

УДК 57.044

### ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ ГЛЮКОЗЫ В ГЕМОЛИМФЕ МОЛЛЮСКА *LYMNAEA STAGNALIS* ПРИ ПОВТОРЯЮЩЕМСЯ ГИПЕРГЛИКЕМИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

Р. А. МАХОТИН<sup>1)</sup>, А. В. СИДОРОВ<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Осуществляемая в течение 3 сут периодическая инкубация моллюсков 24-недельного возраста в 100 ммоль/л водном растворе глюкозы на протяжении 2 ч приводит к почти 5-кратному увеличению содержания глюкозы в гемолимфе по прошествии 24 ч после гипергликемического стресса. У животных 35-недельного возраста указанное воздействие не вызывает статистически достоверного изменения рассматриваемого показателя. Установлено, что уровень глюкозы в гемолимфе животных старшей возрастной группы (0,21 (0,13; 0,23) ммоль/л) превышал таковой для животных младшей возрастной группы (0,13 (0,08; 0,16) ммоль/л) в 1,6 раза. Предполагается, что выявленные особенности регуляции содержания глюкозы связаны с функциональными характеристиками пептидпродуцирующих нейросекреторных клеток центральных нервных ганглиев.

**Ключевые слова:** гомеостазис; гипергликемия; возраст; беспозвоночные.

**Благодарность.** Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № Б22-105).

---

#### Образец цитирования:

Махотин РА, Сидоров АВ. Возрастные особенности содержания глюкозы в гемолимфе моллюска *Lymnaea stagnalis* при повторяющемся гипергликемическом стрессе. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2023;3:81–87. EDN: ZSXSC

#### For citation:

Mahotin RA, Sidorov AV. Peculiarities of age-dependent glucose content in the haemolymph of the mollusc *Lymnaea stagnalis* under repeated hyperglycemic impact. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2023;3:81–87. Russian. EDN: ZSXSC

---

#### Авторы:

**Родион Аркадьевич Махотин** – студент биологического факультета. Научный руководитель – А. В. Сидоров.  
**Александр Викторович Сидоров** – доктор биологических наук, профессор; профессор кафедры физиологии человека и животных биологического факультета.

#### Authors:

**Rodion A. Mahotin**, student at the faculty of biology. [bio.mahotin@bsu.by](mailto:bio.mahotin@bsu.by)  
**Alexander V. Sidorov**, doctor of science (biology), full professor; professor at the department of human and animal physiology, faculty of biology. [sidorov@bsu.by](mailto:sidorov@bsu.by)  
<https://orcid.org/0000-0002-1711-7868>

## PECULIARITIES OF AGE-DEPENDENT GLUCOSE CONTENT IN THE HAEMOLYMPH OF THE MOLLUSC *LYMNAEA STAGNALIS* UNDER REPEATED HYPERGLYCEMIC IMPACT

R. A. MAHOTIN<sup>a</sup>, A. V. SIDOROV<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Belarusian State University, 4 Niezaliezhnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: A. V. Sidorov (sidorov@bsu.by)

Periodic, for 3 days, incubation (2 h) of 24-week-old molluscs in a 100 mmol/L aqueous solution of glucose leads to an almost 5-fold increase in the glucose content in the haemolymph, 24 h after the hyperglycemic impact. For animals 35 weeks of age, this impact does not lead to a statistically significant change in the considered indicator. It was found that the level of glucose in the haemolymph of animals of the older age group (0.21 (0.13; 0.23) mmol/L) exceeded that of animals of the younger age group (0.13 (0.08; 0.16) mmol/L) in 1.6 times. It is assumed that these features of glucose regulation are associated with the functional characteristics of peptide-producing neurosecretory cells of the central nervous ganglia.

