

DOI: 10.31429/SbR6.2019.001
ISBN 978-5-8209-1644-1

Сборник научных трудов VI съезда биофизиков России: в 2 томах.
том 1, том 2.
Краснодар: «Плехановец», 2019.

**ИЗМЕНЕНИЕ СВОЙСТВ СЕРТОНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ КОМАНДНЫХ НЕЙРОНОВ
ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ У ОБУЧЕННЫХ ЖИВОТНЫХ**

**CHANGES OF THE PROPERTIES OF SEROTONIN RECEPTORS OF SNAIL'S COMMAND
NEURONS IN LEARNED ANIMALS**

*Гайнутдинов Х.Л.¹, Андрианов В.В.¹, Богодов Т.Х.^{1,2}, Випарская А.Х.³, Дерябина И.Б.¹, Муранова Л.Н.¹,
Силаптьева Д.И.¹, Балабан П.М.³*

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань; E-mail: kh_gainutdinov@mail.ru

²Поволжская академия физической культуры, спорта и туризма, Казань, Россия

³Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

Вопросы о механизмах обучения и памяти стоят давно. Установлено, что у моллюсков основным медиатором, который опосредует оборонительное поведение и обучение на основе оборонительных рефлексов, является серотонин (5-НТ) [1,2,3]. Усиление оборонительных реакций наблюдается и при инъекции 5-НТ внутрь организма животного [4]. В последнее время развивается концепция о том, что существенную роль в механизмах формирования памяти у моллюсков играет внесинаптическая передача 5-НТ [5]. Этот путь может быть одним из механизмов, посредством которых нейрон регулирует трансляцию во время обучения. Так, было

показано, что 5-НТ-индуцированное долгосрочное облегчение сенсомоторного синапса у аплизии зависит от усиленной экспрессии генов и синтеза белка [6,7]. Выделив изолированно мотонейрон, они продемонстрировали, что 5-НТ-зависимый синтез белка локализован именно в мотонейроне. У виноградной улитки за внесинаптический выброс 5-НТ отвечают модуляторные нейроны педаляного ганглия [3]. Одним из участков связывания, на который действует 5-НТ, могут являться внесинаптические 5-НТ-рецепторы [8]. Доказательством являются эффекты антагонистов 5-НТ рецепторов метиоптепина (МЕТ), метилсергида и других [9,10]. Исходя из выше изложенного, нами было проведено исследование реакции серотониновых рецепторов командных нейронов LPa3 и RPa3 intactных и обученных улиток на аппликацию 5-НТ и МЕТ, который является антагонистом рецепторов 5-НТ первого типа.

Для экспериментов была выбрана виноградная улитка *Helix lucorum*, нервная система которой хорошо описана. В качестве подготовки к основной работе у половины улиток вырабатывали оборонительный условный рефлекс на постукивание по раковине [8,11]. Условным стимулом служило двойное постукивание по раковине, которое в норме не вызывало оборонительной реакции у животного. В качестве безусловного стимула использовался дувок струи воздуха в отверстие легочной полости, что вызывало у животных безусловную оборонительную реакцию закрытия шлемостомы. Доказательством обучения животных является активный контроль, в качестве которого служило применение несочетанного предъявления условного и безусловного стимулов, в том же количестве и в тех же временных интервалах, что и при сочетанном предъявлении этих стимулов.

Анализ электрических характеристик проводили на командных нейронах оборонительного рефлекса LPa3 и RPa3. Поскольку эти нейроны в норме являются молчаливыми, то использовался одоэлектродный метод стимуляции клетки - для вызова потенциала действия (ПД) через регистрирующий микроэлектрод на клетку подавали импульс тока прямоугольной формы продолжительностью 1 с; величина тока стимуляции подбиралась минимальной для генерации потенциала действия [4]. При этом использовался минимальный ток, необходимый для генерации 3-5 ПД. Регистрировали следующие параметры нервных клеток: мембранный потенциал покоя - V_m (исходное значение перед началом серии тактильных раздражений или электрической стимуляции и его величина в ходе эксперимента) и порог генерации ПД - V_t (пороговый потенциал). В основной части экспериментов исследовали реакции нейронов LPa3 и RPa3 на аппликацию (в течение 30 мин) следующих веществ в раствор, омывающих препарат intactных и обученных улиток: 5-НТ, 5-гидрокситриптофана (5-НТР), предшественника синтеза серотонина, МЕТ; все в концентрации 4×10^{-5} М/л. На одном препарате регистрировали ответ только одного нейрона (начиная с LPa3), чтобы избежать фонового влияния предыдущих веществ. В отдельной серии экспериментов был проведен сравнительный анализ V_m и V_t нейронов LPa3 и RPa3; измерения проводились на обоих нейронах в каждом препарате intactных и обученных улиток.

В первой серии экспериментов было продемонстрировано, что V_m и V_t командных нейронов LPa3 intactных улиток не отличаются достоверно от таковых у нейронов RPa3. Это позволило нам объединить результаты измерений для двух нейронов. Эти результаты похожи на полученные нами ранее [12]. Было найдено, что аппликации 5-НТ и 5-НТР вызывают значительное уменьшение V_m intactных и обученных улиток, но не вызывают изменений V_t у intactных улиток. Однако они вызывают возрастание V_t у обученных улиток. МЕТ в контрольной группе приводит к уменьшению V_m нейронов LPa3 и RPa3 и его увеличение до первоначального уровня при последующей аппликации серотонина. У обученных животных МЕТ также приводит к уменьшению V_m , но последующая аппликация серотонина не меняет V_m . Результаты показывают, что ответы командных нейронов на экстраклеточную аппликацию 5-НТ, 5-НТР и МЕТ изменяются после ассоциативного обучения.

