

УДК 612-019.001.57

© Д.А. Толстун, 2012.

ВЛИЯНИЕ ИСКУССТВЕННОЙ АТМОСФЕРЫ, МОДЕЛИРОВАННОЙ ГЕЛИЕМ И АРГОНОМ, НА РАЗВИТИЕ И СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Д.А. Толстун*ГУ "Институт геронтологии им. Д.Ф. Чеботарева" НАМН Украины, лаборатория физиологии человека и животных (зав. - акад. НАМН Украины В.В. Безруков), г. Киев.*

EFFECTS OF ARTIFICIAL ATMOSPHERE MODELED BY HELIUM ON DEVELOPMENT AND STRESS RESISTANCE IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*

D.A. Tolstun

SUMMARY

Effects of helium on dynamics of development and survival of drosophila have been studied. In optimal concentrations, the helium addition to the air stimulates the rate of development and increases survival of larvae and pupae. Decreased metabolic rate and spontaneous motor activity and elevated stress resistance the heat shock and ultraviolet irradiation were observed in imagoes. Argon does not lead to increased levels of gas exchange, but also increases the viability of the imagoes after heat shock and UV irradiation.

ВПЛИВ ШТУЧНОЇ АТМОСФЕРИ, МОДЕЛЮВАНОЇ ГЕЛІЄМ І АРГОНОМ, НА РОЗВИТОК І СТІЙКІСТЬ ДО СТРЕСІВ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Д.О. Толстун

РЕЗЮМЕ

Вивчено вплив гелію, аргону та азоту на динаміку розвитку і виживання личинок і лялечок, а також на стресостійкість імаго дрозофіл. Показано, що оптимальні концентрації гелію призводять до стимуляції росту та зниження смертності при розвитку. У імаго спостерігається зниження рівня газообміну і спонтанної рухової активності, а також підвищення життєздатності після теплового шоку і УФ опромінення. Аргон не призводить до підвищення рівня газообміну, проте також підвищує життєздатність імаго після теплового шоку і УФ опромінення.

Ключевые слова: *D. melanogaster*, газообмен, искусственная атмосфера, инертные газы, стрессоустойчивость.

Идея использования гипоксии с целью продления жизни не нова. Она базируется на предположении о том, что длительное пребывание в состоянии гипоксии должно привести к снижению парциального давления O_2 в тканях и субклеточных структурах, в частности, митохондриях, что в свою очередь может вызывать снижение интенсивности окислительных процессов. Так как известно, что между уровнем метаболизма и долголетием существует обратная коррелятивная зависимость, такое снижение интенсивности окислительных процессов может стать основой для продления жизни. В качестве модулятора изобарической гипоксии часто используется азот. Однако в последнее время открытие специфических эффектов инертных газов, в частности, гелия и аргона, дают основание говорить о необходимости изучения физиологических эффектов "благородных" газовых смесей. Так гелий обеспечивает увеличение объемной скорости движения газовой смеси, улучшает газообмен, нормализует газовый состав крови и кислотно-щелочное равновесие, уменьшает работу дыхательной мускулатуры и оптимизирует деятельность дыхательного центра [3]. Аргон в нормоксических нормобарических условиях в покое не проявляет физиологической активности [5]. Однако

в условиях гипоксии аргон может усиливать депрессию жизненных функций организмов, находящихся на начальных стадиях развития и не имеющих собственной системы кровообращения и мощной антиоксидантной защиты. При гипоксии у высокоорганизованных видов (крыса, человек), имеющих развитую кровеносную и антиоксидантную систему аргон проявляет антигипоксический эффект [13].

Среди биологических эффектов инертных газов и, в частности, гелия особенно значимо их нейро- и кардиопротекторное действие, так как именно эти органы наиболее подвержены возрастным изменениям, и их нарушения являются основной причиной смертности населения развитых стран [6, 7, 8, 9, 11, 12, 15]. Известно также ототекторное значение аргона при шумовом поражении органа слуха, ототоксических процессах в улитке и в лечении сенсоневральной тугоухости [1]. Кроме того при длительной экспозиции, аргон способствует сохранению нормального потребления кислорода человеком при физической нагрузке и поддержанию нормальных психофизиологических показателей испытуемых (проба PWC-170), снижению уровня молочной кислоты в крови после выполнения физической работы [4, 14].

