

## **$\Lambda$ -cyhalothrin causes oxidative stress accompanied by reduced glutathione alteration and modulation of regulatory protein p53 expression in the fish brain**

V. Y. Gasso\*, V. S. Nedzvetsky\*\*\*, R. O. Novitskyi\*\*\*, S. V. Yermolenko\*

\*Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

\*\*Bingöl University, Bingöl, Turkey

\*\*\*Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

### Article info

Received 14.10.2021

Received in revised form  
22.10.2021

Accepted 01.11.2021

Oles Honchar Dnipro  
National University,  
Gagarin Ave., 72, Dnipro,  
49010, Ukraine.  
Tel.: +38-097-302-56-83  
E-mail: viktor.gasso@gmail.com

Bingöl University,  
Selahaddin-i Eyyubi Mah.  
Üniversite Cad. No 1,  
Bingöl, 12000, Turkey.

Dnipro State Agrarian and  
Economic University,  
Serhiy Yefremov Str., 25,  
Dnipro, 49600, Ukraine.

**Gasso, V. Y., Nedzvetsky, V. S., Novitskyi, R. O., Yermolenko, S. V. (2021).  $\Lambda$ -cyhalothrin causes oxidative stress accompanied by reduced glutathione alteration and modulation of regulatory protein p53 expression in the fish brain. *Ecology and Noospherology*, 32(2), 71–76. doi:10.15421/032112**

The synthetic pyrethroid of systemic insecticidal and acaricidal action,  $\lambda$ -cyhalothrin, is characterized by typical axonal excitotoxicity. Currently, it is widely used in agriculture worldwide. In fish, it negatively affects the functional characteristics of the nervous system, causes motorial paralysis, and increases mortality. The concentrations of  $\lambda$ -cyhalothrin for the experiment were determined at a rate of 5% and 10% of LC50, which are 271 ng/L and 542 ng/L, respectively.  $\Lambda$ -cyhalothrin causes oxidative damage in the brain cells of the rainbow trout and, probably, irreversible disturbances in brain cells. The content of reduced glutathione in the fish brain treated by low doses of  $\lambda$ -cyhalothrin was significantly lower than in the control fish. It may indicate the breakdown of this part of antioxidant protection. One of the universal and multifunctional regulatory proteins, which plays a vital role in most cell types is the p53 protein that supports cell viability through a wide range of signalling pathways. Changes in the p53 protein expression are determined in fish of all experimental groups. Moreover, less significant suppression of its expression is found in fish that have been treated by a dose of 5% LC for 28 days. Unlike the 5% LC50, the dose of 10% LC50 induces a critical decrease in the p53 protein content after both 4 and 28 days of insecticide exposure. Detected changes in the reduced glutathione content and p53 protein expression in the fish brain are associated with the oxidative stress generation caused by low sublethal doses of  $\lambda$ -cyhalothrin. A significant decrease in the p53 protein content in the fish brain under the impact of the low doses of the synthetic pyrethroid can indicate irreversible disturbance of this protein functioning. The inhibition of protein p53 expression may be an adequate biomarker of the nervous cell adaptation to the toxic effect of synthetic pyrethroids in the fish brain.

**Keywords:** rainbow trout; *Oncorhynchus mykiss*; pyrethroids; pesticides; oxidative stress; reactive oxygen species; GSH; biomarkers

## **$\Lambda$ -цигалотрин змінює рівень відновленого глутатіону та експресію регуляторного білка p53 на фоні окиснювального стресу в мозку риб**

В. Я. Гассо\*, В. С. Недзвєцький\*\*\*, Р. О. Новіцький\*\*\*, С. В. Єрмоленко\*

\*Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпро, Україна

\*\*Бінгьольський університет, Бінгьол, Туреччина

\*\*\*Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

Синтетичний піретроїд системної дії  $\lambda$ -цигалотрин має інсектицидні та акарицидні властивості з характерною аксонною ексайтотоксичністю та широко застосовується у світовому сільському господарстві. У риб він негативно впливає на функціональні характеристики нервової системи, викликає руховий параліч та збільшує смертність. Концентрації

λ-цигалотрин для експерименту визначили з розрахунку 5 % і 10 % від LC50, що становить 271 нг/л і 542 нг/л відповідно. λ-цигалотрин викликає окиснювальні ушкодження в клітинах мозку пструга райдужного і, вірогідно, незворотні порушення в клітинах мозку. Вміст відновленого глутатіону в мозку риб експонованих низькими сублетальними дозами λ-цигалотрину виявився значуще нижчим відносно показників риб контрольної групи, що свідчить про виснаження цієї ланки антиоксидантного захисту. Одним з універсальних і багатофункціональних регуляторних білків, який відіграє життєво важливу роль у більшості типів клітин, є білок p53, котрий забезпечує життєздатність клітин через широке коло сигнальних шляхів. Зміни експресії білка p53 визначені у всіх експериментальних групах риб. Причому менш значне пригнічення його експресії визначене в групі риб, що були експоновані дозою 5 % LC протягом 28 діб. На відміну від дії дози 5 % LC50, вплив дози 10 % LC50 індукував критичне зниження вмісту білка p53 після як 4, так і 28 діб експозиції інсектицидом. Виявлені зміни вмісту відновленого глутатіону та експресії білка p53 асоційовані з генерацією окиснювального стресу в мозку риб, викликаного впливом низьких сублетальних концентрацій λ-цигалотрину. Значне зниження вмісту білка p53 у мозку риб за дії синтетичного піретроїду може свідчити про незворотні порушення функціонування цього білка навіть за таких низьких концентрацій пестициду. Виявлене нами пригнічення експресії білка p53 може бути адекватним біомаркером клітинної адаптації до токсичної дії синтетичних піретроїдів у мозку риб.

