

А.М. ВАЙСЕРМАН, А.Я. ЛИТОШЕНКО,
Т.Ю. КВИТНИЦКАЯ-РЫЖОВА, Н.М. КОШЕЛЬ,
Т.Г. МОЗЖУХИНА, С.А. МИХАЛЬСКИЙ, В.П. ВОЙТЕНКО

Институт геронтологии АМН Украины, Киев

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ АСПЕКТЫ РАДИАЦИОННОГО ГОРМЕЗИСА У *DROSOPHILA* *MELANOGASTER*



Исследованы долговременные эффекты R-облучения *D. melanogaster* на стадии одночасового яйца в дозах 0,25; 0,50; 0,75; 1,0; 2,0 и 4,0 Гр. Предимагинальная летальность мух повышалась с увеличением дозы облучения. Снижение имагинальной продолжительности жизни (ПЖ) наблюдали только после облучения в наибольшей дозе — 4 Гр. В ряде случаев выявлен гормезис по ПЖ: у самцов облучение в дозах 0,25; 0,75 и 1 Гр привело к увеличению средней ПЖ, а в дозах 0,25 и 0,5 Гр — максимальной ПЖ, у самок облучение в дозах 0,25, 0,75 и 2 Гр увеличило максимальную ПЖ. Денситометрический анализ электрофореграмм ДНК продемонстрировал, что в контроле действие S_1 -нуклеазы привело к снижению доли высокомолекулярной ДНК на 39,2 %. ДНК облученных мух оказалась значительно более устойчива к действию фермента, что могло быть следствием активизации репарационной системы. Индуцированные облучением на стадии яйца в дозе 0,75 Гр ультраструктурные изменения свидетельствуют об увеличенной транскрипционной активности в клетках мозга мух

© А.М. ВАЙСЕРМАН, А.Я. ЛИТОШЕНКО,
Т.Ю. КВИТНИЦКАЯ-РЫЖОВА, Н.М. КОШЕЛЬ,
Т.Г. МОЗЖУХИНА, С.А. МИХАЛЬСКИЙ,
В.П. ВОЙТЕНКО, 2003

Введение. Известно, что организму на ранних этапах развития присуща сверхвысокая чувствительность к стрессорам [1]. Применение сильных стрессов может нарушать программу развития и приводить к возникновению различных аномалий. В некоторых случаях такие вмешательства при сохранности общих конституциональных особенностей, присущих данному виду в норме, могут вызывать снижение адаптационного потенциала и сокращение продолжительности жизни (ПЖ) [2].

Подобные воздействия могут, однако, приводить и к позитивным последствиям. Так, в исследованиях, посвященных изучению феномена «программирования» (возникновение вследствие действия различных средовых факторов и стрессов в критические периоды развития долгосрочных структурных, функциональных и метаболических изменений на уровне организма [2, 3]), продемонстрировано, что ограничение пищевого рациона самок крыс в период беременности приводит к негативным последствиям у их потомков (снижению веса при рождении, жизнеспособности и ПЖ), тогда как аналогичное сокращение рациона в период лактации приводит к противоположным результатам — увеличению жизнеспособности и ПЖ потомков [2]. Сходные результаты получены и при исследовании ферментативного «импринтинга». Воздействие гормонов, пищевых веществ, а также стрессов средней и слабой силы в пре- и неонатальном онтогенезе наряду с долговременными (иногда — на всю жизнь) изменениями индукции определенных ферментов в ряде случаев приводило к увеличению адаптационного потенциала крыс [4, 5]. Так, показано, что стрессирование крысят в первые дни после рождения может надолго увеличивать их стресс-устойчивость [4]. Ферментативный «импринтинг» может быть ассоциирован и с увеличением ПЖ. В исследовании, проведенном на крысах, показано, что ферментативный «импринтинг» микросомальных монооксигеназ печени сопровождался увеличением средней ПЖ (СПЖ) самок на 17,5 % в сравнении с соответствующим показателем контрольных животных [5].

В последние годы накапливается все больше доказательств того, что подобные долговременные фенотипические изменения, индуцированные теми или иными влияниями в раннем онтогенезе, могут быть связаны с модификацией эпигенетических процессов, при помощи которых осуществляется временной и пространственный

контроль активности генов, необходимых для развития от зиготы до взрослого организма [1, 6]. Так, продемонстрировано, что стимулы окружающей среды могут приводить к возникновению длительно сохраняющихся специфических модификаций хроматина, которые, в свою очередь, могут обуславливать возникновение адаптивного ответа на стимул [1].

Одним из таких стимулов является ионизирующее излучение. В последнее время все большее распространение приобретает точка зрения, в соответствии с которой предполагается, что многие радиационные эффекты (опухолевая трансформация клеток, радиационная модификация темпов естественного старения, радиационный гормезис [7]) могут быть связаны со способностью ионизирующего излучения модифицировать эпигенотип клеток [6].