**Keywords:** homeostasis; hyperglycemia; age; invertebrates.

**Acknowledgements.** This work was supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (grant No. B22-105).

### Введение

Глюкоза является веществом, которое не только обеспечивает метаболические потребности нервных клеток, но и выполняет функцию сигнальной молекулы, ответственной за формирование различных типов поведения у животных [1; 2]. С этих позиций становится понятной роль поддержания постоянного содержания глюкозы во внутренней среде организма и сдвигов ее уровня для успешного обеспечения жизнедеятельности. Очевидно, что различные этапы онтогенеза характеризуются разной степенью энергетических затрат, особенностями поведенческого паттерна и т. п., а следовательно, для каждого из них может существовать свое «нормативное» значение содержания глюкозы во внутренней среде [3]. С другой стороны, реакция животных (как позвоночных, так и беспозвоночных) на повышенную глюкозную нагрузку, связанную, например, с употреблением специфических пищевых субстратов, в возрастном аспекте не всегда однозначна и (или) линейна: нормальное старение ассоциируется со снижением потребления пищи на фоне повышенного содержания глюкозы во внутренней среде [4–6].

Ранее авторами была разработана модель транзиторной экспериментальной гипергликемии, когда пролонгированная (2 ч) инкубация моллюсков *Lymnaea stagnalis* в высококонцентрированном (100 ммоль/л) водном растворе глюкозы приводила к увеличению содержания глюкозы в их гемолимфе примерно на порядок [7], что сопровождается модификацией электрических характеристик ряда пептидергических нервных клеток [8; 9]. Эффект инкубации сохранялся на протяжении 2 ч, после чего значения исследуемого показателя возвращались к первоначальному уровню. Вместе с тем влияние повторяющихся воздействий такого рода, моделирующих хроническое, а не острое действие фактора, рассмотрено не было. Кроме того, остался нерешенным вопрос о потенциальной стабильности и изменчивости уровня глюкозы в гемолимфе моллюсков *L. stagnalis* разного возраста, равно как и вопрос о том, насколько эффективны механизмы поддержания глюкозного гомеостаза на разных этапах жизненного цикла. Сказанное выше и определило проведение данного исследования.

### Материалы и методы исследования

В работе использовали моллюсков *L. stagnalis*, собранных в летний период на территории Минской области (мелкие мелиоративные каналы) или выращенных непосредственно в лаборатории. Всех животных содержали в аквариумах (на каждую особь приходилось не менее 1 л воды) при температуре (25 ± 1) °С, проводя смену воды каждые 3 дня. Пищей служили листья салата и одуванчика (питание *ad libitum*).

У всех животных, введенных в эксперимент, с помощью линейки (цена деления 1 мм) фиксировали высоту раковины, определяемую как расстояние от ее вершины до нижней точки устья (в месте схождения коломеллярного и наружного краев), а также измеряли массу тела с раковинкой (с точностью до 0,1 г), используя весы Scout SC6010 (Ohaus, США). Возраст животных определяли по аллометрическим уравнениям Берталанфи на основании коэффициентов индивидуального роста для моллюсков *L. stagnalis* [10] как среднее арифметическое при расчете по данным о массе тела и высоте раковины.

Моллюски были разделены на две условные возрастные группы – младшую и старшую. В каждой из них выделены контрольная и экспериментальная серии, которые комплектовались животными одинакового размерного класса (см. таблицу). Попарное сравнение морфометрических показателей указанных серий не выявило статистически значимых различий между анализируемыми рядами данных ни для одной из пар сравнения.

Морфологические характеристики групп моллюсков  
Morphological characteristics of the animal groups

Показатели	Младшая возрастная группа		Старшая возрастная группа	
	Контрольная серия ( $n = 12$ )	Экспериментальная серия ( $n = 12$ )	Контрольная серия ( $n = 7$ )	Экспериментальная серия ( $n = 7$ )
Масса тела, г	1,6 (1,3; 1,7)	1,3 (1,1; 1,5)	4,7 (3,5; 5,1)	5,1 (4,1; 5,8)
Достоверность различий	$z = 1,41; p = 0,16$		$z = 0,77; p = 0,44$	
Высота раковины, см	2,3 (2,2; 2,6)	2,7 (2,4; 2,8)	4,5 (4,3; 4,8)	4,7 (4,3; 5,5)
Достоверность различий	$z = 1,91; p = 0,06$		$z = 0,06; p = 0,95$	
Возраст, нед.	24 (22; 25)	24 (22; 26)	34 (29; 57)	35 (31; 44)
Достоверность различий	$z = 0,46; p = 0,64$		$z = 0,19; p = 0,85$	

Примечания: 1. Данные о массе тела, высоте раковины и возрасте животных представлены в следующем виде: медиана (верхний; нижний квартили). 2. Символ  $n$  – число наблюдений;  $z$  –  $U$ -критерий Манна – Уитни;  $p$  – уровень значимости.

