

Д. А. Толстун

*Государственное учреждение "Институт геронтологии
им. Д. Ф. Чеботарева НАМН Украины", 04114 Киев*

ВЛИЯНИЕ ОБОГАЩЕННОЙ ГЕЛИЕМ АТМОСФЕРЫ НА СКОРОСТЬ ПРОДУКЦИИ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА, ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ И КИСЛОТНО-ЩЕЛОЧНОЕ РАВНОВЕСИЕ У ДРОЗОФИЛ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Изучено влияние пребывания (до 10 сут) молодых и старых дрозофил в условиях искусственной атмосферы, содержащей 50 % He, на скорость продукции CO_2 (V_{CO_2}), спонтанную двигательную активность (СДА) и кислотно-щелочное равновесие (рН). Показано, что под влиянием He уровень метаболических процессов постепенно снижается до 5 сут, но возвращается к исходным значениям к 10 сут. Практически идентичны также изменения кислотно-щелочного равновесия под влиянием хронического действия He. Его добавление не вызывает существенных изменений до 3 сут, однако, начиная с 5 сут, наблюдается существенный рост рН, который сохраняется до конца исследуемого периода. Одной из возможных причин изменений V_{CO_2} и рН может быть гипоксическая атмосфера, которая образуется в результате добавления He к воздуху. СДА под влиянием He повышается у молодых мух, а у старых ее изменения недостоверны. Повышение СДА у молодых мух свидетельствует о специфичности влияния He на сложные поведенческие параметры.

Ключевые слова: дрозофилы, газообмен, искусственная атмосфера, гелий, стрессоустойчивость.

Гелий (He) — инертный газ, занимающий шестое место по распространенности в атмосфере Земли, его содержание составляет 0,00052 %. В последнее время открытие специфических эффектов дыхательных смесей на основе инертных газов, в частности гелия, дают основание

считать необходимым изучение их физиологических эффектов. Ведь они сочетают в себе химическую инертность с биологической активностью. Эти газы непосредственно не включаются в обменные процессы организма, тем не менее, модуляции их содержания в атмосфере вызывают изменения большого комплекса физиологических и биохимических переменных [2, 3]. Так, исследованиями нашей лаборатории было показано, что добавление этих газов к воздуху приводит к уменьшению смертности личинок и куколок на ранних стадиях развития, а также снижает темп старения дрозофил, уменьшает смертность в условиях ускоренного старения [1].

По данным литературы, гелий обеспечивает увеличение объемной скорости движения газовой смеси в органах дыхания, улучшает газообмен, нормализует газовый состав крови и кислотно-щелочное равновесие, уменьшает работу дыхательной мускулатуры и оптимизирует деятельность дыхательного центра [3, 7, 12]. Уместен вопрос: как могут газы, которые не принимают участия в химических реакциях, влиять на процессы развития и старения? Наиболее очевидным объяснением биологических эффектов инертных газов может быть гипоксия, которая развивается после их добавления к воздуху без адекватной компенсации содержания кислорода. Но только ли гипоксия является причиной биологической активности инертных газов? Существует ли специфика их эффектов, и каков возрастной аспект этого феномена? Следует отметить, что изучение медико-биологических эффектов инертных газов только начинается, и здесь гораздо больше вопросов, чем ответов. В настоящее время среди биологических эффектов инертных газов (в частности, гелия) особенно значимо их нейро- и кардиопротекторное действие, так как именно эти системы наиболее подвержены возрастным изменениям, и их нарушения являются основной причиной смертности населения развитых стран [4–6, 8–11]. Для нас важно выяснить, могут ли инертные газы быть еще геропротекторами?

Цель работы — изучить возрастные изменения метаболизма и поведенческих реакций при содержании имаго дрозофил в атмосфере с повышенным содержанием гелия. В продолжение ранее проведенных исследований в настоящей работе ставилась задача оценить возрастные изменения влияния He на такие основные физиологические показатели, как скорость продукции CO_2 (V_{CO_2}), спонтанную двигательную активность (СДА) и кислотно-щелочное равновесие.

