

УДК 591.041

ВРЕМЕННЫЕ И АМПЛИТУДНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОТЕНЦИАЛА ДЕЙСТВИЯ ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫХ НЕЙРОНОВ *LYMNAEA STAGNALIS* ПРИ ДЕЙСТВИИ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА

А. В. СИДОРОВ¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

При помощи микроэлектродной техники проанализированы параметры спонтанных потенциалов действия идентифицированных дофаминсодержащих (R.Pe.D.1) и серотонинсодержащих (L.Pe.D.1) нейронов при действии пероксида водорода. Установлено, что нанесение H₂O₂ в концентрации 1 ммоль/л на поверхность препарата изолированной центральной нервной системы (ЦНС) не приводит к статистически достоверным изменениям временных и амплитудных характеристик спайка в обоих исследованных нейронах. Повышение действующей концентрации H₂O₂ (100 ммоль/л) вызывает увеличение длительности фаз де- и реполяризации потенциала действия, уменьшение амплитуды спайка, следовой гиперполяризации и порога для R.Pe.D.1. Для L.Pe.D.1 схожие по направленности изменения установлены лишь в отношении длительности фазы деполяризации, а также амплитуд спайка и порога. Предполагается, что отмеченные особенности электрических свойств мембраны являются следствием различной чувствительности Na⁺- и K⁺-проводимости к действию активных форм кислорода, что обуславливает функциональную специфичность идентифицированных нейронов ЦНС *Lymnaea stagnalis* и отличия в реакциях клеток разных нейронных сетей при нарушении редокс-равновесия в нервной ткани.

Ключевые слова: потенциал покоя; спайк; активные формы кислорода; моллюск.

Благодарность. Работа выполнена в рамках государственных программ научных исследований «Конвергенция» (задание 3.3.03.4) и «Фундаментальные и прикладные науки – медицине» (задание 1.08).

TIME-COURSE AND AMPLITUDE CHARACTERISTICS OF ACTION POTENTIALS OF IDENTIFIED *LYMNAEA STAGNALIS* NEURONS UNDER THE HYDROGEN PEROXIDE IMPACT

A. V. SIDOROV^a

^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Microelectrode technique was used to determine the parameters of spontaneous spikes of two identified dopamine-containing (R.Pe.D.1) and serotonin-containing (L.Pe.D.1) neurons under the action of hydrogen peroxide. H₂O₂ (1 mmol/l) bath application on the surface of isolated CNS did not result in significant changes of time-course and amplitude characteristics of the neurons under study. Strengthening of H₂O₂ concentration (100 mmol/l) evoked the increase of action potential duration (de- and repolarization phases both) and decrease of spike, undershoot and threshold amplitudes in R.Pe.D.1.

Образец цитирования:

Сидоров А. В. Временные и амплитудные характеристики потенциала действия идентифицированных нейронов *Lymnaea stagnalis* при действии пероксида водорода // Журн. Белорус. гос. ун-та. Биология. 2018. № 1. С. 31–37.

For citation:

Sidorov A. V. Time-course and amplitude characteristics of action potentials of identified *Lymnaea stagnalis* neurons under the hydrogen peroxide impact. *J. Belarus. State Univ. Biol.* 2018. No. 1. P. 31–37 (in Russ.).

Автор:

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

Author:

Alexander V. Sidorov, doctor of science (biology), docent; professor at the department of human and animal physiology, faculty of biology.
sidorov@bsu.by

For L.Pe.D.1, the same trend was observing only for depolarisation phase duration, spike and threshold amplitudes. It is assume that peculiarities of electrical properties of membranes are due to the differences in the sensitivity of Na^+ - and K^+ -conductivity to reactive oxygen species. That state could underlie functional specificity of identified neurons within CNS of *Lymnaea stagnalis* and the diversity of neuronal response to the nervous tissue redox disbalance.

Key words: rest potential; spike; reactive oxygen species; mollusc.

Acknowledgements. This work supported by State Programs for Scientific Research «Convergence» (task 3.3.03.4) and «Fundamental and applied sciences for medicine» (task 1.08).

