

НЕЙРОМОДУЛЯТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА НА ЦЕНТРАЛЬНЫЕ НЕЙРОНЫ ПИЩЕВОЙ СЕТИ МОЛЛЮСКА *LYMNAEA STAGNALIS*

© А. В. Сидоров

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь
E-mail: sidorov@bsu.by

Резюме

Установлено, что пероксид водорода в концентрации 100 мкМ обладает выраженным корректирующим влиянием в отношении двигательных (клетки R/L B1—B4 кластеров) и модуляторных (клетки R/L CGC) нейронов пищевой сети моллюска *Lymnaea stagnalis*. Действие пероксида водорода выражается в изменении частоты импульсации, уровня мембранного потенциала и амплитуды потенциала действия указанных клеток. Наблюдаемые эффекты были обратимы и кратковременны, достигая максимума в течение 1 мин после нанесения препарата. Введение пероксида водорода в полость цефалопедалного синуса не приводило к статистически достоверным изменениям показателей пищевого поведения моллюсков. Предполагается, что пероксид водорода может выступать в качестве быстрого нейромодулятора по отношению к нейронам центрального генератора пищевого ритма *Lymnaea stagnalis*.

Ключевые слова: активные формы кислорода, пищевое поведение, идентифицированные нейроны, электрическая активность клеток.

Введение

Активные формы кислорода (АФК) являются незаменимыми составляющими обменных процессов в клетках эукариот, представляя собой побочные продукты окислительного фосфорилирования в электрон-транспортной цепи митохондрий [1]. К ним относятся супероксид анион (O_2^-), пероксид водорода (H_2O_2) и гидроксильный радикал (OH^\bullet). В последние десятилетия указанные соединения рассматриваются в том числе и с позиций их участия в процессах внутри- [2] и межклеточной [3] коммуникации. Как сигнальная молекула, наибольший интерес из всего семейства АФК представляет именно H_2O_2 . Причины этого были перечислены во введении статьи [4]. Среди прочего авторами было отмечено, что пероксид водорода является наиболее стабильной и долгоживущей активной формой кислорода, легко проникает через мембраны, более устойчив во внеклеточном пространстве нежели в цитозоле, не вызывает неспецифического перекисного окисления липидов мембран при умеренной (менее 30 мин) экспозиции. В совокупности это делает его одним из претендентов, как минимум, на роль модулятора синаптической передачи, в частности в периферических нервно-мышечных соединениях [4]. Тем не менее в отношении центральных межнейронных взаимо-

действий нейромодуляторная роль пероксида водорода остается слабоизученной, особенно в физиологических (микромольных, 10^{-4} М и менее) концентрациях.

Одним из основных нейромедиаторов/нейромодуляторов у пресноводных легочных моллюсков является монооксид азота (NO), преимущественно вовлеченный в обеспечение пищедобычи [5, 6]. Указанная молекула за счет неспаренного электрона обладает, как известно, и свободнорадикальными свойствами, а следовательно, целый ряд эффектов NO обусловлен его радикальной природой [7]. Имеются данные, свидетельствующие о наличии взаимосвязи между уровнем окислительно-восстановительных процессов в нервной ткани и функциональным состоянием организма. В частности, усиление продукции биорадикалов коррелирует с потреблением пищи — увеличение АФК в мембране синапсом крыс наблюдалось только у тех животных, которые питались *ad libitum*, а не у получавших 40%-ное ограничение по диете сородичей [8]. Сходные данные о взаимосвязи между количеством энергетических субстратов, доступных для биологического окисления, и состоянием системы антиоксидантной защиты в нервной ткани [9], а также по изменению поведенческой активности при модуляции эндогенной продукции NO [10] были получены в экспериментах на беспозвоночных. Логично предпо-

ложить, что свободнорадикальные формы кислорода могут обладать потенциальным нейротропным действием в отношении клеток центральной нервной системы (ЦНС) моллюсков, обеспечивающих реализацию пищевого поведения.

Материал и методика

Животные. Работа выполнена на представителе пресноводных моллюсков прудовике обыкновенном — *Lymnaea stagnalis* (L.). В лаборатории улитки содержались в аквариумах при температуре 18—20 °С, при этом на каждого моллюска приходилось не менее 1 л воды, и свободном доступе к пище (листья салата и одуванчика). В экспериментах использовали взрослых особей массой 4—5 г (длина раковины 30—40 мм).

