) | 73 | 4.3 (##) | 6.39 | -9.6 | 0.109 | 9e-05 | 438 |
| Толуол | 59 | 0 | 70 | 0 | 6.85 | -3.1 | 0.101 | 0.00019 | 327 |
| Диоксин | 52 | -11.9 (**) ($\Delta\Delta$) | 73 | 4.3 (##) | 9.33 | 32 (xx) | 0.074 (xx) | 8e-04 (xx) | 523 |

У самок воздействие паров 14%-го раствора формальдегида вызывает снижение МПЖ на 4.1%, изменений в остальных анализируемых параметрах продолжительности жизни после воздействия данного экотоксиканта изменений не выявлено. После воздействия раствора диоксина в концентрации 1.644 мкмоль/л у самок *Drosophila*

melanogaster линии дикого типа *Canton-S* наблюдается увеличение МПЖ и максимальной продолжительности жизни на 6.8 и 6.1% ($p < 0.01$) соответственно (Рисунок 11, Таблица 5).

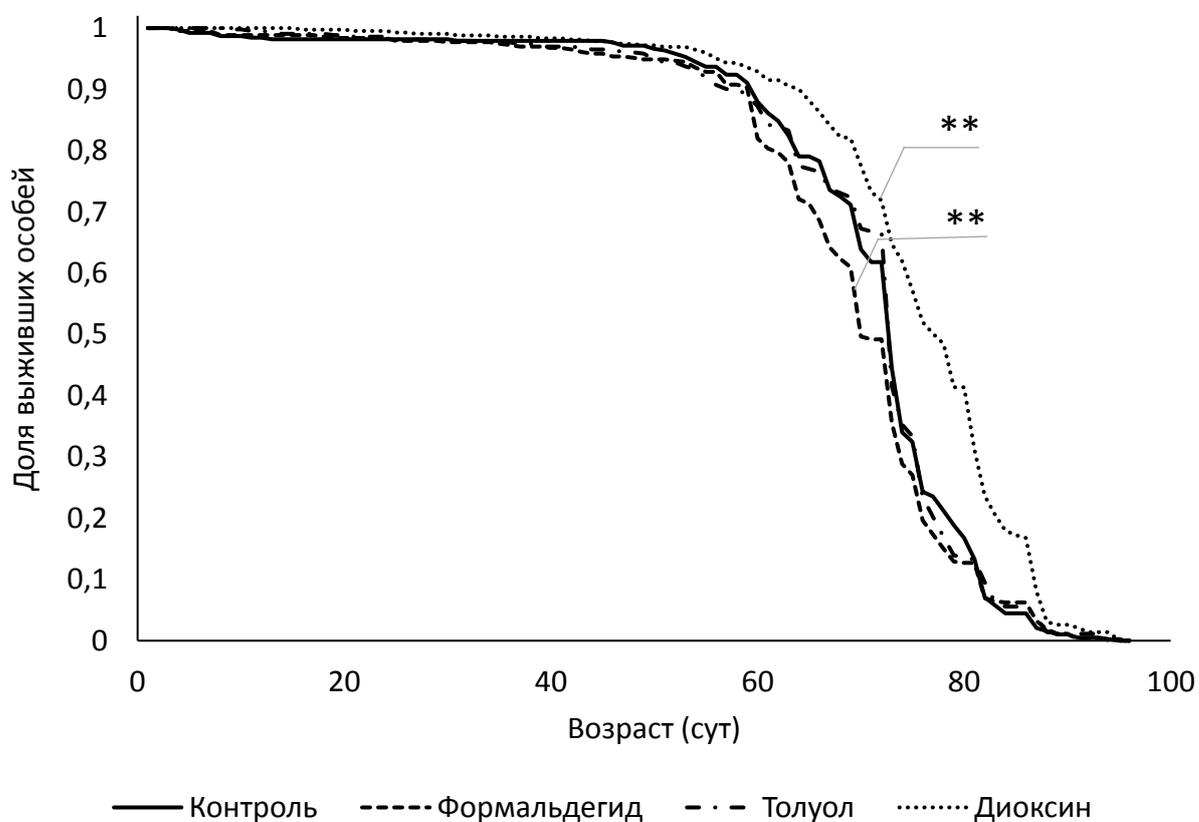


Рисунок 11 – Кривые выживаемости самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (100 мкмоль/л), диоксина (1.644 мкмоль/л) и паров формальдегида (14%).

Изменений параметров MRDT и α не выявлено (Рисунок 12, Таблица 5). У самок, как и у самцов, воздействие раствора толуола в концентрации 100 мкмоль/л не вызвало изменений ни одного из изучаемых параметров продолжительности жизни (Рисунок 11, 12, Таблица 5).

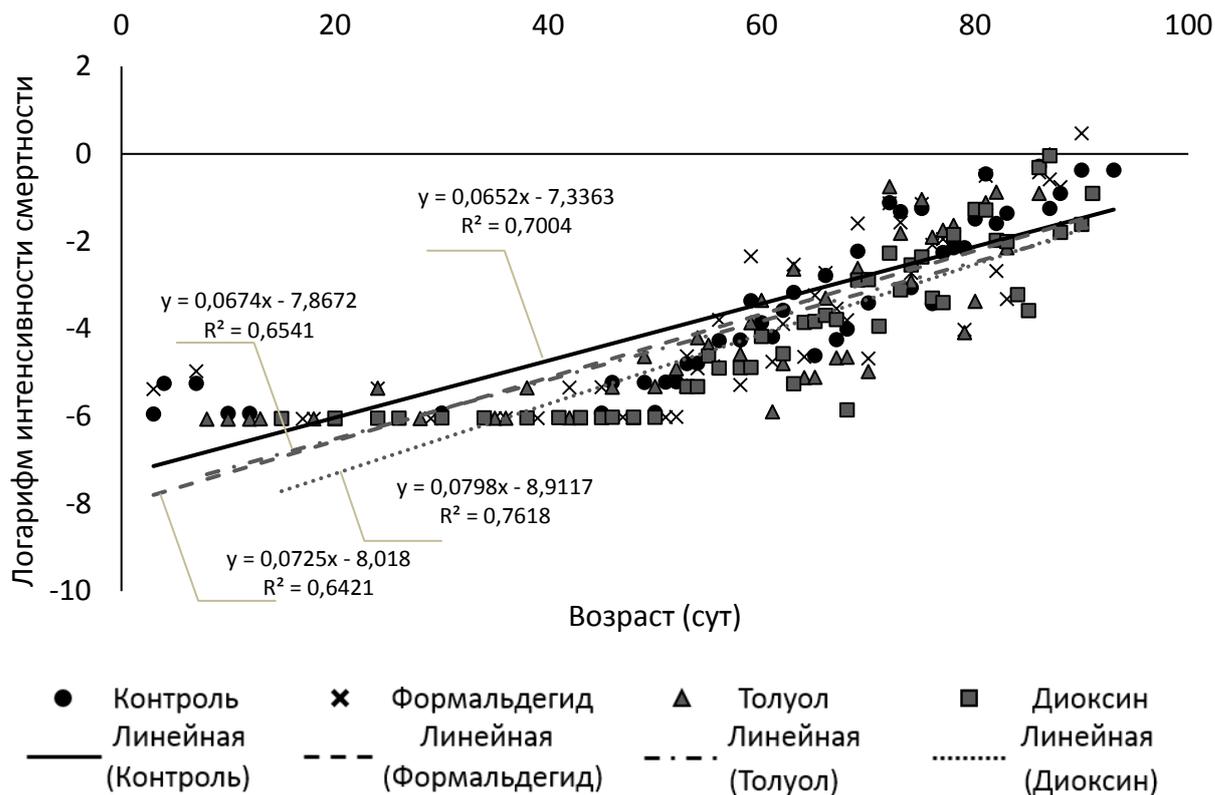


Рисунок 12 – Логарифм интенсивности смертности самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (100 мкмоль/л), диоксина (1.644 мкмоль/л) и паров формальдегида (14%).

Таблица 5

Основные параметры продолжительности жизни самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (100 мкмоль/л), диоксина (1.644 мкмоль/л) и паров формальдегида (14%).

| Вариант | M (сут) | ΔM (%) | 90% (сут) | Δ 90% (%) | MRDT (сут) | Δ MRDT (%) | α (сут ⁻¹) | R_0 (сут ⁻¹) | n (шт.) |
|--------------|---------|---------------------------------|-----------|------------------|------------|-------------------|-------------------------------|----------------------------|---------|
| Контроль | 73 | | 82 | | 5.8 | | 0.11956 | 1e-05 | 382 |
| Формальдегид | 70 | -4.1 (**) ($\Delta\Delta$) | 82 | 0 | 6.52 | 12.4 | 0.10639 | 4e-05 | 433 |
| Толуол | 73 | 0 | 82 | 0 | 6.06 | 4.5 | 0.1143 | 2e-05 | 431 |
| Диоксин | 78 | 6.8 (**) ($\Delta\Delta$) | 87 | 6.1 (##) | 5.55 | -4.3 | 0.12489 | 1e-05 | 423 |

3.1.2 Влияние малых доз ионизирующего излучения на параметры продолжительности жизни особей *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*

В результате изучения влияния такого фактора физической природы, как малые дозы ионизирующего излучения (МД ИИ) на имаго *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* мы наблюдали изменения параметров продолжительности жизни как у самцов, так и у самок данного модельного объекта. У самцов показано увеличение возраста удвоения интенсивности смертности на 25% и снижение зависимой от возраста интенсивности смертности на 21% после воздействия ИИ в дозе 40 сГр (Рисунок 13, 14; Таблица 6). Несмотря на отсутствие отличий в медианной и максимальной продолжительности жизни, критерий Мантеля-Кокса показал наличие достоверных отличий с вероятностью $p < 0.05$ у самцов при воздействии ИИ в дозе 40 сГр, что свидетельствует о наличии различий между ПЖ контрольной и опытной групп в верхней части кривой дожития, это видно из Рисунка 13. Мы рассчитали возраст смерти 25% популяции (25 квартиль) для контрольной группы и группы, подвергшейся воздействию ИИ в дозе 40 сГр, и получили значения равные 56 и 52 суткам, соответственно. Таким образом, возраст смерти 25% популяции у самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия ИИ в дозе 40 сГр снизился на 7.14% по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о вымирании части популяции в молодом возрасте в результате данного воздействия, с этим связано и изменение таких показателей как MRDT и α .

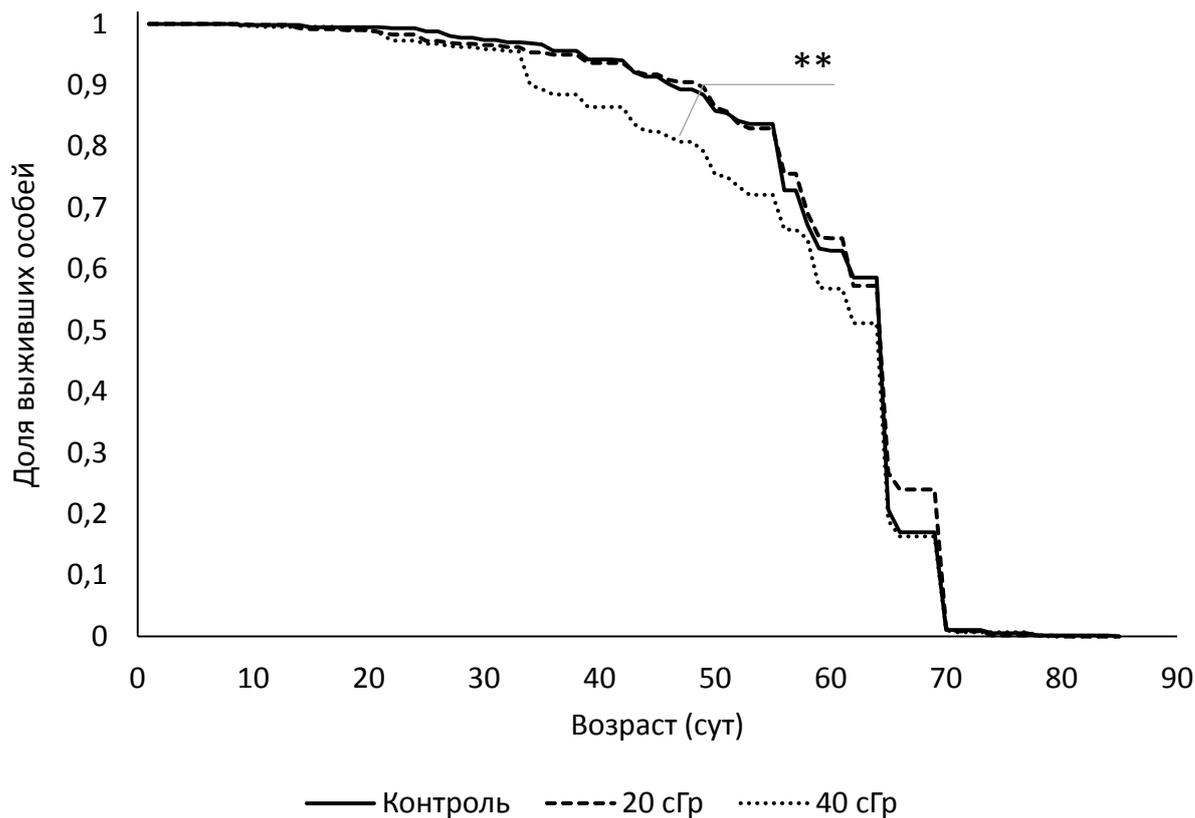


Рисунок 13 – Кривые выживаемости самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия фактора физической природы – ионизирующего излучения в дозе 20 и 40 сГр.

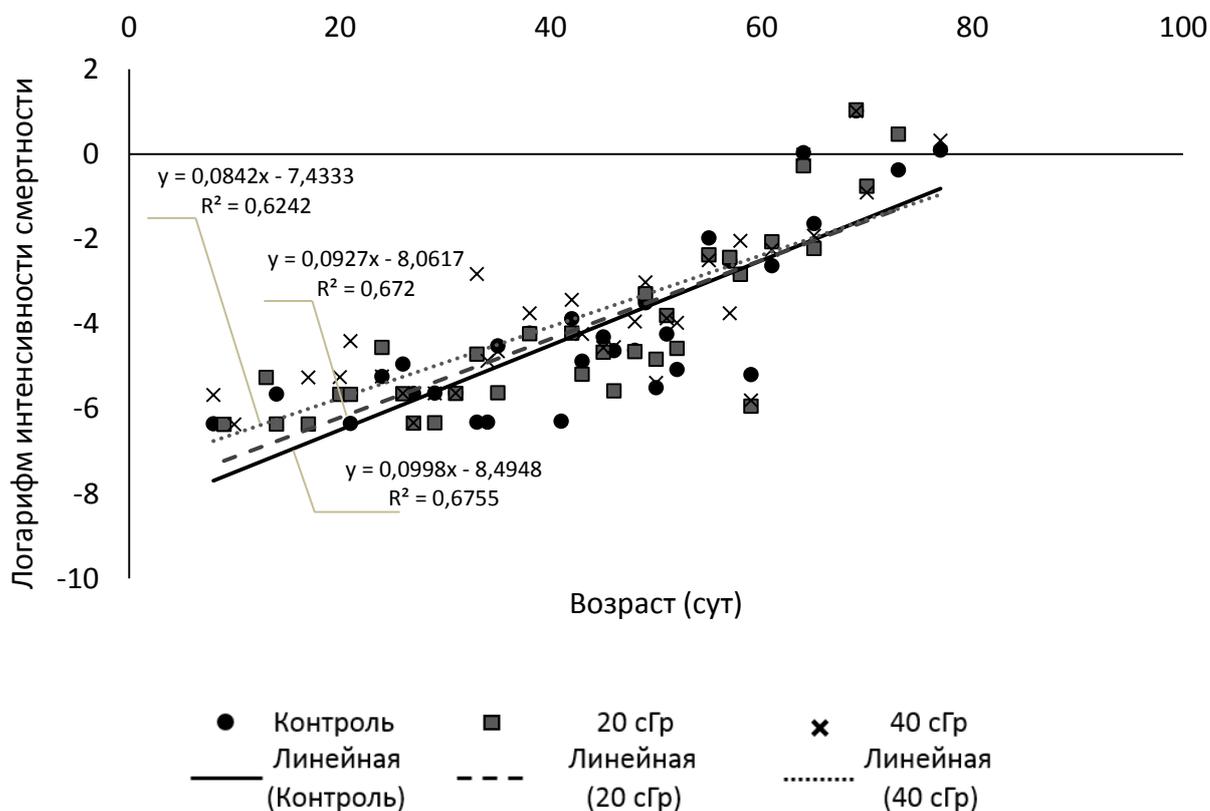


Рисунок 14 – Логарифм интенсивности смертности самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия фактора физической природы – ионизирующего излучения в дозе 20 и 40 сГр.

Таблица 6

Основные параметры продолжительности жизни самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия фактора физической природы – ионизирующего излучения в дозе 20 и 40 сГр.

| Вариант | М (сут) | ΔM (%) | 90% (сут) | Δ 90% (%) | MRDT (сут) | Δ MRDT (%) | α (сут ⁻¹) | R_0 (сут ⁻¹) | n (шт.) |
|----------|---------|-------------------------------|-----------|------------------|------------|-------------------|-------------------------------|----------------------------|---------|
| Контроль | 65 | - | 70 | - | 4.72 | - | 0.147 | 1e-05 | 570 |
| 20 сГр | 65 | 0 | 70 | 0 | 4.6 | -2.5 | 0.151 | 1e-05 | 580 |
| 40 сГр | 65 | 0 (* ($\Delta\Delta$) | 70 | 0 | 5.9 | 25 (xx) | 0.117 (xx) | 7e-05 (xx) | 581 |

У самок, подвергшихся воздействию ИИ в дозе 20 и 40 сГр наблюдались изменения параметров ПЖ в обоих случаях: снижение МПЖ на 5.4% после воздействия дозы 20 сГр, и увеличение возраста смерти 90% популяции на 6.2% после воздействия дозы 40 сГр. Изменений таких параметров, как возраст удвоения интенсивности смертности и зависимой от возраста интенсивности смертности не наблюдалось (Рисунок 15, 16; Таблица 7).

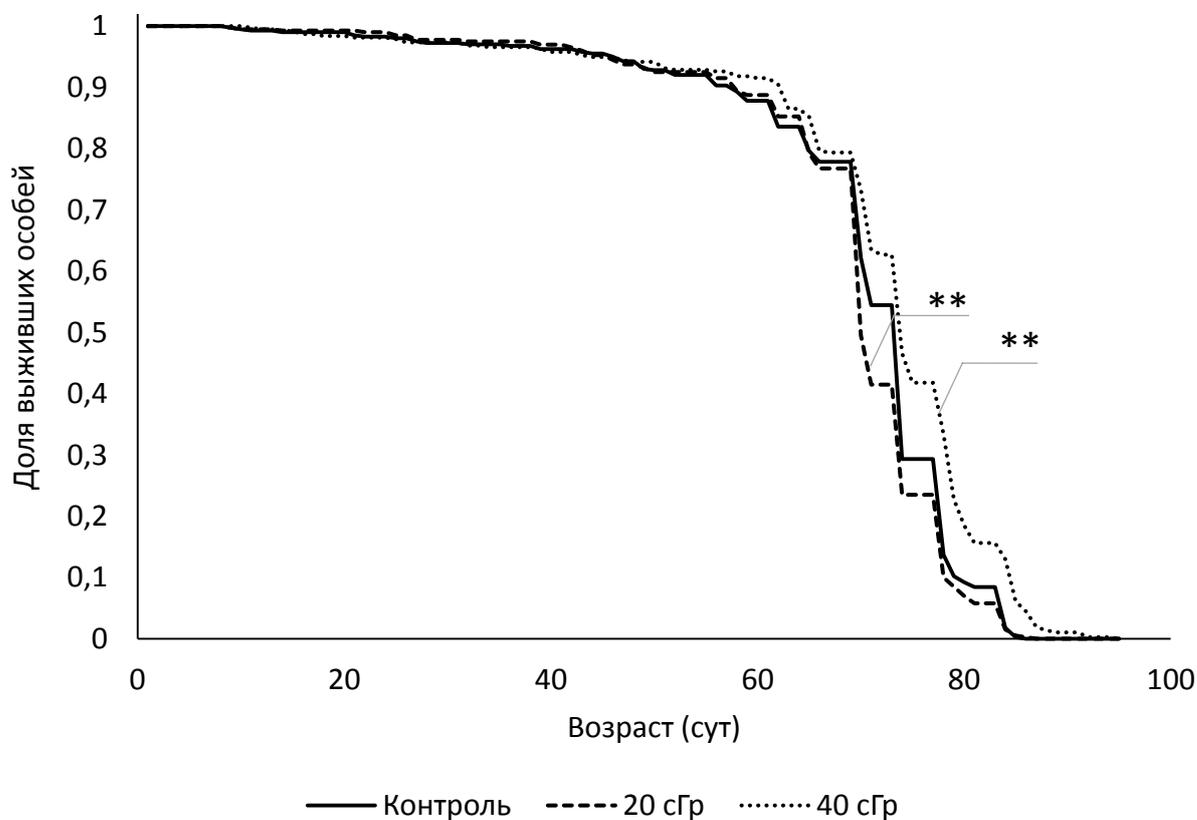


Рисунок 15 – Кривые выживаемости самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия фактора физической природы – ионизирующего излучения в дозе 20 и 40 сГр.

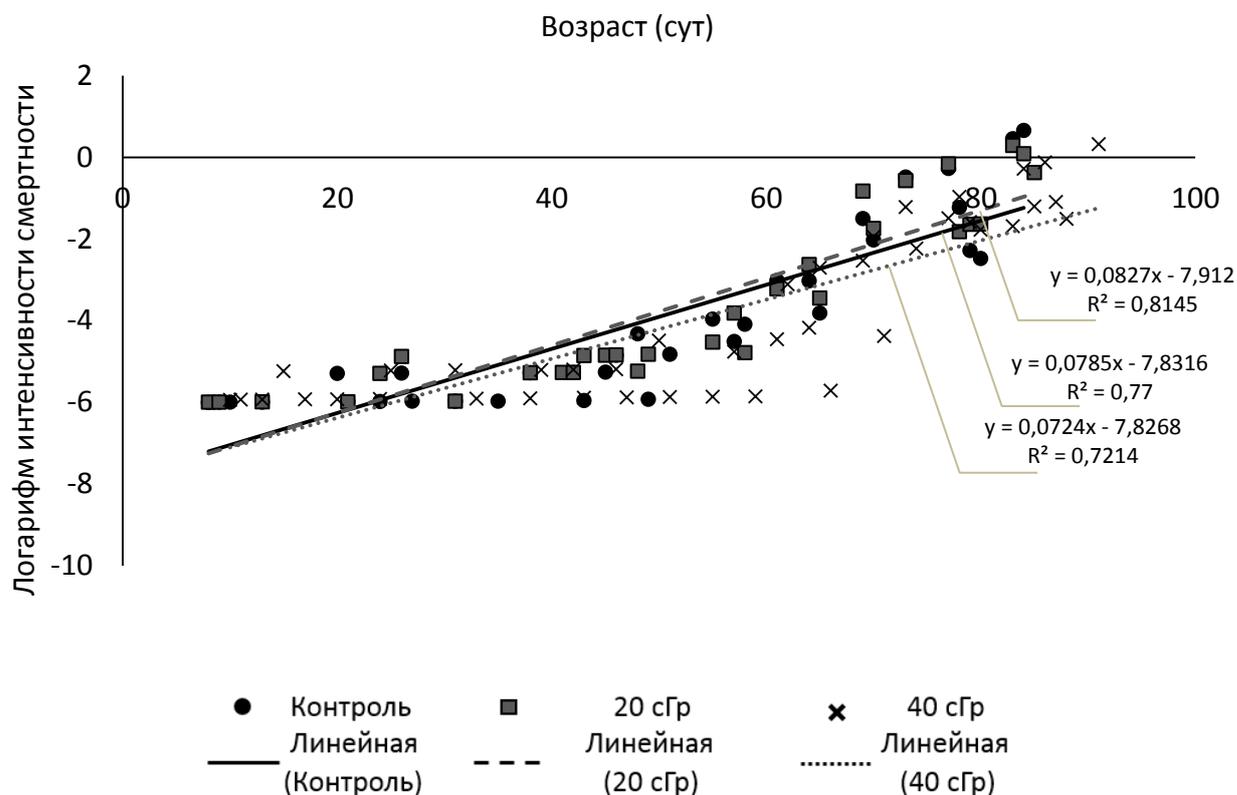


Рисунок 16 – Логарифм интенсивности смертности самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия фактора физической природы – ионизирующего излучения в дозе 20 и 40 сГр.

Таблица 7

Основные параметры продолжительности жизни самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия фактора физической природы – ионизирующего излучения в дозе 20 и 40 сГр.

| Вариант | M (сут) | Δ M (%) | 90% (сут) | Δ 90% (%) | MRDT (сут) | Δ MRDT (%) | α (сут ⁻¹) | R ₀ (сут ⁻¹) | n (шт.) |
|----------|---------|---------------|-----------|-----------|------------|------------|------------------------|-------------------------------------|---------|
| Контроль | 74 | | 80 | | 5.17 | | 0.134 | 1e-05 | 402 |
| 20 сГр | 70 | -5.4 (*) (ΔΔ) | 79 | -1.2 | 5.06 | -2.1 | 0.137 | 1e-05 | 400 |
| 40 сГр | 74 | 0 | 85 | 6.2 (##) | 5.76 | 11.4 | 0.120 | 1e-05 | 378 |

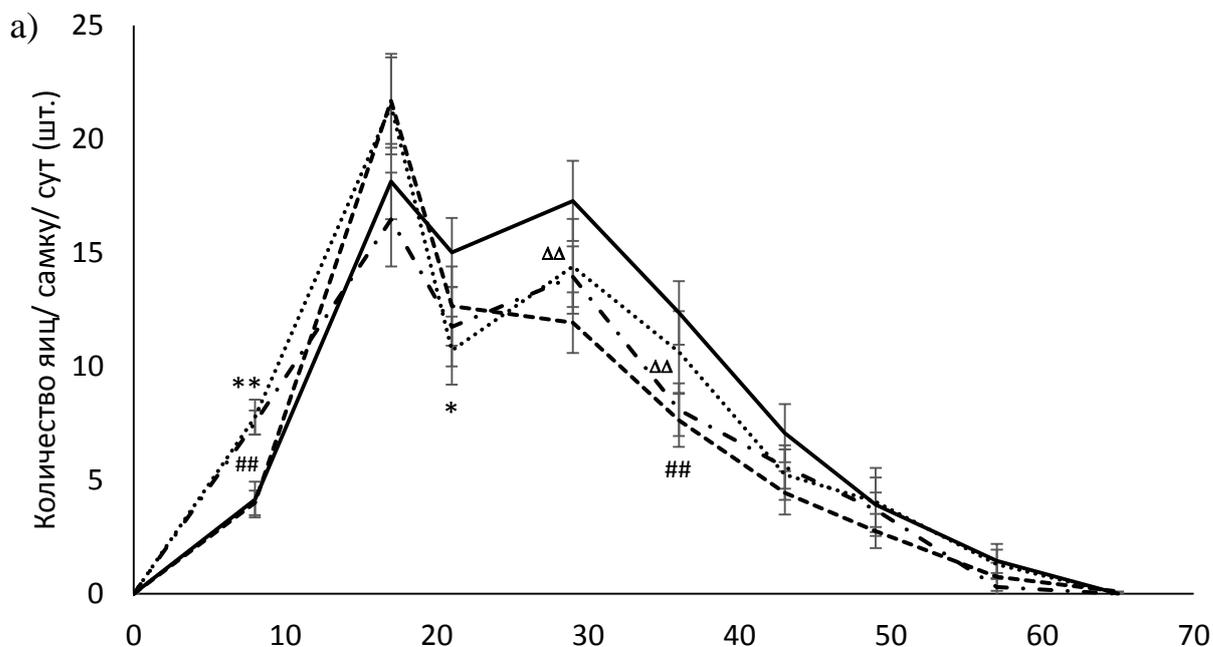
Таким образом, по результатам изучения влияния малых доз ИИ (20 и 40 сГр) на имаго *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* нами показано наличие эффекта гормезиса на продолжительность жизни у самок после воздействия ИИ в дозе 40 сГр и эффект гиперрадиочувствительности у самок и самцов после воздействия ИИ в дозе 20 сГр.

3.2 Влияние факторов химической и физической природы на плодовитость самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*

Для оценки влияния изучаемых факторов на плодовитость самок дрозофилы раз в неделю подсчитывали количество яиц, отложенных самками за одни сутки (фекундность). Также подсчитывали количество имаго, развившихся из яиц на 10-14 сутки после кладки (фертильность).

3.2.1 Влияние формальдегида, толуола и ТХДД на плодовитость самок

В результате оценки влияния изучаемых экотоксикантов на плодовитость самок *Drosophila melanogaster* показано достоверное увеличение фекундности и фертильности в начале жизни (8 сут) на 81 и 78% после воздействия толуола (50 мкмоль/л) и на 87 и 89% – после воздействия диоксина (0.822 мкмоль/л). Воздействие паров раствора формальдегида (7%) не вызывало достоверных изменений плодовитости у самок в раннем возрасте (Рисунок 17а; Таблица 8). В возрасте 21-36 сут у самок наблюдается снижение фекундности после воздействия всех трех изучаемых факторов химической природы (на 29-38%), однако фертильность в этом возрасте снижается только после воздействия паров раствора формальдегида (7%) и диоксина (0.822 мкмоль/л) на 43-50% (Рисунок 17а; Таблица 8).



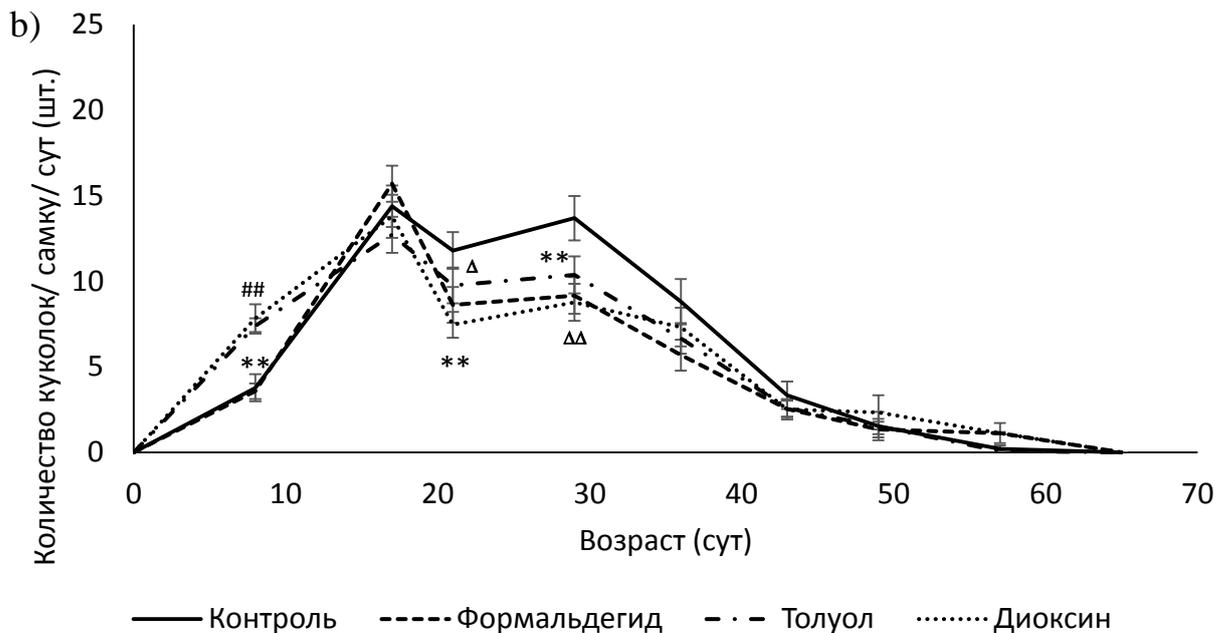


Рисунок 17 – Возрастная динамика плодовитости самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (50 мкмоль/л), диоксина (0.822 мкмоль/л) и паров формальдегида (7%); а – фекундность, б – фертильность.

Обозначения: *Здесь и далее:*

Δ – отличия достоверны, $p < 0.05$ (t – критерий Стьюдента), для сравнения плодовитости самок из контрольной группы и плодовитости самок, подвергшихся воздействию паров формальдегида.

ΔΔ – отличия достоверны при статистической значимости $p < 0.01$ (t – критерий Стьюдента), для сравнения плодовитости самок из контрольной группы и плодовитости самок, подвергшихся воздействию паров формальдегида.

– отличия достоверны, $p < 0.05$ (t – критерий Стьюдента), для сравнения плодовитости самок из контрольной группы и плодовитости самок, подвергшихся воздействию толуола.

– отличия достоверны, $p < 0.01$ (t – критерий Стьюдента), для сравнения плодовитости самок из контрольной группы и плодовитости самок, подвергшихся воздействию толуола.

* – отличия достоверны, $p < 0.05$ (t – критерий Стьюдента), для сравнения плодовитости самок из контрольной группы и плодовитости самок, подвергшихся воздействию диоксина.

** – отличия достоверны, $p < 0.01$ (t – критерий Стьюдента), для сравнения плодовитости самок из контрольной группы и плодовитости самок, подвергшихся воздействию диоксина.

Таблица 8

Возрастная динамика плодовитости самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (50 мкмоль/л), диоксина (0.822 мкмоль/л) и паров формальдегида (7%)

| Возраст (сут) | Изменение fecундности (%) | | | Изменение фертильности (%) | | |
|------------------|---------------------------|--------|---------|----------------------------|--------|---------|
| | Формальдегид | Толуол | Диоксин | Формальдегид | Толуол | Диоксин |
| 8 | - | ↑81.67 | ↑87.46 | - | ↑78.14 | ↑89.07 |
| 17 | - | - | - | - | - | - |
| 21 | - | - | ↓28.73 | ↓42.63 | - | ↓50.36 |
| 29 | ↓30.98 | - | - | ↓46.95 | - | ↓49.27 |
| 36 | ↓38.27 | ↓34.46 | - | - | - | - |
| 43 | - | - | - | - | - | - |
| 49 | - | - | - | - | - | - |
| 57 | - | - | - | - | - | - |
| 65 | - | - | - | - | - | - |

Обозначения: Здесь и далее:

↑ - увеличение изучаемого показателя

↓ - снижение изучаемого показателя

Прочерком обозначено отсутствие достоверных изменений.

Таким образом, у самок *Drosophila melanogaster* показано наличие компенсаторной реакции организма после воздействия толуола и диоксина (50 и 0.822 мкмоль/л, соответственно), выраженной в увеличении параметров плодовитости в раннем возрасте более, чем в 1.5 раза. Однако надо отметить, что ввиду снижения fecундности и фертильности в зрелом возрасте (21-36 сут) отличий в кумулятивной fecундности и фертильности в рамках данного варианта эксперимента не выявлено (Рисунок 18а, б). Воздействие паров раствора формальдегида приводит к снижению изучаемых показателей. Следовательно, можно сделать вывод о наличии изменении возрастной динамики fecундности и фертильности самок *Drosophila melanogaster*, но в целом величина данных показателей за весь период жизни достоверно не изменилась.

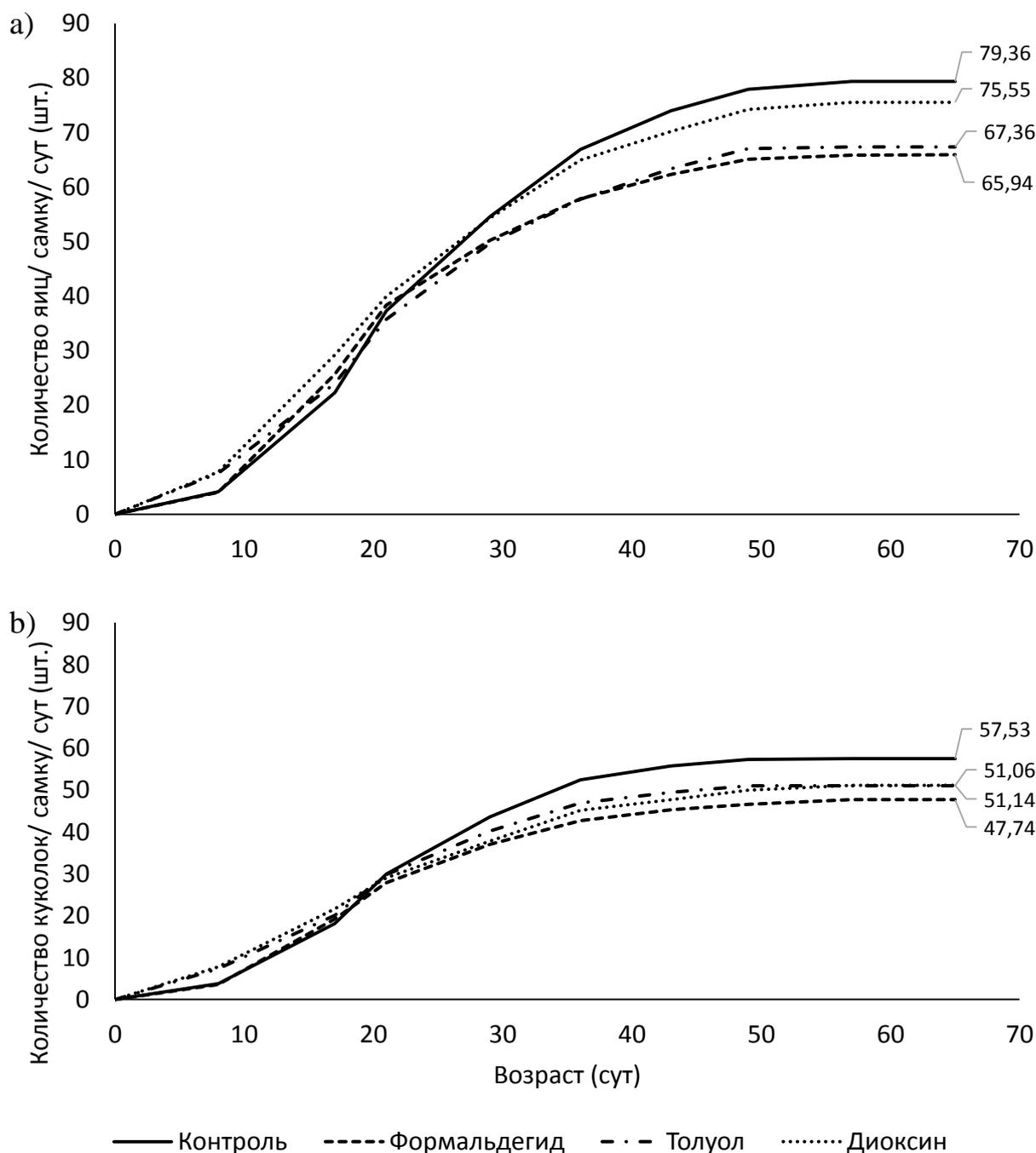


Рисунок 18 – Влияние факторов химической природы (растворов толуола (50 мкмоль/л), диоксина (0.822 мкмоль/л) и паров раствора формальдегида (7%)) на среднюю кумулятивную fekундность (а) и фертильность (б) самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.

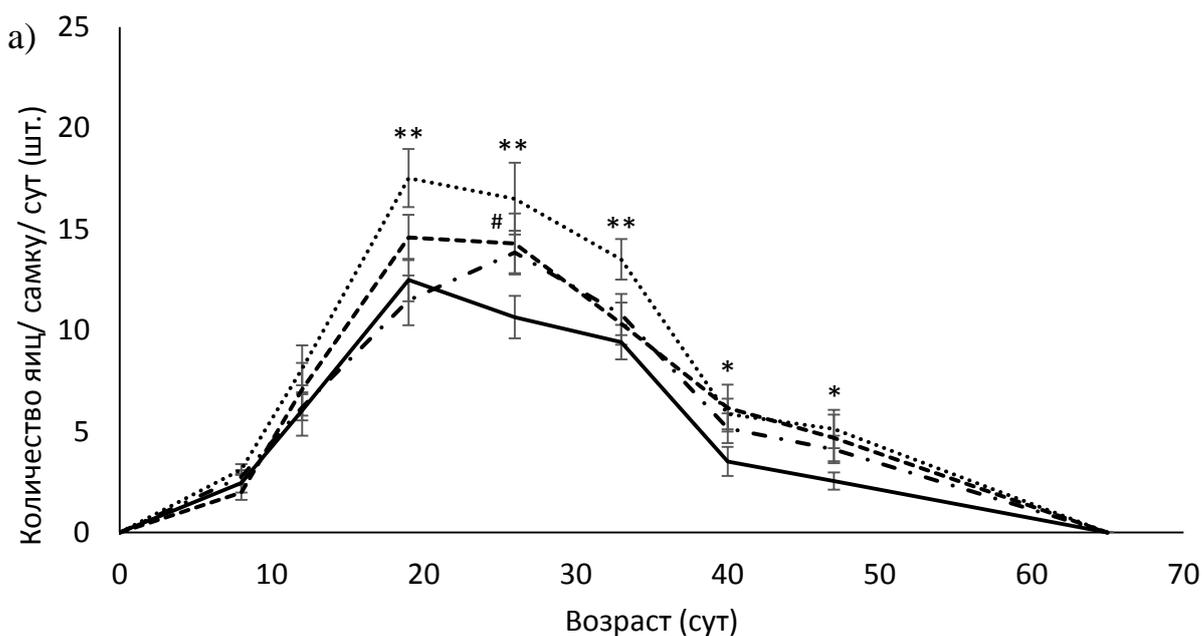
Обозначения: *Здесь и далее:*

Δ – отличия достоверны, $p < 0.05$ (критерий χ^2), для сравнения плодовитости самок из контрольной группы и плодовитости самок, подвергшихся воздействию паров формальдегида.