Если индуцированные стрессами в раннем онтогенезе долговременные изменения жизнедеятельности связаны с влиянием на эпигенетические процессы, они, по всей видимости, должны ассоциироваться с долговременно сохраняющимися модификациями на уровне вторичной структуры ДНК и ультраструктуры клеток организма, подвергнувшегося воздействию. Для проверки этого предположения исследовано влияние рентгеновского облучения на стадии яйца на предимагинальную выживаемость и имагинальную ПЖ, а также структурно-функциональную организацию ДНК и ультраструктуру клеток мозга имаго *Drosophila melanogaster*.

Материал и методы. Исследование проведено на аутбредной лабораторной популяции *D. melanogaster* дикого типа *Oregon-R*. Разведение и содержание мух осуществляли в 0,5-литровых банках в стандартных условиях: на полноценном корме, который содержал 40 г сахара, 40 г манки, 25 г дрожжей, 10 г агар-агара и 10 мл 10%-ного раствора нипагина (на 1000 мл воды), при температуре $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$, режиме постоянной влажности и освещенности (12 ч света — 12 ч темноты в сутки).

Яйцекладущих самок помещали для откладки яиц по 200–220 особей в 0,5-литровые банки на 60 мин. Количество отложенных яиц находилось в диапазоне 150–250 на банку. При большей плотности популяции интерпретация полученных результатов была бы затруднена в связи с возможным эффектом перенаселения — larval crowding. Для стандартизации условий развития

из 100 банок, в которых самки родительского поколения осуществляли откладку яиц, 15 банок, в которых количество отложенных яиц превышало 250 на банку, были отобраны и не использовались в эксперименте.

Дозы облучения, использованные в работе, были подобраны в наших предыдущих исследованиях, в которых было обнаружено, что при облучении одночасовых яиц мух в дозовом диапазоне 0,25–1,0 Гр наиболее вероятны проявления гормезиса [8], а дозы, превышающие 1 Гр, приводят к увеличению предимагинальной летальности [9].

В связи с различной эмбриональной смертностью при облучении в разных дозах количество мух, проходящих полный цикл развития, отличалось. Поэтому при облучении в контроле, а также в группах 0,25; 0,5; 0,75 и 1 Гр использовали по 10 банок, при облучении в дозе 2 Гр — 15 банок и 4 Гр — 20 банок на группу.

Через 30 мин после окончания яйцекладки банки с отложенными яйцами облучали при помощи аппарата РУМ-17. Таким образом, с учетом того, что в первые 30 мин после перенесения на свежий корм самки откладывают небольшое количество яиц, возраст большинства яиц в момент облучения не превышал 1 ч. Облучение осуществляли в дозах 0,25; 0,50; 0,75; 1,0; 2,0 и 4,0 Гр при мощности дозы 0,5 Гр/мин ($U = 200 \text{ кВ}$; $I = 10,2 \text{ мА}$).

Выживаемость насекомых на предимагинальных стадиях определяли как долю насекомых, прошедших полный цикл развития (от яйца до имаго) в четырех повторах (банках) в каждой из экспериментальных групп.

Для определения имагинальной ПЖ отсортированных под эфирным наркозом мух на третьи сутки после вылета рассаживали в пробирки объемом $150 \times 15 \text{ мм}$, которые содержали по 3 мл корма, при плотности популяции 20 мух в пробирке (самцы и самки — отдельно). Каждый из вариантов эксперимента включал в себя по пять повторов, т.е. в каждом из вариантов ПЖ определяли у 100 насекомых. Пересадку на свежий корм осуществляли три раза в неделю, одновременно подсчитывали количество умерших мух. После полного вымирания насекомых рассчитывали показатели средней продолжительности жизни (СПЖ) и максимальной продолжительности жизни (МПЖ). МПЖ определяли как СПЖ последних 10 % выживших мух.

ДНК изолировали из 6-суточных самцов, подвергнутых замораживанию в жидком азоте (200–400 особей в пробе, по три пробы на каждую экспериментальную группу). Очистку ДНК проводили согласно общепринятым методам [10], применяя протеиназу К и РНКазу. Аликвоты изолированной ДНК обрабатывали нуклеазой S_1 в буфере, содержащем 0,2 М NaCl, 1 мМ ZnSO₄, 0,05 М Na-ацетат, pH 4,5; 0,6 % глицерол (10 ед. фермента/100 мкл). Инкубацию образцов ДНК с ферментом проводили в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию останавливали добавлением ЭДТА до 5 мМ.

Электрофорез интактной и S_1 -обработанной ДНК проводили в 1%-ной агарозе согласно Sambrook et al. [10], используя трис-боратный буфер. Этидий бромид помещали в расплавленную агарозу перед заливкой геля (конечная концентрация 0,5 мкг/мл). Гели фотографировали в УФ-свете на пленку Микрат 300. Негативы денситометрировали с помощью специализированного программно-аппаратного комплекса Денсим-1, состоящего из сканера Quick Photo (Тайвань) (разрешающая способность до 400 dpi) и программы обработки оцифрованного изображения в операционной среде Windows 95. Статистическую обработку результатов осуществляли с применением критерия Стьюдента.