Уместно также подчеркнуть, что в наших предварительных исследованиях применение гелия дало положительные результаты для повышения жизнеспособности и продления жизни дрозофил, содержащихся в условиях ускоренного старения [2]. Вместе с тем совершенно очевидно, что немаловажный интерес представляет изучение влияния инертных газов не только на поздние, но и на ранние этапы онтогенеза.

Цель работы – изучить влияние искусственной атмосферы, созданной с помощью гелия, аргона и азота на особенности развития личинок и куколок, а также на жизнеспособность вылупившихся при этом молодых имаго дрозофил. В качестве контроля выраженности и специфичности эффектов гелия и аргона были использованы как интактные популяции, так и параллельные опыты с добавлением аналогичных количеств азота.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы имаго и личинки *D. melanogaster* линии *Oregon*. ИА моделировали добавлением к воздуху различных концентраций N_2 , He, Ar. Проведены две серии опытов - на развитие и стрессоустойчивость *D. melanogaster*. В первой серии пробирки с яйцами помещали в 100-мл шприцы, к воздуху которых добавляли 5, 10, 15, 20 мл модулирующего газа. Специфичность воздействия гелия и аргона оценивали по сравнению с такими же добавками азота. Оценивалась динамика и смертность на этапах личиночной и куколичной стадий развития. В серии опытов по изучению влияния гелия и аргона на стрессоустойчивость, испытывались 20%, 40%, 60%, 80% концентрации

гелия и азота в атмосфере. Газовый состав и питательную среду обновляли через день. Оценивали скорость газообмена (V_{CO_2} , V_{O_2} в мл/г·ч) и спонтанную двигательную активность (СДА).

Была разработана батарея из 10 тестов для оценки жизнеспособности в сублетальных стрессовых ситуациях (тепловом шоке, окислительном стрессе, экстремальной гипероксии, гипоксии и гиперкапнии, ультрафиолетовом облучении, кислотной и щелочной нагрузках, голодании и др.). Устойчивость к стрессам у вылупившихся имаго оценивали по смертности после теплового шока (30 минут при 38°C) и ультрафиолетового облучения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Показано, что искусственная атмосфера, моделированная добавлением оптимальных (5-20%) доз гелия, ускоряла развитие и темпы роста дрозофил. Обнаружена следующая динамика развития личинок: 5% мало отличается от контроля, видимо, это – допороговая концентрация; 10% и 15% вызывали ускорение темпов роста, а при концентрации 20% и выше наблюдалось замедление темпов развития. Хотя исключить роль гипоксии в указанных изменениях роста нельзя, тем не менее, при аналогичных опытах с азотом такого ускорения роста и развития личинок не наблюдалось. Очевидно, здесь речь идет преимущественно о специфическом эффекте гелия.

На этапе развития смертность контрольных личинок растет по мере увеличения концентрации азота, но не в атмосфере с добавками гелием. Такая зависимость в целом сохранялась и при оценке смертности на куколичном этапе развития (рис. 1).

