

# БИОЛОГИЯ СТАРЕНИЯ

"Пробл. старения и долголетия", 2014, 23, № 4. — С. 339–350

УДК 612.68-019

Т. О. Дубілей, Ю. Є. Рушкевич, Н. М. Кошель,  
С. А. Мигован, Т. В. Тушинська

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

## ВПЛИВ ЛІПОПОЛІСАХАРИДА *E. COLI* НА ТРИВАЛІСТЬ ЖИТТЯ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

В досліджах на самцях та самках плодових мух *D. melanogaster* вивчали вплив споживання ліпополісахариду *E. coli* (ЛПС) на різних стадіях онтогенезу на тривалість життя (ТЖ). У самців на передімагінальній стадії розвитку споживання корму, що містив ЛПС в концентраціях 0,1 та 1 мкг/мл, не впливало істотно на ТЖ, а в концентрації 5 мкг/мл збільшувало середню та максимальну ТЖ (СТЖ і МТЖ), відповідно, на 5,9 % і 3,5 %. У самок дрозофіл, які розвивалися на кормі з додаванням ЛПС, ТЖ практично не відрізнялася від контролю, за винятком концентрації 1 мкг/мл, яка спричиняла зменшення МТЖ на 2,9 %. Додавання до харчового субстрату самців від 5 по 7 добу імагінального життя ЛПС в концентраціях 5, 25 та 50 мкг/мл подовжувало СТЖ, відповідно, на 5 %, 5,6 % та 5,5 %. МТЖ комах при цьому достовірно не змінювалася, хоча у двох останніх концентраціях відзначалася тенденція до її зростання. Збільшення концентрації ЛПС в кормі до 75 мкг/мл, 100 мкг/мл та 150 мкг/мл супроводжувалося зникненням пролонгуючого впливу препарату на СТЖ мух та появою статистично значимого пролонгуючого впливу на МТЖ. Приріст МТЖ по відношенню до контролю становив, відповідно, 3,2 %, 7,3 % та 3,6 %. Застосування ЛПС у більш пізньому віці — від 12 по 14 добу імагінального життя в концентрації 5 мкг/мл — не викликало достовірних змін СТЖ, а в концентрації 50 мкг/мл спостерігалася лише тенденція до її зростання. Застосування ЛПС від 33 по 35 добу імагінального життя в обох вищевказаних концентраціях виявилось неефективним. У самок дро-

© Т. О. Дубілей, Ю. Є. Рушкевич, Н. М. Кошель, С. А. Мигован, Т. В. Тушинська, 2014.

зофіл, які споживали ЛПС від 5 по 7 добу імагінального життя в концентрації 1 мкг/мл, було зафіксовано зменшення СТЖ на 4,7 % та МТЖ на 3,9 %, а в дозі 25 мкг/мл — зменшення МТЖ на 2,8 %. Всі інші досліджені концентрації ЛПС не викликали істотних відхилень СТЖ та МТЖ від контрольних величин. Таким чином, в наших дослідженнях виявлено позитивний вплив ЛПС на ТЖ самців *D. melanogaster*, який спостерігався при застосуванні препарату на передімагінальній та ранній імагінальній стадіях розвитку.

**Ключові слова:** *Drosophila melanogaster*, ліпополісахарид *E.coli*, тривалість життя.

З роками частка людей похилого віку у загальній структурі населення зростає. Такі демографічні зміни створюють серйозні економічні та соціальні проблеми, оскільки з віком відбувається прогресивне погіршення фізичного стану та психічного самопочуття людини. Існуючий стан речей спонукає до пошуку геропротекторів, які здатні подовжувати як тривалість, так і активний період життя. Останнім часом з'явилися дані про гормезісний вплив бактеріального ліпополісахариду (ЛПС) на ряд функцій і окислювально-відновних процесів, а також обговорюється можливість його використання з метою поліпшення стану здоров'я старіючого організму та подовження тривалості життя [11].

ЛПС є головним компонентом клітинної стінки грамнегативних бактерій. У ссавців він викликає імунну відповідь шляхом активації толл-подібних рецепторів (*TLR-4*), що призводить до транслокації в ядро транскрипційного фактора *NF-κB* та запуску експресії регуляторних молекул запалення. В результаті активуються всі основні клітинні функції, пов'язані з розвитком фагоцитозу та представленням антигенів, продукцією *NO* і вільних форм кисню, синтезом низькомолекулярних медіаторів запалення та прозапальних цитокінів.