ΔΔ – отличия достоверны, $p < 0.01$ (критерий χ^2), для сравнения плодовитости самок из контрольной группы и плодовитости самок, подвергшихся воздействию паров формальдегида.

– отличия достоверны, $p < 0.05$ (критерий χ^2), для сравнения плодовитости самок из контрольной группы и плодовитости самок, подвергшихся воздействию толуола.
 ## – отличия достоверны, $p < 0.01$ (критерий χ^2), для сравнения плодовитости самок из контрольной группы и плодовитости самок, подвергшихся воздействию толуола.
 * – отличия достоверны, $p < 0.05$ (критерий χ^2), для сравнения плодовитости самок из контрольной группы и плодовитости самок, подвергшихся воздействию диоксина.
 ** – отличия достоверны, $p < 0.01$ (критерий χ^2), для сравнения плодовитости самок из контрольной группы и плодовитости самок, подвергшихся воздействию диоксина.

В результате увеличения модальности воздействия изучаемых стресс-факторов в 2 раза (раствор формальдегида – 14%; раствор толуола – 100 мкмоль/л; раствор диоксина – 1.644 мкмоль/л) выраженных изменений показателей плодовитости самок *Drosophila melanogaster* после воздействия паров формальдегида и раствора толуола не наблюдалось (Рисунок 19а, б; Рисунок 20а, б; Таблица 9). Но, как видно из Рисунков 19а и б, Рисунков 20а и б, влияние диоксина привело к достоверному увеличению фекундности в зрелом возрасте самок (19-47 сут) (Рисунок 19а) в 1.4-2 раза (Таблица 9). Однако надо отметить, что амплитуда изменений фертильности после данного воздействия меньше и составляет всего 1.05-1.4 раза (19, 33 и 40 сут) (Рисунок 19б, Таблица 9).



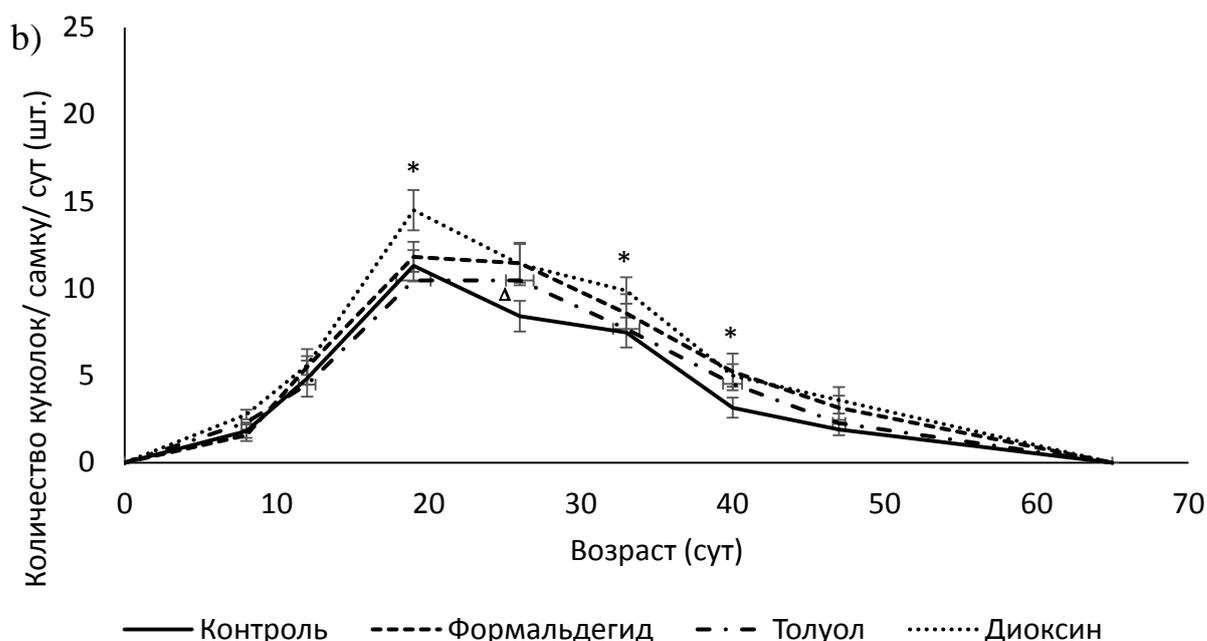


Рисунок 19 – Возрастная динамика плодовитости самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (100 мкмоль/л), диоксина (1.644 мкмоль/л) и паров формальдегида (14%); а – fecundность, б – фертильность.

Таблица 9

Возрастная динамика плодовитости самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (100 мкмоль/л), диоксина (1.644 мкмоль/л) и паров формальдегида (14%)

| Возраст (сут) | Изменение fecundности (%) | | | Изменение фертильности (%) | | |
|---------------|---------------------------|--------|---------|----------------------------|--------|---------|
| | Формальдегид | Толуол | Диоксин | Формальдегид | Толуол | Диоксин |
| 8 | - | - | - | - | - | - |
| 12 | - | - | - | - | - | - |
| 19 | - | - | ↑40.29 | - | - | ↑16.14 |
| 26 | - | ↑30.05 | ↑55 | ↑7.59 | - | - |
| 33 | - | - | ↑43.45 | - | - | ↑5.04 |
| 40 | - | - | ↑66.78 | - | - | ↑42.38 |
| 47 | - | - | ↑101.06 | - | - | - |
| 65 | - | - | - | - | - | - |

В результате анализа влияния изучаемых экотоксикантов в данном варианте эксперимента на показатели кумулятивной fecundности и фертильности самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* показано, что только влияние раствора диоксина приводит к достоверным изменениям данных показателей – fecundность увеличилась на 48.03%, фертильность – на 35.53% (Рисунок 20а, б).

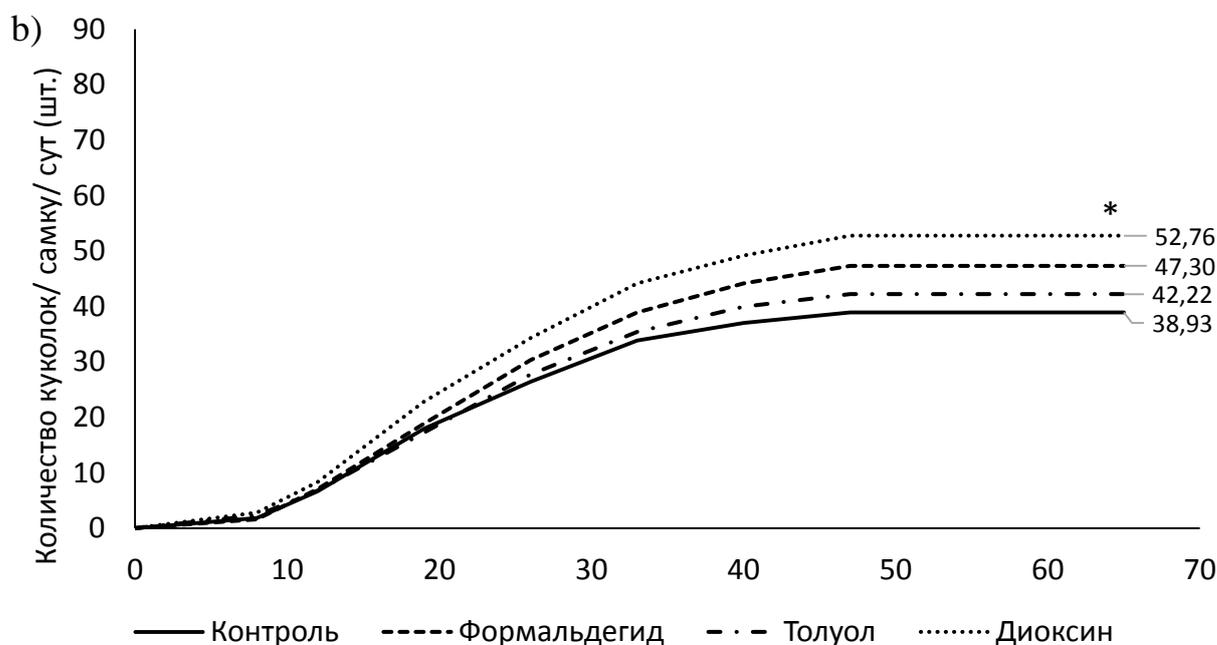
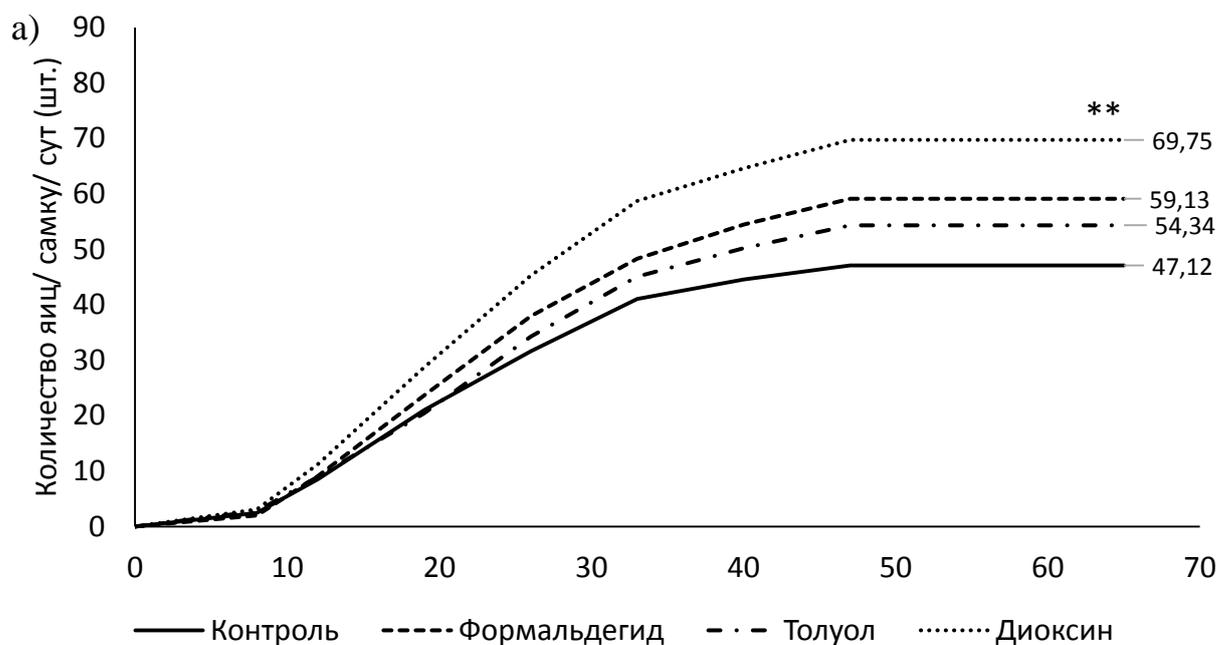


Рисунок 20 – Влияние факторов химической природы (растворов толуола (100 мкмоль/л), диоксина (1.644 мкмоль/л) и паров раствора формальдегида (14%)) на среднюю кумулятивную фекундность (а) и фертильность (б) самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.

Таким образом, показано, что воздействие паров раствора формальдегида (14%) и раствора толуола (100 мкмоль/л) не вызывает изменений плодовитости самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*, в то время, как воздействие раствора диоксина (1.644 мкмоль/л) приводит к значительным изменениям данного показателя, выраженным в развитии компенсаторной реакции – увеличении фекундности и фертильности.

3.2.2 Влияние малых доз ионизирующего излучения на плодовитость самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*

Как уже упоминалось ранее, имаго особей *Drosophila melanogaster* почти в 100 раз устойчивее к действию ИИ, чем млекопитающие (Ogaki, Nakashima-Tanaka, 1966), так как большая часть клеток взрослых особей находится на постмитотической стадии развития, что, однако, не касается половых клеток. С этим связан хорошо наблюдаемый эффект гормезиса, выраженный в увеличении fecундности и фертильности на протяжении почти всей жизни самок после воздействия ИИ в дозе 20 и 40 сГр (Рисунок 21а, б).

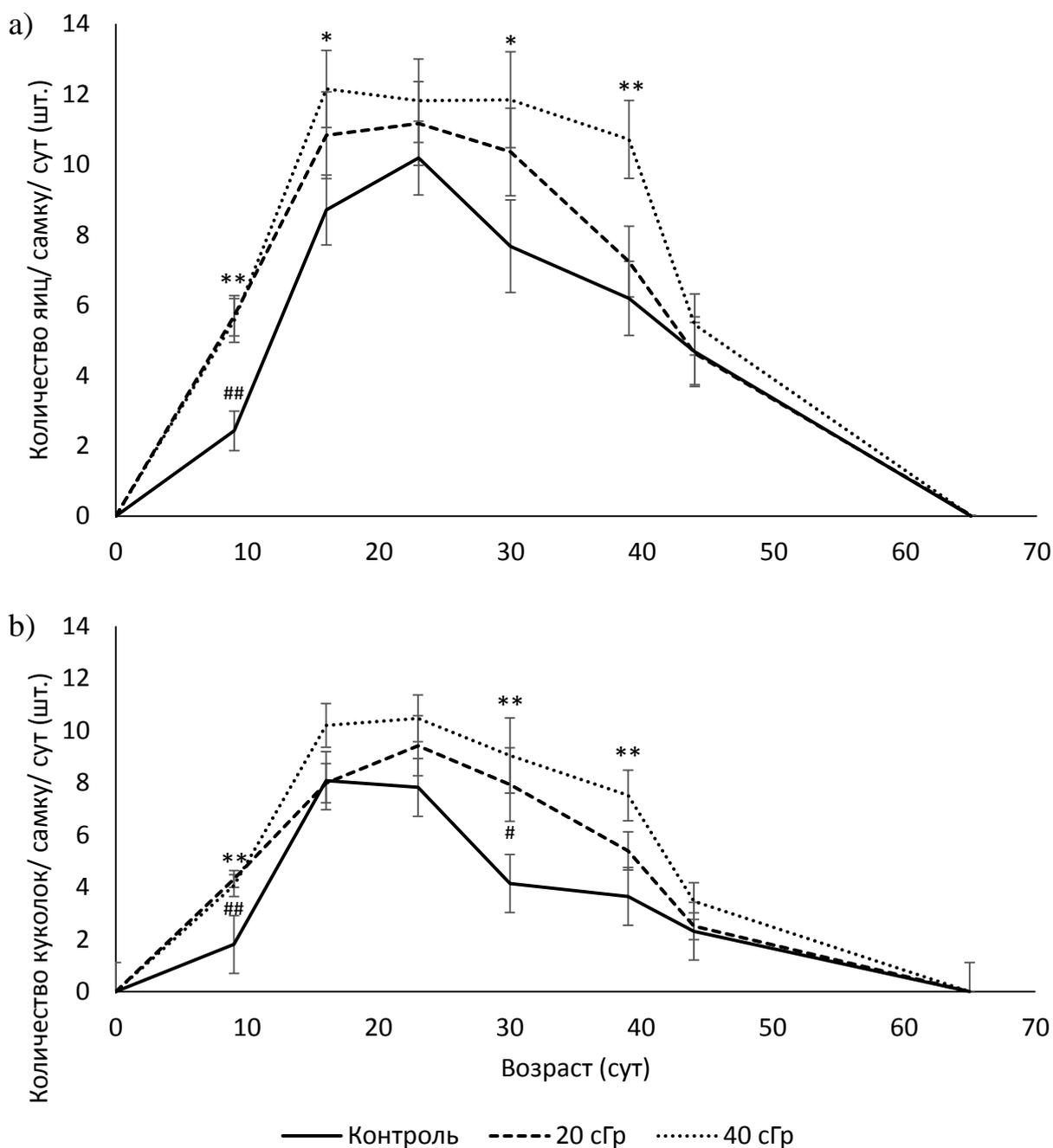


Рисунок 21 – Возрастная динамика плодовитости самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия фактора физической природы – ионизирующего излучения в дозе 20 и 40 сГр; а – фекундность, б – фертильность.

Обозначения:

– отличия достоверны, $p < 0.05$ (t – критерий Стьюдента), для сравнения фекундности самок из контрольной группы и фекундности самок, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения в дозе 20 сГр

– отличия достоверны, $p < 0.01$ (t – критерий Стьюдента), для сравнения фекундности самок из контрольной группы и фекундности самок, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения в дозе 20 сГр

* – отличия достоверны, $p < 0.05$ (t – критерий Стьюдента), для сравнения фекундности самок из контрольной группы и фекундности самок, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения в дозе 40 сГр

** – отличия достоверны, $p < 0.01$ (t – критерий Стьюдента), для сравнения фекудности самок из контрольной группы и фекудности самок, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения в дозе 40 сГр

Как видно из Таблицы 10, наиболее выраженные изменения плодовитости самок наблюдаются в молодом возрасте (9 сут), увеличение изучаемых показателей составляет 124-138%. В зрелом возрасте (30-40 сут) изменение фекудности наблюдается только после воздействия ИИ в дозе 40 сГр (увеличение на 54-73%), в то время, как изменение фертильности наблюдается как в результате влияния ИИ в дозе 20, так и в дозе 40 сГр (91-118%). Так как увеличение изучаемых показателей наблюдалось на протяжении большей части жизни самок, то мы также можем наблюдать достоверные изменения в кумулятивной плодовитости – фекудность увеличилась на 25.3% и 44.4% (Рисунок 22а), фертильность – на 34.9% и 60.9% (Рисунок 22б) после воздействия ИИ в дозе 20 и 40 сГр, соответственно.

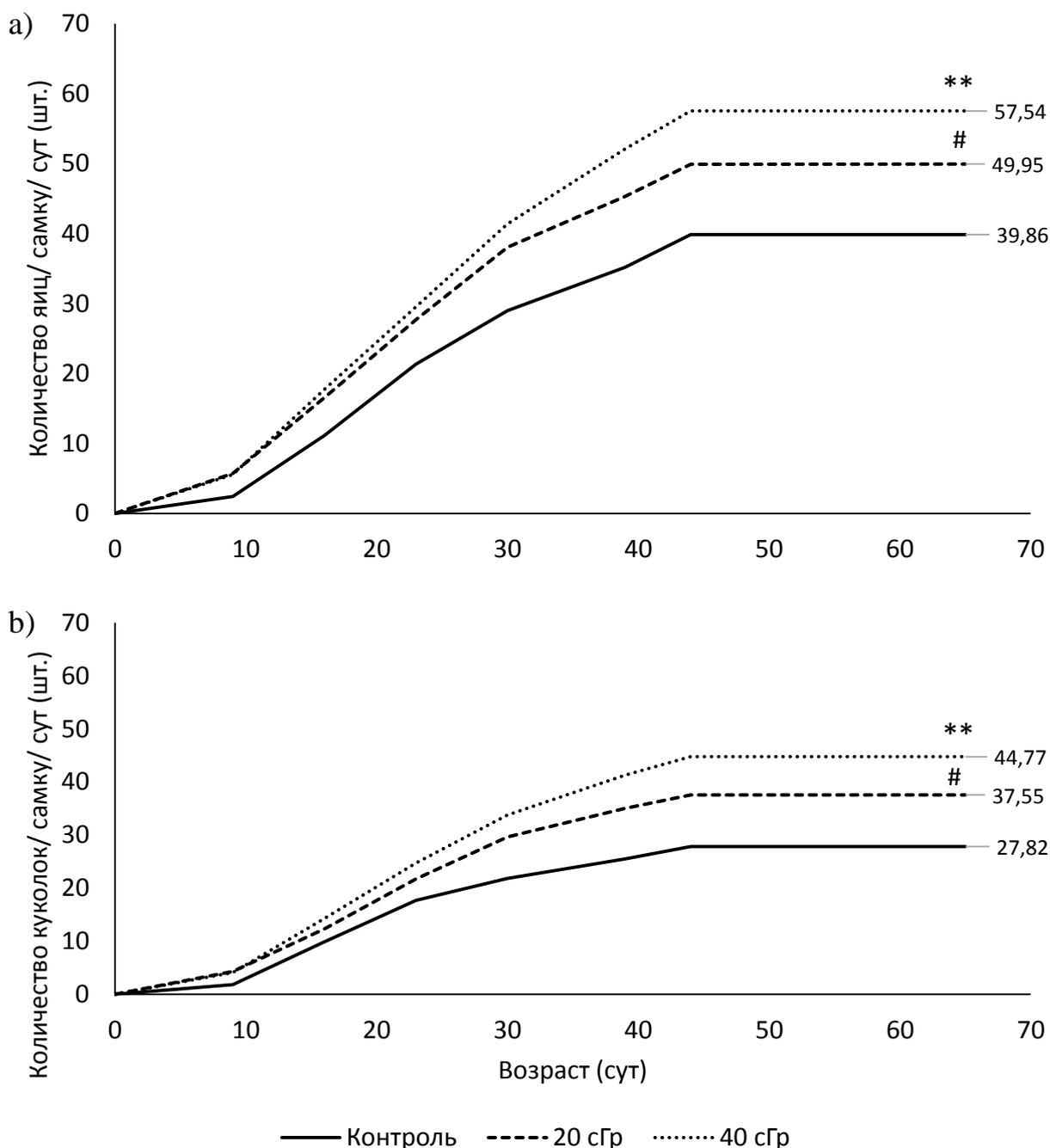


Рисунок 22 – Влияние факторов физической природы (ионизирующее излучение в дозе 20 и 40 сГр) на среднюю кумулятивную фекундность (а) и фертильность (б) самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.

Обозначения:

– отличия достоверны, $p < 0.05$ (критерий χ^2), для сравнения фертильности самок из контрольной группы и фертильности самок, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения в дозе 20 сГр

– отличия достоверны, $p < 0.01$ (критерий χ^2), для сравнения фертильности самок из контрольной группы и фертильности самок, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения в дозе 20 сГр

* – отличия достоверны, $p < 0.05$ (критерий χ^2), для сравнения фертильности самок из контрольной группы и фертильности самок, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения в дозе 40 сГр

** – отличия достоверны, $p < 0.01$ (критерий χ^2), для сравнения фертильности самок из контрольной группы и фертильности самок, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения в дозе 40 сГр

Кроме того, надо отметить, что во всех вариантах эксперимента уровень фертильности ниже, чем уровень фекудности, что связано со смертностью особей *Drosophila melanogaster* на ранних этапах развития (Sang, 1949), так как особи *Drosophila melanogaster* на стадии яйца, личинки и куколки чрезвычайно чувствительны даже к незначительным изменениям среды обитания (Izmaylov et al., 2005). Однако, если количество жизнеспособных потомков в контрольной группе снизилось на 46.7% (30 сут) и на 41.9% (39 сут) по сравнению с количеством отложенных самками яиц, то после влияния ИИ амплитуда колебаний между фекудностью и фертильностью снизилась до 24-25% и 23-29% при воздействии дозы 20 и 40 сГр, соответственно.

Таким образом, влияние малых доз ионизирующего излучения приводит не только к увеличению таких параметров, как фекудность и фертильность самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*, но и к снижению смертности на преимагинальных стадиях развития.

Таблица 10

Возрастная динамика плодовитости самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия фактора физической природы – ионизирующего излучения в дозе 20 и 40 сГр.

| Возраст (сут) | Изменение фекудности (%) | | Изменение фертильности (%) | |
|---------------|--------------------------|---------|----------------------------|---------|
| | 20 сГр | 40 сГр | 20 сГр | 40 сГр |
| 9 | ↑135.05 | ↑129.55 | ↑138.71 | ↑124.88 |
| 16 | - | ↑39.52 | - | - |
| 23 | - | - | - | - |
| 30 | - | ↑54.28 | ↑91.61 | ↑118.58 |
| 39 | - | ↑73 | - | ↑106.04 |
| 44 | - | - | - | - |
| 65 | - | - | - | - |

3.3 Влияние факторов химической и физической природы на спонтанную локомоторную активность особей *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*

Есть работы, свидетельствующие о немаловажном вкладе изменений локомоторной активности в процессы старения и стрессоустойчивости. Так, например, показано, что искусственное снижение двигательной активности приводит к снижению стрессоустойчивости, связанному с down-регуляцией экспрессии генов детоксификации свободных радикалов и антиоксидантной системы – *Sod1* (*superoxide dismutase 1*), *Catalase* и *PHGP* (*phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase*) (Ghimire, Kim, 2015; Voluntary

locomotor activity..., 2015). Кроме того, изменения параметров данного показателя являются одним из индикаторов нарушения работы нервной системы (Enhanced tethered-flight duration..., 2015).

3.3.1 Влияние толуола, формальдегида и ТХДД) на спонтанную локомоторную активность особей *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*

В результате анализа спонтанной двигательной активности самцов *Drosophila melanogaster* после воздействия паров раствора формальдегида (7%), раствора толуола (50 мкмоль/л) и раствора диоксина (0.822 мкмоль/л) достоверных отличий не выявлено (Рисунок 23), в то время, как у самок в рамках данного варианта эксперимента наблюдается достоверное снижение данного показателя после воздействия раствора диоксина на 33% (11 сут) - 46% (21 сут) (Рисунок 24).

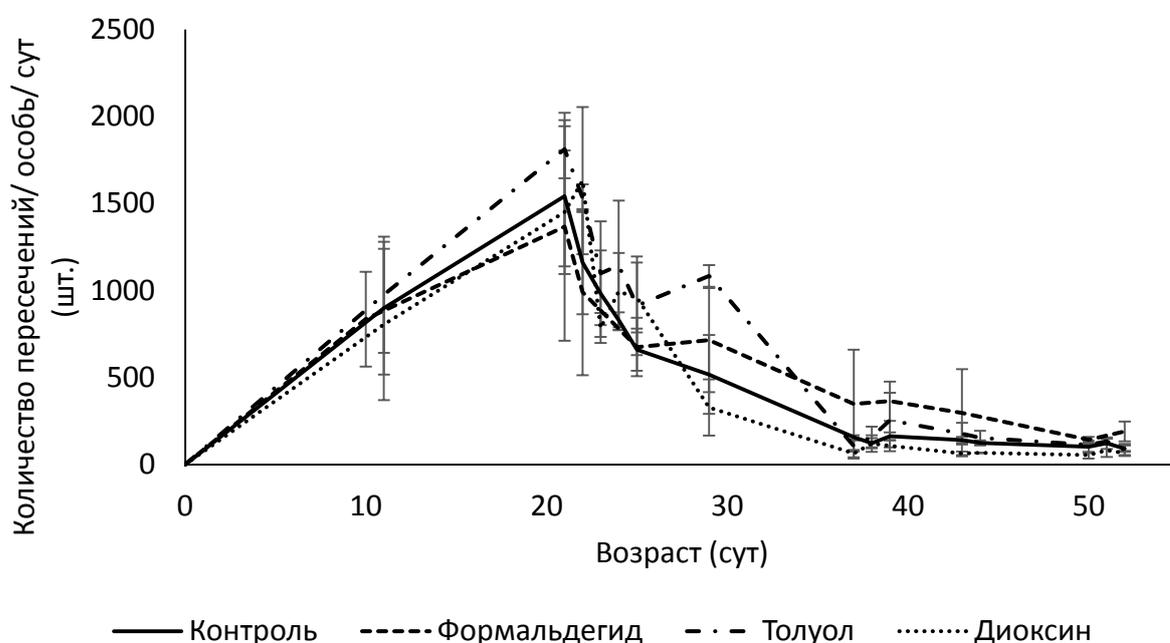


Рисунок 23 – Возрастная динамика локомоторной активности самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (50 мкмоль/л), диоксина (0.822 мкмоль/л) и паров формальдегида (7%).

Обозначения: Здесь и далее:

Δ – отличия достоверны, $p < 0.05$ (U – критерий Манна-Уитни), для сравнения локомоторной активности особей из контрольной группы и группы, подвергшейся воздействию паров формальдегида.

ΔΔ – отличия достоверны, $p < 0.01$ (U – критерий Манна-Уитни), для сравнения локомоторной активности особей из контрольной группы и группы, подвергшейся воздействию паров формальдегида.

– отличия достоверны, $p < 0.05$ (U – критерий Манна-Уитни), для сравнения локомоторной активности особей из контрольной группы и группы, подвергшейся воздействию толуола.

– отличия достоверны, $p < 0.01$ (U – критерий Манна-Уитни), для сравнения локомоторной активности особей из контрольной группы и группы, подвергшейся воздействию толуола.

* – отличия достоверны, $p < 0.05$ (U – критерий Манна-Уитни), для сравнения локомоторной активности особей из контрольной группы и группы, подвергшейся воздействию диоксина.
 ** – отличия достоверны, $p < 0.01$ (U – критерий Манна-Уитни), для сравнения локомоторной активности самок из контрольной группы и группы, подвергшейся воздействию диоксина.

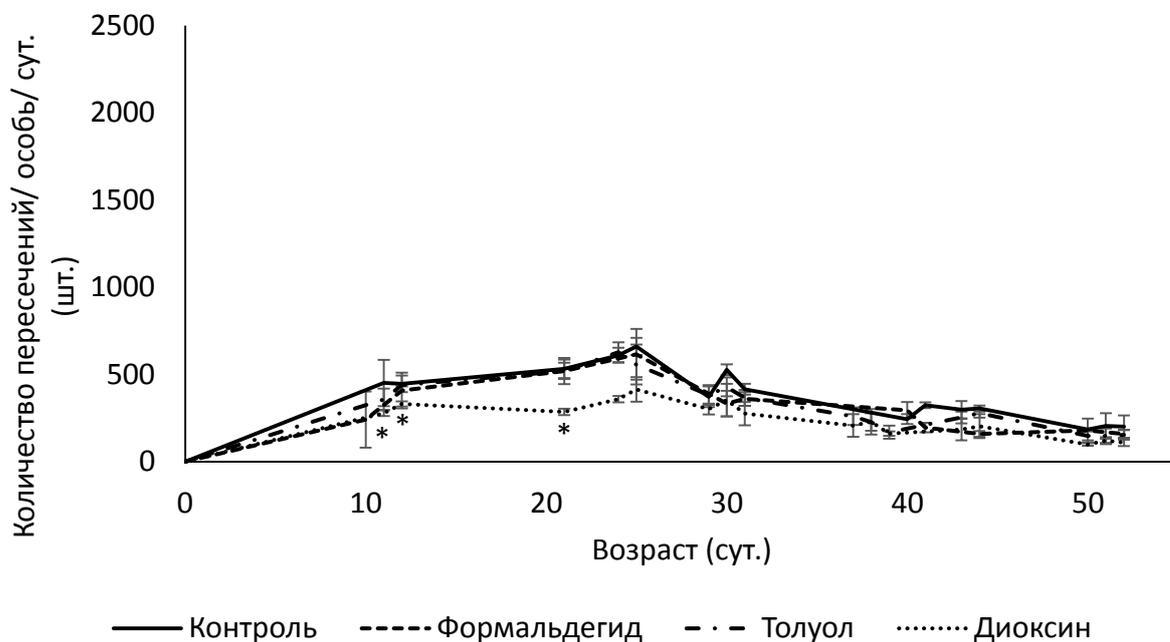


Рисунок 24 – Возрастная динамика локомоторной активности самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (50 мкмоль/л), диоксина (0.822 мкмоль/л) и паров формальдегида (7%).

В результате увеличения концентрации вышеперечисленных экотоксикантов вдвое у самок *Drosophila melanogaster* наблюдается снижение изучаемого показателя после воздействия формальдегида на 33-38% в зрелом возрасте (16-19 сутки), влияние толуола оказывает противоположный эффект – увеличение спонтанной локомоторной активности на 89-93% на 18-21 сутки жизни тестируемых особей (Рисунок 25). В остальных вариантах достоверных отличий не наблюдалось.

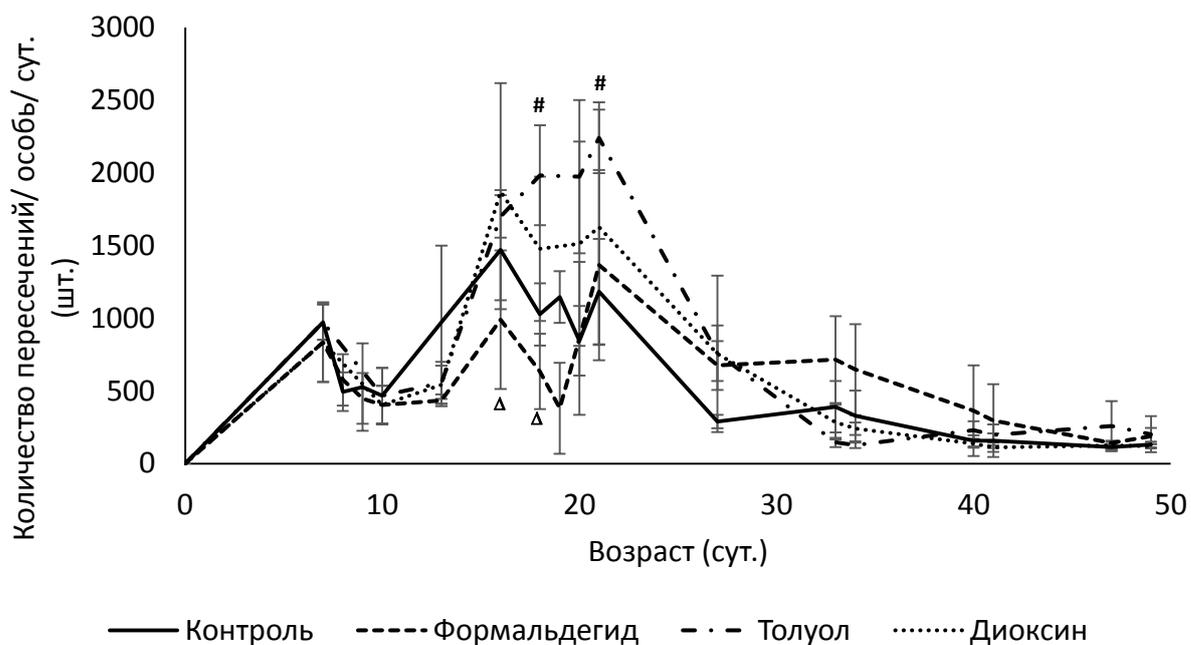


Рисунок 25 – Возрастная динамика локомоторной активности самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (100 мкмоль/л), диоксина (1.644 мкмоль/л) и паров формальдегида (14%).

У самок наблюдается увеличение спонтанной локомоторной активности после воздействия паров формальдегида (14%) в раннем возрасте (7-9 сутки) на 40-206% соответственно (Рисунок 26), как и в предыдущем варианте эксперимента, мы наблюдаем снижение изучаемого показателя в зрелом возрасте самок (27-33 сутки) после воздействия раствора диоксина – на 25-34% (Рисунок 26). В остальных вариантах эксперимента достоверных отличий не наблюдалось.

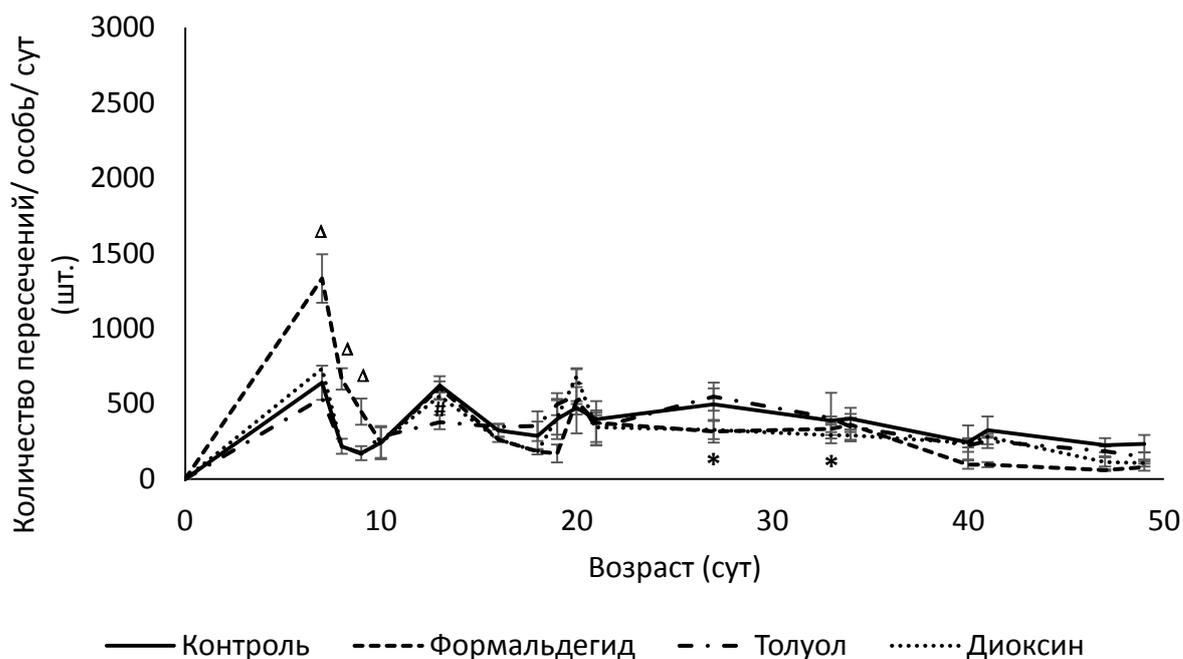


Рисунок 26 – Возрастная динамика локомоторной активности самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы – растворов толуола (100 мкмоль/л), диоксина (1.644 мкмоль/л) и паров формальдегида (14%).

3.3.2 Влияние малых доз ионизирующего излучения на спонтанную локомоторную активность особей *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*

По результатам исследования влияния малых доз ионизирующего излучения на спонтанную локомоторную активность особей *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*, у самцов наблюдается увеличение данного показателя в раннем возрасте (10 сутки) – на 97 и 61% после воздействия дозы 20 и 40 сГр, соответственно (Рисунок 27). У самок исследуемый показатель в данном возрасте увеличивается только после воздействия дозы 40 сГр – на 156%, кроме того у самок наблюдается увеличение спонтанной локомоторной активности и в зрелом возрасте (30 суток) – на 96 и 143% после воздействия дозы 20 и 40 сГр, соответственно (Рисунок 28), в то время, как для самцов в зрелом и старом возрастах (23-58 сутки) характерно снижение исследуемого показателя на 53-60% после воздействия ионизирующего излучения в дозе 20 сГр (Рисунок 27, 28).

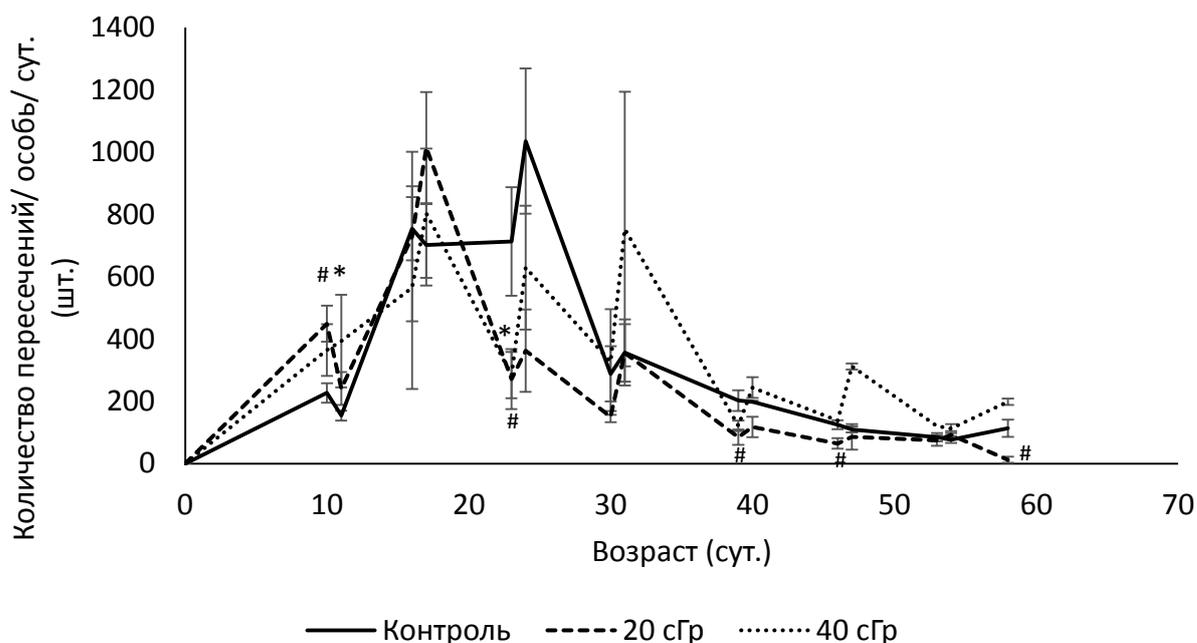


Рисунок 27 – Возрастная динамика локомоторной активности самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия фактора физической природы – ионизирующего излучения в дозе 20 и 40 сГр.