Для электронно-микроскопического исследования 10 молодых (5–6-суточных) интактных, 10 молодых облученных на стадии яйца в дозе

0,75 Гр и 10 старых (50-суточных) самцов прокалывали тонкой иглой в области груди и фиксировали в 2,5%-ном растворе глutarальдегида на фосфатном буфере (pH 7,4) на протяжении 3–6 ч при температуре +4 °С. После этого промывали в фосфатном буфере на протяжении 2 ч и дофиксировали в 1%-ном растворе тетраоксида осмия на фосфатном буфере на протяжении 2 ч. После обезвоживания в спиртах и ацетоне заливали в смолу эпон-812. Ультратонкие срезы голов мух толщиной 70–80 нм изготавливали на ультратоме LKB-III (Швеция), контрастировали растворами уранилацетата и цитрата свинца, а потом просматривали под электронным микроскопом ПЕМ-125К (Украина). Объектом ультраструктурного анализа были избраны lamina ganglionaris — медиальная часть мозга, которая граничит с глазом, а также центральные части мозга, входящие в состав так называемых «грибовидных тел», которые начинаются от pedunculus и формируют несколько долей, а также клетки, окружающие «грибовидные тела». Архитектоника этих структур подробно изучена и описана [11].

Результаты исследований и их обсуждение. Облучение приводило к снижению выживаемости насекомых на предимагинальных стадиях в тем большей степени, чем большей была доза облучения (табл. 1: $\chi^2 = 1299,7$; d.f. = 6, $P < 0,001$). При облучении в дозах 1, 2 и 4 Гр выживаемость по сравнению с контрольными (необлученными) мухами уменьшалась на 24, 54 и 63 % соответ-

Таблица 1
Предимагинальная выживаемость и имагинальная ПЖ самок и самцов *D. melanogaster* после облучения в разных дозах на стадии яйца, сут

Доза, Гр	Предимагинальная выживаемость, %	Самцы		Самки	
		СПЖ	МПЖ	СПЖ	МПЖ
0	93,9	47,38 ± 1,08	72,10 ± 0,56	47,49 ± 1,48	72,5 ± 0,40
0,25	77,2	49,32 ± 1,13	75,50 ± 1,08**	44,86 ± 1,64	74,8 ± 0,83**
0,5	84,2	50,10 ± 0,89*	74,10 ± 0,23***	45,78 ± 1,39	72,58 ± 0,53
0,75	78,0	52,12 ± 0,97***	73,90 ± 1,04	47,88 ± 1,32	74,04 ± 0,23***
1	70,0	50,12 ± 0,85*	72,00 ± 0,89	45,12 ± 1,34	70,98 ± 0,78
2	40,0	47,42 ± 1,14	72,90 ± 0,48	46,16 ± 1,51	76,04 ± 0,99***
4	30,3	49,34 ± 1,04	70,20 ± 0,70*	42,62 ± 1,58*	69,19 ± 0,52***

Примечание. В этой и следующей таблицах достоверные различия между облученными группами и интактным контролем установлены при * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

венно, в то же время облучение в диапазоне 0,25–0,75 Гр не приводило к значимому снижению предимагинальной выживаемости. Даже при облучении в наибольшей из этих доз выживаемость составляла 78 %.

Имагинальная ПЖ насекомых снижалась только после облучения в самой большой из использованных доз — 4 Гр: у самцов снижалась МПЖ, а у самок — СПЖ и МПЖ. В ряде случаев облучение привело к гормезису по ПЖ: у самцов облучение в дозах 0,5; 0,75 и 1 Гр привело к статистически значимому увеличению СПЖ, а в дозах 0,25 и 0,5 Гр — МПЖ, у самок, облученных в дозах 0,25; 0,75 и 2 Гр, увеличивалась МПЖ (табл. 1).

Гормезис по ПЖ мог быть следствием селекционных процессов на предимагинальных стадиях. Однако, как видно из табл. 1, наиболее выраженный гормезисный эффект проявлялся в дозовом диапазоне, где предимагинальная выживаемость менялась незначительно (0,25–0,75 Гр).