Введение

Активные формы кислорода (АФК) все шире рассматриваются в качестве одного из основных участников процессов внутриклеточной сигнализации и межклеточной коммуникации [1]. С учетом своих свободнорадикальных свойств, предполагающих неспецифический характер взаимодействия с молекулярными мишенями, они в полной мере способны играть роль медиаторов объемной передачи сигнала, обеспечивая единовременное воздействие на множество нейронов, сосредоточенных в определенном участке мозга [2]. По некоторым оценкам, в ряде участков центральной нервной системы (ЦНС) концентрация пероксида водорода (H_2O_2) как главного модулятора синаптической передачи среди всего семейства АФК может достигать 1 ммоль/л [3]. Очевидно, что это порождает вопросы, связанные с формированием устойчивости клеток нервной ткани в условиях действия АФК. Неизменность электрических свойств мембраны нейронов является наиболее значимой с точки зрения сохранения их функциональной специфичности. При этом ключевое значение приобретает устойчивость белков ионных каналов плазмалеммы, определяющих генерацию потенциала действия (спайка) – элементарного события, лежащего в основе передачи сигнала в нервной системе.

В составе ЦНС моллюска *Lymnaea stagnalis* (прудовик обыкновенный) крупные идентифицированные нейроны правого и левого педалных ганглиев – R.Pe.D.1 (дофаминергический) и L.Pe.D.1 (серотонинергический) соответственно [4; 5] – широко используются для изучения различных нейронных механизмов [6]. Эти полифункциональные вставочные нейроны интегрированы в структуру центральных генераторов дыхательного (R.Pe.D.1) и локомоторного (L.Pe.D.1) ритмов [7; 8]. Ранее было отмечено, что пероксид водорода в неравной степени модифицирует электрические характеристики (частота генерации потенциала действия, уровень мембранного потенциала) отмеченных клеток [9]: L.Pe.D.1 проявляет бóльшую устойчивость к действию H_2O_2 , нежели R.Pe.D.1. В то же время вопрос о сохранности показателей спайка в этих условиях и в зависимости от функциональной принадлежности клеток остался открытым, что и предопределило проведение настоящего исследования.

Материалы и методы исследования

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 0,5 л воды) при температуре 20 ± 1 °С. Воду меняли каждые три дня. Пищей служили листья салата и одуванчика (питание *ad libitum*). Использовали животных, имеющих одинаковые размеры (длина раковины составляла от 4,0 до 4,5 см) и массу (от 5 до 6 г).

Электрофизиологические исследования. Эксперименты были выполнены на препаратах изолированной ЦНС ($n = 9$). Нейроны R.Pe.D.1 и L.Pe.D.1 идентифицировали по размеру и расположению в пределах ЦНС. Для размягчения периневральной оболочки и облегченного проникновения микроэлектродов в нейроны препараты предварительно обрабатывали раствором проназы (Protease E, type XIV, Sigma, США) в концентрации 1 мг/мл, приготовленным на нормальном физиологическом растворе для *Lymnaea stagnalis* в течение 5 мин при температуре 20 °С. Электрическую активность нейронов регистрировали после промывки обработанного препарата свежим физиологическим раствором в течение 30 мин. Для перфузии (0,1 мл/мин) препаратов ЦНС использовали нормальный физиологический раствор (концентрация указана в миллимолях): NaCl – 44,0; KCl – 1,7; CaCl_2 – 4,0; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 1,5; HEPES – 10,0; pH $7,5 \pm 0,03$. Внутриклеточную регистрацию электрических параметров нейронов осуществляли с помощью Ag/AgCl-электродов и микроэлектродного усилителя МС-01М («Линтех», Беларусь). Микропипетки заполняли раствором KCl в концентрации 2,5 моль/л (сопротивление микроэлектрода составляло 10–20 МОм). В качестве индифферентного электрода использовали хлорированную серебряную проволоку.