Материал и методы. В работе использованы молодые (5–15 сут) и старые (45–60 сут) имаго дрозофил линии Орегон. Дрозофилы размножались и доживали до указанного возраста в специальном термостатируемом помещении на стандартном рационе и режиме — 12 ч освещения/12 ч темноты.

Известно, что температура является критическим показателем для развития и старения дрозофил. Поэтому кроме термостатирования комнаты (обычно до 24,5 °С) использовали термостаты с водяной рубашкой для возможно меньших отклонений от температуры, оптимальной

для дрозофил (25 °С). Для оценки влияния He на уровень метаболизма, моторную активность и кислотно-щелочное равновесие по 15 дрозофил указанных возрастов сажали в стеклянные пробирки, снабженные специальной кормушкой и сеткой для свободного обмена воздуха с окружающей средой. Эти пробирки, в свою очередь, помещали в 100-мл пластиковые шприцы, к воздуху которых добавляли по 50 мл He и ставили в термостат на 3, 5 и 10 сут. Смену пищи и атмосферы осуществляли через день. V_{CO_2} (мкл·мг⁻¹·ч⁻¹) измеряли с помощью газоанализатора *Gerb. Minnhardt* (Нидерланды).

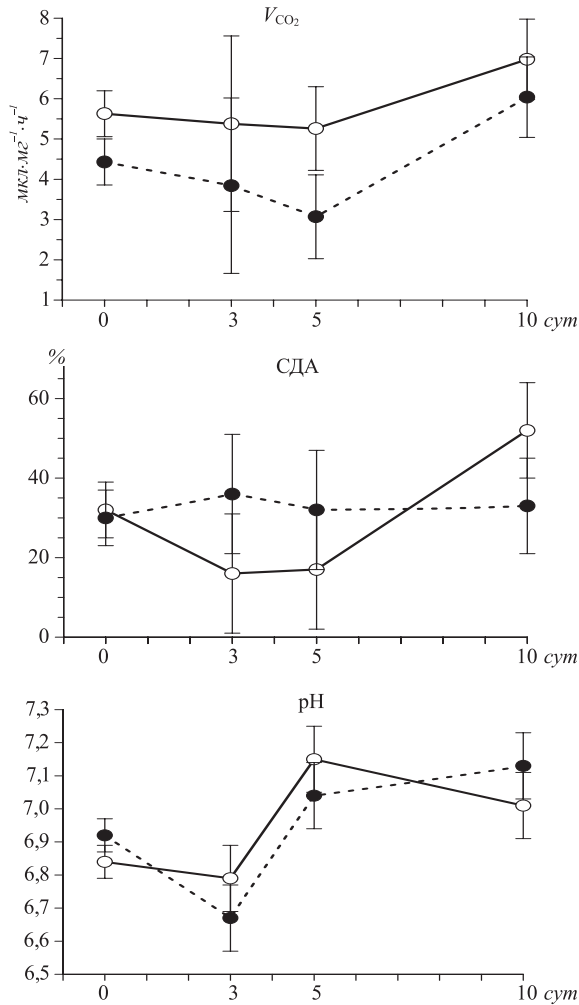
СДА оценивали после фотографирования с выдержкой 1,3 с. Перемечающиеся имаго при такой выдержке оставляют характерный "смазанный" след. Предварительные опыты показали, что СДА имаго, очевидно, формируется под влиянием случайных факторов и отличается большим разбросом. Поэтому, для получения воспроизводимых средних величин необходимо повторять фотографирование одной и той же пробы 10–20 раз. СДА выражали в процентах двигающихся особей от общего числа имаго в пробирке. О состоянии кислотно-щелочного равновесия судили по рН гомогенатов. Навеску имаго (около 20 мг) измельчали в гомогенизаторе типа "стекло-стекло", добавляли 1 мл свежеперегнанной бидистиллированной или деионизированной воды до получения однородного гомогената и регистрировали рН на рН-метре *Oakton* (США).

