

УДК 575.117.5:577.25:615.076.9

## **DROSOPHILA MELANOGASTER – МОДЕЛЬНА СИСТЕМА ДЛЯ ВИВЧЕННЯ НЕЙРОПАТІЙ ЛЮДИНИ ТА ТЕСТУВАННЯ НЕЙРОПРОТЕКТОРНИХ ЗАСОБІВ**

Н.П. МАТІЙЦІВ, Я. І. ЧЕРНИК

Львівський національний університет ім. І. Франка, кафедра генетики та біотехнології

E-mail: matiytsiv@yahoo.com

*На сьогодні молекулярні характеристики виникнення та перебігу нейродегенеративних захворювань — одних із найважчих і наразі невиліковних — залишаються не до кінця з'ясованими. Тому зберігає актуальність пошук лікарських засобів для усунення, послаблення чи відтермінування симптомів цих патологій. Зважаючи на складність проведення досліджень у людини, виявлення генів, які пов'язані з розвитком нейродегенеративних змін, дослідження їх функціонування в різних тканинах (нейрональній і гліальній) та на різних стадіях онтогенезу проводять на модельних об'єктах. *Drosophila melanogaster* є одним із найкращих і доступних об'єктів для з'ясування молекулярно-генетичних механізмів розвитку нейродегенерації, а також для початкової апробації нових сполук з нейропротекторними властивостями. Тут ми обговорюємо методи генетичного аналізу на дрозофілі, використання *D. melanogaster* для моделювання нейродегенеративних розладів людини, можливості використовувати ці моделі як тест-системи для вивчення потенційних нейропротекторів.*

**Ключові слова:** *Drosophila*, нейродегенерація, нейропротектори, мозок, UAS/Gal4 система.

**Вступ.** Нейродегенеративні розлади — це гетерогенна група захворювань із різноманітними клінічними проявами, зумовлених прогресуючою втратою нейронів [1]. Всесвітня організація охорони здоров'я (World Health Organization), Світовий банк (World Bank) та Гарвардська школа громадського здоров'я (Harvard School of Public) назвали нейропатії найбільшим тягарем, який зараз несе система охорони здоров'я по всьому світу [2]. Тенденції вказують на збільшення цього тягаря, оскільки нейродегенеративні захворювання (НДЗ) наразі є невиліковними, їхня етіологія залишається до кінця не з'ясованою,

в той час як кількість хворих зростає з кожним роком. Це вказує на потребу множинного наукового підходу з метою відкриття тригерів, механізмів розвитку патологічних змін, а також факторів ризику і можливих шляхів терапії та профілактики. Важливою складовою множинного наукового підходу є моделювання патологій та застосування його для терапевтичних випробувань на простих організмах, таких як *Drosophila melanogaster*.

Не зважаючи на значну відмінність між дрозофілою та людиною, сучасні наукові дані у галузі генетики, фізіології та молекулярної біології підтверджують цінність *D. melanogaster*, як моделі та інструменту для розробки і перевірки лікарських засобів. Важливо відзначити, що застосування дрозофіли передбачає виявлення потенційно активних засобів або/і мішеней терапевтичної дії у коротший термін та меншою вартістю, ніж за застосування інших еукаріотичних модельних систем.

Зазвичай стратегія пошуку терапевтичних засобів полягає у виявленні основного молекулярного механізму розвитку патології, а потім у пропозиції специфічного засобу, який би діяв на основну мішень у цьому механізмі. Однак, сучасний підхід у пошуку ліків та терапії НДЗ включає пропозиції симптоматичних або модифікуючих засобів, які здатні принаймні зупинити прогресування хвороби. До таких засобів належать нейропротектори, які представлені молекулами не-специфічної дії, але здатні попереджати загибель нейронів [3].

У цій статті ми зосередились на перевагах *D. melanogaster* як модельного об'єкту нейрогенетики; сучасних методах генетичного аналізу на дрозофілі; використанні *D. melanogaster* для моделювання нейродегенеративних розладів людини; можливості використовувати ці моделі як тест-системи для вивчення потенційних терапевтичних або профілактичних засобів — нейропротекторів.

© Н.П. МАТІЙЦІВ, Я. І. ЧЕРНИК, 2020

***Drosophila melanogaster* – модельний об’єкт у науці та освіті.** *D. melanogaster* залишається ключовим модельним об’єктом біомедичних досліджень вже майже 100 років, з часу започаткування Томасом Хантом Морганом досліджень у знаменитій «fly-room» Колумбійського університету [4]. Щорічно публікується кілька сотень наукових публікацій із застосуванням *D. melanogaster* для моделювання різноманітних захворювань людини. Секвенування геному дрозофіли [5] було важливим поштовхом у розвитку таких досліджень, оскільки відкрило нові інформаційні та методичні можливості. Вражає, що геном дрозофіли на 60 % гомологічний до геному людини, а 75 % генів, що спричиняють захворювання у людини, мають ортологів у дрозофіли [6]. Крім того, низка таких переваг, як невеликий розмір геному та кількості хромосом, короткий цикл розвитку, легкість культивування у лабораторії, велика кількість нащадків, серйозні напрацювання в галузі генетичних досліджень та широкий діапазон генетичних методів, є запорукою, що дрозофіла залишиться одним з основних модельних об’єктів і надалі [7, 8].

В дослідженнях на дрозофілі були зроблені важливі наукові відкриття, за які були присуджені Нобелівські премії у галузі медицини та фізіології:

- 1933 рік; Томас Хант Морган (Thomas Hunt Morgan) за відкриття ролі хромосом у спадковості;
- 1946 рік; Герман Джозеф Мюллер (Hermann Joseph Muller) за використання рентгенівського випромінювання для одержання мутацій *in vivo*;
- 1995 рік; Едвард Левіс (Edward B. Lewis), Кріс-тін Нюсслейн-Волхард (Christine Nüsslein-Volhard) та Ерік Вішаус (Eric Wieschaus) за внесок у з’ясування генетичного контролю раннього ембріонального розвитку;
- 2011 рік; Брюс Бейтлер (Bruce Beutler) та Жюль Гофман (Jules Hoffmann) за успіх у визначенні вродженого імунітету;
- 2017 рік; Джефрі Хол (Jeffrey Hall), Майкл Росбаш (Michael Rosbash) і Макл Янг (Michael Young) за внесок у розуміння молекулярних механізмів, які контролюють циркадні ритми.

Були й інші вагомі відкриття, які не відзначені найвищою науковою нагородою, та все ж виявилися безцінними для розвитку цілих напрямів у науці. Так, у 1970-х роках завдяки *D. melanogaster* відкрились нові можливості для поведінкових досліджень, коли Сеймур Бензер застосував плодову мушку як модель у вивченні генетичної основи складної поведінки [9]. С. Бензер висловив революційну пропозицію – досліджувати складні процеси нейродегенерації та закономірності розвитку нервової системи на дрозофілі. Праці С. Бензера і його співробітників, присвячені індуванню мутантів із поведінковими змінами та дегенерацією тканини мозку [9],

започаткували новий науковий напрям – нейрогенетику дрозофіли, який успішно розвивається і нині.

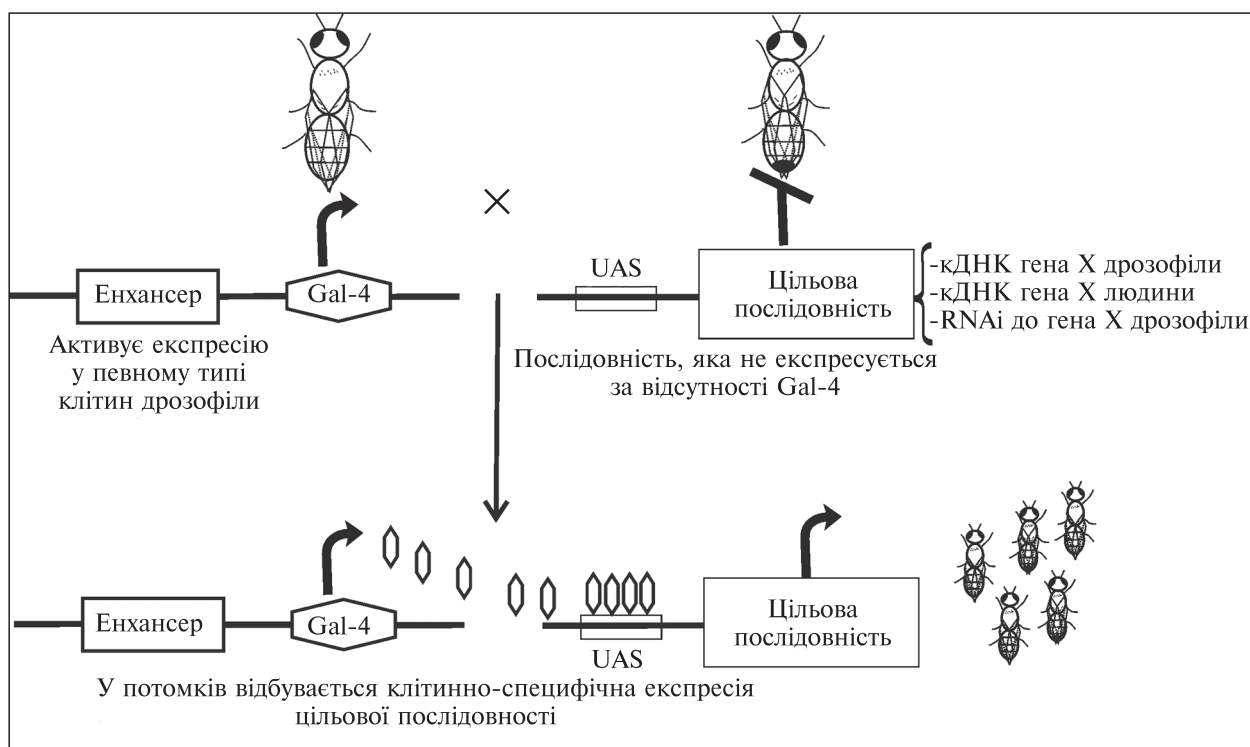
Мозок дрозофіли є складним утвором, який має більше, ніж 100000 нейронів та різні типи гліальних клітин [10]. І хоча структурно мозок дрозофіли не аналогічний до такого у хребетних, однак виявилась висока консервативність у молекулярних та клітинних механізмах, які забезпечують нервові функції хребетних та безхребетних тварин: аналогічна будова клітин, структура нейромедіаторів, система транспорту молекул, основні регуляторні каскади та ін. Дія багатьох речовин, які впливають на стан нервової системи, виявилась подібною у дрозофіли і у ссавців як на молекулярно-генетичному рівні, так і на рівні фізіологічних реакцій [11, 12].