Таким образом, в наших экспериментах найдено, что аппликация 5-НТ и 5-НТР вызывают достоверное снижение V_m командных нейронов intactных и обученных улиток. Аппликация 5-НТ и 5-НТР не вызывает каких-либо изменений порогового потенциала этих нейронов у intactных улиток. Однако в противоположность им аппликация 5-НТ и 5-НТР на командные нейроны обученных улиток вызывает увеличение порогового потенциала. Т.е., показано, что у обученных улиток, в отличие от intactных, повышается пороговый потенциал в ответ на аппликацию 5-НТ и 5-НТР, что показывает снижение возбудимости этих нейронов в реакции на внеклеточный 5-НТ после обучения. Было показано, что при аппликации антагониста 5-НТ- рецепторов метиоптепина происходит уменьшение мембранного потенциала нейронов LPa3 и RPa3 и его увеличение при последующей аппликации 5-НТ. Остальные электрические характеристики не изменяются. Это говорит о том, что обучение приводит к снижению возбудимости командных нейронов обученных животных в ответ на аппликацию 5-НТ. С другой стороны, возбудимость этих нейронов повышается после самой процедуры обучения [12,13,14]. Тем не менее, факт того, что процедура обучения приводит к изменению реакции командных нейронов на аппликацию серотонина, заслуживает внимания, и является еще одним коррелятом обучения на уровне нейрональной сети, особенно, если помнить о важной роли 5-НТ в феномене выработки условных оборонительных рефлексов [15].

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

I. Glanzman D.L. et al. Depletion of serotonin in the nervous system of *Aplysia* reduces the behavioral enhancement of gill withdrawal as well as the heterosynaptic facilitation produced by tail shock // *J. Neurosci.* 1989. Vol. 12. P. 4200-4213.

Секция 7. Нейродинамика и нейробиология.

2. Гайнутдинов Х.Л. и др. Воздействие нейротоксинов 5,6-дигидрокситриптамина и р-хлорфенилаланина на параметры электрической активности командных нейронов при долговременной сенситизации и обучении у виноградной улитки // Журн. высш. нервн. деят. 1999. Т.49. № 1. С. 48-58.
3. Balaban P.M. et al. A single serotonergic modulatory cell can mediate reinforcement in the withdrawal network of the terrestrial snail // *Neurobiol. Learn. Mem.* 2001. Vol. 75. No 1. P. 30-50.
4. Andrianov V.V. et al. Modulation of defensive reflex conditioning in snails by serotonin // *Front. Behav. Neurosci.* 2015. Vol. 9. Article 279.
5. Сахаров Д.А. Биологический субстрат генерации поведенческих актов // Журн. общей биол. 2012. Т. 73. № 5. С. 324–348.
6. Villareal G. et al. The role of rapid, local, postsynaptic protein synthesis in learning-related synaptic facilitation in *Aplysia* // *Curr. Biol.* 2007. Vol. 17. No 23. P. 2073-2080.
7. Liu R.-Y. et al. The requirement for enhanced CREB1 expression in consolidation of long-term synaptic facilitation and long-term excitability in sensory neurons of *Aplysia* // *J. Neurosci.*, 2011. Vol. 31. No 18. P. 6871–6879.
8. Bogodvid T.K. et al. Responses of premotor interneurons to serotonin application in naïve and learned snails are different // *Frontiers in Cellular Neuroscience.* 2017. Vol. 11. Article 403.
9. Абрамова М.С. и др. Метитопин-чувствительные серотониновые рецепторы включены в постсинаптический механизм сенситизации оборонительной реакции виноградной улитки // Журн. высш. нервн. деят. 2005. Т. 55. № 3. С. 385–392.
10. Andrianov V.V. et al. Effects of serotonin receptor antagonist methiothepin on membrane potential of premotor interneurons of naïve and learned snails // *BioNanoScience.* 2018. Vol. 8. No. 1. P.379-383.
11. Гайнутдинова Т.Х. и др. Длительность сохранения изменений электрических характеристик командных нейронов при выработке условного оборонительного рефлекса у улитки // Журн. высш. нервн. деят. 2003. Т. 53. № 3. С. 388-391.
12. Гайнутдинов Х.Л. и др. Изменение электрических характеристик командных нейронов при выработке условного оборонительного рефлекса у виноградной улитки. Журн. высш. нервн. деят. 1996. Т.46. С.614-616.
13. Mozzachiodi R. et al. Changes in neuronal excitability serve as a mechanism of long-term memory for operant conditioning // *Nature Neurosci.* 2008. Vol. 11. P. 1146-1148.
14. Гайнутдинов Х.Л. и др. Изменение возбудимости нейрональной мембраны как клеточный механизм обучения и памяти // *Успехи физиологических наук.* 2011. Т. 42. № 1. С. 33-52.
15. Балабан П.М. Молекулярные механизмы модификации памяти // Журн. высш. нервн. деят. 2017. Т. 67. № 2. С. 131-140.