Для каждого препарата (нейрона) временные и амплитудные характеристики спонтанных потенциалов действия (спайков) определяли для трех произвольно выбранных спайков из 30-секундного участка нейрограммы (шаг квантования – 0,5 мс), сделанной до и через 5 мин после добавления пероксида водорода соответствующей концентрации. При помощи специальных возможностей программы электронного осциллографа InputWin [10] оценивали параметры потенциала действия: амплитуды спайка, следовой гиперполяризации и порога, длительности фаз де- и реполяризации (ДП и РП), следовой гиперполяризации (СГ).

Пероксид водорода («Изотрон», Беларусь) наносили на поверхность центрального кольца ганглиев последовательно в конечной концентрации 1 и 100 ммоль/л соответственно. Моменты аппликации были разделены не менее чем 10-минутным промежутком, достаточным для фиксации исследуемых показателей. При этом перфузию препарата временно прекращали. Контроль концентрации пероксида водорода в омывающем препарат растворе осуществляли спектрофотометрически ($\lambda = 240$ нм, коэффициент молярной экстинкции – $43,6$ (моль/л) $^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$).

Статистика. Экспериментальные данные обрабатывали общепринятыми методами медико-биологической статистики [11]. Нормальность распределения для каждого ряда экспериментальных данных предварительно оценивали при помощи *W*-теста Шапиро – Уилка. Поскольку нормальность распределения показателей не была подтверждена для всех без исключения экспериментальных серий, использовали непараметрические методы оценки. При сравнении нескольких зависимых групп применяли *F*-критерий Фридмана (*Friedman ANOVA*, аналог дисперсионного анализа для повторных измерений), при сравнении двух зависимых групп – критерий знаков (*Sigh test*, аналог *t*-критерия Стьюдента). Данные представлены в виде медианы (25-й и 75-й процентиля). Число наблюдений (*n*) приводится для каждого показателя и типа нейрона отдельно. Данные обрабатывали посредством программы *Statistica 6.0*. Достоверными считались результаты при уровне значимости $P \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Установлено, что пероксид водорода в концентрации 1 ммоль/л не вызывает статистически значимых сдвигов ни одного из исследованных показателей потенциала действия нейронов R.Pe.D.1 и L.Pe.D.1 (табл. 1 и 2). Однако увеличение его действующей концентрации до 100 ммоль/л приводит к выраженным эффектам в отношении как временных, так и амплитудных характеристик исследованных нейронов.

В частности, для R.Pe.D.1 (см. табл. 1, рис. 1) отмечено 2-кратное возрастание по сравнению с контрольными условиями длительности фазы ДП ($z = 2,02$; $P = 0,0433$) и совсем незначительное (в 1,1 раза) увеличение фазы РП ($z = 2,41$; $P = 0,0159$), протекающее на фоне неизменной длительности следовой гиперполяризации. Амплитудные характеристики спайка указанного нейрона претерпевали статистически достоверное уменьшение по сравнению как с контролем, так и со значениями, полученными для условий действия пероксида водорода в концентрации 1 ммоль/л (см. табл. 2, рис. 1). Для общей амплитуды спайка снижение соответственно составило 1,6 и 1,7 раза ($z = 2,02$; $P = 0,0433$ и $z = 2,67$; $P = 0,0077$), для амплитуды СГ – 1,5 и 1,6 раза ($z = 3,17$; $P = 0,0015$ и $z = 2,67$; $P = 0,0077$), для амплитуды порога – 2,0 и 1,7 раза ($z = 2,02$; $P = 0,0433$ и $z = 2,67$; $P = 0,0077$).

Для L.Pe.D.1 (см. табл. 1, рис. 2) статистически значимые изменения длительности отмечены по отношению к фазе ДП: 2-кратное увеличение по сравнению с контролем ($z = 2,04$; $P = 0,041$) и 1,5-кратное по сравнению с действием 1 ммоль/л раствора пероксида водорода ($z = 2,04$; $P = 0,041$). Согласно данным дисперсионного анализа (см. табл. 1) справедливо говорить лишь о тенденции к возрастанию протяженности фазы РП, а также о неизменной длительности фазы СГ по мере увеличения действующей концентрации H_2O_2 . В отношении показателей амплитуды спайка L.Pe.D.1 отмеченные изменения были сходны с таковыми для R.Pe.D.1 (см. табл. 2, рис. 2). Речь, в частности, идет о снижении общей амплитуды спайка на величину около 5–10 мВ по сравнению с контролем ($z = 2,20$; $P = 0,0277$) и действием 1 ммоль/л раствора пероксида водорода ($z = 2,04$; $P = 0,0412$). Отмечено снижение амплитуды порога в 1,6 раза по сравнению с контролем ($z = 2,04$; $P = 0,0412$), а также статистически достоверная неизменность амплитуды СГ. Оговоримся, что в последнем случае попарное сравнение данных показывает статистически значимые отличия ($z = 2,04$; $P = 0,0412$) для двух экспериментальных групп (1 и 100 ммоль/л).