Варто відзначити, що дрозофіла залишається незамінною складовою навчальної програми з генетики, біології розвитку та інших напрямків у всіх провідних університетах. Робота з мутантами дрозофіли є найкращим підходом для ілюстрації практичних аспектів теорії спадковості та пояснення концепції моделювання захворювань людини на тваринних об’єктах.

Успіх використання дрозофіли в освітній і науковій діяльності пояснюється не лише перевагами самої мушки, але і заслугами дослідників, які працювали і працюють з цим об’єктом, дотримуючись так званої «етики дрозофілістів» (fly worker ethos). І хоча саме поняття описане Д. Білдером та К. Ірвіном лише у 2017 році [13], принцип був закладений ще Т. Морганом. Оскільки культура дрозофіли неможуть бути заморожені для зберігання, потребують постійної активної підтримки, то обмін лініями серед дрозофілістів має бути вільним та відкритим. Завдяки існуванню «етики дрозофілістів» на сьогодні у світі існує близько 80000 ліній дрозофіли. Більшість із них зберігається у великих колекційних центрах, найбільшим з яких є The Bloomington *Drosophila* Research Center (BDSC), створений на базі Університету Індіани (США). Разом з цим, у кожній лабораторії, яка працює з дрозофілою, є своя колекція ліній.

Всі відомості про дрозофілу зібрані та постійно оновлюються у базі даних FlyBase <http://flybase.org>, яка є важливим інструментом у щоденній роботі дослідників-дрозофілістів. На цьому ресурсі зібрана інформація про всі гени дрозофіли та їхні алельні форми, всі наявні генетичні конструкти, всі лінії, які є доступними у різних колекціях; крім того, є і така базова інформація, як номенклатура запису генотипів дрозофіли, основні методики роботи з дрозофілою та ін.

**Сучасні методичні підходи у генетичному аналізі *D. melanogaster*.** У *D. melanogaster* є чотири пари хромосом: перша пара – статеві (X та Y), 2-а, 3-я та 4-а



**Рис. 1.** Принцип функціонування UAS/Gal4 системи керованої експресії (опис в тексті)

пари хромосом – аутосоми. Четверта хромосома найменша за розміром та кількістю генів, за нею складно одержати трансгенні чи інсерційні конструкти, тому вона найрідше згадується у роботах дослідників [14]. Основні пошукові дослідження стосуються генів трьох пар хромосом, за якими розроблені балансерні хромосоми (балансири). Балансери несуть множинні інверсії, роль яких полягає у блокуванні рекомбінації та забезпеченні генетичної стабільності лінії, низку рецесивних і щонайменше один домінуючий маркер, за яким здійснюють фенотиповий аналіз [14].

Одною з переваг дрозофіли є можливість у відносно короткий термін проводити масштабні скринінгові дослідження для пошуку нових генів, поглиблення знань про функції вже відомих генів, а також для виявлення мішеней дії певних сполук. У генетичному скринінгу застосовують одну з двох основних стратегій – пряму (Forward) або обернену (Reverse) генетику [15]. Прямий підхід передбачає випадковий загальний мутагенез із одержанням великої кількості мутантів необхідного фенотипу та подальший аналіз для виявлення ушкоджених генів. З метою одержання мутантів традиційно використовують рентгенівське випромінення, етилметансульфонат (EMS) або P-інсерційний мутагенез [16]. Натомість обернений підхід полягає у спрямованому

впливі на вже відомий ген, зміні його активності, виявленні особливостей біологічної ролі у різних типах клітин і на різних етапах онтогенезу [17, 18]. Для такої роботи, передовсім, є зручними трансгенні системи керованої експресії.

**Хімічний мутагенез.** Найчастіше для хімічного мутагенезу у дрозофіли використовують EMS, який з високою частотою індукує точкові мутації [16]. У разі личинкового згодовування низьких концентрацій 2,5 мМ EMS виникає, в середньому, одна точкова мутація на 1000 хромосом [19]. Насамперед EMS аденілує гуанін до O<sup>6</sup>-метилгуаніну, який здатен утворювати пари з тиміном в ході реплікації ДНК. Мутагенна дія EMS полягає в індукції транзицій, трансверсій та деколи невеликого розміру делецій, що дозволяє отримати широкий спектр мутацій у будь-якій ділянці геному дрозофіли.

**P-інсерційний мутагенез** передбачає використання транспозиції P-елементу (рідше інших транспозонів) з метою зміни функції гена. Ця мета досягається або внаслідок інсерції у послідовність гена, або шляхом перебудов, які спричиняє транспозон вбудовуючись, переважно, поблизу сайтів початку транскрипції [20, 21]. P-інсерційний мутагенез не є керованим, не можливо передбачити місце інсерції, тому у випадку цього мутагенезу необхідний подальший аналіз для виявлення гена-мішені [22].

*P*-елемент опосередкована трансдукція вперше була здійснена у 1982 Рубіном (Rubin) та Спрадлінгом (Spradling) [23], і у наш час саме цей метод створення трансгенних ліній застосовується найчастіше [24]. У цьому методі транспозон *P*-елемент служить основою для створення векторної молекули, яка вносить цільову послідовність у геном дрозофіли. Для того, щоб оцінити, чи пройшла трансдукція, трансгенна послідовність повинна містити маркер. Як правило, це ген *mini-white*. У такому разі для трансдукції використовують мух лінії *white*, і ті особини, в яких успішно відбулася трансдукція, матимуть червоні (або оранжеві) очі. Ін'єкцію цільової плазмиди здійснюють на стадії ембріона разом із плазмідною, яка кодує *P*-транспозазу: фермент вирізає *P*-елемент з вектора та вставляє всю послідовність у випадкове місце геному недиференційованої клітини ембріона [25]. Такі трансгенні особини містять вставку у статевих клітинах і після схрещування між собою здатні давати велику кількість потомків із трансгенною вставкою у всіх типах клітин. Частота трансформації складає близько 10–15 %, однак цього достатньо для успішного одержання трансгенних ліній.

*UAS/Gal4 система керованої експресії* дозволила досягнути значного прогресу в різноманітних дослідженнях на дрозофілі, та є найбільш затребуваним інструментом роботи на даний час [26]. Ця система передбачає використання двох типів ліній, після схрещування яких у потомків першого покоління будуть одержані необхідні характеристики. Ефекторна лінія у *P*-векторі містить *UAS* (upstream activating sequences) послідовність дріжджового походження, а драйверна лінія у *P*-векторі містить ген, що кодує білок *Gal4* – специфічний активатор *UAS* [26]. Під *UAS* промотором міститься послідовність, яка і є предметом дослідження, а місце та час її експресії визначається енхансером, під яким знаходиться *Gal4* (рис. 1). *UAS* лінії можуть містити послідовності кДНК будь-якого гена дрозофіли для створення його надекспресії; послідовність кДНК гена людини для гетерологічної експресії; послідовність *RNAi* для створення нокдауну генів дрозофіли; послідовність *miRNA* для вивчення регуляції активності генів та ін. Зараз вже доступні кілька сотень *Gal4* ліній, і їхня кількість постійно зростає. Саме ці лінії забезпечують керування експресією завдяки властивостям використаного енхансера дрозофіли у складі трансгенного конструкту.

**Моделювання нейродегенеративних захворювань людини на *D. melanogaster*.** Центральна нервова система (ЦНС) дрозофіли представлена білатерально симетричним мозком з двома типами клітин: нейронами та гліоцитами. Нейрони забезпечують передачу нервових імпульсів, а гліальні клітини підтримують нейрони впродовж всього онтогенезу, здійснюючи

трофічну функцію [10, 27]. У вивченні нейропатій важливо зосередитись на взаємодії нейронів і гліальних клітин. Власне дрозофіла є зразковим модельним об'єктом для розкриття цієї проблеми. Поєднання різних методів генетичного аналізу разом із доступністю дослідження анатомічних і фізіологічних показників робить *D. melanogaster* унікальною модельною системою із досконалим інструментарієм (рис. 2).

Мутанту *D. melanogaster* з нейродегенеративним фенотипом у центральній нервовій системі в більшості випадків були одержані класичними генетичними методами без будь-яких попередніх відомостей про задіяні гени чи білки. Мутанти із змінами у поведінці та вкороченою тривалістю життя були описані Сеймуром Бензером ще в 60-х роках [9], а у мутанта *drop dead (drd)* вперше окрім цих ознак було ще й виявлено дегенерацію тканини мозку [28]. Саме тоді вперше запропонували використовувати дрозофілу не тільки для вивчення механізмів окремих поведінкових реакцій (руху, фототаксису, циркадних ритмів тощо), а й вікової нейродегенерації. На цей час отримано близько 20 мутантів із дегенеративними змінами в мозку (табл. 1), однак не всі вони були охарактеризовані у повному обсязі через методологічну складність такого підходу.

Найкраще вивченим можна вважати ген *swiss cheese (sws)*, вперше описаний у 1997 році [29, 30], ортологом якого у людини є ген *NTE (neuropathy target esterase, або PNPLA6)*. На час відкриття гена *sws* про продукт гена *NTE* було відомо лише те, що він задіяний у розвитку індукованої ортаносфатами відтермінованої нейропатії (*OPIDN organophosphorus induced delayed neuropaty*), і не було жодних відомостей про спадкові нейродегенерації, пов'язані з цим геном. Однак опис гена *sws* спонукав до проведення досліджень по виявленню його ортолога у мишей, а згодом були описані нейродегенеративні патології людини, зумовлені мутаціями в гені *PNPLA6* [31, 32]. Мутанти за геном *sws* мають унікальну дослідницьку цінність ще й тому, що одночасно у них відбувається і дегенерація нейронів, і дисфункція гліальних клітин. Історія опису та вивчення гена *sws* є яскравим прикладом важливого внеску робіт на дрозофілі у фундаментальне розуміння генетичної регуляції будови та функціонування мозку.

