

РЕАКЦИИ ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫХ КАРДИОРЕГУЛЯТОРНЫХ НЕЙРОНОВ ЦНС МОЛЛЮСКА *LYMNAEA STAGNALIS* В УСЛОВИЯХ ГИПЕРГЛИКЕМИИ И ПРИ ДЕЙСТВИИ ИНСУЛИНА

А. В. СИДОРОВ¹⁾, В. Н. ШАДЕНКО²⁾, В. Б. КАЗАКЕВИЧ¹⁾

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

²⁾Республиканский научно-практический центр психического здоровья,
Долгиновский тракт, 152, 220053, г. Минск, Беларусь

Возрастание содержания глюкозы в гемолимфе (с 0,09 (0,08; 0,10) до 0,54 (0,44; 0,69) ммоль/л), а также внутриполостная инъекция инсулина (0,05 МЕ/г) приводят к 10–20-процентному увеличению частоты сердечных сокращений по сравнению с контрольной группой. В отношении идентифицированных пептидургических нейронов V.D.1 и R.Pa.D.2 установлено разнонаправленное влияние глюкозы (10 ммоль/л) и инсулина (0,2 МЕ) – возрастание (в 1,6 раза) и снижение (в 2,3 раза) частоты их импульсации соответственно. Действие указанных веществ инициирует появление синаптических входов на мембране нейрона R.Pa.D.1, свидетельствующих об активации кардиорегуляторного ритма в центральных нервных ганглиях *Lymnaea*. Предполагается, что колебания уровня глюкозы вовлечены в процессы нейрогенной кардиорегуляции у моллюсков.

Ключевые слова: электрическая активность; сердце; глюкоза; инсулин.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект № Б07К-041) и в рамках государственной программы научных исследований «Конвергенция-2020» (задание 3.10.2).

Образец цитирования:

Сидоров АВ, Шаденко ВН, Казакевич ВБ. Реакции идентифицированных кардиорегуляторных нейронов ЦНС моллюска *Lymnaea stagnalis* в условиях гипергликемии и при действии инсулина. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2019;3:49–58.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2019-3-49-58>

For citation:

Sidorov AV, Shadenko VN, Kazakevich VB. Responses of identified cardioregulatory neurons within CNS of mollusc *Lymnaea stagnalis* at hyperglycemia and insulin action. *Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2019;3:49–58. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2019-3-49-58>

Авторы:

Александр Викторович Сидоров – доктор биологических наук, профессор; профессор кафедры физиологии человека и животных биологического факультета.
Виктория Николаевна Шаденко – научный сотрудник лаборатории клинко-эпидемиологических исследований.
Виктор Бернардович Казакевич – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры физиологии человека и животных биологического факультета.

Authors:

Alexander V. Sidorov, doctor of science (biology), full professor; professor at the department of human and animal physiology, faculty of biology.
sidorov@bsu.by
Victoria N. Shadenko, researcher at the laboratory of clinical and epidemiological research.
vika-st-18@list.ru
Victor B. Kazakevich, PhD (biology), docent; associate professor at the department of human and animal physiology, faculty of biology.
kazakevichvb@bsu.by

RESPONCES OF IDENTIFIED CARDIOREGULATORY NEURONS WITHIN CNS OF MOLLUSC *LYMNAEA STAGNALIS* AT HYPERGLYCEMIA AND INSULIN ACTION

A. V. SIDOROV^a, V. N. SHADENKO^b, V. B. KAZAKEVICH^a

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

^bRepublican Research and Practice Center for Mental Health,
152 Daŭhinaŭski Tract, Minsk 220053, Belarus

Corresponding author: A. V. Sidorov (sidorov@bsu.by)

Increase in haemolymph glucose level (from 0,09 (0,08; 0,10) to 0,54 (0,44; 0,69) mmol/L) and intracavitary injection of insulin (0,05 IU/g) results in 10–20 % growth of heart rate in comparison with control group. Multidirectional effects of glucose (10 mmol/L) and insulin (0,2 IU) – 1,6-time increase and 2,3-time decrease of firing rate respectively, were observed in identified peptide-containing neurons V.D.1 and R.Pa.D.2. Both these substances initiate the appearance of synaptic inputs on the membrane of the R.Pa.D.1 neuron, being the evidence of the central cardioregulatory rhythm activation within CNS of *Lymnaea*. It is assumed that shifts of glucose level are involved in neuronal cardioregulation in molluscs.

Keywords: electrical activity; heart; glucose; insulin.

Acknowledgements. This research has been financially supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (project No. B07K-41) and also by State Program for Scientific Research «Convergence-2020» (task 3.10.2).

Введение

Пептидергический контроль играет важную роль в регуляции работы висцеральных систем у позвоночных и беспозвоночных [1]. Известно о существовании более 100 физиологически активных пептидов, число которых продолжает увеличиваться, а многие, будучи изначально идентифицированными на периферии, обладают выраженным нейротропным действием, т. е. относятся к нейропептидам. Одним из них является инсулин, действие которого опосредуется активацией специфических рецепторов тирозинкиназного типа, что предполагает широкую диверсификацию такого сигнала на внутриклеточном уровне, а следовательно, и самые различные проявления его (инсулина) эффектов [2]. Поскольку выброс инсулина происходит при изменении глюкозного гомеостаза, возрастание уровня глюкозы во внутренней среде можно рассматривать в качестве пускового сигнала модификации комплекса физиологических функций, в том числе и на нейронном уровне.

В центральных нервных ганглиях (т. е. в ЦНС) пресноводного моллюска *Lymnaea stagnalis* ряд крупных пептидсодержащих клеток (нейроны R.Pa.D.1 и клетки пары V.D.1 и R.Pa.D.2) вовлечены в регуляцию сердечной деятельности [3]. Ее активность, определяющая формирование гидроскелета и, следовательно, работы всей мышечной системы, является одной из причин установления нового физиологического статуса организма (включая степень выраженности оборонительного, локомоторного и дыхательного поведения), в том числе и в зависимости от степени активации пищедобычи [4], т. е. при модификации уровня глюкозы в гемолимфе [5].