При статистической обработке использовали двухфакторный дисперсионный анализ *Factorial ANOVA* и *t*-критерий Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Динамика газообмена, СДА и рН гомогенатов в течение первых 10 сут после помещения молодых и старых имаго в атмосферу с 50 % He представлена на рисунке. Как видно из представленных графиков, V_{CO_2} у молодых мух в первые 5 сут не подвержена изменениям, однако к последнему дню эксперимента значительно возрастает, доходя до достоверных отличий. У старых же мух V_{CO_2} к середине экспериментального периода снижается, но нормализуется или даже несколько превосходит контрольный уровень к концу исследуемого периода. При этом V_{CO_2} у старых имаго держится на уровне ниже молодых в течение почти всего исследованного периода. Только к 10 сут значения эти показателей у молодых и старых имаго выравниваются. Судя по данным двухфакторного дисперсионного анализа (*Factorial ANOVA*), влияние как возраста ($P < 0,0002$), так и действия He ($P < 0,002$) на V_{CO_2} статистически значимо, а совместное действие этих факторов, которое можно интерпретировать как возрастные изменения действия He, недостоверно (см. рис.).

Противоположная картина наблюдается для СДА. Влияние возраста и He недостоверны, тогда как их совместное действие весьма близко к общепринятой границе достоверности (см. рис.).

Под влиянием He кислотно-щелочное равновесие сдвигается в сторону защелачивания в обеих возрастных группах, начиная с 5 сут. При этом влияние He и возрастные различия его эффектов достоверны, а влияние только возраста — недостоверно (см. рис.).



Влияние пребывания в течение 10 сут молодых (сплошные линии) и старых (штриховые линии) имаго дрозофил в атмосфере с 50 % He на V_{CO_2} , СДА и pH гомогенатов.

Следует отметить, что влияние He зависит от сроков его действия, возраста подопытных мух и самого исследуемого показателя. При сравнении значимости факторов, связанных с возрастом или He, обращает на себя внимание то, что влияние возраста чаще недостоверно (за исключением V_{CO_2}), тогда как влияние He и его совместного действия с возрастом достоверно в двух случаях из трех (см. рис.).

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что разбавление кислорода воздуха вдвое путем добавления He приводит к изменениям газообмена, СДА и pH дрозофил. Показано, что под

влиянием Не уровень метаболических процессов постепенно снижается до 5 сут, но возвращается к исходным значениям к 10 сут. Практически идентичны также изменения кислотно-щелочного равновесия под влиянием хронического действия Не. Его добавление не вызывает существенных изменений до 3 сут, однако, начиная с 5 сут, наблюдается существенный рост рН, который сохраняется до конца исследуемого срока. Одной из возможных причин изменений V_{CO_2} и рН может быть гипоксическая атмосфера, которая образуется в результате добавления Не к воздуху. СДА под влиянием Не повышается у молодых мух, а у старых ее изменения недостоверны. Повышение СДА у молодых мух свидетельствует о специфичности его влияния на сложные поведенческие параметры.

Список использованной литературы

1. Толстун Д. А., Тимченко А. Н., Безруков В. В., Мурадян Х. К. Влияние гипоксии, моделированной аргонем, азотом и гелием, на развитие, старение и продолжительность жизни дрозофил // Пробл. старения и долголетия. — 2010. — **19**, № 3. — С. 255.
2. Трошихин Г. В. Организм в гелиокислородной среде. — Л.: Наука, 1989. — 157 с.
3. Финкельштейн Д. Н. Инертные газы. — М.: Наука, 1979. — 200 с.
4. Varach A. L. The use of helium in the treatment of asthma and obstructive lesions of the larynx and trachea // Ann. Intern. Med. — 1935. — **9**. — P. 739–765.
5. Chakkarapani E., Dingley J., Liu X. et al. Xenon enhances hypothermic neuroprotection in asphyxiated newborn pigs // Ann. Neurol. — 2010. — **68**, № 3. — P. 330–341.
6. 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 // Br. J. Anaesth. — 2007. — **98**, № 6. — P. 756–762.
7. McGarvey J. M., Pollack C. V. Heliox in airway management // Emerg. Med. Clin. North. Am. — 2008. — **26**. — P. 905–920.
8. Pagel P. S. Cardioprotection by noble gases // J. Cardiothor. Vasc. Anesth. — 2010. — **24**, № 1. — P. 143–163.
9. Pagel P. S., Krolikowski J. G., Venkatapuram S. et al. Noble gases without anesthetic properties protect myocardium against infarction by activating prosurvival signaling kinases and inhibiting mitochondrial permeability transition *in vivo* // Anesth. Analg. — 2007. — **105**, № 3. — P. 562–569.
10. Palm K. H., Decker W. W. Acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease // Emerg. Med. Clin. North. Am. — 2003. — **21**, № 2. — P. 331–352.
11. Rodrigo G. J., Rodrigo C., Pollack C. V. et al. Use of helium-oxygen mixtures in the treatment of acute asthma: A systematic review // Chest. — 2003. — **123**. — P. 891–896.
12. Shu Y., Patel S. M., Pac-Soo C. et al. Xenon pretreatment attenuates anesthetic-induced apoptosis in the developing brain in comparison with nitrous oxide and hypoxia // Anesthesiology. — 2010. — **113**, № 2. — P. 360–368.