**Ключові слова:** райдужна форель; *Oncorhynchus mykiss*; піретроїди; пестициди; окиснювальний стрес; реактивні сполуки кисню; відновлений глутатіон; GSH; біомаркери

## Вступ

Широке застосування отрутохімікатів у сільському та лісовому господарстві з 60-х років XX століття призвело до загальносвітової проблеми забруднення природних вод та ґрунтів пестицидами. Особливу небезпеку пестициди становлять для живих організмів водних екосистем, де їх уміст у донних відкладеннях і поверхневих водах часто перевищує допустимі концентрації (Li et al., 2019). Часто пестициди уражають життєво важливі системи організмів, як-то нервові клітини, ключові ферменти, сигнальні шляхи та імунні бар'єри тощо (Mathieu et al., 2015; Costa et al., 2020; Huslysty et al., 2021a, 2021b; Nedzvetsky et al., 2021).

Піретроїди – це синтетичні аналоги природних піретринів, речовин інсектицидної дії, які виявлені в суцвіттах рослин пижмо жовтозіллясте (*Tanacetum cinerariifolium* (Trevis.) Sch.Bip.) та маруна червона (*Tanacetum coccineum* (Willd.) Grierson). Вони порушують функціонування нервової системи видів-мішеней (Metcalf, Horowitz, 2014), у тому числі прісноводних хребетних тварин (Gasso et al., 2020; Farag et al., 2021). Процеси ензиматичного перетворення піретроїдів в організмі хребетних тварин, у тому числі риб, призводять до утворення різних метаболітів, що можуть потрапляти до тканин мозку. Вони впливають на метаболізм клітин мозку і змінюють показники активності ферментів та перекисного окислення ліпідів (Alak et al., 2019). Однак молекулярні та клітинні реакції нервових клітин мозку тварин на потрапляння до організму синтетичних піретроїдів залишаються поки недостатньо вивченими.

Синтетичний піретроїд системної дії λ-цигалотрин має інсектицидні та акарицидні властивості з характерною аксонною ексайтотоксичністю та широко застосовується у світовому сільському господарстві. У риб λ-цигалотрин також негативно впливає на функціональні характеристики нервової системи, викликає руховий параліч та збільшує смертність у популяції. Навіть за короткий час (протягом доби) низькі сублетальні концентрації λ-цигалотрину (0,86 мкг/л) викликають порушення рухової функції нейронів у нільської тилії (*Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)). Інтоксикація цигалотрином викликає у неї гіперплазію епітеліоцитів, гіперемію, аневризми судин та некроз зябер, зміни в концентрації іонів калію та кальцію, глюкози тощо, що порушує баланс осморегуляторних електролітів (Fernandes et al., 2020).

Відомо, що широке коло сільськогосподарських отрутохімікатів викликає окиснювальний стрес через підвищення вмісту реактивних сполук кисню (РСК) в різних тканинах (Sharma, Jindal, 2020; Yang et al., 2020). Антиоксидантні системи повинні протидіяти пероксидації, а їх реакцію на інтоксикацію пестицидами можна використовувати як біомаркер їх токсичного впливу (Kostich et al., 2019; Sharma, Jindal, 2020). Зрозуміло, що загальні процеси клітинної реактивності на інтоксикацію

мають універсальні механізми, тому модуляція антиоксидантних відповідей на ушкоджуючі фактори зазвичай не залежить від хімічної природи токсиканта (Pillet et al., 2019; Valavanidis, 2006). Незважаючи на однотипну антиоксидантну реакцію клітин на дію екоотоксикантів, визначення рівня окиснювального стресу та показників стану антиоксидантної системи надають важливу інформацію щодо спряженості різних інтоксикаційних та реактивних процесів (Dos Santos, 2018). Відомо, що пестициди можуть інгібувати процеси гормональної та цитокінної регуляції та, як наслідок, вельми пригнічувати функціональну активність клітин (Özdemir et al., 2018). Yadav та співавтори вважають, що окиснювальний стрес викликає генотоксичні порушення як у безхребетних, так і у хребетних тварин (Yadav et al., 2021). Генотоксичність синтетичних піретроїдів виявлено також у тканинах гідробіонтів (Amaeze et al., 2020).