Тем не менее механизмы нейрогенной регуляции и модуляции работы сердца, опосредующие реализацию сердечных рефлексов, остаются относительно неполно исследованными, особенно в сравнительно-физиологическом аспекте. В этой связи цель данной работы – изучить быстрые нейротропные эффекты инсулина и высоких концентраций глюкозы на электрические характеристики ряда нейронов кардиореспираторной сети *Lymnaea stagnalis*.

Материалы и методы исследования

В работе использовали моллюсков (*Lymnaea stagnalis*) лабораторного разведения, обладающих слабопигментированной раковиной. Их содержали в аквариумах (на каждую особь приходилось не менее 1 л воды) при температуре 20 ± 1 °C. Смену воды проводили каждую неделю. Пищей служили листья салата (питание *ad libitum*). Опыты проводились на животных одинакового размерного класса с высотой раковины от 2,5 до 3 см и массой $1,0 \pm 0,2$ г.

Электрофизиологические исследования. Эксперименты были выполнены на препаратах изолированной ЦНС. Нейроны R.Pa.D.1 и клетки пары V.D.1 и R.Pa.D.2 идентифицировали по расположению

в пределах ЦНС, размеру и окраске сомы. Для размягчения периневральной оболочки и облегчения 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. Препараты ЦНС помещали в нормальный физиологический раствор состава (концентрация указана в миллимолях): NaCl – 44,0; KCl – 1,7; CaCl₂ – 4,0; MgCl₂ · 6H₂O – 1,5; HEPES – 10,0; pH 7,5 ± 0,03. Внутриклеточную регистрацию электрических параметров нейронов осуществляли с помощью Ag/AgCl-электродов и микроэлектродного усилителя MC-01M (ООО «Линтех», Беларусь). Микропипетки заполняли 2,5-молярным раствором KCl (сопротивление микроэлектрода составляло 10–20 МОм). В качестве индифферентного электрода использовали хлорированную серебряную проволоку. Частотные характеристики спонтанной импульсной активности определяли для последовательных 30-секундных участков нейронограммы общей длительностью 6 мин, записанные с шагом квантования 5 мс и обработанные при помощи специальной программы электронного осциллографа *InputWin* [6] или записанные на ленте чернильного самописца.

Исследование сердечной деятельности, использованные вещества и их аппликация. Моллюсков помещали в освещенную чашку Петри, что позволяло рассмотреть механическую работу внутренних органов через слабопигментированную раковину, и при помощи бинокулярной лупы (×10) визуально наблюдали за работой сердца, подсчитывая число сокращений.

Для создания гипергликемии моллюсков опытной группы помещали в высококонцентрированный (100 ммоль/л) раствор глюкозы на 2 ч, а животные контрольной группы в это время находились в равновеликих по объему аквариумах с «чистой» (отстоявшейся водопроводной) водой [7]. Оценка частоты сердечных сокращений (ЧСС) проводили сразу после окончания инкубации, а затем умеренной тактильной стимуляцией подошвы ноги моллюска вызывали реакцию полного втягивания тела в раковину, инициируя выброс части гемолимфы для последующего определения концентрации глюкозы глюкозо-оксидазным методом (набор реагентов «Анализ Х», Беларусь). Оптическую плотность измеряли при длине волны 520 нм (длина оптического пути 1 см) и температуре 20 °С посредством спектрофотометра Cary 50 (*Variant Inc.*, Австралия). Объем материала для анализа составил 100 мкл, инкубация с реагентом (1 мл) длилась 30 мин. В качестве стандарта использовали 100 мкл свежеприготовленного 1 ммоль/л раствора глюкозы.

Инъекцию инсулина (свиной, высокоочищенный; РУП «Белмедпрепараты», Беларусь) в дозе 0,05 МЕ/г массы тела (расчетная конечная концентрация $7,028 \cdot 10^{-7}$ моль/л) проводили в полость цефалопедального синуса моллюсков при помощи инсулинового шприца в объеме 50 мкл. Контрольная группа получала инъекцию равновеликого по объему нормального физиологического раствора. Оценка ЧСС проводили через 10 мин после указанной процедуры. Аппликацию инсулина осуществляли на поверхность ЦНС в конечных концентрациях 0,02 МЕ (расчетная концентрация $7,028 \cdot 10^{-7}$ моль/л) и 0,2 МЕ (расчетная концентрация $7,028 \cdot 10^{-6}$ моль/л), аппликацию глюкозы – в концентрациях 1 и 10 ммоль/л после предварительной контрольной 2-минутной регистрации электрической активности. Оценка изменений частоты импульсации нейронов проводили в течение первых 30 с, на 2-й и 4-й минутах после нанесения веществ.

Статистическая обработка. Экспериментальные данные обрабатывали общепринятыми методами медико-биологической статистики [8]. Нормальность распределения для каждого ряда данных предварительно оценивали при помощи *W*-теста Шапиро – Уилка. В случае подтверждения нормальности распределения сравниваемых показателей (оценка ЧСС) использовали параметрические методы оценки (*t*-критерий Стьюдента для независимых пар). Если нормальность распределения показателей не была подтверждена для всех без исключения групп данных (импульсация нервных клеток, уровень глюкозы в гемолимфе), использовали непараметрические методы: ранговый дисперсионный анализ (*Friedman*_{ANOVA}), множественное (критерий Уилкоксона, *z*) и попарное (*U*-критерий Манна – Уитни, *z*) сравнение для зависимых и независимых выборок соответственно. В случае нормального распределения данные представлялись в виде «среднее ± ошибка среднего», а при его непараметрическом характере – как медиана (25-й процентиль; 75-й процентиль). Число наблюдений *n* указано для каждого массива данных отдельно. Данные обрабатывали посредством программы *Statistica 6.0*. Достоверными считались результаты при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение

Инкубация животных в высококонцентрированном растворе глюкозы вызывает умеренное (в 1,1 раза), но статистически значимое возрастание ЧСС у моллюсков опытной группы по сравнению

с контрольной (рис. 1, а), что ассоциируется с многократным (в 6 раз) увеличением концентрации глюкозы в их гемолимфе – с 0,09 (0,08; 0,10) до 0,54 (0,44; 0,69) ммоль/л соответственно ($z = 3,75$; $p = 0,0002$, критерий Манна – Уитни). Инъекция инсулина приводит к схожим по направленности изменениям ЧСС – к 1,2-кратному статистически достоверному ее возрастанию по сравнению с контролем (рис. 1, б).