Электрофизиология. Электрофизиологические эксперименты выполнены на препаратах изолированной ЦНС. Препараты для размягчения периневральной оболочки и облегченного проникновения микроэлектродов в нейроны обрабатывали раствором проназы (Protease E, type XIV, Sigma, США) в концентрации 1 мг/мл, приготовленным на нормальном физиологическом растворе для *Lymnaea* в течение 5 мин при температуре 20 °С. Электрическую активность нейронов регистрировали после промывки обработанного препарата свежим физиологическим раствором в течение 30 мин. Внутриклеточную регистрацию электрических параметров нейронов осуществляли с помощью Ag/AgCl-электродов. Микрошпатель заполняли 2.5 молярным раствором KCl (сопротивление микроэлектрода 10—20 МΩ). В качестве индифферентного электрода использовали хлорированную серебряную проволоку. Усиленные электрические сигналы фиксировались на ленте самописца Н327-3 и параллельно отражались на экране запоминающего осциллографа С1-74.

Нейроны идентифицировали по размеру, расположению в пределах ЦНС, цвету, электрофизиологическим характеристикам потенциала действия, величине потенциала покоя, паттерну спонтанной активности. Работа выполнена на клетках ЦНС, вовлеченных в реализацию пищевого поведения *Lymnaea stagnalis*: мотонейронах из состава пищевой сети — клетках R/L B1—B4 кластеров буккальных ганглиев и модуляторных нейронах центрального кольца ганглиев — гигантских церебральных клетках R/L CGC.

Для перфузии (0.1 мл/мин) препаратов изолированной нервной системы использовали нормальный физиологический раствор (концентрация указана в ммольях): NaCl — 44.0; KCl — 1.7; CaCl₂ — 4.0; MgCl₂ × 6 H₂O — 1.5; HEPES — 10.0, pH 7.5 ± 0.03. Пероксид водорода наносили на поверхность препарата ЦНС. Конечная концентрации в термостатируемой (20 ± 0.5 °С) экспериментальной камере — 10⁻⁴ М.

Поведение. Для исследования пищевого поведения в чашку Петри с находящимся там моллюском, подвергнутым пищевой депривации в течение 24 ч, помещали предварительно взвешенную пластинку, вырезанную из листа одуванчика. Через 2 ч пластинку осушали фильтровальной бумагой, взвешивали и

определяли количество потребленной пищи, отмечали количество пищевых отверстий и рассчитывали убыль пищи, приходящейся на одно пищевое отверстие. Свежеприготовленный раствор пероксида водорода (10⁻³ М) инъецировали в полость цефалопедаального синуса моллюска путем прокола ноги в объеме 0.1 мл нормального физиологического раствора. С учетом объема гемолимфы моллюска (около 1 мл), итоговое разведение составляло 10 раз (конечная концентрация пероксида водорода — 10⁻⁴ М). Контролем служили животные, которым инъецировали 0.1 мл нормального физиологического раствора. Тестирование проводили при 25 °С и начинали не ранее 10 мин после инъекции.

Полуинтактные препараты готовили, разрезая стенку тела лишнего раковины моллюска от ротового отверстия до легочной полости. Край разреза раздвигали и фиксировали препаративными иглами, освобождая окологлоточное кольцо ганглиев и буккальную массу. Пищевод и протоки слюнных желез сохраняли неповрежденными. С помощью бинокуляра МБС-10 (× 14 раз) наблюдали за движениями буккальной массы при аппликации на поверхность ЦНС раствора перекиси (H₂O₂, 10⁻⁴—10⁻⁶ М), приготовленной на основе нормального физиологического раствора для *Lymnaea*.

Статистика. Экспериментальные данные обрабатывали методами вариационной статистики при помощи программы Statistica 6.0. Число наблюдений (*n*) указано для каждой серии опытов отдельно. Данные представлены в виде $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$. Достоверность полученных результатов оценивали при помощи *t*-критерия Стьюдента и/или *F*-критерия Фридмана. Достоверными считались результаты при уровне значимости (*p*), меньшем 0.05.

Результаты исследования

Влияние пероксида водорода на движение буккальной массы. У пресноводных легочных моллюсков процесс питания происходит благодаря ритмическим движениям радулы (терки), определяемых координированным сокращением группы мышц, лежащих в области рта (буккальной массы). Скребущие движения радулы по пищевому субстрату обеспечивают захват пищи и последующее ее продвижение по пищевой трубке. Полный цикл движения радулы (около 3 с) состоит из трех частей, примерно одинаковых по продолжительности: протракции (выдвижения), движения по пищевому субстрату (ретракция) и глотания (проталкивание пищевых частиц в пищевод) [11].