Забор исходных проб гемолимфы (до глюкозной нагрузки) проводили отдельно у каждой особи в начальный день эксперимента. Для этого сильной тактильной стимуляцией ноги моллюска вызывали реакцию полного втягивания тела, сопровождающуюся выбросом гемолимфы (в среднем объеме около 1 мл). После указанной процедуры животных рассаживали в аквариумы объемом 10 л, заполненные отстоявшейся водопроводной водой с пищей, где они и находились до окончания опыта.

На следующий день (1-й день эксперимента) моллюсков экспериментальной серии на 2 ч помещали в аквариумы объемом 1 л со свежеприготовленным водным раствором D-глюкозы (100 ммоль/л). Животные контрольной серии находились в эквивалентных по объему аквариумах с отстоявшейся водопроводной водой, содержащей 50 ммоль/л NaCl (для выравнивания осмотической силы растворов). По окончании инкубации моллюсков обеих серий возвращали в начальные условия содержания. Данные процедуры повторяли на 2-й и 3-й дни эксперимента. Через 24 ч после их завершения (последний день эксперимента) повторно производили забор проб гемолимфы у животных. Пробы замораживали и хранили при температуре  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  до последующего анализа. Опыт проводили отдельно в разных возрастных группах моллюсков.

Определение содержания глюкозы в пробе гемолимфы осуществляли глюкозооксидазным методом с применением набора реагентов научно-технического производственного кооператива «Анализ X» (Беларусь). Измерения оптической плотности производили на длине волны 500 нм (длина оптического пути 1 см) при температуре  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  посредством спектрофотометра Ultrospec 100 pro (Amersham Biosciences, Великобритания). Объем материала для анализа был равен 100 мкл, время инкубации с реагентом (1 мл) составляло 30 мин. В качестве стандартов использовали 100 мкл свежеприготовленного 0,1 и 0,5 ммоль/л раствора глюкозы.

Нормальность распределения для каждого ряда экспериментальных данных предварительно оценивали с помощью  $W$ -теста Шапиро – Уилка (Shapiro – Wilk  $W$ -test). В случае подтверждения нормальности распределения сравниваемых показателей для обеих групп данных в целях оценки достоверности различий использовали  $t$ -критерий Стьюдента (Student's  $t$ -test) для независимых пар. Если нормальность распределения не была подтверждена для обеих групп данных, применяли непараметрический  $U$ -критерий Манна – Уитни (Mann – Whitney  $U$ -test) для двух независимых выборок. Статистическая обработка данных и их представление проведены посредством программ Statistica 6.0 и GraphPad Prism 8 соответственно. Данные в тексте представлены как среднее  $\pm$  ошибка среднего или медиана (верхний; нижний квартили) в случае непараметрического характера распределения. Достоверными считались результаты при уровне значимости  $p \leq 0,05$ .

## Результаты и их обсуждение

Животные старшей возрастной группы характеризовались более крупными размерами, превышая по массе тела и высоте раковины особей младшей возрастной группы в 3,3 и 1,8 раза: 4,9 (3,6; 5,3) г против 1,5 (1,1; 1,7) г и 4,6 (4,3; 4,8) см против 2,5 (2,3; 2,8) см соответственно (рис. 1, а, б). Исходя из произведенных расчетов, возраст этих групп отличался на 11 нед. (т. е. на 2–3 мес., что составляет примерно 20 % от средней продолжительности жизни моллюсков *L. stagnalis*, оцениваемой в 1 год [11]): 24 (22; 26) и 35 (30; 44) нед. для младшей и старшей возрастных групп соответственно (рис. 1, в). Кроме того, было отмечено 1,6-кратное статистически достоверное увеличение содержания глюкозы в гемолимфе моллюсков старшего возраста: 0,21 (0,13; 0,23) ммоль/л против 0,13 (0,08; 0,16) ммоль/л (рис. 1, г).