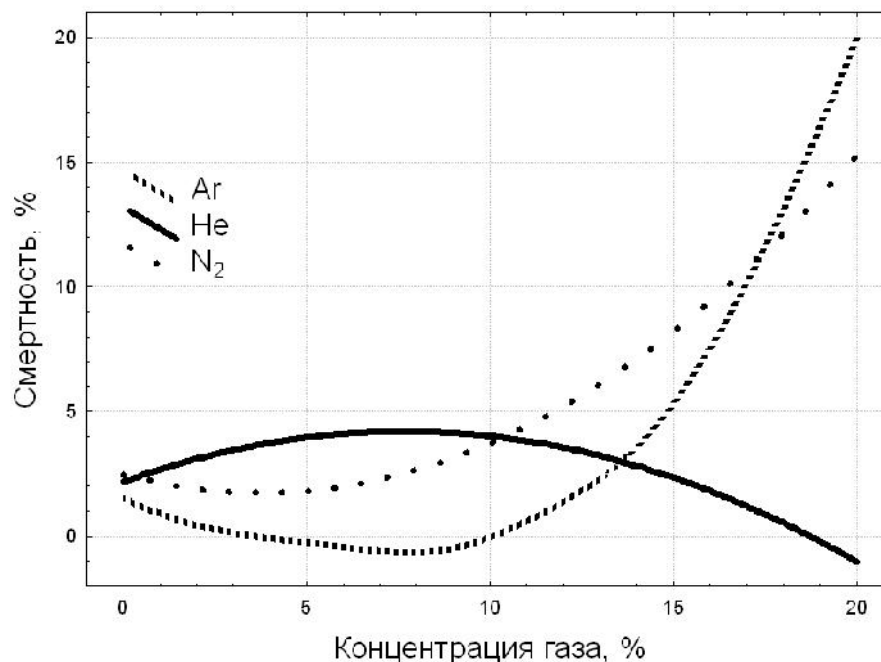


Рис. 1. Смертность на куколичной стадии развития *Drosophila melanogaster*.

Обращает на себя внимание то, что увеличение концентрации гелия приводило к некоторому снижению скорости потребления кислорода и, что было неожиданно, дыхательного коэффициента (рис. 2). Это не исключает возможность того, что под влиянием гелия повышается окисление жиров, и обогащенная гелием атмосфера может стать еще

одним средством для изменения энергетического обмена в организме. Для аргона в эксперименте подтвердились литературные данные, согласно которым аргон поддерживает нормальный уровень потребления кислорода в условиях гипоксии. Кривые потребления кислорода для азота и аргона практически идентичны.

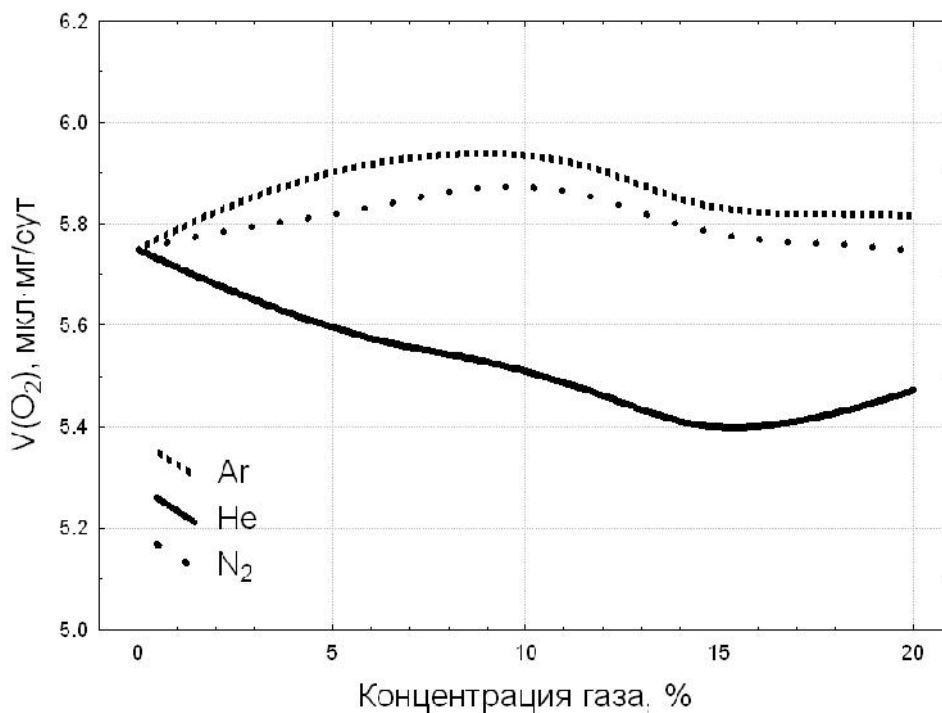


Рис. 2. V_{O_2} имаго дрозофил, выращенных при различных концентрациях He, Ar, N₂

Упомянутое выше снижение потребления кислорода при повышении концентрации гелия в значительной степени может быть обусловлено известным успокаивающим и наркотизирующим эффектом гелия, что приводит к снижению возбудимости и спонтанной двигательной активности. Выращенные в такой среде имаго при прочих равных условиях, вероятно, могут быть стать потенциальными долгожителями, поскольку сниженная спонтанная двигательная активность приводит к уменьшению возникновения свободных радикалов в организме.

При изучении стрессоустойчивости было установлено, что с повышением концентрации гелия в атмосфере увеличивается процент мух, выживших после теплового шока. Протекторные свойства гелия обнаруживаются также после ультрафиолетового облучения, но не голодания. Для аргона при модулировании “мягкой” (10-15%) гипоксии так же характерно повышение выживаемости мух при тепловом и ультрафиолетовом стрессах. Для окислительного стресса и голодания выживаемость имаго соответствовала выживаемости контрольной группы.