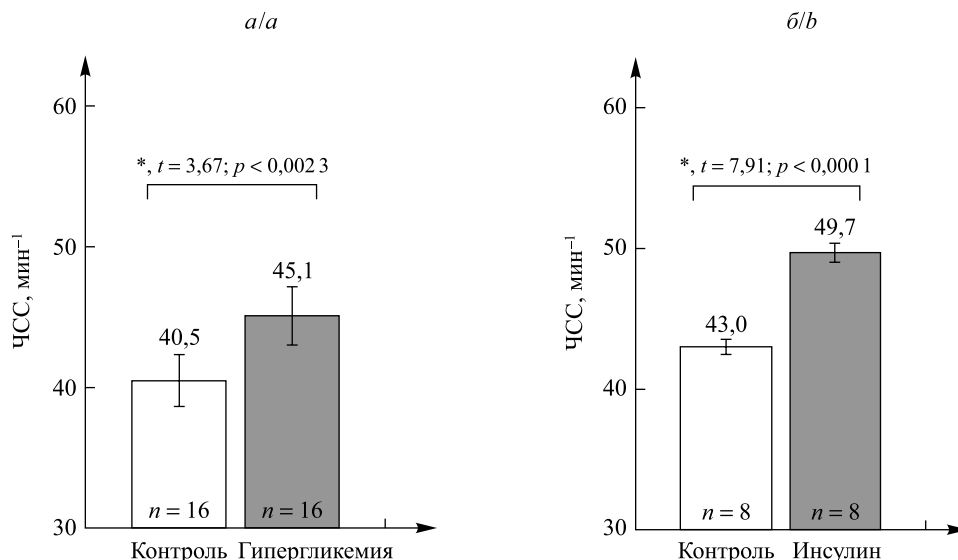


Рис. 1. Частота сердечных сокращений *Lymnaea stagnalis* в условиях экспериментальной гипергликемии (а) и после введения инсулина (б). Представлены среднее значение показателя (числа над столбиками) и ошибка среднего (планки погрешностей). Квадратная скобка и астериск отмечают статистически достоверные пары сравнения, для которых даны значения t -критерия Стьюдента и соответствующего ему уровня значимости p

Fig. 1. Heart rate of *Lymnaea stagnalis* at conditions of experimental hyperglycemia (a) and after insulin injection (b). Experimental meaning – numbers above the columns (mean) and error bars (mean error). Bracket and asterisk – significant for the experimental groups. Student's t -test meaning and corresponding significance level (p) are presented

Нейротропные влияния были отмечены как для глюкозы, так и для растворов инсулина. В ходе первичных экспериментов было установлено, что приложение рассматриваемых веществ в концентрации 1 ммоль/л (глюкоза) и 0,02 МЕ (инсулин) не вызывает видимых быстрых (непосредственно сразу и(или) в течение нескольких последующих после аппликации минут) изменений характеристик электрической активности нейронов пары V.D.1 и R.Pa.D.2 ($n = 4$ для каждой клетки) и клетки R.Pa.D.1 ($n = 4$). Десятикратное увеличение действующих концентраций глюкозы и инсулина влечет незамедлительную реакцию со стороны исследованных клеток.

В отношении пары V.D.1 и R.Pa.D.2 добавление глюкозы приводит к быстрому (уже в течение 30 с после аппликации) 1,6-кратному статистически значимому ($z = 2,02$; $p = 0,0431$) увеличению частоты импульсации, происходящей на фоне прогрессирующей умеренной деполяризации (на 5–10 мВ) мембраны клеток. Наблюдаемые различия имели статистическую достоверность и в последующие периоды наблюдения – на 2-й и 4-й минутах ($z = 2,52$; $p = 0,0117$ для обеих групп данных) – по-прежнему сохраняли повышенные по сравнению с контролем значения (рис. 2, а, и рис. 3).

Аппликация инсулина на поверхность центральных ганглиев вызывала эффекты противоположной направленности в отношении частотных характеристик нейронов V.D.1 и R.Pa.D.2. В частности, согласно данным дисперсионного анализа, речь идет о прогрессивном снижении частоты генерации потенциалов действия, отмечаемом на фоне быстрой деполяризации мембран, которая наблюдалась уже в течение первых 30 с после добавления препарата (на $5,2 \pm 1,8$ мВ) и достигала в последующем $11,0 \pm 3,1$ мВ. Статистически значимые изменения частоты отмечены на 2-й и 4-й минутах наблюдения ($z = 2,38$; $p = 0,0173$ и $z = 1,99$; $p = 0,0464$ соответственно), когда спайковая активность снижалась более чем в 2 раза по сравнению с исходной (контрольной) величиной (рис. 2, б, и рис. 3).

В двух из девяти препаратов было зарегистрировано полное прекращение импульсации V.D.1 и R.Pa.D.2, хотя отмывание препарата ЦНС нормальным физиологическим раствором приводило к частичному восстановлению исходной спайковой активности (рис. 4).