Встановлено, що ЛПС присутній в системному кровотоці протягом усього життя і бере участь в регуляції активності імунної системи на всіх її рівнях. У великих концентраціях він викликає ряд патологічних процесів, у малих — чинить стимулюючу дію практично на всі клітини і системи організму, підтримуючи їх в стані фізіологічного тону. Так, введення ЛПС в дозі, що викликає "хворобливу поведінку", погіршує навчання [20], знижує активність орексин *A*-нейронів латерального гіпоталамуса, тим самим впливаючи на споживання їжі [12], а також знижує електричну активність дофамінергічних нейронів вентральної коришки, сприяючи пригніченню функції дофамінергічних елементів системи нагороди [5]. Поряд із цим існують дані про те, що ЛПС полегшує навчання [27], а також збільшує вміст дофаміну в прилеглому ядрі — важливому елементі системи нагороди, яке безпосередньо бере участь у формуванні сигналів позитивного підкріплення [6]. Введення малої дози ЛПС стимулює продукцію макрофагами протизапального цитокіну *IL-10*, що зумовлює пригнічення розвитку хороїдальної нео-

васкуляризації — однієї з ключових ланок у патогенезі вікової дегенерації сітківки [21]. ЛПС підвищує антигрибковий імунітет [26], чинить кардіопротекторну дію, захищаючи серце від негативних наслідків ішемії/реперфузії [34], зменшує вираженість нейродегенерації та прискорює функціональне відновлення після експериментальної травми мозку [8, 19]. Попереднє введення малої дози ЛПС істотно підвищує виживаність при септичному шоці [17]. Запропоновані імуностимулюючі фармацевтичні композиції, що містять ендотоксин, для лікування раку, інфекційних захворювань, алергічних станів, зменшення негативних побічних ефектів опромінення, усунення вікового імунного дисбалансу (патент № RU2366449 С2, Росія та № 005012 В1, Євразійське патентне відомство).

Наразі відомі деякі експериментальні дані про підвищення життєздатності та подовження тривалості життя (ТЖ) безхребетних тварин під впливом мікроорганізмів. Показано, що присутність грамнегативних бактерій в харчовому середовищі в перший тиждень імагінального життя збільшує ТЖ дрозофіл [7]. Самки дрозофіл, інфіковані невірулентним штамом внутрішньоклітинної грамнегативної бактерії *Wolbachia*, мають більш високу фекандильність і ТЖ у порівнянні з неінфікованими особинами [10]. Нематоди *Caenorhabditis elegans*, які розвиваються в середовищі, що містить грамнегативні патогенні мікроорганізми, в дорослому стані демонструють значно кращі значення показників виживання при зараженні цими та іншими патогенами, а також підвищену резистентність до теплового стресу [18].

Таким чином, наявні в літературі дані свідчать про можливість позитивного впливу ЛПС на окремі функції, а мікроорганізмів, які містять ЛПС, — на ТЖ. Разом з тим, вплив ЛПС на ТЖ залишається невивченим.

Мета роботи — дослідити вплив споживання ЛПС *E. coli* на різних стадіях онтогенезу на ТЖ *Drosophila melanogaster*.

**Матеріал та методи.** Досліди проведено на самцях і самках аутбредної лабораторної популяції *D. melanogaster* дикого типу *Oregon-R*. Розведення та утримання контрольної популяції мух здійснювали при температурі 25 °С на стандартному харчовому середовищі, яке містило цукор, дріжджі, манну крупу, бензойну кислоту та агар-агар. В експериментальних групах у харчову суміш додавали ЛПС *E. coli* (серотип 055:В, "Sigma", США). Мухи споживали такий модифікований корм протягом всієї передімагінальної стадії розвитку або протягом 2 діб на стадії імаго, починаючи з 5, 12 або 33 доби життя.

Для визначення ТЖ мух на 3 добу після вильоту з лялечок розсаджували в скляні пробірки 150 мм заввишки та 15 мм в діаметрі, що містили по 2 мл корму, при щільності популяції 25 особин у пробірці (самці і самки окремо). Кожен з варіантів експерименту включав по 7–8 повторів. Пересадку на свіжий корм здійснювали 3 рази на тиждень, одночасно проводячи підрахунок загиблих комах. Після повного вимірання мух розраховували середню та максимальну ТЖ (СТЖ і МТЖ).

МТЖ визначали як СТЖ 10 % останніх особин в групі, які залишилися живими.

Для вивчення фекандильності запліднених самок у віці 8, 11, 18 та 25 діб розсаджували у скляні пробірки з кормом на 2 год (10 пробірок по 20 особин у кожній групі), після чого підраховували кількість відкладених яєць.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою *t*-критерію Стьюдента.

**Результати та їх обговорення.** У самців *D. melanogaster* споживання на передімагінальній стадії розвитку корму, що містив 0,1 та 1 мкг/мл ЛПС, не впливало істотно на ТЖ, а 5 мкг/мл ЛПС збільшувало СТЖ та МТЖ на 5,9 % і 3,5 %, відповідно (рис. 1, табл. 1). У самок дрозофіл, які розвивалися на кормі з додаванням ЛПС, ТЖ практично не відрізнялася від контролю, за винятком концентрації 1 мкг/мл, яка спричиняла зменшення МТЖ на 2,9 % (див. табл. 1).