В приготовленных полуинтактных препаратах спонтанные движения буккальной массы отсутствовали. Аппликация пероксида водорода (10⁻⁴ М) на поверхность как буккальных ганглиев (*n* = 5), так и центрального кольца ганглиев (*n* = 5) приводит к сокращению мышц буккальной массы, прежде всего мышц задней скулы и тензора радулы, ответственных за движения протракции. Тем не менее полноценного пищевого цикла наблюдать не удалось. Заметим, что аппликация H₂O₂ к буккальным ганглиям вызывает более

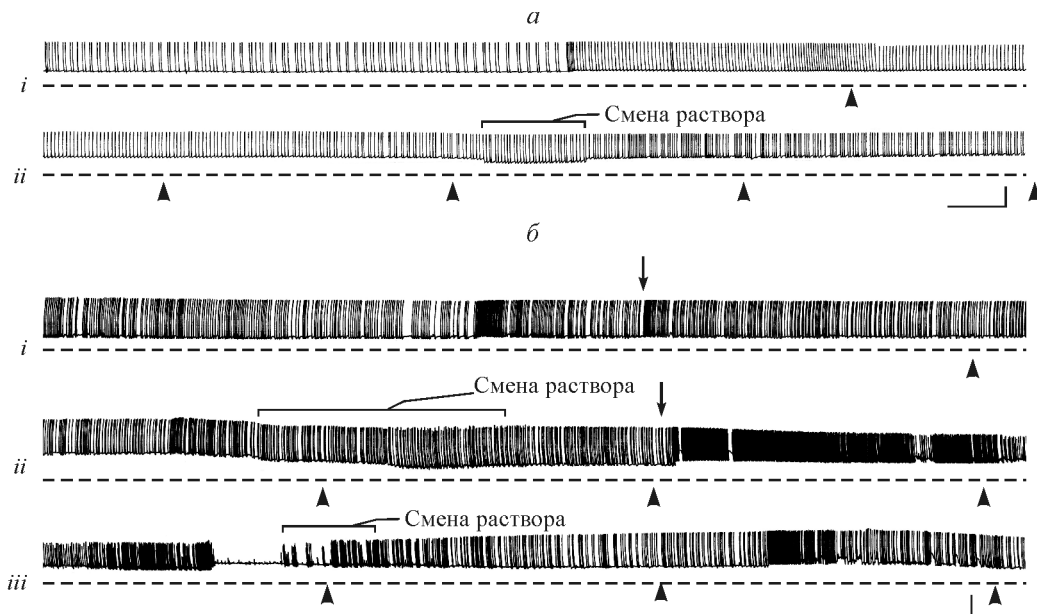


Рис. 1. Влияние пероксида водорода на спонтанную электрическую активность клетки R CGC (а) и нейрона L B4 (б).

Представлена непрерывная регистрация электрической активности — *i—ii* (для *a*) и *i—iii* (для *б*). Момент аппликации H₂O₂ отмечен стрелкой. Пунктирная линия приведена для наглядности изменения мембранного потенциала. Темные треугольники — отметка времени (мин), прошедшего после аппликации пероксида водорода. Калибровка: по времени — 10 с, по амплитуде — 100 мВ (для *a*) и 70 мВ (для *б*).

интенсивные мышечные сокращения по сравнению с ее воздействием на центральное кольцо ганглиев. Эффекты действия пероксида водорода в более низких концентрациях (10⁻⁵—10⁻⁶ М) не были отмечены.

В случаях (*n* = 5) предварительной инициации пищевого ритма (кристаллик сахарозы помещался в область губ и шупалец моллюска) действие пероксида водорода (10⁻⁴ М) приводило к умеренному (на 26.0 ± 4.1 %) уменьшению пищевых движений радулы уже в течение первой минуты после его аппликации на поверхность ЦНС. В двух препаратах отмечено полное прекращение движений радулы к третьей минуте после начала действия пероксида водорода.

Влияние пероксида водорода на электрическую активность нейронов пищевой сети. Ритмические движения радулы управляются сетью мотонейронов

(B1—B10), активность которых находится под постоянным контролем интернейронов центрального генератора ритма (ЦГР) питания — N1, N2 и N3, ответственных за фазу протракции, ретракции и глотания соответственно. Интернейроны центрального кольца ганглиев (клетки CGC и CV1 церебральных ганглиев) выступают в качестве модуляторных элементов ЦГР питания. Пусковым сигналом для начала его работы служат различные химические стимулы, поступающие с периферии [12, 13].