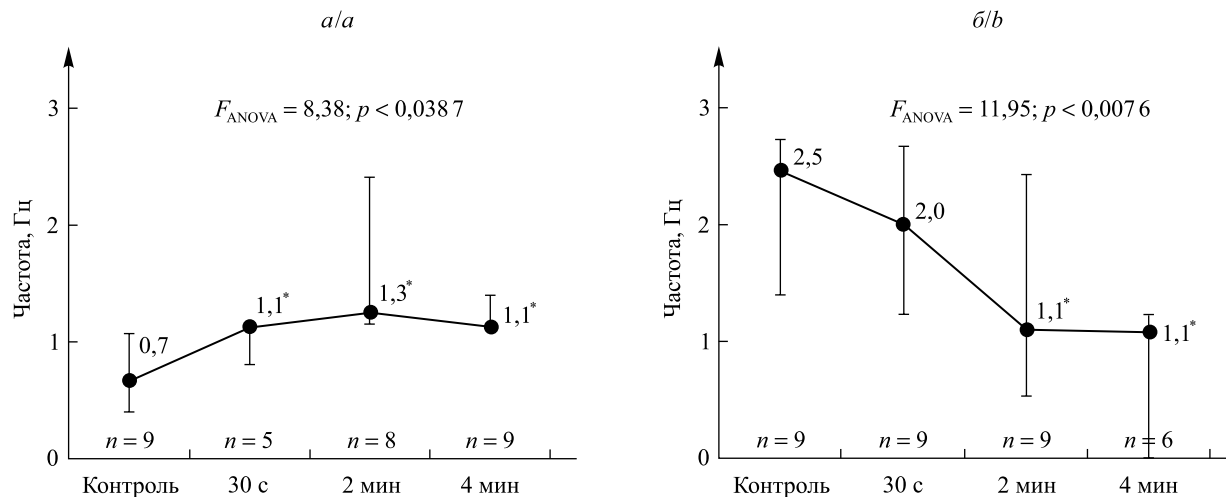


Рис. 2. Частота генерации потенциалов действия парой электрически связанных нейронов V.D.1 и R.Pa.D.2 нервной системы *Lymnaea stagnalis* при действии глюкозы (а) и инсулина (б).

Представлены медиана показателя (числа рядом с точками графика) и интерквартильный размах (планки погрешностей).

Астериск указывает на статистически значимые ($p < 0,05$) массивы данных по сравнению с контролем (парный критерий Уилкоксона).

Приведено число наблюдений (n) для каждого временного периода, значение критерия Фридмана (F_{ANOVA}) и соответствующего ему уровня значимости (p)

Fig. 2. Action potentials frequency in electrically coupled neurons V.D.1 and R.Pa.D.2 within CNS of *Lymnaea stagnalis* in response to glucose (a) or insulin (b) bath application.

Experimental meaning – numbers near dots (median) and error bars (lower and upper quartiles). Asterisk is significant ($p < 0,05$) for the data in comparison with control (Wilcoxon matched pairs test).

Number of observations (n) for each period of time, the Friedman ANOVA by ranks test (F_{ANOVA}) and the corresponding significance level (p) are presented

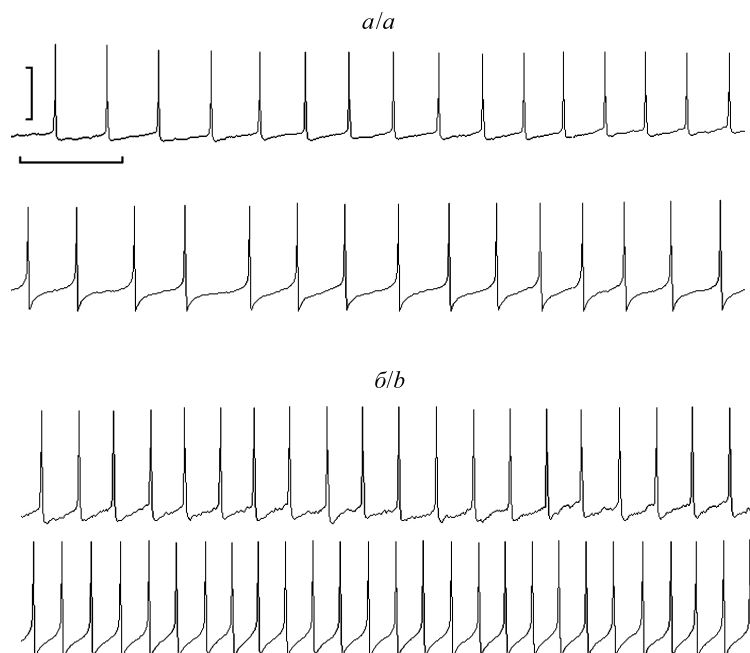


Рис. 3. Электрическая активность нейронов R.Pa.D.1 и R.Pa.D.2 в условиях действия глюкозы: а – контроль; б (продолжение регистрации) – на 4-й минуте после аппликации глюкозы (10 ммоль/л). Одновременная регистрация R.Pa.D.1 (верхняя линия записи) и R.Pa.D.2 (нижняя линия записи).

Калибровка: 2,5 с (по времени), 50 мВ (по амплитуде)

Fig. 3. Electrical activity of R.Pa.D.1 and R.Pa.D.2 after glucose bath application: а – control conditions; б (continuous registration) – on the 4th minute after glucose application. Simultaneous recording: R.Pa.D.1 – top trace, R.Pa.D.2 – bottom trace.

Calibration: 2.5 s (time), 50 mV (amplitude)