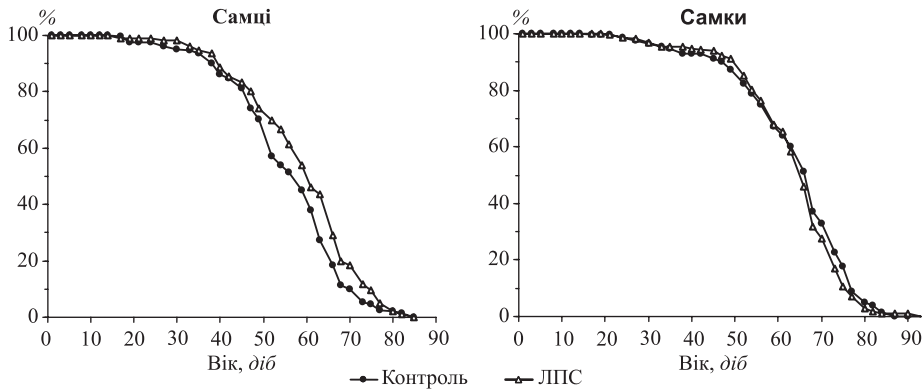


Рис. 1. Виживаність самців і самок *D. melanogaster* при споживанні на передімагінальній стадії розвитку корму, що містив ЛПС у концентрації 5 мкг/мл.

Таблиця 1

Тривалість життя самців і самок *D. melanogaster* при споживанні корму з ЛПС на передімагінальній стадії розвитку, діб ( $M \pm m$ )

Концентрація ЛПС в кормі, мкг/мл	Самці		Самки	
	СТЖ	МТЖ	СТЖ	МТЖ
0 (контроль)	56,0 ± 0,9 (202)	76,6 ± 1,0 (20)	63,8 ± 0,9 (203)	80,7 ± 0,7 (20)
0,1	54,8 ± 0,9 (204)	75,1 ± 0,5 (20)	63,2 ± 0,8 (196)	79,7 ± 0,7 (19)
1	56,1 ± 0,8 (212)	75,0 ± 0,7 (21)	62,6 ± 0,8 (205)	78,4 ± 0,6* (20)
5	59,3 ± 0,9* (186)	79,3 ± 0,7* (18)	63,6 ± 0,8 (214)	79,5 ± 0,5 (21)

Примітки (тут і в табл. 3): \* —  $P < 0,05$  у порівнянні з контролем; в дужках — кількість особин в групі.

Додавання ЛПС до харчового субстрату самців *D. melanogaster* від 5 по 7 добу імагінального життя в концентраціях 5, 25 та 50 мкг/мл подовжувало СТЖ, відповідно, на 5 %, 5,6 % та 5,5 % (рис. 2, табл. 2). При цьому МТЖ комах достовірно не змінювалася, хоча у двох останніх дозах відзначалася тенденція ( $P < 0,1$ ) до її зростання. Збільшення концентрації ЛПС в кормі до 75 мкг/мл, 100 мкг/мл та 150 мкг/мл супроводжувалося зникненням пролонгуючого впливу препарату на СТЖ мух та появою статистично значимого пролонгуючого впливу на МТЖ. Приріст МТЖ по відношенню до контролю становив, відповідно, 3,2 %, 7,3 % та 3,6 %. Застосування ЛПС у більш пізньому віці — від 12 по 14 добу імагінального життя в концентрації 5 мкг/мл — не викликало достовірних змін СТЖ, а в концентрації 50 мкг/мл спостерігалася лише тенденція до її зростання (табл. 3). Застосування ЛПС з 33 по 35 добу імагінального життя в обох вищевказаних концентраціях виявилось неефективним (див. табл. 3).

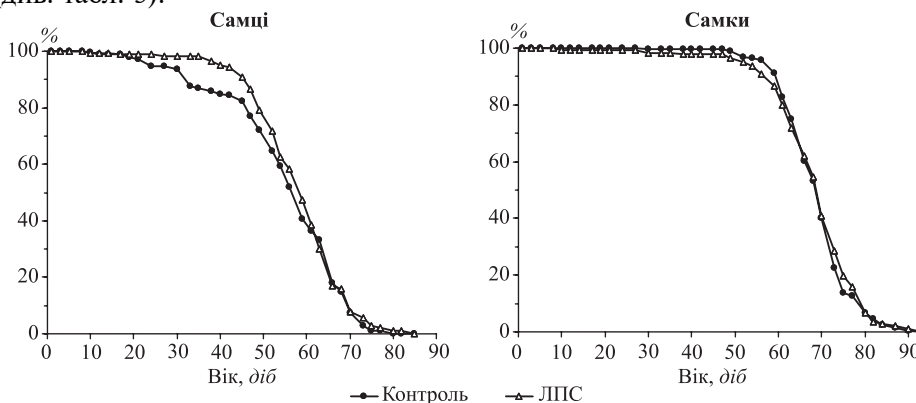


Рис. 2. Виживаність самців і самок *D. melanogaster* при споживанні від 5 по 7 добу імагінального життя корму, що містив 50 мкг/мл ЛПС.