Відомо, що реплікативний білок А (RPA1), який захищає одностанцюгову ДНК еукаріотів, регулює експресію генів і підтримує нуклеосоми та теломери, здатен регулювати проліферативну активність клітин (Dueva, Pliakis, 2020). Ми встановили, що низькі сублетальні концентрації λ-цигалотрину підвищують експресію білка RPA1, що може слугувати біомаркером порушень ДНК за хронічної інтоксикації пестицидами (Nedzvetsky et al., 2020).

Одним з універсальних і багатофункціональних регуляторних білків, який відіграє життєво важливу роль у більшості типів клітин, є білок p53, котрий забезпечує життєздатність клітин через широке коло сигнальних шляхів. У нормальному фізіологічному стані вміст білка p53 регулюється ендогенними факторами. Його експресія чутлива до збільшення вмісту РСК і окиснювальних ушкоджень макромолекул. Показано, що білок p53 є одним з ключових регуляторів апоптозу в процесі протипухлинного захисту і може «перемикає» метаболічні шляхи у відповідь на критичні зміни в клітинному циклі і/або генотоксичні пошкодження. Білок p53 є транскрипційним фактором, який контролює стабільність життєво важливих процесів, включаючи репарацію ДНК, апоптоз і супресію пухлин, і до того ж взаємодіє з регуляторним білком RPA1 (Bensaad, Vousden, 2007). Так, у мозку риб *Danio rerio* (Hamilton, 1822) на тлі підвищеної експресії білка p53 гальмується клітинний цикл і відбувається руйнування пошкоджених клітин (Hu et al., 2015). З урахуванням того, що p53 бере участь у клітинній відповіді, яка ініційована цитотоксичними ушкодженнями, його експресія може відображати здатність клітин головного мозку активувати компенсаторні механізми для підтримки життєздатності.

У риб окиснювальний стрес також викликає збільшення утворення РСК, які взаємодіють з ДНК та ліпідами, що призводить до їх пошкодження (Gurel et al., 2005; Saito et al., 2005; Kum et al., 2007). Більше того, РСК

викликають подальші токсичні ефекти та запальні реакції, впливаючи на окисно-відновний баланс та вміст відновленого глутатіону (GSH) (Murta et al., 2016). Saito et al. (2005) також оцінили два види маркерів окиснювального стресу: вміст клітинного GSH та PCK, які утворилися внаслідок інтоксикації формальдегідом. Автори вказують на те, що відбувається помітне зниження загального клітинного GSH та збільшення клітинної PCK перед загибеллю клітини.

Відновлений глутатіон є основною цитозольною низькомолекулярною сульфгідрильною сполукою, яка діє як клітинно-відновний та захисний агент проти широкого кола екотоксикантів, які можуть реагувати з SH-групами білків (Zhang et al., 2004). GSH безпосередньо діє як поглинач оксирадикалу, а також як антиоксидантний ферментний субстрат (Li et al., 2010). Він важливий для захисту клітини від шкідливої дії PCK, реагуючи з ними та утворюючи дисульфід глутатіону (GSSG). Тому GSH реагує і на потрапляння пестицидів до організму. Таким чином, зміна концентрації GSH в тканинах може бути важливим показником детоксикаційної здатності організму (Cheung et al., 2001).

Пструг (форель) райдужний (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)) вже тривалий час є зручним тест-об'єктом для вивчення токсичної дії різноманітних речовин, у тому числі і пестицидів (Kenšová et al., 2012; Liu et al., 2013).

Метою нашого дослідження є визначення впливу сублетальних концентрацій  $\lambda$ -цигалотрину на рівень відновленого глутатіону та регуляторного білка p53 у клітинах головного мозку райдужної форелі на фоні передбачуваного окиснювального стресу.

## Матеріали та методи досліджень

Пструга (форель) райдужного однієї розмірно-вагової групи отримали на фермі Keban baraj gölü (м. Елязиг, Туреччина) і витримали для акліматизації у 600-літрових ємностях протягом 15 днів за температури води  $14 \pm 3$  °C. Рибу годували промисловими кормами двічі на добу в обсязі 2 % від маси тіла тварин. Попередньо нами визначено 96-годинну LC50  $\lambda$ -цигалотрину для пструга райдужного, яка становила 5420 нг/л. Концентрації  $\lambda$ -цигалотрину для експерименту визначали з розрахунку 5 % і 10 % від LC50, що становить 271 нг/л і 542 нг/л відповідно. Чотири групи риб по 15 особин кожна піддавали впливу зазначених сублетальних концентрацій  $\lambda$ -цигалотрину протягом 2 і 28 діб. Детально експеримент описано в нашій попередній роботі (Nedzvetsky et al., 2020).