Согласно классическим представлениям формирование потенциала действия обеспечивается двумя основными механизмами, связанными с изменением ионной проницаемости мембраны нейрона [12; 13]. Фаза деполяризации реализуется за счет увеличения натриевой проводимости, а фазы реполяризации и следовой гиперполяризации – за счет калиевой проводимости. Предварительно заметим, что различия электрических свойств R.Pe.D.1 и L.Pe.D.1, в том числе показателей спайка, были проанализированы ранее [14] и не являются предметом обсуждения в настоящей работе.

Таблица 1

Временные характеристики потенциалов действия нейронов R.Pe.D.1 и L.Pe.D.1 при действии пероксида водорода

Table 1

Time-course of action potentials of R.Pe.D.1 and L.Pe.D.1 neurons under the hydrogen peroxide impact

Исследованный нейрон и экспериментальная серия	Длительность фаз потенциала действия, мс		
	Деполаризация	Реполаризация	Следовая гиперполяризация
Нейрон R.Pe.D.1			
Контроль ($n = 15$)	6,5 (6; 8)	9,0 (7,5; 9,5)	141 (125; 156)
H ₂ O ₂ , 1 ммоль/л ($n = 12$)	8,0 (6; 9)	9,0 (8; 20)	128 (110; 142)
H ₂ O ₂ , 100 ммоль/л ($n = 12$)	13,5 (9; 20)*	10,0 (9,5; 23,0)*	163 (101; 200)
Статистика (Friedman ANOVA)	$\chi^2 = 6,08$ $P < 0,0484$	$\chi^2 = 5,89$ $P < 0,0527$	$\chi^2 = 0,40$ $P < 0,8187$
Нейрон L.Pe.D.1			
Контроль ($n = 9$)	11 (9,5; 13,5)	28,5 (27,5; 32)	143 (126; 153)
H ₂ O ₂ , 1 ммоль/л ($n = 9$)	14,5 (10,5; 35,5)	26,5 (25,5; 40)	189 (176; 330)
H ₂ O ₂ , 100 ммоль/л ($n = 6$)	23 (13,5; 30)*, #	33,5 (25; 43)	168 (126; 215)
Статистика (Friedman ANOVA)	$\chi^2 = 10,18$ $P < 0,0062$	$\chi^2 = 5,48$ $P < 0,0646$	$\chi^2 = 0,33$ $P < 0,8465$

Примечание. Здесь и в табл. 2: * – различия достоверны по сравнению с контролем ($P < 0,05$); # – различия достоверны по сравнению с действием H₂O₂ в концентрации 1 ммоль/л ($P < 0,05$).

Таблица 2

Амплитудные характеристики потенциалов действия нейронов R.Pe.D.1 и L.Pe.D.1 при действии пероксида водорода

Table 2

Amplitude characteristics of action potentials of R.Pe.D.1 and L.Pe.D.1 neurons under the hydrogen peroxide impact