У самок дрозофіл, які споживали ЛПС з 5 по 7 добу імагінального життя в концентрації 1 мкг/мл, було зафіксовано зменшення СТЖ на 4,7 % та МТЖ на 3,9 %, а в концентрації 25 мкг/мл — зменшення МТЖ на 2,8 % (див. табл. 2). Всі інші досліджені концентрації ЛПС не викликали істотних відхилень СТЖ та МТЖ від контрольних величин. ЛПС чинив стимулюючий вплив на репродуктивну функцію самок: споживання препарату в концентрації 50 мкг/мл протягом 5–7 доби імагінального життя привело до збільшення фекандильності 10-добових мух на 58 % (табл. 4).

Таким чином, проведені дослідження виявили позитивний вплив ЛПС на ТЖ самців *D. melanogaster*, який спостерігався при споживанні препарату на передімагінальній або ранній імагінальній стадіях розвитку. Як відомо, у комах ефект ЛПС реалізується шляхом активації толл рецепторів, запуску внутрішньоклітинного каскаду реакцій по толл сигнальному шляху та активації транскрипційних факторів, гомологічних

ядерному фактору *NF-kB* ссавців — морфогену *Dorsal*, та імунного фактора *Dif* [31]. Толл сигнальний шлях відіграє істотну роль в процесі ембріонального розвитку мух та у функціонуванні імунної системи у дорослих особин [3, 24]. Показана участь толл рецепторів у формуванні мотонейронів і м'язів [13], в процесі меланізації у личинок [4], у контролі проліферації та концентрації гемоцитів [28, 35]. Активація імунної системи дрозофіл за участю толл рецепторів виявлена при інфікуванні граммпозитивними бактеріями і грибками. При цьому запускаються як гуморальний, так і клітинний компоненти імунної відповіді, а саме продукція антимікробних і протигрибкових пептидів [2,14] і процеси фагоцитозу, інкапсуляції та знищення патогенів [15].

Таблиця 2

Тривалість життя самців і самок *D. melanogaster* при споживанні корму з додатком ЛПС від 5 по 7 добу імагінального життя, діб ( $M \pm m$ )

Концентрація ЛПС в кормі, мкг/мл	Самці		Самки	
	СТЖ	МТЖ	СТЖ	МТЖ
0 (контроль 1)	56,1 ± 0,7 (303)	74,9 ± 0,8 (30)	64,2 ± 0,9 (203)	82,3 ± 0,7 (20)
1	—	—	61,2 ± 1,0* (119)	79,1 ± 1,0* (11)
5	58,9 ± 0,7* (279)	75,3 ± 0,4 (28)	64,7 ± 1,0 (121)	81,3 ± 1,0 (12)
0 (контроль 2)	54,6 ± 1,0 (204)	73,7 ± 0,7 (20)	69,0 ± 0,6 (196)	84,8 ± 0,9 (19)
25	57,7 ± 0,9* (180)	75,9 ± 1,1 (18)	67,7 ± 0,7 (174)	82,4 ± 0,8* (17)
50	57,6 ± 0,8* (177)	76,1 ± 1,2 (17)	68,6 ± 0,8 (178)	84,9 ± 1,0 (17)
75	55,1 ± 1,0 (181)	76,1 ± 0,9* (18)	—	—
100	57,1 ± 1,1 (180)	79,1 ± 1,0* (18)	68,8 ± 0,6 (176)	84,6 ± 0,8 (17)
150	56,7 ± 0,9 (181)	76,4 ± 1,0* (18)	68,5 ± 0,7 (172)	84,8 ± 0,9 (17)

*Примітки:* представлені дані двох серій експериментів, кожна з яких мала свою контрольну групу (контроль 1 та контроль 2, відповідно); \* —  $P < 0,05$  у порівнянні з відповідним контролем (в дужках — кількість особин в групі); вплив ЛПС у концентрації 1 мкг/мл досліджували лише на самках, а у концентрації 75 мкг/мл — лише на самцях.

В наших експериментах пролонгування життя спостерігалось при введенні ЛПС в корм мух лише на передімагінальній або ранній імагінальній стадіях розвитку. Ці дані у певній мірі узгоджуються з результатами робіт інших авторів, які виявили позитивний вплив контакту з мікрофлорою в ранньому онтогенезі на ТЖ дрозофіл [7]. Було показано, що присутність бактерій у живильному середовищі мух в перші 4–7 діб імагінального життя сприяє збільшенню їх ТЖ на 30 %. На думку авторів роботи, найбільш вірогідною мішенню для впливу бактерій є жирове тіло

личинок, залишки якого зберігаються в тілі дорослих особин протягом першого тижня життя. Напроти, на більш пізніх стадіях онтогенезу присутність бактерій у харчовому середовищі негативно впливає на ТЖ мух, що може бути пов'язано з віковим погіршенням імунітету.