Для оценки индуцированных облучением структурно-функциональных изменений ДНК мух осуществляли количественный анализ ДНК, гидролизованной S_1 -нуклеазой. Электрофоретическую зону делили на две части: первую составляли фрагменты размером 1–3 тысяч пар оснований (т.п.о.), а вторую — меньше 1 т.п.о. Первая субзона представлена фрагментами ДНК с далеко отстоящими однонитевыми участками, переваренными S_1 -нуклеазой (на расстоянии одного условного гена). Более глубокое расщепление ДНК S_1 -нуклеазой предполагает наличие одно-

нитевых сайтов внутри последовательности ДНК, соответствующей условному гену. Можно полагать, что достаточно удаленные однонитевые сайты ДНК являются следствием действия каких-либо повреждающих агентов (например, радиации), эндогенных нуклеаз, участвующих в процессах репарации, или топоизомераз и других ферментов, т.е. представляют собой однонитевые разрывы [12], а близко расположенные участки, доступные действию S_1 -нуклеазы, находятся в зонах репликации или транскрипции, т.е. являются расплетенными нитями двойной спирали ДНК. Учитывая тот факт, что ткани тела имаго дрозофилы практически полностью (более чем на 95 %) представлены постмитотическими клетками [13], можно допустить, что количество высвобождаемых S_1 -нуклеазой низкомолекулярных фрагментов ДНК (менее 1 т.п.о.) может характеризовать уровень процессов транскрипции.

Было установлено (табл. 2), что S_1 -нуклеаза расщепляет около 40 % тотальной ДНК интактных насекомых, приблизительно две трети расщепленной ДНК были представлены крупноразмерными фрагментами, а одну треть составляли олигонуклеотиды размером менее 1 т.п.о. ДНК имаго, облученных на стадии яйца, имела меньшее количество участков, доступных действию фермента (от 10 до 30 % в разных экспериментальных группах). Это уменьшение происходило преимущественно за счет крупноразмерных фрагментов ДНК (1–3 т.п.о.), относительное содержание которых уменьшалось во всех группах облученных мух в сравнении с интактными насекомыми (за исключением мух, облученных в дозе 0,5 Гр, хотя и там отличия от контроля характеризовались статистической тенденцией, $p = 0,058$). Доля ДНК, расщепленная до олигонуклеотидов, значительно уменьшалась только в группе насекомых, облученных в дозе 0,75 Гр.

Результаты исследования позволяют предположить, что увеличение ПЖ облученных насекомых с наибольшей вероятностью происходит вследствие увеличения мощности репарационной системы. Отметим, что именно активизация репарации рассматривается в качестве ведущего механизма радиационного гормезиса [14]. Тем не менее, поскольку облучение в дозе 0,75 Гр привело также к уменьшению содержания олигонуклеотидного материала, механизм модуляции транскрипционной активности полностью

Таблица 2
Результаты электрофореза обработанной S_1 -нуклеазой ДНК самцов *D. melanogaster* после облучения на стадии яйца (в проц. от общего количества ДНК)

Доза, Гр	Негидролизованная ДНК	Гидролизованная ДНК	
		1–3 т.п.о.	< 1 т.п.о.
0	60,8 ± 5,2	25,4 ± 6,1	13,8 ± 5,0
0,25	83,8 ± 2,7**	9,3 ± 2,6*	6,5 ± 2,4
0,5	71,5 ± 3,7	12,7 ± 1,8	14,9 ± 1,4
0,75	90,0 ± 2,0***	5,2 ± 0,8*	4,5 ± 1,5*
1	75,4 ± 2,4*	7,6 ± 1,4*	17,0 ± 3,2
2	82,1 ± 3,6*	11,4 ± 2,1*	6,3 ± 3,9
4	70,4 ± 2,5	9,8 ± 2,1*	19,5 ± 3,9

исключен быть не может (то, что снижение транскрипционной активности может приводить к продлению жизни, известно, например, из работ Фролькиса с соавт. [15], которые для продления жизни экспериментальных животных использовали ингибиторы транскрипции).

О модуляции транскрипционной активности могут свидетельствовать изменения на уровне ультраструктуры клеток. Для ультраструктурного анализа были избраны нервные клетки мух. Этот выбор определялся тем, что среди тканей, сформированных на личиночной стадии, только эти клетки не подвергаются лизису при метаморфозе (вследствие чего, с наибольшей вероятностью, могут являться носителями «памяти» о значимых событиях в раннем онтогенезе). Кроме того, в некоторых работах высказывается предположение, что именно геном нервных клеток является инициальным субстратом старения дрозофилы [16].

Сопоставление ультраструктурных особенностей клеток мозга молодых и старых мух показало, что при старении в клетках мозга *D. melanogaster* происходят деструктивные, инволютивные изменения. Обнаруживались как уплотнения цито- и кариоплазмы клеток, так и их отек и вакуолизация. В цитоплазме клеток старых насекомых происходило накопление большого количества плотных телец, вторичных лизосом, пигментных гранул, липидных включений и мембранных структур (рис. 1). Кроме того, встречались интрамитохондриальные кристаллические и полиморфные внутриядерные включения, а также вирусные включения.

