

21. Deng S., Hiruki C. Amplification of 16S rRNA genes from culturable and nonculturable Mollicutes // J. Microbiol. Methods. 1991. Vol. 14. P. 53–61.
22. Lorenz K. H., Schneider B., Ahrens U., Seemuller E. Detection of the apple proliferation and pear decline phytoplasmas by PCR amplification of ribosomal and non-ribosomal DNA // J. Phytopathol. 1995. Vol. 85. P. 771–776.
23. Gundersen D. E., Lee L. M. Ultrasensitive detection of phytoplasmas by nested-PCR assays using two universal primer pairs // Phytopathol Medit. 1996. Vol. 35. P. 144–151.

Поступила в редакцию 10.02.2015.

Елена Вячеславовна Колбанова – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией диагностики отдела биотехнологии РУП «Институт плодоводства».

Наталья Николаевна Волосевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела биотехнологии РУП «Институт плодоводства».

УДК 594.318.5+612.28

А. ЭЛЬРАХАЛ (ЛИВИЯ), А. В. СИДОРОВ

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ЛЕГОЧНОГО ДЫХАНИЯ МОЛЛЮСКА *LYMNAEA STAGNALIS* У ЖИВОТНЫХ РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

Установлено наличие положительной корреляции между общей длительностью и частотой легочного дыхания – $r = 0,89 \pm 0,04$, $P < 0,001$ (животные всех возрастных групп), а также между длительностями отдельного респираторного акта и легочного дыхания в целом (животные младшей и средней возрастных групп, $r = 0,44 \pm 0,14$, $P < 0,01$ и $r = 0,38 \pm 0,14$, $P < 0,01$ соответственно). Для моллюсков старшей возрастной группы отмечено появление отрицательной взаимосвязи между частотой дыхания и длительностью респираторного акта ($r = -0,46 \pm 0,17$, $P < 0,01$). Предполагается, что указанные колебания дыхательной активности отражают возрастные изменения в центральном генераторе респираторного ритма у *Lymnaea stagnalis*.

Ключевые слова: дыхательное поведение; возрастные изменения; старение; беспозвоночные.

Positive correlation ($r = 0,89 \pm 0,04$, $P < 0,001$) between duration and frequency of pulmonary respiration was detect (animals of all ages), as well as between duration of pulmonary respiration and duration of single respiratory act (animals of younger and medium age groups, $r = 0,44 \pm 0,14$, $P < 0,01$ and $r = 0,38 \pm 0,14$, $P < 0,01$ respectively). For mollusks of old age group negative correlation between single respiratory act duration and frequency of pulmonary respiration ($r = -0,46 \pm 0,17$, $P < 0,01$) was observed. We assumed that mentioned above modulation of lung respiration reflect age-dependent changes in the activity of *Lymnaea stagnalis* respiratory central pattern generator.

Key words: respiratory behaviour; age-dependending changes; ageing; invertebrates.

Представитель пресноводных легочных моллюсков прудовик обыкновенный (*Lymnaea stagnalis* L.) – модельный объект нейробиологических исследований. Во многом этому способствует организация его центральной нервной системы (ЦНС), делающая возможной идентификацию многих составляющих ее нейронов (точное соотнесение положения той или иной клетки с выполняемой функцией, тип используемого нейромедиатора, синаптические связи с другими нейронами и/или мышечными (железистыми) клетками и т. п.) [1]. Одна из наиболее изученных в нейробиологическом отношении частей ЦНС у прудовика – нейронная сеть, контролирующая легочное дыхание [2, 3]. Вместе с тем в подавляющем большинстве работ нейрофизиологической направленности анализу собственно дыхательного поведения уделяется совсем незначительное внимание. Как правило, авторами работ в качестве исследуемого показателя используются лишь данные по количеству визитов моллюсков на поверхность воды за определенный промежуток времени – частота легочного дыхания [4, 5]. Разработка методики, связанной с фиксацией дыхательной активности индивидуально по каждому моллюску [6], позволяет не только выявить дополнительные критерии для оценки особенностей легочного дыхания, но и оценить взаимосвязь между различными его показателями. В последние годы особый интерес приобретают работы, связанные с исследованием нейронных механизмов старения [7, 8]. Использование для этой цели *Lymnaea stagnalis* в качестве удобной модели для изучения различных аспектов возрастных изменений ЦНС, в том числе и функциональных, вполне оправданно. Очевидно, что первоосновой исследований такого рода являются эксперименты по изучению поведения, позволяющие выявить характерные особенности возрастной модификации тех или иных физиологических процессов для их последующего анализа на клеточном и субклеточном уровнях. Дополнительным аргументом в пользу высказанной идеи служит тот факт, что для прудовика на большем протяжении его жизни характерен линейный рост [9], это делает определение возраста индивидуума достаточно простой методической процедурой. В связи с изложенным предпринята попытка анализа показателей легочного дыхания и их взаимосвязи в разных возрастных группах *Lymnaea stagnalis*.