Таблиця 3

Середня тривалість життя самців *D. melanogaster* при споживанні корму з додатком ЛПС у різному віці на імагінальній стадії розвитку, діб ( $M \pm m$ )

Концентрація ЛПС в кормі, мкг/мл	Вік комах, діб		
	5–7	12–14	33–35
0 (контроль)	56,3 ± 1,2 (101)	55,7 ± 1,0 (155)	61,3 ± 0,8 (105)
5	60,5 ± 1,0*	57,4 ± 1,1 (96)	59,4 ± 0,9 (99)
50	62,0 ± 0,7* (101)	58,4 ± 1,0 (84)	60,5 ± 1,0 (84)

Таблиця 4

Вплив ЛПС на фекандильність самок *D. melanogaster*, кількість яєць ( $M \pm m$ )

Група	Вік самок, діб			
	7	10	17	24
Контроль	8,7 ± 2,4	26,0 ± 4,3	21,3 ± 4,1	3,9 ± 1,2
ЛПС, 50 мкг/мл	12,7 ± 3,0	41,1 ± 5,4*	15,7 ± 2,8	4,4 ± 1,7

Примітки: кількість яєць — відкладена 20 самками за 2 год, \* —  $P < 0,05$  у порівнянні з контролем відповідного віку.

Показано, що інфікування 5–7 добових дрозозфіл сублетальною дозою грампозитивних бактерій *Streptococcus pneumoniae* протягом кількох наступних тижнів захищає мух від летальної дози цих мікроорганізмів [23]. Також показано, що введення ЛПС личинкам борошняного жука *Tenebrio molitor* підвищує антимікробну активність гемолімфи та протягом наступних 50 діб покращує виживаність при інфікуванні спорами ентомопатогенного грибка *Metarhizium anisopliae* [22]. Ці та інші дані літератури [25] свідчать про існування у комах адаптивної імунної відповіді та про можливість її ініціації за допомогою ЛПС. Таким чином, в наших дослідках споживання ЛПС личинками та молодими імаго дрозозфіл могло підвищити резистентність дорослих особин до інфікування грампозитивними бактеріями і грибами, сприяючи тим самим збільшенню ТЖ.

У дрозозфіл, як і у інших представників тваринного світу, еволюційно консервативний внутрішньоклітинний сигнальний шлях, який запускається активацією інсуліноподібних (*I/IGF-1*) рецепторів, контролює основні аспекти життєдіяльності, включаючи ТЖ [30, 32]. Інактивація *I/IGF-1* каскаду веде до перерозподілу пластичних та енергетичних ресурсів організму з процесів росту і розвитку на процеси відновлення, що супроводжується підвищенням стрес-резистентності та збільшенням ТЖ [1, 16]. Існують дані про те, що толл та *I/IGF-1* сигнальні шляхи можуть знаходитися в антагоністичних відношеннях. Так, акти-

вація толл сигнального шляху в жировому тілі дрозофіл призводить до пригнічення *I/IGF-1* впливів і зменшення вмісту ліпідів у клітинах жирового тіла і в організмі вцілому [9]. Виходячи із цього, можна припустити, що одним із механізмів збільшення ТЖ дрозофіл в наших експериментах було послаблення *I/IGF-1* сигналіngu, зумовлене ЛПС-індукованою активацією толл рецепторів. Слід зазначити, що термін формування такого механізму, очевидно, був обмежений передімагінальною та першим тижнем імагінальної стадії розвитку комах.

На відміну від самців, споживання ЛПС самками дрозофіл не приводило до збільшення ТЖ, а в деяких випадках навіть викликало її зменшення. Можливо, негативний вплив ЛПС на ТЖ самок був зумовлений збільшенням їх репродуктивної активності. Висока плодовитість на фоні індукованого активацією толл рецепторів ослаблення *I/IGF-1*-впливів [9] і, відповідно, низького вмісту тригліцеридів могла призвести до виснаження енергетичних ресурсів і зниження життєздатності самок. Також слід врахувати ймовірність існування у мух статевих особливостей імунної відповіді на ЛПС. Наприклад, при інфікуванні дрозофіл грибком *Beauveria Bassiana* виживаність самок є нижчою, ніж самців, та супроводжується менш вираженою, але більш тривалою експресією протигрибкових білків дрозоміцина і мечніковіна [29].