Исследованный нейрон и экспериментальная серия	Амплитуда фаз потенциала действия, мВ		
	Общая	Порог	Следовая гиперполяризация
Нейрон R.Pe.D.1			
Контроль ($n = 15$)	58 (48; 72)	6 (5; 14)	12 (10; 15)
H ₂ O ₂ , 1 ммоль/л ($n = 12$)	62 (41; 83)	5 (4; 6)	13 (7; 17)
H ₂ O ₂ , 100 ммоль/л ($n = 12$)	36 (27; 54)*, #	3 (2; 4)*, #	8 (3; 11)*, #
Статистика (Friedman ANOVA)	$\chi^2 = 8,22$ $P < 0,0164$	$\chi^2 = 8,63$ $P < 0,0134$	$\chi^2 = 14,11$ $P < 0,0009$
Нейрон L.Pe.D.1			
Контроль ($n = 9$)	68 (62; 75)	8 (2; 9)	12 (8; 12)
H ₂ O ₂ , 1 ммоль/л ($n = 9$)	64 (50; 95)	5 (3; 10)	11 (6; 25)
H ₂ O ₂ , 100 ммоль/л ($n = 6$)	61 (58; 63)*, #	5 (4; 6)*, #	12 (8; 15)
Статистика (Friedman ANOVA)	$\chi^2 = 9,01$ $P < 0,0111$	$\chi^2 = 8,45$ $P < 0,0146$	$\chi^2 = 3,74$ $P < 0,1545$

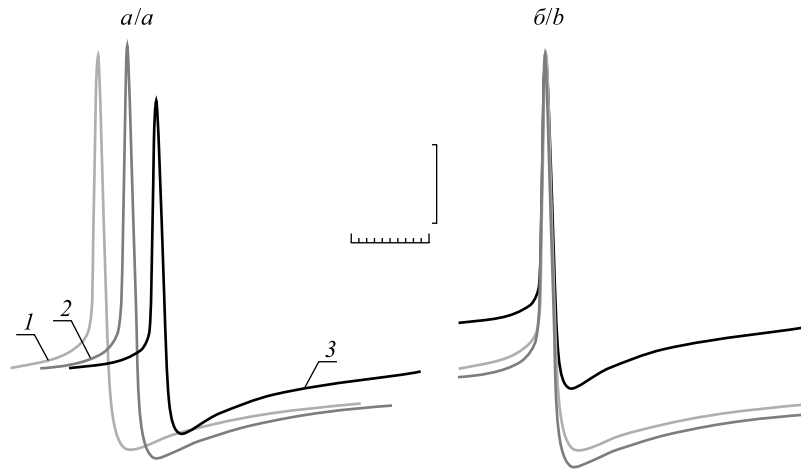


Рис. 1. Форма спайка R.Pe.D.1 при действии пероксида водорода.
Калибровка: по времени – 100 мс (большое деление), по амплитуде – 15 мВ.
Представлено изображение наложенных друг на друга потенциалов действия
одного и того же нейрона в разных условиях нахождения препарата ЦНС:
1 – контроль, 2 – пероксид водорода (1 ммоль/л), 3 – пероксид водорода (100 ммоль/л);
а – наложение со смещением вправо для иллюстрации изменений
амплитудных характеристик спайка, б – наложение с совмещением пикового значения,
отражающее изменение временных характеристик потенциала действия

Fig. 1. R.Pe.D.1 spike shape under the hydrogen peroxide impact.
Calibration: time – 100 ms (large scale), amplitude – 15 mV. Overlapping images of action
potentials presented (same neuron in different experimental conditions for isolated CNS):
1 – control, 2 – hydrogen peroxide (1 mmol/l), 3 – hydrogen peroxide (100 mmol/l);
а – overlapping with right shift, illustrating spike amplitude changes,
б – overlapping with peak value superposition, illustrating spike time-course changes

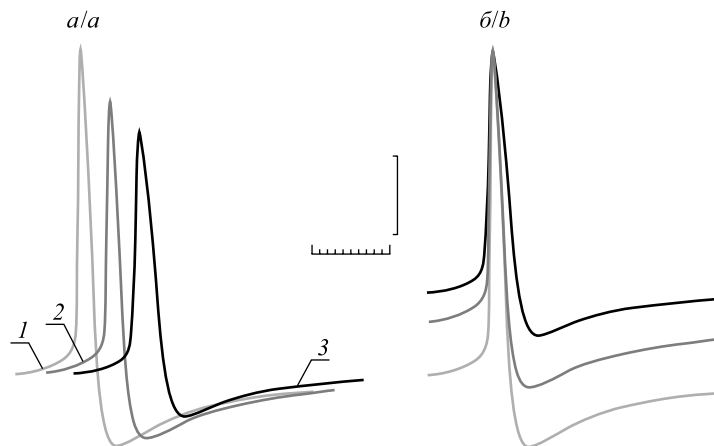


Рис. 2. Форма спайка L.Pe.D.1 при действии пероксида водорода.
То же, что и на рис. 1