Материал и методика исследования

Животные. Моллюсков (*Lymnaea stagnalis*) собирали в мелких проточных водоемах (мелиоративные и водоотводные каналы) в осенний период года. В лаборатории их содержали в аквариумах (на каждую особь приходилось не менее 1 л воды) при температуре 20 ± 1 °С. Пищей служили листья одуванчика и капусты (питание *ad libitum*). Воду в аквариумах меняли каждую неделю. Животные были разделены на 3 условные возрастные группы: младшая ($n = 45$) – $32,3 \pm 0,8$ нед., средняя ($n = 45$) – $48,4 \pm 2,1$ нед., старшая ($n = 30$) – $81,8 \pm 0,6$ нед. Возраст моллюсков рассчитывали по массе животных ($2,3 \pm 0,1$; $5,1 \pm 0,1$ и $10,8 \pm 0,3$ г для младшей, средней и старшей возрастных групп соответственно) по аллометрическому уравнению Бергаланфи [10] на основании коэффициентов индивидуального роста для *Lymnaea stagnalis* [9].

Анализ легочного дыхания. Моллюсков помещали в сосуды с отстоявшейся водопроводной водой объемом 4,5 л и высотой 50 см (5 особей на сосуд). Пищу располагали на дне сосуда. Регистрировали количество респираторных циклов (открытие – закрытие пневмостома) за 1 ч наблюдения – частоту дыхания, а также длительность каждого цикла отдельно у каждого моллюска. Определяли среднюю длительность респираторного акта, суммарную длительность легочной респирации за 1 ч наблюдения.

Статистика. Экспериментальные данные обрабатывались общепринятыми методами вариационной статистики [11]. Число животных или число пар сравнений (n) указано для каждой серии опытов отдельно. Данные представлены в виде $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ (для показателей возрастных групп) или $r \pm S_r$ (для коэффициентов линейной корреляции r). Достоверность различий оценивали при помощи t -критерия Стьюдента. Полученные сведения обрабатывали при использовании статистических возможностей программы MS Excel 2003. Достоверными считались результаты при уровне значимости (P) меньше 0,05.