Пероксид водорода обладал отчетливым модуляторным влиянием на нейроны пищевой сети. В частности, обнаружено 1.4-кратное усиление импульсации (*F* = 2.89, *p* = 0.037) гигантских клеток церебральных ганглиев (нейроны L/R CGC) (рис. 1, *a*; 2, *a*). При этом амплитуда импульса статистически достоверно не из-

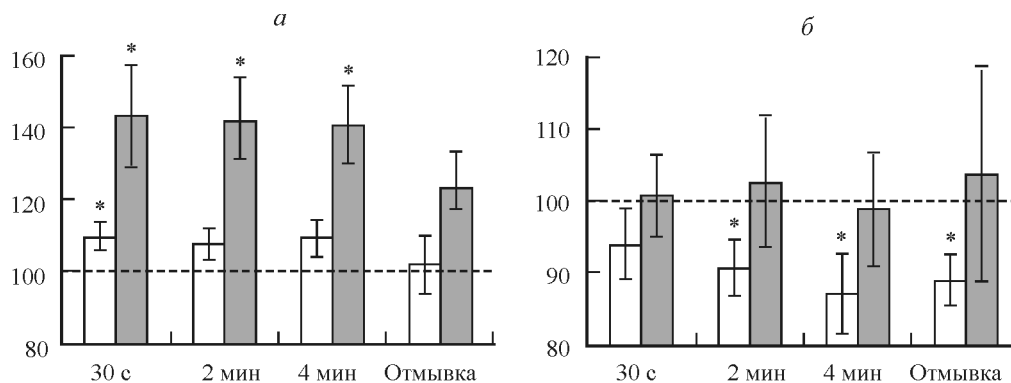


Рис. 2. Влияние пероксида водорода на показатели электрической активности нейронов пищевой сети.

По оси абсцисс — время после нанесения пероксида водорода, по оси ординат — процент изменения частоты (для *a*) и амплитуды (для *б*) потенциалов действия в процентах к контролю (100 %, пунктирная линия). Светлые столбцы — мотонейроны буккальных ганглиев (клетки R/L B1—B4 кластера, *n* = 18), темные столбцы — гигантские клетки церебральных ганглиев (R/L CGC, *n* = 8); * — достоверно (*p* < 0.05) по сравнению с контролем (*t*-критерий).

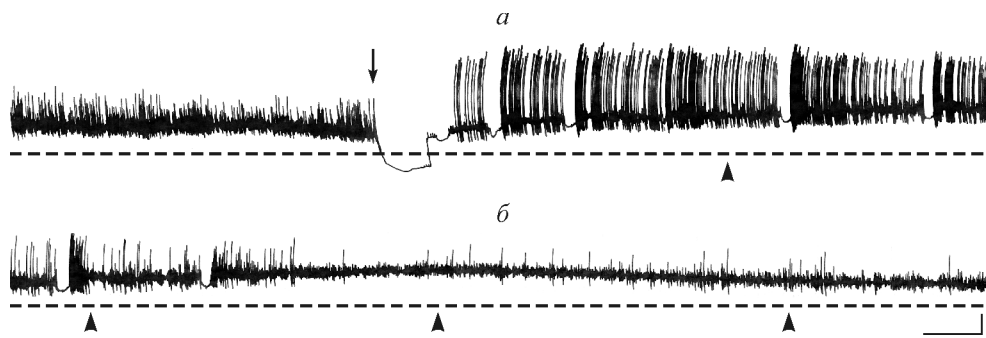


Рис. 3. Влияние пероксида водорода на спонтанную электрическую активность нейрона R B2.

Представлена непрерывная запись электрической активности (а, б). Момент аппликации H_2O_2 отмечен стрелкой. Пунктирная линия приведена для наглядности изменения мембранного потенциала. Темные треугольники — отметка времени (мин), прошедшего после аппликации пероксида водорода. Калибровка: по времени — 10 с, по амплитуде — 30 мВ.

менялась ($F = 0.05$, $p = 0.995$) (рис. 2, б), хотя мембрана данных нейронов претерпевала гиперполяризацию ($F = 8.23$, $p = 0.00007$), сохранявшуюся даже после отмывки препарата свежим раствором Рингера ($5.0 \pm \pm 1.3$ мВ по отношению к контролю). В отношении мотонейронов буккальных ганглиев (клетки R/L B1—B4 кластеров) было отмечено лишь незначительное (в 1.1 раза) усиление импульсации, наблюдаемое в течение первых 30 с после аппликации пероксида водорода (рис. 1, б; 2, а). В последующем статистически значимых различий в частоте генерации потенциалов действия отмечено не было ($F = 1.01$, $p = 0.41$). При этом наблюдалось примерно 10%-ное падение амплитуды разрядов на 2-й и 4-й мин после нанесения пероксида водорода, однако дисперсионный анализ не выявил статистически достоверных ($F = 1.46$, $p = 0.22$) различий показателя в ходе данной экспериментальной серии (рис. 2, б). Мембранный потенциал нейронов R/L B1—B4 кластеров также оставался неизменным при указанном воздействии ($F = 0.77$, $p = 0.54$).