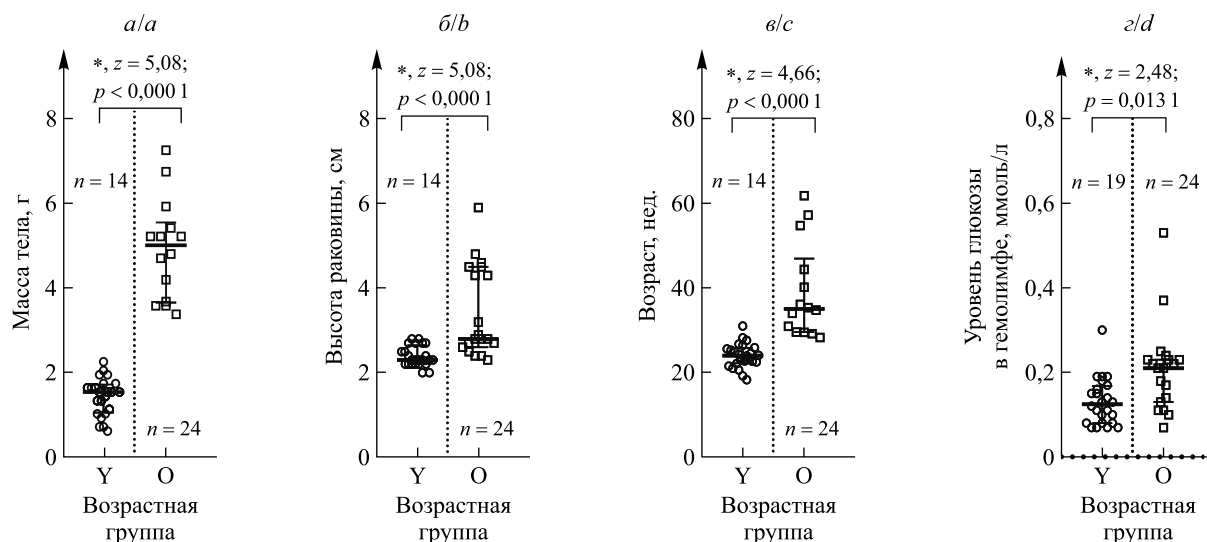


Рис. 1. Морфологические характеристики и содержание глюкозы в гемолимфе моллюсков *L. stagnalis* младшей (Y) и старшей (O) возрастных групп: а – масса тела; б – высота раковины; в – возраст; г – уровень глюкозы в гемолимфе. Точки диаграммы – данные по каждому моллюску отдельно. Представлены медиана (верхний; нижний квантили), число наблюдений (n), значения U-критерия Манна – Уитни (z) и уровня значимости (p). Звездочкой отмечены статистически достоверные различия

Fig. 1. Morphological characteristics and haemolymph glucose level of molluscs *L. stagnalis* of the younger (Y) and older (O) age groups: а – body weight; б – shell height; в – age; д – haemolymph glucose level. The points of the diagram are the data for each mollusc separately. Median (upper; lower quartiles), number of observations (n), Mann – Whitney U-test (z) value, significance level (p) are also presented. Statistically significant differences are marked by asterisk

Реакция на повторяющуюся глюкозную нагрузку отличалась в зависимости от возраста животных. Для экспериментальной серии моллюсков младшего возраста отмечено статистически значимое увеличение содержания глюкозы в гемолимфе до  $(0,48 \pm 0,09)$  ммоль/л, т. е. в 4,8 раза по сравнению с ее уровнем в начальный день эксперимента, составившим  $(0,10 \pm 0,01)$  ммоль/л (рис. 2, а). В то же время для контрольной серии животных этого возраста подобное сравнение не выявило каких-либо статистически достоверных отличий в содержании глюкозы:  $(0,16 \pm 0,02)$  и  $(0,17 \pm 0,04)$  ммоль/л для начального и последнего дней эксперимента соответственно. Отдельно отметим существование статистически значимых различий в концентрации глюкозы в гемолимфе между контрольной и экспериментальной сериями при сравнении значений для последнего дня эксперимента, что дополнительно подчеркивает правомочность вывода о развитии гипергликемии.