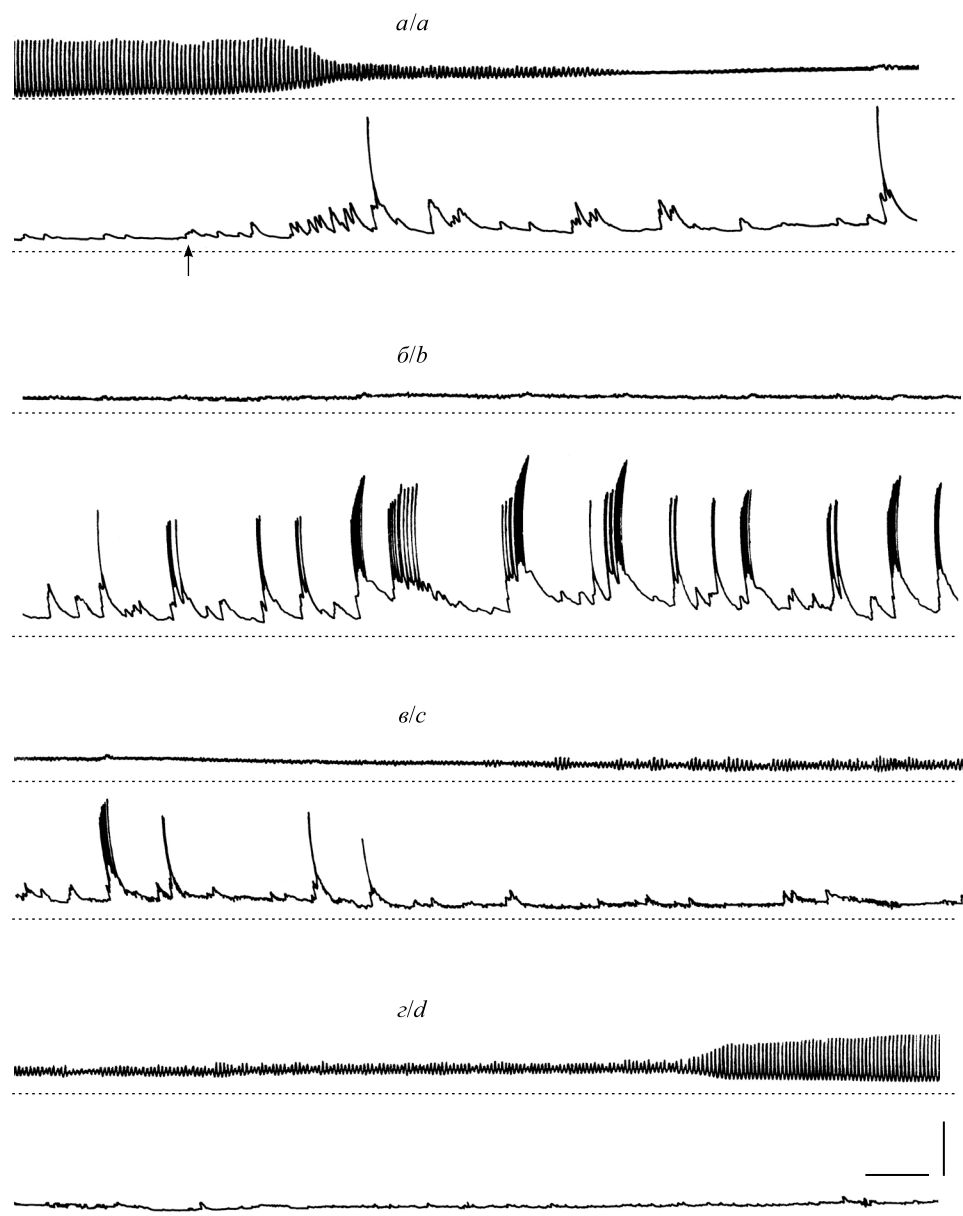


Рис. 4. Влияние инсулина на спонтанную электрическую активность (а–г) нейронов V.D.1 и R.Pa.D.1. Одновременная регистрация V.D.1 (верхняя линия записи) и R.Pa.D.1 (нижняя линия записи). Момент аппликации инсулина отмечен стрелкой. Части в и г – через 5 мин после начала отмывки препарата. Пунктирная линия приведена для наглядности изменения уровня мембранного потенциала. Калибровка: 5,5 с (по времени), 70 мВ (по амплитуде)

Fig. 4. Insulin action on spontaneous electrical activity (a–d) of the V.D.1 and R.Pa.D.1 neurons. Simultaneous recording: V.D.1 – top trace, R.Pa.D.1 – bottom trace. Insulin application is marked by an arrow. Parts c and d – 5 min after washing. Dashed line is presented for visualization of membrane potential level changes. Calibration: 5.5 s (time), 70 mV (amplitude)

В случаях с нейроном R.Pa.D.1 при наличии у данной клетки исходной спонтанной электрической активности (ситуация, характерная для половины исследованных препаратов ЦНС) аппликации глюкозы или инсулина не приводили к статистически значимому, согласно данным дисперсионного анализа, изменению частоты импульсации или мембранного потенциала R.Pa.D.1 (рис. 5). Тем не менее нанесение указанных веществ ассоциируется с появлением регистрируемых на мембране этой клетки внешних синаптических входов (притоков), что сопровождалось генерацией серии импульсов в случае исходно молчащих структур (добавление инсулина, см. рис. 4) на фоне умеренной (около 5 мВ) деполяризации клетки (нейрон переходит на фазовый режим электрической активности).

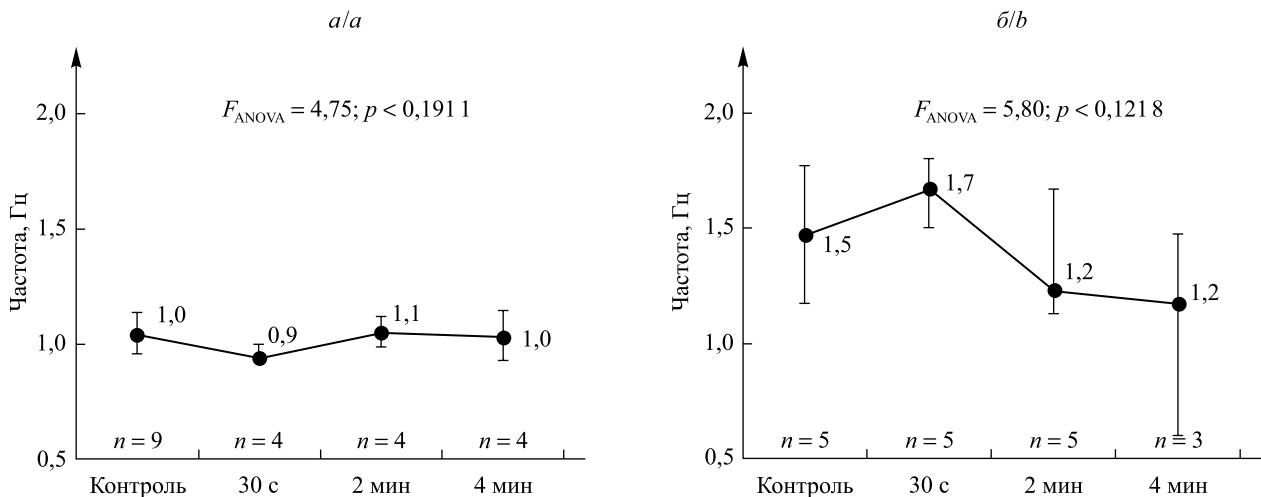


Рис. 5. Частота генерации потенциалов действия нейроном R.Па.D.1 нервной системы *Lymnaea stagnalis* при действии глюкозы (а) и инсулина (б). Представлены медиана показателя (числа рядом с точками графика) и интерквартильный размах (планки погрешностей). Приведены число наблюдений (*n*) для каждого временного периода, значения критерия Фридмана (F_{ANOVA}) и соответствующего ему уровня значимости (*p*)