Обговорюючи потенційну можливість застосування ЛПС з метою збільшення ТЖ, слід враховувати високу токсичність даного препарату, що потребує особливої обережності при виборі оптимальної дози. Так, у бджіл однократна ін'єкція імуногенної, але не патогенної дози ЛПС послаблює вироблення класичного харчового умовного рефлексу [20]. Показано також, що у дрозофіл ЛПС в концентрації 1 мг/мл подразнює хеморецептори, розташовані на кінцівках та крилах, викликаючи захисну поведінкову реакцію — грумінг [33]. Концентрації ЛПС 5–50 мкг/мл, які в наших експериментах виявилися оптимальними для подовження ТЖ дрозофіл, не викликають у мух спроби очистити тіло від цієї речовини і, очевидно, є для них нетоксичними.

### Список використаної літератури

1. *Москал'єв А. А.* Перспективные направления генетики старения и продолжительности жизни // Успехи геронтол. — 2009. — **22**, № 1. — С. 92–103.
2. *Aggarwal K., Silverman N.* Positive and negative regulation of the Drosophila immune response // BMB Rep. — 2008. — **41**. — P. 267–277.
3. *Belvin M. P., Anderson K. V.* A conserved signaling pathway: the Drosophila toll-dorsal pathway // Annu. Rev. Cell Dev. Biol. — 1996. — **12**. — P. 393–416.
4. *Bettencourt R., Asha H., Dearolf C., Ip Y. T.* Hemolymph-dependent and -independent responses in Drosophila immune tissue // J. Cell. Biochem. — 2004. — **92**. — P. 849–863.
5. *Blednov Y. A., Benavidez J. M., Geil C. et al.* Activation of inflammatory signaling by lipopolysaccharide produces a prolonged increase of voluntary alcohol intake in mice // Brain Behav. Immun. — 2011. — **5**, Suppl 1. — P. S92–S105.
6. *Borowski T., Kokkinidis L., Merali Z., Anisman H.* Lipopolysaccharide, central *in vivo* biogenic amine variations, and anhedonia // Neuroreport. — 1998. — **9**, № 17. — P. 3797–3802.



7. *Brummel T., Ching A., Seroude L.* et al. *Drosophila* lifespan enhancement by exogenous bacteria // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2004. — **101**, № 35. — P. 12974–12979.
8. *Chen Z., Jalabi W., Shpargel K. B.* et al. Lipopolysaccharide-induced microglial activation and neuroprotection against experimental brain injury is independent of hematogenous TLR4 // *J. Neurosci.* — 2012. — **32**, № 34. — P. 11706–11715.
9. *DiAngelo J. R., Bland M. L., Bambina S.* et al. The immune response attenuates growth and nutrient storage in *Drosophila* by reducing insulin signaling // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2009. — **106**. — P. 20853–20858.
10. *Fry A. J., Palmer M. R., Rand D. M.* Variable fitness effects of *Wolbachia* infection in *Drosophila melanogaster* // *Heredity (Edinb).* — 2004. — **93**, № 4. — P. 379–389.
11. *Fuente M.de L., Cruces J., Hernandez O., Ortega E.* Strategies to improve the functions and redox state of the immune system in aged subjects // *Curr. Pharm. Des.* — 2011. — **17**, № 36. — P. 3966–3993.
12. *Gaykema R. P., Goehler L. E.* Lipopolysaccharide challenge-induced suppression of Fos in hypothalamic orexin neurons: their potential role in sickness behavior // *Brain Behav. Immun.* — 2009. — **23**, № 7. — P. 926–930.
13. *Halfon M. S., Hashimoto C., Keshishian H.* The *Drosophila* toll gene functions zygotically and is necessary for proper motoneuron and muscle development // *Dev. Biol.* — 1995. — **169**. — P. 151–167.
14. *Hetru C., Hoffmann. J. A.* NF-kappaB in the immune response of *Drosophila* // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* — 2009. — **1**, № 6. — doi: 10.1101/cshperspect.a000232.
15. *Hultmark D.* *Drosophila* immunity: paths and patterns // *Curr. Opin. Immunol.* — 2003. — **15**. — P. 12–19.
16. *Hwangbo D. S., Gershman B., Tu M. P.* et al. *Drosophila* dFOXO controls lifespan and regulates insulin signalling in brain and fat body // *Nature.* — 2004. — **429**, № 6991. — P. 562–566.
17. *Kopanakis K., Tzepe I. M., Pistiki A.* et al. Pre-treatment with low-dose endotoxin prolongs survival from experimental lethal endotoxic shock: Benefit for lethal peritonitis by *Escherichia coli* // *Cytokine.* — 2013. — **62**, № 3. — P. 382–388.
18. *Leroy M., Mosser T., Maniure X.* et al. Pathogen-induced *Caenorhabditis elegans* developmental plasticity has a hormetic effect on the resistance to biotic and abiotic stresses // *BMC Evol. Biol.* — 2012. — **12**. — doi: 10.1186/1471-2148-12-187.
19. *Li W. C., Jiang D. M., Hu N.* et al. Lipopolysaccharide preconditioning attenuates neuroapoptosis and improves functional recovery through activation of Nrf2 in traumatic spinal cord injury rats // *Int. J. Neurosci.* — 2013. — **123**, № 4. — P. 240–247.
20. *Mallon E. B., Brockmann A., Schmid-Hempel P.* Immune response inhibits associative learning in insects // *Proc. Biol. Sci.* — 2003. — **270**, № 1532. — P. 2471–2473.
21. *Matsumura N., Kamei M., Tsujikawa M.* et al. Low-dose lipopolysaccharide pretreatment suppresses choroidal neovascularization via IL-10 induction // *PLoS One.* — 2012. — **7**, № 7. — doi: 10.1371/journal.pone.0039890.
22. *Moret Y., Siva-Jothy M. T.* Adaptive innate immunity? Responsive-mode prophylaxis in the mealworm beetle, *Tenebrio molitor* // *Proc. Biol. Sci.* — 2003. — **270**, № 1532. — P. 2475–2480.
23. *Pham L. N., Dionne M. S., Shirasu-Hiza M., Schneider D. S.* A specific primed immune response in *Drosophila* is dependent on phagocytes // *PLoS Pathog.* — 2007. — **3**, № 3. — doi: 10.1371/journal.ppat.0030026.