ВЫВОДЫ

Искусственная атмосфера, моделированная добавлением оптимальных концентраций гелия, приводит к стимуляции динамики роста и снижению смертности на личиночном и куколочном этапах развития дрозофил. У вылупившихся имаго наблюдается снижение уровня газообмена и спонтанной двигательной активности. Судя по выживаемости после теплового шока и ультрафиолетового облучения, такие особи обладают повышенной жизнеспособностью в стрессорных условиях. Для аргона не характерно снижение уровня газообмена и СДА, однако этот газ имеет положительное воздействие на имаго дрозофил при тепловом и ультрафиолетовом стрессах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мацнев Э.И., Сигалева Е.Э., Тихонова Г.А., Буравкова Л.Б. Отопротективный эффект аргона при воздействии шума // Вестник отоларингологии. – 2007. – 3. – С. 22 – 26.
2. Толстун Д.А., Мурадян Х.К., Тимченко А.Н., Безруков В.В. Влияние гипоксии, моделированной аргоном, азотом и гелием, на развитие, старение и

продолжительность жизни дрозофил. // Проблемы долголетия и старения. – Т.19. – №3, 2010.

3. Трошихин Г.В. Организм в гелиокислородной среде, Ленинград, Наука, 1989, 157с.

4. Шулагин Ю.А., Дьяченко А.И., Павлов Б.Н. “Газообмен человека при физической нагрузке с использованием для дыхания воздуха и гипоксических КАС и КААРС”. Сб. докладов Москва, “Индиферентные газы в водолазной практике, биологии и медицине”. “Слово”, 2000, с.207-214.

5. Финкельштейн Д.Н. // Инертные газы. – М. – Наука, – 1979. – с. 200.

6. Abraini et al. Potentially neuroprotective and therapeutic properties of nitrous oxide and xenon. // *Ann NY Acad Sci.* – 2005. – V. 1053. – P.289-300;

7. Barach A.L. The use of helium in the treatment of asthma and obstructive lesions of the larynx and trachea // *Ann Intern Med.* – 1935. – V. 9. – P. 739-765.

8. Chakkarapani et al. Xenon enhances hypothermic neuroprotection in asphyxiated newborn pigs // *Ann Neurol.* – 2010. – 3. – P.330 – 341.

9. Coburn M., Baumert J.-H., Roertgen D. et al. Emergence and early cognitive function in the elderly after xenon or desflurane anaesthesia: a double-blinded randomized controlled trial // *British Journal of Anaesthesia.* – 2007. – 6. – P. 756-762.

10. Grigoriev A.I., Pavlov B.N., Smolin V.V. et al. Investigations of different hyperoxic, hypoxic and normoxic oxygen-argon gaseous mixtures under different barometric pressure and respiration periods. Papers presented at 5th Int. Meeting on High Pressure Biology. St-Petersburg – 1997. – P.135–141.

11. Lachmann B. et al. Safety and efficacy of xenon in routine use as an inhalation anaesthetic // *Lancet.* – 1990. – 8703. – P. 1413-1415.

12. Pagel P. Cardioprotection by noble gases // *J. Cardiothor. Vasc. Anesth.* – 2010. – 1. – P. 143-163.

13. Pavlov B.N., Grigoriev A.I., Smolin V.V. et al. Investigation of different hyperoxic, hypoxic and normoxic oxygen-argon gaseous mixtures under different barometric pressure and respiration period // *High Pressure Biology and Medicine University of Rochester Press, Rochester.* – 1997. – P.133-142.

14. Pavlov B.N., Grigoriev A.I., Smolin V.V., Komordin I.P., Sokolov G.M., et.al. “Hyperoxic, normoxic and hypoxic oxygen - argon gaseous mixtures influence on humans under different barometric pressures and respiration times”. VTH International Meeting on High Pressure Biology, 1997, St. Peterburg p.133-142.

15. Shu et al. Xenon pretreatment attenuates anesthetic-induced apoptosis in the developing brain in comparison with nitrous oxide and hypoxia // *Anesthesiology.* – 2010. – 2. – P. 360-368.