Експериментальні роботи проводили відповідно до вимог Комісії з біоетики Бінгольського університету (м. Бінгюл, Туреччина) та Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара (м. Дніпро, Україна) щодо роботи з тваринами. Після відбору тканини мозку зберігали глибоко замороженими при мінус 80 °C. Уміст відновленого глутатіону визначали стандартним методом (Beutler et al., 1963). Для подальшого аналізу мозок риб гомогенізували у 10-кратному обсязі буферного розчину: 10 mM Тріс-буфер (pH = 7,4), 0,1 mM NaCl, 1% TritonX-100, 0,2% SDS, 2,5 mM етилендіамінтетраоцтової кислоти, 6,5 мкМ апрогінину, 1,5 мкМ пепстатину А, 23 мкМ лейпептину, 1 mM фенілметилсульфонілфториду, 1 мкМ ортованадату натрію та 5 мкМ соєвого інгібітору трипсину. Всі процедури проводили на льоду для запобігання деградації білків через підвищення активності протеаз. Після екстракції білків протягом 60 хв за температури 4 °C проби центрифугували (60 000 об/хв, 60 хвилини, 4 °C). Отримані супернатанти зберігали при мінус 80 °C.

Імуноблотинг проводили у поліакриламідному гелі (10 % акриламід). Після розділення білки переносили на полівініліденфторидну (ПВДФ) мембрану, промивали

фетальною бичачою сироваткою та інкубували в блокувальному буфері (3 %-ний бичачий сировинний альбумін) протягом 60 хв. Після цього мембрани інкубували протягом 10 годин (4 °C) з відповідними первинними антитілами – анти-p53 (SantaCruz, sc-126, розведення 1:1000) і анти- $\beta$ -актину (Abcam, ab82226, розведення 1:3000). Після інкубації мембрану трикратно промивали Тріс-буферним фізіологічним розчином, що містить 0,05 % Твін-20 (TBS-T). Промиті мембрани інкубували з мишачими вторинними антитілами, міченими пероксидазою хрому (HRP) протягом 60 хв за температури 25 °C. Після триразового промивання мембран розчином TBS-T результати вестерн-блотингу досліджували методом хемілюмінесценції з використанням автоматичного рентгенівського апарату (Carestream HealthInc., США). Для сканування використовували систему візуалізації BIO-RAD. Результати вестерн-блотингу оцінювали денситометрично з використанням програми IMAGE-J. Статистичний аналіз здійснювали за допомогою диференційного аналізу ANOVA в SPSS Statistics 20 з тестом Дункана. Кількісні дані представлені у вигляді середнього значення (M) та стандартного середньоквадратичного відхилення (SD). Відмінності між вибірками вважали значущими при  $p < 0,05$ .

## Результати та їх обговорення

Ми визначили рівень реактивних сполук кисню у головному мозку форелі експериментальних (під впливом  $\lambda$ -цигалотрину) і контрольних груп (Nedzvetsky et al., 2020) (рис. 1).

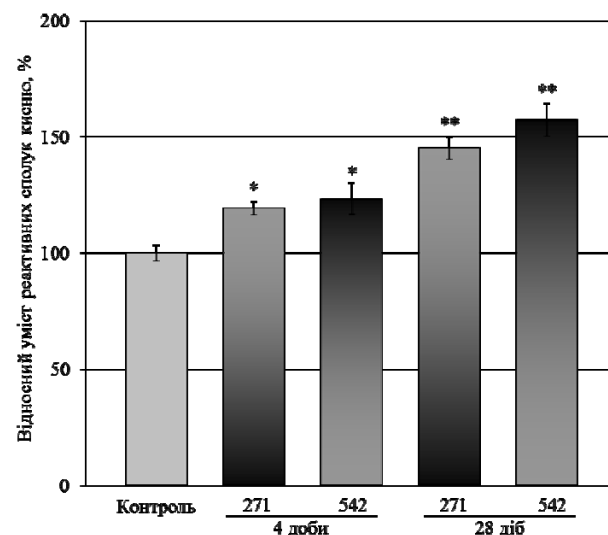


Рис. 1. Відносний уміст реактивних сполук кисню у мозку пструга райдужного під дією 271 та 542 нг/л  $\lambda$ -цигалотрину протягом 4 та 28 діб; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$

Окиснювальні ушкодження викликають значні порушення саме у клітинах мозку, для яких характерно інтенсивне споживання кисню і низький рівень антиоксидантного захисту. Тому вірогідно, що  $\lambda$ -цигалотрин може викликати незворотні порушення в клітинах мозку. Наше попереднє дослідження показало, що клітинна загибель під впливом  $\lambda$ -цигалотрину може бути викликана пригніченням транскрипційної активності і обмеженням репарації розривів ДНК, що, в свою чергу, може призвести до геномної нестабільності і активації процесів апоптозу (Nedzvetsky et al., 2020).

Відомо, що пестициди змінюють рівень GSH у тканинах риб. У нашому дослідженні вміст відновленого глутатіону в мозку риб, експонованих низькими сублетальними дозами  $\lambda$ -цигалотрину, виявився значуще нижчим відносно показників риб контрольної групи (рис. 2), що свідчить про виснаження цієї ланки антиоксидантного захисту.

У раніше проведених дослідженнях інтоксикація піретроїдом (дельтаметрином) викликала у плямистого зміголова (*Channa punctata* (Bloch, 1793)) підвищення концентрацій GSH у печінці, нирках та зябрах. Автори вважають, що це основна захисна реакція клітин проти окиснювального стресу, викликаного екотоксикантами (Sayeed et al., 2003).