Обозначения: *Здесь и далее:*

– отличия достоверны, $p < 0.05$ (U – критерий Манна-Уитни), для сравнения локомоторной активности особей из контрольной группы и группы, подвергшейся воздействию ионизирующего излучения в дозе 20 сГр.

– отличия достоверны, $p < 0.01$ (U – критерий Манна-Уитни), для сравнения локомоторной активности особей из контрольной группы и группы, подвергшейся воздействию ионизирующего излучения в дозе 20 сГр.

* – отличия достоверны, $p < 0.05$ (U – критерий Манна-Уитни), для сравнения локомоторной активности особей из контрольной группы и группы, подвергшейся воздействию ионизирующего излучения в дозе 40 сГр.

** – отличия достоверны, $p < 0.01$ (U – критерий Манна-Уитни), для сравнения локомоторной активности особей из контрольной группы и группы, подвергшейся воздействию ионизирующего излучения в дозе 40 сГр.

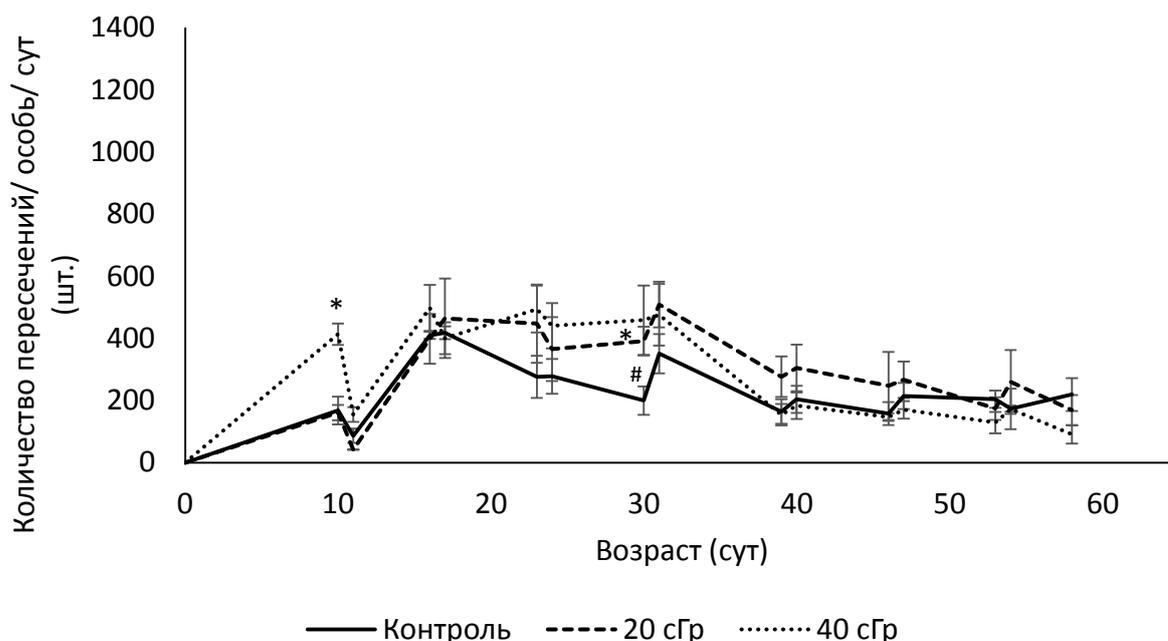


Рисунок 28 – Возрастная динамика локомоторной активности самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия фактора физической природы – ионизирующего излучения в дозе 20 и 40 сГр.

Таким образом, видно, что малые дозы ионизирующего излучения вызывают изменения спонтанной локомоторной активности в отдельных возрастных точках – увеличение в раннем возрасте как у самцов, так и у самок – и разнонаправленные эффекты в зрелом – увеличение у самок и снижение у самцов – и старом возрастах.

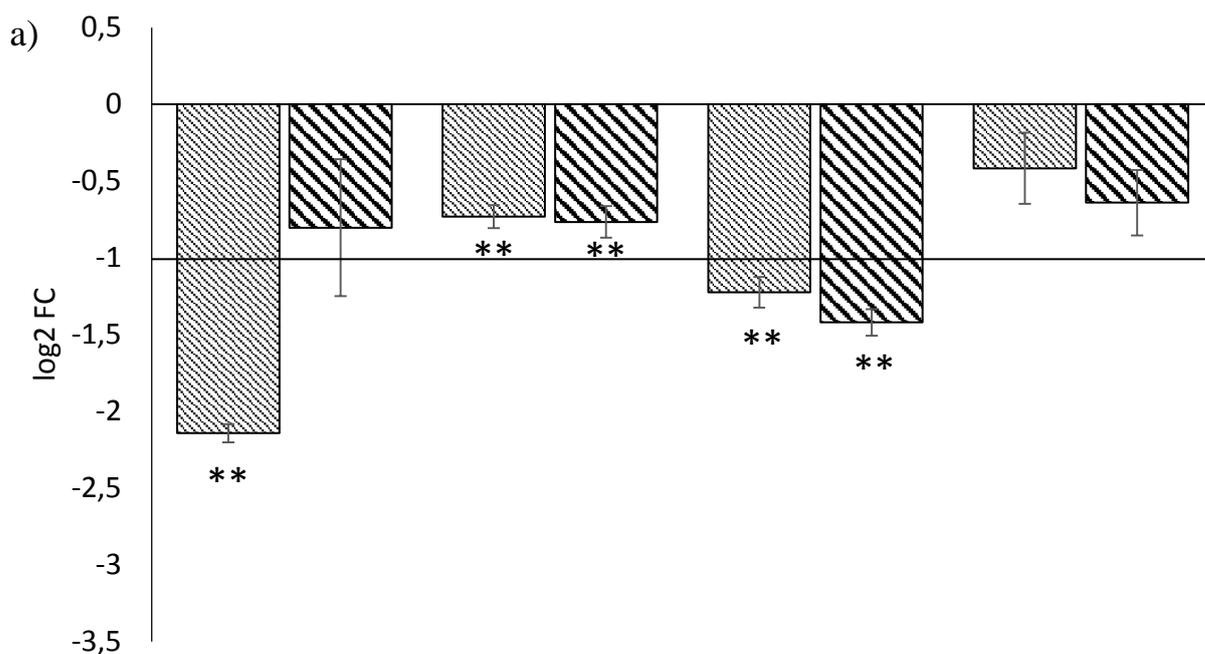
3.4 Анализ влияние факторов химической и физической природы на экспрессию генов стресс-ответа особей *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* с использованием qRT-PCR метода

Генетический аппарат клетки – основа любых изменений живых организмов, начиная с молекулярного и заканчивая организменным уровнем организации. Изменение экспрессии генов стресс-ответа – основа адаптации живых организмов к неблагоприятным факторам окружающей среды. С целью выявить вклад различных функциональных групп генов в стресс-ответ *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* на воздействие факторов химической и физической природы мы оценивали изменения профиля экспрессии генов иммунного ответа – *Drosomycin (Drs)*, *Metchnikowin (Mtk)*, *Defensin (Def)*, *Mst-1 (Hippo)*; генов регуляции стресс-ответа и апоптоза – *D-Gadd45*, *dSir2 (Sirt1)*, *FOXO*, *JNK (basket)*, *Wrinkler/Hid*; генов детоксикации свободных радикалов и ксенобиотиков – *Sod1*, *Sod2*, *Catalase*, *Cyp4e2*; генов конформации белков – *Hsp70Aa*; генов репарации ДНК – *Mus209 (PCNA)*, *mus210 (XPC)*, *Rrp1*, *Brca2*, *spn-B*, *Ku-80*, *PARP-1*.

В данной исследовалась динамика экспрессии генов стресс-ответа не только *in vitro* с использованием метода ОТ-ПЦР, но и *in vivo*, с использованием метода GFP-репортерного анализа, что позволило оценить динамику изменения активности выбранных генов в течение трех дней после воздействия исследуемых стрессоров.

3.4.1 Влияние малых доз формальдегида, толуола, ТХДД и ионизирующего излучения на экспрессию генов иммунного ответа и воспаления

В результате анализа экспрессии генов иммунного ответа после воздействия паров формальдегида у самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* не наблюдается изменений экспрессии генов *Drosomycin*, *Metchnikowin*, *Defensin* и *Mst-1* (Рисунок 29b), в то время, как у самцов выявлено снижение экспрессии гена *Drosomycin* в 2.14 раза после воздействия паров 7%-го раствора формальдегида и гена *Defensin* в 1.22 и 1.42 раза после воздействия паров 7%-го и 14%-го раствора формальдегида, соответственно (Рисунок 29a).



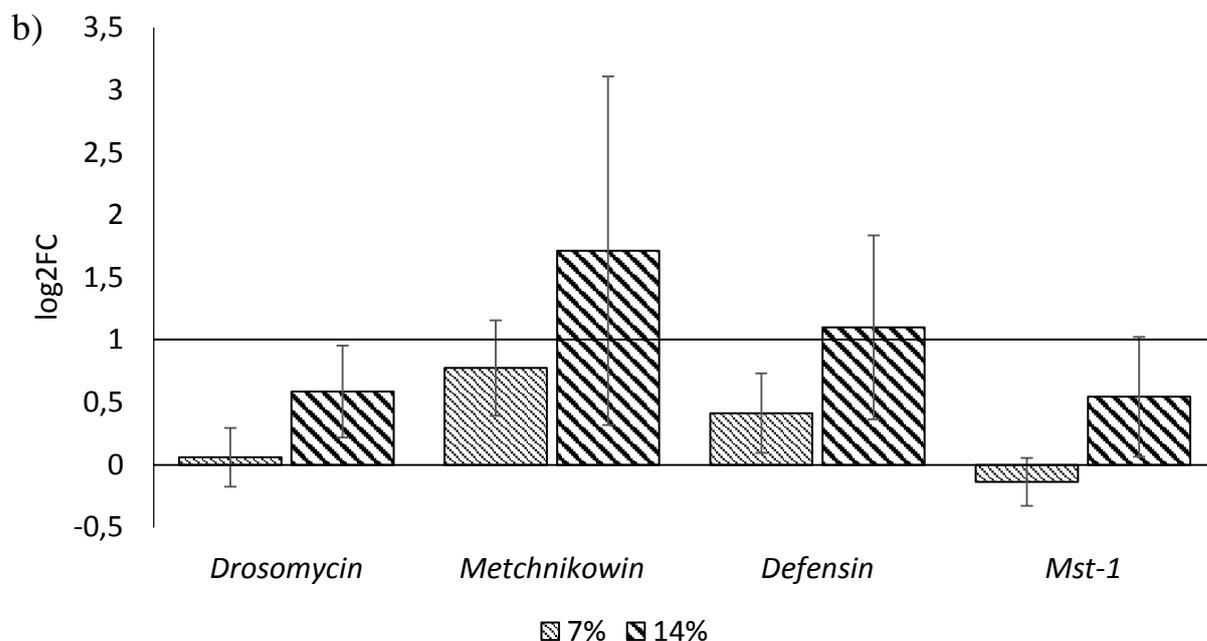


Рисунок 29 – Влияние паров формальдегида (7% и 14%) на экспрессию генов иммунного ответа и воспаления у самцов (а) и самок (b) *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.

Обозначения: *Здесь и далее:*

* – отличия достоверны, $p < 0.05$ (U – критерий Манна-Уитни);

** – отличия достоверны, $p < 0.01$ (U – критерий Манна-Уитни);

Воздействие толуола приводит у самцов к снижению экспрессии гена *Drosomycin* в 2.59 раза (при концентрации 100 мкмоль/л) и увеличению экспрессии генов *Metchnikowin* в 4.27 и 4 раза и *Mst-1* в 1.59 и 1.56 раза после влияния, исследуемого экотоксиканта в концентрации 50 и 100 мкмоль/л соответственно (Рисунок 30а). У самок наблюдается снижение экспрессии гена *Metchnikowin* в 1.76 и 1.61 раза после воздействия толуола в концентрации 50 и 100 мкмоль/л (Рисунок 30b).

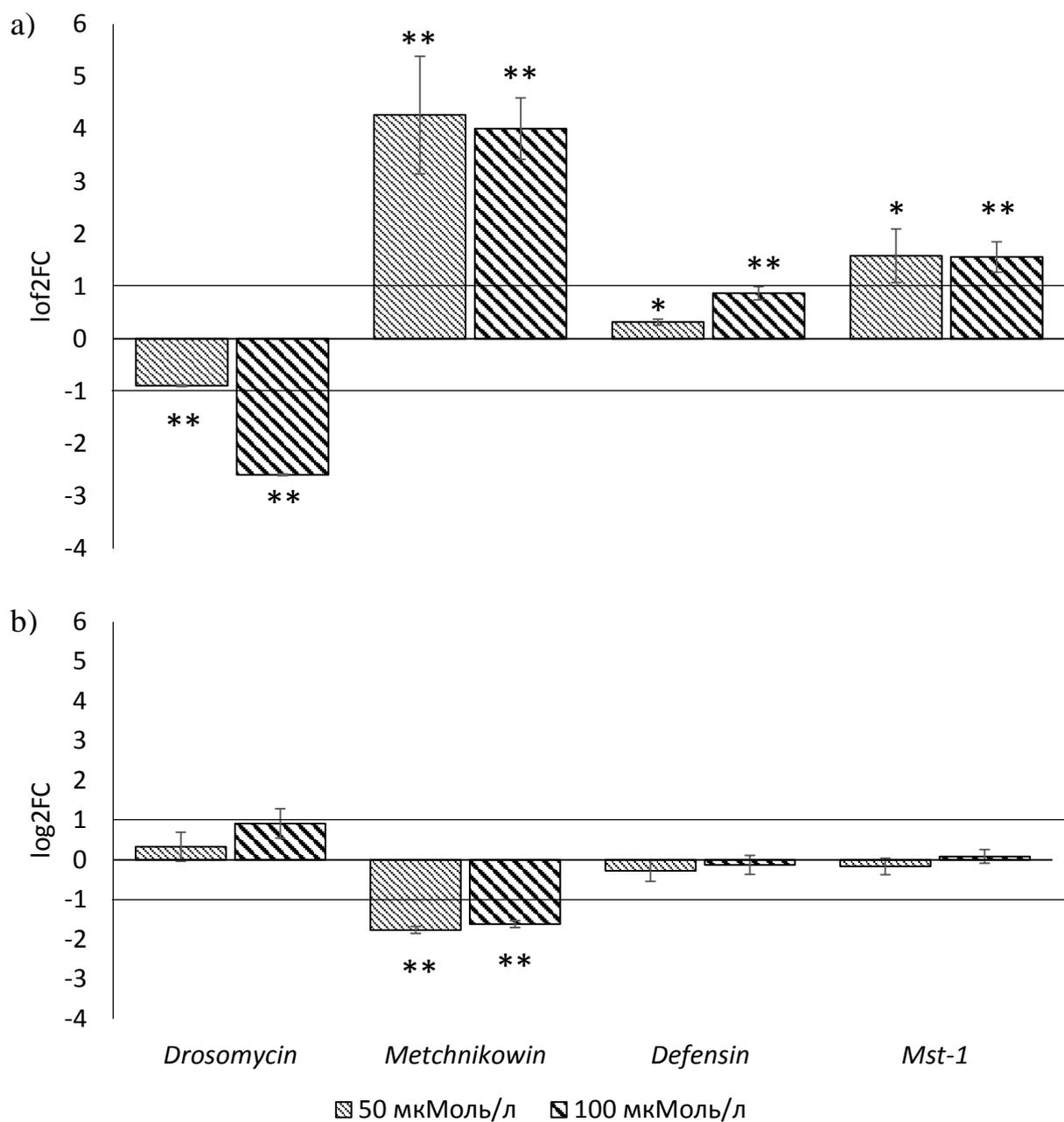


Рисунок 30 – Влияние раствора толуола (50 и 100 мкмоль/л) на экспрессию генов иммунного ответа и воспаления самцов (а) и самок (б) *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.

После воздействия ТХДД у самцов наблюдается увеличение экспрессии генов *Metchnikowin* и *Mst-1* в 2.02, 2.09 и 1.48, 1.01 раза при концентрации исследуемого экотоксиканта 0.822 и 1.644 мкмоль/л, соответственно, экспрессия гена *Drosomycin* снижается в 1.46 и 1.59 при идентичных условиях (Рисунок 31а). Как видно из рисунка 31б у самок не наблюдается достоверных изменений экспрессии исследуемых генов иммунного ответа.

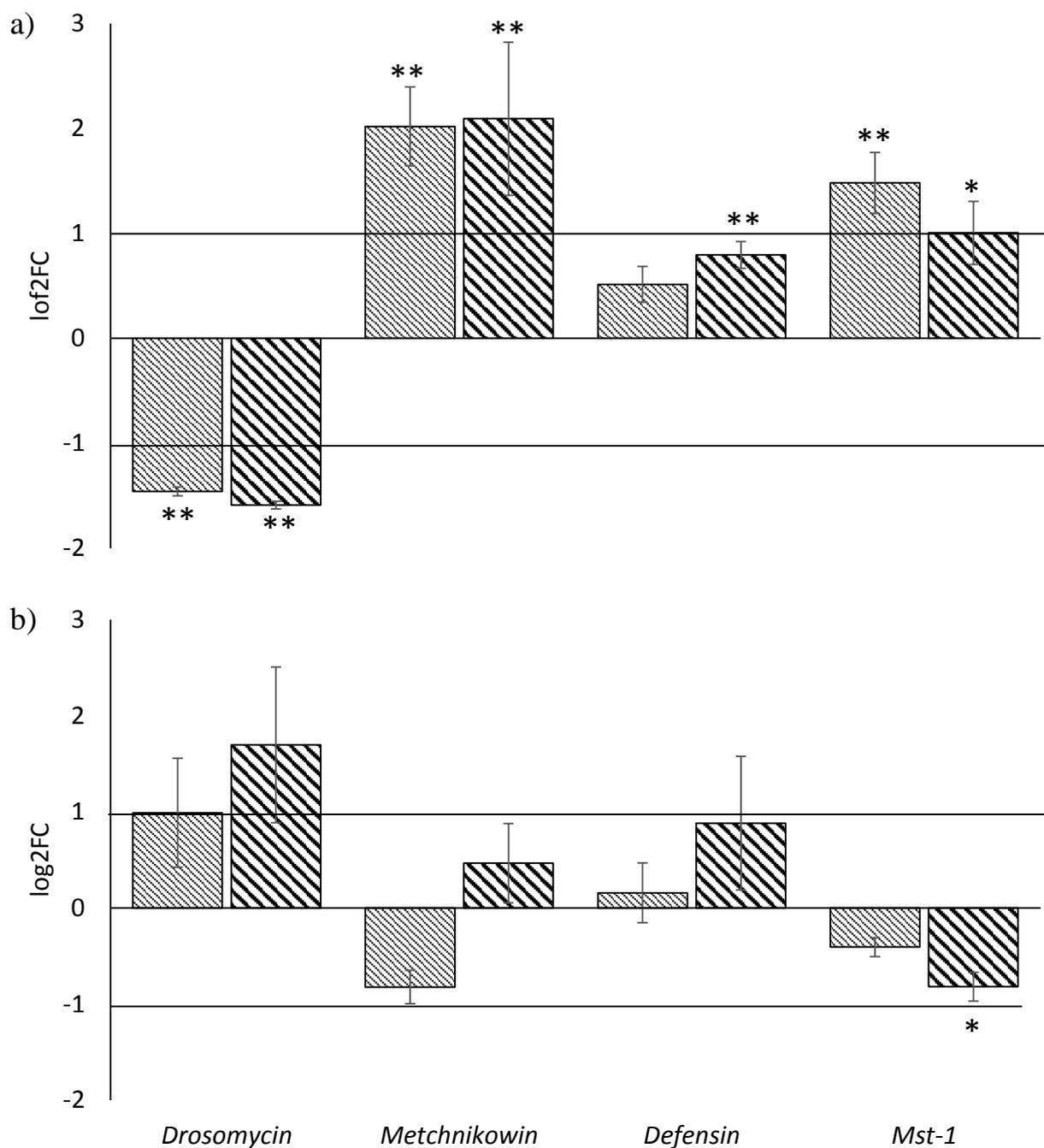


Рисунок 31 – Влияние раствора диоксина (0.822 и 1.644 мкмоль/л) на экспрессию генов иммунного ответа и воспаления самцов (a) и самок (b) *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.

Ионизирующее излучение в дозе 20 сГр вызывает снижение экспрессии гена *Drosomycin* у самцов в 1.06 раза, а воздействие дозы 40 сГр приводит к увеличению экспрессии генов *Metchnikowin*, *Defensin* и *Mst-1* в 2.25, 1.11, 1.15 раз, соответственно (Рисунок 32a). У самок данный фактор приводит к снижению экспрессии гена *Metchnikowin* в 2.63 и 3.8 раз после воздействия дозы 20 и 40 сГр, соответственно (Рисунок 32b).

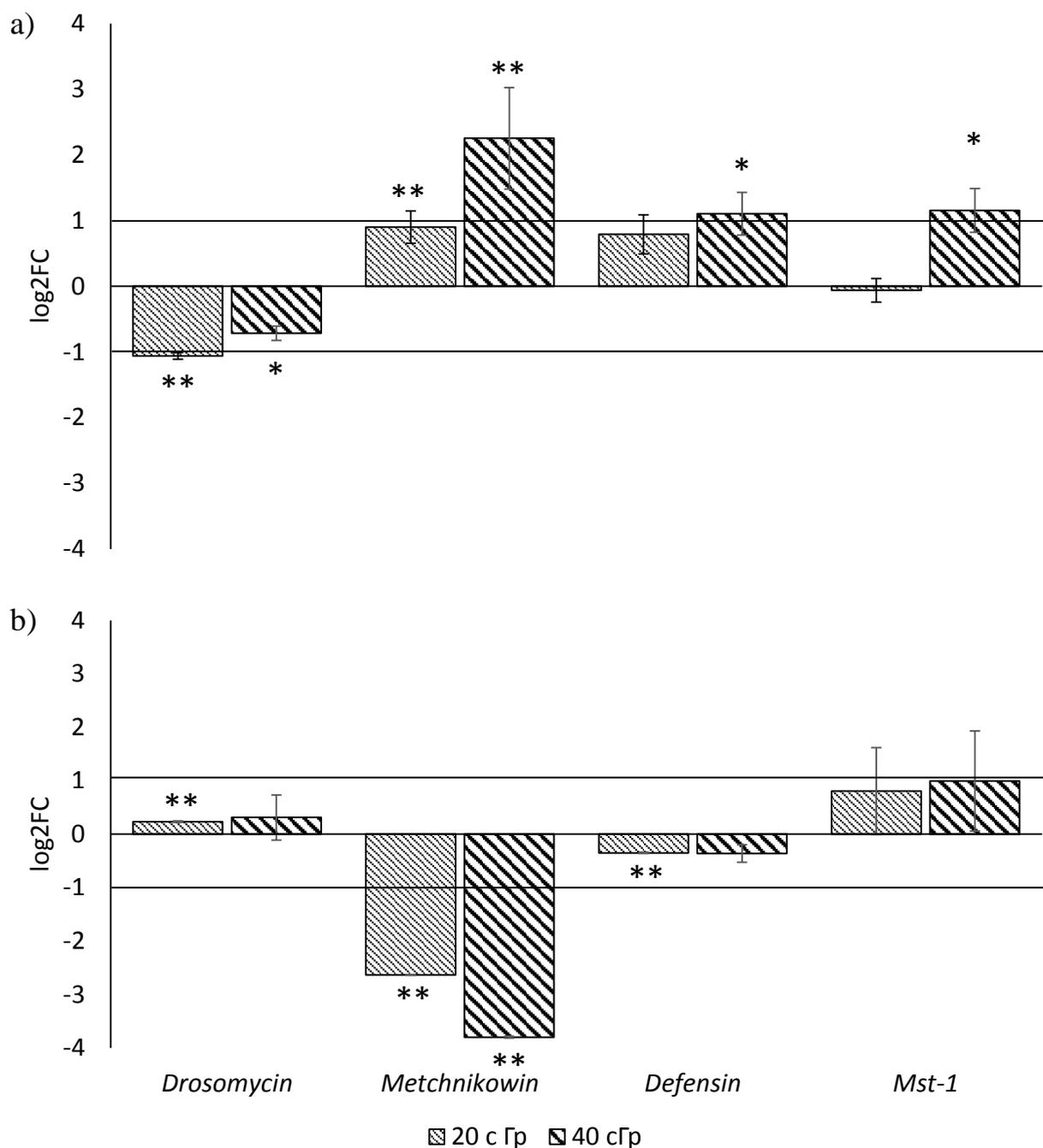


Рисунок 32 – Влияние малых доз ионизирующего излучения (20 и 40 сГр) на экспрессию генов иммунного ответа и воспаления самцов (а) и самок (б) *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.

3.4.2 Влияние малых доз формальдегида, толуола, ТХДД и ионизирующего излучения на экспрессию генов регуляции стресс-ответа и апоптоза

Как видно из рисунков 33b, 34b, 35b и 36b, у самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* изучаемые факторы химической и физической природы не вызвали изменений в профиле экспрессии генов *Wrinkled/Hid*, *D-Gadd45*, *dSir2*, *FOXO* и *JNK*.

У самцов после воздействия паров раствора формальдегида наблюдается снижение экспрессии генов *D-Gadd45* и *FOXO* при концентрации раствора исследуемого экотоксиканта 7% в 1.56 и 1.41 раза. Экспрессия гена *FOXO* также снизилась (в 1.15 раза) при концентрации раствор формальдегида 14% (Рисунок 33а).

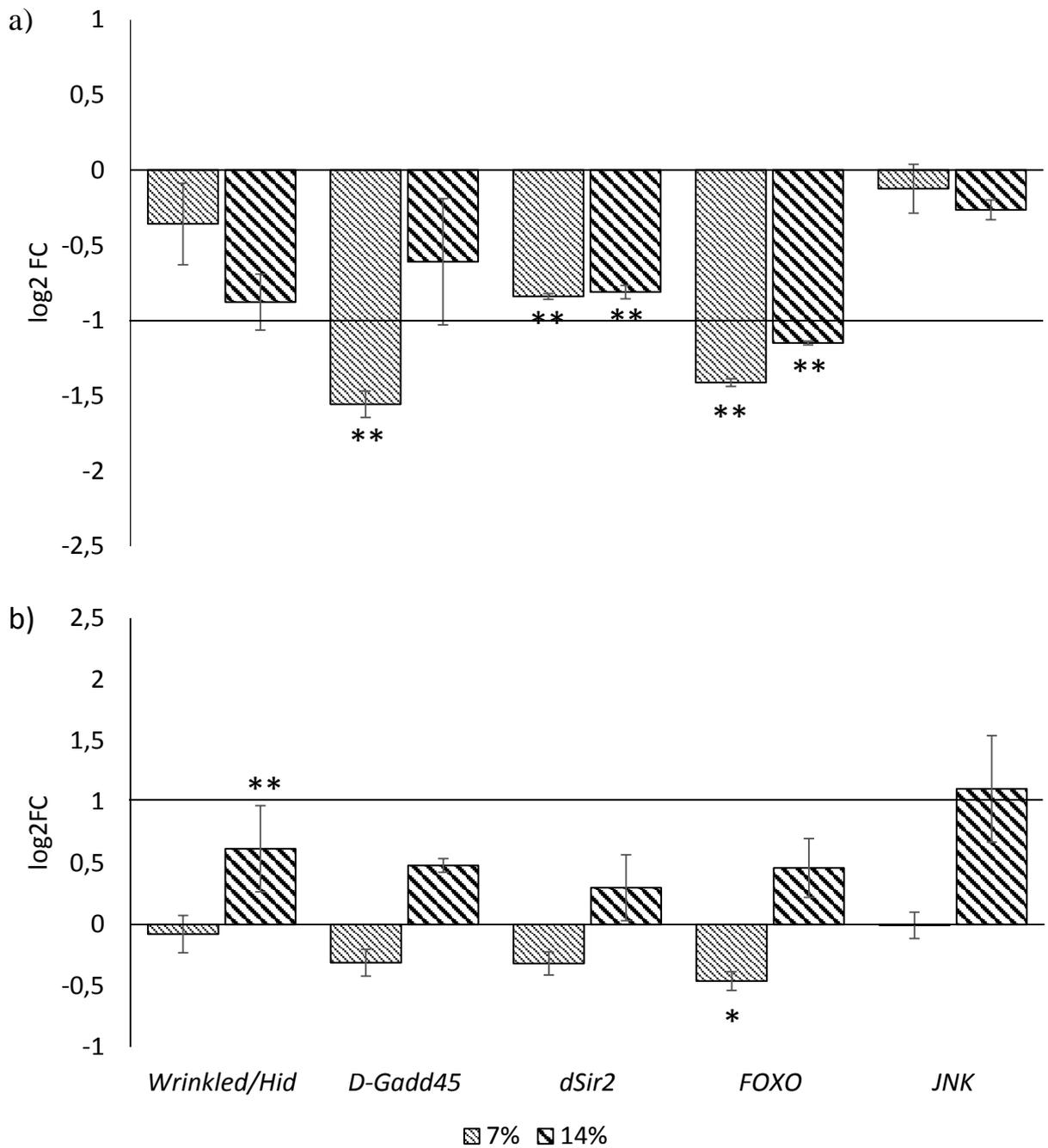


Рисунок 33 – Влияние паров формальдегида (7% и 14%) на экспрессию генов регуляции стресс-ответа и апоптоза у самцов (а) и самок (b) *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.

В результате изучения влияния толуола на экспрессию генов регуляции стресс-ответа и апоптоза показано, что все исследуемые гены увеличивают свою экспрессию (*Wrinkled/Hid* – в 2.17 раза, *D-Gadd45* – в 2.03 раза, *dSir2* – в 2.14 раза, *FOXO* – в 1.86 раза, *JNK* – в 1.75 раза) после воздействия раствора исследуемого экотоксиканта с концентрацией 50 мкмоль/л. В результате увеличения концентрации в 2 раза все гены, кроме гена *FOXO*, также увеличили свою экспрессию (*Wrinkled/Hid* – в 1.41 раза, *D-Gadd45* – в 1.49 раза, *dSir2* – в 1.46 раза, *JNK* – в 1.55 раза) (Рисунок 34b).

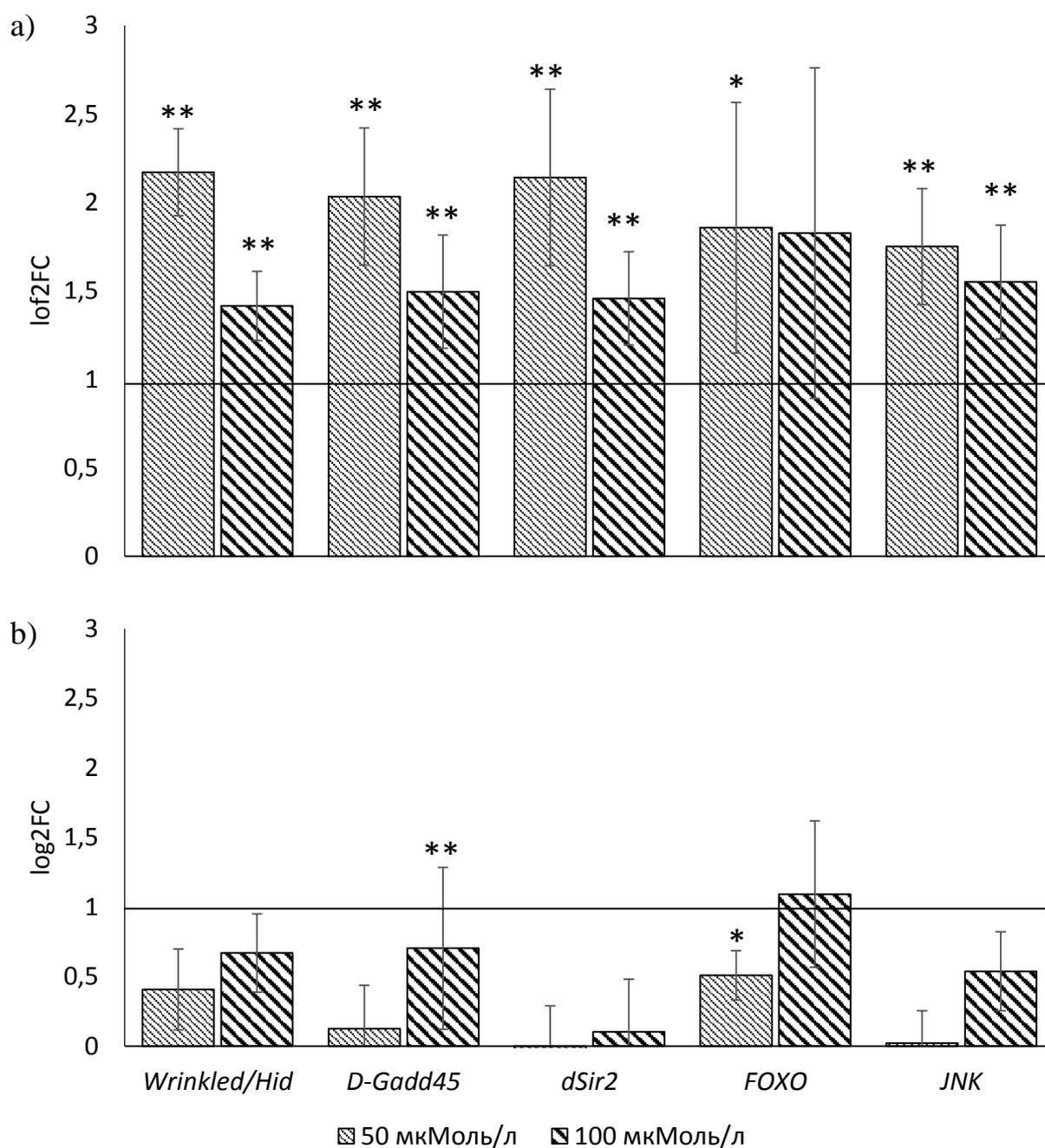


Рисунок 34 – Влияние раствора толуола (50 и 100 мкмоль/л) на экспрессию генов регуляции стресс-ответа и апоптоза самцов (а) и самок (b) *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.

Такой экотоксикант, как ТХДД в концентрации 0.822 мкмоль/л, вызывает у самцов увеличение экспрессии генов *Wrinkled/Hid* – в 1.36 раза, *dSir2* – в 1.91 раза, *FOXO* – в 1.47 раза и *JNK* – в 1.54 раза. Увеличение концентрации воздействующего фактора вдвое привело к возрастанию экспрессии генов *Wrinkled/Hid*, *dSir2* и *JNK* в 1.1, 1.14 1.38 раза, соответственно (Рисунок 35а).

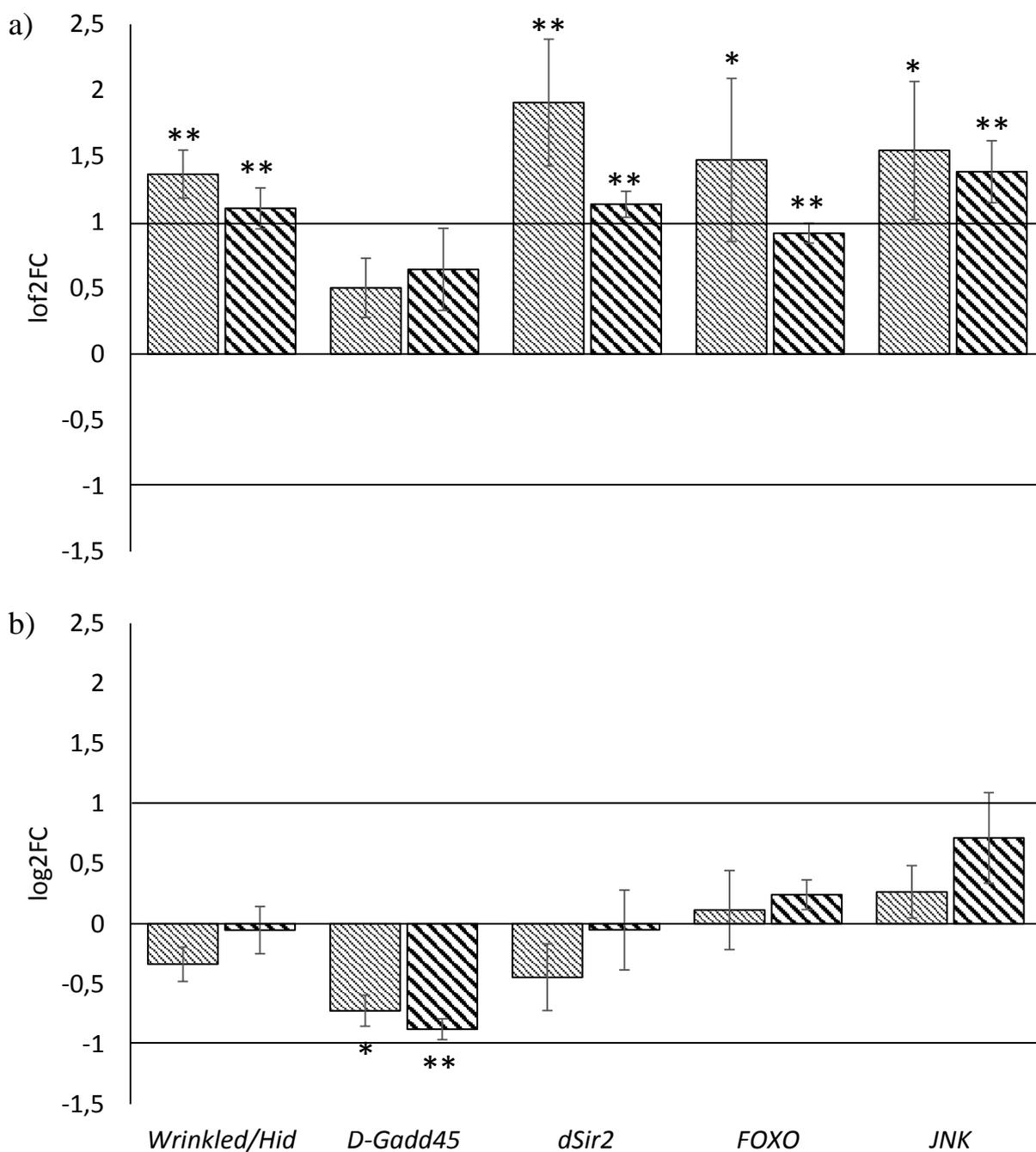


Рисунок 35 – Влияние раствора диоксина (0.822 и 1.644 мкмоль/л) на экспрессию генов регуляции стресс-ответа и апоптоза самцов (а) и самок (b) *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.

Воздействие ионизирующего излучения в дозе 20 сГр на самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* вызвало изменение экспрессии только гена *D-Gadd45* (увеличение в 1.51 раза), увеличение интенсивности воздействия до 40 сГр привело к возрастанию экспрессии генов *Wrinkled/Hid* – в 1.48 раза, *D-Gadd45* – в 2.03 раза и *dSir2* – в 1.29 раза (Рисунок 36а).