Для багатьох зазначених у таблиці 1 генів відомі партнери – гени, продукти яких залучені у той самий сигнальний шлях, або у забезпечення того ж фундаментального клітинного процесу, що і продукт гена, який зумовлює нейродегенерацію. Наприклад, ген *blue cheese (bchs)*, експресуючись в нейронах, задіяний, як і його гени-партнери, в автофагії. Відомо, що продукт гена *bchs* діє як антагоніст продукту гена *Rab11*, та залучений у *ref(2)P*-опосеред-

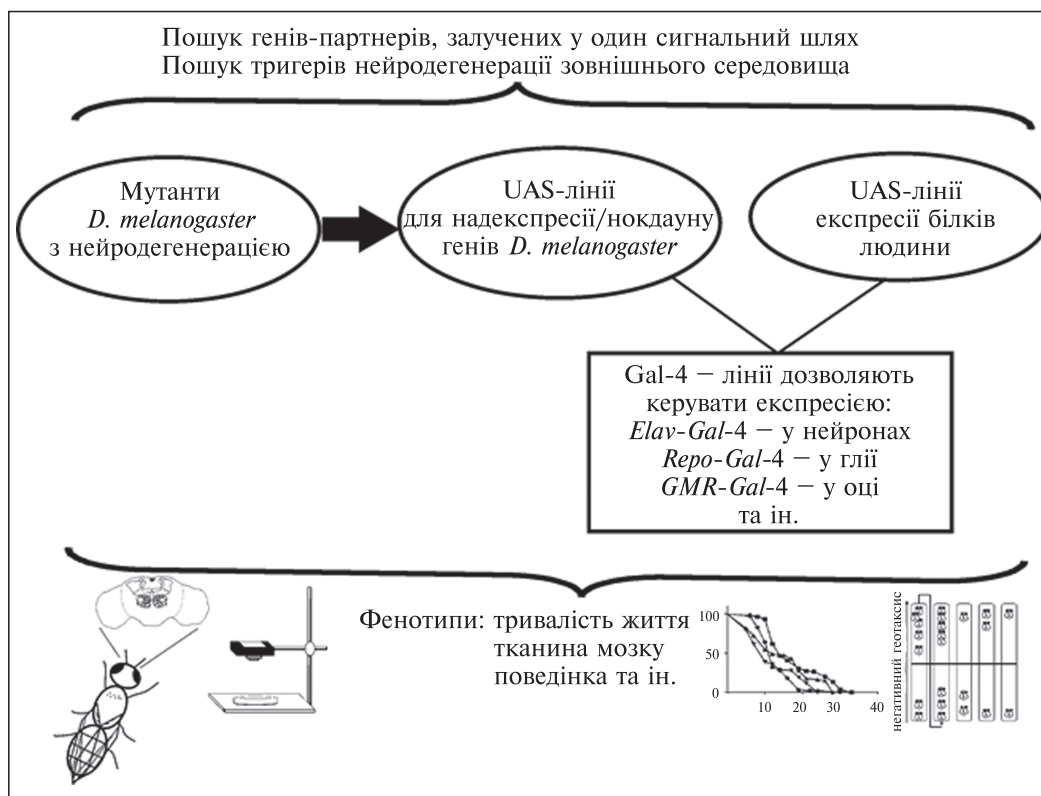


Рис. 2. Стратегія моделювання та вивчення процесів нейродегенерації на *D. melanogaster*

ковану агрефагію. Немає відомостей про участь генів-партнерів гена *bchs* безпосередньо в нейродегенеративних процесах. І тільки для *bchs* є експериментальні докази того, що продукт цього гена бере безпосередню участь у розвитку нервової системи, везикулярному транспорті та метаболізмі сфінголіпідів; мутації в гені та дисфункція його продукту призводить до формування убіквітинвмісних комплексів та відмирання мотонейронів [33-35] (табл.1). Щодо продукту гена *spin*, то він також залучений у процеси автофагії, а саме у mTOR-залежний шлях та перетворення лізосом [53]. Множинні дегенеративні фенотипи та зміни у поведінці комах спостерігаються у тих випадках, коли продукт гена бере участь у забезпеченні фундаментальних клітинних процесів (наприклад, автофагії), або ж є компонентом універсальних клітинних структур (таких як мікротрубочки) – у випадку продукту гена *futsch* [42, 43].

Для деяких наведених в таблиці 1 генів донині залишається відкритим питання, у які сигнальні шляхи залучені їх продукти. Так, у разі мутації в гені *dare*, було описано фенотип порушення ольфакторної поведінки. Відомо, що продуктом цього гена є фермент, необхідний для синтезу стероїдних гормонів [40], однак на даний час не відомий лан-

цюг молекулярних та клітинних процесів, які ведуть від мутації у гені до змін у структурі мозку та в поведінці.

Щонайменше для трьох описаних мутантів – за генами *loe*, *sni*, *Sod1*, характерний прояв дегенеративного фенотипу та значне його посилення за умов оксидативного стресу, створеного дією прооксидантів [45, 47, 51]. У гомозиготному стані мутації у гені *Sod1* мають летальний або напівлетальний ефект, що свідчить про фундаментальну важливість гена для організму. Фермент Cu-Zn-супероксиддисмутаза (СОД) – продукт гена *Sod1*, є одним з основних компонентів антиоксидантного захисту клітин, функціонує на всіх стадіях онтогенезу та в багатьох типах клітин різних органів. Однак, характеристики нейродегенеративних змін у *D. melanogaster*, викликаних мутаціями в гені *Sod1*, мають слабший фенотип – це невеликі зони дегенерації мозку, спостерігається неповна пенетрантність та ін. [50, 51]. Можливо, часткове зниження антиоксидантного захисту внаслідок порушення функціонування СОД здатне компенсуватись іншими компонентами захисту клітини, наприклад ферментом каталазою. На відміну від гена *Sod1*, гени *loe* та *sni* забезпечують специфічні ланки антиоксидантного захисту. Так,

продукт гена *loe* є специфічною протеїнкіназою, яка переважно функціонує у нервовій системі дорослих особин [45], а продукт гена *sni* попереджає апоптоз через видалення ушкодженого кардіоліпіну [47, 48].

Слід зазначити, що класичний скринінг мутантів із подальшим їх вивченням має низку обмежень. Прикладом є факт, що більшість генів еукаріотичних організмів володіють диференційною активністю, охарактеризувати яку складно, вивчаючи лише особин із точковими мутаціями. На допомогу у вирішенні цієї проблеми приходить застосування система керованої експресії *UAS/Gal4*.

Модельовання нейродегенеративних захворювань людини з допомогою трансгенних конструктів в геномі *D. melanogaster* та ектопічної експресії білків людини. Окрім вивчення функції генів дрозофіли, які є орто-

логами генів людини і залучені у розвиток нейропатій, можна експресувати білки людини в організмі *D. melanogaster* із подальшим вивченням їхнього функціонування. Можливість такої ефективної ектопічної експресії є ще одним доказом високої консервативності більшості клітинних, молекулярних і навіть фізіологічних процесів у людини та дрозофіли. У таблиці 2 зведено коротку характеристику фенотипових проявів у дрозофіли, зумовлених експресією білків людини, задіяних у розвитку основних НДЗ, таких як хвороба Альцгеймера (ХА), хвороба Паркінсона (ХП), хорея Гантінгтона (ХГ), аміотрофічний латеральний склероз (АЛС).

Серед нейродегенеративних захворювань найбільш поширеною є ХА, за сучасними прогнозами до 2050 року один із 85 людей буде страждати цією

Таблиця 1. Гени, мутації в яких викликають нейродегенеративні зміни в центральній нервовій системі *D. melanogaster*

Мутація	Функція продукту гена/Фенотипові зміни	Ортолог людини/Захворювання	Джерело
<i>blue cheese (bchs)</i>	Бере участь в автофагії/Убіквітинвмісні комплекси у мозку, відмирання мотонейронів	WDFY3/Мікроцефалія-18 (МСРН18)	[33, 34, 35]
<i>bubblegum (bgm)</i>	Довгий ланцюг ацил-СоА-синтази/Вакуолізація тканини мозку та ретини; дезорганізація мембран тіл нейронів та аксонів	ACSBG2/Адренолейкодистрофія	[36, 37, 38]
<i>drop-dead (drd)</i>	Трансмембранний білок/Відсутність перитрофічної мембрани, загальна вакуолізація мозку та деградація трахей, порушення координації руху, вкорочена тривалість життя	НД*	[28, 39]
<i>defective in the avoidance of repellents (dare)</i>	Адрендоксинредуктаза/Загальна вакуолізація мозку, порушення ольфакторної поведінки	FDXR/Сенсорна нейропатія	[40, 41]
<i>futsch</i>	Білок мікротрубочок/Дефект мікротрубочок аксонів, вакуолізація в ольфакторній зоні мозку, порушене навчання	MAP1 родина генів (MAP1A, MAP1B та MAP1S)/НД	[42, 43, 44]
<i>loechrig (loe)</i>	SNF4-АМФ-залежна протеїнкіназа/Загальна вакуолізація мозку, чутливість до оксидативного та метаболічного стресів	PRKAG2/Кардіоміопатія	[45, 46]
<i>sniffer (sni)</i>	Карбонілредуктаза/Загальна вакуолізація та апоптоз внаслідок оксидативного стресу	RDH5/Вроджена нічна сліпота (Fundus albipunctatus)	[47, 48, 49]
<i>Superoxide dismutase (Sod1)</i>	Супероксиддисмутаза/Загальна вакуолізація мозку, чутливість до оксидативного стресу	SOD1/Аміотрофічний латеральний склероз	[50, 51, 52]
<i>spinster (spin)</i>	Трансмембранний білок мембран лізосом у глії/Багатошарові включення в мозку, дефект нейро-м'язових з'єднань, поведінкові зміни	SPN/НД	[53]
<i>swiss cheese (sws)</i>	Лізофосфоліпаза/Дегенерація нейронів та глії, рухові зміни, вкорочена тривалість життя	PNPLA6/Спастичні параплегії	[54, 55, 56, 31, 32]

Примітка. НД – немає даних.

патологією [77]. У пацієнтів із ХА в мозку відбувається агрегація білка бета-амілоїду та утворюються нейрофібрилярні клубки із гіперфосфорильованого Тау білка [65]. Наразі сконструйовано близько 40 ліній дрозофіли як дикого типу, так і мутантних, для експресії різних форм Тау та бета-амілоїду людини [78]. Роботи із дрозофілою посприяли кращому розумінню таких процесів, як: фосфорильовання Тау і його токсичність [79, 80], роль оксидативного стресу у цьому [78], нейротоксичний механізм взаємодії між Тау та бета-амілоїдом [79], а також можливість запобігти цим формам токсичності [82].

ХП є другою за поширеністю серед НДЗ [83], вона характеризується прогресуючою втратою дофамінових нейронів у чорній субстанції мозку хворих. Крім того, у тканині мозку знаходять білкові включення – тільця Леві, в складі яких є альфа-синуклеїн та фосфорильований Тау [68, 84]. Запропоновано низку пояснень патогенезу цієї хвороби: порушення у процесах автофагії, патологія лізосом, оксидативний стрес, мітохондрійна дисфункція, проблеми із гомеостазом кальцію [85]. Однак жодне пояснення механізмів дотепер не є повним, а доступні терапевтичні заходи не є достатньо ефективними. Роботи із *D. melanogaster* сприяють розширенню розуміння всіх зазначених механізмів розвитку ХП [85], оскільки функціональні особливості дофаміну дрозофіли виявись

подібними до таких у людини, а ектопічна експресія альфа-синуклеїну людини призводить у дрозофіли до фенотипових проявів, аналогічних до симптомів ХП [86].

