



РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ИНСТИТУТ ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ
И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОФИЗИКИ
ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ КЛЕТКИ

МАТЕРИАЛЫ
XII Всероссийского симпозиума
с международным участием
«Биологическая подвижность»,
посвященного памяти
заслуженного деятеля науки РФ,
профессора З.А. Подлубной

Пушино
2019

3. Laver D.R. (2018) Regulation of the RyR channel gating by Ca^{2+} and Mg^{2+} // *Biophys Rev.* N. 4. P. 1087-1095.
4. Murayama T., Ogawa H., Kurebayashi N., Ohno S., Horie M., Sakurai T. (2018). A tryptophan residue in the caffeine-binding site of the ryanodine receptor regulates Ca^{2+} -sensitivity // *Communications Biology.* V. 1. P. 98.
5. Vekshina O., Kim Yu., Vekshin N. (2008). "Magic" calcium gradient for the operation of the sarcoplasmic reticulum". Book "Progress in Biochemical Physics, Kinetics and Thermodynamics" Nova Science Publishers, New York, Ed. by G.E.Zaikov. pp. 141-155.

**ЭФФЕКТЫ ДОНОРА ОКСИДА АЗОТА И БЛОКАТОРА
NO-СИНТАЗЫ НА ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
НЕЙРОНОВ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ**

**В.В. Андрианов¹, Т.Х. Богодвид^{1,2}, Л.Н. Муранова¹,
И.Б. Дерябина¹, Х.Л. Гайнутдинов¹**

¹*Институт фундаментальной медицины и биологии Казанского
федерального университета, Казань, ул. Кремлевская, 18*

²*Академия физической культуры, спорта и туризма,
Казань, деревня Универсиады, 35, Россия*

Анализ механизмов обучения и памяти демонстрирует, что существуют клеточные корреляты, которые выражаются в повышении нейрональной возбудимости при формировании условных рефлексов [1]. Найдено, что существует прямая взаимосвязь между мембранными характеристиками командных нейронов оборонительного поведения и пластическими модификациями поведения, что свидетельствует о сложной динамике изменений этих параметров при обучении [1]. Система оксида азота (NO) является одной из наиболее изучаемых систем организма. Однако, несмотря на то, что на сегодняшний день накопилось огромное количество данных о сигнальных мишенях оксида азота, однозначное мнение на этот счет отсутствует [2]. Обнаружено, что NO координирует ряд поведенческих программ у моллюсков, найдено, что NO участвует в процессах обучения и памяти [3, 4]. NO контролирует также пластические свойства нейронов: блокатор NO-синтазы способствовал развитию привыкания, а доноры NO давали эффект сенситизации. Показано участие NO в пластических изменениях синаптической передачи в различных системах, в том числе для нервной системы *Helix*. В экспериментах на препаратах виноградной улитки показано, что доноры NO увеличивают частоту спайкирования и снижают латентность спайков в идентифицированных нейронах [5]. В данной работе мы провели исследование роли NO в функционировании нервных клеток через изменения электрических характеристик командных нейронов LPa3 и RPa3 виноградной улитки при действии донора NO и блокатора NO-синтазы L-NAME.

Для экспериментов была выбрана виноградная улитка *Helix lucorum*, нервная система которых хорошо описана. Перед началом экспериментов моллюски не менее 2-х недель находились в активном состоянии. Анализ

электрических характеристик проводили на командных нейронах LPa3 и RPa3 оборонительного поведения. Измерения проводили с помощью внутриклеточных стеклянных микроэлектродов сопротивлением 3-10 МОм. Регистрировали мембранный потенциал покоя – V_m (исходное значение перед началом серии тактильных раздражений или электрической стимуляции и его величина в ходе эксперимента) и порог генерации потенциала действия - V_t . Исследовали эффекты аппликации (в течение 30 мин) блокатора NO-синтазы L-NAME (L-NG-nitro L-arginine methyl ester, Sigma, USA) в концентрации 10^{-4} моль/л и нитропруссид натрия (SNP) - донора NO (в концентрации 10^{-4} моль/л), в раствор, омывающий препарат интактных улиток. В экспериментах не было найдено достоверных отличий значений V_m и V_t между группами премоторных интернейронов LPa3 и RPa3. Аппликация L-NAME в концентрации 10^{-4} моль/л в раствор, омывающий изолированный препарат улиток, вызывала постепенное снижение в течение 30 мин мембранного потенциала с -60.2 ± 0.8 мВ до -55.4 ± 1.7 мВ, $n=5$ ($p < 0.05$). Через 30 мин мембранный потенциал становился стабильным. Изменений порога генерации потенциала действия при этом не наблюдалось. Аппликация донора NO SNP в концентрации 10^{-4} моль/л в раствор, наоборот, вызывает нарастающую гиперполяризацию мембраны командных нейронов на 5.5 мВ к 10-й минуте ($p < 0.05$). Таким образом, результаты говорят о зависимости мембранного потенциала покоя премоторных интернейронов LPa3 и RPa3 *Helix lucorum* от уровня NO.