Для моллюсков старшего возраста статистически значимых колебаний уровня глюкозы в гемолимфе отмечено не было (рис. 2, б). Авторами не зафиксированы статистически достоверные различия данного показателя ни между животными экспериментальной ( $(0,22 \pm 0,04)$  ммоль/л против  $(0,22 \pm 0,02)$  ммоль/л), ни между животными контрольной ( $(0,19 \pm 0,01)$  ммоль/л против  $(0,18 \pm 0,02)$  ммоль/л) серий при сравнении значений для начального и последнего дней эксперимента.

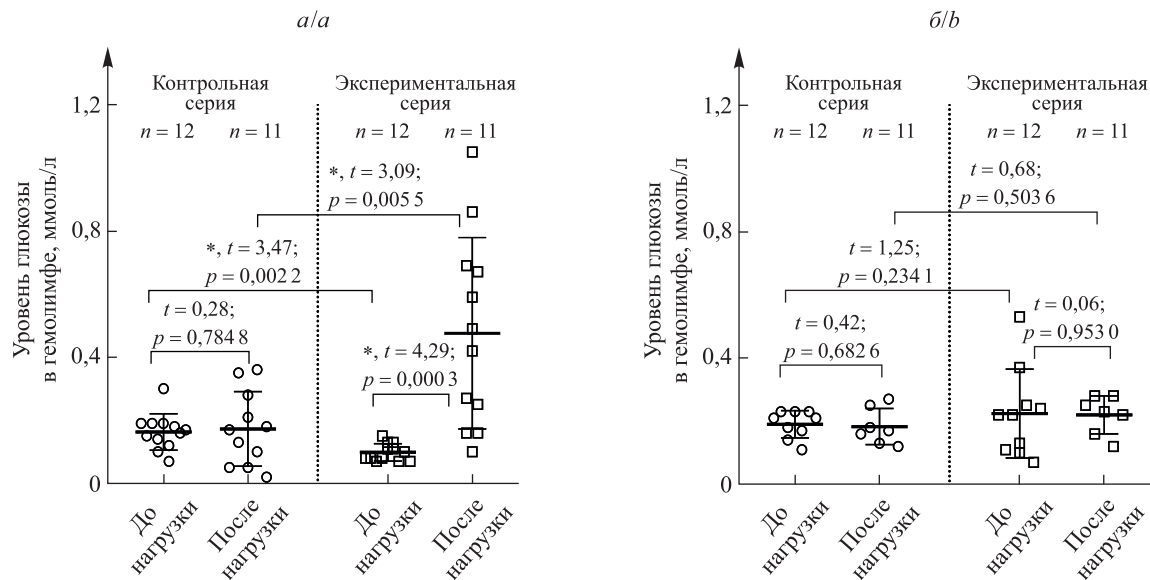


Рис. 2. Изменение содержания глюкозы в гемолимфе моллюсков *L. stagnalis* разных возрастных групп при повторяющейся глюкозной нагрузке:

*a* – младшая возрастная группа; *б* – старшая возрастная группа.

Точки диаграммы – данные по каждому моллюску отдельно.

Представлены среднее  $\pm$  квадратичное отклонение, число наблюдений (*n*) для начального (до нагрузки) и последнего (после нагрузки) дней эксперимента для контрольной и экспериментальной серий, значения *t*-критерия Стьюдента и уровня значимости (*p*) для сравниваемых пар данных (показаны скобкой).

Звездочкой отмечены статистически достоверные различия

Fig. 2. Changes in the haemolymph glucose level after repeated glucose load in the molluscs *L. stagnalis* of different age groups:

*a* – younger age group; *b* – older age group.

The points of the diagram are the data for each mollusc separately.