При анализе электрической активности NO-эргического нейрона B2 в ряде препаратов ($n = 2$) аппликация пероксида водорода приводила к деполяризации

клетки, возникающей после крутого гиперполяризационного спада, и последующему резкому (в 2.2 раза) возрастанию амплитуды потенциалов действия (рис. 3).

Действие пероксида водорода сказалось и в форме трансформации паттерна спонтанной активности клеток R/L B1—B4 кластеров. Был обнаружен переход с тонического на фазический (залповый) режим генерации потенциалов и усиление залповой составляющей ритма (рис. 1, б). В то же время при исходной залповой активности нейронов пищевой сети, в частности клетки B2, приложение H_2O_2 не приводит к ее усилению (рис. 4). Более того, отмечено снижение амплитуды спайков, появление отдельных импульсов во время межзалповых интервалов. Отмывка препарата свежим раствором Рингера возвращала рассмотренные показатели к исходному значению.

Влияние пероксида водорода на пищевое поведение.

Пищевая активность у прудовика характеризуется термочувствительностью и наиболее выражена при повышенных (25°C и выше) температурах [14]. Можно было ожидать, что эффекты, вызываемые приложением H_2O_2 , будут хорошо заметны в этих условиях. Тем

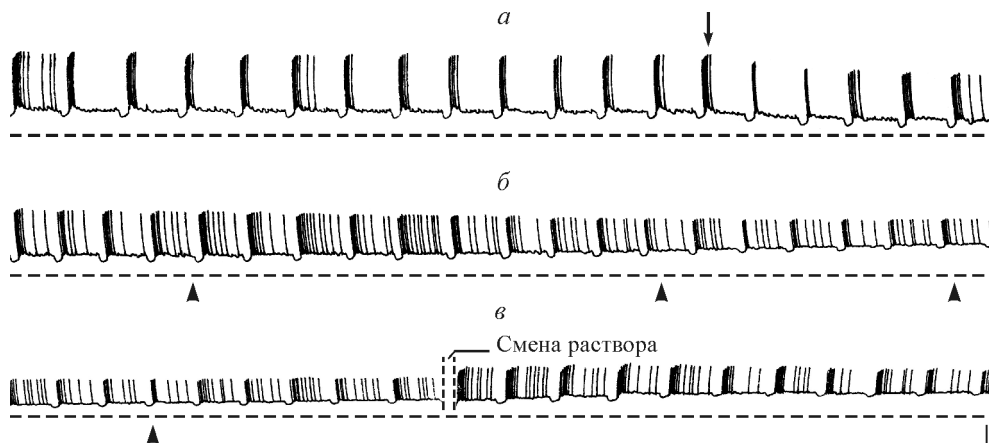


Рис. 4. Влияние пероксида водорода на спонтанную залповую электрическую активность нейрона R B2.

Представлена непрерывная регистрация электрической активности (а—в). Момент аппликации H_2O_2 отмечен стрелкой. Пунктирная линия приведена для наглядности изменения мембранного потенциала. Темные треугольники — отметка времени (мин), прошедшего после аппликации пероксида водорода. Разрыв в записи (часть в рисунка) — 2 мин. Калибровка: по времени — 10 с, по амплитуде — 70 мВ.

Влияние внутрисполостной инъекции пероксида водорода на показатели пищевого поведения у моллюска *Lymnaea stagnalis*

Серия	Показатель пищевого поведения		
	количество потребленной пищи, мг/2 ч	число пищевых отверстий, ед.	убыль пищи, приходящейся на 1 пищевое отверстие, мг
Контроль, <i>n</i> = 15	35.4 ± 6.8	5.4 ± 0.9	8.2 ± 1.8
Пероксид водорода, <i>n</i> = 15	28.3 ± 4.6	4.9 ± 0.9	7.7 ± 1.5

не менее введение (инъекция) раствора пероксида водорода в полость цефалопедалного синуса не приводила к статистически достоверному изменению ни одного из исследованных показателей питания у моллюсков (см. таблицу).

Обсуждение результатов исследования

Представленные данные позволяют заключить, что пероксид водорода способен частично модулировать спонтанную электрическую активность нейронов пищевой сети. Для двигательных нейронов сети характерна относительно большая степень устойчивости их электрических характеристик по сравнению с модуляторными клетками центрального кольца ганглиев. Следовательно, в условиях действия пероксида водорода можно говорить о создании специфического нейронного паттерна, что ранее отмечалось и в отношении других нейронных сетей в ЦНС *Lymnaea* [15]. Наличие у АФК свободнорадикальных свойств делает возможным их прямое взаимодействие с некоторыми группами ряда аминокислот (метионина, цистеина, тирозина) [16] и потенциально с любыми, в том числе и мембранными, белками. Сообщалось об АФК-зависимости ионных каналов, в частности калиевых [17], систем трансмембранного переноса кальция (нейронных $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменника и Ca^{2+} -АТФазы) [18]. В совокупности это позволяет контролировать электрические характеристики мембраны, такие как потенциал покоя, а также параметры потенциала действия, что и наблюдалось в наших экспериментах.