Fig. 5. Action potentials frequency in neuron R.Pa.D.1 within CNS of *Lymnaea stagnalis* in response to glucose (a) or insulin (b) bath application.

Experimental meaning – numbers near dots (median) and error bars (lower and upper quartiles). Number of observations (*n*) for each period of time, the Friedman ANOVA by ranks test (F_{ANOVA}) and the corresponding significance level (*p*) are presented

При аппликации глюкозы указанный эффект отмечен и для спонтанно активных нейронов. Он сопровождается появлением высокоамплитудных спайков при суммации амплитуд синаптического потенциала и собственного потенциала действия друг с другом (рис. 6).

У легочных моллюсков сердце относится к камерному типу, состоит из предсердия и желудочка, обеспечивает продвижение крови по системе капилляров висцеральной массы и крыши мантийной полости (легкого), а также создание гидроскелета [9]. Несмотря на миогенную природу сердечной автоматии, координация ритмов предсердия и желудочка осуществляется также посредством нервных влияний. Кардиорегуляторные клетки найдены у целого ряда наземных легочных моллюсков: *Helix pomatia*, *Achatina fulica*, *Limax maximus*, *Lymnaea stagnalis* [3].

В нервной системе прудовика известные к настоящему времени «сердечные» нейроны сосредоточены в пределах правого париетального и висцерального ганглиев [9]. Для R.Па.D.1 отмечена синхронизация пачек его потенциалов действия с систолой сердца, а отдельные спайки и(или) постсинаптические потенциалы синхронизованы с отдельными постсинаптическими потенциалами в сердце, однако прямая стимуляция данного нейрона не влияет на работу сердца. Это указывает на взаимосвязь R.Па.D.1 с истинным эндогенным нейронным генератором в ЦНС *Lymnaea*, активация которого приводит к навязыванию ритма сердечных сокращений [9; 10]. С этих позиций появление синаптических входов на мембране R.Па.D.1 при аппликации глюкозы и инсулина можно рассматривать как отражение стимулирующего влияния данных веществ в отношении истинных активирующих нейронов

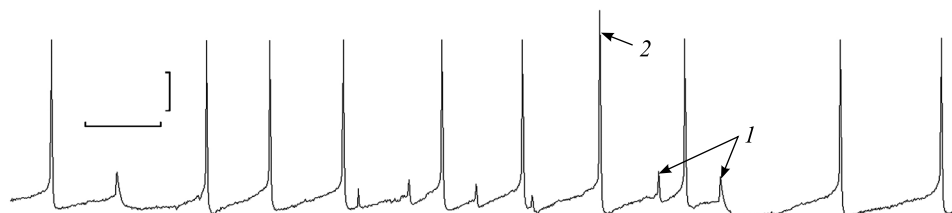


Рис. 6. Электрическая активность нейрона R.Па.D.1 в условиях действия глюкозы: 1 – синаптические входы (возбуждающие постсинаптические потенциалы); 2 – высокоамплитудный спайк. Калибровка: 1 с (по времени), 25 мВ (по амплитуде)

Fig. 6. Electrical activity of R.Pa.D.1 neuron after glucose bath application: 1 – synaptic inputs (excitatory postsynaptic potentials); 2 – high-amplitude spike. Calibration: 1 s (time), 25 mV (amplitude)

сердца, приводящего к увеличению ЧСС, что подтверждено в ходе прямых наблюдений (см. рис. 1). Однонаправленность таких изменений может быть связана с индукцией выброса инсулинподобных пептидов (molluscan insulin-related peptide) в ответ на возрастание концентрации глюкозы в гемолимфе, выступающей также в качестве самостоятельного сигнального агента. Основным источником указанных пептидов у *Lymnaea stagnalis* являются нейроэндокринные светло-зеленые клетки (light-green cells) [11], четыре кластера которых включают около 150 пептидсодержащих нейронов. Усиление электрической активности таких нейронов и увеличение выброса нейромедиатора в образованных синаптических контактах зависят от поступления глюкозы в клетки за счет активации электрогенного Na⁺-глюкозного транспортера [12]. Кроме того, нельзя исключить и прямого влияния рассматриваемых веществ (глюкоза, инсулин) в отношении сердца моллюсков. На это косвенно указывает факт увеличения ЧСС при действии глюкозы и инсулина в интактном организме в дозах, которые на порядок меньше доз, опосредующих нейротропные эффекты в препаратах изолированной ЦНС.