Mean  $\pm$  standard deviation, number of observations (*n*) are presented for the initial (before load) and last (after load) days of the experiment for the control and experimental groups,

Student's *t*-test value and significance level (*p*) for the data compared upon brackets.

Statistically significant differences are marked upon asterisk

В регуляции уровня глюкозы в гемолимфе моллюсков *L. stagnalis* важная роль отводится пептидергическим нейронам центральных ганглиев (кластер нейросекреторных темно-зеленых клеток (*dark green cells*)), ответственным за продукцию в том числе инсулиноподобных нейропептидов [12]. Помимо этого, указанная группа нейронов вовлечена в контроль за процессами роста и размножения, которые требуют существенных энергетических затрат. Добавление глюкозы усиливает частоту импульсации этих клеток [13], что автоматически означает увеличение выброса соответствующего нейромедиатора(-ов) из их синаптических окончаний. Вероятно, функциональная активность данной популяции нейронов выше у животных старшей возрастной группы, что может быть связано с увеличением размеров нейронов в ганглиях моллюсков *L. stagnalis* с возрастом [14] и большей продукцией инсулиноподобных нейропептидов. Результатом будет более быстрая нормализация уровня глюкозы в гемолимфе в ответ на гипергликемическую нагрузку, чем у более молодых особей. Поскольку обе рассматриваемые возрастные группы моллюсков относились к половозрелым особям (согласно данным работы [15] и собственным наблюдениям, подтверждающим яйцекладку в аквариумах их постоянного содержания), выявленные различия не могут быть связаны с функциональной незрелостью кластера нейросекреторных темно-зеленых клеток. Интересно, что фоновый уровень содержания глюкозы в гемолимфе оказывается выше у животных старшей возрастной группы, это может быть отражением продукции инсулиноподобных нейропептидов не в тоническом режиме, а в качестве ответа на гипергликемию. Другими словами, это скорее механизм экстренной нормализации уровня сахара в гемолимфе, а не поддержания его фоновой концентрации. С этих позиций изменения поведения в самом широком смысле, наблюдаемые при модификации пищевой активности прудовика [16–18], могут быть более выражены у моллюсков младшего возраста, в то время как ответы их старших сородичей будут носить более консервативный характер.

## Заклучение

Таким образом, существуют возрастные особенности, связанные с регуляцией содержания глюкозы в гемолимфе моллюсков, что может быть использовано для разработки экспериментальных моделей гипергликемии (в том числе пролонгированной), более эффективных у животных определенного возраста. Однако вопрос о потенциальных колебаниях уровня глюкозы на протяжении всего жизненного цикла моллюска остается открытым.