У взрослых насекомых, облученных на стадии яйца в дозе 0,75 Гр (в этой группе был продемонстрирован наиболее выраженный гормезисный эффект), изменения деструктивного характера (напоминающие возрастные) были незначительными и проявлялись в набухании некоторых митохондрий и субмембранных участков отдельных клеток, вакуолизации цитоплазмы, накоплении липидных включений, уплотнении части глиоцитов (рис. 2 и 3). В то же время как в нейронах, так и в глиоцитах происходили демонстративные адаптивные изменения, свидетельствующие о функциональном напряжении клеток. Прежде всего это проявлялось в гиперплазии основных элементов белоксинтезирующей системы — канальцев гранулярной эндоплазматической сети и рибосом (рис. 4 и 5). Вследствие гиперплазии ри-

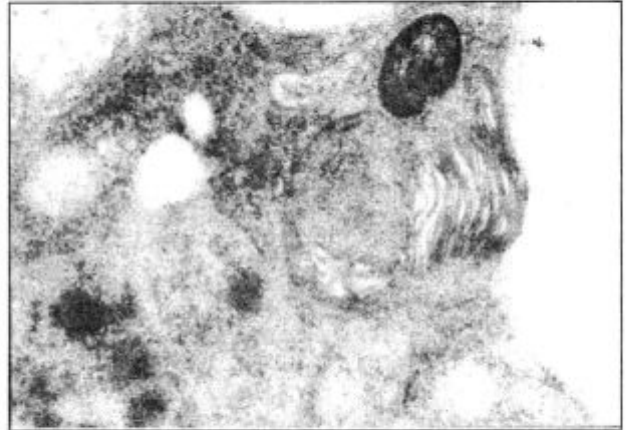


Рис. 1. Участок глиальной клетки старой интактной мухи. Массивное полиморфное остаточное тельце с гранулярными и ламеллярными компонентами в цитоплазме. Ув. $\times 32000$

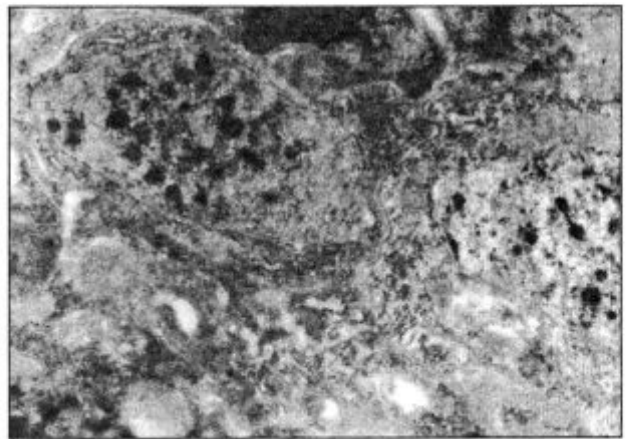


Рис. 2. Участок мозга взрослой мухи, облученной на стадии яйца в дозе 0,75 Гр. Гиперплазия рибосом и канальцев гранулярной эндоплазматической сети в нейронах. Скопление рибосом на ядерной мембране. Ув. $\times 12000$

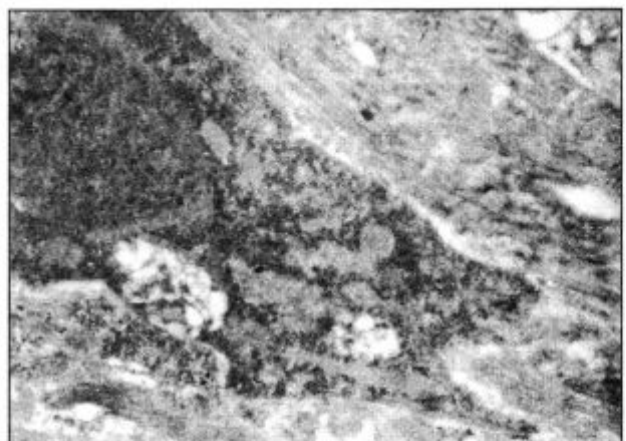


Рис. 3. Часть нейрона взрослой мухи, облученной на стадии яйца в дозе 0,75 Гр. Выраженная гиперплазия рибосом и высокая электронная плотность кариоплазмы создают картину «темного» нейрона. Набухание двух митохондрий. Ув. $\times 9600$

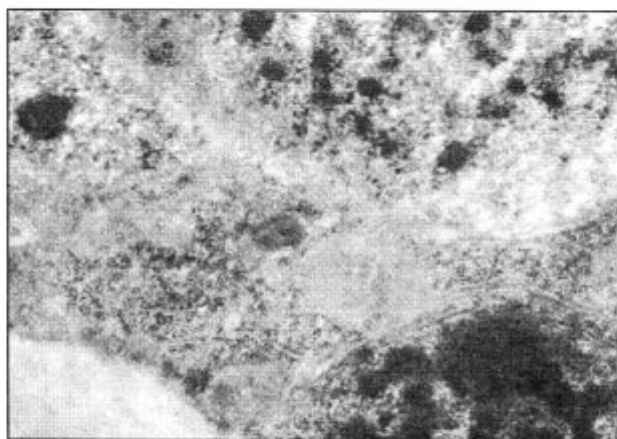


Рис. 4. Участок мозга взрослой мухи, облученной на стадии яйца в дозе 0,75 Гр. Выраженная гиперплазия рибосом в цитоплазме нейрона. Ув. $\times 20000$