Электрически связанные нейроны V.D.1 и R.Pa.D.2 относятся к пептидсодержащим клеткам, выделяющим комплекс нейропептидов (более 10 форм), которые синтезируются благодаря альтернативному сплайсингу мРНК [13]. Некоторые из них схожи с пептидом альфа-1 нейрона R15 *Aplysia*, стимулирующим сокращение сердца этого моллюска [14; 15], а отростки V.D.1 и R.Pa.D.2 обнаружены в предсердии у прудовика [16]. Эффекты приложения глюкозы и инсулина к этим клеткам носят разнонаправленный характер, что может отражать полимодальность и полифункциональность данной пары нейронов. Известно, что они вовлечены в регуляцию активности дыхательной сети легочной респирации и связанных с ней органов дыхания [4; 17], ультрафильтрации, а следовательно, участвуют в поддержании водного обмена. Его уровень у *Lymnaea* чрезвычайно высок [18] и лежит в основе одного из механизмов поддержания гомеостаза внутренней среды при накоплении в ней тех или иных продуктов (например, глюкозы при инициации и усилении потребления пищи) [5]. В свою очередь изменения в работе сердца являются основополагающими для формирования гидроскелета [9], определяющего движения тела моллюсков и обслуживающего проявления моторных форм жизнедеятельности. Например, известно, что температура, действие которой приводит к изменению ЧСС и у прудовика [19], выраженно модифицирует другие виды его активности, связанные с движением стенки тела, – локомоцию [20] и оборонительные реакции [21]. Такие реакции требуют тонкой кардиорегуляторной составляющей, которая не может быть сведена исключительно к on- или off-ответу со стороны V.D.1 и R.Pa.D.2. При этом их разнонаправленность, как в случае с реакциями на приложение глюкозы и инсулина, существенно повышает степень свободы этих клеток и число возможных регуляторных схем в ответ на действие нейротропного агента (например, ингибирование эффектов гипергликемии, в том числе напрямую не связанных с ее кардиостимулирующим действием, под влиянием инсулинподобных пептидов).

Таким образом, изменение глюкозного гомеостаза выступает триггером ответных реакций со стороны центральных нейронов *Lymnaea stagnalis* за счет как прямого действия глюкозы, так и опосредованного продукцией инсулинподобных пептидов, изменения электрической активности полифункциональных клеток кардиорегуляторной сети ЦНС.

Библиографические ссылки

1. Svensson E, Apergis-Schoute J, Burnstock G, Nusbaum MP, Parker D., Schiöth HB. General principles of neuronal co-transmission: insights from multiple model systems. *Frontiers in Neural Circuits*. 2018;12:117. DOI: 10.3389/fncir.2018.00117.
2. Bilotta F, Lauretta MP, Tewari A, Haque M, Hara N, Uchino H, et al. Insulin and the brain: a sweet relationship with intensive care. *Journal of Intensive Care Medicine*. 2017;32(1):48–58. DOI: 10.1177/0885066615594341.
3. Журавлев ВЛ. Механизмы нейрогуморального контроля сердца гастропод. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. 1999;35(2):65–77.
4. Сидоров АВ. *Функциональная активность нервных центров беспозвоночных*. Минск: БГУ; 2011. 247 с.
5. Veldhuijzen JP. Effects of different kinds of food, starvation and restart of feeding on the haemolymph-glucose of the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Netherlands Journal of Zoology*. 1975;25(1):89–102. DOI: 10.1163/002829675X00146.
6. Солтанов ВВ, Бурко ВЕ. Компьютерные программы обработки электрофизиологических данных. *Новости медико-биологических наук*. 2005;1:91–95.
7. Шаденко ВН, Сидоров АВ. Индукция экспериментальной гипергликемии у моллюска *Lymnaea stagnalis* при инкубации животных в высококонцентрированном растворе глюкозы. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2019;1:79–84. DOI: 10.33581/2521-1722-2019-1-79-84.
8. Glantz S. *Primer of Biostatistics*. New York: McGraw-Hill, Inc.; 1994.
9. Сафонова ТА, Журавлев ВЛ, Ноздрачев АД. *Кардиореспираторная система моллюсков: структура, функции, механизмы регуляции*. Санкт-Петербург: Издательство Санкт-Петербургского университета; 2008. 244 с.

10. Журавлев ВЛ, Сафонова ТА, Кадырова КК. Синхронизация нейрональной активности и сокращений сердца прудовика *Lymnaea stagnalis*. Вестник Ленинградского государственного университета. Серия 3. 1989;2:61–68.
11. Smit AB, Vreugenhil E, Ebberink RHM, Geraerts WPM, Klootwijk J, Joosse J. Growth-controlling molluscan neurons produce the precursor of an insulin-related peptide. *Nature*. 1988;331:535–538. DOI: 10.1038/331535a0.
12. Kits KS, Bobeldijk RC, Crest M, Lodder JC. Glucose-induced excitation in molluscan central neurons producing insulin-related peptides. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*. 1991;417(6):597–604. DOI: 10.1007/bf00372957.
13. Bogerd J, Geraerts WP, Van Heerikhuizen H, Kerkhoven RM, Joosse J. Characterization and evolutionary aspects of a transcript encoding a neuropeptide precursor of *Lymnaea* neurons, VD1 and RPD2. *Brain Research. Molecular Brain Research*. 1991;11:47–54. DOI: 10.1016/0169-328x(91)90020-x.
14. Buck LB, Bigelow JM, Axel R. Alternative splicing in individual Aplysia neurons generates neuropeptide diversity. *Cell*. 1987;51(1):127–133. DOI: 10.1016/0092-8674(87)90017-1.
15. Kerkhoven RM, Ramkema MD, Van Minnen J, Croll RP, Pin T, Boer HH. Neurons in a variety of molluscs react to antibodies raised against the VD₁/RPD₂ α -neuropeptide of the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Cell and Tissue Research*. 1993;273(2):371–379. DOI: 10.1007/bf00312840.
16. Kononenko NL, Zhukov VV. Neuroanatomical and immunocytochemical studies of the head retractor muscle innervation in the pond snail, *Lymnaea stagnalis* L. *Zoology (Jena)*. 2005;108(3):217–237. DOI: 10.1016/j.zool.2005.04.003.
17. Sidorov AV. Effect of hydrogen peroxide on electrical coupling between identified *Lymnaea* neurones. *Invertebrate Neuroscience*. 2012;12(1):63–68. DOI: 10.1007/s10158-012-0128-7.
18. Van Aardt WJ. Quantitative aspects of the water balance in *Lymnaea stagnalis* (L.). *Netherlands Journal of Zoology*. 1967;18(3):253–312. DOI: 10.1163/002829668X00018.
19. Сидоров АВ, Казакевич ВБ. Температурная зависимость центральной регуляции сердечной деятельности моллюска *Lymnaea stagnalis*. В: Улащик ВС, редактор. Проблемы регуляции висцеральных функций. Книга 1. Минск: РИВШ; 2008. с. 212–216.
20. Sidorov AV, Kazakevich VB. Dependence of electric activity of motoneurons and locomotor behavior of *Lymnaea stagnalis* on environmental temperature. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2001;37(3):252–257. DOI: 10.1023/A:1012667206908.
21. Сидоров АВ. Влияние температуры на легочное дыхание, оборонительные реакции и локомоторное поведение пресноводного легочного моллюска *Lymnaea stagnalis*. Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. 2003;53(4):513–517.