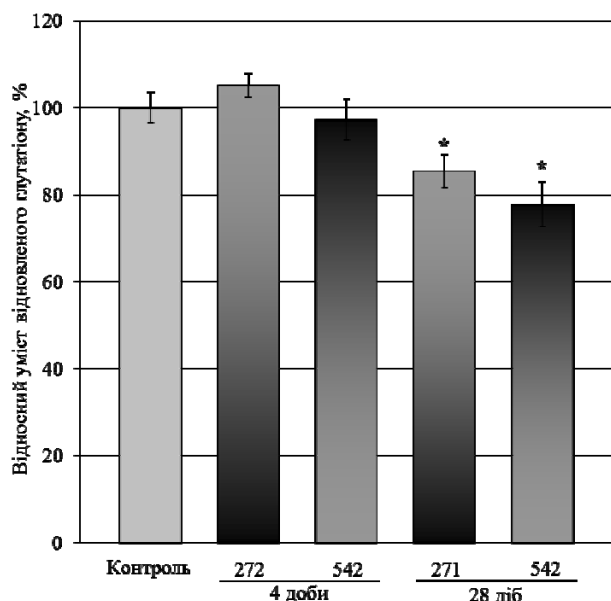


Рис. 2. Відносний уміст відновленого глутатіону в мозку пструга райдужного під дією 271 та 542 нг/л  $\lambda$ -цигалотрину протягом 4 та 28 діб; \* $p < 0,05$

Навпаки, під впливом хлорпірифосу рівень GSH у печінці, нирках та зябрах білого амура (*Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes in Cuvier & Valenciennes, 1844)) знижувався протягом усього періоду дії (Kaur, Jindal, 2017). Інші дослідження також указують, що при тривалому впливі фунгіциду пропіконазолу у пструга райдужного збільшувалися показники окиснювального стресу, а також суттєво пригнічувалися активності антиоксидантних ферментів та вміст відновленого глутатіону. На фоні незначного окиснювального стресу антиоксидантна система відповідає адаптивною реакцією, але тривалий вплив пестициду призводить до значних ушкоджень мозку риб (Li et al., 2010).

Дані імуноблотингу, отримані при виявленні вмісту білка p53 у головному мозку райдужної форелі після впливу сублетальними концентраціями  $\lambda$ -цигалотрину, представлені на рис. 3.

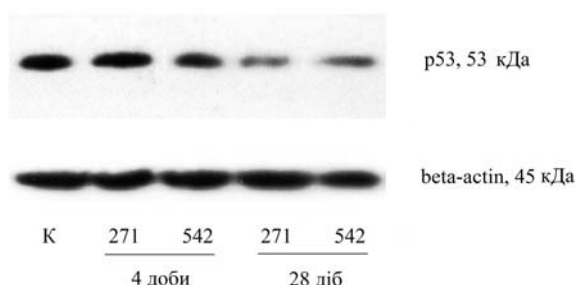


Рис. 3. Результати імуноблотингу фракцій білків мозку пструга райдужного під дією 271 та 542 нг/л  $\lambda$ -цигалотрину протягом 4 та 28 діб; К – контрольна група

Результати дослідження вмісту білка p53 у мозку райдужної форелі показали зміни експресії цього білка у всіх експериментальних групах (рис. 4).

За інтоксикації низькими дозами  $\lambda$ -цигалотрину ефективна клітинна відповідь може забезпечити

виживання або апоптоз клітин для запобігання пухлинних або некротичних процесів. Порівняно недавно з'явилися дані про те, що клітинна відповідь на розриви ДНК супроводжується стрибкоподібними змінами вмісту білка p53 (Porter et al., 2017). Такий механізм модуляції p53 регулює клітинну реакцію при пошкодженні ДНК і дозволяє клітинам виживати за умов дії цитотоксичних факторів, включаючи забруднювачі антропогенного походження.

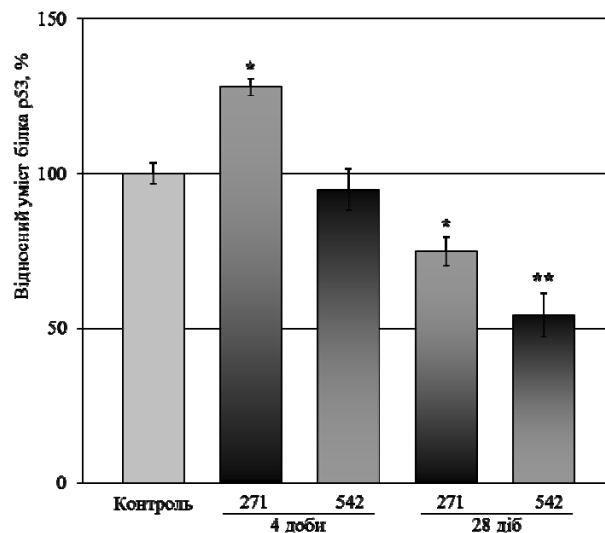


Рис. 4. Відносний уміст регуляторного білка p53 у головному мозку пструга райдужного під дією 271 та 542 нг/л  $\lambda$ -цигалотрину протягом 4 та 28 діб; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$

Концентрація 5 % LC<sub>50</sub>  $\lambda$ -цигалотрину індукувала зростання p53 за умов експозиції піретроїдом протягом 4 діб. На відміну від дії дози 5 % LC<sub>50</sub>, вплив дози 10 % LC<sub>50</sub> індукував незначуще зниження вмісту білка p53 після 4 діб експозиції інсектицидом.