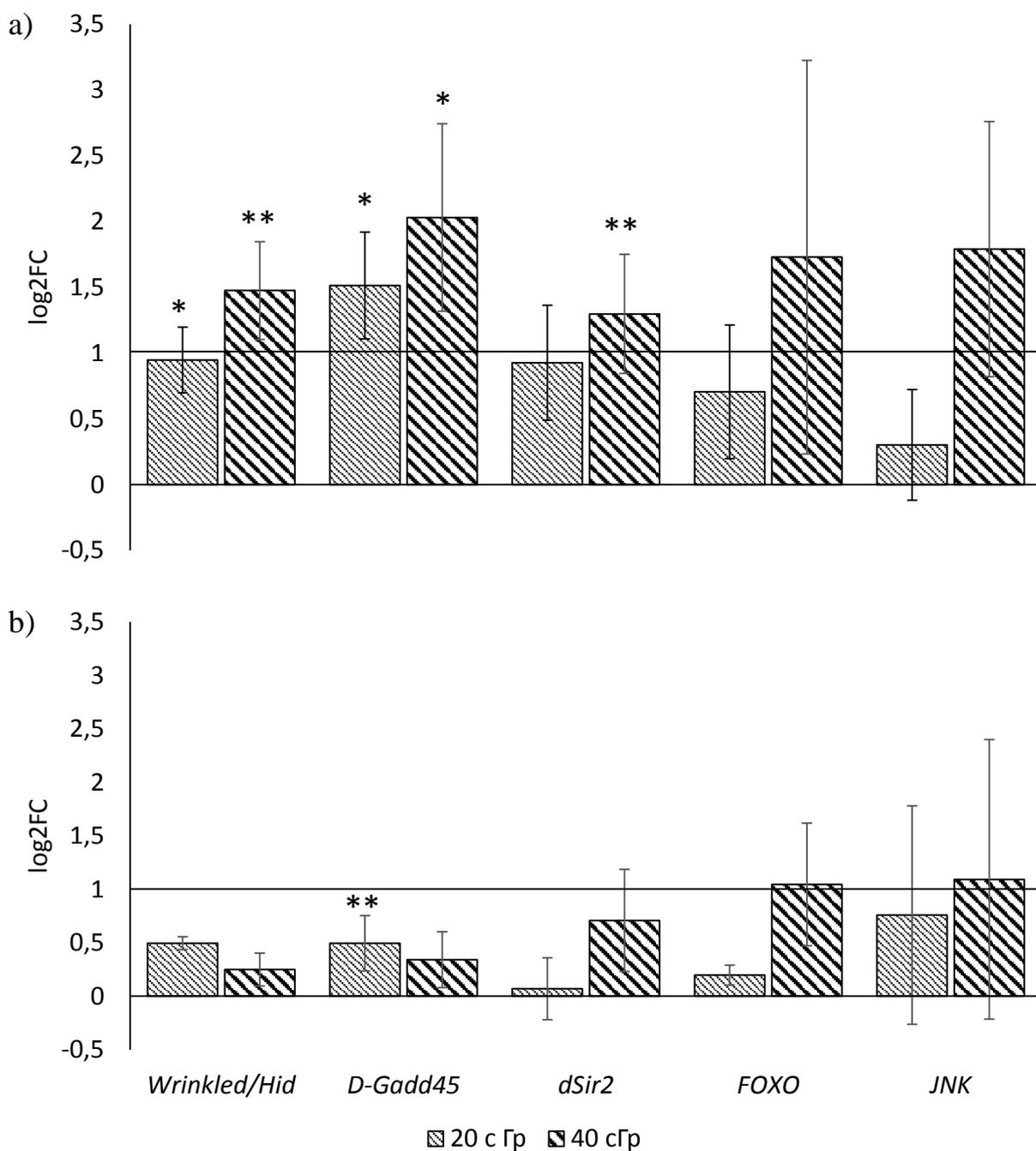
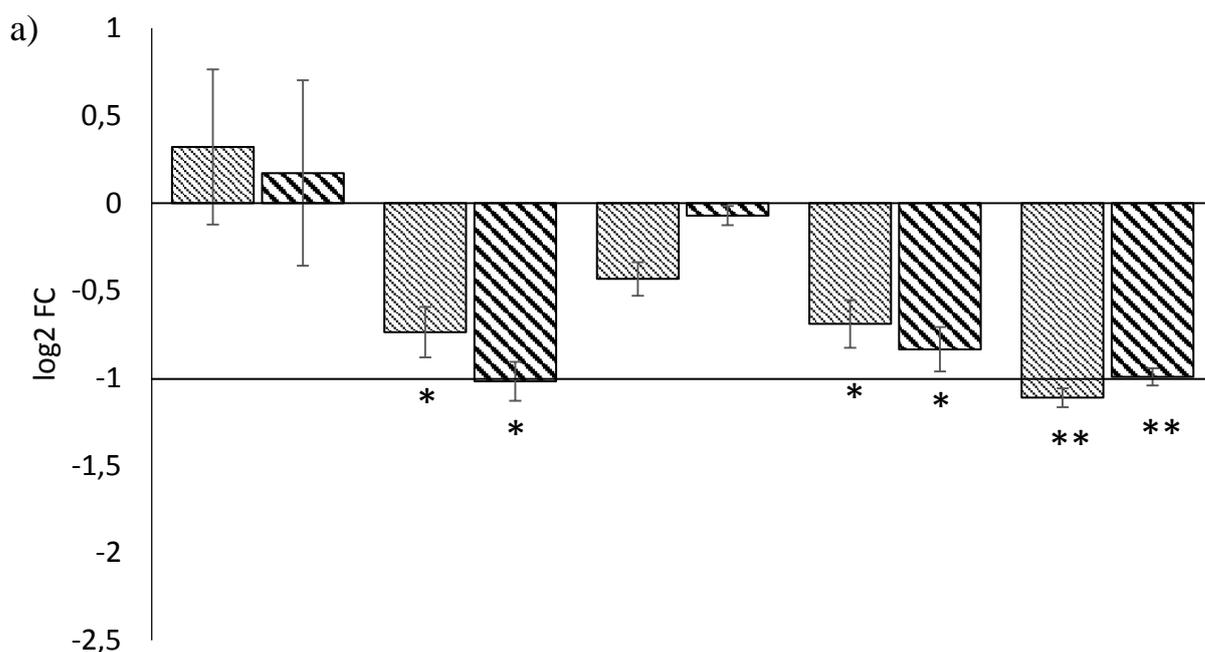


Рисунок 36 – Влияние малых доз ионизирующего излучения (20 и 40 сГр) на экспрессию генов регуляции стресс-ответа и апоптоза самцов (а) и самок (b) *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.

3.4.3 Влияние малых доз формальдегида, толуола, ТХДД и ионизирующего излучения на экспрессию генов детоксикации свободных радикалов и ксенобиотиков, генов поддержания конформации белков

У самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*, как и в предыдущей группе, не наблюдалось изменений в экспрессии генов детоксикации ксенобиотиков (*Cyp4e2*), генов детоксикации свободных радикалов (*Sod1*, *Sod2*, *Catalase*) и гена конформации белков (*Hsp70Aa*) как после воздействия паров формальдегида, так и после воздействия раствора толуола в обоих вариантах экспериментов (Рисунок 37b и 38b). У самцов после воздействия паров 7%-го раствора формальдегида выявлено снижение экспрессии гена *Catalase* (в 1.11 раза), а после воздействия паров 14%-го раствора того же экотоксиканта – снижение экспрессии гена *Cyp4e2* (1.02 раза) (Рисунок 37a).



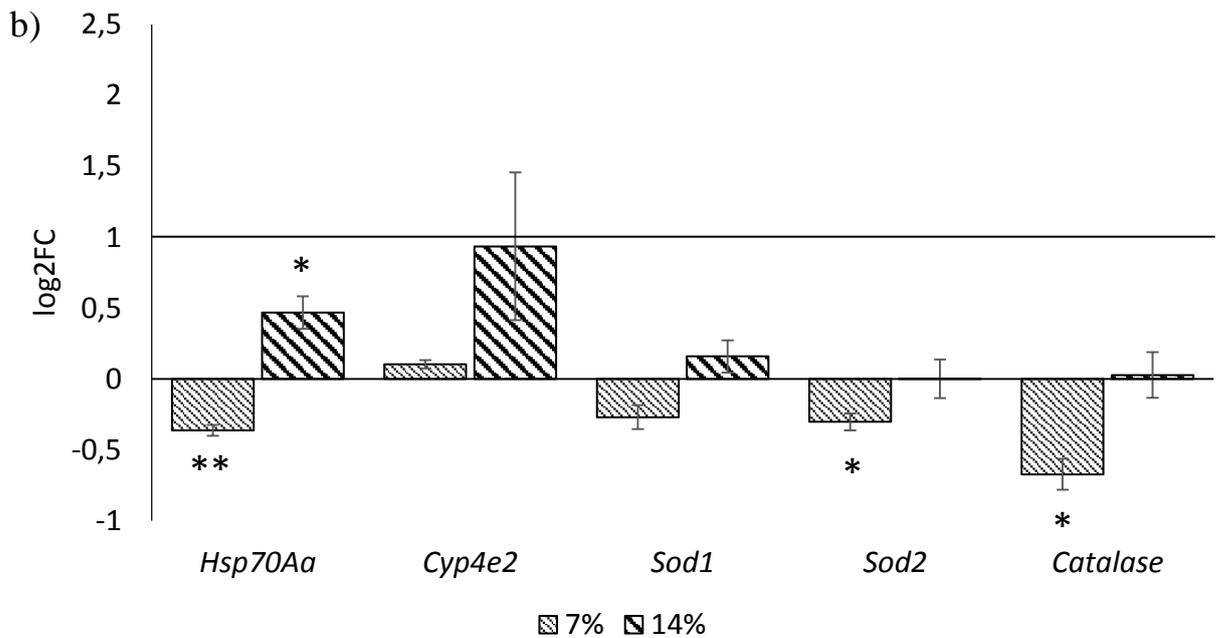
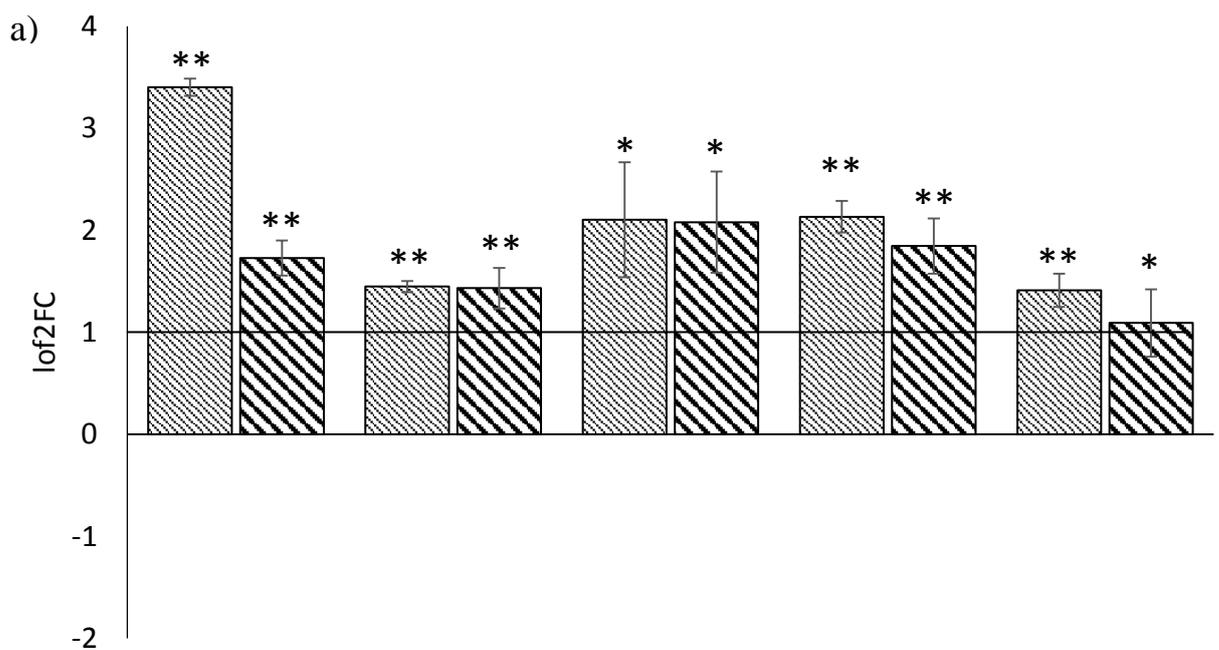


Рисунок 37 – Влияние паров формальдегида (7% и 14%) на экспрессию генов детоксикации свободных радикалов и ксенобиотиков, генов восстановления белков у самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.

Влияние раствора толуола вызвало у самцов увеличение экспрессии всех исследуемых генов: *Hsp70Aa* – в 3.4 и 1.73 раза, *Cyp4e2* – в 1.45 и 1.43 раза, *Sod1* – в 2.1 и 2.08 раза, *Sod2* – в 2.13 и 1.85 раза и *Catalase* – в 1.41 и 1.09 раза после воздействия раствора данного экотоксиканта в концентрации 50 и 100 мкмоль/л, соответственно (Рисунок 38а).



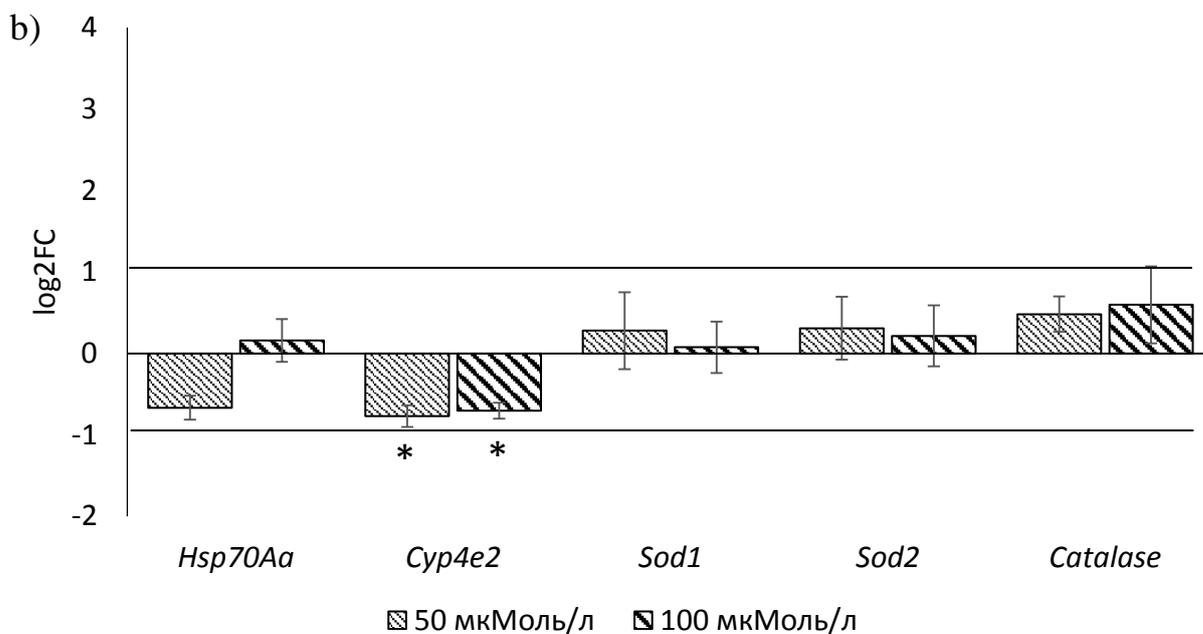


Рисунок 38 – Влияние раствора толуола (50 и 100 мкмоль/л) на экспрессию генов детоксикации свободных радикалов и ксенобиотиков, генов восстановления белков самцов (a) и самок (b) *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.

Как видно из рисунка 38a и b, воздействие раствора диоксина вызвало широкий спектр изменений у самцов (гены *Hsp70Aa*, *Cyp4e2*, *Sod1*, *Sod2* и *Catalase* увеличили свою экспрессию в 1.08-2.61 раза после воздействия раствора ТХДД с концентрацией действующего вещества 0.822 мкмоль/л; увеличение концентрации исследуемого фактора в 2 раза привело к возрастанию экспрессии генов *Hsp70Aa*, *Cyp4e2* и *Sod2* в 1.19-2.59 раза), в то время, как у самок наблюдаются незначительные изменения экспрессии изучаемой группы генов (экспрессия гена *Hsp70Aa* снизилась в 1.27 раза после воздействия ТХДД в концентрации 0.822 мкмоль/л, экспрессия гена *Catalase* увеличилась в 1.06 и 1.04 раза при концентрации экотоксиканта 0.822 и 1.644 мкмоль/л, соответственно).

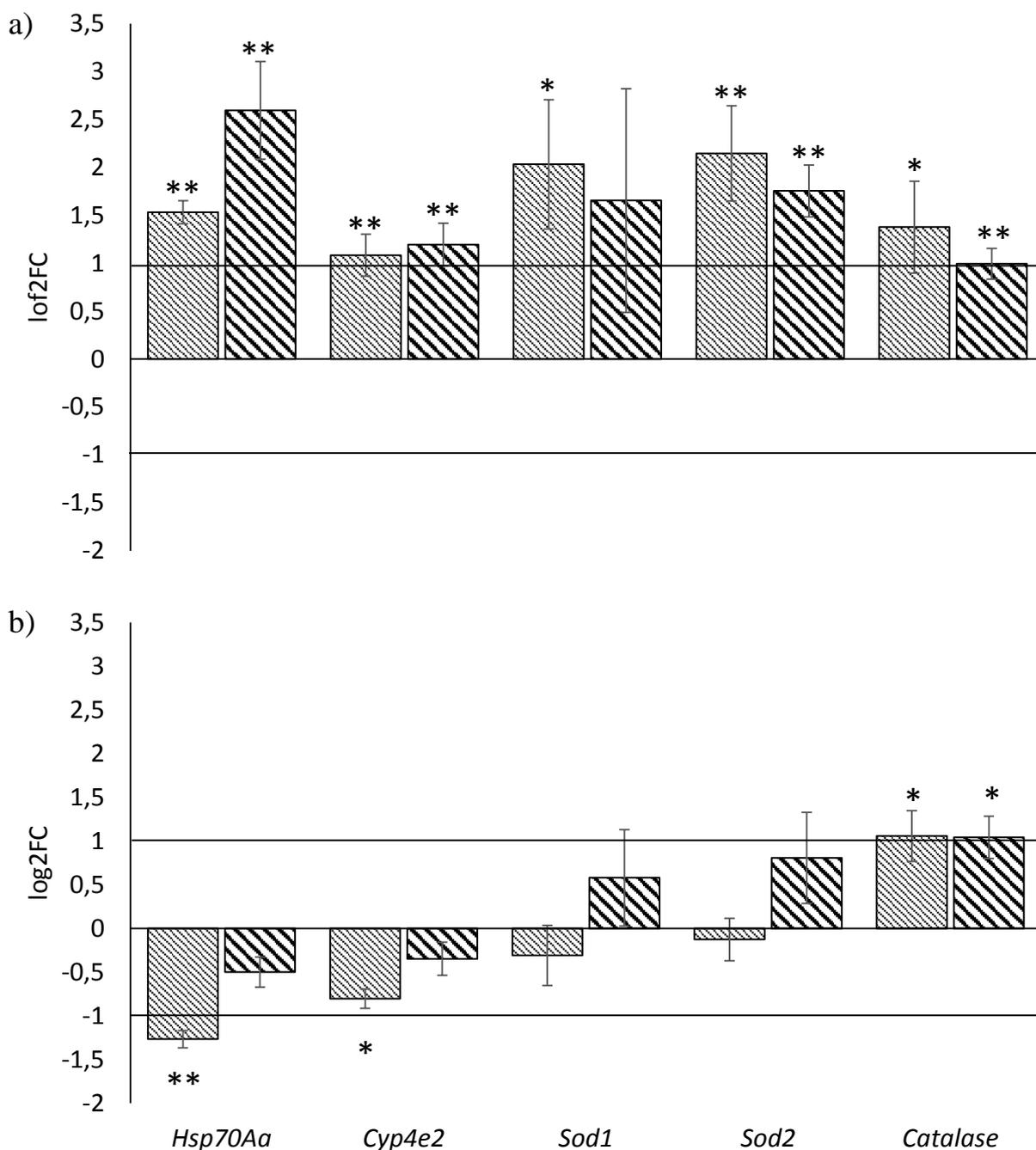


Рисунок 39 – Влияние раствора диоксина (0.822 и 1.644 мкмоль/л) на экспрессию генов детоксикации свободных радикалов и ксенобиотиков, генов восстановления белков самцов (a) и самок (b) *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.

Влияние малых доз ионизирующего излучения вызвало увеличение экспрессии гена *Hsp70Aa* как у самцов (в 3.51 и 4.74 раза), так и у самок (в 3.39 и 3.68 раза) после воздействия дозы 20 и 40 сГр, соответственно. У самок изменения экспрессии других генов из данной группы не выявлено (Рисунок 40b), в то время, как у самцов наблюдается возрастание экспрессии генов *Cyp4e2*, *Sod1* и *Catalase* в 1.05-1.66 раза (Рисунок 40a).

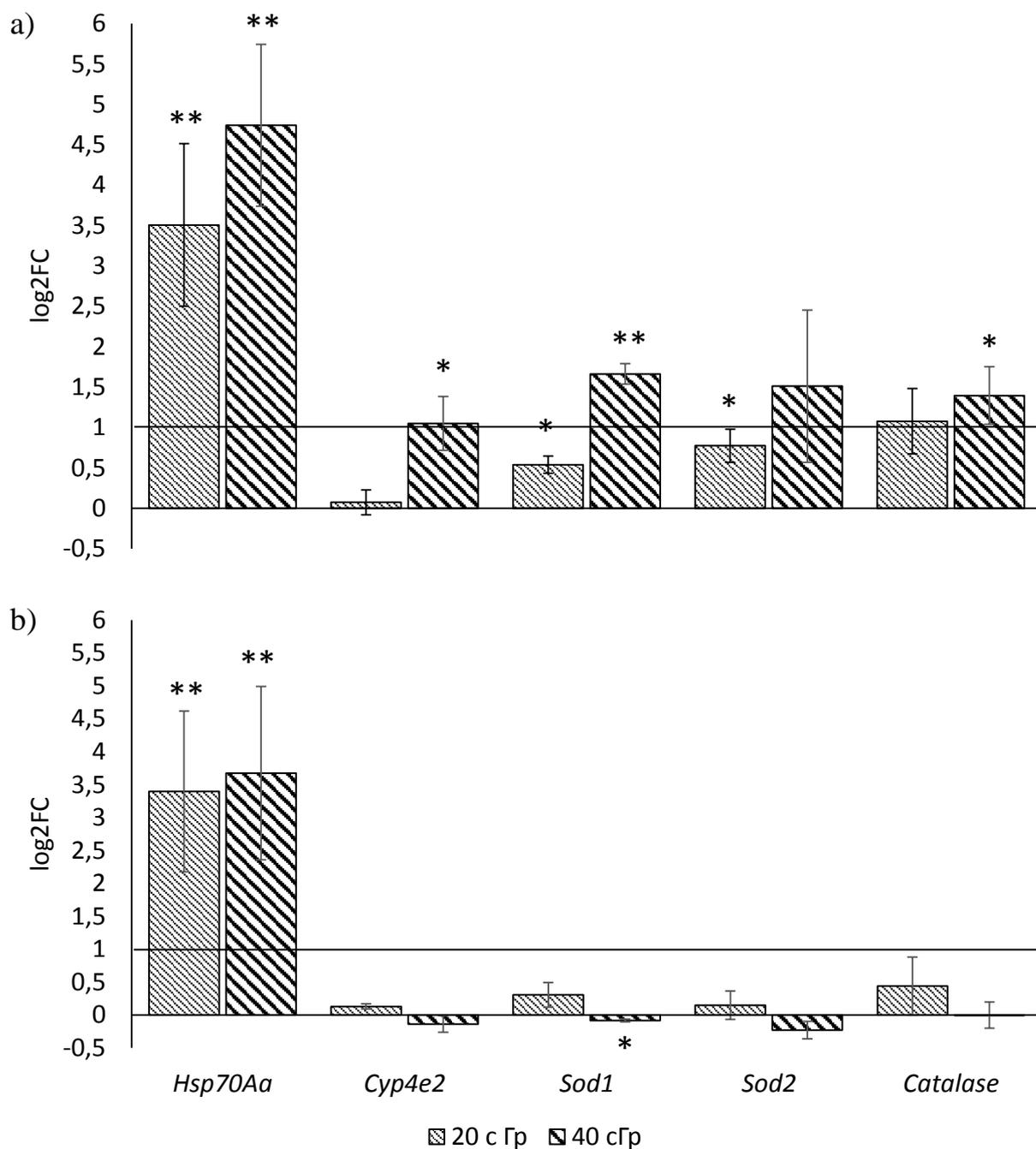


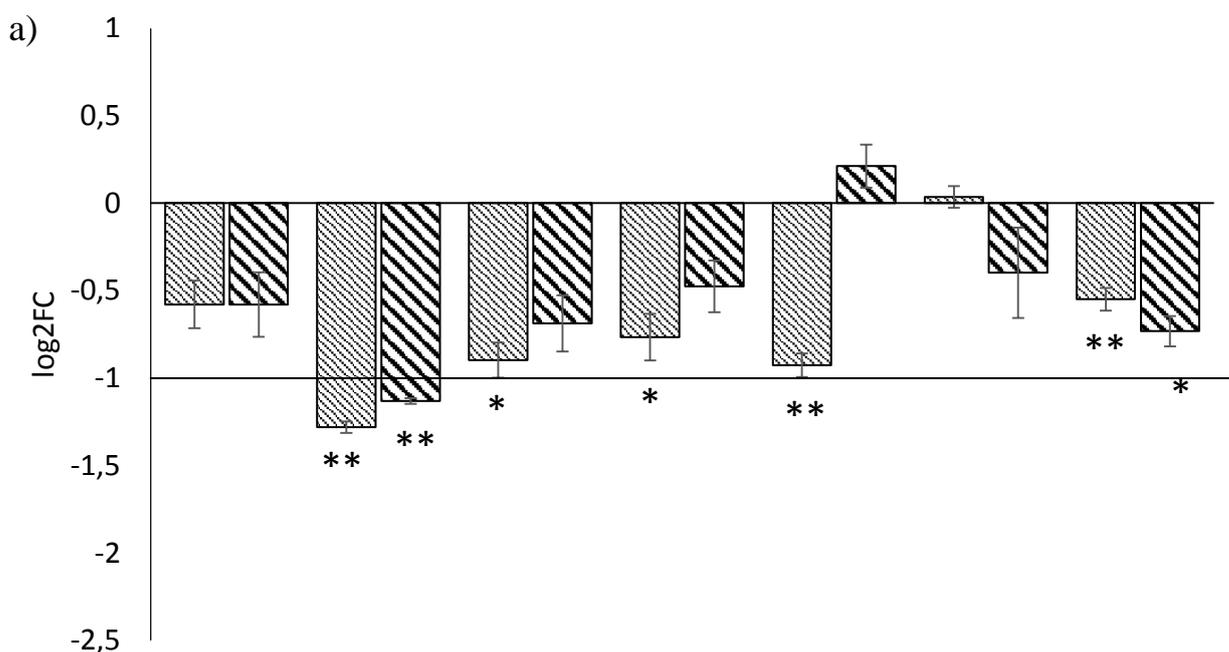
Рисунок 40 – Влияние малых доз ионизирующего излучения (20 и 40 сГр) на экспрессию генов детоксикации свободных радикалов и ксенобиотиков, генов восстановления белков самцов (a) и самок (b) *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.

3.4.4 Влияние малых доз формальдегида, толуола, ТХДД и ионизирующего излучения на экспрессию генов репарации ДНК

Что касается экспрессии генов репарации ДНК, то у самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* наблюдаются незначительные изменения профиля изучаемых генов в результате воздействия изучаемых стрессоров, а именно: после воздействия паров 7%-го раствора формальдегида детектируется увеличение экспрессии гена *Ku80* (в 1.18)

(Рисунок 41b), изменений в результате воздействия раствора толуола не выявлено (Рисунок 42b), влияние диоксина вызвало снижение экспрессии гена *Mus209* (в 1.17 и 147 раза при концентрации данного экотоксиканта 0.822 и 1.644 мкмоль/л) и гена *Rrp1* (в 1.42 раза при концентрации ТХДД 1.644 мкмоль/л) (Рисунок 43b), влияние малых доз ионизирующего излучения также не вызвало изменений экспрессии исследуемой группы генов (Рисунок 44b).

У самцов влияние паров раствора формальдегида вызвало снижение экспрессии гена *mus210* в 1.28 и 1.13 раза после воздействия данного стрессора в концентрации 7 и 14% соответственно, в остальных случаях достоверных отличий не наблюдали (Рисунок 41a).



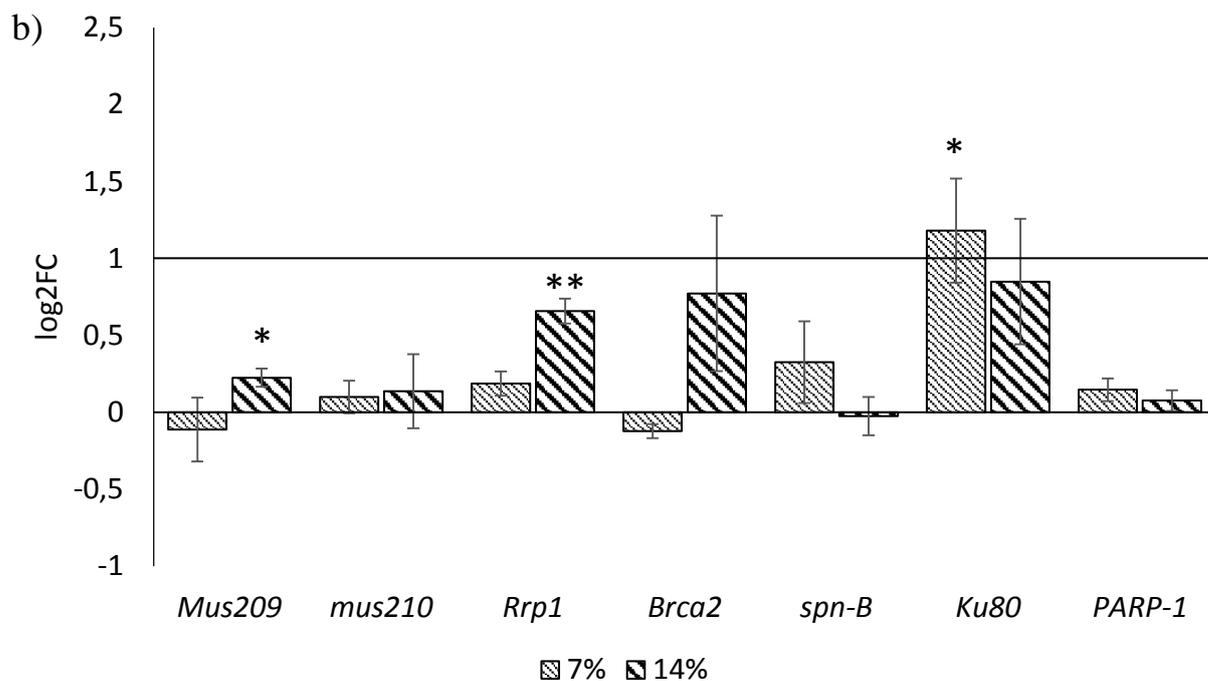


Рисунок 41 – Влияние паров формальдегида (7% и 14%) на экспрессию генов репарации ДНК у самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.

У самцов воздействие раствора толуола в концентрации 50 мкмоль/л привело к увеличению экспрессии генов *Mus209*, *Rrp1*, *Brca2*, *spn-B*, *Ku80* и *PARP-1* в 1.84, 1.79, 2, 2.77, 1.57, 1.59 раза, соответственно. Увеличение концентрации исследуемого экотоксиканта до 100 мкмоль/л привело к увеличению экспрессии следующих генов стресс-ответа: *Mus209* (в 2.28 раза), *Rrp1* (в 1.63 раза), *spn-B* (в 1.76 раза) и *PARP-1* (в 1.14 раза) (Рисунок 42а).

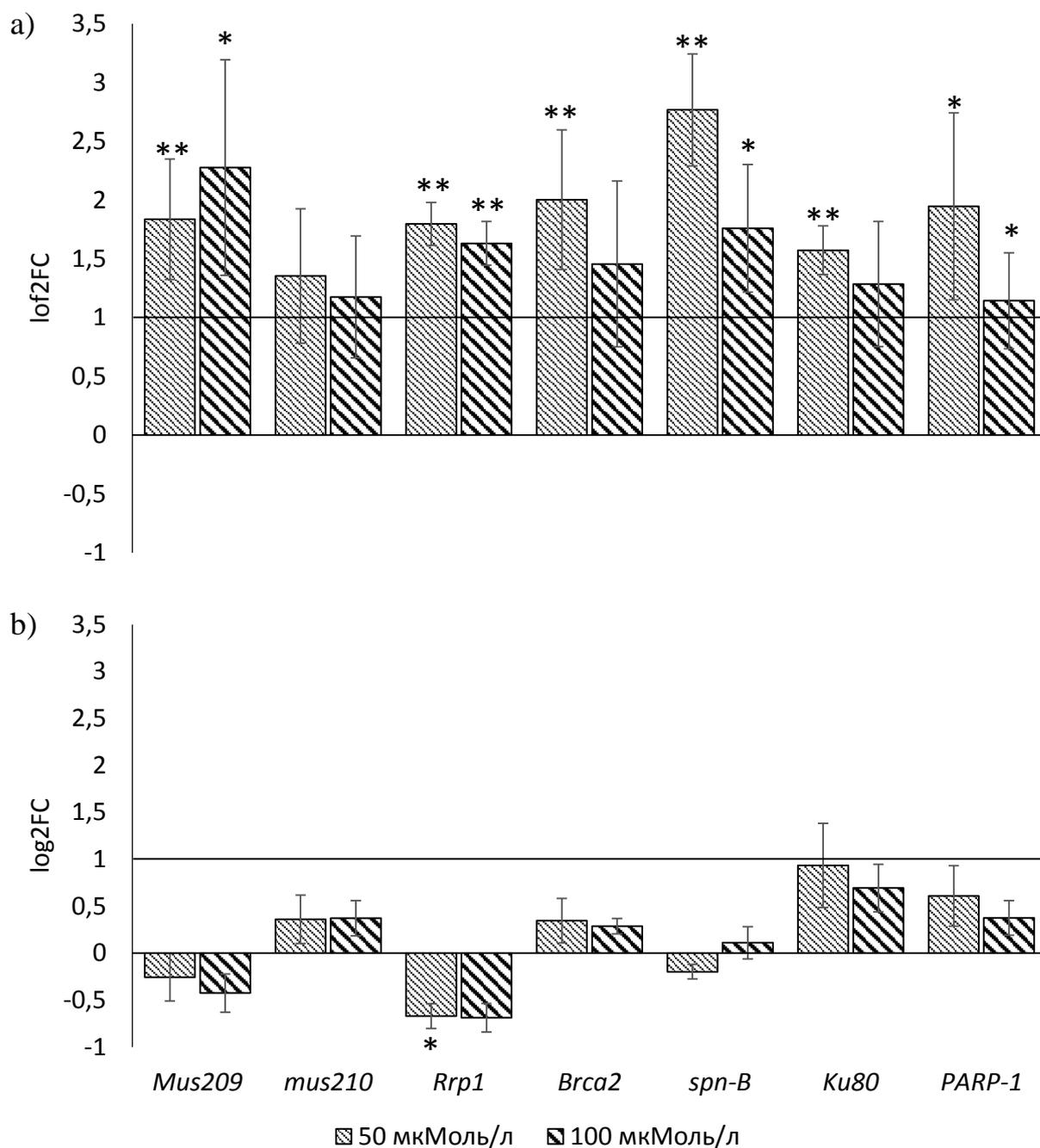


Рисунок 42 – Влияние раствора толуола (50 и 100 мкмоль/л) на экспрессию генов репарации ДНК самцов (a) и самок (b) *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.

В результате воздействия раствора ТХДД в концентрации 0.822 мкмоль/л у самцов показано увеличение экспрессии генов *Mus209*, *Rrp1*, *Brca2*, *spn-B*, *Ku80* и *PARP-1* в 2.61, 2.04, 1.22, 1.25, 1.56, 1.45 раза, соответственно. При увеличении концентрации вдвое гены свою экспрессию увеличивают следующие гены репарации ДНК: *Mus209* (в 2.8 раза), *Rrp1* (в 1.59 раза), *spn-B* (в 1.21 раза) и *Ku80* (в 1.55 раза) (Рисунок 43а).

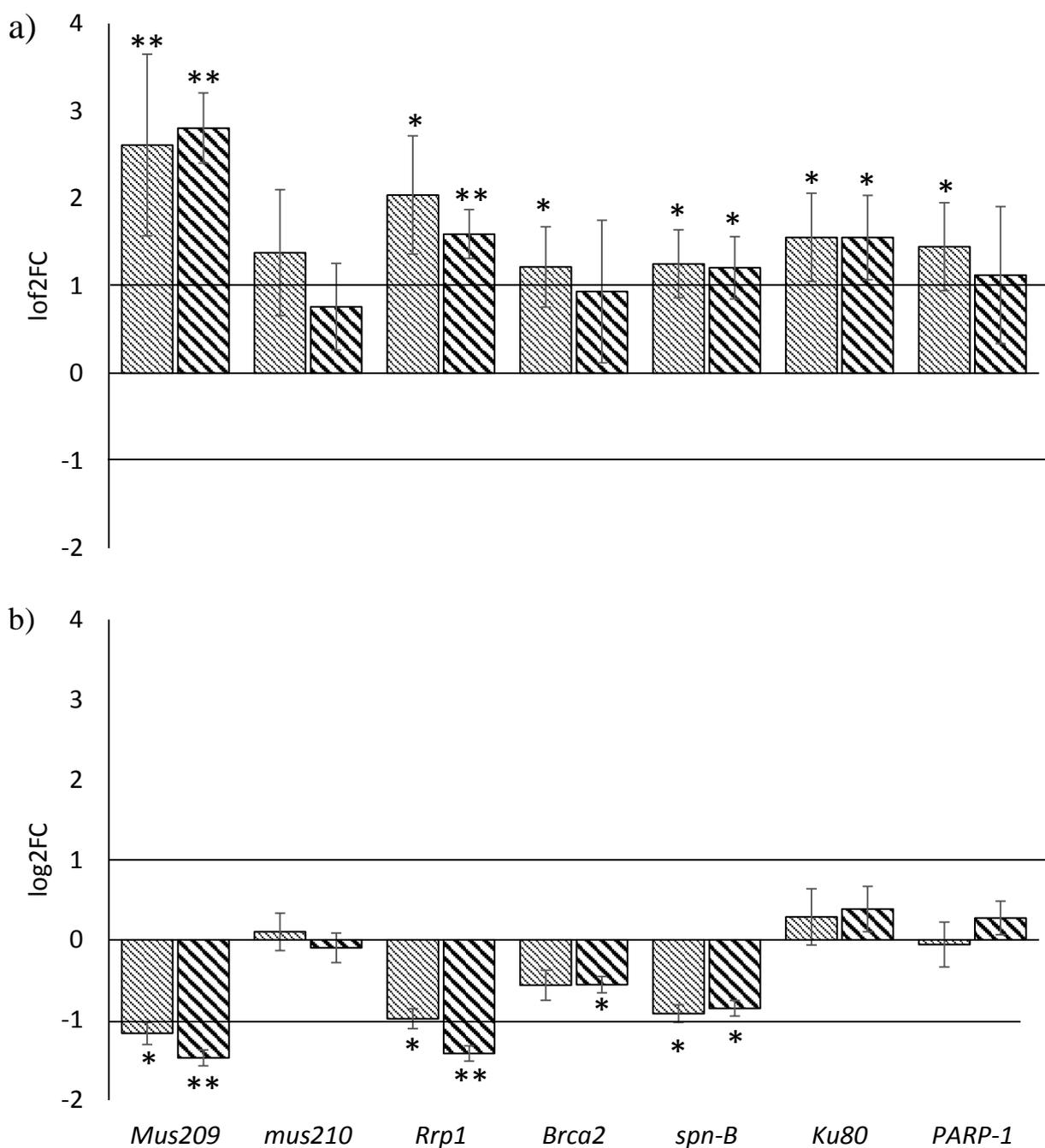


Рисунок 43 – Влияние раствора диоксина (0.822 и 1.644 мкмоль/л) на экспрессию генов репарации ДНК самцов (a) и самок (b) *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.

Ионизирующее излучение в дозе 20 сГр вызывает увеличение экспрессии генов *spn-B* и *Ku80* в 1.63 и 1.01 раза у самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*, в то время, как доза 40 сГр приводит к достоверному увеличению экспрессии генов *Mus209*, *Rrp1* и *PARP-1* в 1.83, 1.69 и 1.45 раза, соответственно (Рисунок 44а).

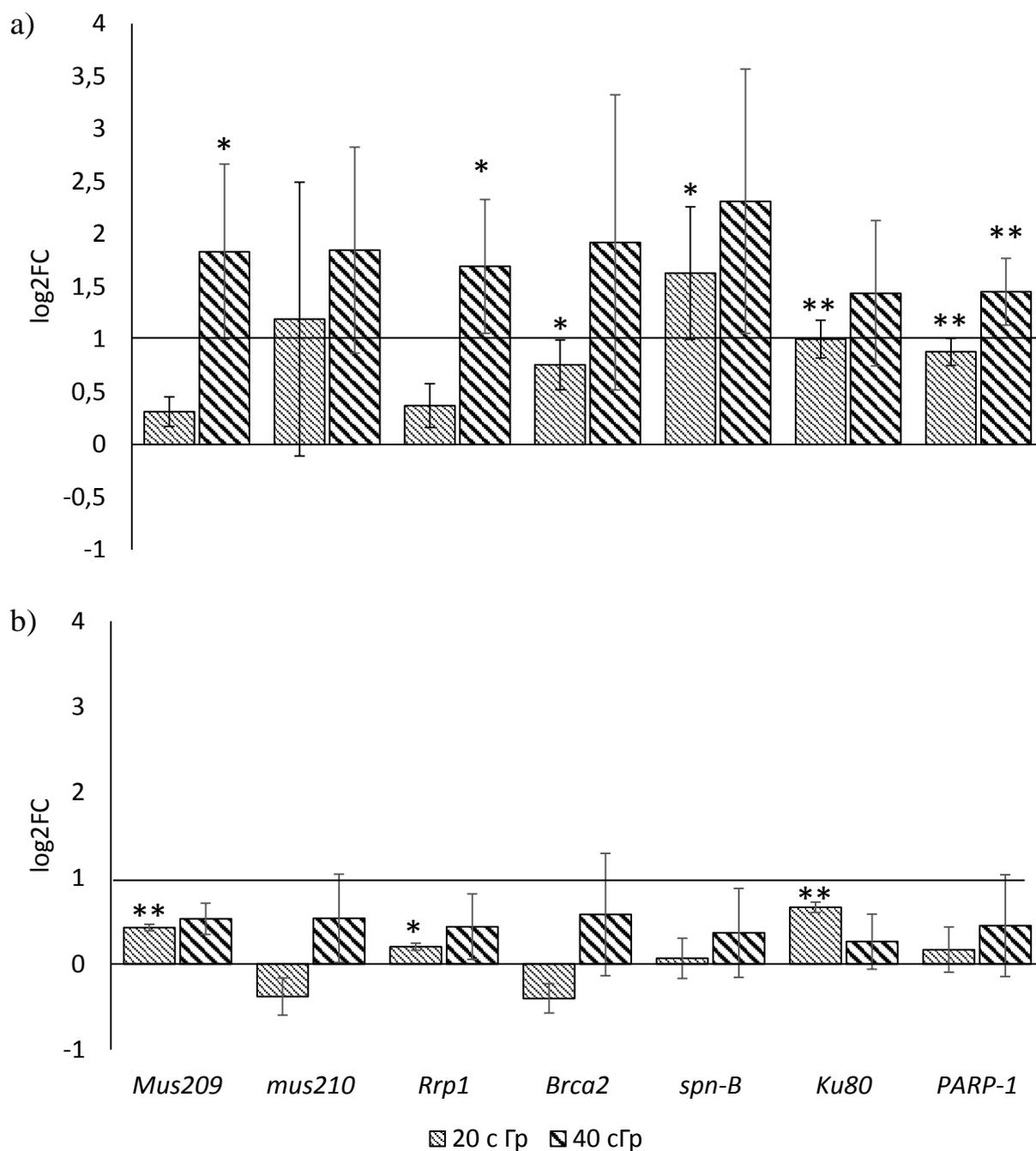


Рисунок 44 – Влияние малых доз ионизирующего излучения (20 и 40 сГр) на экспрессию генов репарации ДНК самцов (а) и самок (б) *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*.