Формирование итогового паттерна активности нейронного ансамбля в сетевых генераторах ритма, к числу которых относится и ЦГР питания у *Lymnaea*, невозможно без модификации межнейронной синаптической передачи. Фармакологическое обеспечение работы пищевой сети у прудовика достаточно разнообразно [19]. В качестве нейромедиатора интернейроны фазы протракции используют ацетилхолин, а интернейроны ретракции — глутамат. Показано также модулирующее действие серотонина (содержится в гигантских клетках церебральных ганглиев), дофамина, октопамина. В отношении химической передачи сигнала действие пероксида водорода, как правило, ассоциируется с угнетением процессов межклеточной коммуникации. Так, в нервно-мышечных синапсах омара H_2O_2 снижает как глутамат-, так и ГАМК-ергическую передачу [20], реализуя свое действие на пре- (для глу-

тамата и ГАМК) и пост- (для глутамата) синаптических уровнях: уменьшая квантовое содержимое и снижая амплитуду ответов, определяемых активацией рецепторов постсинаптической мембраны. Схожие данные получены и для гигантского синапса кальмара. Обработка препарата комплексом ксантин/ксантиноксидаза, приводящая к генерации пероксида водорода, уменьшает высвобождение медиатора, но не изменяет уровень мембранного потенциала и не влияет на характеристики потенциала действия в пресинаптическом волокне, а прямая аппликация H_2O_2 в область синапса снижает эффективность синаптической передачи [21]. Сообщалось о дозозависимом угнетении ацетилхолин-индуцированных ионных токов в мембране нейронов моллюска вследствие снижения числа функционально активных рецепторов при действии H_2O_2 в микромолярных и менее (10^{-4} — 10^{-11} М) концентрациях [22]. Более того, пероксид водорода вызывает падение эффективности передачи сигнала и через электрические синапсы в ЦНС *Lymnaea* [23].

Действие пероксида водорода ограничивается временным промежутком, исчисляемым несколькими минутами после его приложения, что позволяет рассматривать его в качестве быстрого модулятора спонтанной электрической активности нервных клеток. В этой связи показательным является практически полное отсутствие эффектов H_2O_2 в отношении пищевого поведения *Lymnaea*. Отметим, что оценка пищедобывательной активности занимает относительно продолжительный промежуток времени (2 ч), а прудовик обладает хорошо развитой системой антиоксидантной защиты, в том числе и применительно к центральному нейронам [24]. При этом введенный в полость цефалопедалного синуса пероксид водорода, частично, если не полностью, может быть нейтрализован за относительно небольшой (не более 30 мин) отрезок времени. В то же время методика исследования пищевого поведения не предполагает постоянного поступления в организм моллюска дополнительных доз H_2O_2 для поддержания постоянства его концентрации на заданном уровне. В случае с NO-ергической модификацией пищедобывательной активности речь идет не только о ее начальной инициации за счет продукции монооксида азота клетками буккальных ганглиев [7], но и последующем поддержании на требуемом уровне вследствие поступления новых порций медиатора к эффекторным нейронам сети [25]. Следовательно, АФК оказываются неспособными инициировать пищевой ритм у *Lymnaea* посредством стимуляции продукции монооксида

азота. Более того, в случае наличия исходной активности ЦГР питания у *Lymnaea* его клеточные компоненты оказываются малочувствительными к пролонгированному действию свободнорадикальных форм кислорода, что и отражают полученные нами данные.

В пределах ЦНС основными местами неспецифической продукции АФК являются богатые митохондриями синаптические окончания [1, 2, 4]. Источником контролируемой генерации АФК во внутренней среде *Lymnaea*, по всей видимости, являются макрофагоподобные клетки гемолимфы — гемоциты, обладающие НАДФН-оксидазной активностью [26, 27], что и позволяет выполнять им защитные функции. Очевидно, что в условиях незамкнутой кровеносной системы возникающая таким образом АФК не могут не оказывать, как минимум, модулирующего влияния на другие системы организма, в том числе и нервные клетки. Кратковременность эффектов АФК в отличие от таковых для монооксида азота может быть обусловлена и отсутствием специфических для них внутриклеточных мишеней. В частности, именно NO—цГМФ-зависимый путь, связанный с активацией гуанилатциклазы, определяет реализацию долговременных пластических перестроек в пищевой сети *Lymnaea*, в том числе и в гигантских клетках церебральных ганглиев (CGC) [28, 29]. Нельзя исключить, что повышенная продукция NO ассоциируется с усилением активности антиокислительных систем защиты клетки, работа которых направлена на предотвращение побочного, свободнорадикального, действия монооксида азота. Так, индуцируемая продукция NO в нейроне В2 оказалась гораздо выше в сравнении с таковой для клеток CGC [30]. Напомним, что, согласно полученным данным, показатели электрической активности именно мотонейронов буккальных ганглиев оказываются более устойчивыми к действию пероксида водорода в сравнении с гигантскими клетками церебральных ганглиев.