Поступила 24.11.2013

**ВПЛИВ ЗБАГАЧЕНОЇ ГЕЛІЄМ АТМОСФЕРИ
НА ШВИДКІСТЬ ПРОДУКЦІЇ ВУГЛЕКИСЛОГО ГАЗУ,
РУХОВУ АКТИВНІСТЬ ТА КИСЛОТНО-ЛУЖНУ
РІВНОВАГУ У ДРОЗОФІЛ РІЗНОГО ВІКУ**

Д. О. Толстун

Державна установа "Інститут геронтології
ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України", 04114 Київ

Вивчено вплив перебування (до 10 діб) в умовах штучної атмосфери, що містить 50 % He, на швидкість продукції CO₂ (V_{CO₂}), спонтанну рухову активність (CPA) і кислотно-лужну рівновагу (рН) у молодих і старих дрозофіл. Показано, що під впливом He рівень метаболічних процесів поступово знижується до 5 діб, але повертається до вихідних значень до 10 доби. Практично ідентичні також зміни кислотно-лужної рівноваги під впливом хронічної дії He. Його додавання не викликає істотних змін до 3 діб, проте, починаючи з 5 доби, спостерігається істотне зростання рН, яке зберігається до кінця досліджуваного терміну. Однією з можливих причин однотипних змін V_{CO₂} і рН може бути гіпоксична атмосфера, яка утворюється в результаті додавання He до повітря. CPA під впливом He підвищується у молодих мух, а у старих її зміни недостовірні. Підвищення CPA у молодих мух свідчить про специфічність впливу He на складні поведінкові параметри.

**EFFECTS OF HELLIUM-ENRICHED ATMOSPHERE
ON THE RATE OF CARBON DIOXIDE PRODUCTION,
MOTOR ACTIVITY AND ACID-BASE BALANCE
IN DROSOPHILA OF VARIOUS AGE**

D. A. Tolstun

State Institution "D. F. Chebotarev Institute of Gerontology NAMS
Ukraine", 04114 Kyiv

Effects of staying (up to 10 days) in the artificial atmosphere modeled by equal parts (50 %) of air and He on the metabolic rate (V_{CO₂}), spontaneous motor activity (SMA) and acid-base balance have been studied in young and old drosophila. The level of He-induced metabolic processes was found to decrease to 5 days, but returned to initial values by day 10. The changes in acid-base balance under chronic effect of He were similar. Its addition produced no significant changes during 3 days, but starting from day 5 there was a significant increase of pH, which preserved till the end of the study period. A hypoxic atmosphere, formed as a result of He addition to the air, is thought to be a cause for changes in V_{CO₂} and pH. He induced increase of SMA in young flies, whereas in old flies changes in the SMA were insignificant. Increase of SMA in young flies may reflect a specificity of He effect on complex behavioral variables.

Сведения об авторе

Д. А. Толстун — м.н.с. лабораторії фізіології (blaick.arm@gmail.com)