Fig. 2. L.Pe.D.1 spike shape under the hydrogen peroxide impact.
The same as for fig. 1

Полученные нами данные позволяют сделать вывод об относительной устойчивости белков ионных каналов мембраны R.Pe.D.1 и L.Pe.D.1 к действию АФК в физиологическом диапазоне концентраций, не превышающих уровень 1 ммоль/л. С другой стороны, дальнейшее возрастание концентрации пероксида водорода в неравной степени сказывается на Na^+ - и K^+ -проводимости в исследованных клетках. Справедливо будет утверждать, что в отношении R.Pe.D.1 речь идет о модификации свойств как Na^+ -, так и K^+ -каналов плазмалеммы, поскольку изменению были подвержены длительность фазы деполяризации, амплитуды спайка и порога (обусловлены потоком ионов Na), а также длительность фазы реполяризации и амплитуда следовой гиперполяризации, реализация которых связана с перемещением ионов K . Известно, что в мембране R.Pe.D.1 насчитывается несколько типов калиевых каналов [15], а ее натриевая проницаемость связана с активацией неселективных Na^+ -каналов утечки [16].

Ранее отмечалось, что именно окислительная модификация *N*-концевого участка K^+ -канала типа Shaker (Sh) у *Drosophila* определяет потенциал-чувствительность и кинетику открытия/закрытия канала [17], и сообщалось о модуляции свойств АТФ-чувствительных K^+ -каналов мышей при экзогенной аппликации пероксида водорода [18].

Для L.Pe.D.1 стоит указать на относительно бóльшую устойчивость его K^+ -проницаемости по сравнению с таковой для R.Pe.D.1 в условиях кратковременного действия сверхвысоких доз пероксида водорода. В пользу этого говорят данные статистического анализа о неизменной длительности фазы реполяризации. Нельзя исключить, что в развитие потенциала действия в L.Pe.D.1 определен вклад вносит и Ca^{2+} -компонента, чувствительность которой к уровню АФК хорошо известна [19].

Отмеченная сохранность базовых электрических характеристик ключевых нейронов ЦНС *Lymnaea stagnalis* в условиях резкого возрастания уровня АФК в межклеточном пространстве может иметь приспособительное значение. В частности, у прудовика одним из источников свободнорадикальных форм кислорода в организме является НАДФН-оксидаза гемоцитов [20], генерирующая супероксид-анион (инициирующее последующее образование пероксида водорода, и гидроксильного радикала) как средство иммунного ответа на действие различных чужеродных агентов, с которыми моллюск сталкивается практически постоянно. Очевидно, что в этом случае сохранность и легочного дыхания (R.Pe.D.1), и локомоторной активности (L.Pe.D.1) крайне значима для выживания особи.

Таким образом, неодинаковая чувствительность молекулярных механизмов, лежащих в основе генерации потенциала действия в идентифицированных нейронах ЦНС *Lymnaea stagnalis*, составляет неотъемлемую характеристику функциональной специфичности клеток. Высокая степень сохранности механизмов электрогенеза при действии пероксида водорода способствует оптимальному функционированию нервных центров моллюска при кратковременном нарушении редокс-равновесия в мозге.