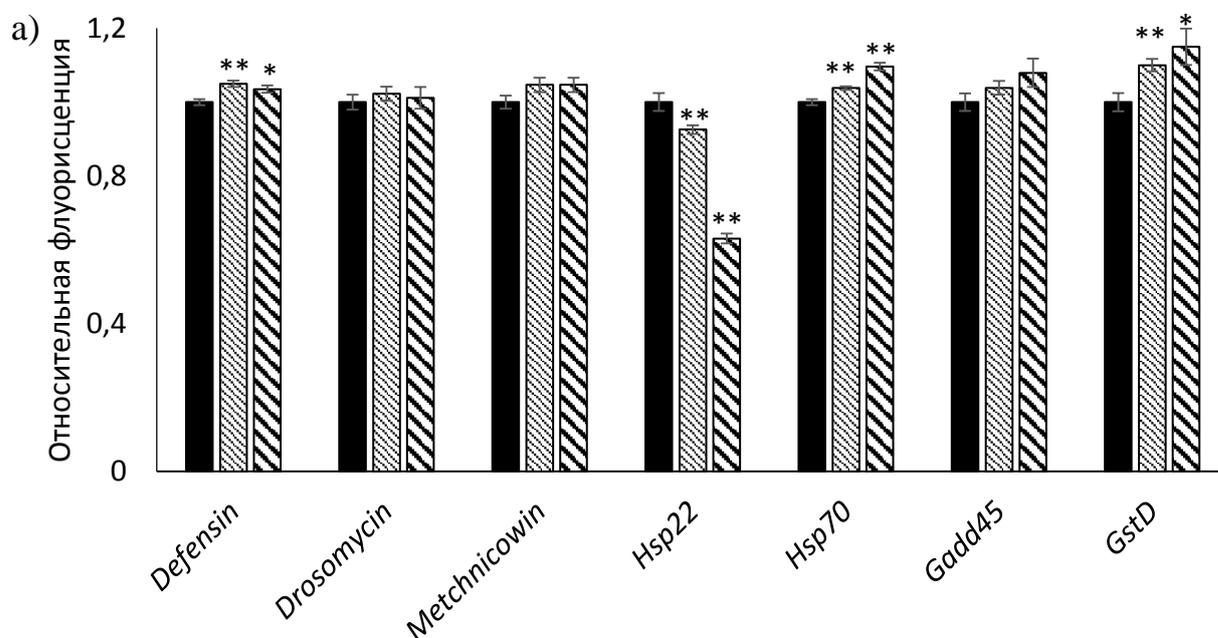
3.5 Анализ влияния малых доз формальдегида, толуола, ТХДД и ионизирующего излучения на экспрессию генов стресс-ответа самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* с использованием метода GFP-репортеров

Анализ изменения экспрессии генов с использованием методов GFP-репортеров позволяет не только оценить динамику изучаемого показателя, но и дать комплексную

оценку активности генов стресс-ответа, так как генетический аппарат клетки – это сложноустроенная, динамичная, взаимосвязанная, система.

3.5.1 Влияние формальдегида, толуола и ТХДД на экспрессию генов стресс-ответа *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*

В результате анализа влияния паров раствора формальдегида на экспрессию генов *Defensin*, *Drosomycin*, *Metchnikowin*, *Hsp22*, *Hsp70*, *D-Gadd45* и *GstD* выявлена следующая динамика: через 24 часа после воздействия наблюдается увеличение экспрессии гена *Defensin* (в 1.05 и 1.04 раза после воздействия паров 7 и 14%-го раствора формальдегида, соответственно), гена *Hsp70* (в 1.04 и 1.04 раза) и гена *GstD* (в 1.1 и 1.15 раза), экспрессия гена *Hsp22* снизилась (в 1.08 и 1.59 раза) (Рисунок 45а). Через 48 часов после воздействия экспрессия генов *Defensin* и *Hsp70* восстанавливается до контрольных значений, экспрессия генов *B-Gadd45* и *GstD* увеличивается в 1.05-1.13 раза по сравнению с контролем, а экспрессия гена *Hsp22* снижена только после воздействия паров 14%-го раствора формальдегида (в 1.08 раза) (Рисунок 45б). Через 72 часа после воздействия экспрессия практически всех исследуемых генов сопоставима с контрольными значениями, кроме гена *GstD*, его активность увеличена в 1.13 раза после воздействия паров 14%-го раствора изучаемого экотоксиканта; также увеличена экспрессия гена *Metchnikowin* (в 1.13 и 1.04 раза) (Рисунок 45с).



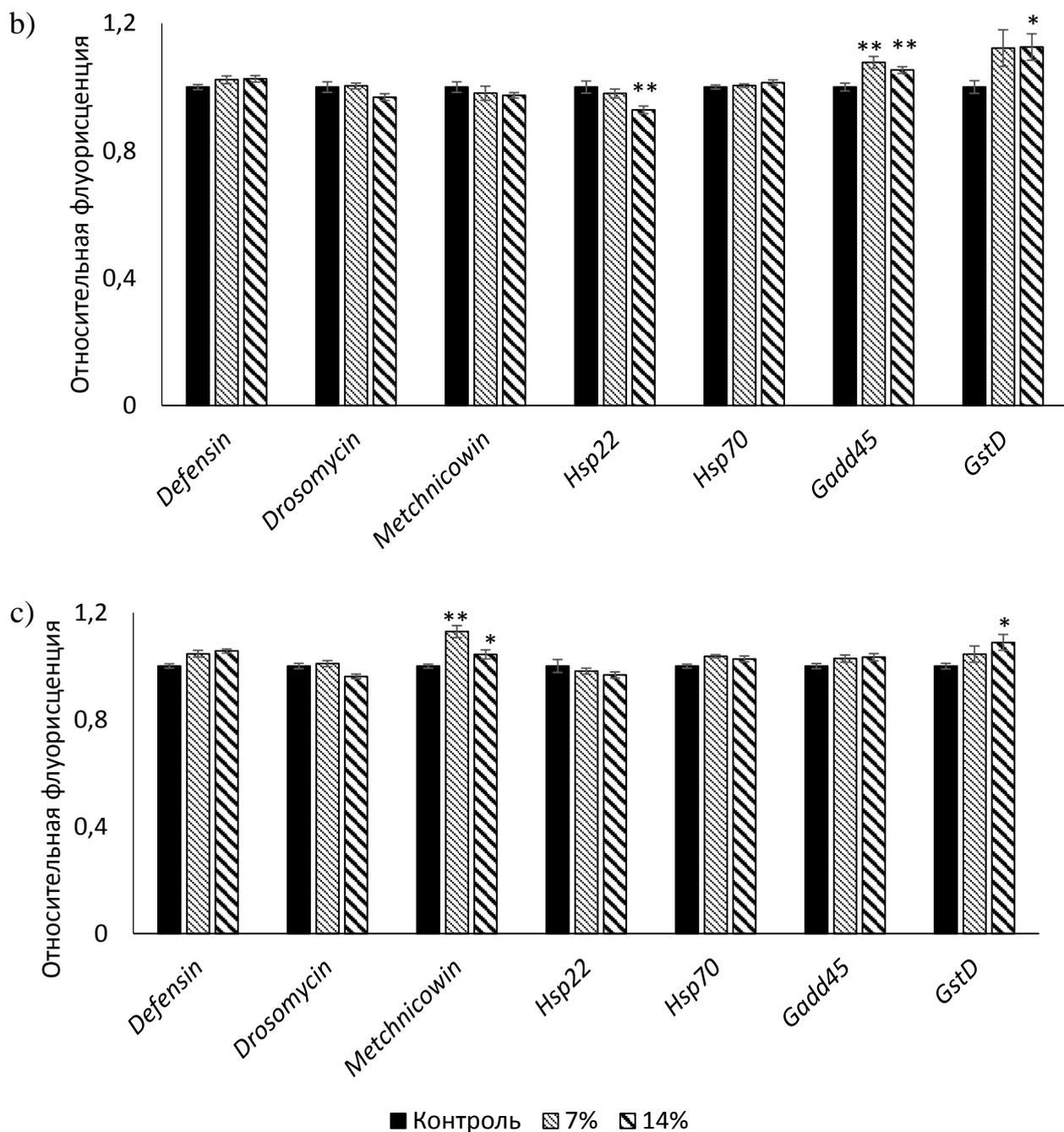


Рисунок 45 – Влияние паров формальдегида (7% и 14%) на экспрессию изучаемых генов стресс-ответа самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* на первые (a), вторые (b) и третьи (c) сутки после воздействия.

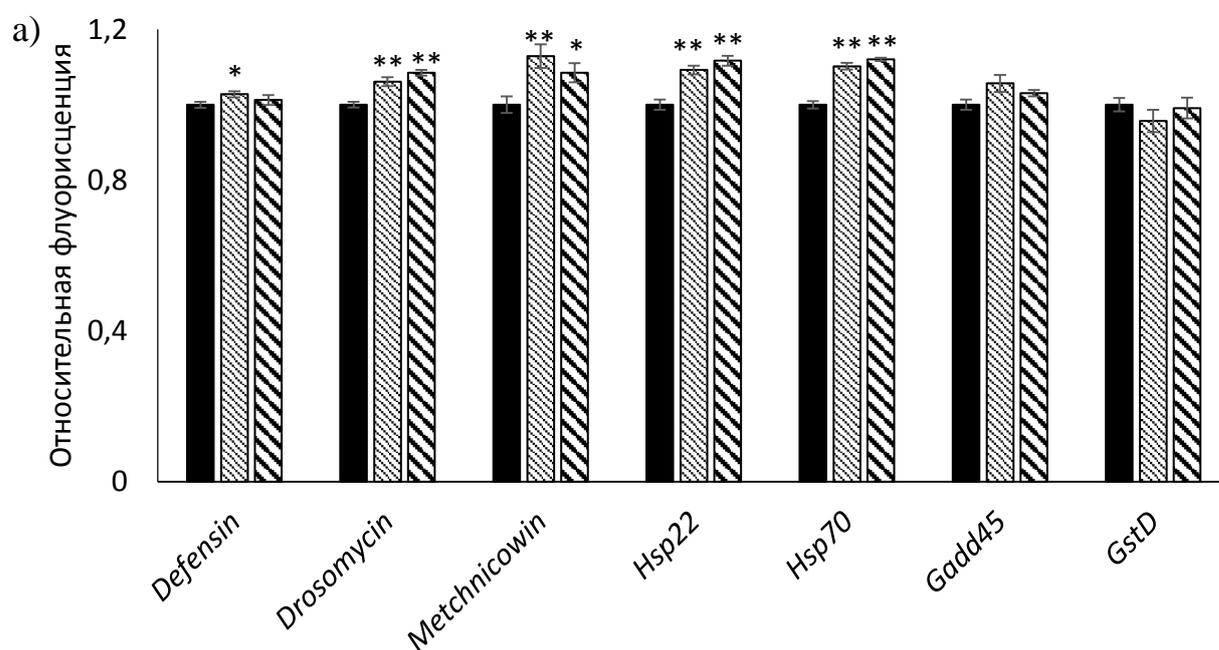
Обозначения: *Здесь и далее:*

* – отличия достоверны, $p < 0.05$ (t – критерий Стьюдента).

** – отличия достоверны, $p < 0.01$ (t – критерий Стьюдента).

Через 24 часа после воздействия раствора толуола на самцов *Drosophila melanogaster* наблюдалось увеличение экспрессии генов *Defensin* (в 1.03 раза при концентрации экотоксиканта 50 мкмоль/л), *Drosomycin* (в 1.06 и 1.08 раза при концентрации толуола 50 и 100 мкмоль/л, соответственно), *Metchnikowin* (в 1.13 и 1.09 раза), *Hsp22* (в 1.09 и 1.12 раза)

и *Hsp70* (в 1.1 и 1.12 раза) (Рисунок 46а). По истечении 48 часов уровень активности генов *Defensin*, *Drosomycin* и *Hsp70* в опытной группе был также выше, чем в контрольной (в 1.04 и 1.09, 1.05 и 1.06, в 1.12 и 1.13 раза после воздействия раствора толуола в концентрации 50 и 100 мкмоль/л, соответственно). Экспрессия гена *Metchnikowin* снизилась в 1.14 и 1.16 раза после воздействия раствора толуола в концентрации 50 и 100 мкмоль/л, соответственно, а уровень экспрессии гена *Hsp22* сопоставим с контрольными значениями (Рисунок 46б). Через 72 часа после воздействия наблюдается снижение активности гена *Metchnikowin* (в 1.08 и 1.33 раза) и увеличение экспрессии гена *D-Gadd45* (в 1.05 и 1.06 раза), в других вариантах эксперимента отличий не выявлено (Рисунок 46с).



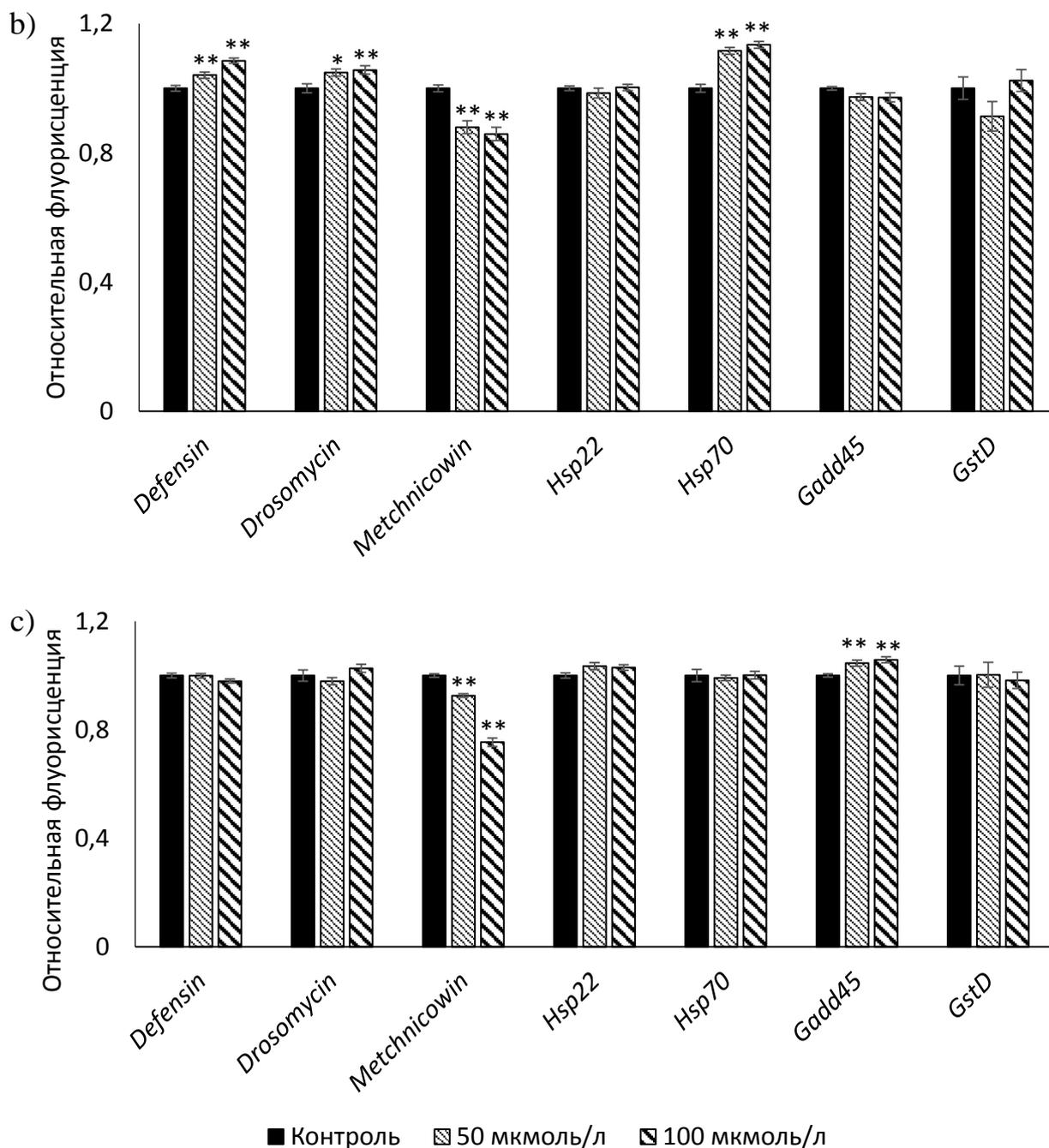
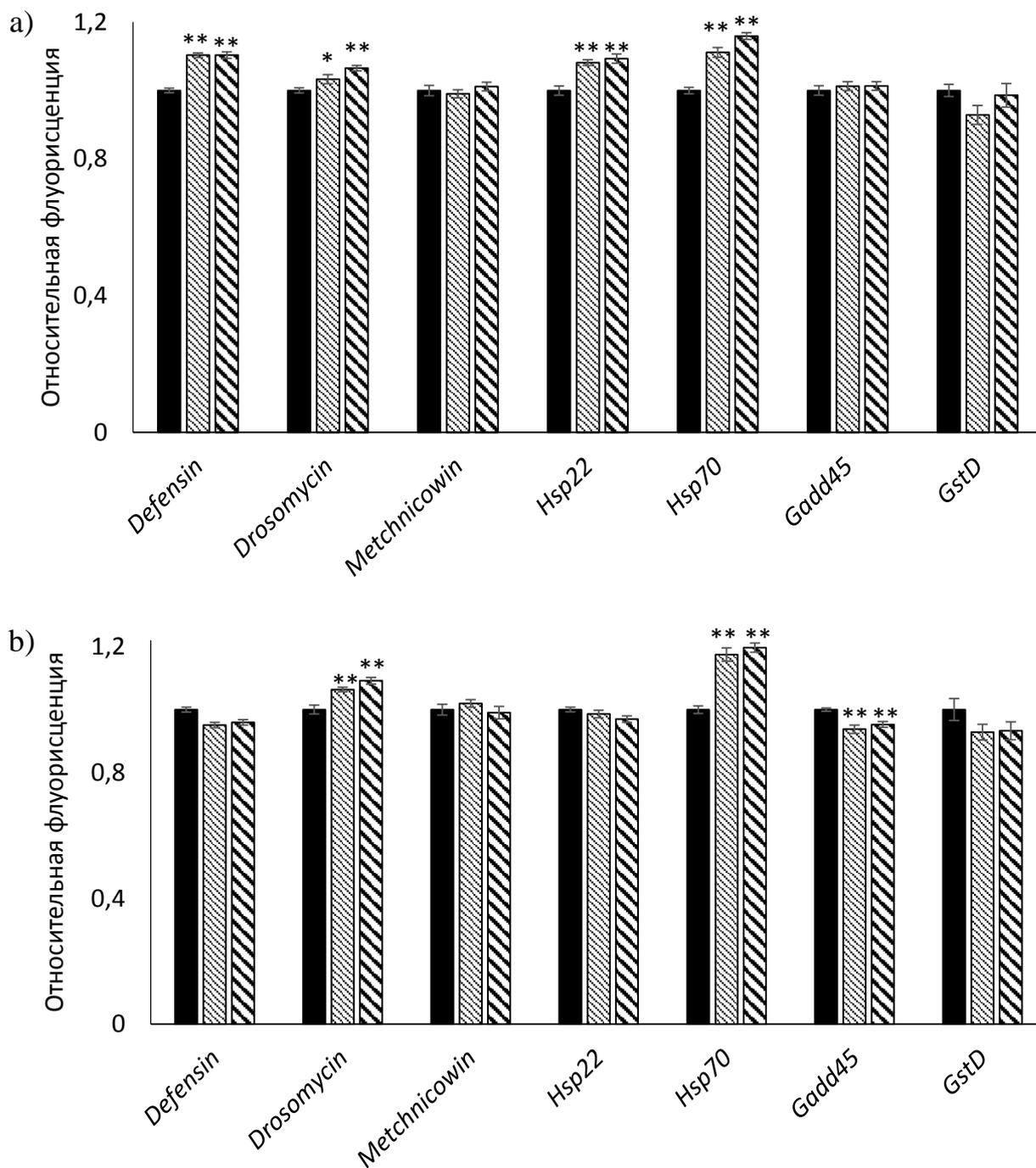


Рисунок 46 – Влияние раствора толуола (50 и 100 мкмоль/л) на экспрессию изучаемых генов стресс-ответа самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* на первые (а), вторые (б) и третьи (в) сутки после воздействия.

По результатам изучения влияния такого ксенобиотика, как ТХДД на экспрессию генов стресс-ответа самцов *Drosophila melanogaster* выявлены следующие изменения: через 24 часа после воздействия наблюдается увеличение экспрессии генов *Defensin* (в 1.1 раза как в первом, так и во втором варианте используемых концентраций), *Drosomycin* (в 1.03 и 1.06 раза), *Hsp22* (в 1.08 и 1.09 раза) и *Hsp70* (в 1.11 и 1.16 раза) при воздействии концентрации 0.822 и 1.644 мкмоль/л, соответственно (Рисунок 47а). Через 48 часов после

воздействия наблюдается увеличение активности гена *Drosomycin* (в 1.06 и 1.09 раза) и гена *Hsp70* (в 1.17 и 1.19 раза), а также снижение экспрессии гена *D-Gadd45* (в 1.08 и 1.05 раза) (Рисунок 47b). По истечении 72 часов после изучаемого воздействия выявлено снижение экспрессии гена *Metchnikowin* (в 1.15 и 1.11 раза), увеличение экспрессии гена *Hsp22* только после воздействия диоксина в концентрации 1.644 мкмоль/л (в 1.05 раза), а также гена *D-Gadd45* (в 1.09 и 1.06 раза) (Рисунок 47c).



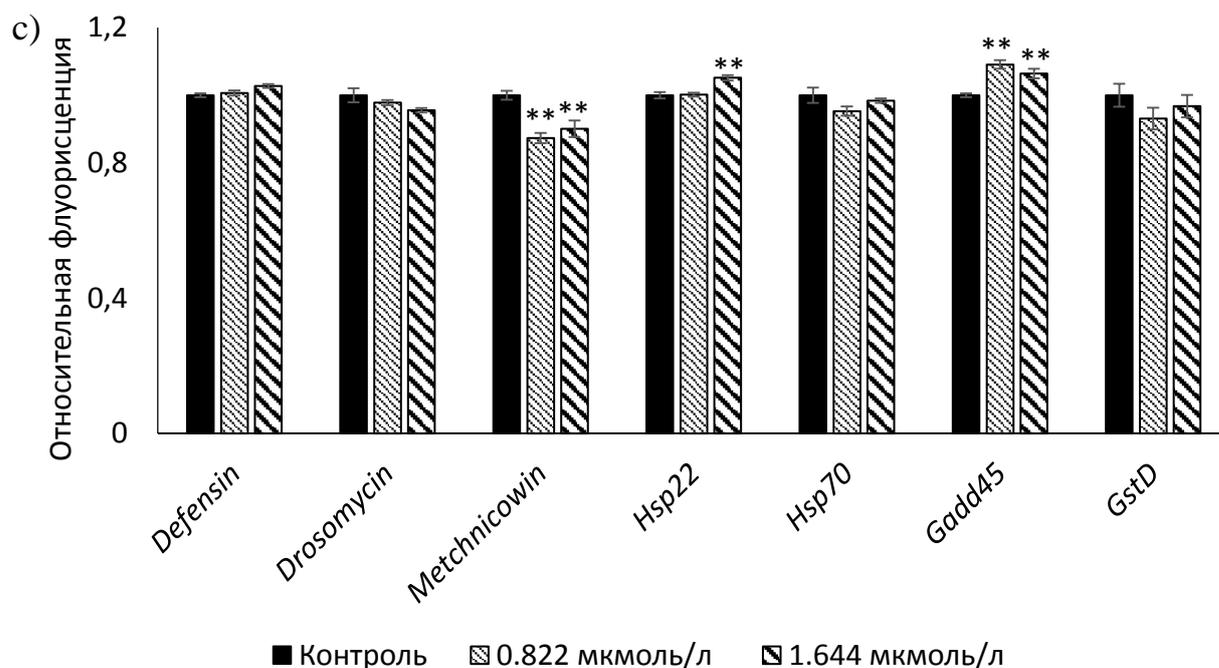
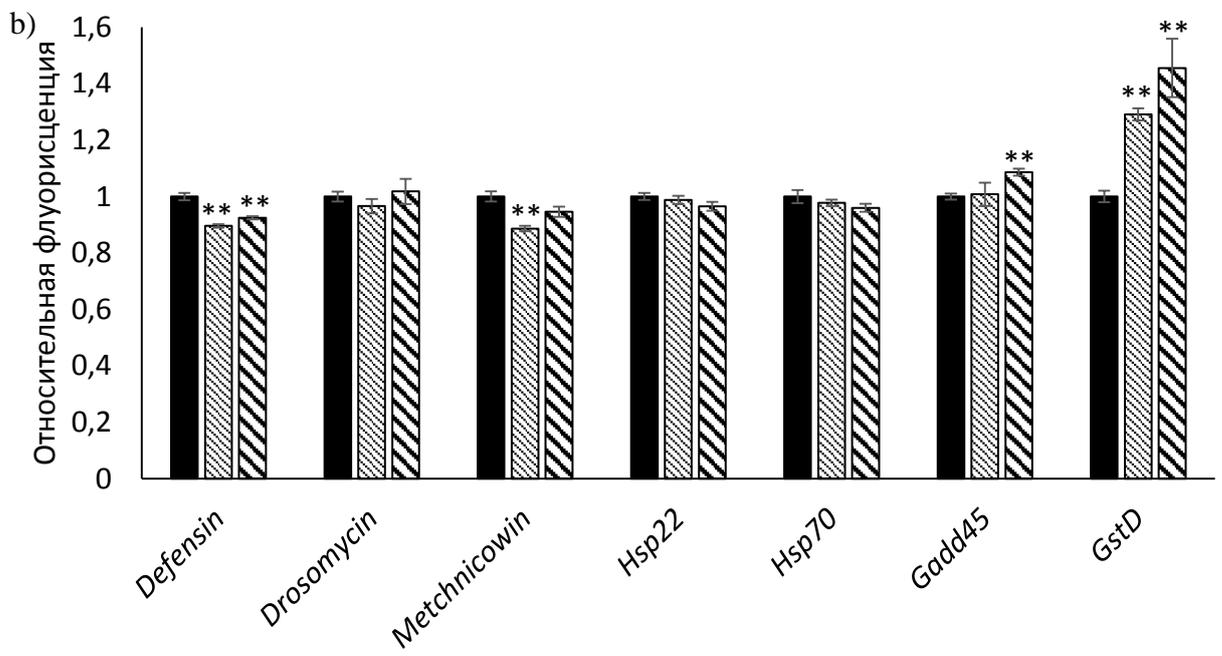
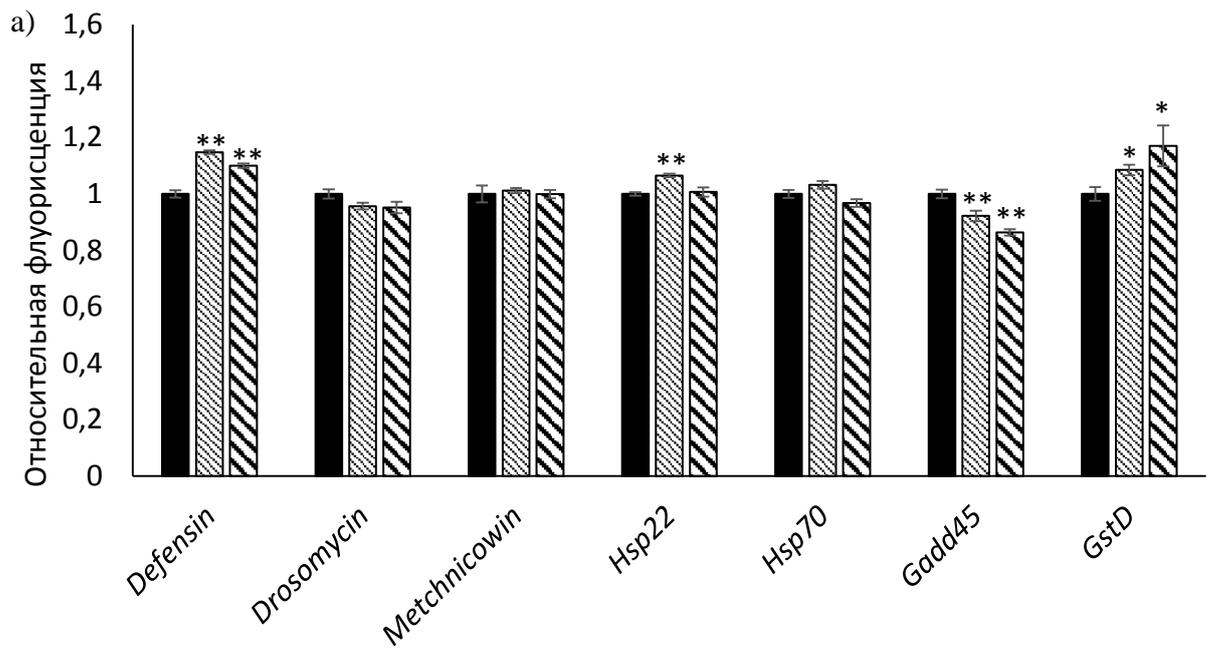


Рисунок 47 – Влияние диоксина (0.844 и 1.622 мкмоль/л) на экспрессию изучаемых генов стресс-ответа самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* на первые (а), вторые (б) и третьи (с) сутки после воздействия.

3.5.2 Влияние малых доз ионизирующего излучения на экспрессию генов стресс-ответа *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*

Через 24 часа после воздействия γ -излучения в дозах 20 и 40 сГр показано увеличение экспрессии генов *Defensin* (в 1.15 и 1.1 раза), *Hsp22* (в 1.07 раза после воздействия дозы 20 сГр) и гена *GstD* (в 1.08 и 1.17 раза), экспрессия гена *D-Gadd45* снизилась в 1.09 и 1.16 раза, соответственно (Рисунок 48а). Через 48 часов после воздействия наблюдается снижение экспрессии генов *Defensin* (в 1.12 и 1.09 раза) и *Metchnikowin* (в 1.12 раза только после воздействия дозы 20 сГр), активность гена *D-Gadd45* увеличилась только после воздействия дозы 40 сГр (в 1.09 раза), также наблюдается увеличение экспрессии гена *GstD* (в 1.29 и 1.46 раза) (Рисунок 48б). По истечении 72 часов наблюдалось изменение экспрессии всех изучаемых генов только после воздействия дозы 40 сГр: активность гена *Defensin* увеличилась в 1.06 раза, гена *Drosomycin* – в 1.09 раза, гена *Metchnikowin* – в 1.07 раза, гена *Hsp22* – в 1.03 раза, гена *D-Gadd45* – в 1.18 раза, а активность гена *Hsp70* снизилась в 1.12 раза. Исключением является ген *GstD*, активность которого увеличилась как после воздействия дозы 20 сГр, так и после воздействия дозы 40 сГр (в 1.15 и 1.26 раза, соответственно) (Рисунок 28с).



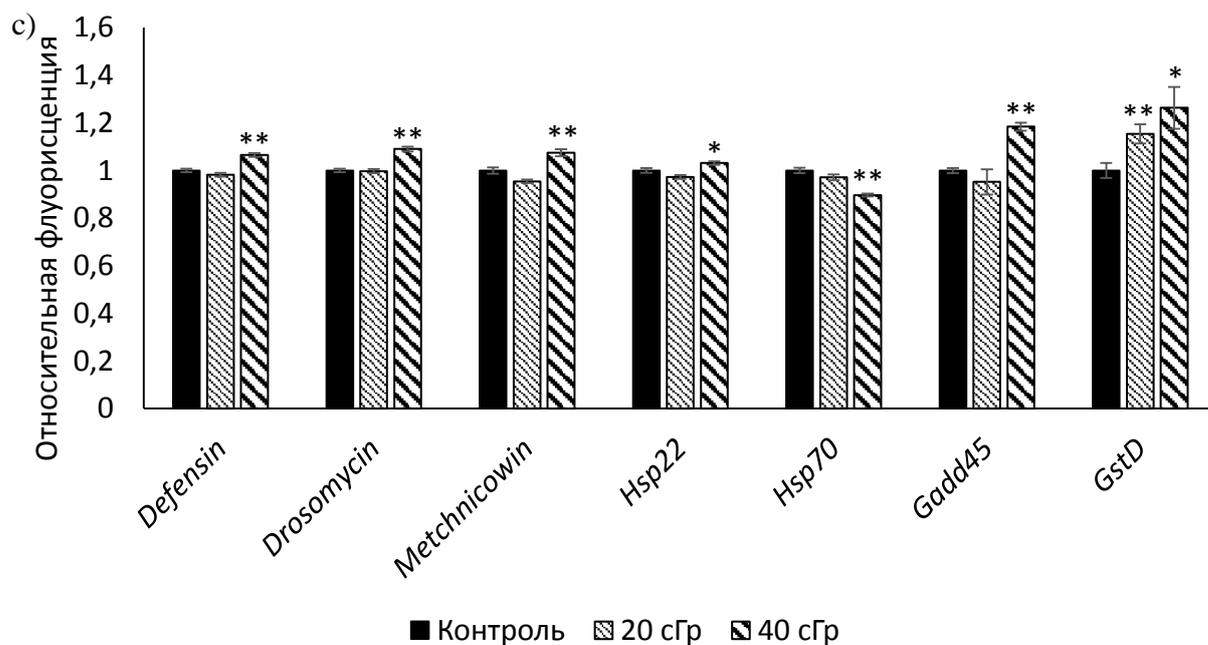


Рисунок 48 – Влияние малых доз ионизирующего излучения (20 и 40 сГр) на экспрессию изучаемых генов стресс-ответа самцов *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* на первые (а), вторые (б) и третьи (с) сутки после воздействия.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В последние годы все большее внимание исследователей привлекает вопрос дозозависимого стресс-ответа организмов на воздействие факторов различной природы, особый интерес вызывают эффекты в области малых доз, а именно эффект гормезиса (Mushak, Elliott, 2015). Впервые данный термин был использован С. Зонтманом и Д. Эрлихом в 1943 г., гормезис – это благоприятное действие какого-либо воздействия низкой интенсивности, недостаточной для проявления негативных эффектов (Кузин, 1991). В связи с положительными эффектами гормезис часто рассматривается в различных областях науки, как способ внешнесредового воздействия, способного продлить жизнь и улучшить её качество. Однако действие факторов в концентрациях, способных вызвать эффект гормезиса, независимо от стандартных биологических моделей и типа воздействия зачастую может вызывать разнонаправленные эффекты даже у особей одной популяции, не говоря уже о видовых различиях (Calabrese, 2008). В рамках данной работы мы изучали именно низкоинтенсивное воздействие выбранных экотоксикантов и γ -излучения и наблюдали разнонаправленные эффекты не только в рамках экспериментов «доза1-доза2», но и в пределах группы «самцы-самки».

Основой ответа организма на воздействие факторов экзогенной природы являются молекулярные механизмы стресс-ответа. К основным механизмам клеточного стресс-ответа относятся контроль и задержка клеточного цикла, репарация ДНК и белков, апоптоз, детоксикация свободных радикалов и ксенобиотиков (Kultz, 2005). В представленной работе мы попытались обосновать данные, полученные при анализе физиологических показателей особей *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S*, изменением профиля экспрессии генов стресс-ответа (Таблица 11).

