

УДК 612.822.2 + 594.382

## МЕТИОТЕПИН-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ СЕРОТОНИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ ВОВЛЕЧЕНЫ В ПОСТСИНАПТИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ СЕНСИТИЗАЦИИ ОБОРОНИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ

© 2005 г. М. С. Абрамова, В. Л. Нистратова, А. А. Москвитин, А. С. Пивоваров

*Кафедра высшей нервной деятельности  
Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова,  
e-mail: asp@protein.bio.msu.ru*

Поступила в редакцию 14.11.2004 г.

Принята в печать 08.12.2004 г.

Ритмическая электрическая стимуляция ноги улитки вызывает сенситизацию оборонительной реакции животного. Эта сенситизация сходна по динамике с посттетанической потенциацией амплитуды вызванного ацетилхолином входящего тока командных нейронов оборонительного поведения виноградной улитки. Вероятно, повышение холиночувствительности соматической мембраны командных нейронов оборонительного поведения виноградной улитки может участвовать в механизме сенситизации оборонительной реакции животного. Метиотепин, антагонист серотониновых рецепторов, предотвращает посттетаническую потенциацию вызванного ацетилхолином входящего тока и поведенческую сенситизацию. Серотонин, как и метиотепин, также нарушает посттетаническую потенциацию вызванного ацетилхолином входящего тока. Предполагаем, что метиотепин-чувствительные серотониновые рецепторы вовлечены в постсинаптический механизм поведенческой сенситизации.

*Ключевые слова: метиотепин, серотонин, ацетилхолин, посттетаническая потенциация, командные нейроны, поведенческая сенситизация, виноградная улитка.*

## Methiothepin-sensitive Serotonin Receptors are Involved in Postsynaptic Mechanism of Sensitization of *Helix lucorum* Escape Reaction

M. S. Abramova, V. L. Nistratova, A. A. Moskvitin, A. S. Pivovarov

*Department of Higher Nervous Activity, Lomonosov State University, Moscow,  
e-mail: asp@protein.bio.msu.ru*

Tetanic electric stimulation of *Helix* foot evokes sensitization of escape reaction. This behavioral sensitization and posttetanic potentiation (PTP) of acetylcholine-induced inward current (ACh-current) in command *Helix* neurons of escape behavior were similar. Antagonist of serotonin receptors methiothepin prevents the PTP of the ACh-current and behavioral sensitization. Serotonin disrupts the PTP of the ACh-current. It is suggested that the increase in cholinosenstivity of the command neurons with the involvement of methiothepin-sensitive serotonin receptors may be the cellular postsynaptic mechanism of behavioral sensitization of *Helix* escape reaction.

*Key words: methiothepin, serotonin, acetylcholine, posttetanic potentiation, command neurones, behavioral sensitization, Helix lucorum.*

Сенситизация безусловнорефлекторной реакции является одной из простых форм обучения. Она проявляется как усиление реакции на раздражитель в результате предъявления другого (обычно сильного или повреждающего) стимула [2]. Одним из возможных клеточных аналогов поведенческой сенситизации является посттетаническая потенциация (ПТП) – возрастание реакции центрального нейрона на тестирующее раздражение

после серии повторных электрических стимулов (тетанизации). Исследование механизма посттетанической потенциации нейронных реакций – один из способов понять клеточный механизм поведенческой сенситизации.

В предыдущей нашей работе мы показали участие гипотетического гуморального фактора в ПТП командных нейронов виноградной улитки на постсинаптическом уровне – повышение холино-

чувствительности их соматической мембраны после ортодромной электрической тетанизации [1]. В этой работе использована оригинальная модель обучения, имитирующая возрастание эффективности синаптической передачи. Эта модель представляла собой длительное облегчение холиноточивительности командных нейронов виноградной улитки, вызванное электрической тетанизацией афферентных входов [6].

Есть теоретические основания предполагать, что одним из вероятных компонентов гуморального фактора в нервной системе виноградной улитки является моноамин серотонин (5-гидрокситриптамин, 5-НТ). Установлено, что тела командных нейронов оборонительного поведения виноградной улитки окружает сеть серотонинсодержащих волокон без специализированных синаптических мембран [12]. Стимулы, вызывающие поведенческую сенситизацию у морского моллюска аплизии, значительно (на 30%) увеличивают уровень серотонина в гемолимфе [10].