Библиографические ссылки

1. Holmström K. M., Finkel T. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signaling // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2014. Vol. 6. P. 411–421. DOI: 10.1038/nrm3801.
2. Syková E., Nicholson C. Diffusion in brain extracellular space // Physiol. Rev. 2008. Vol. 88, issue 4. P. 1277–1340. DOI: 10.1152/physrev.00027.2007.
3. Chen B. T., Avshalumov M. V., Rice M. E. H_2O_2 is a novel, endogenous modulator of synaptic dopamine release // J. Neurophysiol. 2001. Vol. 85, issue 6. P. 2468–2476. DOI: 10.1152/jn.2001.85.6.2468.
4. Winlow W., Haydon P. G., Benjamin P. R. Multiple postsynaptic actions of the giant dopamine-containing neuron R.Pe.D.1 of *Lymnaea stagnalis* // J. Exp. Biol. 1981. Vol. 94. P. 137–148.
5. Winlow W., Haydon P. G. A behavioral and neuronal analysis of the locomotory system of *Lymnaea stagnalis* // Comp. Biochem. Physiol. 1986. Vol. 83A. P. 13–21.
6. Сидоров А. В. Функциональная активность нервных центров беспозвоночных. Минск : БГУ, 2011.
7. Syed N. I., Bulloch A. G. M., Lukowiak K. *In vitro* reconstruction of the respiratory central pattern generator of the mollusk *Lymnaea* // Science. 1990. Vol. 250. P. 282–285.
8. Цыганов В. В. Координация активности моноаминергических педальных нейронов у пресноводных улиток // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 2000. Т. 86. С. 369–378.
9. Сидоров А. В. Влияние пероксида водорода на электрическую активность нейронов локомоторной сети моллюска *Lymnaea stagnalis* // Новости мед.-биол. наук. 2009. № 1/2. С. 25–30.
10. Солтанов В. В., Бурко В. Е. Компьютерные программы обработки электрофизиологических данных // Новости мед.-биол. наук. 2005. № 1. С. 90–95.
11. Glantz S. A. Primer of Biostatistics. New York : McGraw-Hill, 1994.
12. Hille B. Ionic channels of excitable membranes. Sunderland ; Massachusetts : Sinauer Associates, 1992.
13. Kandel E. R. Cellular Basis of Behaviour. San Francisco : WH Freeman and Company, 1976.
14. Шахрани М., Сидоров А. В. Сравнительная характеристика электрофизиологических показателей идентифицированных дофаминергических (R.Pe.D.1) и серотонинергических (L.Pe.D.1) нейронов центральной нервной системы моллюска *Lymnaea stagnalis* // Журн. Белорус. гос. ун-та. Биология. 2017. № 3. С. 3–9.
15. Sakakibara M., Okuda F., Nomura K., et al. Potassium currents in isolated statocyst neurons and RPeD1 in the pond snail, *Lymnaea stagnalis* // J. Neurophysiol. 2005. Vol. 94, issue 6. P. 3884–3892. DOI: 10.1152/jn.01163.2004.
16. Lu T. Z., Sun C. L. F., Dong N., et al. High sensitivity of spontaneous spike frequency to sodium leak current in a *Lymnaea* pacemaker neuron // Eur. J. Neurosci. 2016. Vol. 44, issue 12. P. 3011–3022. DOI: 10.1111/ejn.13426.
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. Vol. 22, issue 2. P. 1–13. DOI: 10.1080/01677060701807954.
18. Avshalumov M. V., Chen B. T., Koós T., et al. Endogenous hydrogen peroxide regulates the excitability of midbrain dopamine neurons via ATP-sensitive potassium channels // J. Neurosci. 2005. Vol. 25, issue 17. P. 4222–4231. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4701-04.2005.
19. Bogeski I., Kappl R., Kummerow C., et al. Redox regulation of calcium ion channels: chemical and physiological aspects // Cell Calcium. 2011. Vol. 50, issue 5. P. 407–423. DOI: 10.1016/j.ceca.2011.07.006.
20. Dikkeboom R., Tijnagel J. M., Mulder E. C., et al. Hemocytes of the pond snail *Lymnaea stagnalis* generate reactive forms of oxygen // J. Invertebr. Pathol. 1987. Vol. 49. P. 321–331.