Таблица 11

Биологические функции изучаемых генов стресс-ответа

| Ген | Функция | Литературный источник |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Drosomycin</i> | Противогрибковый и антибактериальный иммунный ответ | (Lemaitre et al., 1997; Gene expression, antiparasitic..., 2008; Wagner et al., 2009) |
| <i>Metchnikowin</i> | Противогрибковый, ответ на инфекцию, вызванную грамм-положительными и грамм-отрицательными бактериями | (Metchnikowin, a novel immune-inducible..., 1995; Lemaitre et al., 1997; DEAF-1 regulates immunity..., 2008; Wagner et al., 2009) |

| | | |
|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Defensin</i> | Иммунный ответ, на инфекции, вызванные грамм-положительными бактериями | (Metchnikowin, a novel immune-inducible..., 1995; Wagner et al., 2009) |
| <i>Mst-1 (Hippo)</i> | Непосредственное участие в регуляции процессов пролиферации, апоптоза, некроза, контроля клеточного цикла, аутофагии, участвует в процессах опухолевой супрессии | (Dice, 1990; Hippo promotes proliferation..., 2003; Hippo encodes a Ste-20 family..., 2003; Harvey et al., 2003; The Hippo signaling pathway..., 2005; Dmp53 activates the Hippo..., 2006; The bantam microRNA..., 2006; Brahma is essential for..., 2013; Autophagy in Drosophila..., 2014; Autophagy regulates tissue..., 2015) |
| <i>Wrinkled/Hid</i> | Индукция апоптоза путем активации каспазного пути | (The proapoptotic function..., 1999; Induction of apoptosis..., 2000; Sandu et al., 2010; Drosophila UTX coordinates..., 2013) |
| <i>D-Gadd45</i> | Ответ на повреждение ДНК, репарация ДНК, контроль клеточного цикла, клеточная гибель и клеточное старение, апоптоз, участвует в процессах опухолевой супрессии | (Plyusnina et al., 2011; Gadd45 proteins: relevance..., 2012; Salvador et al., 2013; Zhang et al., 2014) |
| <i>dSir2 (Sirt1)</i> | Выполняет функцию NAD ⁺ -зависимой деацетилазы гистонов и играет важную роль в эпигенетической регуляции экспрессии генов (polycomb-зависимый сайленсинг) и регуляции продолжительности жизни, взаимодействуя с транскрипционными факторами <i>FOXO</i> , <i>p53</i> , <i>Ku70</i> , <i>Bax</i> , <i>Bim</i> и <i>NF-kB</i> , участвует в контроле таких процессов, как апоптоз, задержка клеточного цикла, репарация ДНК, антиоксидантная защита. | (Москалев, 2008; Москалев, 2010; Absence of effects of Sir2 overexpression..., 2011; Frankel et al., 2011; dSir2 in the adult fat body..., 2012; Overexpression of Sir2..., 2013; Increased expression of Drosophila..., 2013) |
| <i>FOXO</i> | Транскрипционный фактор, играющий важную роль в процессах регуляции гормонального статуса, метаболизма, ответа на факторы роста, и | (Drosophila Foxo regulates..., 2009; FOXO-dependent |

| | | |
|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | инфекцию, участвует в процессах эмбриогенеза, канцерогенеза, его экспрессия сильно влияет на продолжительность жизни и старение организмов. На клеточном уровне контролирует процессы пролиферации, дифференциации, задержки клеточного цикла, репарацию ДНК, апоптоз, участвует в аутофагии, поддерживает клеточный гомеостаз. | regulation..., 2010; Shen, Tower, 2010; nactivation of both Foxo..., 2010; Москалев, 2010; Shaposhnikov, Moskalev, 2010; Spellberg, Marr, 2015; Rauschenbach et al., 2015) |
| <i>JNK (basket)</i> | Протеинкиназа из подгруппы семейства MAPK, принимает участие в процессах контроля роста, метаболизма, клеточного стресс-ответа, репарации ДНК и апоптозе (по <i>FOXO</i> -зависимому пути), влияет на ПЖ независимо от инсулиновой сигнализации | (The crystal structure of JNK..., 2015; ROS-Induced JNK and p38..., 2015) |
| <i>Hsp70Aa</i> | Данный ген кодирует белок теплового шока Hsp70Aa, играет важную роль в поддержании конформационного гомеостаза белков. Как и другие шапероны, белки Hsp70 участвуют в регуляции клеточного стресс-ответа, выполняя следующие функции: сворачивание полипептидных цепей, транспорт белков в клетке, формирование мультибелковых комплексов, рефолдинг неправильно уложенных белков, защита белков от агрегации, деградация и агрегация поврежденных белков и белковых комплексов, регуляция сигнальных сетей клетки, ингибирование апоптоза на разных его стадиях | (Genomic instability and enhanced..., 2004; Slowing down aging..., 2004; Soti, Csermely, 2007; Москалев, 2008; Hartl et al., 2011; Doganlar, Doganlar, 2015; Activity of heat shock..., 2015; Effects of intrinsic aerobic..., 2016) |
| <i>Hsp22</i> | Митохондриальный белок теплового шока | |
| <i>Cyp4e2</i> | Детоксификация ксенобиотиков | (Chahine, O'Donnell, 2011) |
| <i>GstD</i> | Участвует в детоксификации АФК, в частности, H ₂ O ₂ , детоксификации продуктов перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот и инсектицидов | (Toung et al., 1993; Tang, Tu, 1994; Cloning, expression and biochemical..., 2003) |
| <i>Sod1</i> | Супероксиддисмутаза, Cu, Zn-содержащий фермент цитозоля, катализирует реакцию превращения O ₂ ⁻ в перекись водорода | (Zelko et al., 2002; Effects of overexpression of copper-zinc..., 2003; Orr, Sohal, 2003; Свободнорадикальное окисление и старение, 2003; Анисимов, 2008) |
| <i>Sod2</i> | Супероксиддисмутаза, Mn-зависимый фермент в матриксе митохондрий, катализирует реакцию превращения O ₂ ⁻ в перекись водорода | |
| <i>Catalase</i> | Антиоксидантная защита, катализирует образование кислорода и воды из пероксида водорода | (Chelikani et al., 2004; Effect of low doses of herbicide..., 2015) |
| <i>Mus209 (PCNA)</i> | Экцизионная репарация оснований и нуклеотидов, репарация одонитевых разрывов | (Sekelsky et al., 1998) |

| | | |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | ДНК, формирует скользящий комплекс вокруг репликационной вилки и способствует работе ДНК-полимеразы и координирует комплементарность синтезируемого участка ДНК | |
| <i>mus210 (XPC)</i> | Инициация эксцизионной репарации нуклеотидов | (Lifespan and Stress Resistance..., 2015) |
| <i>Rrp1</i> | Репарация по типу гомологичной рекомбинации, репарация апуриновых/аперимединовых (АП)-сайтов | (Sander et al., 1991; Nugent et al., 1993; Sander, Huang, 1995; Reardon et al., 1998) |
| <i>Brca2</i> | Репарация двуцепочечных разрывов ДНК, гомологичная рекомбинация | (Klovstad et al., 2008; Functional analysis of Drosophila..., 2008) |
| <i>spn-B</i> | Репарация двунитевых разрывов | (Sekelsky et al., 2000) |
| <i>Ku80</i> | Репарация двунитевых разрывов по типу негомологичного воссоединения концов, распознавание повреждений | (Ku80: product of the XRCC5..., 1994; Москалев, 2008; Drosophila UTX coordinates..., 2013; Role of DNA repair genes..., 2014; Lifespan and Stress Resistance..., 2015) |
| <i>PARP-1</i> | Сенсор повреждений ДНК и медиатор при репарации однонитевых и двунитевых разрывов ДНК, обеспечивает межбелковые и ДНК-белковые взаимодействия | (Burkle, 2006; Mangerich, Burkle, 2012; Weaver, Yang, 2013) |

Как уже отмечалось ранее, основа токсического действия формальдегида связана с его высокой реакционной способностью, данное химическое соединение легко вступает во взаимодействие с различными биологическими макромолекулами, вызывая повреждение ДНК, индуцируя апоптоз и оксидативный стресс. В результате анализа экспрессии генов стресс-ответа у самок *Drosophila melanogaster* после воздействия данного экотоксиканта выявлено увеличение экспрессии гена *Ku80* в 1.18 раза, что свидетельствует о наличии двуцепочечных разрывов, вызванных воздействием данного экотоксиканта. Надо отметить, что у самок не наблюдается увеличения экспрессии каких-либо других генов репарации ДНК, с этим, возможно связано снижение медианной продолжительности жизни (на 4.1%) и плодовитости самок после воздействия паров 14%-го раствора формальдегида. Наблюдаемое у самок увеличение локомоторной активности в раннем возрасте может быть вызвано со снижением экспрессии генов семейства *Trx* (тиоредоксин), принимающих участие в антиоксидантной защите (Bauer et al., 2002; Repeated exposure to the herbicide..., 2013) в эндоплазматическом ретикулуме клеток нервной системы в результате воздействия

паров формальдегида (Adult T cell leukemia..., 1994; Proceedings of the National Academy..., 1999; Thioredoxin as a neurotrophic cofactor..., 2004). Похожие результаты наблюдались у мышей в результате токсического воздействия мышьяка (Chronic low-level arsenic..., 2009) и крыс в результате воздействия атразина (Repeated exposure to the herbicide..., 2013). В результате анализа профиля экспрессии изучаемых генов стресс-ответа у самцов *Drosophila melanogaster* после воздействия данного экотоксиканта выявлено снижение экспрессии генов иммунного ответа – *Drosomycin*, *Defensin*, генов детоксификации свободных радикалов и ксенобиотиков – *Catalase* и *Cyp4e2*, генов, отвечающих за регуляцию стресс-ответа – *D-Gadd45* и *FOXO*, а также гена *mus210*, принимающего участие в эксцизионной репарации нуклеотидов (Таблица 12).

Таблица 12

Относительное изменение экспрессии генов стресс-ответа особей *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* в результате воздействия факторов химической (формальдегид, толуол, ТХДД) и физической (ионизирующее излучение) природы.

| Воздействие | | Формальдегид (%) | | Толуол (мкмоль/л) | | Диоксин (мкмоль/л) | | Ионизирующее излучение (сГр) | |
|---------------|----------------------|------------------|-------|-------------------|-------|--------------------|-------|------------------------------|-------|
| Пол | Ген/доза | 7 | 14 | 50 | 100 | 0.822 | 1.644 | 20 | 40 |
| ♀ | <i>Drosomycin</i> | - | - | - | - | - | - | 0.23 | - |
| | <i>Metchnikowin</i> | - | - | -1.76 | -1.61 | - | - | -2.63 | -3.8 |
| | <i>Defensin</i> | - | - | - | - | - | - | -0.35 | - |
| | <i>Mst-1 (Hippo)</i> | - | - | - | - | - | -0.82 | - | - |
| | <i>Wrinkled/Hid</i> | - | - | - | - | - | - | 0.49 | - |
| | <i>D-Gadd45</i> | - | 0.48 | - | - | -0.72 | -0.88 | - | - |
| | <i>dSir2 (Sirt1)</i> | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | <i>FOXO</i> | -0.46 | - | - | - | - | - | - | - |
| | <i>JNK (basket)</i> | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | <i>Hsp70Aa</i> | -0.36 | 0.47 | - | - | -1.27 | - | 3.39 | 3.68 |
| | <i>Cyp4e2</i> | - | - | -0.77 | -0.7 | -0.81 | - | - | - |
| | <i>Sod1</i> | - | - | - | - | - | - | - | -0.09 |
| | <i>Sod2</i> | -0.3 | - | - | - | - | - | - | - |
| | <i>Catalase</i> | -0.67 | - | - | - | 1.06 | 1.04 | - | - |
| | <i>Mus209 (PCNA)</i> | - | 0.22 | - | - | -1.17 | -1.47 | 0.42 | - |
| | <i>mus210 (XPC)</i> | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | <i>Rrp1</i> | - | 0.66 | -0.67 | - | -0.98 | -1.42 | 0.2 | - |
| <i>Brca2</i> | - | - | - | - | - | -0.56 | - | - | |
| <i>spn-B</i> | - | - | - | - | -0.92 | -0.85 | - | - | |
| <i>Ku80</i> | 1.18 | - | - | - | - | - | 0.66 | - | |
| <i>PARP-1</i> | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| ♂ | <i>Drosomycin</i> | -2.14 | - | -0.89 | -2.59 | -1.46 | -1.59 | -1.06 | -0.72 |
| | <i>Metchnikowin</i> | -0.73 | -0.77 | 4.27 | 4 | 2.02 | 2.09 | 0.9 | 2.25 |
| | <i>Defensin</i> | -1.22 | -1.42 | 0.32 | 0.87 | - | 0.79 | - | 1.11 |
| | <i>Mst-1 (Hippo)</i> | - | - | 1.59 | 1.56 | 1.48 | 1.01 | - | 1.15 |
| | <i>Wrinkled/Hid</i> | - | - | 2.17 | 1.41 | 1.36 | 1.1 | 0.95 | 1.48 |
| | <i>D-Gadd45</i> | -1.56 | - | 2.03 | 1.49 | - | - | 1.51 | 2.03 |
| | <i>dSir2 (Sirt1)</i> | -0.84 | -0.81 | 2.14 | 1.46 | 1.91 | 1.14 | - | 1.29 |
| | <i>FOXO</i> | -1.41 | -1.15 | 1.86 | - | 1.47 | 0.92 | - | - |

| | | | | | | | | |
|----------------------|-------|-------|------|------|------|------|------|------|
| <i>JNK (basket)</i> | - | - | 1.75 | 1.55 | 1.54 | 1.38 | - | - |
| <i>Hsp70Aa</i> | - | - | 3.4 | 1.73 | 1.53 | 2.59 | 3.51 | 4.74 |
| <i>Cyp4e2</i> | -0.74 | -1.02 | 1.45 | 1.43 | 1.08 | 1.19 | - | 1.05 |
| <i>Sod1</i> | - | - | 2.1 | 2.08 | 2.03 | - | 0.54 | 1.66 |
| <i>Sod2</i> | -0.69 | -0.84 | 2.13 | 1.85 | 2.15 | 1.76 | 0.77 | - |
| <i>Catalase</i> | -1.11 | -0.99 | 1.41 | 1.09 | 1.38 | 0.99 | - | 1.39 |
| <i>Mus209 (PCNA)</i> | - | - | 1.84 | 2.28 | 2.61 | 2.8 | - | 1.83 |
| <i>mus210 (XPC)</i> | -1.28 | -1.13 | - | - | - | - | - | - |
| <i>Rrp1</i> | -0.89 | - | 1.79 | 1.63 | 2.04 | 1.59 | - | 1.69 |
| <i>Brca2</i> | -0.77 | - | 2 | - | 1.22 | - | 0.76 | - |
| <i>spn-B</i> | - | - | 2.77 | 1.76 | 1.25 | 1.21 | 1.63 | - |
| <i>Ku80</i> | - | - | 1.57 | - | 1.56 | 1.55 | 1.01 | - |
| <i>PARP-1</i> | -0.55 | -0.73 | 1.95 | 1.14 | 1.45 | - | 0.88 | 1.45 |

Обозначения:

В таблице указаны только достоверные (U-критерий Манна-Уитни) значения изменений показателя \log_2FC , серым выделены изменения, значения которых ≥ 1 , только их считали статистически значимыми, что связано с вариабельностью референсных генов, прочерком обозначено отсутствие достоверных изменений.

Снижение экспрессии генов иммунного ответа связано, вероятно, со снижением экспрессии транскрипционного фактора FOXO, который как было показано, играет важную роль в регуляции данного защитного механизма (FOXO-dependent regulation..., 2010). Однако, несмотря на снижение экспрессии вышеперечисленных генов, у самцов наблюдаются положительные эффекты, выраженные в увеличении медианной и максимальной продолжительности жизни (1.7-5.1%). Для объяснения полученных данных мы изучили динамику экспрессии некоторых генов с использованием метода GFP-репортеров. Было показано, что через 24 часа после воздействия наблюдается увеличение экспрессии гена *Hsp70*, что свидетельствует об активации процесса восстановления поврежденных белковых структур, через 48 часов наблюдается увеличение экспрессии гена *D-Gadd45*, отвечающего за такие механизмы стресс-ответа, как репарация ДНК, контроль клеточного цикла, апоптоз и др. (Таблица 11), а экспрессия гена *GstD* была увеличена во всех трех точках эксперимента (24-72 часа). Таким образом, можно сделать вывод, что повреждения, вызванные воздействием паров раствора формальдегида, восстанавливаются на 1-3 сутки после воздействия, кроме того, наблюдается долговременная активация систем детоксификации АФК, что, как известно, в некоторых случаях способствует увеличению продолжительности жизни (Москалев, 2008).

Воздействие раствора толуола в дозе 50 мкмоль/л привело к достоверному увеличению медианной и максимальной продолжительности жизни у самцов (на 7.6% и 5.1%, соответственно), и медианной продолжительности жизни (на 5.3%) у самок исследуемого модельного объекта, однако надо отметить, что увеличение концентрации исследуемого экотоксиканта не привело к достоверным изменениям основных показателей

ПЖ у особей *Drosophila melanogaster*. Показано, что основой воздействия толуола на клеточном уровне является генерация АФК, как самим толуолом, так и продуктами его метаболизма (Mattia et al., 1993; Murata et al., 1999; Genotoxicity and apoptosis in *Drosophila*..., 2011; Evaluation of genotoxicity..., 2012; CYP2E1 epigenetic regulation..., 2015). Известно, что физиологические уровни АФК выполняют роль медиаторов клеточных сигналов и необходимы для сохранения нормального функционирования организма, в то время, как патологические концентрации свободных радикалов приводят к оксидативному повреждению клеточных структур и активации механизмов клеточной гибели (Mitochondrial oxidative stress..., 2014). Таким образом, АФК с одной стороны являются причиной оксидативного стресса, результатом которого является повреждение ДНК, неправильное сворачивание белков и ускоренное старение (Mikhed et al., 2015), с другой стороны, умеренное количество АФК способствует развитию устойчивости к метаболическим, механическим и оксидативным стрессорам, снижению уровня клеточных повреждений (Lawler et al., 2016), а также продлению жизни *Drosophila melanogaster* (Mitochondrial ROS Produced..., 2016). Результаты данного исследования подтверждают обе точки зрения: у самцов *Drosophila melanogaster* после воздействия раствора толуола (50 и 100 мкмоль/л) мы наблюдаем увеличение экспрессии генов антиоксидантной защиты, репарации белков и ДНК, апоптоза и генов регуляции клеточного стресс-ответа (Таблица 12), что говорит в пользу повреждающего действия АФК, генерируемых в результате воздействия раствора толуола. Однако, мы наблюдаем и увеличение продолжительности жизни как у самцов, так и у самок исследуемого модельного объекта, что говорит о благотворном влиянии низких концентраций АФК. Показано, что в отличие от метформина, блокирующего работу комплекса I (СI) обратного переноса электронов транспортной цепи митохондрий, воздействие таких оксидантов, как паракват и ротенон, не приводят к увеличению продолжительности жизни особей *Drosophila melanogaster* (Mitochondrial ROS Produced..., 2016). Таким образом, можно сделать предположение, что толуол воздействует подобно метформину, блокируя СI комплекс переноса электронов транспортной цепи митохондрий.

Есть данные, свидетельствующие, что ингаляция паров толуола даже в больших концентрациях вызывает кратковременное обратимое увеличение локомоторной активности как у самцов, так и самок *Drosophila melanogaster*, что связывают с нейротоксическим действием данного соединения (Effects of toluene..., 2015). В случае перорального воздействия низких концентраций данного ксенобиотика, как было показано в рамках нашего исследования, изменения спонтанной локомоторной активности выявлены только у самцов после воздействия раствора толуола в концентрации 100 мкмоль/л

(увеличение на 89-93% в зрелом возрасте), что, вероятно, также связано с генерацией АФК и нейротоксическим действием данного экотоксиканта.

Влияние раствора толуола в концентрации 50 мкмоль/л привело к увеличению плодовитости самок в раннем возрасте (до 81%) и снижению данного показателя в зрелом возрасте тестируемых особей (до 34%), в то время, как увеличение концентрации раствора исследуемого экотоксиканта вдвое приводит к увеличению плодовитости самок только в зрелом возрасте (на 30%). Таким образом, ярко выраженная компенсаторная реакция самок в раннем возрасте приводит к истощению организма и снижению плодовитости в зрелости, что согласуется с теорией Михаила Благодосклонного, согласно которой, гиперфункция клеток и систем организма приводит к старению и возраст-зависимым заболеваниям (Blagosklonny, 2009).

Влияние ТХДД на организм, как было описано выше, связано, в первую очередь, с его необратимым связыванием с AhR/Arnt комплексом, препятствуя, таким образом, нормальному функционированию рецептора AhR и выполнению его роли в поддержании гомеостаза организма (Denison, Nagy, 2003; Exactly the same but different..., 2011). У *Drosophila melanogaster* показано наличие гомологичного комплекса – ss/Tgo (spineless – ближайший гомолог AhR, Tango – гомолог Arnt). Однако надо отметить, что основная роль гена *ss* у *Drosophila melanogaster* – это контроль индивидуального развития, так как белок данного гена не содержит диоксин-связывающей последовательности (The spineless-aristopedia and tango..., 1999). Таким образом, можно сделать вывод, что у *Drosophila melanogaster* основные эффекты, вызванные воздействием такого ксенобиотика, как ТХДД, связаны с генерацией АФК, вызванной детоксификацией данного экотоксиканта цитохромом P450, а также посредством активации ксантинооксидазы (Yoshida, Ogawa, 2000) и воспалением.

В результате оценки основных параметров продолжительности жизни после воздействия раствора ТХДД у самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* выявлен эффект гормезиса в обоих вариантах эксперимента, в то время, как у самцов воздействие раствора этого ксенобиотика в концентрации 1.644 мкмоль/л вызвало снижение медианной продолжительности жизни на 11.9%. Как видно из рисунков 23-28, самцы характеризуются более высокой локомоторной активностью, чем самки, что говорит о более высоком митохондриальном метаболизме первых, что в свою очередь, способствует генерации АФК (Ristow, Schmeisser, 2011). Возможно, дополнительная избыточная нагрузка на антиоксидантные системы самцов привела к их разбалансировке и снижению продолжительности жизни, в то время, как для самок данная нагрузка не была избыточной ввиду снижения двигательной активности и генерации эндогенных форм свободных

радикалов. Кроме того, высокий метаболизм самцов предполагает большее потребление пищи, что в свою очередь, ведет к аккумуляции большего количества ТХДД в их организме, что также способствует снижению продолжительности жизни.

Как упоминалось ранее, молекулярно-клеточные механизмы гормезиса, основанные на мобилизации метаболических резервов организма, такие как стимуляция клеточных процессов метаболической детоксификации и ферментативной репарации, синтеза ДНК и белков, могут приводить к различным положительным эффектам на организменном уровне, включая увеличение плодовитости (Москалев, Шапошников, 2009). Таким образом, наблюдаемое у самок увеличение плодовитости (до 2 раз, $p < 0.01$) после воздействия ТХДД может быть следствием активации механизмов гормезиса. Например, известно, что ввиду своей липофильной природы (White, Birnbaum, 2009), диоксины оказывают непосредственное влияние на обмен липидов. Как известно, существует непосредственная связь между локомоторной активностью, плодовитостью и метаболизмом липидов (The Role of Storage Lipids..., 2015); в данном исследовании у самок наблюдалось снижение локомоторной активности (на 24-45%, $p < 0.05$) и увеличение плодовитости, что, возможно, связано с измененным обменом веществ и перераспределением ресурсов организма между репродуктивной функцией и физиологической активностью.

Влияние ионизирующего излучения в дозе 40 сГр привело к развитию эффекта гормезиса самок исследуемого модельного объекта, выраженного в увеличении продолжительности жизни, а также фекундности и фертильности. Радиоиндуцированный гормезис – активно изучаемое явление, вызывающее большое количество споров и разногласий, так как влияние малых доз ИИ носит нелинейный и стохастический характер (Moskalev et al., 2011; Morgan, Bair, 2013; Non-targeted effects of ionising..., 2013). В различных исследованиях показано наличие эффекта радиоиндуцированного гормезиса, выраженного в увеличении продолжительности жизни особей *Drosophila melanogaster*, подвергшихся воздействию малых доз ИИ (20-75 сГр) на предимагинальной стадии развития (Moskalev, 2007; Moskalev et al., 2011; Genome-wide analysis..., 2011). Однако кроме эффекта гормезиса воздействие МД ИИ может приводить к такому эффекту, как гиперрадиочувствительность (Low-dose radiation hypersensitivity..., 2004). Данный эффект мы наблюдали у самок в результате воздействия дозы 20 сГр (снижение МПЖ на 5.4%) и у самцов, подвергшихся воздействию дозы 40 сГр (снижение возраста смерти 25% популяции на 7.14%). Интересно, что в основе развития этих двух эффектов на молекулярном уровне лежат одни и те же механизмы, вызванные воздействием ионизирующего излучения в малых дозах: изменение метаболизма белков, аминокислот, липидов, жирных кислот и гормонов, изменение энергетического метаболизма, индукция факторов некроза опухолей,

изменение клеточного цикла, клеточной пролиферации и дифференциации, апоптоз, протеолитическая деградация, аутофагия, оксидативный стресс и, конечно, повреждение ДНК (Gene expression profiles..., 2007; Low dose radiation response..., 2011; Genome-wide analysis..., 2011; Transcriptional response of BALB/c..., 2012; Transcription profile of DNA..., 2012).

В результате исследования изменений профиля экспрессии генов стресс-ответа самок *Drosophila melanogaster* после воздействия малых доз ИИ было показано увеличение экспрессии гена *Hsp70Aa* (в 3.39 и 3.68 раза после воздействия дозы 20 и 40 сГр, соответственно), играющего важную роль в поддержании конформационного гомеостаза белков и клеточного стресс-ответа. Известно, что сверхэкспрессия различных генов семейства *HSPs* приводит к достоверному увеличению продолжительности жизни *Drosophila melanogaster* (Sarup et al., 2014; Specific protein homeostatic..., 2016), что, возможно и повлияло на увеличение максимальной продолжительности жизни самок после воздействия дозы 40 сГр, однако после воздействия дозы 20 сГр мы наблюдаем снижение исследуемого показателя. Так как изучение профиля экспрессии генов стресс-ответа самок не дало достаточного количества данных, трудно сделать вывод о влиянии других процессов на наблюдаемые изменения.

У самцов после воздействия ИИ в дозе 20 сГр наблюдается увеличение экспрессии генов *D-Gadd45*, *Hsp70Aa*, *spn-B* и *Ku80*, что свидетельствует о повреждении белков и образовании двуцепочечных разрывов ДНК. При воздействии ИИ в дозе 40 сГр у самцов детектируется увеличение экспрессии генов *Wrinkled/Hid*, *D-Gadd45*, *dSir2 (Sirt1)*, *Hsp70Aa*, *Cyp4e2*, *Sod1*, *Catalase*, *Mus209 (PCNA)*, *Rrp1* и *PARP-1*, что, помимо вышеперечисленных эффектов, свидетельствует о наличии оксидативного стресса, нарушениях в процессах регуляции экспрессии генов и образовании одностебельных и двунитевых разрывов ДНК (Таблица 12). Эта избыточная стрессовая нагрузка могла привести к снижению продолжительности жизни и к нарушению динамики локомоторной активности самцов после изучаемого воздействия.

По результатам изучения влияния факторов химической и физической природы на физиологические и генетические показатели *Drosophila melanogaster*, а также анализа имеющейся литературы мы разделили эффекты выбранных стрессоров на две группы: специфические и универсальные (Рисунок 49). К универсальным эффектам можно отнести оксидативный, генотоксический, цитотоксический стрессы, индукцию апоптоза и повреждение ДНК, которые были выявлены при воздействии всех четырех стрессоров.

По результатам анализа литературных данных для толуола были выделены следующие специфические эффекты: нейродегенеративные расстройства, нарушение

работы ионных каналов, гепатотоксичность, гипокалиемия, репродуктивная токсичность, наркотическое действие. Для ТХДД характерны следующие специфические эффекты: нарушение работы Ah-рецептора, диоксининдуцированное воспаление, канцерогенное действие, иммуносупрессия, гормональные нарушения, нейротоксичность, тератогенность и модуляция стрессового ответа в целом. Особенности воздействия паров раствора формальдегида на живые организмы является образование аддуктов с жизненно важными макромолекулами – нуклеиновыми кислотами, аминокислотами, белками, иммуносупрессия, репродуктивная токсичность, нейродегенеративные расстройства. Для малых доз ионизирующего излучения специфическими являются следующие эффекты: абскопальный эффект и эффект свидетеля, генетическая нестабильность, непредсказуемость развития эффектов гормезиса и гиперрадиочувствительности. Надо отметить, что, ввиду особенностей физиологии модельного объекта, выбранных концентраций экотоксикантов, а также используемых методик, не все вышеперечисленные специфические эффекты были выявлены в результате экспериментальной работы.

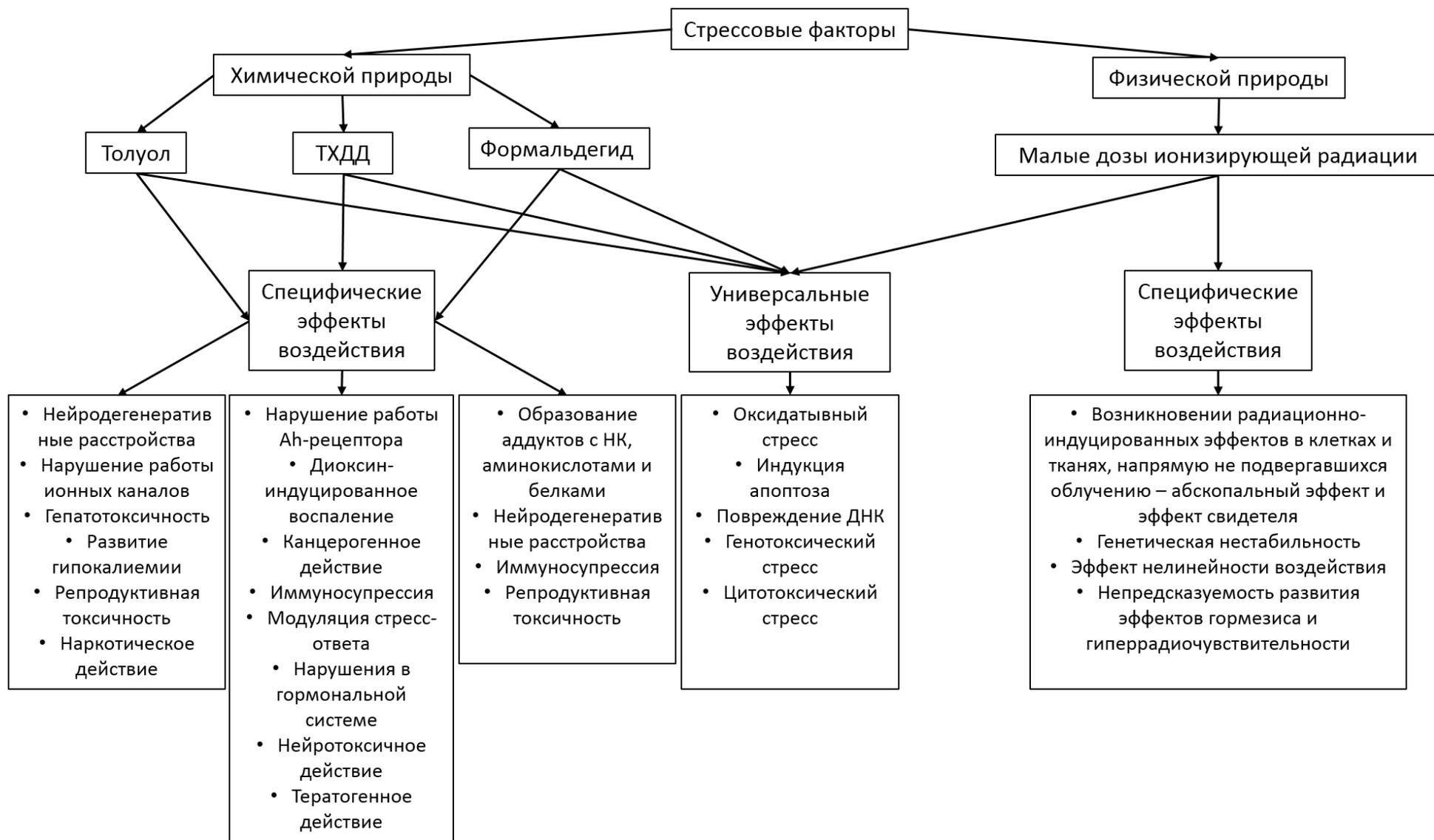


Рисунок 49 – Универсальные и специфические эффекты воздействия изучаемых факторов на живые организмы

ВЫВОДЫ

1) У самок *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S* после воздействия факторов химической природы (формальдегида, толуола и 2,3,7,8-тетрахлордibenзо-*p*-диоксина) выявлен эффект гормезиса (увеличение медианной продолжительности жизни на 4.3-5.1%). У самцов наблюдали увеличение продолжительности жизни на 3-6.8% при действии формальдегида и толуола и ее снижение на 11.9% после воздействия 2,3,7,8-тетрахлордibenзо-*p*-диоксина.

2) У самок выявлен эффект гиперрадиочувствительности (снижение медианной продолжительности жизни на 5.4% после воздействия ионизирующего излучения в дозе 20 сГр) и эффект гормезиса после воздействия в дозе 40 сГр (увеличение медианной продолжительности жизни на 6.2%). Ионизирующее излучение в дозе 20 и 40 сГр не вызывало изменения медианной и максимальной продолжительности жизни у самцов.

3) Воздействие химическими веществами приводило к увеличению плодовитости самок в раннем возрасте на 78-89%. Малые дозы ионизирующей радиации увеличивали плодовитость на протяжении всей жизни самок на 54-138%.

4) Факторы химической природы и малые дозы ионизирующего излучения не вызывали выраженных изменений локомоторной активности особей *Drosophila melanogaster*, кроме диоксина, который снижал данный показатель у самок на 25-46%.

5) Изменения профиля экспрессии генов стресс-ответа у самцов более выражены, чем у самок, особенно это касается экспрессии генов детоксификации свободных радикалов и ксенобиотиков – *Cyp4e2*, *Sod1*, *Sod2*, *Catalase* и генов репарации ДНК и белков – *Hsp70Aa*, *Mus209*, *mus210*, *Rrp1*, *spn-B*, а также гена регуляции стресс-ответа *D-Gadd45*.

6) На основании анализа полученных экспериментальных данных основными механизмами стресс-ответа при действии формальдегида, толуола, диоксина в малых концентрациях и малых доз ионизирующей радиации являются ответ на окислительный стресс и связанное с ним повреждение ДНК и белков.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аврорин Е. Н. О необходимости атомной энергетики // Вестник УрО РАН. - 2002. - Vol. 1. - № - P. 24-27.
- Акимов В. А., Соколов Ю. И. Наиболее крупные чрезвычайные ситуации в России и мире в 2005 году // Стратегия гражданской защиты: проблемы и исследования. - 2014а. - Т. 4. - № - С. 97-155.
- Акимов В. А., Соколов Ю. И. Наиболее крупные чрезвычайные ситуации в России и в мире 2003 году // Стратегия гражданской защиты: проблемы и исследования. - 2013а. - Vol. 3. - № 2. - P. 363-461.
- Акимов В. А., Соколов Ю. И. Наиболее крупные чрезвычайные ситуации в России и в мире 2004 году // Стратегия гражданской защиты: проблемы и исследования. - 2013б. - Vol. 3. - № 2. - P. 641-727.
- Акимов В. А., Соколов Ю. И. Наиболее крупные чрезвычайные ситуации в России и в мире 2006 году // Стратегия гражданской защиты: проблемы и исследования. - 2014б. - Vol. 4. - № 1. - P. 392-456.
- Анисимов В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения,. : Наука СПб, 2008. — 468 с.
- Банников Ю. А. Радиация, дозы, эффекты, риск // Москва. - 1990. - Т. - № - С.
- Баришполец В. А. Системный анализ катастроф, происходящих в мире // Радиоэлектроника. Наносистемы. Информационные технологии. - 2010. - Т. 2. - № - С. 162-176.
- Бердоносков С. С., Сапожников Ю. А. Ионизирующие излучения и окружающая среда // Соросовский образовательный журнал. - 2001. - Т. - № - С. 40-46.
- Васильев А. Г. Эпигенетические основы фенетики: на пути к популяционной мерономии. — Екатеринбург: Академкнига, 2005. — 640.
- Гаврилов Л. А., Гаврилова Н. С. Биология продолжительности жизни,. — М.: Наука, 1991. — 280 с.
- Газиев А. И. Повреждение ДНК в клетках под действием ионизирующей радиации // Радиационная биология. Радиоэкология. - 1999. - Т. 39. - № - С. 630-638.
- Марчук Г. И., Анисимов В. Н., Романюха А. А. et al. Геронтология in silico: становление новой дисциплины: математические модели. Анализ данных и вычислительные эксперименты: сборник научных трудов,. : Бином, 2007. — 536 с.
- Крутько В. Н., Славин М. Б., Смирнова Т. М. Математические основания геронтологии. — Москва: УРСС, 2002. — 382 с.
- Крутько В. Н., Донцов В. И. Системные механизмы и модели старения. 2008. — 336 с.

- Кузин А. Проблема малых доз и идеи гормезиса в радиобиологии // Радиобиология. - 1991. - Т. 31. - № - С. 16-21.
- Кузин А. М. Роль природного радиоактивного фона и вторичного биогенного излучения в явлении жизни,. : Наука М, 2002. — 79 с.
- Любкин Р. Н., Андреева Л. Н. / К вопросу о диоксинах - химической чуме 21 века // Материалы XXIII Международной научно-практической конференции «Предупреждение. Спасение. Помощь» - Химки, 2013.
- Маршалл В. Основные опасности химических производств. — Москва: Мир, 1989. — 672 с.
- Москалев А. А. Роль генов транскрипционного фактора dFOXO, dSIR2 и HSP70 в изменении продолжительности жизни *drosophila melanogaster* при различных режимах освещения // Экологическая генетика. - 2010. - Т. 8. - № - С. 67.
- Москалев А. А. Старение и гены. : СПб.: Наука, 2008. — 358 с.
- Москалёв Ю. И. Отдалённые последствия ионизирующих излучений,. — Москва: Медицина, 1991. — 464 с.
- Москалев А. А., Шапошников М. В. Генетические механизмы воздействия ионизирующих излучений в малых дозах. 2009.
- Моссэ И. Б. Радиация и наследственность: генетические аспекты противорадиационной защиты,. 1990. — 208 с.
- Надеев А. Д., Гончаров Н. В. Активные формы кислорода в клетках сердечно-сосудистой системы // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. - 2014. - Т. - № - С. 15.
- Огородников С. К. Формальдегид. — Л: Химия, 1984. — 280 с.
- Шапошников М. В., Прошкина Е. Н., Шилова Л. А. et al. Роль репарации повреждений ДНК в долголетию. — Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2015.
- Савченко А. В., Жилиева А. Л. Онкологическая заболеваемость населения региона с высоким уровнем химического загрязнения // Фундаментальные исследования. - 2013. - Т. 12. - № - С. 539-541.
- Хавинсон В. Х., Баринов В. А., Арутюнян А. В. et al. Свободнорадикальное окисление и старение. — С-Пб: Наука, 2003. — 328 с.
- Стожаров А. Н. Медицинская экология. — Минск: Выш. шк., 2007. — 368 с.
- Цыб А. Ф., Будагов Р. С., Замулаева И. А. Радиация и патология. 2005. — 344 с.
- 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced hypertension: the beneficial effects of melatonin / Pihan S., Atessahin D., Atessahin A. et al. // Toxicology and industrial health. - 2015. - Vol. 31. - № 4. - P. 298-303.

- 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin-mediated disruption of the CD40 ligand-induced activation of primary human B cells / Lu H., Crawford R. B., Kaplan B. L. et al. // *Toxicology and applied pharmacology*. - 2011. - Vol. 255. - № 3. - P. 251-260.
- 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin / National Toxicology P. // *Report on carcinogens : carcinogen profiles* / U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, National Toxicology Program. - 2011. - Vol. 12. - № - P. 396-398.
- Absence of effects of Sir2 overexpression on lifespan in *C. elegans* and *Drosophila* / Burnett C., Valentini S., Cabreiro F. et al. // *Nature*. - 2011. - Vol. 477. - № 7365. - P. 482-485.
- Abu-Khader M. M. Recent advances in nuclear power: A review // *Progress in Nuclear Energy*. - 2009. - Vol. 51. - № 2. - P. 225-235.
- Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes / Vandesompele J., De Preter K., Pattyn F. et al. // *Genome biology*. - 2002. - Vol. 3. - № 7. - P. RESEARCH0034.
- Activity of heat shock genes' promoters in thermally contrasting animal species / Astakhova L. N., Zatssepina O. G., Funikov S. Y. et al. // *PloS one*. - 2015. - Vol. 10. - № 2. - P. e0115536.
- Adult T cell leukemia-derived factor/human thioredoxin protects endothelial F-2 cell injury caused by activated neutrophils or hydrogen peroxide / Nakamura H., Matsuda M., Furuke K. et al. // *Immunology letters*. - 1994. - Vol. 42. - № 1-2. - P. 75-80.
- Aging-associated excess formaldehyde leads to spatial memory deficits / Tong Z., Han C., Luo W. et al. // *Scientific reports*. - 2013. - Vol. 3. - № - P. 1807.
- Air pollution and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the Expert Panel on Population and Prevention Science of the American Heart Association / Brook R. D., Franklin B., Cascio W. et al. // *Circulation*. - 2004. - Vol. 109. - № 21. - P. 2655-2671.
- Allisy A. Henri Becquerel: The discovery of radioactivity // *Radiation Protection Dosimetry*. - 1996. - Vol. 68. - № 1-2. - P. 3-10.
- American College of Radiology white paper on radiation dose in medicine / Amis E. S., Jr., Butler P. F., Applegate K. E. et al. // *Journal of the American College of Radiology : JACR*. - 2007. - Vol. 4. - № 5. - P. 272-284.
- Amyloid-like aggregates of neuronal tau induced by formaldehyde promote apoptosis of neuronal cells / Nie C. L., Wang X. S., Liu Y. et al. // *BMC neuroscience*. - 2007. - Vol. 8. - № - P. 9.
- Andersen C. L., Jensen J. L., Orntoft T. F. Normalization of real-time quantitative reverse transcription-PCR data: a model-based variance estimation approach to identify genes suited for normalization, applied to bladder and colon cancer data sets // *Cancer research*. - 2004. - Vol. 64. - № 15. - P. 5245-5250.

- Anthropogenic radioactivity in the Arctic Ocean--review of the results from the joint German project / Nies H., Harms I. H., Karcher M. J. et al. // *The Science of the total environment*. - 1999. - Vol. 237-238. - № - P. 181-191.
- Applicability of discovery science approach to determine biological effects of mobile phone radiation / Leszczynski D., Nylund R., Joenvaara S. et al. // *Proteomics*. - 2004. - Vol. 4. - № 2. - P. 426-431.
- The aryl hydrocarbon receptor: multitasking in the immune system / Stockinger B., Di Meglio P., Gialitakis M. et al. // *Annual review of immunology*. - 2014. - Vol. 32. - № - P. 403-432.
- The aryl hydrocarbon receptor (AhR) mediates resistance to apoptosis induced in breast cancer cells / Bekki K., Vogel H., Li W. et al. // *Pesticide biochemistry and physiology*. - 2015. - Vol. 120. - № - P. 5-13.
- Ashburner M. *Drosophila: A Laboratory Manual* // - 1989. - Vol. - № - P.
- Assessment of an association between an aryl hydrocarbon receptor gene (AHR) polymorphism and risk of male infertility / Gu A., Ji G., Long Y. et al. // *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*. - 2011. - Vol. 122. - № 2. - P. 415-421.
- Assessment of immunotoxicity and genotoxicity in workers exposed to low concentrations of formaldehyde / Aydin S., Canpinar H., Undeger U. et al. // *Archives of toxicology*. - 2013. - Vol. 87. - № 1. - P. 145-153.
- Associations between several sites of cancer and occupational exposure to benzene, toluene, xylene, and styrene: results of a case-control study in Montreal / Gerin M., Siemiatycki J., Desy M. et al. // *American journal of industrial medicine*. - 1998. - Vol. 34. - № 2. - P. 144-156.
- Asthma and the indoor environment: the significance of emission of formaldehyde and volatile organic compounds from newly painted indoor surfaces / Wieslander G., Norback D., Bjornsson E. et al. // *International archives of occupational and environmental health*. - 1997. - Vol. 69. - № 2. - P. 115-124.
- Autophagy in *Drosophila*: from historical studies to current knowledge / Mulakkal N. C., Nagy P., Takats S. et al. // *BioMed research international*. - 2014. - Vol. 2014. - № - P. 273473.
- Autophagy regulates tissue overgrowth in a context-dependent manner / Perez E., Das G., Bergmann A. et al. // *Oncogene*. - 2015. - Vol. 34. - № 26. - P. 3369-3376.
- Bae S. W., Yoon I. S. The beneficial effect of melatonin for toluene hepatotoxicity in rats // *Journal of Biomedical Laboratory Sciences*. - 2001. - Vol. 7. - № 3. - P. 99-102.
- The bantam microRNA is a target of the hippo tumor-suppressor pathway / Nolo R., Morrison C. M., Tao C. et al. // *Current biology : CB*. - 2006. - Vol. 16. - № 19. - P. 1895-1904.