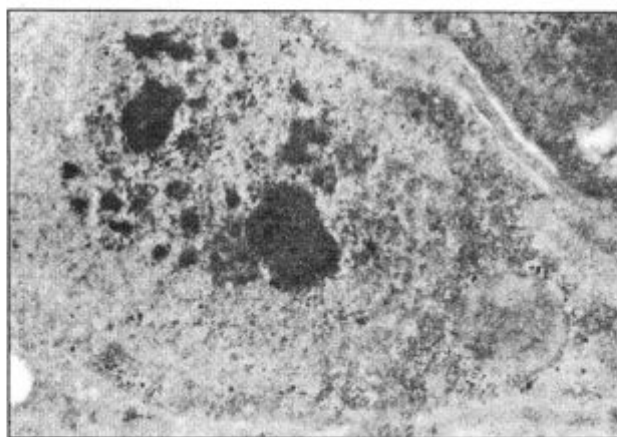


Рис. 5. Часть нейрона взрослой мухи, облученной на стадии яйца в дозе 0,75 Гр. Выраженная гиперплазия рибосом в перинуклеарной зоне. Видоизмененная митохондрия с интрамитохондриальным включением. Ув. $\times 12000$

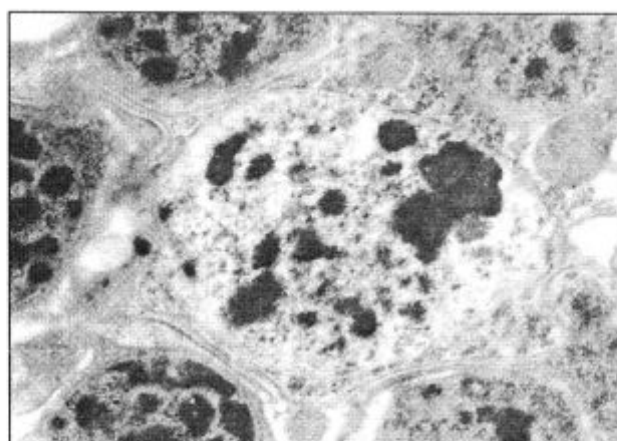


Рис. 6. Участок мозга взрослой мухи, облученной на стадии яйца в дозе 0,75 Гр. Небольшой светлый нейрон в окружении глиоцитов. Многочисленные рибосомы в цитоплазме. Четкая структура митохондрий. Ув. $\times 16000$

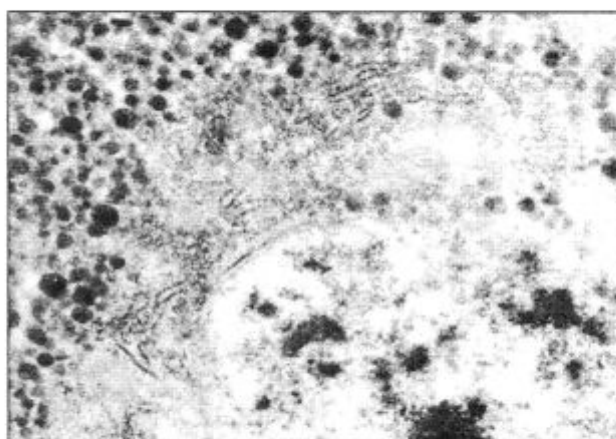


Рис. 7. Участок мозга взрослой мухи, облученной на стадии яйца в дозе 0,75 Гр. Нейросекреторная клетка с признаками высокой функциональной активности. Гиперплазия канальцев гранулярной эндоплазматической сети и свободных рибосом в перинуклеарной зоне. Ув. $\times 20000$

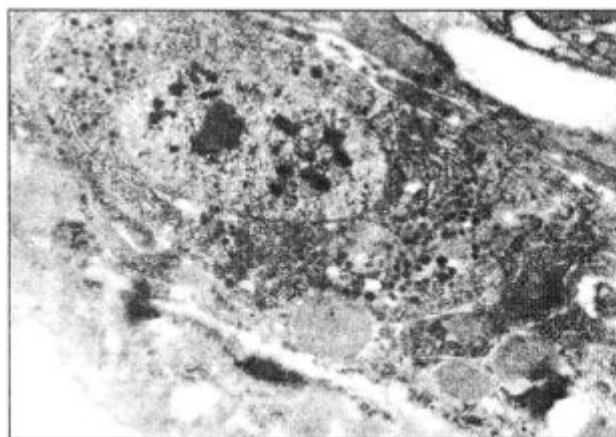


Рис. 8. Участок мозга взрослой мухи, облученной на стадии яйца в дозе 0,75 Гр. Умеренная вакуолизация цитоплазмы нейросекреторной клетки, расширение профилей гранулярной эндоплазматической сети, уплотнение цито- и кариоплазмы. Ув. $\times 9600$