Дрозофіла виявилася вдалою моделлю для вивчення протейнопатій (захворювань, зумовлених порушенням фолдингу білків), до яких належить хорея Гантінгтона [73]. ХГ зумовлена експансією ЦАГ-триплетів у гені *Huntingtin*, що призводить до наявності поліглютамінових повторів у білку Huntingtin. За експресії мутантного білка людини у дрозофіли розвиваються фенотипові прояви, подібні до таких у людини, зокрема, пізня маніфестація, прогресуюча втрата нейронів та рухливості, передчасна смерть та формування великих білкових агрегатів у нейронах. У мухи, як і в людини ступінь прогресування нейродегенерації прямо залежить від кількості ЦАГ-повторів [74]. У дослідженні на дрозофілі було з'ясовано роль гістонових деацетилаз у розвитку ХГ [87].

Аміотрофічний латеральний склероз є генетично гетерогенним захворюванням, яке зумовлене прогресивною втратою мотонейронів спинного та головного мозку [88]. Завдяки дослідженням на модельних об'єктах найкраще вивченою є роль гена *SOD 1*, що кодує Cu/Zn залежну супероксиддисмутазу; мутації в цьому гені виявлені у 10 % хворих на АЛС. Клітинні механізми за цього захворювання різно-

Таблиця 2. Моделювання нейродегенерації за експресії білків людини у дрозофілі

Ген/білок задіяний у розвитку захворювання	Фенотип за ектопічної експресії у <i>D. melanogaster</i>	Джерело
<i>Хвороба Альцгеймера</i>		
APPL/білок β-амілоїду	Вакуолізація тканини мозку, дегенерація ока, нагромадження амілоїдних бляшок, аксоногенез та нейро-м'язові з'єднання, вкорочена тривалість життя, рухові порушення	[57, 58, 59, 60, 61]
PSEN/Пресенілін	Дефект розвитку крила (wing notching), дефект розвитку ока (rough eye) летальність на стадії лялечки	[62, 63]
MAPT/Тау білок	Аномалія мікротрубочок цитоскелету, дегенерація ока та аксонів, дефект нейро-м'язових з'єднань	[64, 65, 66]
<i>Хвороба Паркінсона</i>		
SNCA/α-синуклеїн	Дегенерація дофамінових нейронів, зниження рухливості (climbing defect)	[67, 68]
PRKN/Паркін PINK1/Пінк	Втрата дофамінових нейронів, зниження рухливості, мітофагія	[69, 70, 71]
<i>Хорея Гантінгтона</i>		
HTT (polyQ)/Гантінгтін (з поліглютаміновим повтором)	Порушення транспорту аксонів, депігментація та дегенерація ока, рухові порушення, білкові агрегати у мозку	[72, 73, 74, 75]
<i>Аміотрофічний латеральний склероз</i>		
SOD-1/Супероксиддисмутаза	Дефект мітохондрій, зниження рухливості, втрата мотонейронів	[52, 76]

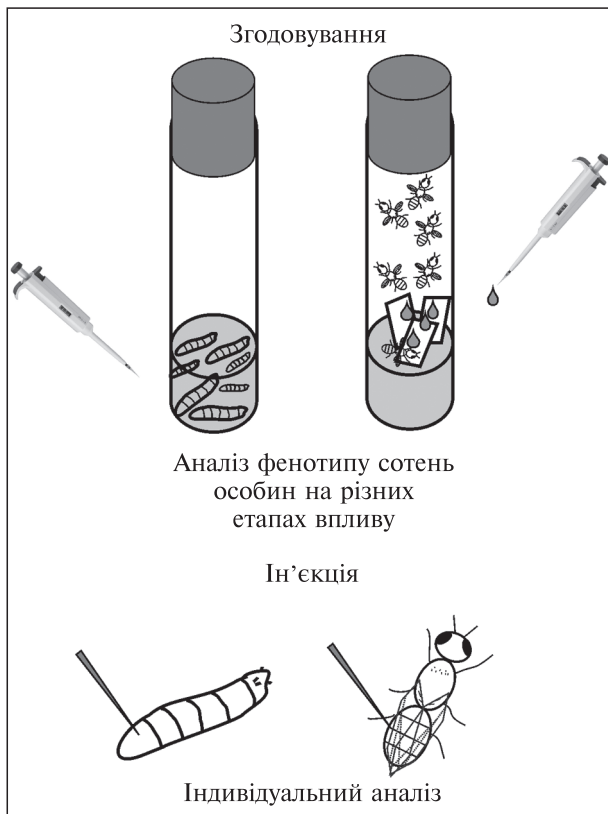


Рис. 3. Способи введення експериментальних засобів

манітні та включають оксидативний стрес, руйнування мітохондрій, порушення в гліальних клітинах та утворення білкових агрегатів у нейронах [52].

Поєднання різних методів моделювання нейродегенеративних розладів створює широкий та унікальний за можливостями інструментарій не лише для вивчення механізмів дегенерації, але і для тестування терапевтичних засобів.

**Вивчення дії нейропротекторних засобів на *D. melanogaster*.** У разі нейродегенеративних розладів одним з основних напрямів фармацевтичних досліджень є пошук нейропротекторних засобів. Нейропротектори – це сполуки і лікарські засоби різної хімічної природи та походження, які здатні призупинити процес нейродегенерації, а також можуть використовуватися для профілактики розвитку патології. Це антиоксиданти, засоби традиційної медицини, пептидні нейропротектори та ін. Нейродегенерація у *D. melanogaster* слугує хорошою модельною системою для первинного скринінгу та доклінічних досліджень потенційних нейропротекторів. Використання такої моделі дозволяє протестувати багато сполук за короткий термін і з невисокою вартістю.

Для успішного застосування цієї моделі та вірної інтерпретації результатів слід пам'ятати і про обмеження, які визначаються відмінностями між людиною та дрозофілою. Насамперед слід врахувати властивості гемато-енцефалічного бар'єру, фармакодинаміку та фармакокінетику малих молекул [27, 89]; досліджувати лише ті молекули, які здатні проникати до мозку і людини, і дрозофіли. На цей час такі дані відомі вже практично для всіх типів сполук та молекул завдяки численним фундаментальним дослідженням присвяченим особливостям гематоенцефалічному бар'єру людини та дрозофіли.

Для висновку про ефективність засобу необхідна оцінка кількох фенотипових проявів, які є спільними характеристиками нейродегенерації у дрозофіли та людини: тривалість життя, поведінкові зміни та ступінь дегенерації клітин. Позитивним впливом можна вважати будь-яке покращення цих показників, навіть якщо воно не буде повністю досягати контрольних значень. Також бажаним ефектом є відтермінування появи симптомів, оскільки основним завданням на сьогодні є пошук терапії, яка могла б збільшити активний період життя хворих на нейродегенеративні розлади.

Способи введення засобів можуть бути різними, однак здебільшого застосовують згодовування із поживним середовищем, рідше – ін'єкції (рис. 3). Личинкове згодовування досліджуваних речовин здійснюють шляхом додавання їх до стандартного поживного середовища, в якому личинки розвиваються [90]. Цей метод обирають із врахуванням того, що у дрозофіли саме на стадії личинки відбувається найінтенсивніше харчування [91]. Дорослі особини харчуються менш інтенсивно, однак все ще потребують поживних речовин і води, тому засоби для споживання на стадії імаго додають або безпосередньо у середовище, або на фільтрувальний папір у розчині сахарози, глюкози або в дріжджовій пасті [92, 93]. Можливі два способи згодовування дорослих особин: якщо необхідно забезпечити одноразове коротке споживання, мухи попередньо піддаються 3–4-годинному голодуванню; у разі вивчення тривалого впливу досліджувані особини через кожні два дні пересаджуються на свіже середовище. Інколи, якщо засіб має неприємний для мух запах чи смак, потрібно застосовувати добавки, такі як фруктові пюре.

Якщо згодовування є неможливим, засіб вводять методом ін'єкції у черевце [94], хоча ця процедура може виявитись травматичною. Онтогенетичну стадію введення препарату обирають здебільшого з огляду на особливість фенотипового прояву, та досліджують ефект на тій стадії, коли був введений засіб. Однак, є докази того, що варто один і той



самий засіб застосовувати на різних стадіях розвитку дрозофіли та порівнювати ефекти [90]. Це важливо для пошуку мішені дії та для можливої екстраполяції даних на людину. Патерн експресії генів дрозофіли та людини впродовж онтогенезу може значно відрізнятись, тому у деяких випадках не-

**Таблиця 3. Вплив антиоксидантів на особин дрозофіли із нейродегенеративними змінами**

Нейродегенеративна модель <i>D.melanogaster</i>	Вплив	Джерело
	<i>Арахідонова кислота (з арахісової олії)</i>	
ХП індукована прооксидантами (ротенон, паракват)	Зменшення кількості АФК, зменшення кількості відмерлих дофамінових нейронів, покращення рухової активності	[101]
	<i>Капсаїцин (з червоного перцю)</i>	
ХП за експресії $\alpha$ -синуклеїну людини у нейронах дрозофіли	Зменшення продуктів ПОЛ, підвищення активності антиоксидантних ферментів	[102]
	<i>Куркумін (з кореня куркуми)</i>	
ХП індукована прооксидантами та зміною експресії гена UCHL1 (Park5)	Зменшення кількості АФК, зменшення кількості відмерлих дофамінових нейронів, нормалізація рухової активності, збільшення тривалості життя	[103, 104]
ХГ за експресії гантінгтіну в нейронах та клітинах ока	Зменшення кількості відмерлих ретиноцитів, нормалізація рухової активності	[105]
	<i>Кроцин (у складі шафрану)</i>	
ХП індукована прооксидантами	Відтермінування розладів руху та збільшення тривалості життя	[106]
	<i>Поліфеноли зеленого чаю</i>	
ХГ за експресії гантінгтіну в нейронах	Збільшення тривалості життя	[107]
	<i>Пірролохінолінхінон (метоксантин, PQQ)</i>	
ХП за експресії PRKN людини у нейронах дрозофіли та park мутант	Нормалізація кількості дофамінових нейронів, кількості нормальних мітохондрій у м'язах та рухової активності	[108]
	<i>Резвератрол (з шкірки винограду)</i>	
ХП індукована прооксидантами та PINK1 – асоційована	Зменшення дегенерації мозку та збільшення нормальних мітохондрій у м'язах, збільшення тривалості життя	[109, 110]
	<i>Спермідин</i>	
ХП за експресії $\alpha$ -синуклеїну людини у нейронах дрозофіли	Покращення показників рухової активності, збільшення тривалості життя	[111]
	<i>Екстракт Mucuna pruriens та Withania somnifera</i>	
АЛС за експресії SOD-1 людини у мотонейронах	Покращення показників рухової активності та електрофізіологічних показників активності м'язів	[52]
	<i>Екстракт кореня Decalepis hamiltonii</i>	
ХП за експресії $\alpha$ -синуклеїну людини у нейронах дрозофіли	Зменшення кількості АФК, покращення показників рухової активності	[112]
	<i>Екстракти Radina pavonica та Opuntia ficus-indica</i>	
ХА за експресії $\beta$ -амілоїду людини у нейронах дрозофіли	Покращення рухової поведінки, збільшення тривалості життя	[113]

можливе пряме порівняння молекулярних характеристик ранніх та пізніх стадій розвитку представників різних видів.