- Bauer H., Kanzok S. M., Schirmer R. H. Thioredoxin-2 but not thioredoxin-1 is a substrate of thioredoxin peroxidase-1 from *Drosophila melanogaster*: isolation and characterization of a second thioredoxin in *D. Melanogaster* and evidence for distinct biological functions of Trx-1 and Trx-2 // *The Journal of biological chemistry*. - 2002. - Vol. 277. - № 20. - P. 17457-17463.
- Beall J. R., Ulsamer A. G. Formaldehyde and hepatotoxicity: a review // *Journal of toxicology and environmental health*. - 1984. - Vol. 14. - № 1. - P. 1-21.
- Behavioral and neurochemical effects induced by subchronic exposure to 40 ppm toluene in rats / Berenguer P., Soulage C., Perrin D. et al. // *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. - 2003. - Vol. 74. - № 4. - P. 997-1003.
- Benignus V. A. Neurobehavioral effects of toluene: a review // *Neurobehavioral toxicology and teratology*. - 1981. - Vol. 3. - № 4. - P. 407-415.
- Bernanke J., Köhler H. R. The impact of environmental chemicals on wildlife vertebrates // *Reviews of environmental contamination and toxicology*. - 2009. - Vol. 198. - № - P. 1-47.
- BH3-only proteins that bind pro-survival Bcl-2 family members fail to induce apoptosis in the absence of Bax and Bak / Zong W. X., Lindsten T., Ross A. J. et al. // *Genes & development*. - 2001. - Vol. 15. - № 12. - P. 1481-1486.
- Binge toluene exposure alters glutamate, glutamine and GABA in the adolescent rat brain as measured by proton magnetic resonance spectroscopy / Perrine S. A., O'Leary-Moore S. K., Galloway M. P. et al. // *Drug and alcohol dependence*. - 2011. - Vol. 115. - № 1-2. - P. 101-106.
- Blagosklonny M. V. Aging-suppressants: cellular senescence (hyperactivation) and its pharmacologic deceleration // *Cell cycle (Georgetown, Tex.)*. - 2009. - Vol. 8. - № 12. - P. 1883-1887.
- Blasius M., Sommer S., Hubscher U. *Deinococcus radiodurans*: what belongs to the survival kit? // *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*. - 2008. - Vol. 43. - № 3. - P. 221-238.
- Bodin J., Stene L. C., Nygaard U. C. Can exposure to environmental chemicals increase the risk of diabetes type 1 development? // *BioMed research international*. - 2015. - Vol. 2015. - № - P. 208947.
- Brahma is essential for *Drosophila* intestinal stem cell proliferation and regulated by Hippo signaling / Jin Y., Xu J., Yin M. X. et al. // *eLife*. - 2013. - Vol. 2. - № - P. e00999.
- Breslow N. A generalized Kruskal-Wallis test for comparing K samples subject to unequal patterns of censorship // *Biometrika*. - 1970. - Vol. 57. - № 3. - P. 579-594.

- Brody J. G., Rudel R. A. Environmental pollutants and breast cancer // *Environmental health perspectives*. - 2003. - Vol. 111. - № 8. - P. 1007-1019.
- Bruhl C. A., Pieper S., Weber B. Amphibians at risk? Susceptibility of terrestrial amphibian life stages to pesticides // *Environmental toxicology and chemistry / SETAC*. - 2011. - Vol. 30. - № 11. - P. 2465-2472.
- Burkle A. DNA repair and PARP in aging // *Free radical research*. - 2006. - Vol. 40. - № 12. - P. 1295-1302.
- Burn D. M., Doroff A. M. Decline in sea otter (*Enhydra lutris*) populations along the Alaska Peninsula, 1986-2001 // *Fish B-Noaa*. - 2005. - Vol. 103. - № 2. - P. 270-279.
- Calabrese E. J. Hormesis: why it is important to toxicology and toxicologists // *Environmental toxicology and chemistry / SETAC*. - 2008. - Vol. 27. - № 7. - P. 1451-1474.
- Carcinogenicity of formaldehyde in rats and mice after long-term inhalation exposure / Kerns W. D., Pavkov K. L., Donofrio D. J. et al. // *Cancer research*. - 1983. - Vol. 43. - № 9. - P. 4382-4392.
- Carlson D. B., Perdew G. H. A dynamic role for the Ah receptor in cell signaling? Insights from a diverse group of Ah receptor interacting proteins // *Journal of biochemical and molecular toxicology*. - 2002. - Vol. 16. - № 6. - P. 317-325.
- Casanova-Schmitz M., Starr T. B., Heck H. D. Differentiation between metabolic incorporation and covalent binding in the labeling of macromolecules in the rat nasal mucosa and bone marrow by inhaled [¹⁴C]- and [³H]formaldehyde // *Toxicology and applied pharmacology*. - 1984. - Vol. 76. - № 1. - P. 26-44.
- Chahine S., O'Donnell M. J. Interactions between detoxification mechanisms and excretion in Malpighian tubules of *Drosophila melanogaster* // *The Journal of experimental biology*. - 2011. - Vol. 214. - № Pt 3. - P. 462-468.
- Changes in MicroRNA expression patterns in human fibroblasts after low-LET radiation / Maes O. C., An J., Sarojini H. et al. // *Journal of cellular biochemistry*. - 2008. - Vol. 105. - № 3. - P. 824-834.
- Changes in nasal lavage fluid due to formaldehyde inhalation / Pazdrak K., Gorski P., Krakowiak A. et al. // *International archives of occupational and environmental health*. - 1993. - Vol. 64. - № 7. - P. 515-519.
- Characterization of the genotoxic potential of formaldehyde in V79 cells / Speit G., Schutz P., Hogel J. et al. // *Mutagenesis*. - 2007. - Vol. 22. - № 6. - P. 387-394.
- Chelikani P., Fita I., Loewen P. C. Diversity of structures and properties among catalases // *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. - 2004. - Vol. 61. - № 2. - P. 192-208.

- Chopra M., Schrenk D. Dioxin toxicity, aryl hydrocarbon receptor signaling, and apoptosis-persistent pollutants affect programmed cell death // *Critical reviews in toxicology*. - 2011. - Vol. 41. - № 4. - P. 292-320.
- Chronic low-level arsenic exposure causes gender-specific alterations in locomotor activity, dopaminergic systems, and thioredoxin expression in mice / Bardullas U., Limon-Pacheco J. H., Giordano M. et al. // *Toxicology and applied pharmacology*. - 2009. - Vol. 239. - № 2. - P. 169-177.
- Cloning, expression and biochemical characterization of one Epsilon-class (GST-3) and ten Delta-class (GST-1) glutathione S-transferases from *Drosophila melanogaster*, and identification of additional nine members of the Epsilon class / Sawicki R., Singh S. P., Mondal A. K. et al. // *The Biochemical journal*. - 2003. - Vol. 370. - № Pt 2. - P. 661-669.
- Colborn T., vom Saal F. S., Soto A. M. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans // *Environmental health perspectives*. - 1993. - Vol. 101. - № 5. - P. 378-384.
- A combination of micronucleus assay and fluorescence in situ hybridization analysis to evaluate the genotoxicity of formaldehyde / Bouraoui S., Mougou S., Brahem A. et al. // *Archives of environmental contamination and toxicology*. - 2013. - Vol. 64. - № 2. - P. 337-344.
- Combined analysis of chromosomal aberrations and glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms in pathologists occupationally exposed to formaldehyde / Santovito A., Schiliro T., Castellano S. et al. // *Archives of toxicology*. - 2011. - Vol. 85. - № 10. - P. 1295-1302.
- Correlation between dioxin and endometriosis: an epigenetic route to unravel the pathogenesis of the disease / Sofo V., Gotte M., Lagana A. S. et al. // *Archives of gynecology and obstetrics*. - 2015. - Vol. 292. - № 5. - P. 973-986.
- Correlation of regional and nonlinear formaldehyde-induced nasal cancer with proliferating populations of cells / Monticello T. M., Swenberg J. A., Gross E. A. et al. // *Cancer research*. - 1996. - Vol. 56. - № 5. - P. 1012-1022.
- Covalent binding of inhaled formaldehyde to DNA in the respiratory tract of rhesus monkeys: pharmacokinetics, rat-to-monkey interspecies scaling, and extrapolation to man / Casanova M., Morgan K. T., Steinhagen W. H. et al. // *Fundamental and applied toxicology : official journal of the Society of Toxicology*. - 1991. - Vol. 17. - № 2. - P. 409-428.
- Cox D. R. The analysis of exponentially distributed life-times with two types of failure // *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*. - 1959. - Vol. - № - P. 411-421.
- Cox D. R., Oakes D. *Analysis of survival data*, T. 21 : CRC Press, 1984. — 202 p.

- Cranial MR findings in chronic toluene abuse by inhalation / Aydin K., Sencer S., Demir T. et al. // *AJNR. American journal of neuroradiology.* - 2002. - Vol. 23. - № 7. - P. 1173-1179.
- Cruz S. L., Rivera-Garcia M. T., Woodward J. J. Review of toluene action: clinical evidence, animal studies and molecular targets // *Journal of drug and alcohol research.* - 2014. - Vol. 3. - № - P.
- The crystal structure of JNK from *Drosophila melanogaster* reveals an evolutionarily conserved topology with that of mammalian JNK proteins / Chimnaronk S., Sitthiroongruang J., Srisucharitpanit K. et al. // *BMC structural biology.* - 2015. - Vol. 15. - № - P. 17.
- CYP2E1 epigenetic regulation in chronic, low-level toluene exposure: Relationship with oxidative stress and smoking habit / Jimenez-Garza O., Baccarelli A. A., Byun H. M. et al. // *Toxicology and applied pharmacology.* - 2015. - Vol. 286. - № 3. - P. 207-215.
- CYP2E1 regulation by benzene and other small organic chemicals in rat liver and peripheral lymphocytes / Gonzalez-Jasso E., Lopez T., Lucas D. et al. // *Toxicology letters.* - 2003. - Vol. 144. - № 1. - P. 55-67.
- Cytochrome P4501A1 is required for vascular dysfunction and hypertension induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin / Kopf P. G., Scott J. A., Agbor L. N. et al. // *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology.* - 2010. - Vol. 117. - № 2. - P. 537-546.
- Cytogenetic and immunological effects associated with occupational formaldehyde exposure / Costa S., Garcia-Leston J., Coelho M. et al. // *Journal of toxicology and environmental health. Part A.* - 2013. - Vol. 76. - № 4-5. - P. 217-229.
- Cytoprotective effects of triphlorethol-A against formaldehyde-induced oxidative damage and apoptosis: role of mitochondria-mediated caspase-dependent pathway / Zhang R., Lee I. K., Kang K. A. et al. // *Journal of toxicology and environmental health. Part A.* - 2010. - Vol. 73. - № 21-22. - P. 1477-1489.
- Cytotoxic effect of formaldehyde with free radicals via increment of cellular reactive oxygen species / Saito Y., Nishio K., Yoshida Y. et al. // *Toxicology.* - 2005. - Vol. 210. - № 2-3. - P. 235-245.
- DEAF-1 regulates immunity gene expression in *Drosophila* / Reed D. E., Huang X. M., Wohlschlegel J. A. et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* - 2008. - Vol. 105. - № 24. - P. 8351-8356.
- Denison M. S., Nagy S. R. Activation of the aryl hydrocarbon receptor by structurally diverse exogenous and endogenous chemicals // *Annual review of pharmacology and toxicology.* - 2003. - Vol. 43. - № - P. 309-334.

- Depledge M. H., Billingham Z. Ecological significance of endocrine disruption in marine invertebrates // *Marine Pollution Bulletin*. - 1999. - Vol. 39. - № 1-12. - P. 32-38.
- Depledge M. H., Fossi M. C. The role of biomarkers in environmental assessment (2). Invertebrates // *Ecotoxicology*. - 1994. - Vol. 3. - № 3. - P. 161-172.
- Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target genes and sample integrity: BestKeeper--Excel-based tool using pair-wise correlations / Pfaffl M. W., Tichopad A., Prgomet C. et al. // *Biotechnology letters*. - 2004. - Vol. 26. - № 6. - P. 509-515.
- Dice J. F. Peptide sequences that target cytosolic proteins for lysosomal proteolysis // *Trends in biochemical sciences*. - 1990. - Vol. 15. - № 8. - P. 305-309.
- Dioxin- and POP-contaminated sites-contemporary and future relevance and challenges: overview on background, aims and scope of the series / Weber R., Gaus C., Tysklind M. et al. // *Environmental science and pollution research international*. - 2008. - Vol. 15. - № 5. - P. 363-393.
- Dioxin-like compounds and endometriosis: a study on Italian and Belgian women of reproductive age / De Felip E., Porpora M. G., di Domenico A. et al. // *Toxicology letters*. - 2004. - Vol. 150. - № 2. - P. 203-209.
- Dioxin exposure, from infancy through puberty, produces endocrine disruption and affects human semen quality / Mocarelli P., Gerthoux P. M., Patterson D. G., Jr. et al. // *Environmental health perspectives*. - 2008. - Vol. 116. - № 1. - P. 70-77.
- Dioxins and cardiovascular disease mortality / Humblet O., Birnbaum L., Rimm E. et al. // *Environmental health perspectives*. - 2008. - Vol. 116. - № 11. - P. 1443-1448.
- Dioxins and human toxicity / Marinkovic N., Pasalic D., Ferencak G. et al. // *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*. - 2010. - Vol. 61. - № 4. - P. 445-453.
- Direct and indirect responses of a freshwater food web to a potent synthetic oestrogen / Kidd K. A., Paterson M. J., Rennie M. D. et al. // *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. - 2014. - Vol. 369. - № 1656. - P.
- Distribution of DNA adducts caused by inhaled formaldehyde is consistent with induction of nasal carcinoma but not leukemia / Lu K., Collins L. B., Ru H. et al. // *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*. - 2010. - Vol. 116. - № 2. - P. 441-451.
- Dmp53 activates the Hippo pathway to promote cell death in response to DNA damage / Colombani J., Polesello C., Josue F. et al. // *Current biology : CB*. - 2006. - Vol. 16. - № 14. - P. 1453-1458.
- DNA-protein cross-links and cell replication at specific sites in the nose of F344 rats exposed subchronically to formaldehyde / Casanova M., Morgan K. T., Gross E. A. et al. //

- Fundamental and applied toxicology : official journal of the Society of Toxicology. - 1994. - Vol. 23. - № 4. - P. 525-536.
- DNA-protein crosslinks and p53 protein expression in relation to occupational exposure to formaldehyde / Shaham J., Bomstein Y., Gurvich R. et al. // Occupational and environmental medicine. - 2003. - Vol. 60. - № 6. - P. 403-409.
- Doganlar O., Doganlar Z. B. Effects of a mixture of volatile organic compounds on total DNA and gene expression of heat shock proteins in *Drosophila melanogaster* // Archives of environmental contamination and toxicology. - 2015. - Vol. 68. - № 2. - P. 395-404.
- Domestic exposure to formaldehyde significantly increases the risk of asthma in young children / Rumchev K. B., Spickett J. T., Bulsara M. K. et al. // The European respiratory journal. - 2002. - Vol. 20. - № 2. - P. 403-408.
- Dose-dependent expression changes of early response genes to ionizing radiation in human lymphoblastoid cells / Long X. H., Zhao Z. Q., He X. P. et al. // International journal of molecular medicine. - 2007. - Vol. 19. - № 4. - P. 607-615.
- Drosophila* Foxo regulates organism size and stress resistance through an adenylate cyclase / Mattila J., Bremer A., Ahonen L. et al. // Molecular and cellular biology. - 2009. - Vol. 29. - № 19. - P. 5357-5365.
- Drosophila* UTX coordinates with p53 to regulate ku80 expression in response to DNA damage / Zhang C., Hong Z., Ma W. et al. // PloS one. - 2013. - Vol. 8. - № 11. - P. e78652.
- dSir2 in the adult fat body, but not in muscles, regulates life span in a diet-dependent manner / Banerjee K. K., Ayyub C., Ali S. Z. et al. // Cell reports. - 2012. - Vol. 2. - № 6. - P. 1485-1491.
- Dubrova Y. E. Radiation-induced mutation at tandem repeat DNA Loci in the mouse germline: spectra and doubling doses // Radiation research. - 2005. - Vol. 163. - № 2. - P. 200-207.
- Edwards C. A. Assessing the effects of environmental pollutants on soil organisms, communities, processes and ecosystems // Eur J Soil Biol. - 2002. - Vol. 38. - № 3-4. - P. 225-231.
- The effect of air pollution on lung development from 10 to 18 years of age / Gauderman W. J., Avol E., Gilliland F. et al. // The New England journal of medicine. - 2004. - Vol. 351. - № 11. - P. 1057-1067.
- Effect of dichlorodiphenyltrichloroethane on sex determination of the common snapping turtle (*Chelydra serpentina serpentina*) / Portelli M. J., de Solla S. R., Brooks R. J. et al. // Ecotoxicol Environ Saf. - 1999. - Vol. 43. - № 3. - P. 284-291.
- Effect of endocrine disruptor pesticides: a review / Mnif W., Hassine A. I., Bouaziz A. et al. // International journal of environmental research and public health. - 2011. - Vol. 8. - № 6. - P. 2265-2303.

- The effect of endogenous formaldehyde on the rat aorta endothelial cells / Lin Z., Luo W., Li H. et al. // *Toxicology letters*. - 2005. - Vol. 159. - № 2. - P. 134-143.
- Effect of formaldehyde inhalation on Hsp70 in seminiferous tubules of rat testes: an immunohistochemical study / Ozen O. A., Akpolat N., Songur A. et al. // *Toxicology and industrial health*. - 2005. - Vol. 21. - № 10. - P. 249-254.
- Effect of formaldehyde inhalation on rat livers: a light and electron microscopic study / Cikmaz S., Kutoglu T., Kanter M. et al. // *Toxicology and industrial health*. - 2010. - Vol. 26. - № 2. - P. 113-119.
- Effect of formaldehyde on the expression of adhesion molecules in nasal microvascular endothelial cells: the role of formaldehyde in the pathogenesis of sick building syndrome / Kim W. J., Terada N., Nomura T. et al. // *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. - 2002. - Vol. 32. - № 2. - P. 287-295.
- Effect of Low Doses (5-40 cGy) of Gamma-irradiation on Lifespan and Stress-related Genes Expression Profile in *Drosophila melanogaster* / Zhikrevetskaya S., Peregudova D., Danilov A. et al. // *PloS one*. - 2015. - Vol. 10. - № 8. - P. e0133840.
- Effect of low doses of herbicide paraquat on antioxidant defense in *Drosophila* / Krucek T., Korandova M., Sery M. et al. // *Archives of insect biochemistry and physiology*. - 2015. - Vol. 88. - № 4. - P. 235-248.
- Effect of thinner inhalation on lipid peroxidation and some antioxidant enzymes of people working with paint thinner / Halifeoglu I., Canatan H., Ustundag B. et al. // *Cell biochemistry and function*. - 2000. - Vol. 18. - № 4. - P. 263-267.
- Effect of toluene on erythrocyte membrane stability under in vivo and in vitro conditions with assessment of oxidant/antioxidant status / Karabulut I., Balkanci Z. D., Pehlivanoglu B. et al. // *Toxicology and industrial health*. - 2009. - Vol. 25. - № 8. - P. 545-550.
- The effects of age on radiation resistance and oxidative stress in adult *Drosophila melanogaster* / Parashar V., Frankel S., Lurie A. G. et al. // *Radiation research*. - 2008. - Vol. 169. - № 6. - P. 707-711.
- Effects of chemical contaminants on genetic diversity in natural populations: implications for biomonitoring and ecotoxicology / Bickham J. W., Sandhu S., Hebert P. D. et al. // *Mutation research*. - 2000. - Vol. 463. - № 1. - P. 33-51.
- Effects of inhaled toluene and 1,1,1-trichloroethane on seizures and death produced by N-methyl-D-aspartic acid in mice / Cruz S. L., Gauthereau M. Y., Camacho-Munoz C. et al. // *Behavioural brain research*. - 2003. - Vol. 140. - № 1-2. - P. 195-202.

- Effects of intrinsic aerobic capacity, aging and voluntary running on skeletal muscle sirtuins and heat shock proteins / Karvinen S., Silvennoinen M., Vainio P. et al. // *Experimental gerontology*. - 2016. - Vol. 79. - № - P. 46-54.
- Effects of low-dose, long-term formaldehyde exposure on the structure and functions of the ovary in rats / Wang H. X., Wang X. Y., Zhou D. X. et al. // *Toxicology and industrial health*. - 2013. - Vol. 29. - № 7. - P. 609-615.
- Effects of overexpression of copper-zinc and manganese superoxide dismutases, catalase, and thioredoxin reductase genes on longevity in *Drosophila melanogaster* / Orr W. C., Mockett R. J., Benes J. J. et al. // *The Journal of biological chemistry*. - 2003. - Vol. 278. - № 29. - P. 26418-26422.
- Effects of persistent organic pollutants on the developing respiratory and immune systems: a systematic review / Gascon M., Morales E., Sunyer J. et al. // *Environment international*. - 2013. - Vol. 52. - № - P. 51-65.
- Effects of subchronic exposure to low-dose volatile organic compounds on lung inflammation in mice / Wang F., Li C., Liu W. et al. // *Environmental toxicology*. - 2014. - Vol. 29. - № 9. - P. 1089-1097.
- The effects of the inhaled formaldehyde during the early postnatal period in the hippocampus of rats: A morphological and immunohistochemical study / Songur A., Akpolat N., Kus I. et al. // *Neuroscience Research Communications*. - 2003. - Vol. 33. - № 3. - P. 168-178.
- Effects of toluene, acrolein and vinyl chloride on motor activity of *Drosophila melanogaster* / Tatum-Gibbs K. R., McKee J. M., Higuchi M. et al. // *Neurotoxicology and teratology*. - 2015. - Vol. 47. - № - P. 114-124.
- Endocrine toxicants and reproductive success in fish / Van Der Kraak G., Hewitt M., Lister A. et al. // *Hum Ecol Risk Assess.* - 2001. - Vol. 7. - № - P. 1017-1025.
- Endocrine disrupting chemicals: Multiple effects on testicular signaling and spermatogenesis / Yeung B. H., Wan H. T., Law A. Y. et al. // *Spermatogenesis*. - 2011a. - Vol. 1. - № 3. - P. 231-239.
- Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility / Schug T. T., Janesick A., Blumberg B. et al. // *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. - 2011b. - Vol. 127. - № 3-5. - P. 204-215.
- Enhanced tethered-flight duration and locomotor activity by overexpression of the human gene SOD1 in *Drosophila* motorneurons / Petrosyan A., Hsieh I. H., Phillips J. P. et al. // *Genetics and molecular biology*. - 2015. - Vol. 38. - № 1. - P. 107-114.

- Environmental factors in causing human cancers: emphasis on tumorigenesis / Sankpal U. T., Pius H., Khan M. et al. // *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*. - 2012. - Vol. 33. - № 5. - P. 1265-1274.
- Environmental factors in infertility / Hruska K. S., Furth P. A., Seifer D. B. et al. // *Clinical obstetrics and gynecology*. - 2000. - Vol. 43. - № 4. - P. 821-829.
- Environmental toxicants and effects on female reproductive function / Hutz R. J., Carvan M. J., Baldrige M. G. et al. // *Trends in reproductive biology*. - 2006. - Vol. 2. - № - P. 1-11.
- Ethanol and oxidative stress / Sun A. Y., Ingelman-Sundberg M., Neve E. et al. // *Alcoholism, clinical and experimental research*. - 2001. - Vol. 25. - № 5 Suppl ISBRA. - P. 237S-243S.
- Evaluation of genotoxicity and oxidative damage in painters exposed to low levels of toluene / Moro A. M., Brucker N., Charao M. et al. // *Mutation research*. - 2012. - Vol. 746. - № 1. - P. 42-48.
- Evaluation of potential reference genes for reverse transcription-qPCR studies of physiological responses in *Drosophila melanogaster* / Ponton F., Chapuis M. P., Pernice M. et al. // *J Insect Physiol*. - 2011. - Vol. 57. - № 6. - P. 840-850.
- Exactly the same but different: promiscuity and diversity in the molecular mechanisms of action of the aryl hydrocarbon (dioxin) receptor / Denison M. S., Soshilov A. A., He G. et al. // *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*. - 2011. - Vol. 124. - № 1. - P. 1-22.
- The extent and patterns of usage of Agent Orange and other herbicides in Vietnam / Stellman J. M., Stellman S. D., Christian R. et al. // *Nature*. - 2003. - Vol. 422. - № 6933. - P. 681-687.
- Ezemonye L., Tongo I. Sublethal effects of endosulfan and diazinon pesticides on glutathione-S-transferase (GST) in various tissues of adult amphibians (*Bufo regularis*) // *Chemosphere*. - 2010. - Vol. 81. - № 2. - P. 214-217.
- Feinendegen L. E. Evidence for beneficial low level radiation effects and radiation hormesis // *The British journal of radiology*. - 2005. - Vol. 78. - № 925. - P. 3-7.
- Fiedler H. National PCDD/PCDF release inventories under the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants // *Chemosphere*. - 2007. - Vol. 67. - № 9. - P. S96-108.
- Filley C. M., Halliday W., Kleinschmidt-DeMasters B. K. The effects of toluene on the central nervous system // *Journal of neuropathology and experimental neurology*. - 2004. - Vol. 63. - № 1. - P. 1-12.
- Filley C. M., Kleinschmidt-DeMasters B. K. Toxic leukoencephalopathy // *The New England journal of medicine*. - 2001. - Vol. 345. - № 6. - P. 425-432.
- Fishbein L. Toluene: uses, occurrence and exposure // *IARC scientific publications*. - 1988. - Vol. - № 85. - P. 97-108.

- Formaldehyde-induced chromosomal aberrations and apoptosis in peripheral blood lymphocytes of personnel working in pathology departments / Jakab M. G., Klupp T., Besenyei K. et al. // *Mutation research*. - 2010. - Vol. 698. - № 1-2. - P. 11-17.
- Formaldehyde-induced histone modifications in vitro / Lu K., Boysen G., Gao L. et al. // *Chemical research in toxicology*. - 2008. - Vol. 21. - № 8. - P. 1586-1593.
- Formaldehyde at low concentration induces protein tau into globular amyloid-like aggregates in vitro and in vivo / Nie C. L., Wei Y., Chen X. et al. // *PloS one*. - 2007. - Vol. 2. - № 7. - P. e629.
- Formaldehyde carcinogenicity research: 30 years and counting for mode of action, epidemiology, and cancer risk assessment / Swenberg J. A., Moeller B. C., Lu K. et al. // *Toxicologic pathology*. - 2013. - Vol. 41. - № 2. - P. 181-189.
- Formaldehyde damage to DNA and inhibition of DNA repair in human bronchial cells / Grafstrom R. C., Fornace A. J., Jr., Autrup H. et al. // *Science (New York, N.Y.)*. - 1983. - Vol. 220. - № 4593. - P. 216-218.
- Formaldehyde induces apoptosis through decreased Prx 2 via p38 MAPK in lung epithelial cells / Lim S. K., Kim J. C., Moon C. J. et al. // *Toxicology*. - 2010. - Vol. 271. - № 3. - P. 100-106.
- Formaldehyde induces lung inflammation by an oxidant and antioxidant enzymes mediated mechanism in the lung tissue / Lino-dos-Santos-Franco A., Correa-Costa M., Duraõ A. C. et al. // *Toxicology letters*. - 2011. - Vol. 207. - № 3. - P. 278-285.
- The formaldehyde metabolic detoxification enzyme systems and molecular cytotoxic mechanism in isolated rat hepatocytes / Teng S., Beard K., Pourahmad J. et al. // *Chemico-biological interactions*. - 2001. - Vol. 130-132. - № 1-3. - P. 285-296.
- Formaldehyde neurotoxicity in animal experiments / Pitten F. A., Kramer A., Herrmann K. et al. // *Pathology, research and practice*. - 2000. - Vol. 196. - № 3. - P. 193-198.
- Fox G. A., MacCluskie M. C., Brook R. W. Are current contaminant concentrations in eggs and breeding female lesser scaup of concern? // *Condor*. - 2005. - Vol. 107. - № - P. 50-61.
- FOXO-dependent regulation of innate immune homeostasis / Becker T., Loch G., Beyer M. et al. // *Nature*. - 2010. - Vol. 463. - № 7279. - P. 369-373.
- Frankel S., Ziafazelı T., Rogina B. dSir2 and longevity in *Drosophila* // *Experimental gerontology*. - 2011. - Vol. 46. - № 5. - P. 391-396.
- Fry D. M. Reproductive effects in birds exposed to pesticides and industrial chemicals // *Environmental health perspectives*. - 1995. - Vol. 103 Suppl 7. - № - P. 165-171.
- Functional analysis of *Drosophila melanogaster* BRCA2 in DNA repair / Brough R., Wei D., Leulier S. et al. // *DNA Repair (Amst)*. - 2008. - Vol. 7. - № 1. - P. 10-19.

- Gadd45 proteins: relevance to aging, longevity and age-related pathologies / Moskalev A. A., Smit-McBride Z., Shaposhnikov M. V. et al. // *Ageing research reviews*. - 2012. - Vol. 11. - № 1. - P. 51-66.
- Galt R. E. Beyond the circle of poison: Significant shifts in the global pesticide complex, 1976-2008 // *Global Environ Chang*. - 2008. - Vol. 18. - № 4. - P. 786-799.
- Gearhart J., Pashos E. E., Prasad M. K. Pluripotency redux--advances in stem-cell research // *The New England journal of medicine*. - 2007. - Vol. 357. - № 15. - P. 1469-1472.
- Gene expression profiles in human lymphocytes irradiated in vitro with low doses of gamma rays / Fachin A. L., Mello S. S., Sandrin-Garcia P. et al. // *Radiation research*. - 2007. - Vol. 168. - № 6. - P. 650-665.
- Gene expression, antiparasitic activity, and functional evolution of the drosomycin family / Tian C., Gao B., Rodriguez Mdel C. et al. // *Molecular immunology*. - 2008. - Vol. 45. - № 15. - P. 3909-3916.
- Genome-wide analysis of low-dose irradiated male *Drosophila melanogaster* with extended longevity / Seong K. M., Kim C. S., Seo S. W. et al. // *Biogerontology*. - 2011. - Vol. 12. - № 2. - P. 93-107.
- Genomic instability and enhanced radiosensitivity in Hsp70.1- and Hsp70.3-deficient mice / Hunt C. R., Dix D. J., Sharma G. G. et al. // *Molecular and cellular biology*. - 2004. - Vol. 24. - № 2. - P. 899-911.
- Genotoxicity and apoptosis in *Drosophila melanogaster* exposed to benzene, toluene and xylene: attenuation by quercetin and curcumin / Singh M. P., Mishra M., Sharma A. et al. // *Toxicology and applied pharmacology*. - 2011. - Vol. 253. - № 1. - P. 14-30.
- Genotoxicity biomarkers in occupational exposure to formaldehyde-the case of histopathology laboratories / Ladeira C., Viegas S., Carolino E. et al. // *Mutation research*. - 2011. - Vol. 721. - № 1. - P. 15-20.
- Genotoxicity of formaldehyde in cultured human bronchial fibroblasts / Grafstrom R. C., Curren R. D., Yang L. L. et al. // *Science (New York, N.Y.)*. - 1985. - Vol. 228. - № 4695. - P. 89-91.
- Ghimire S., Kim M. S. Enhanced Locomotor Activity Is Required to Exert Dietary Restriction-Dependent Increase of Stress Resistance in *Drosophila* // *Oxidative medicine and cellular longevity*. - 2015. - Vol. 2015. - № - P. 813801.
- Goldstone H. M., Stegeman J. J. Molecular mechanisms of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin cardiovascular embryotoxicity // *Drug metabolism reviews*. - 2006. - Vol. 38. - № 1-2. - P. 261-289.

- Gonzalez F. J. Role of cytochromes P450 in chemical toxicity and oxidative stress: studies with CYP2E1 // Mutation research. - 2005. - Vol. 569. - № 1-2. - P. 101-110.
- Greenberg S. R. The renal response of formalinization // Urologia internationalis. - 1982. - Vol. 37. - № 1. - P. 45-48.
- Gu Y. Z., Hogenesch J. B., Bradfield C. A. The PAS superfamily: sensors of environmental and developmental signals // Annual review of pharmacology and toxicology. - 2000. - Vol. 40. - № - P. 519-561.
- Guengerich F. P., Shimada T. Oxidation of toxic and carcinogenic chemicals by human cytochrome P-450 enzymes // Chemical research in toxicology. - 1991. - Vol. 4. - № 4. - P. 391-407.
- Hackett J. A., Surani M. A. DNA methylation dynamics during the mammalian life cycle // Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences. - 2013. - Vol. 368. - № 1609. - P. 20110328.
- Hahn M. E. Aryl hydrocarbon receptors: diversity and evolution // Chemico-biological interactions. - 2002. - Vol. 141. - № 1-2. - P. 131-160.
- Hannigan J. H., Bowen S. E. Reproductive toxicology and teratology of abused toluene // Systems biology in reproductive medicine. - 2010. - Vol. 56. - № 2. - P. 184-200.
- Harris J. C., Rumack B. H., Aldrich F. D. Toxicology of urea formaldehyde and polyurethane foam insulation // Jama. - 1981. - Vol. 245. - № 3. - P. 243-243.
- Hartl F. U., Bracher A., Hayer-Hartl M. Molecular chaperones in protein folding and proteostasis // Nature. - 2011. - Vol. 475. - № 7356. - P. 324-332.
- Harvey K. F., Pflieger C. M., Hariharan I. K. The Drosophila Mst ortholog, hippo, restricts growth and cell proliferation and promotes apoptosis // Cell. - 2003. - Vol. 114. - № 4. - P. 457-467.
- He R., Lu J., Miao J. Formaldehyde stress // Science China. Life sciences. - 2010. - Vol. 53. - № 12. - P. 1399-1404.
- Heck H., Casanova M. The implausibility of leukemia induction by formaldehyde: a critical review of the biological evidence on distant-site toxicity // Regulatory toxicology and pharmacology : RTP. - 2004. - Vol. 40. - № 2. - P. 92-106.
- Hepatotoxic activity of toluene inhalation and protective role of melatonin / Tas U., Ogeturk M., Meydan S. et al. // Toxicology and industrial health. - 2011. - Vol. 27. - № 5. - P. 465-473.
- High and low dose responses of transcriptional biomarkers in ex vivo X-irradiated human blood / Manning G., Kabacik S., Finnon P. et al. // International journal of radiation biology. - 2013. - Vol. 89. - № 7. - P. 512-522.

- Hippo encodes a Ste-20 family protein kinase that restricts cell proliferation and promotes apoptosis in conjunction with salvador and warts / Wu S., Huang J., Dong J. et al. // *Cell*. - 2003. - Vol. 114. - № 4. - P. 445-456.
- Hippo promotes proliferation arrest and apoptosis in the Salvador/Warts pathway / Udan R. S., Kango-Singh M., Nolo R. et al. // *Nature cell biology*. - 2003. - Vol. 5. - № 10. - P. 914-920.
- The Hippo signaling pathway coordinately regulates cell proliferation and apoptosis by inactivating Yorkie, the Drosophila Homolog of YAP / Huang J., Wu S., Barrera J. et al. // *Cell*. - 2005. - Vol. 122. - № 3. - P. 421-434.
- Histochemical localization of formaldehyde dehydrogenase in the rat / Keller D. A., Heck H. D., Randall H. W. et al. // *Toxicology and applied pharmacology*. - 1990. - Vol. 106. - № 2. - P. 311-326.
- Honma T., Suda M. Brain microdialysis study of the effects of hazardous chemicals on the central nervous system 2. Toluene exposure and cerebral acetylcholine // *Industrial health*. - 2004. - Vol. 42. - № 3. - P. 336-347.
- Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses / Vandenberg L. N., Colborn T., Hayes T. B. et al. // *Endocrine reviews*. - 2012. - Vol. 33. - № 3. - P. 378-455.
- Identification of formaldehyde-induced modifications in proteins: reactions with model peptides / Metz B., Kersten G. F., Hoogerhout P. et al. // *The Journal of biological chemistry*. - 2004. - Vol. 279. - № 8. - P. 6235-6243.
- Ilnytskyy Y., Kovalchuk O. Non-targeted radiation effects-an epigenetic connection // *Mutation research*. - 2011. - Vol. 714. - № 1-2. - P. 113-125.
- The impact of nuclear accidents on provisioning ecosystem services / Gralla F., Abson D. J., Moller A. P. et al. // *Ecological Indicators*. - 2014. - Vol. 41. - № - P. 1-14.
- In situ effects of pesticides on amphibians in the Sierra Nevada / Sparling D. W., Bickham J., Cowman D. et al. // *Ecotoxicology*. - 2015. - Vol. 24. - № 2. - P. 262-278.
- Increased expression of Drosophila Sir2 extends life span in a dose-dependent manner / Whitaker R., Faulkner S., Miyokawa R. et al. // *Aging*. - 2013. - Vol. 5. - № 9. - P. 682-691.
- Increased risk of allergy in children due to formaldehyde exposure in homes / Garrett M. H., Hooper M. A., Hooper B. M. et al. // *Allergy*. - 1999. - Vol. 54. - № 4. - P. 330-337.
- Induction of apoptosis in human leukemia cells through the production of reactive oxygen species and activation of HMOX1 and Noxa by benzene, toluene, and o-xylene / Sarma S. N., Kim Y. J., Song M. et al. // *Toxicology*. - 2011. - Vol. 280. - № 3. - P. 109-117.

- Induction of apoptosis by *Drosophila* reaper, hid and grim through inhibition of IAP function / Goyal L., McCall K., Agapite J. et al. // *The EMBO journal*. - 2000. - Vol. 19. - № 4. - P. 589-597.
- Induction of endoplasmic reticulum stress and the modulation of thioredoxin-1 in formaldehyde-induced neurotoxicity / Luo F. C., Zhou J., Lv T. et al. // *Neurotoxicology*. - 2012. - Vol. 33. - № 3. - P. 290-298.
- Induction of hsp70, hsp60, hsp83 and hsp26 and oxidative stress markers in benzene, toluene and xylene exposed *Drosophila melanogaster*: role of ROS generation / Singh M. P., Reddy M. M., Mathur N. et al. // *Toxicology and applied pharmacology*. - 2009. - Vol. 235. - № 2. - P. 226-243.
- Induction of squamous cell carcinomas of the rat nasal cavity by inhalation exposure to formaldehyde vapor / Swenberg J. A., Kerns W. D., Mitchell R. I. et al. // *Cancer research*. - 1980. - Vol. 40. - № 9. - P. 3398-3402.
- The inflammation and estrogen metabolism impacts of polychlorinated biphenyls on endometrial cancer cells / Chen Y., Huang Q., Chen Q. et al. // *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA*. - 2015. - Vol. 29. - № 2. - P. 308-313.
- Inflammation markers in nasal lavage, and nasal symptoms in relation to relocation to a newly painted building: a longitudinal study / Wieslander G., Norback D., Walinder R. et al. // *International archives of occupational and environmental health*. - 1999. - Vol. 72. - № 8. - P. 507-515.
- Inhalation of formaldehyde and xylene induces apoptotic cell death in the lung tissue / Sandikci M., Seyrek K., Aksit H. et al. // *Toxicology and industrial health*. - 2009. - Vol. 25. - № 7. - P. 455-461.
- Ionizing radiation biomarkers for potential use in epidemiological studies / Pernot E., Hall J., Baatout S. et al. // *Mutation research*. - 2012. - Vol. 751. - № 2. - P. 258-286.
- Is individual nasal sensitivity related to cellular metabolism of formaldehyde and susceptibility towards formaldehyde-induced genotoxicity? / Zeller J., Ulrich A., Mueller J. U. et al. // *Mutation research*. - 2011. - Vol. 723. - № 1. - P. 11-17.
- Izmaylov D. M., Obukhova L. K., Konradov A. A. Correlations of life-span variation parameters in 128 successive generations of *Drosophila melanogaster* with changes in atmospheric pressure and geomagnetic activity // *International journal of biometeorology*. - 2005. - Vol. 49. - № 5. - P. 337-344.
- Takeyama M., Tohyama C. Developmental neurotoxicity of dioxin and its related compounds // *Industrial health*. - 2003. - Vol. 41. - № 3. - P. 215-230.