## Библиографические ссылки

1. Mergenthaler P, Lindauer U, Dienel GA, Meisel A. Sugar for the brain: the role of glucose in physiological and pathological brain function. *Trends in Neurosciences*. 2013;36(10):587–597. DOI: 10.1016/j.tins.2013.07.001.
2. Kupfermann I. Neural control of feeding. *Current Opinion in Neurobiology*. 1994;4(6):869–876. DOI: 10.1016/0959-4388(94)90136-8.
3. van den Beld AW, Kaufman J-M, Zillikens MC, Lamberts SWJ, Egan JM, van der Lely AJ. The physiology of endocrine systems with ageing. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2018;6(8):647–658. DOI: 10.1016/S2213-8587(18)30026-3.
4. Kmiec Z. Central control of food intake in aging. In: Mobbs CV, Hof PR, editors. *Body composition and aging*. Basel: Karger; 2010. p. 37–50 (Hof PR, Mobbs CV, editors. Interdisciplinary topics in gerontology; volume 37). DOI: 10.1159/000319993.
5. Skulachev MV, Severin FF, Skulachev VP. Receptor regulation of senile phenoptosis. *Biochemistry (Moscow)*. 2014;79(10):994–1003. DOI: 10.1134/S0006297914100022.
6. Galenza A, Foley E. A glucose-supplemented diet enhances gut barrier integrity in *Drosophila*. *Biology Open*. 2021;10(3):bio056515. DOI: 10.1242/bio.056515.
7. Шаденко ВН, Сидоров АВ. Индукция экспериментальной гипергликемии у моллюска *Lymnaea stagnalis* при инкубации животных в высококонцентрированном растворе глюкозы. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2019;1:79–84. DOI: 10.33581/2521-1722-2019-1-79-84.
8. Сидоров АВ, Шаденко ВН. Электрические характеристики сенсорного нейрона и оборонительные реакции моллюска *Lymnaea stagnalis* в условиях пролонгированной гипергликемии. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2022;1:23–38. DOI: 10.33581/2957-5060-2022-1-23-38.
9. Sidorov AV, Shadenko VN. Passive membrane properties and spike characteristics in a pair of identified electrically coupled *Lymnaea stagnalis* neurons under long-term experimental hyperglycemia. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2023;59(2):369–381. DOI: 10.1134/S0022093023020060.
10. Zotin AA. Individual growth of *Lymnaea stagnalis* (Lymnaeidae, Gastropoda): II. Late postlarval ontogeny. *Biology Bulletin*. 2009;36(6):591–597. DOI: 10.1134/S1062359009060077.
11. Fodor I, Svigruha R, Kemenes G, Kemenes I, Pirger Z. The great pond snail (*Lymnaea stagnalis*) as a model of aging and age-related memory impairment: an overview. *The Journals of Gerontology. Series A*. 2021;76(6):975–982. DOI: 10.1093/gerona/ab014.
12. Smit AB, Vreugdenhil E, Ebberink RHM, Geraerts WPM, Klootwijk J, Joosse J. Growth-controlling molluscan neurons produce the precursor of an insulin-related peptide. *Nature*. 1988;331(6156):535–538. DOI: 10.1038/331535a0.
13. Kits KS, Bobeldijk RC, Crest M, Lodder JC. Glucose-induced excitation in molluscan central neurons producing insulin-related peptides. *Pflügers Archiv – European Journal of Physiology*. 1991;417(6):597–604. DOI: 10.1007/BF00372957.
14. McComb C, Meems R, Syed N, Lukowiak K. Electrophysiological differences in the CPG aerial respiratory behavior between juvenile and adult *Lymnaea*. *Journal of Neurophysiology*. 2003;90(2):983–992. DOI: 10.1152/jn.00263.2003.
15. McComb C, Varshney N, Lukowiak K. Juvenile *Lymnaea* ventilate, learn and remember differently than do adult *Lymnaea*. *Journal of Experimental Biology*. 2005;208(8):1459–1467. DOI: 10.1242/jeb.01544.
16. Sidorov AV. Coordination of locomotor activity of mollusc *Lymnaea stagnalis* at nutrition: role of the internal medium acid-base balance (pH). *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2006;42(1):43–48. DOI: 10.1134/S0022093006010066.
17. Arundell M, Patel BA, Straub V, Allen MC, Janse C, O'Hare D, et al. Effects of age on feeding behavior and chemosensory processing in the pond snail, *Lymnaea stagnalis*. *Neurobiology of Aging*. 2006;27(12):1880–1891. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2005.09.040.
18. Nakai J, Chikamoto N, Fujimoto K, Totani Y, Hatakeyama D, Dyakonova V, et al. Insulin and memory in invertebrates. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2022;16:882932. DOI: 10.3389/fnbeh.2022.882932.