Результаты исследований и их обсуждение

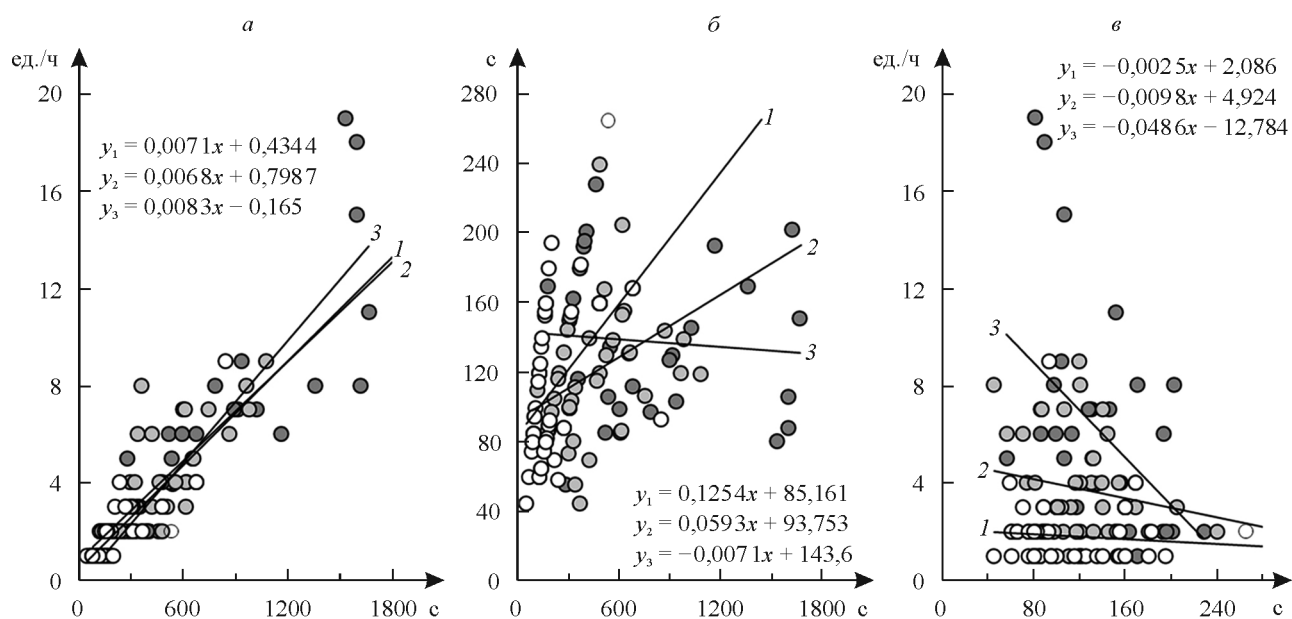
Проведенный статистический анализ выявил наличие выраженной положительной корреляции между общей длительностью и частотой легочного дыхания для всей исследованной выборки ($n = 120$) – $r = 0,89 \pm 0,04$, $t = 20,90$, $P < 0,001$. Данная зависимость сохранялась во всех возрастных группах, хотя статистически достоверных различий между группами выявлено не было (таблица, рис. а). Взаимосвязь между общей длительностью легочного дыхания и длительностью отдельного респираторного акта в целом по исследованной выборке была значительно ниже – $r = 0,28 \pm 0,09$, $t = 3,17$, $P < 0,01$ ($n = 120$). Примечательно, что данная корреляционная зависимость уменьшается с возрастом, полностью исчезая в старшей возрастной группе (таблица, рис. б). Нами не была обнаружена статистически достоверная взаимосвязь между частотой легочного дыхания и длительностью отдельного респираторного акта для всей исследованной выборки – $r = -0,09 \pm 0,09$, $t = 0,41$, $P > 0,05$ ($n = 120$). В то же время для моллюсков старшей возрастной группы отмечено появление статистически достоверных значений коэффициента корреляции, что качественно отличает их от особей в составе младшей и средней возрастных групп (таблица, рис. в).

Коэффициенты линейной корреляции (r) между показателями легочного дыхания

Сравниваемые показатели	Возрастная группа		
	Младшая ($n = 45$)	Средняя ($n = 45$)	Старшая ($n = 30$)
Длительность и частота легочного дыхания	$0,82 \pm 0,09^{**}$ $t = 9,54$	$0,80 \pm 0,09^{**}$ $t = 8,66$	$0,87 \pm 0,09^{**}$ $t = 9,13$
Длительность легочного дыхания и отдельного респираторного акта	$0,44 \pm 0,14^*$ $t = 3,24$	$0,38 \pm 0,14^*$ $t = 2,67$	$-0,08 \pm 0,19$ $t = 0,41$
Частота дыхания и длительность отдельного респираторного акта	$-0,08 \pm 0,09$ $t = 0,54$	$-0,18 \pm 0,09$ $t = 1,20$	$-0,46 \pm 0,17^*$ $t = 2,77$

Примечания: 1. Представлено значение t -критерия. 2. * – $P < 0,01$; ** – $P < 0,001$.

Прудовик, как представитель легочных моллюсков, относится к животным с бимодальным типом дыхания – 50 % необходимого кислорода поглощается через легкие (кислород атмосферного воздуха), а остальные 50 % – через кожные покровы (кислород, растворенный в воде) [12]. При этом именно частотная составляющая служит определяющей при реализации дыхательной доминанты. На это указывает сохранность практически одинаковых значений коэффициентов корреляции между общей длительностью и частотой дыхания у животных разных возрастных групп. Следовательно, именно частота дыхания является объектом регуляции со стороны функциональной системы, контролирующей



Количественная взаимосвязь между показателями легочного дыхания у животных разных возрастов: а – корреляция между частотой и общей длительностью легочного дыхания; б – корреляция между длительностью отдельного респираторного акта и общей длительностью легочного дыхания; в – корреляция между частотой дыхания и длительностью отдельного респираторного акта.

Каждая точка – данные по одному моллюску. Светлые круги – младшая (1), светло-серые – средняя (2), темно-серые (3) – старшая возрастные группы. По каждой из групп представлены линии тренда и уравнения линейной регрессии.