- Kampa M., Castanas E. Human health effects of air pollution // *Environmental pollution*. - 2008. - Vol. 151. - № 2. - P. 362-367.
- Kaplan E. L., Meier P. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. // *Journal of the American Statistical Association*. - 1958. - Vol. 53. - № - P. 457-481.
- Kastner P. E., Casset A., Pons F. Formaldehyde interferes with airway epithelium integrity and functions in a dose- and time-dependent manner // *Toxicology letters*. - 2011. - Vol. 200. - № 1-2. - P. 109-116.
- Kazlauskas A., Poellinger L., Pongratz I. Evidence that the co-chaperone p23 regulates ligand responsiveness of the dioxin (Aryl hydrocarbon) receptor // *The Journal of biological chemistry*. - 1999. - Vol. 274. - № 19. - P. 13519-13524.
- Kilburn K. H. Neurobehavioral impairment and seizures from formaldehyde // *Archives of environmental health*. - 1994. - Vol. 49. - № 1. - P. 37-44.
- Klovstad M., Abdu U., Schupbach T. Drosophila brca2 is required for mitotic and meiotic DNA repair and efficient activation of the meiotic recombination checkpoint // *PLoS genetics*. - 2008. - Vol. 4. - № 2. - P. e31.
- Kopf P. G., Walker M. K. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin increases reactive oxygen species production in human endothelial cells via induction of cytochrome P4501A1 // *Toxicology and applied pharmacology*. - 2010. - Vol. 245. - № 1. - P. 91-99.
- Kopf P. G., Walker M. K. Overview of developmental heart defects by dioxins, PCBs, and pesticides // *Journal of environmental science and health. Part C, Environmental carcinogenesis & ecotoxicology reviews*. - 2009. - Vol. 27. - № 4. - P. 276-285.
- Kozhakhyanov T. E., Lukashenko S. N., Larionova N. V. Accumulation of artificial radionuclides in agricultural plants in the area used for surface nuclear tests // *Journal of environmental radioactivity*. - 2014. - Vol. 137. - № - P. 217-226.
- Ku80: product of the XRCC5 gene and its role in DNA repair and V(D)J recombination / Taccioli G. E., Gottlieb T. M., Blunt T. et al. // *Science (New York, N.Y.)*. - 1994. - Vol. 265. - № 5177. - P. 1442-1445.
- Kultz D. Molecular and evolutionary basis of the cellular stress response // *Annual review of physiology*. - 2005. - Vol. 67. - № - P. 225-257.
- Lavelle C., Foray N. Chromatin structure and radiation-induced DNA damage: from structural biology to radiobiology // *The international journal of biochemistry & cell biology*. - 2014. - Vol. 49. - № - P. 84-97.
- Lawler J. M., Rodriguez D. A., Hord J. M. Mitochondria in the middle: Exercise preconditioning protection of striated muscle // *The Journal of physiology*. - 2016. - Vol. - № - P.

- Lemaitre B., Reichhart J. M., Hoffmann J. A. *Drosophila* host defense: differential induction of antimicrobial peptide genes after infection by various classes of microorganisms // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 1997. - Vol. 94. - № 26. - P. 14614-14619.
- Lieber C. S. Cytochrome P-450E1: its physiological and pathological role // *Physiological reviews*. - 1997. - Vol. 77. - № 2. - P. 517-544.
- Liebert M. A. Final report on the safety assessment of formaldehyde // *J. of the American college of toxicology*. - 1984. - Vol. 3. - № 3. - P. 157-184.
- Lifespan and Stress Resistance in *Drosophila* with Overexpressed DNA Repair Genes / Shaposhnikov M., Proshkina E., Shilova L. et al. // *Scientific reports*. - 2015. - Vol. 5. - № - P. 15299.
- Lind L., Lind P. M. Can persistent organic pollutants and plastic-associated chemicals cause cardiovascular disease? // *Journal of internal medicine*. - 2012. - Vol. 271. - № 6. - P. 537-553.
- Long-term cellular effects in humans chronically exposed to ionizing radiation / Veremeyeva G., Akushevich I., Pochukhailova T. et al. // *Health physics*. - 2010. - Vol. 99. - № 3. - P. 337-346.
- Low-dose radiation hypersensitivity is associated with p53-dependent apoptosis / Enns L., Bogen K. T., Wizniak J. et al. // *Molecular cancer research : MCR*. - 2004. - Vol. 2. - № 10. - P. 557-566.
- Low-dose radiation induces antitumor effects and erythrocyte system hormesis / Yu H. S., Liu Z. M., Yu X. Y. et al. // *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*. - 2013. - Vol. 14. - № 7. - P. 4121-4126.
- Low dose irradiation of thyroid cells reveals a unique transcriptomic and epigenetic signature in RET/PTC-positive cells / Abou-El-Ardat K., Monsieurs P., Anastasov N. et al. // *Mutation research*. - 2012. - Vol. 731. - № 1-2. - P. 27-40.
- Low dose radiation response curves, networks and pathways in human lymphoblastoid cells exposed from 1 to 10cGy of acute gamma radiation / Wyrobek A. J., Manohar C. F., Krishnan V. V. et al. // *Mutation research*. - 2011. - Vol. 722. - № 2. - P. 119-130.
- Low L. K., Meeks J. R., Mackerer C. R. Health effects of the alkylbenzenes. I. Toluene // *Toxicology and industrial health*. - 1988. - Vol. 4. - № 1. - P. 49-75.
- Luckey T. D. *Hormesis with ionizing radiation*. : CRC press Boca Raton, FL, 1980.
- Lundberg I., Milatou-Smith R. Mortality and cancer incidence among Swedish paint industry workers with long-term exposure to organic solvents // *Scandinavian journal of work, environment & health*. - 1998. - Vol. 24. - № 4. - P. 270-275.

- Mangerich A., Burkle A. Pleiotropic cellular functions of PARP1 in longevity and aging: genome maintenance meets inflammation // *Oxidative medicine and cellular longevity*. - 2012. - Vol. 2012. - № - P. 321653.
- Mantel N. Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration // *Cancer Chemother Rep*. - 1966. - Vol. 50. - № 3. - P. 163-170.
- Matsumura F. The significance of the nongenomic pathway in mediating inflammatory signaling of the dioxin-activated Ah receptor to cause toxic effects // *Biochemical pharmacology*. - 2009. - Vol. 77. - № 4. - P. 608-626.
- Mattia C. J., Adams J. D., Jr., Bondy S. C. Free radical induction in the brain and liver by products of toluene catabolism // *Biochemical pharmacology*. - 1993. - Vol. 46. - № 1. - P. 103-110.
- McGeoghegan D., Binks K. The mortality and cancer morbidity experience of workers at the Springfields uranium production facility, 1946-95 // *Journal of radiological protection : official journal of the Society for Radiological Protection*. - 2000. - Vol. 20. - № 2. - P. 111-137.
- McIntosh B. E., Hogenesch J. B., Bradfield C. A. Mammalian Per-Arnt-Sim proteins in environmental adaptation // *Annual review of physiology*. - 2010. - Vol. 72. - № - P. 625-645.
- Measurements of the cytosolic Ah receptor among four strains of *Drosophila melanogaster* / Bigelow S. W., Zijlstra J. A., Vogel E. W. et al. // *Archives of toxicology*. - 1985. - Vol. 56. - № 4. - P. 219-225.
- Melatonin prevents formaldehyde-induced neurotoxicity in prefrontal cortex of rats: an immunohistochemical and biochemical study / Zararsiz I., Kus I., Ogeturk M. et al. // *Cell biochemistry and function*. - 2007. - Vol. 25. - № 4. - P. 413-418.
- Metchnikowin, a novel immune-inducible proline-rich peptide from *Drosophila* with antibacterial and antifungal properties / Levashina E. A., Ohresser S., Bulet P. et al. // *European journal of biochemistry / FEBS*. - 1995. - Vol. 233. - № 2. - P. 694-700.
- Methyltransferases mediate cell memory of a genotoxic insult / Rugo R. E., Mutamba J. T., Mohan K. N. et al. // *Oncogene*. - 2011. - Vol. 30. - № 6. - P. 751-756.
- Micro RNA responses to chronic or acute exposures to low dose ionizing radiation / Chaudhry M. A., Omaruddin R. A., Kreger B. et al. // *Molecular biology reports*. - 2012. - Vol. 39. - № 7. - P. 7549-7558.
- Micronuclei in bone marrow and liver in relation to hepatic metabolism and antioxidant response due to coexposure to chloroform, dichloromethane, and toluene in the rat model / Belmont-Diaz J., Lopez-Gordillo A. P., Molina Garduno E. et al. // *BioMed research international*. - 2014. - Vol. 2014. - № - P. 425070.

- Mikhed Y., Daiber A., Steven S. Mitochondrial Oxidative Stress, Mitochondrial DNA Damage and Their Role in Age-Related Vascular Dysfunction // *International journal of molecular sciences*. - 2015. - Vol. 16. - № 7. - P. 15918-15953.
- Mining gene expression data for pollutants (dioxin, toluene, formaldehyde) and low dose of gamma-irradiation / Moskalev A., Shaposhnikov M., Snezhkina A. et al. // *PloS one*. - 2014. - Vol. 9. - № 1. - P. e86051.
- Mitochondrial oxidative stress in aging and healthspan / Dai D. F., Chiao Y. A., Marcinek D. J. et al. // *Longevity & healthspan*. - 2014. - Vol. 3. - № - P. 6.
- Mitochondrial ROS Produced via Reverse Electron Transport Extend Animal Lifespan / Scialo F., Sriram A., Fernandez-Ayala D. et al. // *Cell metabolism*. - 2016. - Vol. 23. - № 4. - P. 725-734.
- Modified Kolmogorov-Smirnov test procedures with application to arbitrarily right-censored data / Fleming T. R., O'Fallon J. R., O'Brien P. C. et al. // *Biometrics*. - 1980. - Vol. 36. - № 4. - P. 607-625.
- Moller A. P., Mousseau T. A. The effects of natural variation in background radioactivity on humans, animals and other organisms // *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*. - 2013. - Vol. 88. - № 1. - P. 226-254.
- Morgan W. F., Bair W. J. Issues in low dose radiation biology: the controversy continues. A perspective // *Radiation research*. - 2013. - Vol. 179. - № 5. - P. 501-510.
- Mortality and morbidity in a population exposed to multiple sources of air pollution: A retrospective cohort study using air dispersion models / Ancona C., Badaloni C., Mataloni F. et al. // *Environmental research*. - 2015. - Vol. 137. - № - P. 467-474.
- Moskalev A., Shaposhnikov M., Turysheva E. Life span alteration after irradiation in *Drosophila melanogaster* strains with mutations of Hsf and Hsps // *Biogerontology*. - 2009. - Vol. 10. - № 1. - P. 3-11.
- Moskalev A. A., Plyusnina E. N., Shaposhnikov M. V. Radiation hormesis and radioadaptive response in *Drosophila melanogaster* flies with different genetic backgrounds: the role of cellular stress-resistance mechanisms // *Biogerontology*. - 2011. - Vol. 12. - № 3. - P. 253-263.
- Moskalev A. A., Plyusnina E. N., Zainullin V. G. The influence of low dose gamma-irradiation on life span of *Drosophila* mutants with defects of DNA damage sensation and repair // *Radiatsionnaya biologiya, radioecologiya / Rossiiskaya akademiya nauk*. - 2007. - Vol. 47. - № 5. - P. 571-573.
- Moskalev A. Radiation-induced life span alteration of *Drosophila* lines with genotype differences // *Biogerontology*. - 2007. - Vol. 8. - № 5. - P. 499-504.

- Murata M., Tsujikawa M., Kawanishi S. Oxidative DNA damage by minor metabolites of toluene may lead to carcinogenesis and reproductive dysfunction // *Biochemical and biophysical research communications*. - 1999. - Vol. 261. - № 2. - P. 478-483.
- Mushak P., Elliott K. C. Structured Development and Promotion of a Research Field: Hormesis in Biology, Toxicology, and Environmental Regulatory Science // *Kennedy Institute of Ethics journal*. - 2015. - Vol. 25. - № 4. - P. 335-367.
- N-Myc regulates a widespread euchromatic program in the human genome partially independent of its role as a classical transcription factor / Cotterman R., Jin V. X., Krig S. R. et al. // *Cancer research*. - 2008. - Vol. 68. - № 23. - P. 9654-9662.
- Inactivation of both Foxo and reaper promotes long-term adult neurogenesis in *Drosophila* / Siegrist S. E., Haque N. S., Chen C. H. et al. // *Current biology : CB*. - 2010. - Vol. 20. - № 7. - P. 643-648.
- Nakajima T., Wang R. S. Induction of cytochrome P450 by toluene // *The International journal of biochemistry*. - 1994. - Vol. 26. - № 12. - P. 1333-1340.
- Neural precursor cell proliferation is disrupted through activation of the aryl hydrocarbon receptor by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin / Latchney S. E., Lioy D. T., Henry E. C. et al. // *Stem cells and development*. - 2011. - Vol. 20. - № 2. - P. 313-326.
- Non-genomic action of TCDD to induce inflammatory responses in HepG2 human hepatoma cells and in liver of C57BL/6J mice / Li W., Vogel C. F., Wu D. et al. // *Biological chemistry*. - 2010. - Vol. 391. - № 10. - P. 1205-1219.
- Non-targeted effects of ionising radiation--implications for low dose risk / Kadhim M., Salomaa S., Wright E. et al. // *Mutation research*. - 2013. - Vol. 752. - № 2. - P. 84-98.
- Nugent M., Huang S. M., Sander M. Characterization of the apurinic endonuclease activity of *Drosophila* Rrp1 // *Biochemistry*. - 1993. - Vol. 32. - № 42. - P. 11445-11452.
- OASIS: online application for the survival analysis of lifespan assays performed in aging research / Yang J. S., Nam H. J., Seo M. et al. // *PloS one*. - 2011. - Vol. 6. - № 8. - P. e23525.
- Occupational asthma due to formaldehyde resin dust with and without reaction to formaldehyde gas / Lemiere C., Desjardins A., Cloutier Y. et al. // *The European respiratory journal*. - 1995. - Vol. 8. - № 5. - P. 861-865.
- Ogaki M., Nakashima-Tanaka E. Inheritance of radioresistance in *Drosophila*. I // *Mutation research*. - 1966. - Vol. 3. - № 5. - P. 438-443.
- Organochlorine concentrations in bonnethead sharks (*Sphyrna tiburo*) from Four Florida Estuaries / Gelsleichter J., Manire C. A., Szabo N. J. et al. // *Archives of environmental contamination and toxicology*. - 2005. - Vol. 48. - № 4. - P. 474-483.

- Organochlorine concentrations in the Saimaa ringed seal (*Phoca hispida saimensis*) from Lake Haukivesi, Finland, 1981 to 2000, and in its diet today / Kostamo A., Hyvarinen H., Pellinen J. et al. // *Environmental toxicology and chemistry / SETAC*. - 2002. - Vol. 21. - № 7. - P. 1368-1376.
- Organochlorine contaminants in Morelet's crocodile (*Crocodylus moreletii*) eggs from Belize / Wu T. H., Rainwater T. R., Platt S. G. et al. // *Chemosphere*. - 2000. - Vol. 40. - № 6. - P. 671-678.
- Organochlorine pesticides, PCBs, trace elements and metals in western pond turtle eggs from Oregon / Henny C. J., Beal K. F., Bury R. B. et al. // *Northwest Sci*. - 2003. - Vol. 77. - № 1. - P. 46-53.
- Organochlorines affect the major androgenic hormone, testosterone, in male polar bears (*Ursus maritimus*) at Svalbard / Oskam I. C., Ropstad E., Dahl E. et al. // *J Toxicol Env Heal A*. - 2003. - Vol. 66. - № 22. - P. 2119-2139.
- Orr W. C., Sohal R. S. Does overexpression of Cu,Zn-SOD extend life span in *Drosophila melanogaster*? // *Experimental gerontology*. - 2003. - Vol. 38. - № 3. - P. 227-230.
- Orth D. S. Establishing Cosmetic Preservative Efficacy by Use of D-Values // *J Soc Cosmet Chem*. - 1980. - Vol. 31. - № 4. - P. 165-172.
- Orton F., Tyler C. R. Do hormone-modulating chemicals impact on reproduction and development of wild amphibians? // *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*. - 2015. - Vol. 90. - № 4. - P. 1100-1117.
- Overexpression of Sir2 in the adult fat body is sufficient to extend lifespan of male and female *Drosophila* / Hoffmann J., Romey R., Fink C. et al. // *Aging*. - 2013. - Vol. 5. - № 4. - P. 315-327.
- The oxidative and morphological effects of high concentration chronic toluene exposure on rat sciatic nerves / Coskun O., Oter S., Korkmaz A. et al. // *Neurochemical research*. - 2005. - Vol. 30. - № 1. - P. 33-38.
- Phadnis-Moghe A. S., Crawford R. B., Kaminski N. E. Suppression of human B cell activation by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin involves altered regulation of B cell lymphoma-6 // *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*. - 2015. - Vol. 144. - № 1. - P. 39-50.
- Biological effects of natural ionizing radiation on living cells / H. P., J.P. S., R. T. // *Intern, congr. of Radiation Research: Book of abstracts. Cortina d'Amprezzo*. - 1966. - Vol. 708. - № - P.
- Pletcher S. D. Model fitting and hypothesis testing for age-specific mortality data // *J Evolution Biol*. - 1999. - Vol. 12. - № 3. - P. 430-439.

- Plyusnina E. N., Shaposhnikov M. V., Moskalev A. A. Increase of *Drosophila melanogaster* lifespan due to D-GADD45 overexpression in the nervous system // *Biogerontology*. - 2011. - Vol. 12. - № 3. - P. 211-226.
- Pollycove M., Feinendegen L. E. Radiation-induced versus endogenous DNA damage: possible effect of inducible protective responses in mitigating endogenous damage // *Human & experimental toxicology*. - 2003. - Vol. 22. - № 6. - P. 290-306; discussion 307, 315-297, 319-223.
- Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans and their association with cancer mortality among workers in one automobile foundry factory / Wang L., Weng S., Wen S. et al. // *The Science of the total environment*. - 2013. - Vol. 443. - № - P. 104-111.
- Pongsavee M. In vitro study of lymphocyte antiproliferation and cytogenetic effect by occupational formaldehyde exposure // *Toxicology and industrial health*. - 2011. - Vol. 27. - № 8. - P. 719-723.
- The proapoptotic function of *Drosophila* Hid is conserved in mammalian cells / Haining W. N., Carboy-Newcomb C., Wei C. L. et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 1999. - Vol. 96. - № 9. - P. 4936-4941.
- Overexpression of thioredoxin in transgenic mice attenuates focal ischemic brain damage / Takagi Y., Mitsui A., Nishiyama A. et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 1999. - Vol. 96. - № 7. - P. 4131-4136.
- Protective effects of omega-3 essential fatty acids against formaldehyde-induced neuronal damage in prefrontal cortex of rats / Zararsiz I., Kus I., Akpolat N. et al. // *Cell biochemistry and function*. - 2006. - Vol. 24. - № 3. - P. 237-244.
- Protein carbonyls and traditional biomarkers in pigs exposed to low-dose gamma-radiation / Smutna M., Benova K., Dvorak P. et al. // *Research in veterinary science*. - 2013. - Vol. 94. - № 2. - P. 214-218.
- Pyke D. A., Thompson J. N. Statistical-Analysis of Survival and Removal Rate Experiments // *Ecology*. - 1986. - Vol. 67. - № 1. - P. 240-245.
- Quantitative evidence for global amphibian population declines / Houlihan J. E., Findlay C. S., Schmidt B. R. et al. // *Nature*. - 2000. - Vol. 404. - № 6779. - P. 752-755.
- Radiation dose associated with common computed tomography examinations and the associated lifetime attributable risk of cancer / Smith-Bindman R., Lipson J., Marcus R. et al. // *Archives of internal medicine*. - 2009. - Vol. 169. - № 22. - P. 2078-2086.
- Radiation effects on human heredity / Nakamura N., Suyama A., Noda A. et al. // *Annual review of genetics*. - 2013. - Vol. 47. - № - P. 33-50.

- Rauschenbach I. Y., Karpova E. K., Gruntenko N. E. dFOXO Transcription Factor Regulates Juvenile Hormone Metabolism in *Drosophila melanogaster* Females // *Genetika*. - 2015. - Vol. 51. - № 9. - P. 1083-1086.
- Ravanat J. L., Douki T., Cadet J. Direct and indirect effects of UV radiation on DNA and its components // *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology*. - 2001. - Vol. 63. - № 1-3. - P. 88-102.
- Reactions of formaldehyde plus acetaldehyde with deoxyguanosine and DNA: formation of cyclic deoxyguanosine adducts and formaldehyde cross-links / Cheng G., Shi Y., Sturla S. J. et al. // *Chemical research in toxicology*. - 2003. - Vol. 16. - № 2. - P. 145-152.
- Reardon B. J., Lombardo C. R., Sander M. *Drosophila* Rrp1 domain structure as defined by limited proteolysis and biophysical analyses // *The Journal of biological chemistry*. - 1998. - Vol. 273. - № 51. - P. 33991-33999.
- Regulation of heme oxygenase-1 gene transcription: recent advances and highlights from the International Conference (Uppsala, 2003) on Heme Oxygenase / Alam J., Igarashi K., Immenschuh S. et al. // *Antioxidants & redox signaling*. - 2004. - Vol. 6. - № 5. - P. 924-933.
- Relationships of polychlorinated biphenyls and dichlorodiphenyldichloroethylene (p,p'-DDE) with testosterone levels in adolescent males / Schell L. M., Gallo M. V., Deane G. D. et al. // *Environmental health perspectives*. - 2014. - Vol. 122. - № 3. - P. 304-309.
- Relyea R. A. The lethal impact of roundup on aquatic and terrestrial amphibians // *Ecol Appl*. - 2005. - Vol. 15. - № 4. - P. 1118-1124.
- Repeated exposure to the herbicide atrazine alters locomotor activity and the nigrostriatal dopaminergic system of the albino rat / Rodriguez V. M., Limon-Pacheco J. H., Mendoza-Trejo M. S. et al. // *Neurotoxicology*. - 2013. - Vol. 34. - № - P. 82-94.
- Reproductive and developmental toxicity of formaldehyde: a systematic review / Duong A., Steinmaus C., McHale C. M. et al. // *Mutation research*. - 2011. - Vol. 728. - № 3. - P. 118-138.
- Reproductive and developmental toxicity studies of toluene. II. Effects of inhalation exposure on fertility in rats / Ono A., Sekita K., Ogawa Y. et al. // *Journal of environmental pathology, toxicology and oncology : official organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer*. - 1996. - Vol. 15. - № 1. - P. 9-20.
- Results of a 28-month chronic inhalation toxicity study of formaldehyde in male Fisher-344 rats / Kamata E., Nakadate M., Uchida O. et al. // *The Journal of toxicological sciences*. - 1997. - Vol. 22. - № 3. - P. 239-254.

- A review of criticality accidents 2000 revision / McLaughlin T. P., Monahan S. P., Pruvost N. L. et al. // - 2000. - Vol. - № - P.
- Risk for non Hodgkin's lymphoma in the vicinity of French municipal solid waste incinerators / Viel J. F., Daniau C., Gorla S. et al. // Environmental health : a global access science source. - 2008. - Vol. 7. - № - P. 51.
- Risks of large-scale use of systemic insecticides to ecosystem functioning and services / Chagnon M., Kreutzweiser D., Mitchell E. A. et al. // Environmental science and pollution research international. - 2015. - Vol. 22. - № 1. - P. 119-134.
- Ristow M., Schmeisser S. Extending life span by increasing oxidative stress // Free radical biology & medicine. - 2011. - Vol. 51. - № 2. - P. 327-336.
- Role of DNA repair genes in radiation-induced changes of lifespan of *Drosophila melanogaster* / Shilova L. A., Plusnina E. N., Zemskaia N. V. et al. // Radiatsionnaia biologiiia, radioecologiiia / Rossiiskaia akademiia nauk. - 2014. - Vol. 54. - № 5. - P. 482-492.
- Role of mitogen-activated protein kinase cascades in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced apoptosis in neuronal pheochromocytoma cells / Xu G., Duan Z., Chen G. et al. // Human & experimental toxicology. - 2013. - Vol. 32. - № 12. - P. 1278-1291.
- The Role of Storage Lipids in the Relation between Fecundity, Locomotor Activity, and Lifespan of *Drosophila melanogaster* Longevity-Selected and Control Lines / Nasiri Moghadam N., Holmstrup M., Manenti T. et al. // PloS one. - 2015. - Vol. 10. - № 6. - P. e0130334.
- ROS-Induced JNK and p38 Signaling Is Required for Unpaired Cytokine Activation during *Drosophila* Regeneration / Santabarbara-Ruiz P., Lopez-Santillan M., Martinez-Rodriguez I. et al. // PLoS genetics. - 2015. - Vol. 11. - № 10. - P. e1005595.
- S-phase sensing of DNA-protein crosslinks triggers TopBP1-independent ATR activation and p53-mediated cell death by formaldehyde / Wong V. C., Cash H. L., Morse J. L. et al. // Cell cycle (Georgetown, Tex.). - 2012. - Vol. 11. - № 13. - P. 2526-2537.
- Salvador J. M., Brown-Clay J. D., Fornace A. J., Jr. Gadd45 in stress signaling, cell cycle control, and apoptosis // Advances in experimental medicine and biology. - 2013. - Vol. 793. - № - P. 1-19.
- Sanchez-Martin F. J., Fernandez-Salguero P. M., Merino J. M. Aryl hydrocarbon receptor-dependent induction of apoptosis by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in cerebellar granule cells from mouse // Journal of neurochemistry. - 2011. - Vol. 118. - № 1. - P. 153-162.
- Sander M., Lowenhaupt K., Rich A. *Drosophila* Rrp1 protein: an apurinic endonuclease with homologous recombination activities // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. - 1991. - Vol. 88. - № 15. - P. 6780-6784.

- Sander M., Huang S. M. Characterization of the nuclease activity of *Drosophila* Rrp1 on phosphoglycolate- and phosphate-modified DNA 3'-termini // *Biochemistry*. - 1995. - Vol. 34. - № 4. - P. 1267-1274.
- Sandu C., Ryoo H. D., Steller H. *Drosophila* IAP antagonists form multimeric complexes to promote cell death // *The Journal of cell biology*. - 2010. - Vol. 190. - № 6. - P. 1039-1052.
- Sang J. H. The ecological determinants of population growth in a *Drosophila* culture; larval and pupal survival // *Physiological zoology*. - 1949. - Vol. 22. - № 3. - P. 183-202.
- Sarcoma risk and dioxin emissions from incinerators and industrial plants: a population-based case-control study (Italy) / Zambon P., Ricci P., Bovo E. et al. // *Environmental health : a global access science source*. - 2007. - Vol. 6. - № - P. 19.
- Sarup P., Sorensen P., Loeschcke V. The long-term effects of a life-prolonging heat treatment on the *Drosophila melanogaster* transcriptome suggest that heat shock proteins extend lifespan // *Experimental gerontology*. - 2014. - Vol. 50. - № - P. 34-39.
- Schmid O., Speit G. Genotoxic effects induced by formaldehyde in human blood and implications for the interpretation of biomonitoring studies // *Mutagenesis*. - 2007. - Vol. 22. - № 1. - P. 69-74.
- Sekelsky J. J., Burtis K. C., Hawley R. S. Damage control: the pleiotropy of DNA repair genes in *Drosophila melanogaster* // *Genetics*. - 1998. - Vol. 148. - № 4. - P. 1587-1598.
- Sekelsky J. J., Brodsky M. H., Burtis K. C. DNA repair in *Drosophila*: insights from the *Drosophila* genome sequence // *The Journal of cell biology*. - 2000. - Vol. 150. - № 2. - P. F31-36.
- Selection of housekeeping genes for gene expression studies in human reticulocytes using real-time PCR / Silver N., Best S., Jiang J. et al. // *BMC molecular biology*. - 2006. - Vol. 7. - № - P. 33.
- Selye H. The evolution of the stress concept // *Am Sci*. - 1973. - Vol. 61. - № 6. - P. 692-699.
- The Seveso studies on early and long-term effects of dioxin exposure: a review / Bertazzi P. A., Bernucci I., Brambilla G. et al. // *Environmental health perspectives*. - 1998. - Vol. 106 Suppl 2. - № - P. 625-633.
- Sex-specific enhanced behavioral toxicity induced by maternal exposure to a mixture of low dose endocrine-disrupting chemicals / Sobolewski M., Conrad K., Allen J. L. et al. // *Neurotoxicology*. - 2014. - Vol. 45. - № - P. 121-130.
- Shahbazi-Gahrouei D., Gholami M., Setayandeh S. A review on natural background radiation // *Advanced biomedical research*. - 2013. - Vol. 2. - № - P. 65.
- Shaposhnikov M. V., Moskalev A. A. FOXO transcription factor role in radiation adaptive response and hormesis in *Drosophila melanogaster* // *Radiatsionnaia biologiiia, radioecologiiia / Rossiiskaia akademiia nauk*. - 2010. - Vol. 50. - № 3. - P. 312-317.

- Shen J., Tower J. *Drosophila foxo* acts in males to cause sexual-dimorphism in tissue-specific p53 life span effects // *Experimental gerontology*. - 2010. - Vol. 45. - № 2. - P. 97-105.
- Slowing down aging from within: mechanistic aspects of anti-aging hormetic effects of mild heat stress on human cells / Rattan S. I., Gonzalez-Dosal R., Nielsen E. R. et al. // *Acta biochimica Polonica*. - 2004. - Vol. 51. - № 2. - P. 481-492.
- Snyder R. D., Van Houten B. Genotoxicity of formaldehyde and an evaluation of its effects on the DNA repair process in human diploid fibroblasts // *Mutation research*. - 1986. - Vol. 165. - № 1. - P. 21-30.
- Solomons K., Cochrane J. W. Formaldehyde toxicity. Part II. Review of acute and chronic effects on health // *South African medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde*. - 1984. - Vol. 66. - № 3. - P. 103-106.
- Songur A., Ozen O. A., Sarsilmaz M. The toxic effects of formaldehyde on the nervous system // *Reviews of environmental contamination and toxicology*. - 2010. - Vol. 203. - № - P. 105-118.
- Sorg B. A., Hochstatter T. Behavioral sensitization after repeated formaldehyde exposure in rats // *Toxicology and industrial health*. - 1999. - Vol. 15. - № 3-4. - P. 346-355.
- Soti C., Csermely P. Protein stress and stress proteins: implications in aging and disease // *Journal of biosciences*. - 2007. - Vol. 32. - № 3. - P. 511-515.
- Specific protein homeostatic functions of small heat-shock proteins increase lifespan / Vos M. J., Carra S., Kanon B. et al. // *Aging cell*. - 2016. - Vol. 15. - № 2. - P. 217-226.
- Speit G., Schmid O. Local genotoxic effects of formaldehyde in humans measured by the micronucleus test with exfoliated epithelial cells // *Mutation research*. - 2006. - Vol. 613. - № 1. - P. 1-9.
- Spellberg M. J., Marr M. T., 2nd. FOXO regulates RNA interference in *Drosophila* and protects from RNA virus infection // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 2015. - Vol. 112. - № 47. - P. 14587-14592.
- The spineless-aristapedia and tango bHLH-PAS proteins interact to control antennal and tarsal development in *Drosophila* / Emmons R. B., Duncan D., Estes P. A. et al. // *Development (Cambridge, England)*. - 1999. - Vol. 126. - № 17. - P. 3937-3945.
- Statistical methods for testing effects on "maximum lifespan" / Wang C., Li Q., Redden D. T. et al. // *Mechanisms of ageing and development*. - 2004. - Vol. 125. - № 9. - P. 629-632.
- Storelli M. M., Storelli A., Marcotrigiano G. O. Concentrations and hazard assessment of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in shark liver from the Mediterranean Sea // *Mar Pollut Bull*. - 2005. - Vol. 50. - № 8. - P. 850-855.

- Stress and radiation-induced activation of multiple intracellular signaling pathways / Dent P., Yacoub A., Contessa J. et al. // Radiation research. - 2003. - Vol. 159. - № 3. - P. 283-300.
- Stroup N. E., Blair A., Erikson G. E. Brain cancer and other causes of death in anatomists // Journal of the National Cancer Institute. - 1986. - Vol. 77. - № 6. - P. 1217-1224.
- Structural characterization of formaldehyde-induced cross-links between amino acids and deoxynucleosides and their oligomers / Lu K., Ye W., Zhou L. et al. // Journal of the American Chemical Society. - 2010. - Vol. 132. - № 10. - P. 3388-3399.
- Stumm-Tegethoff B. F. Formaldehyde-induced mutations in *Drosophila melanogaster* in dependence of the presence of acids // Theor Appl Genet. - 1969. - Vol. 39. - № 7. - P. 330-334.
- Subacute (4-week) inhalation toxicity study of formaldehyde in male rats: 8-hour intermittent versus 8-hour continuous exposures / Wilmer J. W., Woutersen R. A., Appelman L. M. et al. // Journal of applied toxicology : JAT. - 1987. - Vol. 7. - № 1. - P. 15-16.
- Subchronic (13-week) inhalation toxicity study of formaldehyde in male rats: 8-hour intermittent versus 8-hour continuous exposures / Wilmer J. W., Woutersen R. A., Appelman L. M. et al. // Toxicology letters. - 1989. - Vol. 47. - № 3. - P. 287-293.
- Survey on radioactive contamination in Beijing following the Japanese Fukushima nuclear accident / Lou Y., Wan L., Ma Y. et al. // Journal of radiological protection : official journal of the Society for Radiological Protection. - 2013. - Vol. 33. - № 3. - P. 661-668.
- Szyf M. The implications of DNA methylation for toxicology: toward toxicomethylomics, the toxicology of DNA methylation // Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology. - 2011. - Vol. 120. - № 2. - P. 235-255.
- Takahashi K., Morita T., Kawazoe Y. Mutagenic characteristics of formaldehyde on bacterial systems // Mutation research. - 1985. - Vol. 156. - № 3. - P. 153-161.
- Tang F. R., Loke W. K. Molecular mechanisms of low dose ionizing radiation-induced hormesis, adaptive responses, radioresistance, bystander effects, and genomic instability // International journal of radiation biology. - 2015. - Vol. 91. - № 1. - P. 13-27.
- Tang A. H., Tu C. P. Biochemical characterization of *Drosophila* glutathione S-transferases D1 and D21 // The Journal of biological chemistry. - 1994. - Vol. 269. - № 45. - P. 27876-27884.
- TCDD and cancer: a critical review of epidemiologic studies / Boffetta P., Mundt K. A., Adami H. O. et al. // Critical reviews in toxicology. - 2011. - Vol. 41. - № 7. - P. 622-636.
- Teratology - past, present and future / Ujhazy E., Mach M., Navarova J. et al. // Interdisciplinary toxicology. - 2012. - Vol. 5. - № 4. - P. 163-168.

- Thioredoxin as a neurotrophic cofactor and an important regulator of neuroprotection / Masutani H., Bai J., Kim Y. C. et al. // *Molecular neurobiology*. - 2004. - Vol. 29. - № 3. - P. 229-242.
- Thrasher J. D., Broughton A., Madison R. Immune activation and autoantibodies in humans with long-term inhalation exposure to formaldehyde // *Archives of environmental health*. - 1990. - Vol. 45. - № 4. - P. 217-223.
- Tilg H. The role of cytokines in the pathophysiology of chronic liver diseases // *International journal of clinical & laboratory research*. - 1993. - Vol. 23. - № 4. - P. 179-185.
- Tollefsbol T. O. *Biological aging: methods and protocols*,. Second edition., 2013. — 354 p.
- Toluene induces rapid and reversible rise of hippocampal glutamate and taurine neurotransmitter levels in mice / Win-Shwe T. T., Mitsushima D., Nakajima D. et al. // *Toxicology letters*. - 2007. - Vol. 168. - № 1. - P. 75-82.
- Toluene misuse and long-term harms: a systematic review of the neuropsychological and neuroimaging literature / Yucel M., Takagi M., Walterfang M. et al. // *Neuroscience and biobehavioral reviews*. - 2008. - Vol. 32. - № 5. - P. 910-926.
- Toth J., Biggin M. D. The specificity of protein-DNA crosslinking by formaldehyde: in vitro and in drosophila embryos // *Nucleic acids research*. - 2000. - Vol. 28. - № 2. - P. e4.
- Toung Y. P., Hsieh T. S., Tu C. P. The glutathione S-transferase D genes. A divergently organized, intronless gene family in *Drosophila melanogaster* // *The Journal of biological chemistry*. - 1993. - Vol. 268. - № 13. - P. 9737-9746.
- Toxic hepatitis in occupational exposure to solvents / Malaguarnera G., Cataudella E., Giordano M. et al. // *World journal of gastroenterology*. - 2012. - Vol. 18. - № 22. - P. 2756-2766.
- Toxicological profile for toluene. US Department of Health and Human Services / Dorsey A., McClure P., McDonald A. et al. // *Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA*. - 2000. - Vol. - № - P.
- Transcription profile of DNA damage response genes at G(0) lymphocytes exposed to gamma radiation / Saini D., Shelke S., Mani Vannan A. et al. // *Mol Cell Biochem*. - 2012. - Vol. 364. - № 1-2. - P. 271-281.
- Transcriptional response of BALB/c mouse thyroids following in vivo astatine-211 exposure reveals distinct gene expression profiles / Rudqvist N., Parris T. Z., Schuler E. et al. // *EJNMMI Res*. - 2012. - Vol. 2. - № 1. - P. 32.
- Transcriptomic underpinning of toxicant-mediated physiological function alterations in three terrestrial invertebrate taxa: a review / Brulle F., Morgan A. J., Cocquerelle C. et al. // *Environmental pollution*. - 2010. - Vol. 158. - № 9. - P. 2793-2808.

- Validation of *Drosophila melanogaster* as an in vivo model for genotoxicity assessment using modified alkaline Comet assay / Siddique H. R., Chowdhuri D. K., Saxena D. K. et al. // *Mutagenesis*. - 2005. - Vol. 20. - № 4. - P. 285-290.
- Validation of housekeeping genes for normalizing RNA expression in real-time PCR / Dheda K., Huggett J. F., Bustin S. A. et al. // *BioTechniques*. - 2004. - Vol. 37. - № 1. - P. 112-114, 116, 118-119.
- Velando A. Population trends and reproductive success of the European shag *Phalacrocorax aristotelis* on the Iberian Peninsula following the Prestige oil spill. // *J Ornithol.* - 2005. - Vol. 146. - № - P. 116-120.
- Vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in frontal cortex and hippocampus: biochemical and histological studies / Gurel A., Coskun O., Armutcu F. et al. // *Journal of chemical neuroanatomy*. - 2005. - Vol. 29. - № 3. - P. 173-178.
- Voluntary locomotor activity mitigates oxidative damage associated with isolation stress in the prairie vole (*Microtus ochrogaster*) / Fletcher K. L., Whitley B. N., Treidel L. A. et al. // *Biology letters*. - 2015. - Vol. 11. - № 7. - P.
- Wagner C., Isermann K., Roeder T. Infection induces a survival program and local remodeling in the airway epithelium of the fly // *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. - 2009. - Vol. 23. - № 7. - P. 2045-2054.
- Weaver A. N., Yang E. S. Beyond DNA Repair: Additional Functions of PARP-1 in Cancer // *Frontiers in oncology*. - 2013. - Vol. 3. - № - P. 290.
- White S. S., Birnbaum L. S. An overview of the effects of dioxins and dioxin-like compounds on vertebrates, as documented in human and ecological epidemiology // *Journal of environmental science and health. Part C, Environmental carcinogenesis & ecotoxicology reviews*. - 2009. - Vol. 27. - № 4. - P. 197-211.
- Whitlock J. P., Jr. The aromatic hydrocarbon receptor, dioxin action, and endocrine homeostasis // *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. - 1994. - Vol. 5. - № 5. - P. 183-188.
- Wilkins-Haug L. Teratogen update: toluene // *Teratology*. - 1997. - Vol. 55. - № 2. - P. 145-151.
- Willingham E. Embryonic exposure to low-dose pesticides: effects on growth rate in the hatchling red-eared slider turtle // *Journal of toxicology and environmental health. Part A*. - 2001. - Vol. 64. - № 3. - P. 257-272.
- Wong E. W., Cheng C. Y. Impacts of environmental toxicants on male reproductive dysfunction // *Trends in pharmacological sciences*. - 2011. - Vol. 32. - № 5. - P. 290-299.

- Wood L., Welch A. M. Assessment of interactive effects of elevated salinity and three pesticides on life history and behavior of southern toad (*Anaxyrus terrestris*) tadpoles // *Environmental toxicology and chemistry / SETAC*. - 2015. - Vol. 34. - № 3. - P. 667-676.
- Xenobiotics and loss of cell adhesion drive distinct transcriptional outcomes by aryl hydrocarbon receptor signaling / Hao N., Lee K. L., Furness S. G. et al. // *Mol Pharmacol*. - 2012. - Vol. 82. - № 6. - P. 1082-1093.
- Yang J., Tower J. Expression of hsp22 and hsp70 transgenes is partially predictive of drosophila survival under normal and stress conditions // *The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences*. - 2009. - Vol. 64. - № 8. - P. 828-838.
- Yoshida R., Ogawa Y. Oxidative stress induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: an application of oxidative stress markers to cancer risk assessment of dioxins // *Industrial health*. - 2000. - Vol. 38. - № 1. - P. 5-14.
- Young A. L., Van Houten W. J., Andrews W. B. 2nd Agent Orange and Dioxin Remediation Workshop. Hanoi, Viet Nam, 18-20 June 2007 // *Environmental science and pollution research international*. - 2008. - Vol. 15. - № 2. - P. 113-118.
- Young A. L. Enhanced co-metabolism of TCDD in the presence of high concentrations of phenoxy herbicides // *Environmental science and pollution research international*. - 2006. - Vol. 13. - № 3. - P. 149-150.
- Zhang L., Yang Z., Liu Y. GADD45 proteins: roles in cellular senescence and tumor development // *Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)*. - 2014. - Vol. 239. - № 7. - P. 773-778.
- Zelko I. N., Mariani T. J., Folz R. J. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression // *Free radical biology & medicine*. - 2002. - Vol. 33. - № 3. - P. 337-349.