Антиоксиданти та сполуки рослинного походження широко досліджуються як можливі нейропротектори, оскільки роль оксидативного стресу в етіології нейродегенеративних розладів добре відома [95, 96]. Оксидативний стрес – це стан, за якого кількість активних форм кисню (АФК) значно зростає та може призводити до руйнування клітинних структур, і, як наслідок, до порушення балансу між оксидативними та антиоксидантними процесами. Підвищена кількість АФК може мати комплексний ефект, та привести до значної зміни у складі багатьох клітинних компонентів, зокрема продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОК) [97].

Однак слід пам'ятати, що антиоксидантна система не має на меті повного позбавлення активних форм кисню, оскільки певна кількість їх необхідна для забезпечення життєздатності клітин [98]. Сполуки та молекули з антиоксидантними властивостями часто мають рослинне походження, а саме є вторинними метаболітами рослин. Впродовж двох десятиліть інтерес до сполук рослинного походження послабився, однак за останні декілька років кількість повідомлень про відновлення робіт із вивчення антиоксидантних властивостей рослинних метаболітів різко зросла [99]. Це пов'язано з загальною кризою пропозицій у сфері пошуку нових терапевтичних та профілактичних засобів і закликком до переосмислення вже відомих засобів. Нові можливості надають також сучасні методи хімічного аналізу, які дозволяють із складних екстрактів виокремлювати діючу речовину [100]. На даний час є низка повідомлень про ефективний вплив деяких антиоксидантів на покращення фенотипових проявів нейродегенерації у особин дрозофіли (табл. 3).

Пептидні нейропротектори – це група окремих білків або суміші пептидів та амінокислот, які походять з тканини мозку різних організмів. Вже близько 40 років відомо, що окремі нейрони ссавців і безхребетних можуть виробляти більше, ніж один нейротрансмітер [114, 115, 116]; більше того, показано колокалізацію нейропептидів і малих нейротрансмітерних молекул (small molecule neurotransmitters (SMNs)) [116, 117]. Схоже, що нейропептиди здатні розширяти функціональний діапазон нейрональних зв'язків або навіть змінювати їх конфігурацію. Нейропептиди здатні переміщуватися в межах ЦНС та діяти поза синапсами, в тому числі далеко від місця вивільнення [116, 118]. Така їхня властивість значно підвищує гнучкість нейромодуляції та функціонування нервової системи загалом, оскільки нейротрансмітери (SMNs) обмежені синапсами. Репертуар дій та перелік колокалізованих

сполук у комах був значно розширений із відкриттям нейросекреторних клітин кишкового тракту, які виробляють пептидні гормони здатні діяти як локально у паракринних сигналах, так і у нейрональних зв'язках ЦНС [119, 120].

Одною з перших виникла ідея про використання суміші низькомолекулярних пептидів та вільних амінокислот із гомогенатів мозку тварин. Так, найвідомішим фармацевтичним препаратом цієї серії є Церебролізин (Cerebrolysin®) – екстракт з мозку свиней представлений малими пептидами (<10 кДа) та вільними амінокислотами, який застосовується як нейротрофічний засіб [121]. Було створено низку подібних експериментальних засобів, у яких розробники передбачали вищий рівень нейроактивних пептидних молекул завдяки особливостям їхнього походження. Наприклад, засіб Мітохондрин-2 (М-2) [122] міг володіти вищою ефективністю, оскільки був створений на основі мозку поросят, які пережили гіпоксію в пологах, однак не мали жодних негативних її наслідків. Засіб було протестовано на особинах *D. melanogaster* із *sws*-залежною нейродегенерацією, та виявлено здатність М-2 відтермінувати та сповільнювати дегенеративні процеси у мозку [90]. Однак механізм дії залишається не з'ясованим, а також не відомо, чи функціональними властивостями володіє вся суміш, яка є у засобі, чи лише окремі молекули у ній.

Вже близько 100 років *D. melanogaster* слугує основним модельним об'єктом для з'ясування фундаментальних генетичних, молекулярних, клітинних та навіть поведінкових механізмів. Широкі методичні можливості та порівняно швидке одержання результату роблять цей модельний об'єкт цінним та перспективним для виявлення механізмів розвитку найскладніших захворювань людини, таких як нейродегенеративні. Зокрема, моделювання нейропатій людини на дрозофілі для пошуку нейропротекторів – сполук неспецифічної дії, здатних відтермінувати чи призупиняти дегенерацію нервової тканини.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Фінансування.** Це дослідження виконане за часткової підтримки дослідницького гранту Volkswagen Stiftung.

DROSOPHILA MELANOGASTER – MODEL SYSTEM FOR THE STUDY OF HUMAN NEUROPATHY AND TESTING OF NEUROPROTECTORS

*N.P. Matiytsiv, Ya.I. Chernyk*

Ivan Franko National University of Lviv, Department of Genetics and Biotechnology

At present, molecular characteristics of the occurrence

and development of neurodegenerative diseases – some of the most severe and currently incurable ones – are yet to be studied in full detail. Therefore, it is still relevant to search for medicines to eliminate, relieve or delay the symptoms of these pathologies. Given the complexity of research in humans, the detection of genes that are associated with the development of neurodegenerative changes, the study of their functioning in various tissues (neuronal and glial) and at different stages of ontogenesis are carried out on model objects. *Drosophila melanogaster* is one of the best and affordable models to find out the molecular genetic mechanisms of neurodegeneration development, as well as for initial testing of new compounds with neuroprotective properties. Here we discuss the methods of genetic analysis on the *Drosophila*, the use of *D. melanogaster* to model neurodegenerative human disorders, the opportunities to use these models as test systems for the study of potential neuroprotectors.

**DROSOPHILA MELANOGASTER – МОДЕЛЬНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ НЕЙРОПАТИИ ЧЕЛОВЕКА И ТЕСТИРОВАНИЯ НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫХ СРЕДСТВ**

*Н.П. Матийцив, Я.И. Черник*

На сегодня молекулярные характеристики возникновения и течения нейродегенеративных заболеваний – одних из самых тяжелых и пока неизлечимых – остаются не до конца выясненными. Поэтому сохраняет актуальность поиск лекарственных средств для устранения, ослабления или отсрочки симптомов этих патологий. Учитывая сложность проведения исследований у человека, выявление генов, связанных с развитием нейродегенеративных изменений, исследование их функционирования в различных тканях (нейрональной и глиальной) и на разных стадиях онтогенеза проводят на модельных объектах. *Drosophila melanogaster* является одним из лучших и доступных объектов для выяснения молекулярно-генетических механизмов развития нейродегенерации, а также для начальной апробации новых соединений с нейропротекторными свойствами. Здесь мы обсуждаем методы генетического анализа на дрозофиле, использование *D. melanogaster* для моделирования нейродегенеративных расстройств человека, возможности использовать эти модели в качестве тест-системы для изучения потенциальных нейропротекторов.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРИ**

1. Cuny, G.D., Neurodegenerative diseases: challenges and opportunities, *Future Med. Chem.*, 2012, vol. 4, pp. 1647–9.
2. Saxena, S., Funk, M., and Chisholm, D., World Health Assembly adopts comprehensive mental health action plan 2013–2020, *The Lancet*, 2013, vol. 381, pp. 1970–1.
3. Lage, O.M., Ramos, M. C., Calisto, R., Almeida, E., Vas-

- concelos, V., and Vicente, F., Current screening methodologies in drug discovery for selected human diseases, *Mar Drugs*, 2018, vol. 16, no. 8, pp. 279. doi: 10.3390/md16080279
4. Kenney, D., and Borisy, G., Thomas Hunt Morgan at the Marine Biological Laboratory: naturalist and experimentalist, *Genetics*, 2009, vol. 181, no. 3, pp. 841–6.
5. Adams, M., Celniker, S., Holt, R., Evans, C., Gocayne, J., Amanatides, P., Scherer, S., Li, P., Hoskins, R., Galle, R., et al., The genome sequence of *Drosophila melanogaster*, *Science*, 2000, vol. 287, no. 5461, pp. 2185–95.
6. Pandey, U., and Nichols, CD., Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery, *Pharmacological Reviews*, 2011, vol. 63, no. 2, pp. 411–36.
7. Millburn, G., Crosby, M., Gramates, L., and Tweedie, S., FlyBase portals to human disease research using *Drosophila* models, *Disease Models & Mechanisms*, 2016, vol. 9, no. 3, pp. 245–52.
8. Takano-Shimizu-Kouno, T., and Ohsako, T., Humanized Flies and Resources for Cross-Species Study, *Adv Exp Med Biol.*, 2018, vol. 1076, pp. 277–288, doi: 10.1007/978-981-13-0529-0\_15.
9. Benzer, S., From the gene to behavior, *JAMA*, 1971, vol. 15, no. 7, pp. 1015–22.
10. Mohylyak, I., Chernyk, Ya., Functioning of glia and neurodegeneration in *Drosophila melanogaster*, *Cytology and Genetics*, 2017, vol. 51, pp. 202–13.
11. Andretic, R., Kim, Y., Jones, F., Han, K., and Greenspan, R., *Drosophila* D1 dopamine receptor mediates caffeine-induced arousal, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, vol. 105, no. 51, pp. 20392–7. doi: 10.1073/pnas.0806776105
12. Wolf, M., and Rockman, H., *Drosophila melanogaster* as a model system for genetics of postnatal cardiac function, *Drug Discov. Today Dis. Models*, 2008, vol. 5, no.3, pp. 117–23.
13. Bilder, D., and Irvine, K., Taking stock of the *Drosophila* research ecosystem, *Genetics*, 2017, vol. 206, no. 3, pp. 1227–36.
14. Stocker, H., and Gallant, P., Getting started: An overview on raising and handling *Drosophila*, *Methods in Molecular Biology*, 2008, vol. 420, pp. 27–44.
15. St Johnston, D., The art and design of genetic screens: *Drosophila melanogaster*, *Nature Reviews Genetics*, 2002, vol. 3, no. 3, pp. 176–88.
16. Bokel, C., EMS screens: From mutagenesis to screening and mapping, *Methods in Molecular Biology*, 2008, vol. 420, pp. 119–38.
17. Moulton, M., and Letsou, A., Modeling congenital disease and inborn errors of development in *Drosophila melanogaster*, *Disease Models & Mechanisms*, 2016, vol. 9, no. 3, pp. 253–69.
18. Hales, K., Korey, C., Larracunte, A., and Roberts, D., Genetics on the fly: A primer on the *Drosophila* model system, *Genetics*, 2015; vol. 201, no 3, pp. 815–42.
19. Greenspan, R.J., *Fly Publishing. The theory and Practice of Drosophila Genetics*, New York: Cold Spring Harbor Lab. Press, 2000.
20. Hummel T., Klambt C., P-element mutagenesis, *Methods in Molecular Biology*, 2008, vol. 420, pp. 97–117.
21. Cooley, L., Berg, C., and Spradling, A., Controlling P