Работа поддержана РФФИ (грант № 18-015-00274).

THE EFFECTS OF A DONOR OF NITRIC OXIDE AND INHIBITOR OF NO-SYNTASE ON THE ELECTRICAL CHARACTERISTICS OF NEURONS OF TERRESTRIAL SNAIL

**V.V. Andrianov¹, T.Kh. Bogodvid^{1,2}, L.N. Muranova¹,
I.B. Deryabina¹, Kh.L. Gainutdinov¹**

¹*Institute of fundamental medicine and biology, Kazan Federal University,
Kazan, Kremlevskaya str., 18*

²*Academy of physical culture, sports and tourism,
Kazan, Universiade village, 35, Russia*

Analysis of the mechanisms of learning and memory demonstrates that there are cellular correlates, which are expressed in increasing of neuronal excitability in the formation of conditioned reflexes [1]. It is found that there is a direct relationship between the membrane characteristics of the command neurons of defensive behavior and plastic modifications of behavior, which indicates the complex dynamics of changes in these parameters during learning [1]. The system of nitric oxide (NO) is one of the most studied systems of the body. However, despite for today has accumulated a huge amount of data on the signaling targets of NO, a clear opinion on this matter is missing [2]. It is discovered that NO coordinates a number of behavioral programs in mollusks, it is found that

NO is involved in the processes of learning and memory [3, 4]. NO also controls the plastic properties of neurons: an inhibitor of NOS contributed to the development of habituation, and the NO donors caused the effect of sensitization. It was shown the participation of NO in the plastic changes of synaptic transmission in various systems, including the nervous system of *Helix*. In experiments on preparations of *Helix* it was shown that NO donors increased the frequency of spikes and reduced the latency of spikes in identified neurons [5]. In this paper we investigated the role of NO in the functioning of nerve cells through changes in the electrical characteristics of the command neurons LPa3 and RPa3 of the terrestrial snail under the action of the donor NO and the inhibitor of NO-synthase (NOS) L-NAME.

The terrestrial snails *Helix lucorum*, the nervous system of which is well described, were used for the experiments. Before the experiments, the mollusks were in the active state for at least 2 weeks. The electrical characteristics of the command neurons LPa3 and RPa3 of the snail's pneumostome closure reflex were analysed. The recordings of the electrical characteristics were carried out using intracellular glass microelectrodes with resistance of 3-10 MoM. The following parameters of nerve cells were recorded: membrane resting potential - V_m (initial value before the beginning of each electrical stimulation), and a threshold of generation of AP - V_t (threshold potential). The effects of the application (during 30 min) of NOS inhibitor L-NAME (L-NG-nitro L-arginine methyl ester, Sigma, USA) (at a concentration of 10^{-4} mol/l and sodium nitropruside (SNP), a donor of NO (at a concentration of 10^{-4} mol/l), into the solution bathing the preparation of intact snails, on the membrane and threshold potentials of the command neurons were studied.

The measurements of electrical characteristics were carried out on premotor interneurons of defensive behavior of snail LPa3 and RPa3. In the experiments it was not found significant differences in the values of V_m and V_t of premotor interneurons LPa3 and RPa3. Application of NOS inhibitor L-NAME at a concentration of 10^{-4} mol/l into the solution bathing the preparation of the intact snails, caused the reliable decrease of the membrane potential of the premotor interneurons from -60.2 ± 0.8 mB to -55.4 ± 1.7 mB, $n=5$. The reliable difference from the control snails is $p < 0.05$. There are not observed the changes of the threshold of the action potential. Application of NO donor SNP at a concentration of 10^{-4} mol/l, in opposite, causes the increasing hyperpolarization of the command neurons membrane by 5.5 mV by 10 minutes, $n=12$. This results make a suggestion about correlation between the level of NO in the neuron and its membrane potential.

Supported by RFBR (Grant No. 18-015-00274).

References

1. Gainutdinov Kh.L. et al. Uspekhi Physiologicheskikh Nauk (Russian). 2011. V. 42. P. 33-52.
2. Park A-R. et al. Neural Plasticity. 2014. ID 628531.
3. Balaban P.M. et al. Eur. J. Neurosci. 2014. V. 40. No 6. P. 2963-2970.
4. Muranova, L.N. et al. Bull. Experim. Biol. Med. 2016. V. 160. No 4. P. 414-416.
5. Zsombok A. et al. Neurosci. Lett. 2000. V. 295. No 3. P. 85-88.