По оси абсцисс – длительность легочного дыхания за 1 ч наблюдения, с (а и б), и длительность отдельного респираторного акта, с (в). По оси ординат – частота дыхания, ед./ч (а и в), и длительность отдельного респираторного акта, с (б)

легочное дыхание, в том числе и в возрастном аспекте. В частности, сообщалось о возрастании частоты визитов моллюсков на поверхность воды для дыхания у половозрелых особей *Lymnaea stagnalis* по сравнению с неполовозрелыми, что было обусловлено различиями в электрической активности нейронов, формирующих центральный генератор дыхательного ритма [13]. В то же время корректирующие влияния со стороны различных факторов экзо- и эндогенного происхождения в отношении дыхательного поведения прудовика выражаются в изменении не только частоты дыхания, но и других характеристик респираторной активности [1, 6]. Другими словами, длительность отдельного респираторного акта также следует рассматривать как объект регуляции со стороны эффекторных корректирующих элементов функциональной системы легочного дыхания *Lymnaea*. Полученные результаты позволяют заключить, что с возрастом существенно увеличивается регуляторная роль данного компонента дыхательного поведения. На это указывает появление отрицательной корреляции между частотой дыхания и длительностью отдельного респираторного акта в старшей возрастной группе – рост числа визитов на поверхность воды для легочного дыхания сопровождается снижением длительности нахождения пневмостома в открытом состоянии. Тем не менее эффект частотной составляющей является преобладающим в реализации возрастных изменений дыхательной активности. Временные характеристики дыхательного ритма в препаратах изолированной ЦНС во многом обусловлены степенью электрической возбудимости мембраны нейронов кардиореспираторной сети *Lymnaea* [2, 3, 6, 14]. В связи с этим логично предположить, что отмеченные возрастные перестройки паттерна дыхательной активности прудовика обусловлены изменениями электрических свойств нервных клеток, контролирующей данную форму поведения моллюсков.

Работа выполнена в рамках ГПНИ «Конвергенция» (задание 3.3.03.4).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Сидоров А. В. Функциональная активность нервных центров беспозвоночных. Минск, 2011.
2. Syed N. I., Harrison D., Winlow W. Respiratory behavior in the pond snail *Lymnaea stagnalis*. I. Behavioral analyses and the identification of motor neurons // J. Comp. Physiol. 1991. Vol. 169A, № 5. P. 541–555.
3. Syed N. I., Winlow W. Respiratory behavior in the pond snail *Lymnaea stagnalis*. II. Neural elements of the central pattern generator (CPG) // J. Comp. Physiol. 1991. Vol. 169A, № 5. P. 557–568.
4. Lukowiak K., Ringseis E., Spencer G., Wildering W., Syed N. Operant conditioning of aerial respiratory behaviour in *Lymnaea stagnalis* // J. Exp. Biol. 1996. Vol. 199, № 3. P. 683–691.

5. Сидоров А. В. Влияние температуры на легочное дыхание, оборонительные реакции и локомоторное поведение пресноводного легочного моллюска *Lymnaea stagnalis* // Журн. высш. нерв. деятельности им. И. П. Павлова. 2003. Т. 53, № 4. P. 513–517.
6. Sidorov A. V. Effect of acute temperature change on lung respiration of the mollusk *Lymnaea stagnalis* // J. Therm. Biol. 2005. Vol. 30, № 2. P. 163–171.
7. Hermann P. M., Lee A., Hulliger S., Minvielle M., Ma B., Wildering W. C. Impairment of long-term associative memory in aging snails (*Lymnaea stagnalis*) // Behav. Neurosci. 2007. Vol. 121, № 6. P. 1400–1414.
8. Disterhoft J. F., Oh M. M. Learning, aging and intrinsic neuronal plasticity // Trends Neurosci. 2006. Vol. 29, № 10. P. 587–599.
9. Zotin A. A. Individual Growth of *Lymnaea stagnalis* (Lymnaeidae, Gastropoda) : II. Late Postlarval Ontogeny // Biology Bull. 2009. Vol. 36, № 6. P. 591–597.
10. Bertalanffy L. Principles and Theory of Growth // Fundamental Aspects of Normal and Malignant Growth. Amsterdam, 1960. P. 137–259.
11. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. Минск, 1973.
12. Jones J. D. Aspects of respiration in *Planorbis corneus* L. and *Lymnaea stagnalis* L. (Gastropoda: Pulmonata) // Comp. Biochem. Physiol. 1961. Vol. 4, № 1. P. 1–29.
13. McComb C., Varshney N., Lukowiak K. Juvenile *Lymnaea ventilate*, learn and remember differently than do adult *Lymnaea* // J. Exp. Biol. 2005. Vol. 208, pt. 8. P. 1459–1467.
14. Spencer G. E., Syed N. I., Lukowiak K. Neural changes after operant conditioning of the aerial respiratory behavior in *Lymnaea stagnalis* // J. Neurosci. 1999. Vol. 19, № 5. P. 1836–1843.