- element insertional mutagenesis, *Trends in Genetics: TIG*, 1988, vol. 4, no 9, pp. 254–8.
22. O'Hare, K., and Rubin, G.M., Structures of P transposable elements and their sites of insertion and excision in the *Drosophila melanogaster* genome, *Cell*, 1983, vol. 34, no 1, pp. 25–35.
  23. Rubin, G.M., and Spradling, A.C., Genetic transformation of *Drosophila* with transposable element vectors, *Science*, 1982, vol. 218, no 4570, pp. 348–53.
  24. Venken, K.J., and Bellen, H.J., Transgenesis upgrades for *Drosophila melanogaster*, *Development*, 2007, vol. 134, no 20, pp. 3571–84.
  25. Karess, R.E., and Rubin, G.M., Analysis of P transposable element functions in *Drosophila*, *Cell*, 1984, vol. 38, no 1, pp. 135–46.
  26. Brand, A.H., and Perrimon, N., Targeted gene expression as a means of altering cell fates and generating dominant phenotypes, *Development*, 1993, vol. 118, no 2, pp. 401–15.
  27. Limmer, S., Weiler, A., Volkenkoff, A., Babatz, F., and Klambt C., The *Drosophila* blood-brain barrier: development and function of a glial endothelium, *Front Neurosci*, 2014, vol. 8, doi: 10.3389/fnins.2014.00365.
  28. Buchanan, R.L., and Benzer, S., Defective glia in the *Drosophila* brain degeneration mutant *drop-dead*, *Neuron*, 1993, vol. 10, no. 5, pp. 839–50.
  29. Kretzschmar, D., Hasan, G., Sharma, S., Heisenberg, M., and Benzer, S., The *swiss cheese* mutant cause glial hyperwrapping and brain degeneration in *Drosophila*, *J. Neurosci*, 1997, vol. 17, pp. 7425–32.
  30. Lush, M., Li, Y., Read, D., Willis, A., and Glynn, P., Neurodegeneration target esterase and a homologous *Drosophila* neurodegeneration-associated mutant protein contain a novel domain conserved from bacteria to man, *Biochem. J.*, 1998, vol. 332, pp. 1–4.
  31. Rainier, S., Bui, M., Mark, E., Thomas D., Tokarz D., Ming L., Delaney, C., Richardson, R., Albers, J., Matsunami, N., Stevens, J., Coon, H., Leppert, M., and Fink, J., Neuropathy target esterase gene mutations cause motorneuron disease, *Am. J. Hum Genet*, 2008, vol. 82, pp. 780–5.
  32. Synofzik, M., Gonzalez, M., Lourenco, C., Coutelier, M., Haack, T., Rebelo, A., Hannequin, D., Strom, T., Prokisch, H., Kernstock, C., Durr, A., Schöls, L., Lima-Martinez, M., Farooq, A., Schüle, R., Stevanin, G., Marques, W., and Züchner, S., PNPLA6 mutations cause Boucher-Neuhauser and Gordon Holmes syndromes as part of a broad neurodegenerative spectrum, *Brain*, 2014, vol. 137, pp. 69–77.
  33. Finley KD, Edeen PT, Cumming RC, Mardahl-Dumesnil MD, Taylor BJ, Rodriguez, M., Hwang, C., Benedetti, M., and McKeown, M., *blue cheese* mutations define a novel, conserved gene involved in progressive neural degeneration, *J. Neurosci*, 2003, vol. 23, no. 4, pp. 1254–64.
  34. Lim, A., and Kraut R., The *Drosophila* BEACH family protein, *blue cheese*, links lysosomal axon transport with motor neuron degeneration, *J Neurosci*, 2009, vol. 29, no 4, pp. 951–63, doi: 10.1523/JNEUROSCI.2582-08.2009.
  35. Kadir, R., Harel, T., Markus, B., Perez, Y., Bakhrat, A., Cohen, I., Volodarsky, M., Feintsein-Linial, M., Chervinski, E., Zlotogora, J., Sivan, S., Birnbaum, R. Y., Abdu, U., Shalev, S., and Birk, O.S. ALFY-controlled DVL3 autophagy regulates Wnt signaling, determining human brain size, *PLoS Genet*, 2016, doi: 10.1371/journal.pgen.1005919.
  36. Pei, Z., Oey, N., Zuidervaart, M., Jia, Z., Li, Y., Steinberg, S., Smith, K., and Watkins, P., The acyl-CoA synthetase «bubblegum» (lipidosin): further characterization and role in neuronal fatty acid beta-oxidation, *J. Biol. Chem.*, 2003, vol. 278, no. 47, pp. 47070–8.
  37. Sivachenko, A., Gordon, H., Kimball, S., Gavin, E., Bonkowsky, J., and Letsou, A., Neurodegeneration in a *Drosophila* model of adrenoleukodystrophy: the roles of the Bubblegum and Double bubble acyl-CoA synthetases, *Dis. Model*, 2016, vol. 9, no. 4, pp. 377–87, doi: 10.1242/dmm.022244.
  38. Asheuer, M., Bieche, I., Laurendeau, I., Moser, A., Hainque, B., Vidaud, M., Aubourg, P., Decreased expression of *ABCD4* and *BGI* genes early in the pathogenesis of X-linked adrenoleukodystrophy, *Hum. Molec. Genet*, 2005, vol. 14, pp. 1293–303.
  39. Conway, S., Sansone, C., Benske, A., Kentala, K., Billen, J., Vanden Broeck J., and Blumenthal, E., Pleiotropic and novel phenotypes in the *Drosophila* gut caused by mutation of *drop-dead*, *J. Insect. Physiol.* 2018, vol. 105, pp. 76–84, doi: 10.1016/j.jinsphys.2018.01.007.
  40. Freeman, M., Dobritsa, A., Gaines, P., Segraves, W., and Carlson, J., The *dare* gene: steroid hormone production, olfactory behavior, and neural degeneration in *Drosophila*, *Development*, 1999, vol. 126, no. 20, pp. 4591–602.
  41. Paul, A., Drecourt, A., Petit, F., Deguine, D. D., Vasnier, C., Oufadem, M., Masson, C., Bonnet, C., Masmoudi, S., Mosnier, I., Mahieu, L., Bouccara, D., and 16 others, *FDXR* mutations cause sensorial neuropathies and expand the spectrum of mitochondrial Fe-S-synthesis diseases, *Am. J. Hum. Genet*, 2017, vol. 101, pp. 630–7.
  42. Roos, J., Hummel, T., Ng, N., Klambt, C., and Davis, G., *Drosophila* Futsch regulates synaptic microtubule organization and is necessary for synaptic growth, *Neuron*, 2000, vol. 26, no 2, pp. 371–82.
  43. Brazill, J., Cruz, B., Zhu, Y., and Zhai, R., Nmnat mitigates sensory dysfunction in a *Drosophila* model of paclitaxel-induced peripheral neuropathy, *Dis Model Mech*, 2018, vol. 11, no. 6, pii: dmm032938. doi: 10.1242/dmm.032938.
  44. Halpain, S., Dehmelt, L., The MAP1 family of microtubule-associated proteins, *Genome Biol.*, 2006, vol. 7, no. 6, pp. 224, doi: 10.1186/gb-2006-7-6-224.
  45. Cook, M., Bolkan, B., and Kretzschmar, D., Increased actin polymerization and stabilization interferes with neuronal function and survival in the AMPK $\gamma$  mutant Loechrig, *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 2, e89847. doi: 10.1371/journal.pone.0089847.
  46. Morita, H., Rehm, H. L., Menesses, A., McDonough, B., Roberts, A.E., Kucherlapati, R., Towbin, J. A., Seidman, J.G., Seidman, C.E. Shared genetic causes of cardiac hypertrophy in children and adults, *New Eng. J. Med.*, 2008, vol. 358, pp. 1899–908.
  47. Botella, J., Ulschmid, J., Gruenewald, C., Moehle, C., Kretzschmar, D., Becker, K., and Schneuwly, S., The *Drosophila* carbonyl reductase sniffer prevents oxidative stress-induced neurodegeneration, *Curr. Biol.*, 2004, vol. 14, no. 9, pp. 782–6.
  48. Boynton, T., and Shimkets, L., *Myxococcus CsgA*, *Dro-*