На командных нейронах виноградной улитки идентифицированы серотониновые 5-НТ<sub>1</sub>-рецепторы, чувствительные к антагонистам метиотепину и NAN-190 [7]. Из этих соединений метиотепин был более эффективным блокатором. Активация этих рецепторов серотонином не вызывает изменения мембранного потенциала нейрона, а приводит к подавлению амплитуды вызванного ацетилхолином входящего тока.

Целью настоящей работы было исследование участия серотониновых 5-НТ<sub>1</sub>-рецепторов в сенситизации оборонительной реакции виноградной улитки и в посттетаническом возрастании АХ-тока командных нейронов оборонительного поведения.

## МЕТОДИКА

Эксперименты проведены на виноградных улитках (*Helix lucorum*), собранных в Крыму, в окрестностях г. Севастополя. Исследования включают поведенческую и электрофизиологическую части.

В поведенческой части работы использовали оригинальное устройство (рис. 1) для бесконтактной регистрации интегральной оборонительной реакции улитки [4]. Оборонительную реакцию животного (втягивание щупалец, головы и ноги в раковину) вызывали тактильным раздражением кожи головы с помощью специализированного устройства. Сила тактильного раздражителя определялась энергией удара устройства 133–241 мкДж, которая в течение эксперимента была постоянной. Оборонительную реакцию записывали в аналоговой форме на электронном потенциометре КСП-4.

Были проведены следующие серии: 1) без фармакологического вмешательства, 2) после инъекции физиологического раствора, 3) после инъекции раствора метиотепина. Физиологический раствор (0.1 мл) и антагонист 5-НТ-рецепторов метиотепина малеат (“Sigma”, США) вводили в среднюю часть ноги, в первичную полость тела, за 30–50 мин до начала серии. Доза метиотепина составляла 5 мг/кг [9, 11]: инъецировали 0.1 мл 2.8 мМ раствора метиотепина в физиологическом растворе. Во всех сериях проведены эксперименты (контроль и опыт).

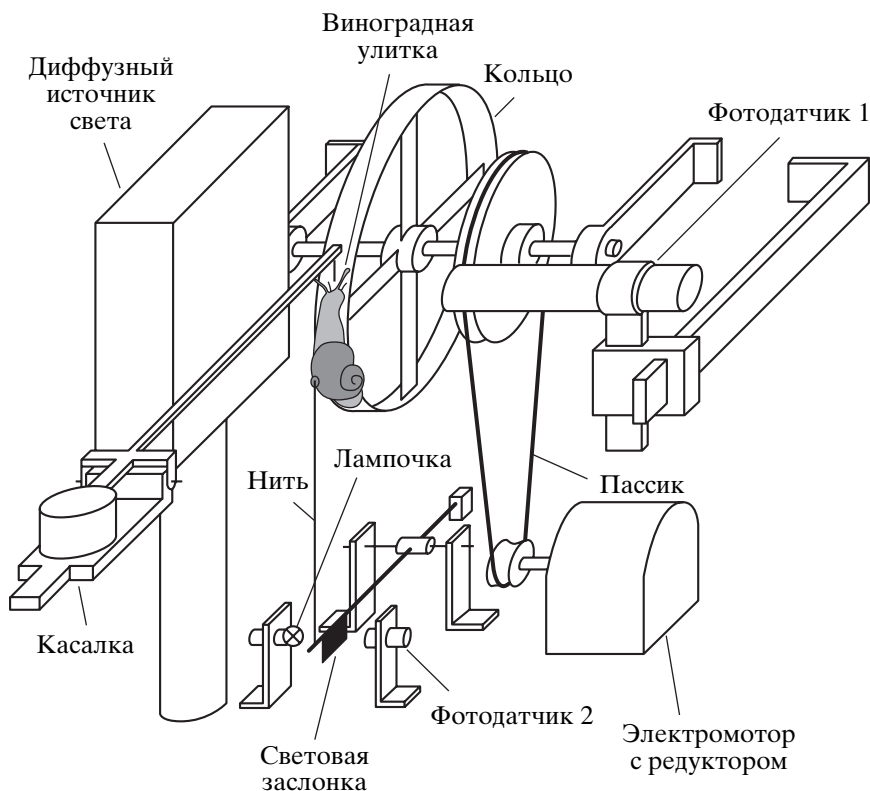
В экспериментах (опыт) использовали электрическое биполярное раздражение кожи средней части ноги улитки. Раздражающие электроды были сделаны из нихромовой проволоки диаметром 0.1 мм. Прямоугольные импульсы тока (амплитуда тока – 900 мкА; длительность тока – 0.1 с; частота стимуляции – 2 имп/с; длительность стимуляции – 2 мин) подавали от электростимулятора ЭСП-2.