References

1. Holmström K. M., Finkel T. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signaling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2014. Vol. 6. P. 411–421. DOI: 10.1038/nrm3801.
2. Syková E., Nicholson C. Diffusion in brain extracellular space. *Physiol. Rev.* 2008. Vol. 88, issue 4. P. 1277–1340. DOI: 10.1152/physrev.00027.2007.
3. Chen B. T., Avshalumov M. V., Rice M. E. H₂O₂ is a novel, endogenous modulator of synaptic dopamine release. *J. Neurophysiol.* 2001. Vol. 85, issue 6. P. 2468–2476. DOI: 10.1152/jn.2001.85.6.2468.
4. Winlow W., Haydon P. G., Benjamin P. R. Multiple postsynaptic actions of the giant dopamine-containing neuron R.Pe.D.1 of *Lymnaea stagnalis*. *J. Exp. Biol.* 1981. Vol. 94. P. 137–148.
5. Winlow W., Haydon P. G. A behavioral and neuronal analysis of the locomotory system of *Lymnaea stagnalis*. *Comp. Biochem. Physiol.* 1986. Vol. 83A. P. 13–21.
6. Sidorov A. V. [Nerve centers functional activity in invertebrates]. Minsk : BSU, 2011 (in Russ.).
7. Syed N. I., Bulloch A. G. M., Lukowiak K. *In vitro* reconstruction of the respiratory central pattern generator of the mollusk *Lymnaea*. *Science*. 1990. Vol. 250. P. 282–285.
8. Tsyganov V. V. Coordination of the activity of monoaminergic pedal neurons in fresh water snails. *Ross. Fiziol. Zh. im. I. M. Sechenova* [Neurosci. Behav. Physiol.]. 2000. Vol. 86. P. 369–378 (in Russ.).
9. Sidorov A. V. Effect of hydrogen peroxide on electrical activity of locomotory network neurons within mollusk *Lymnaea stagnalis*. *News Biomed. Sci.* 2009. No. 1/2. P. 25–30 (in Russ.).
10. Soltanov V. V., Burko V. E. The software for processing of electrophysiological data. *News Biomed. Sci.* 2005. No. 1. P. 90–95 (in Russ.).
11. Glantz S. A. Primer of Biostatistics. New York : McGraw-Hill, 1994.
12. Hille B. Ionic channels of excitable membranes. Sunderland ; Massachusetts : Sinauer Associates, 1992.
13. Kandel E. R. Cellular Basis of Behaviour. San Francisco : WH Freeman and Company, 1976.
14. Shahrani M., Sidorov A. V. Comparative study of electrophysiological characteristics of identified dopamine-containing (R.Pe.D.1) and serotonin-containing (L.Pe.D.1) neurons within CNS of mollusc *Lymnaea stagnalis*. *J. Belarus. State Univ. Biol.* 2017. No. 3. P. 3–9 (in Russ.).
15. Sakakibara M., Okuda F., Nomura K., et al. Potassium currents in isolated statocyst neurons and RPeD1 in the pond snail, *Lymnaea stagnalis*. *J. Neurophysiol.* 2005. Vol. 94, issue 6. P. 3884–3892. DOI: 10.1152/jn.01163.2004.
16. Lu T. Z., Sun C. L. F., Dong N., et al. High sensitivity of spontaneous spike frequency to sodium leak current in a *Lymnaea* pacemaker neuron. *Eur. J. Neurosci.* 2016. Vol. 44, issue 12. P. 3011–3022. DOI: 10.1111/ejn.13426.
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. Vol. 22, issue 2. P. 1–13. DOI: 10.1080/01677060701807954.
18. Avshalumov M. V., Chen B. T., Koos T., et al. Endogenous hydrogen peroxide regulates the excitability of midbrain dopamine neurons via ATP-sensitive potassium channels. *J. Neurosci.* 2005. Vol. 25, issue 17. P. 4222–4231. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4701-04.2005.
19. Bogeski I., Kappl R., Kummerow C., et al. Redox regulation of calcium ion channels: chemical and physiological aspects. *Cell Calcium*. 2011. Vol. 50, issue 5. P. 407–423. DOI: 10.1016/j.ceca.2011.07.006.
20. Dikkeboom R., Tijnagel J. M., Mulder E. C., et al. Hemocytes of the pond snail *Lymnaea stagnalis* generate reactive forms of oxygen. *J. Invertebr. Pathol.* 1987. Vol. 49. P. 321–331.

Статья поступила в редколлегию 16.12.2017.
Received by editorial board 16.12.2017.