Поступила в редакцию 19.05.2015.

Али ЭльРахал – аспирант кафедры физиологии человека и животных биологического факультета БГУ. Научный руководитель – А. В. Сидоров.

Александр Викторович Сидоров – доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры физиологии человека и животных биологического факультета БГУ.

УДК 547.831.1:577.1

Е. А. БРАЖКО (УКРАИНА)

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ДИАЛКОКСИЗАМЕЩЕННЫХ (ХИНОЛИН-4-ИЛСУЛЬФАНИЛ)КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

Определена биологическая активность новых синтезированных физиологически активных веществ – 4-тиопроизводных хинолина. Они проявили себя как перспективные биологически активные вещества с различными видами биологического действия за счет антиоксидантного и антирадикального механизмов действия. Среди тioxинолинов найдены вещества, обладающие кроме бактериостатического и фунгистатического действия также анальгетической активностью. Систематические исследования 4-тиохинолинов на моделях *in vitro* и *in vivo* выявили их перспективность как антиоксидантов и антигипоксантов. Показано, что исследованные вещества относятся к малотоксичным или нетоксичным соединениям. Установлено проявление алкоксипроизводными (2-метилхинолин-4-илтио)карбоновых кислот значительной антиоксидантной активности на моделях иницирования свободнорадикального окисления *in vitro* (по генерации супероксид-аниона, монооксида азота и по ингибированию окислительной модификации протеинов). Введение электроноакцепторных функциональных групп в структуру меркаптокарбоновой кислоты приводит к усилению действия. Полученные результаты делают целесообразным исследование 4-тиопроизводных хинолина на моделях *in vivo* в качестве потенциальных цито- и радиопротекторов.

Ключевые слова: (хинолин-4-илсульфанил)карбоновые кислоты; PASS-прогноз; токсичность; антирадикальная активность; антиоксидантная активность.

The biological activity of newly synthesized physiologically active substances, such as 4-thioquinolines was determined. It was found out they are promising biologically active substances with various types of biological effects by antioxidant and antiradical mechanisms of action. The research also reflected antimicrobial activity inhibition of gram-positive and gram-negative microorganisms. Among thioquinolines there were found substances demonstrating not only bacteriostatic and fungistatic activities but also an analgesic one. Systematic studies of 4-thioquinolines on models *in vitro* and *in vivo* have revealed they are promising as antioxidants and antihypoxants. Virtual screening dialcoxy-derivatives of (quinolin-4-ilsulfanyl)carboxylic acids found high antioxidant, a protective membrane, cytoprotective and radioprotective effect. It is shown that the investigated substances are low or non-toxic compounds. Introduction to the quinoline ring two alkoxy groups helps to reduce toxicity. Found that models free radical initiation *in vitro* (generation of superoxide anion and nitric oxide inhibition of oxidative modification of proteins) dialcoxy-derivatives of (quinolin-4-ilsulfanyl)carboxylic acids show significant antioxidant activity. Introduction of the functional groups in the electron structure of the mercaptocarboxylic acid leads to increased action. The results obtained make it appropriate study quinoline 4-thio-derivatives in models *in vivo* as potential radioprotectors and cytoprotectors.

Key words: (quinolin-4-ilsulfanyl)carboxylic acids; PASS-prognosis; toxicity; antiradical; antioxidant activity.

Создание новых, эффективных биорегуляторов, обладающих малой токсичностью и направленной биологической активностью, – одна из важнейших задач современной биоорганической и медицинской химии. Известно, что большие синтетические возможности в создании новых, эффективных лекарственных субстанций имеют азотсодержащие гетероциклические соединения. Среди них особое место занимают природные и синтетические производные хинолина, которые нашли применение как синтоны в органическом синтезе и молекулярном дизайне. Они также известны как эффективные