## References

1. Mergenthaler P, Lindauer U, Dienel GA, Meisel A. Sugar for the brain: the role of glucose in physiological and pathological brain function. *Trends in Neurosciences*. 2013;36(10):587–597. DOI: 10.1016/j.tins.2013.07.001.
2. Kupfermann I. Neural control of feeding. *Current Opinion in Neurobiology*. 1994;4(6):869–876. DOI: 10.1016/0959-4388(94)90136-8.
3. van den Beld AW, Kaufman J-M, Zillikens MC, Lamberts SWJ, Egan JM, van der Lely AJ. The physiology of endocrine systems with ageing. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2018;6(8):647–658. DOI: 10.1016/S2213-8587(18)30026-3.
4. Kmiec Z. Central control of food intake in aging. In: Mobbs CV, Hof PR, editors. *Body composition and aging*. Basel: Karger; 2010. p. 37–50 (Hof PR, Mobbs CV, editors. Interdisciplinary topics in gerontology; volume 37). DOI: 10.1159/000319993.
5. Skulachev MV, Severin FF, Skulachev VP. Receptor regulation of senile phenoptosis. *Biochemistry (Moscow)*. 2014;79(10):994–1003. DOI: 10.1134/S0006297914100022.
6. Galenza A, Foley E. A glucose-supplemented diet enhances gut barrier integrity in *Drosophila*. *Biology Open*. 2021;10(3):bio056515. DOI: 10.1242/bio.056515.
7. Shadenko VN, Sidorov AV. Induction of experimental hyperglycemia in mollusc *Lymnaea stagnalis* after animal's incubation in high-concentrated glucose solution. *Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2019;1:79–84. Russian. DOI: 10.33581/2521-1722-2019-1-79-84.

8. Sidorov AV, Shadenko VN. Electrical properties of the sensory neuron and defense reactions of mollusc *Lymnaea stagnalis* at conditions of prolonged hyperglycemia. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2022;1:23–38. Russian. DOI: 10.33581/2957-5060-2022-1-23-38.
9. Sidorov AV, Shadenko VN. Passive membrane properties and spike characteristics in a pair of identified electrically coupled *Lymnaea stagnalis* neurons under long-term experimental hyperglycemia. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2023; 59(2):369–381. DOI: 10.1134/S0022093023020060.
10. Zotin AA. Individual growth of *Lymnaea stagnalis* (Lymnaeidae, Gastropoda): II. Late postlarval ontogeny. *Biology Bulletin*. 2009;36(6):591–597. DOI: 10.1134/S1062359009060077.
11. Fodor I, Svigruha R, Kemenes G, Kemenes I, Pirger Z. The great pond snail (*Lymnaea stagnalis*) as a model of aging and age-related memory impairment: an overview. *The Journals of Gerontology. Series A*. 2021;76(6):975–982. DOI: 10.1093/gerona/glab014.
12. Smit AB, Vreugdenhil E, Ebberink RHM, Geraerts WPM, Klootwijk J, Joosse J. Growth-controlling molluscan neurons produce the precursor of an insulin-related peptide. *Nature*. 1988;331(6156):535–538. DOI: 10.1038/331535a0.
13. Kits KS, Bobeldijk RC, Crest M, Lodder JC. Glucose-induced excitation in molluscan central neurons producing insulin-related peptides. *Pflügers Archiv – European Journal of Physiology*. 1991;417(6):597–604. DOI: 10.1007/BF00372957.
14. McComb C, Meems R, Syed N, Lukowiak K. Electrophysiological differences in the CPG aerial respiratory behavior between juvenile and adult *Lymnaea*. *Journal of Neurophysiology*. 2003;90(2):983–992. DOI: 10.1152/jn.00263.2003.
15. McComb C, Varshney N, Lukowiak K. Juvenile *Lymnaea* ventilate, learn and remember differently than do adult *Lymnaea*. *Journal of Experimental Biology*. 2005;208(8):1459–1467. DOI: 10.1242/jeb.01544.
16. Sidorov AV. Coordination of locomotor activity of mollusc *Lymnaea stagnalis* at nutrition: role of the internal medium acid-base balance (pH). *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2006;42(1):43–48. DOI: 10.1134/S0022093006010066.
17. Arundell M, Patel BA, Straub V, Allen MC, Janse C, O'Hare D, et al. Effects of age on feeding behavior and chemosensory processing in the pond snail, *Lymnaea stagnalis*. *Neurobiology of Aging*. 2006;27(12):1880–1891. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2005.09.040.
18. Nakai J, Chikamoto N, Fujimoto K, Totani Y, Hatakeyama D, Dyakonova V, et al. Insulin and memory in invertebrates. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2022;16:882932. DOI: 10.3389/fnbeh.2022.882932.

Получена 28.09.2023 / исправлена 29.09.2023 / принята 30.09.2023.  
Received 28.09.2023 / revised 29.09.2023 / accepted 30.09.2023.