В контроле (без электрического ритмического раздражения) регистрировали динамику оборонительной реакции улитки на тактильную стимуляцию в течение 100–120 мин. Среднюю всех амплитуд оборонительной реакции до тетанического раздражения принимали за 100%, амплитуду оборонительной реакции после ортодромной тетанизации нормировали к этой величине, это исключало влияние спонтанных изменений оборонительной реакции.

Как было установлено ранее, метиотепин (30–50 мкМ) наиболее эффективно подавляет действие серотонина на амплитуду АХ-тока [7]. В указанной концентрации он ингибирует серотониновые 5-НТ<sub>1</sub>-рецепторы, через которые действует экзогенный серотонин. Известно, что это соединение – самое эффективное из протестированных блокаторов 5-НТ-рецепторов на нейронах морского моллюска аплизии [8].

Результаты получены на 64 животных.

*Электрофизиологическая часть.* Эксперименты проведены на идентифицированных нейронах ЛПа3, ППа3 и ППа2 виноградной улитки *Helix lucorum* крымской популяции, на полунтактном препарате “ЦНС – висцеральный мешок”. Указанные нейроны вовлечены в реализацию оборонительного поведения виноградной улитки [3]. Мембрана исследованных клеток содержит внесинаптические холинорецепторы [5]. В исследовании был использован “искусственный синапс”: заполненная ацетилхолином (АХ) микропипетка, подведенная к внешней поверхности соматической мембраны клетки. Ионофоретические аппликации медиатора АХ из этой пипетки были в течение эксперимента постоянной величины, что позволяет исключить вклад “пресинаптического звена” в модификации реакций нейрона и оценивать ис-



**Рис. 1.** Схема установки для регистрации оборонительной реакции наземной улитки на тактильную стимуляцию. Установка состоит из вращающегося вокруг горизонтальной оси кольца, следящей системы, вращающей кольцо таким образом, что положение улитки остается неизменным относительно фотодатчика, регистрирующего ее реакцию. Сбоку улитка освещается диффузным источником света, который с другой стороны воспринимается фотодиодным датчиком 1. Устройство для тактильной стимуляции выполнено на базе магнитной цепи динамика. Подробное описание использованной поведенческой установки и ее блок-схема опубликованы ранее [4].

ключительно изменения холиночувствительности ее соматической мембраны.