Заключение

Таким образом, свободнорадикальные формы кислорода обладают быстрым нейромодуляторным действием в нервной системе *Lymnaea stagnalis*, а колебание уровня биорадикалов во внутренней среде организма может приводить к изменению функциональной активности крупных нейронных ансамблей, контролирующих моторные формы поведения.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ (проект Б08Р-075).

Список литературы

- [1] *Turrens J. F.* Mitochondrial formation of reactive oxygen species // *J. Physiol.* 2003. V. 552. P. 335—344.
- [2] *Finkel T.* Oxygen radicals and signalling // *Curr. Biol.* 1998. V. 10. P. 248—253.
- [3] *Chen B. T., Avshalumov M. V., Rice M. E.* H₂O₂ is a novel, endogenous modulator of synaptic dopamine release // *J. Neurophysiol.* 2001. V. 85. P. 2468—2476.
- [4] *Giniatullin A. R., Giniatullin R. A.* Dual action of hydrogen peroxide on synaptic transmission at the frog neuromuscular junction // *J. Physiol.* 2003. V. 552. P. 283—293.
- [5] *Moroz L. L., Gillette R.* From Polyplacophora to Cephalopoda: Comparative analysis of nitric oxide signalling in Mollusca // *Acta Biol. Hung.* 1995. V. 46. P. 169—182.
- [6] *Moroz L. L., Park J. H., Winlow W.* Nitric-oxide activates buccal motor patterns in *Lymnaea stagnalis* // *Neuroreport.* 1993. V. 4. P. 643—646.
- [7] *Vincent S. R.* Nitric oxide: a radical neurotransmitter in the central nervous system // *Progress Neurobiol.* 1994. V. 42. P. 129—160.
- [8] *Choi J. H., Yu B. P.* Brain synaptosomal aging: free radicals and membrane fluidity // *Free Radic. Biol. Med.* 1995. V. 18. P. 133—139.
- [9] *Сидоров А. В., Маслова Г. Т.* Система антиокислительной защиты в центральных нервных ганглиях моллюска *Lymnaea stagnalis* // *Вестн. НАН Беларуси. Сер. биол. наук.* 2009. № 2. С. 90—94.
- [10] *Сидоров А. В., Маслова Г. Т.* Состояние антиокислительной защиты в центральных нервных ганглиях моллюска *Lymnaea stagnalis* при модуляции активности NO-ергической системы // *Ж. эвол. биохим. и физиол.* 2008. Т. 44. С. 453—458.
- [11] *Goldschmeding I. T., de Vlieger T. A.* Functional anatomy and innervation of the buccal complex of the freshwater snail *Lymnaea stagnalis* // *Proc. Kon. Ned. Akad. Wet.* 1975. V. C70. P. 460—467.
- [12] *Elliott C. J. H., Benjamin P. R.* Interactions of pattern-generating interneurons controlling feeding in *Lymnaea stagnalis* // *J. Neurophysiol.* 1985. V. 54. P. 1396—1411.
- [13] *McCrohan C. R., Benjamin P. R.* Synaptic relationships of the cerebral giant cells with motoneurons in the feeding system of *Lymnaea stagnalis* // *J. Exp. Biol.* 1980. V. 85. P. 169—186.
- [14] *Сидоров А. В.* Клеточные основы температурной зависимости пищеварительной активности моллюска *Lymnaea stagnalis* // *Ж. эвол. биохим. и физиол.* 2009. Т. 45. С. 298—303.
- [15] *Moghadam H. F., Winlow W., Moroz L. L.* Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide (NO) on neuronal discharges and intracellular calcium concentration in the molluscan CNS // *Acta Biol. Hung.* 1995. V. 46. P. 145—153.
- [16] *Knapp L. T., Klann E.* Superoxide-induced stimulation of protein kinase C via thiol modification and modulation of zinc content // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. P. 24 136—24 145.
- [17] *Ueda A., Wu C. F.* Effects of hyperkinetic, a beta subunit of Shaker voltage-dependent K⁺ channels, on the oxidation state of presynaptic nerve terminals // *J. Neurogenet.* 2008. V. 22. P. 1—13.
- [18] *Huschenbett J., Zaidi A., Michaelis M. L.* Sensitivity of the synaptic membrane Na⁺/Ca²⁺ exchanger and the expressed NCX1 isoform to reactive oxygen species // *Biochim. Biophys. Acta.* 1998. V. 1374. P. 34—46.
- [19] *Elliott C. J. H., Vehovszky A.* Comparative pharmacology of feeding in mollusks // *Acta Biol. Hung.* 2000. V. 51. P. 153—163.
- [20] *Colton C. A., Colton J. S., Gilbert D. L.* Changes in synaptic transmission produced by hydrogen peroxide // *J. Free Radic. Biol. Med.* 1986. V. 2. P. 141—148.
- [21] *Colton C., Yao J., Grossman Y., Gilbert D.* The effect of xanthine/xanthine oxidase generated reactive oxygen species on synaptic transmission // *Free Radic. Res. Commun.* 1991. V. 14. P. 385—393.
- [22] *Hunanyan A., Ayrapetyan S.* Effect of hydrogen peroxide on neuron sensitivity to acetylcholine // *Electromagn. Biol. Med.* 2007. V. 26. P. 225—233.