Отримані в нашій роботі результати свідчать про зниження вмісту білка p53 у головному мозку риб, підданих тривалому (28 діб) впливу синтетичного піретроїду навіть у концентрації 5 % LC<sub>50</sub>. Закономірно більший вплив інсектициду визначений у групі риб, що були експоновані концентрацією 10 % LC<sub>50</sub>, ніж у тих, що отримували 5 % LC<sub>50</sub>.

Такі зміни можуть вказувати на незворотні порушення основних регуляторних шляхів. Білок p53 бере участь у регуляції багатьох життєво важливих процесів, включаючи клітинний цикл, ініціацію апоптозу, транскрипційну активність і репарацію ДНК (Hu et al., 2007; Lieberman et al., 2017). Недавні роботи містять докази того, що білок p53 регулює експресію генів для підтримки ефективності адаптації клітин до умов навколишнього середовища (Marcel et al., 2018; Jiang, Rusling, 2019). Однією з основних функцій p53 є контроль клітинного циклу і програмованої загибелі клітин у відповідь на окиснювальні пошкодження (Fuschi et al., 2017).

Одним з критичних факторів цитотоксичності піретроїдів можуть бути молекулярні ушкодження, асоційовані з розвитком окиснювального стресу. На користь цього свідчать представлені результати, котрі вказують на наявність взаємозв'язку між пестицид-індукованою генерацією РСК та модуляцією вмісту білка p53 як клітинної відповіді на токсичність низьких концентрацій  $\lambda$ -цигалотрину в головному мозку райдужної форелі.

## Висновки

Виявлено зміни вмісту відновленого глутатіону та експресії білка p53, асоційовані з генерацією

окиснювального стресу в мозку риб, викликаного впливом низьких сублетальних концентрацій  $\lambda$ -цигалотрину. Значне зниження вмісту регуляторного білка p53 у мозку райдужної форелі, викликане впливом сублетальних концентрацій  $\lambda$ -цигалотрину, може свідчити про незворотні функціональні порушення навіть за низьких концентрацій пестициду. Виявлене нами пригнічення експресії білка p53 може бути адекватним біомаркером клітинної адаптації до токсичної дії синтетичних піретроїдів у мозку риб.