24. Qiu P., Pan P. C., Govind S. A role for the Drosophila Toll/Cactus pathway in larval hematopoiesis // *Development*. — 1998. — **125**. — P. 1909–1920.
25. Quintin J., Cheng S. C., van der Meer J. W., Netea M. G. Innate immune memory: towards a better understanding of host defense mechanisms // *Curr. Opin. Immunol.* — 2014. — **29**. — P. 1–7.
26. Rogers H., Williams D. W., Feng G. J. et al. Role of bacterial lipopolysaccharide in enhancing host immune response to *Candida albicans* // *Clin. Dev. Immunol.* — 2013. — **2013**. — doi: 10.1155/2013/320168.
27. Sanderson D. J., Cunningham C., Deacon R. M. et al. A double dissociation between the effects of sub-pyrogenic systemic inflammation and hippocampal lesions on learning // *Behav. Brain Res.* — 2009. — **201**, № 1. — P. 103–111.
28. Sorrentino R. P., Melk J. P., Govind S. Genetic analysis of contributions of dorsal group and JAK-Stat92E pathway genes to larval hemocyte concentration and the egg encapsulation response in *Drosophila* // *Genetics*. — 2004. — **166**. — P. 1343–1356.
29. Taylor K., Kimbrell D. A. Host immune response and differential survival of the sexes in *Drosophila* // *Fly (Austin)*. — 2007. — **1**, № 4. — P. 197–204.
30. Teleman A. Molecular mechanisms of metabolic regulation by insulin in *Drosophila* // *Biochem. J.* — 2010. — **425**. — P. 13–26.
31. Valanne S., Wang J. H., Rämetsä M. The *Drosophila* toll signaling pathway // *J. Immunol.* — 2011. — **186**, № 2. — P. 649–656.
32. Wigby S., Slack C., Grönke S. et al. Insulin signalling regulates remating in female *Drosophila* // *Proc. Biol. Sci.* — 2011. — **278**, № 1704. — P. 424–431.
33. Yanagawa A., Guigue A. M., Marion-Poll F. Hygienic grooming is induced by contact chemicals in *Drosophila melanogaster* // *Front. Behav. Neurosci.* — 2014. — **8**. — doi: 10.3389/fnbeh.2014.00254.
34. Yao Y. W., Zhang G. H., Zhang Y. Y. Lipopolysaccharide pretreatment protects against ischemia/reperfusion injury via increase of HSP70 and inhibition of NF- $\kappa$ B // *Cell. Stress Chaperones*. — 2011. — **16**, № 3. — P. 287–296.
35. Zettervall C. J., Anderl I., Williams M. J. et al. A directed screen for genes involved in *Drosophila* blood cell activation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2004. — **101**. — P. 14192–14197.

Надійшла 10.11.2014

**ВЛИЯНИЕ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА *E. COLI*  
НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ  
*DROSOPHILA MELANOGASTER***

**Т. А. Дубилей, Ю. Е. Рушкевич, Н. М. Кошель,  
С. А. Мигован, Т. В. Тушинская**

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

В опытах на самцах и самках плодовых мух *D. melanogaster* изучали влияние потребления липополисахарида *E. coli* (ЛПС) на разных стадиях онтогенеза на продолжительность жизни (ПЖ). У самцов на предимагинальной стадии развития потребление корма, содержащего ЛПС в концентрации 0,1 и 1 мкг/мл, не влияло существенно на ПЖ, а в концентрации 5 мкг/мл увеличивало среднюю и максимальную ПЖ