- sophila Sniffer, and human HSD10 are cardiolipin phospholipases, *Genes Dev*, 2015, vol. 29, no. 18, pp. 1903–14, doi: 10.1101/gad.268482.115.
49. Skorczyk-Werner, A., Pawłowski, P., Michalczyk, M., Warowicka, A., Wawrocka, A., Wicher, K., Bakunowicz-Lazarczyk, A., and Krawczyński, M., Fundus albipunctatus: review of the literature and report of a novel *RDH5* gene mutation affecting the invariant tyrosine (p.Tyr175Phe), *J. Appl. Genet.*, 2015, vol. 56, no. 3, pp. 317–27, doi: 10.1007/s13353-015-0281-x.
  50. Celotto, A., Liu, Z., Vandemark, A., and Palladino, M., A novel *Drosophila SOD2* mutant demonstrates a role for mitochondrial ROS in neurodevelopment and disease, *Brain Behav*, 2012, vol. 2, no 4, pp. 424–34. doi: 10.1002/brb3.73.
  51. Vitushynska, M.V., Matiytsiv, N.P., and Chernyk, Y., Sensitivity to the oxidative stress conditions lifespan and Neurodegenerative changes in the brain structure of *Drosophila melanogaster* Superoxidismutase mutants, *Visnyk of the Lviv University. Series Biology*, 2013, vol. 62, pp. 108–16.
  52. De Rose, F., Marotta, R., Talani, G., Catelani, T., Solari, P., Poddighe, S., Borghero, G., Marrosu, F., Sanna, E., Kasture, S., Acquas, E., and Liscia, A., Differential effects of phytotherapeutic preparations in the *hSOD1 Drosophila melanogaster* model of ALS, *Sci. Rep.*, 2017, vol. 7, doi: 10.1038/srep41059.
  53. Hebbar, S., Khandelwal, A., Jayashree, R., Hindle, S., Chiang, Y., Yew, J., Sweeney, S., and Schwudke, D., Lipid metabolic perturbation is an early-onset phenotype in adult spinster mutants: a *Drosophila* model for lysosomal storage disorders, *Mol Biol Cell*, 2017, vol. 8, no. 26, pp. 3728–40, doi: 10.1091/mbc.E16-09-0674.
  54. Mühligh-Versen, M., da Cruz, A., Tschäpe, J., Moser, M., Büttner, R., Athenstaedt, K., Glynn, P., and Kretzschmar, D., Loss of Swiss cheese / neuropathy target esterase activity causes disruption of phosphatidylcholine homeostasis and neuronal and glial death in adult *Drosophila*, *J. Neurosci*, 2005, vol. 25, no. 11, pp. 2865–73.
  55. Dutta, S., Rieche, F., Eckl, N., Duch, C., and Kretzschmar, D., Glial expression of Swiss cheese (SWS), the *Drosophila* orthologue of neuropathy target esterase (NTE), is required for neuronal ensheathment and function, *Dis Model Mech.*, 2016, vol. 9, no. 3, pp. 283–94, doi: 10.1242/dmm.022236.
  56. Ryabova, E., Matiytsiv, N., Trush, O., Mohylyak I., Kislík G., Melentev P., and Sarantseva S, Swiss Cheese, *Drosophila* Ortholog of Hereditary Spastic Paraplegia Gene NTE, Maintains Neuromuscular Junction Development and Microtubule Network; in Perveen F. K. (eds): *Drosophila melanogaster* – Model for Recent Advances in Genetics and Therapeutics, *InTech*, 2018. doi: 10.5772/intechopen.73077.
  57. Crowther, D., Kinghorn, K., Miranda, E., Page, R., Curry, J., Duthie, F., Gubb, D., and Lomas, D., Intraneuronal Aβ, non-amyloid aggregates and neurodegeneration in a *Drosophila* model of Alzheimer's disease, *Neuroscience*, 2005, vol. 132, pp. 123–35.
  58. Singh, S., Srivastav, S., Yadav, A., and Srikrishna, S., Knockdown of APPL mimics transgenic Aβ induced neurodegenerative phenotypes in *Drosophila*, *Neurosci. Let.*, 2017, vol. 648, pp.8–13, doi: 10.1016/j.neulet.2017.03.030.
  59. Luheshi, L., Tartaglia, G., Brorsson, A., Pawar, A., Watson, I., Chiti, F., Vendruscolo, M., Lomas, D., Dobson, C., and Crowther, D., Systematic in vivo analysis of the intrinsic determinants of amyloid beta pathogenicity, *PLoS Biol*, 2007, doi.org/10.1371/journal.pbio.0050290.
  60. Saburova, E., Vasiliev, A., Kravtsova, V., Ryabova, E., Zefirov, A., Bolshakova, O., Sarantseva, S., and Krivoi, I., Human *APP* Gene Expression Alters Active Zone Distribution and Spontaneous Neurotransmitter Release at the *Drosophila* Larval Neuromuscular Junction, *Neural. Plast.*, 2017, doi: 10.1155/2017/9202584.
  61. Wentzell, J., Bolkan, B., Carmine-Simmen, K., Swanson, T., Musashe, D., and Kretzschmar, D., Amyloid precursor proteins are protective in *Drosophila* models of progressive neurodegeneration, *Neurobiol. Dis.*, vol. 46, no. 1, pp. 78–87, doi: 10.1016/j.nbd.2011.12.047.
  62. Seidner, G., Ye, Y., Faraday, M., Alvord, W., and Fortini, M., Modeling clinically heterogeneous presenilin mutations with transgenic *Drosophila*, *Curr. Biol.*, 2006, vol. 16, pp. 1026–1033.
  63. Kang, J., Shin, S., Perrimon, N., and Shen, J., An Evolutionarily Conserved Role of Presenilin in Neuronal Protection in the Aging *Drosophila* Brain, *Genetics*, 2017, vol. 206, no. 3, pp. 1479–93, doi: 10.1534/genetics.116.196881.
  64. Chee, F., Mudher, A., Cuttle, M., Newman, T., MacKay, D., Lovestone, S., and Shepherd, D., Over-expression of tau results in defective synaptic transmission in *Drosophila* neuromuscular junctions, *Neurobiol. Dis.*, 2005, vol. 20, pp. 918–28.
  65. Gorsky, M., Burnouf, S., Sofola-Adesakin, O., Dols, J., Augustin, H., Weigelt, C., Grönke, S., and Partridge, L., Pseudo-acetylation of multiple sites on human Tau proteins alters Tau phosphorylation and microtubule binding, and ameliorates amyloid beta toxicity, *Sci. Rep.*, 2017, vol. 7, no 1, pp. 9984, doi: 10.1038/s41598-017-10225-0.
  66. Talmat-Amar, Y., Arribat, Y., and Parmentier, M., Vesicular Axonal Transport is Modified In Vivo by Tau Deletion or Overexpression in *Drosophila*, *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, vol. 19, no 3, doi: 10.3390/ijms19030744.
  67. Auluck, P., and Bonini, N., Pharmacological prevention of Parkinson disease in *Drosophila*, *Nat. Med.*, 2002, vol. 8, pp. 1185–6.
  68. Mohite, G., Dwivedi, S., Das, S., Kumar, R., Paluri, S., Mehra, S., Ruhela, N., S., Jha, N., and Maji, S., Parkinson's Disease Associated α-Synuclein Familial Mutants Promote Dopaminergic Neuronal Death in *Drosophila melanogaster*, *ACS Chem. Neurosci.*, 2018, vol. 9, no. 11, pp. 2628–38, doi: 10.1021/cschemneuro.8b00107.
  69. Sang, T., Chang, H., Lawless, G., Ratnaparkhi, A., Mee, L., Ackerson, L., Maidment, N., Krantz, D., and Jackson, G., A *Drosophila* model of mutant human parkin-induced toxicity demonstrates selective loss of dopaminergic neurons and dependence on cellular dopamine, *J. Neurosci.*, 2007, vol. 27, pp. 981–92.
  70. Cornelissen, T., Vilain, S., Vints, K., Gounko, N., Verstreken, P., and Vandenberghe, W., Deficiency of *parkin* and *PINK1* impairs age-dependent mitophagy in *Drosophila*, *Elife*, 2018, vol. 9, no. 7, doi: 10.7554/eLife.35878.
  71. Zhuang, N., Li, L., and Chen, S., Wang T *PINK1*-dependent phosphorylation of *PINK1* and *Parkin* is

- essential for mitochondrial quality control, *Cell Death Dis.*, 2016, vol. 7, no 12, doi: 10.1038/cddis.2016.396.
72. Gunawardena, S., Her, L., Bruschi, R., Laymon, R., Niesman, I., Gordesky-Gold, B., Sintasath, L., Bonini, N., and Goldstein, L., Disruption of axonal transport by loss of huntingtin or expression of pathogenic polyQ proteins in *Drosophila*, *Neuron*, 2003, vol. 40, pp. 25–40.
  73. Calpena, E., Lopez Del Amo, V., Chakraborty, M., Llamusi, B., Artero, R., Espinos, C., and Galindo, M., The *Drosophila* junctophilin gene is functionally equivalent to its four mammalian counterparts and is a modifier of a Huntingtin poly-Q expansion and the Notch pathway, *Dis. Model. Mech.*, 2018, vol. 11, no 1, doi: 10.1242/dmm.029082.
  74. Weiss, K., and Littleton, J., Characterization of axonal transport defects in *Drosophila* Huntingtin mutants, *J Neurogenet.*, 2016, vol. 30, pp. 212–21.
  75. Babcock, D., and Ganetzky, B., Transcellular spreading of huntingtin aggregates in the *Drosophila* brain, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2015, vol. 112, no. 39, doi: 10.1073/pnas.1516217112.
  76. Watson, M., Lagow, R., Xu, K., Zhang, B., and Bonini, N., A *Drosophila* model for amyotrophic lateral sclerosis reveals motor neuron damage by human *SOD1*, *J. Biol. Chem.*, 2008, vol. 283, pp. 24972–81.
  77. Cummings, J., Lee, G., Ritter, A., and Zhong, K., Alzheimer's disease drug development pipeline: 2018, *Alzheimers Dement (N Y)*, vol. 4, pp. 195–214, doi.org/10.1016/j.trci.2018.03.009
  78. Fernandez-Funez, P., de Mena, L., and Rincon-Limas, D.E., Modeling the complex pathology of Alzheimer's disease in *Drosophila*, *Experimental Neurology*, 2015, vol. 274 (Pt A), pp. 58–71.
  79. Chatterjee, S., Sang, T., Lawless, G., and Jackson, G., Dissociation of tau toxicity and phosphorylation: Role of GSK-3beta, MARK and Cdk5 in a *Drosophila* model, *Human Molecular Genetics*, 2009, vol. 18, no 1, pp. 164–77.
  80. Kosmidis, S., Grammenoudi, S., Papanikolopoulou, K., and Skoulakis, E., Differential effects of tau on the integrity and function of neurons essential for learning in *Drosophila*, *J. Neurosci.*, 2010, vol. 30, no. 2, pp. 464–77.
  81. Frost B., Hemberg M., Lewis J., Feany M.B., Tau promotes neurodegeneration through global chromatin relaxation. *Nature Neuroscience*. 2014, vol. 17, no. 3, pp. 357–66.
  82. Cowan, C., Bossing, T., Page, A., Shepherd, D., and Mudher, A., Soluble hyper-phosphorylated tau causes microtubule breakdown and functionally compromises normal tau in vivo, *Acta Neuropathologica*, 2010, vol. 120, no. 5, pp. 593–604.
  83. Cacabelos, R., Parkinson's Disease: From Pathogenesis to Pharmacogenomics, *Int J. Mol. Sci.*, 2017, vol. 18, no. 3, doi: 10.3390/ijms18030551.
  84. Ishizawa, T., Mattila, P., Davies, P., Wang, D., and Dickson, D., Colocalization of tau and alphasynuclein epitopes in Lewy bodies, *J. Neuropathol. Exper. Neurol.*, 2003, vol. 62, no. 4, pp. 389–97.
  85. Michel, P., Hirsch, E., and Hunot, S., Understanding dopaminergic cell death pathways in Parkinson disease, *Neuron*, 2016, vol. 90, no 4, pp. 675–69.
  86. Shulman, J., and De Jager, P.L., Evidence for a common pathway linking neurodegenerative disease, *Nature Genetics*, 2009, vol. 41, no. 12, pp. 1261–2.
  87. Steffan, J., Bodai, L., Pallos, J., Poelman, M., McCampbell, A., Apostol, B.L., Kazantsev, A., Schmidt, E., Zhu, Y., Greenwald, M., Kurokawa, R., Housman, D., Jackson, G., Marsh, J., Thompson, L., Histone deacetylase inhibitors arrest polyglutamine-dependent neurodegeneration in *Drosophila*, *Nature*, 2001, vol. 413, no. 6857, pp. 739–43.
  88. Casci, I., and Pandey, U., A fruitful endeavor: Modeling ALS in the fruit fly, *Brain Res.*, 2015, vol. 1607, pp. 47–74.
  89. Nassel, D., Substrates for Neuronal Cotransmission With Neuropeptides and Small Molecule Neurotransmitters in *Drosophila*, *Front Cell Neurosci*, 2018, doi: 10.3389/fncel.2018.00083
  90. Chad, M., Artymovych, N., Makarenko, O., and Matiytsiv, N., Effects of Mitochondrin-2 on the Dynamics of Degeneration of Brain Tissues in *Drosophila* with an Altered Function of the *swiss cheese* Gene, *Neurophysiology*, 2014, vol. 6, pp. 519–24.
  91. Agrell, I., and Lundquist, A. Physiological and Biochemical Changes during Insect Development; in Rockstein M (eds): *The Physiology of Insecta*. New York: Acad.Press, 1973, vol. 1, pp. 159–233.
  92. Nichols, C., Ronesi, J., Pratt, W., and Sanders-Bush, E., Hallucinogens and *Drosophila*: linking serotonin receptor activation to behavior, *Neurosci.*, 2002, vol. 115, pp. 979–84.
  93. Wang, L., Hagemann, T., Messing A., and Feany, M., An In Vivo Pharmacological Screen Identifies Cholinergic Signaling as a Therapeutic Target in Glial-Based Nervous System Disease, *J. Neurosci.*, 2016, vol. 36, no. 5, pp. 1445–55, doi: 10.1523/JNEUROSCI.0256-15.2016
  94. Dzitoyeva, S., Dimitrijevic, N., and Manev, H., Gamma-aminobutyric acid B receptor 1 mediates behavior-impairing actions of alcohol in *Drosophila*: adultRNA interference and pharmacological evidence, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, vol. 100, pp. 5485–90.
  95. Uttara, B., Singh, A., Zamboni, P., and Mahajan, R.T., Oxidative stress and neurodegenerative diseases: A review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options, *Curr. Neuropharmacol.*, 2009, vol. 7, pp. 65–74.
  96. Angelova, P.R., and Abramov, A.Y., Role of mitochondrial ROS in the brain: from physiology to neurodegeneration, *FEBS Lett*, 2018, vol. 592, no. 5, pp. 692–702, doi: 10.1002/1873-3468.12964.
  97. Oswald, M.C.W., Garnham, N., Sweeney, S.T., and Landgraf, M., Regulation of neuronal development and function by ROS, *FEBS Lett*, 2018, vol. 592, no. 5, pp. 679–91, doi: 10.1002/1873-3468.12972.
  98. Poljsak, B., Šuput, D., and Milisav, I., Achieving the balance between ROS and antioxidants: When to use the synthetic antioxidants, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2013, Article ID 956792.
  99. Mathur, S., and Hoskins, C., Drug development: Lessons from nature, *Biomed. Rep.*, 2017, vol. 6, pp. 612–614.
  100. Harvey, A., Edrada-Ebel, R., and Quinn, R., The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era, *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2015, vol. 14, pp. 111–29.
  101. Lakkappa, N., Krishnamurthy, P., M D P., Hammock,