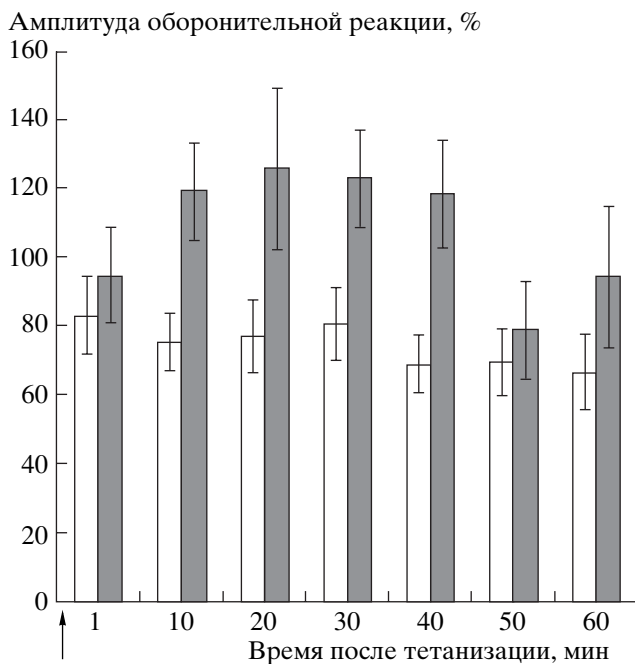
Перед приготовлением полуинтактного препарата животное анестезировали охлаждением в смеси воды со льдом в течение 30 мин. Нервное окологлоточное кольцо и связанный с ним интактными нервами (*n. analis*, *n. intestinalis*, *n. pallialis dexter*, *n. pallialis sinister*) висцеральный мешок животного фиксировали стальными микроиглами к резиновым подложкам в соседних камерах, заполненных физиологическим раствором (мМ): NaCl – 100; KCl – 4; CaCl<sub>2</sub> – 10; MgCl<sub>2</sub> – 4; трис-HCl – 10; pH 7.5–7.7, и соединенных друг с другом вазелиновым мостиком (1.5 × 5 мм). Нервное окологлоточное кольцо располагалось в проточной камере объемом 1 мл, а висцеральный мешок животного – в камере объемом 41 мл. После обработки ганглиев в ферменте (0.5%-ный раствор дигестаза, “Seatec”, Россия – Люксембург; экспозиция от 20 до 60 мин при комнатной температуре) удаляли соединительнотканые оболочки, покрывающие ганглии.

Регистрировали трансмембранные токи нейронов, используя методику двухэлектродной фикса-

ции потенциала на мембране по схеме заземления объекта на “виртуальную землю”. Стекланные внутриклеточные микроэлектроды заполняли 2 М ацетатом калия (сопротивление 27.70 ± 3.18 МОм).

Применяли локальную ионофоретическую аппликацию АХ из стеклянной микропипетки, подведенной к соме нейрона. Микропипетки заполняли 1М АХ-хлоридом (“Sigma”, США). Сопротивление пипеток составляло 7–35 МОм. Для ионофореза использовали катионные токи (500–600 нА; 0.2–2.3 с, 1.20 ± 0.17 с). Индифферентная пипетка в цепи микроионофореза была заполнена физиологическим раствором (сопротивление 10–25 МОм).

Посттетанические изменения холиночувствительности нейронов анализировали после электрического тетанического раздражения *n. intestinalis* (амплитуда тока – 0.5 мкА; длительность тока – 0.1 с; частота стимуляции – 2 имп/с; длительность стимуляции – 2 мин). Прямоугольные импульсы тока подавали от электростимулятора ЭСЛ-2 через биполярные металлические электроды, сделанные из нихромовой проволоки диаметром 0.1 мм (сопротивление электродов 80 МОм). В качестве



**Рис. 2.** Сенситизация оборонительной реакции виноградной улитки. Светлые столбики – амплитуды оборонительного ответа без ритмического электрического раздражения средней части ноги, темные – амплитуда оборонительного ответа после ритмического электрического раздражения. Стрелкой отмечен момент нанесения ритмического электрического раздражения. Интервал между тестирующими стимулами – 10 мин. По вертикали – амплитуда оборонительной реакции виноградной улитки, % относительно средней амплитуды трех оборонительных реакций перед ритмической электрической стимуляцией; по горизонтали – время, мин. Представлены суммарные результаты всех экспериментов.

управляющего использовали электростимулятор 302-Т (WPI, США). Параметры электрического тетанического раздражения (длительность импульса, частота и длительность стимуляции) в электрофизиологических экспериментах были такими же, как в поведенческой части работы. Степень посттетанического изменения холиночувствительности нейронов определяли, сравнивая изменения амплитуды АХ-тока после тетанизации (опыт) и без тетанизации (контроль).