References

1. Svensson E, Apergis-Schoute J, Burnstock G, Nusbaum MP, Parker D, Schiöth HB. General principles of neuronal co-transmission: insights from multiple model systems. *Frontiers in Neural Circuits*. 2018;12:117. DOI: 10.3389/fncir.2018.00117.
2. Bilotta F, Lauretta MP, Tewari A, Haque M, Hara N, Uchino H, et al. Insulin and the brain: a sweet relationship with intensive care. *Journal of Intensive Care Medicine*. 2017;32(1):48–58. DOI: 10.1177/0885066615594341.
3. Zhuravlev VL. [Mechanisms of neurohumoral control of gastropods heart]. *Zhurnal evolyutsionnoi biokhimii i fiziologii*. 1999;35(2):65–77. Russian.
4. Sidorov AV. *Funktsional'naya aktivnost' nervnykh tsentrov bespozvonochnykh* [Nerve centers functional activity in invertebrates]. Minsk: Belarusian State University; 2011. 247 p. Russian.
5. Veldhuijzen JP. Effects of different kinds of food, starvation and restart of feeding on the haemolymph-glucose of the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Netherlands Journal of Zoology*. 1975;25(1):89–102. DOI: 10.1163/002829675X00146.
6. Soltanov VV, Burko VE. [Computer programs for electrophysiological data-processing]. *News of biomedical sciences*. 2005;1:91–95. Russian.
7. Shadenko VN, Sidorov AV. Induction of experimental hyperglycemia in mollusc *Lymnaea stagnalis* after animal's incubation in high-concentrated glucose solution. *Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2019;1:79–84. DOI: 10.33581/2521-1722-2019-1-79-84.
8. Glantz S. *Primer of Biostatistics*. New York: McGraw-Hill, Inc.; 1994.
9. Safonova TA, Zhuravlev VL, Nozdrachev AD. *Kardiorespiratornaya sistema mollyuskov: struktura, funktsii, mekhanizmy regulatsii* [Cardiorespiratory system of molluscs: structure, functions, regulatory mechanisms]. Saint Petersburg: Publishing House of Saint Petersburg University; 2008. 244 p. Russian.
10. Zhuravlev VL, Safonova TA, Kadyrova KK. [Synchronization of neuronal activity and heart beating in pond snail *Lymnaea stagnalis*]. *Vestnik Leningradskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 3*. 1989;2:61–68. Russian.
11. Smit AB, Vreugenhil E, Ebberink RHM, Geraerts WPM, Klootwijk J, Joosse J. Growth-controlling molluscan neurons produce the precursor of an insulin-related peptide. *Nature*. 1988;331:535–538. DOI: 10.1038/331535a0.
12. Kits KS, Bobeldijk RC, Crest M, Lodder JC. Glucose-induced excitation in molluscan central neurons producing insulin-related peptides. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*. 1991;417(6):597–604. DOI: 10.1007/bf00372957.
13. Bogerd J, Geraerts WP, Van Heerikhuizen H, Kerkhoven RM, Joosse J. Characterization and evolutionary aspects of a transcript encoding a neuropeptide precursor of *Lymnaea* neurons, VD1 and RPD2. *Brain Research. Molecular Brain Research*. 1991;11:47–54. DOI: 10.1016/0169-328x(91)90020-x.
14. Buck LB, Bigelow JM, Axel R. Alternative splicing in individual Aplysia neurons generates neuropeptide diversity. *Cell*. 1987;51(1):127–133. DOI: 10.1016/0092-8674(87)90017-1.
15. Kerkhoven RM, Ramkema MD, Van Minnen J, Croll RP, Pin T, Boer HH. Neurons in a variety of molluscs react to antibodies raised against the VD₁/RPD₂ α -neuropeptide of the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Cell and Tissue Research*. 1993;273(2):371–379. DOI: 10.1007/bf00312840.

16. Kononenko NL, Zhukov VV. Neuroanatomical and immunocytochemical studies of the head retractor muscle innervation in the pond snail, *Lymnaea stagnalis* L. *Zoology (Jena)*. 2005;108(3):217–237. DOI: 10.1016/j.zool.2005.04.003.
17. Sidorov AV. Effect of hydrogen peroxide on electrical coupling between identified *Lymnaea* neurones. *Invertebrate Neuroscience*. 2012;12(1):63–68. DOI: 10.1007/s10158-012-0128-7.
18. Van Aardt WJ. Quantitative aspects of the water balance in *Lymnaea stagnalis* (L.). *Netherlands Journal of Zoology*. 1967;18(3):253–312. DOI: 10.1163/002829668X00018.
19. Sidorov AV, Kazakevich VB. Temperature dependence of the central regulation of cardiac activity of mollusk *Lymnaea stagnalis*. In: Ulaschuk VS, editor. *Problemy regulyatsii vistseral'nykh funktsii. Kniga 1* [Problems of regulation of visceral functions. Book 1]. Minsk: RIVSh; 2008. p. 212–216. Russian.
20. Sidorov AV, Kazakevich VB. Dependence of electric activity of motoneurons and locomotor behavior of *Lymnaea stagnalis* on environmental temperature. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2001;37(3):252–257. DOI:10.1023/A:1012667206908.
21. Sidorov AV. Effects of temperature on respiration, defensive behavior and locomotion of fresh water snail *Lymnaea stagnalis*. *Zhurnal vysshei nervnoi deyatel'nosti im. I. P. Pavlova*. 2003;53(4):513–517. Russian.

Статья поступила в редколлегию 16.10.2019.
Received by editorial board 16.10.2019.