- B., and Hwang, S., Soluble epoxide hydrolase inhibitor, APAU, protects dopaminergic neurons against rotenone induced neurotoxicity: Implications for Parkinson's disease, *Neurotoxicology*, 2018, vol. 70, pp. 135–45, doi: 10.1016/j.neuro.2018.11.010.
102. Siddique, Y., Naz, F., and Jyoti S., Effect of capsaicin on the oxidative stress and dopamine content in the transgenic *Drosophila* model of Parkinson's disease, *Acta Biol. Hung.*, 2018, vol. 69, no. 2, pp. 115–24, doi: 10.1556/018.69.2018.2.1.
103. Phom, L., Achumi, B., Alone, D., Muralidhara, and Yeniseti, S., Curcumin's neuroprotective efficacy in *Drosophila* model of idiopathic Parkinson's disease is phase specific: implication of its therapeutic effectiveness, *Rejuvenation Res.*, 2014, vol. 7, no. 6, pp. 481–9, doi: 10.1089/rej.2014.1591.
104. Nguyen, T., Vuu, M., Huynh, M., Yamaguchi, M., Tran, L., and Dang, T., Curcumin Effectively Rescued Parkinson's Disease-Like Phenotypes in a Novel *Drosophila melanogaster* Model with dUCH Knockdown, *Oxid Med Cell Longev.*, 2018, doi: 10.1155/2018/2038267.
105. Chongtham, A., and Agrawal, N., Curcumin modulates cell death and is protective in Huntington's disease model, *Sci. Rep.*, 2016, vol. 6, pp. 18736, doi: 10.1038/srep18736.
106. Rao, S., Muralidhara, Yeniseti, S., and Rajini, P., Evidence of neuroprotective effects of saffron and crocin in a *Drosophila* model of parkinsonism, *Neurotoxicology*, 2016, vol. 52, pp. 230–42, doi: 10.1016/j.neuro.2015.12.010.
107. Varga, J., Dér, N., Zsindely, N., and Bodai, L., Green tea infusion alleviates neurodegeneration induced by mutant huntingtin in *Drosophila*, *Nutr. Neurosci.*, 2018, doi: 10.1080/1028415X.2018.1484021.
108. Ng, C., Basil, A., Hang, L., Tan, R., Goh, K., O'Neill, S., Zhang, X., Yu, F., and Lim, K., Genetic or pharmacological activation of the *Drosophila PGC-1 $\alpha$*  ortholog spargel rescues the disease phenotypes of genetic models of Parkinson's disease, *Neurobiol. Aging.*, 2017, vol. 55, pp. 33–7, doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2017.03.017.
109. Abolaji, A., Adedara, A., Adie, M., Vicente-Crespo, M., and Farombi, E., Resveratrol prolongs lifespan and improves 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced oxidative damage and behavioural deficits in *Drosophila melanogaster*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2018, vol. 503, no. 2, pp. 1042–8, doi: 10.1016/j.bbrc.2018.06.114.
110. Wu, Z., Wu, A., Dong, J., Siggers, A., and Lu, B., Grape skin extract improves muscle function and extends lifespan of a *Drosophila* model of Parkinson's disease through activation of mitophagy, *Exp. Gerontol.*, 2018, vol. 113, pp. 10–7, doi: 10.1016/j.exger.2018.09.014.
111. Büttner, S., Broeskamp, F., Sommer, C., Markaki, M., Habernig, L., Alavian-Ghavanini, A., Carmona-Gutierrez, D., Eisenberg, T., Michael, E., Kroemer, G., Tavernarakis, N., Sigrist, S., and Madeo, F., Spermidine protects against  $\alpha$ -synuclein neurotoxicity, *Cell Cycle*, 2014, vol. 13, no. 24, pp. 3903–8, doi: 10.4161/15384101.2014.973309.
112. Jahromi, S., Haddadi, M., Shivanandappa, T., and Ramesh, S., Attenuation of neuromotor deficits by natural antioxidants of *Decalepis hamiltonii* in transgenic *Drosophila* model of Parkinson's disease, *Neuroscience*, 2015, vol. 293, pp. 136–50.
113. Briffa, M., Ghio, S., Neuner, J., Gauci, A.J., Cacciotto, R., Marchal, C., Caruana, M., Cullin, C., Vassallo, N., Cauchi, R., Extracts from two ubiquitous Mediterranean plants ameliorate cellular and animal models of neurodegenerative proteinopathies, *Neurosci. Lett.*, 2017, vol. 638, pp. 12–20.
114. Burnstock, G., Do some nerve cells release more than one transmitter?, *Neuroscience*, 1976, vol. 1, pp. 239–248.
115. Vaaga, C., Borisovska, M., and Westbrook, G., Dual-transmitter neurons: functional implications of co-release and co-transmission. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 2014, vol. 29, pp. 25–32, doi: 10.1016/j.conb.2014.04.010.
116. Nusbaum, M., and Blitz, D., Neuropeptide modulation of microcircuits, *Curr. Opin. Neurobiol.*, 2012, vol. 22, pp. 592–601, doi:10.1016/j.conb.2012.01.003.
117. Glantz, R., Miller, C., and Nässel, D., Tachykinin-related peptide and GABA-mediated presynaptic inhibition of crayfish photoreceptors, *J. Neurosci.*, 2000, vol. 20, pp. 1780–90.
118. Nässel, D., Neuropeptide signaling near and far: how localized and timed is the action of neuropeptides in brain circuits?, *Invert. Neurosci.* 2009, vol. 9, pp. 57–75, doi: 10.1007/s10158-009-0090-1.
119. Veenstra, J., Agricola, H., and Sellami, A., Regulatory peptides in fruit fly midgut, *Cell Tissue Res.* 2008, vol. 334, pp. 499–516, doi: 10.1007/s00441-008-0708-3.
120. Zandawala, M., Marley, R., Davies, S. A., and Nässel, D., Characterization of a set of abdominal neuroendocrine cells that regulate stress physiology using colocalized diuretic peptides in *Drosophila*, *Cell Mol. Life. Sci.*, 2018, vol. 75, pp. 1099–115, doi: 10.1007/s00018-017-2682-y.
121. Sharma, H., Sharma, A., Mössler, H., Muresanu, D., Neuroprotective effects of cerebrolisin, a combination of different active fragments of neurotrophic factors and peptides on the whole body hyperthermia-induced neurotoxicity: Modulatory roles of comorbidity factors and nanoparticle intoxication, *Int. Rev. Neurobiol.*, 2012, vol. 102, pp. 249.
122. Makarenko, A., Kul'chikov, A., and Morozov, S., Medicinal Preparation for Treatment of Hypoxic and Toxic Mitochondrial Abnormalities and the Technique for Its Synthesis [in Russian], *Inventors certificate* no. 2405.558 Russia, Published on December 10, 2010, Byull. no. 23.

Надійшла в редакцію 13.02.19  
Після доопрацювання 19.04.19  
Прийнята до друку 18.05.20