босом и полисом некоторые клетки становились электронно-темными (рис. 3). Кроме того, происходила и активизация митохондрий, заключавшаяся в их гипертрофии и расширении межкristных промежутков (рис. 6). Сходный характер изменений отмечался и в так называемых «нейросекреторных клетках». В их цитоплазме, переполненной секреторными гранулами, отмечалось обилие рибосом, полисом и канальцев гранулярной эндоплазматической сети, преимущественно в перинуклеарной области (рис. 7 и 8). Таким образом, анализ реактивных изменений ультраструктуры клеток мозга мух может свидетельствовать об уве-

личении транскрипционной активности вследствие облучения насекомых на стадии яйца.

Необходимо особо отметить пролонгированный характер индуцированных облучением изменений. Поскольку между облучением и выделением ДНК (а также определением ультраструктурных особенностей клеток мозга мух) проходило примерно 2 нед, а замеры СПЖ и МПЖ отстояли от момента облучения на 2–3 мес, эти эффекты едва ли могут объясняться влиянием кратковременно действующих факторов, например, наработкой вследствие облучения определенных белков (ферменты репарационной системы, стресс-белки и т.д.). Известно, например, что время существования белков теплового шока не превышает нескольких часов после окончания температурного воздействия, через 10 ч их количество резко уменьшается, а через 3 сут возвращается к исходному уровню [17].

Механизм индукции определенных адаптивных модификаций на уровне физиологических систем также маловероятен: на стадии одночасового яйца этих систем еще не существует (примерно до двухчасового возраста зародыш дрозофилы представляет собой синцитий — одну многоядерную клетку). Кроме того, перед вылетом из куколок мухи проходят стадию метаморфоза, когда практически все сформированные на личиночной стадии ткани подлежат лизису и на их месте возникают ткани взрослого организма насекомого [18].

С нашей точки зрения, наиболее вероятное объяснение таких пролонгированных эффектов заключается в том, что облучение на стадии яйца вызывает, независимо от дозы облучения, модификации структурно-функциональных свойств хроматина, которые могут наследоваться в процессе митотического деления и переноситься в следующие клеточные поколения. Подобный механизм долгосрочного сохранения индуцированных эпигенетических изменений описан в ряде исследований, хотя его молекулярные механизмы окончательно еще не выяснены [6]. В частности, продемонстрировано, что влияние определенных факторов на стадии развития приводит к модификации эпигенетических процессов, что может иметь значение не только на этапе развития организма, но и на следующих стадиях, включая стадию старения [19, 20]. Анализ результатов настоящего исследования позволяет предположить, что выявленные эффекты облу-

чения на ПЖ могут с наибольшей вероятностью объясняться возникновением длительно сохраняющихся эпигенетических изменений в клетках облученных насекомых.

SUMMARY. The long-term effects of the R-irradiation of *D. melanogaster* at the 1-hour egg stage with the dosages of 0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 2.0 and 4.0 Gy were investigated. DNA samples were isolated from whole 5–6-days adult males. The aliquots of DNA were digested by S_1 -nuclease. Preimaginal stage lethality increased with irradiation dose increasing. At the same time, decrease in imaginal LS (life span) was observed after irradiation with the greatest dose (4 Gy) only. Moreover, hormesis by LS has revealed: in males irradiation with 0.25, 0.75 and 1 Gy increased the mean LS, and with 0.25 and 0.5 Gy caused the maximum LS; in females exposures with 0.25, 0.75 and 2 Gy increased the maximum LS. The densitometric assay of DNA electrophoregrams showed decrease by 39.2 % of the part of high-molecular-weight DNA in control as a result of S_1 -nuclease action. Samples of DNA from the irradiated flies were more stable to enzyme action. The higher stability of DNA originated from the irradiated flies could be the result of reparation system activation. Ultrastructural changes induced at the egg stage by irradiation at the dose of 0.75 Gy testify the increased transcriptional activity of the brain cells.