- [23] *Sidorov A. V.* Effect of hydrogen peroxide on electrical coupling between identified *Lymnaea* neurons // *Invert. Neurosci.* 2012. V. 12. P. 63—68.
- [24] *Moroz L. L., Rubakhin S. S., Frolow A. A., Kostiuk V. A.* Free-radical damage of identified neurones in *Lymnaea stagnalis* // *Acta Biol. Hung.* 1993. V. 44. P. 29—32.
- [25] *Kobayashi S., Sadamoto H., Ogawa H., Kitamura Y., Oka K., Tanishita K., Ito E.* Nitric oxide generation around buccal ganglia accompanying feeding behavior in the pond snail, *Lymnaea stagnalis* // *Neurosci. Res.* 2000. V. 38. P. 27—34.
- [26] *Adema C. M., van Deutekom-Mulder E. C., van der Knaap W. P., Sminia T.* NADPH-oxidase activity: the probable source of reactive oxygen intermediate generation in hemocytes of the gastropod *Lymnaea stagnalis* // *J. Leukoc. Biol.* 1993. V. 54. P. 379—383.
- [27] *Dikkeboom R., Tijnagel J. M., Mulder E. C., van der Knaap W. P.* Hemocytes of the pond snail *Lymnaea stagnalis* generate reactive forms of oxygen // *J. Invertebr. Pathol.* 1987. V. 49. P. 321—331.
- [28] *Ribeiro M., Straub V. A., Schofield M., Picot J., Benjamin P. R., O'Shea M., Korneev S. A.* Characterization of NO-sensitive guanylyl cyclase: expression in an identified interneuron involved in NO-cGMP-dependent memory formation // *Eur. J. Neurosci.* 2008. V. 28. P. 1157—1165.
- [29] *Korneev S. A., Straub V., Kemenes I., Korneeva E. I., Ott S. R., Benjamin P. R., O'Shea M.* Timed and targeted differential regulation of nitric oxide synthase (NOS) and anti-NOS genes by reward conditioning leading to long-term memory formation // *J. Neurosci.* 2005. V. 25. P. 1188—1192.
- [30] *Patel B. A., Arundell M., Parker K. H., Yeoman M. S., O'Hare D.* Detection of nitric oxide release from single neurons in the pond snail, *Lymnaea stagnalis* // *Anal. Chem.* 2006. V. 78. P. 7643—7648.

Поступила 5 V 2015

NEUROMODULATION EFFECTS OF HYDROGEN PEROXIDE ON CENTRAL NEURONS WITHIN FEEDING NETWORK IN THE MOLLUSC *LYMNAEA STAGNALIS*

A. V. Sidorov

Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

ABSTRACT

Hydrogen peroxide at concentration of 100 μM was found to possess a pronounced correcting effect on motor (cells of R/L B1—B4 clusters) and modulatory (cells of R/L CGC) neurons of the feeding network in the mollusc *Lymnaea stagnalis*. The effect of hydrogen peroxide is expressed as a change of firing rate, membrane potential level and action potential amplitude of these cells. The observed effects were reversible, brief and reached their maxima within 1 min after application of the preparation. Injection of hydrogen peroxide into the cavity of the cephalopedal sinus did not result in statistically significant changes of the mollusc feeding behavior indicators. It is supposed that hydrogen peroxide may act as a fast neuromodulator in relation to neurons of the central generator of feeding rhythm in *Lymnaea stagnalis*.

Key words: reactive oxygen species, feeding behavior, identified neurons, electrical activity of the cells.