## References

- Alak, G., Yeltekin, A. C., Özgeriş, F. B., Parlak, V., Uçar, A., Keleş, M. S., Atamanalp, M. (2019). Therapeutic effect of N-acetyl cysteine as an antioxidant on rainbow trout's brain in cypermethrin toxicity. *Chemosphere*, 221, 30–36.
- Amazez, N. H., Komolafe, B. O., Salako, A. F., Akagha, K. K., Briggs, T.-M. D., Olatinwo, O. O., Femi, M. A. (2020). Comparative assessment of the acute toxicity, haematological and genotoxic effects of ten commonly used pesticides on the African catfish, *Clarias gariepinus* Burchell 1822. *Heliyon*, 24, 6(8), e04768.
- Bensaad, K., Vousden, K. H. (2007). p53: new roles in metabolism. *Trends in Cell Biology*, 17(6), 286–291.
- Beutler, E., Duron, O., Kelly, B. M. (1963). Improved method for the determination of blood glutathione. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 61, 882–888.
- Cheung, C. C., Zheng, G. J., Li, A. M., Richardson, B. J., Lam, P. K. (2001). Relationships between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. *Aquatic Toxicology*, 52(3-4), 189–203.
- Costa, C., Briguglio, G., Catanoso, R., Giambò, F., Polito, I., Teodoro, M., Fenga, C. (2020). New perspectives on cytokine pathways modulation by pesticide exposure. *Current Opinion in Toxicology*, 19, 99–104.
- Dos Santos, A. A., Ferrer, B., Gonçalves, F. M., Tsatsakis, A. M., Renieri, E. A., Skalny, A. V., Farina, M., Rocha, J. T., Aschner, M. (2018). Oxidative stress in methylmercury-induced cell toxicity. *Toxics*, 6(3), 47–50.
- Dueva, R., Iliakis, G. (2020). Replication protein A: a multifunctional protein with roles in DNA replication, repair and beyond. *NAR Cancer*, 2(3), zcaa022.
- Farag, M. R., Alagawany, M., Bilal, R. M., Gewida, A., Dhama, K., Abdel-Latif, H., Amer, M. S., Rivero-Perez, N., Zaragoza-Bastida, A., Binnaser, Y. S., Batiha, G. E., Naiel, M. (2021). An overview on the potential hazards of pyrethroid insecticides in fish, with special emphasis on cypermethrin toxicity. *Animals*, 11(7), 1880.
- Fernandes, C. E., da Silveira, A. W., do Nascimento Silva, A. L., de Souza, A. I., Povh, J. A., Dos Santos Jaques, J. A., Dos Santos, E. D. A., Yonekawa, M. K. A., de Barros Penteadoall B., Franco-Belussi, L. (2020). Osmoregulatory profiles and gill histological changes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to lambda-cyhalothrin. *Aquatic Toxicology*, 227, 105612.
- Fuschi, P., Carrara, M., Voellenkle, C., Garcia-Manteiga, J. M., Righini, P., Maimone, B., Sangalli, E., Villa, F., Specchia, C., Picozza, M., Nano, G., Gaetano, C., Spinetti, G., Puca, A. A., Magenta, A., Martelli, F. (2017). Central role of the p53 pathway in the noncoding-RNA response to oxidative stress. *Aging*, 12(9), 2559–2586.
- Gasso, V. Ya., Yermolenko, S. V., Bobyllov, Yu. P., Hahut, A. M., Huslysty, A. O., Hasso, I. A., Petrushevskiy, V. B. (2020). Biomarkery vplyvu piretroidnykh ta neonikotynoidnykh insektytsydiv na lychnok zemnovodnykh [Biomarkers of influence of pyrethroid and neonicotinoid insecticides on the larvae of amphibians]. *Ecology and Noospherology*, 31 (1), 46–51 (in Ukrainian).
- Gurel, A., Coskun, O., Armutcu, F., Kanter, M., Ozen, O. A. (2005). Vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in frontal cortex and hippocampus: biochemical and histological studies. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 29(3), 173–178.
- Hu, J., Liu, Z. S., Tang, S. L., He, Y. M. (2007). Effect of hydroxyapatite nanoparticles on the growth and p53/c-Myc protein expression of implanted hepatic VX2 tumor in rabbits by intravenous injection. *World Journal of Gastroenterology*, 13(20), 2798–2802.
- Hu, Z., Holzschuh, J., Driever, W. (2015). Loss of DDB1 leads to transcriptional p53 pathway activation in proliferating cells, cell cycle deregulation, and apoptosis in zebrafish embryos. *PLoS One*, 10(7), e0134299.
- Huslysty, A., Nedzvetsky, V., Yermolenko, S., Gasso, V., Petrushevskiy, V., Sukhareenko, E. (2021a). Low doses of imidacloprid induce oxidative stress and neural cell disruption in earthworm *Eisenia fetida*. *International Letters of Natural Sciences*, 84, 1–11.
- Huslysty, A. O., Gasso, V. Ya., Yermolenko, S. V., Petrushevskiy, V. B. (2021b). Kharakterystyka toksychnoho vplyvu imidakloprydu na stan *Eisenia fetida* (Annelida, Clitellata, Lumbricidae) [Characteristics of the toxic effect of imidacloprid on the state of *Eisenia fetida* (Annelida, Clitellata, Lumbricidae)]. *Ecology and Noospherology*, 32(1), 41–46 (in Ukrainian).
- Jiang, D., Rusling, J. F. (2019). Oxidation chemistry of DNA and p53 tumor suppressor gene. *Chemistry Open*, 8(3), 252–265.
- Kaur, M., Jindal, R. (2017). Oxidative stress response in liver, kidney and gills of *Ctenopharyngodon idellus* (Cuvier & Valenciennes) exposed to chlorpyrifos. *MedCrave Online Journal of Biology and Medicine*, 1(4), 103–112.
- Kenšová, R., Kružiková, K., Havránek, J., Haruštiaková, D., Svobodová, Z. (2012). Distribution of mercury in rainbow trout tissues at embryo-larval and juvenile stages. *Scientific World Journal*, 20, 652–666.
- Kum, C., Kiral, F., Sekkin, S., Seyrek, K., Boyacioglu, M. (2007). Effects of xylene and formaldehyde inhalations on oxidative stress in adult and developing rats livers. *Experimental Animals*, 56(1), 35–42.
- Li, W.-G., Kostich, M. S., Bencic, D. C., Batt, A. L., See, M. J., Flick, R. W., Gordon, D. A., Lazorchak, J. M., Biales, A. D. (2019). Multigene biomarkers of pyrethroid exposure: exploratory experiments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 38(11), 2436–2446.
- Li, Z. H., Zlabek, V., Grabic, R., Li, P., Machova, J., Velisek, J., Randak, T. (2010). Effects of exposure to sublethal propiconazole on the antioxidant defense system and Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase activity in brain of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquatic Toxicology*, 98(3), 297–303.
- Lieberman, H. B., Panigrahi, S. K., Hopkins, K. M., Wang, L., Broustas, C. G. (2017). p53 and RAD9, the DNA damage response, and regulation of transcription networks. *Radiation Research*, 187(4), 424–432.
- Liu, Q., Basu, N., Goetz, G., Jiang, N., Hutz, R. J., Tonellato, P. J., Carvan, M. J., 3rd. (2013). Differential gene expression associated with dietary methylmercury (MeHg) exposure in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology*, 22(4), 740–751.
- Marcel, V., Van Long, F. N., Diaz, J. J. (2018). 40 years of research put p53 in translation. *Cancers (Basel)*, 10(5), 21.
- Mathieu, C., Duval, R., Xu, X., Rodrigues-Lima, F., Dupret, J. M. (2015). Effects of pesticide chemicals on the activity of metabolic enzymes: focus on thiocarbamates. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 11(1), 81–94.
- Metcalf R. L., Horowitz A. R. (2014). *Insect Control*, 1. Fundamentals. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 1–23.
- Murta, G. L., Campos, K. K., Bandeira, A. C., Diniz, M. F., de Paula Costa, G., Costa, D. C., Talvani, A., Lima, W. G., Bezerra, F. S. (2016). Oxidative effects on lung inflammatory response in rats exposed to different concentrations of formaldehyde. *Environmental Pollution*, 211, 206–213.