(СПЖ и МПЖ), соответственно, на 5,9 % и 3,5 %. У самок дрозофил, которые развивались на корме с добавлением ЛПС, ПЖ практически не отличалась от контроля, за исключением концентрации 1 мкг/мл, которая вызывала уменьшение МПЖ на 2,9 %. Добавление в пищевой субстрат самцов с 5 по 7 сутки имагинальной жизни ЛПС в концентрациях 5, 25 и 50 мкг/мл увеличивало СПЖ, соответственно, на 5 %, 5,6 % и 5,5 %. МПЖ насекомых при этом достоверно не менялась, хотя в двух последних концентрациях отмечалась тенденция к ее росту. Увеличение концентрации ЛПС в корме до 75 мкг/мл, 100 мкг/мл и 150 мкг/мл сопровождалось исчезновением пролонгирующего влияния препарата на СПЖ мух и появлением статистически значимого пролонгирующего действия на МПЖ. Прирост МПЖ по отношению к контролю составлял, соответственно, 3,2 %, 7,3 % и 3,6 %. Применение ЛПС в более позднем возрасте — с 12 по 14 сутки имагинальной жизни в концентрации 5 мкг/мл — не вызывало достоверных изменений СПЖ, а в концентрации 50 мкг/мл наблюдалась лишь тенденция к ее росту. Применение ЛПС с 33 по 35 сутки имагинальной жизни в обеих вышеуказанных концентрациях оказалось неэффективным. У самок дрозофил, которые с 5 по 7 сутки имагинальной жизни потребляли корм в концентрации 1 мкг/мл ЛПС, было зафиксировано уменьшение СПЖ на 4,7 % и МПЖ на 3,9 %, а в дозе 25 мкг/мл — уменьшение МПЖ на 2,8 %. Все остальные исследованные концентрации ЛПС не вызывали существенных отклонений СПЖ и МПЖ от контрольных величин. Таким образом, в наших опытах выявлено положительное влияние ЛПС на ПЖ самцов *D. melanogaster*, которое наблюдалось при использовании препарата на предимагинальной и ранней имагинальной стадиях развития.

### EFFECT OF *E. COLI* LIPOPOLYSACCHARIDE ON THE LIFE SPAN OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*

T. A. Dubiley, Yu. E. Rushkevich N. M. Koshel,  
S. A. Migovan, T. V. Tushinskaia

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

The effect of intake of lipopolysaccharide (LPS) of *E. coli* at various stages of ontogenesis on the life span (LS) was studied in experiments of male and female *D. melanogaster*. The consumption of feed containing LPS in concentrations of 0.1 and 1 mcg/ml produced no significant changes on the LS of male flies at pre-imaginal stage of development, whereas LPS in concentration of 5 mcg/ml increased average (ALS) and maximal LS (MLS) by 5.9 % and 3.5 %, respectively. The LS of females fed with addition of LPS remained unchanged vs. control, except for

concentration of 1 mcg/ml, which produced decrease of MLS by 2.9 %. Addition of LPS in concentrations of 5, 25 and 50 mcg/ml to the feed of males within days 5 to 7 of imaginal life increased ALS by 5 %, 5.6 % and 5.5 %, respectively. As regards MLS of insects, no significant changes were noted, though there was a tendency towards its increase in the two latter concentrations. Further increase of LPS in the feed to 75 mcg/ml, 100 mcg/ml and 150 mcg/ml was accompanied with lack of prolonging effect of the preparation on ALS of flies and emergence of significant prolonging effect on MLS. Increment of MLS vs. control made 3.2 %, 7.3 % and 3.6 %, respectively. Use of LPS at more advanced age — from days 12 to 14 of imaginal life — in concentration of 5 mcg/ml produced no significant changes in ALS, while LPS in concentration of 50 mcg/ml there was only a tendency towards its increase. The intake of LPS in both concentrations within days 33 to 35 of imaginal life turned out to be ineffective. In female flies, which consumed within days 5 to 7 of imaginal life the feed with LPS concentration of 1 mcg/ml, the ALS decreased by 4.7 % and MLS — by 3.9 %, while in dose of 25 mcg/ml the ALS decreased by 2.8 %. Other studied LPS concentrations produced no significant difference of ALS and MLS vs. control values. The results obtained revealed positive effect of LPS on male *D. melanogaster* flies against the background of using this preparation at pre-imaginal and early imaginal stages of development.

#### **Відомості про авторів**

##### **Лабораторія ендокринології**

Т. О. Дубілей — зав. лаб., к.б.н. (tdubiley@gmail.com)

С. А. Мигован — н.с.

Т. В. Тушинська — н.с.

Ю. Є. Рушкевич — пров.н.с. лабораторії фізіології, к.м.н.

Н. М. Кошель — пров. н.с. лабораторії математичного моделювання процесів старіння, к.б.н.