РЕЗЮМЕ. Досліджено довгострокові ефекти R-опромінення *D. melanogaster* на стадії одногодинного яйця в дозах 0,25; 0,50; 0,75; 1,0; 2,0 і 4,0 Гр. Передімагінальна летальність мух підвищувалася зі збільшенням дози опромінення. Зниження імагінальної тривалості життя (ТЖ) спостерігалось тільки після опромінення в найбільшій дозі — 4 Гр. У ряді випадків виявлено гормезис за ТЖ: у самців опромінення в дозах 0,25; 0,75 і 1 Гр призвело до збільшення середньої ТЖ, а в дозах 0,25 і 0,5 Гр — максимальної ТЖ, у самок опромінення в дозах 0,25; 0,75 і 2 Гр збільшило максимальну ТЖ. Денситометричний аналіз електрофореграм ДНК продемонстрував, що в контролі дія S_1 -нуклеази призвела до зниження частки високомолекулярної ДНК на 39,2 %. ДНК опромінених мух виявилася значно більш стійка до дії ферменту, що могло бути наслідком активізації репараційної системи. Індуковані опроміненням на стадії яйця в дозі 0,75 Гр ультраструктурні зміни свідчать про збільшену транскрипційну активність у клітинах мозку мух.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Monk M. Epigenetic programming of differential gene expression in development and evolution // *Dev. Genet.* — 1995. — 17. — P. 188–197.
2. Desai M., Hales C.N. Role of fetal and infant growth in programming metabolism in later life // *Biol. Rev.* — 1997. — 72. — P. 329–348.
3. Sayer A.A., Cooper C. Undernutrition and Aging // *Gerontology.* — 1997. — 43. — P. 203–205.
4. Салганик Р.И., Грязнова И.М., Маркель А.Л. и др. Влияние введения кортизола и стрессорных воздействий в раннем онтогенезе на гормональную индукцию у взрослых крыс // *Онтогенез.* — 1978. — 9. — С. 193–196.

5. Frolkis V.V., Paramonova G.I. Effect of enzyme imprinting of liver microsomal monooxygenases upon lifespan of rats // *Mech. Ageing Dev.* — 1999. — **109**. — P. 35–42.
6. Михеев А. Н., Гуца Н. И., Малиновский Ю.Ю. Эпигенетические реакции клеток на действие ионизирующей радиации // *Радиационная биология. Радиозэкология.* — 1999. — **39**. — С. 548–556.
7. Rattan S.I.S. Ageing, gerontogenes, and hormesis // *Ind. J. Exp. Biol.* — 2000. — **38**. — P. 1–5.
8. Вайсерман А.М., Кошель Н.М., Войтенко В.П. Влияние рентгеновского облучения в раннем онтогенезе на жизнеспособность и продолжительность жизни *Drosophila melanogaster* // *Пробл. старения и долголетия.* — 2000. — **9**. — С. 33–41.
9. Кошель Н.М., Вайсерман А.М., Войтенко В.П. Влияние облучения на стадии яйца на жизнеспособность и продолжительность жизни имаго *Drosophila melanogaster* и их потомков // *Пробл. старения и долголетия.* — 1999. — **8**. — С. 16–21.
10. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual.* — Cold Spring Harbor : Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989. — 528 p.
11. Ito K., Suzuki K., Estes P., Ramaswami M., Yamamoto D., Strausfeld N. The organization of extrinsic neurons and their implications in the functional roles of the mushroom bodies in *Drosophila melanogaster* // *Learning & Memory.* — 1998. — **5**. — P. 52–77.
12. Vargaveisz P. D., Wilm M., Bonte E., Dumas K., Mann M., Becker P.B. Chromatin-remodelling factor CHRAC contains the ATPases, ISWI and topoisomerase II // *Nature.* — 1997. — **388**. — P. 598–602.
13. Rogina B., Helfand S.L. Regulation of gene expression is linked to life span in adult *Drosophila* // *Genetics.* — 1995. — **141**. — С. 1043–1048.
14. Котеров А.Н., Никольский А.В. Адаптация к облучению *in vivo* // *Радиационная биология. Радиозэкология.* — 1999. — **39**. — С. 648–662.
15. Frolkis V.V., Bogatskaja L.N., Novikova S.N., Muradjan H.K. Effect of protein biosynthesis inhibitors on lifespan and development of experimental atherosclerosis // *Modification of the rate of aging.* — Wien : Facultas Wien, 1992. — P. 69–72.
16. Потапенко А.И., Рудаковская Е.Г., Кожевникова Н.А., Путрина И.Д., Акифьев А.П. Исследование влияния 5-бром-2-дезоксисуридина на продолжительность жизни и поведение *Drosophila melanogaster* // *Онтогенез.* — 1997. — **28**. — С. 463–470.
17. Dahlgaard J., Loeschcke V., Michalak P., Justesen J. et al. Induced thermotolerance and associated expression of the heat-shock protein Hsp70 in adult *Drosophila melanogaster* // *Funct. Ecol.* — 1998. — **12**. — P. 786–793.
18. Ashburner M. *Drosophila : A laboratory handbook.* — Cold Spring Harbor : Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989. — 1331 p.
19. Jazwinski S.M., Kim S., Lai C.Y., Benguria A. Epigenetic stratification: the role of individual change in the biological ageing process // *Exp. Gerontol.* — 1998. — **33**. — P. 571–580.
20. Kloeden P.E., Rossler R., Rossler O.E. Artificial life extension. The epigenetic approach // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 1994. — **719**. — P. 474–482.

Поступила 10.07.02