- [Nedzvetsky, V. S., Gasso, V. Ya., Novitskyi, R. O., Yermolenko, S. V. \(2020\). Vplyv insektytsydu  \$\lambda\$ -tsyhalotrynu na oksyduvalnyi stres i ekspresiiu replikativnoho bilka A v mozku ryb \[Influence of the insecticide  \$\lambda\$ -cyhalothrin on oxidative stress and expression of replicative protein A in the brain of fish\]. \*Agrology\*, 3\(3\), 214–218 \(in Ukrainian\).](#)
- [Nedzvetsky, V. S., Masiuk, D. M., Gasso, V. Y., Yermolenko, S. V., Huslysty, A. O., Spirina, V. A. \(2021\). Low doses of imidacloprid induce disruption of intercellular adhesion and initiate proinflammatory changes in Caco-2 cells. \*Regulatory Mechanisms in Biosystems\*, 12\(3\), 430–437.](#)
- [Özdemir, S., Altun, S., Özkara, M., Ghosi, A., Toraman, E., Arslan, H. \(2018\). Cypermethrin, chlorpyrifos, deltamethrin, and imidacloprid exposure up-regulates the mRNA and protein levels of bdnf and c-fos in the brain of adult zebrafish \(\*Danio rerio\*\). \*Chemosphere\*, 203, 318–326.](#)
- [Pillet, M., Castaldo, G., De Weggheleire, S., Bervoets, L., Blust, R., De Boeck, G. \(2019\). Limited oxidative stress in common carp \(\*Cyprinus carpio\*, L., 1758\) exposed to a sublethal tertiary \(Cu, Cd and Zn\) metal mixture. \*Comparative Biochemistry and Physiology Part C Toxicology & Pharmacology\*, 218, 70–80.](#)
- [Porter, J. R., Fisher, B. E., Baranello, L., Liu, J. C., Kambach, D. M., Nie, Z., Koh, W. S., Luo, J., Stommel, J. M., Levens, D., Batchelor, E. \(2017\). Global inhibition with specific activation: how p53 and MYC redistribute the transcriptome in the DNA double-strand break response. \*Molecular Cell\*, 67\(6\), 1013–1025.](#)
- [Saito, Y., Nishio, K., Yoshida, Y., Niki, E. \(2005\). Cytotoxic effect of formaldehyde with free radicals via increment of cellular reactive oxygen species. \*Toxicology\*, 210\(2–3\), 235–245.](#)
- [Sayeed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R., Raisuddin, S. \(2003\). Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, \*Channa punctatus\* Bloch. \*Ecotoxicology and Environmental Safety\*, 56\(2\), 295–301.](#)
- [Sharma, R., Jindal, R. \(2020\). Assessment of cypermethrin induced hepatic toxicity in \*Catla catla\*: A multiple biomarker approach. \*Environmental Research\*, 184, 109359.](#)
- [Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullos, M. \(2006\). Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. \*Ecotoxicology and Environmental Safety\*, 64\(2\), 178–189.](#)
- [Yadav, A., Tandon, A., Seth, B., Goyal, S., Singh, S. J., Tiwari, S. K., Agarwal, S., Nair, S., Chaturvedi, R. K. \(2021\). Cypermethrin impairs hippocampal neurogenesis and cognitive functions by altering neural fate decisions in the rat brain. \*Molecular Neurobiology\*, 58\(1\), 263–280.](#)
- [Yang, C., Lim, W., Song, G. \(2020\). Mediation of oxidative stress toxicity induced by pyrethroid pesticides in fish. \*Comparative Biochemistry and Physiology Part C Toxicology & Pharmacology\*, 234, 108758.](#)
- [Zhang, J. F., Shen, H., Wang, X. R., Wu, J., Xue, Y. \(2004\). Effects of chronic exposure of 2,4 dichlorophenol on the antioxidant system in liver of freshwater fish \*Carassius auratus\*. \*Chemosphere\*, 55\(2\), 167–174.](#)