За 30–50 мин до начала контрольной или экспериментальной серии в камеру с окологлоточным нервным кольцом добавляли серотонин (5-НТ-гидрохлорид), антагонист 5-НТ<sub>1</sub>-рецепторов метиотепин малеат (от “Sigma”) с помощью микрошприца. Серотонин добавляли в количестве 100–200 мкл 1 мМ раствора серотонина в физиологическом растворе. Концентрация серотонина была 100 мкМ в 9 экспериментах, 150 мкМ в 5 экспериментах и 200 мкМ в 9 экспериментах. Метиотепин добавляли в количестве 30–50 мкл (1 мМ раствора метиотепина в физиологическом растворе), concentra-

ция метиотепина 30 мкМ – в 18 экспериментах, 50 мкМ – в 5.

Экспериментальная серия включала электрическое ортодромное тетаническое раздражение. Контрольная серия проведена без тетанического раздражения нерва, чтобы исключить маскирующий эффект спонтанного изменения амплитуды АХ-тока в процессе длительной регистрации. АХ апплицировали в обеих сериях с одинаковым интервалом 10 мин. В связи со стабильным снижением амплитуды АХ-тока в эксперименте амплитуды АХ-токов нормировали по отношению к величине АХ-тока, зарегистрированного непосредственно перед подачей тетанического раздражения.

Результаты получены на 46 нейронах (17 ЛПа3, 27 ППа3, 2 ППа2) в 46 препаратах. Мембранный потенциал клеток составлял  $-56.70 \pm 1.56$  мВ, потенциал фиксации  $-75$  мВ. Входное сопротивление нейронов  $3.62 \pm 0.34$  МОм.

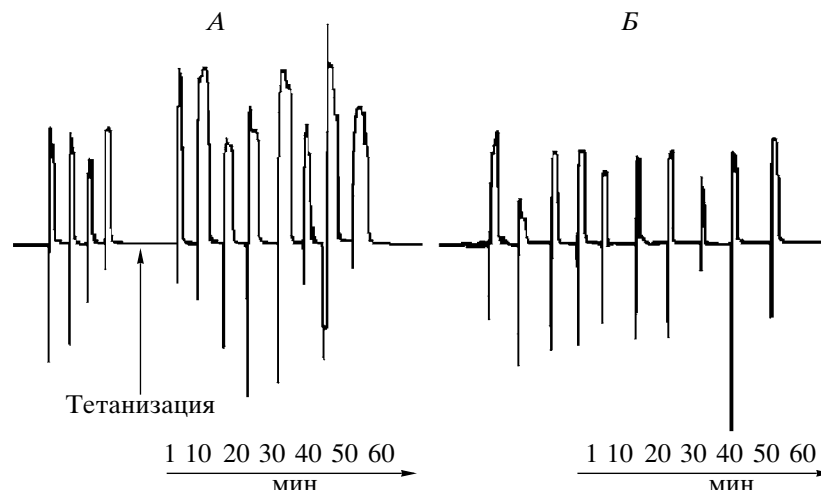
*Статистические методы.* Для статистической обработки результатов электрофизиологических экспериментов применяли программы MS EXCEL, 2000; STADIA 6.2. Вычисляли среднее арифметическое выборки и стандартную ошибку средней арифметической (STADIA 6.2). Предварительно все выборки проверяли на нормальность распределения. Если выборочное распределение отличалось от нормального хотя бы в одной из двух сравниваемых выборок, для их сравнения использовали непараметрические критерии. При оценке влияния веществ на амплитуду АХ-тока использовали непараметрические критерии различия в сдвиге (положении): статистика Вилкоксона и Ван дер Вардена (STADIA 6.2). При оценке влияния веществ на динамику изменения АХ-тока после тетанизации применяли критерий Вилкоксона и критерий знаков для парных данных (STADIA 6.2).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 1. Сенситизация оборонительной реакции виноградной улитки

Изменения амплитуды оборонительной реакции после электрического ритмического раздражения ноги животного (опыт,  $n = 10$ ) и без него (контроль,  $n = 12$ ) достоверно различались ( $p = 0.0088$ , парный критерий Вилкоксона;  $p = 0.0116$ , критерий знаков; рис. 2 и 3). Это свидетельствует о наличии сенситизации оборонительной реакции виноградной улитки. Степень сенситизации оборонительной реакции составила  $33.21 \pm 6.48$  %, латентность –  $10.04 \pm 3.20$  мин, длительность –  $31.00 \pm 4.33$  мин. Максимальная сенситизация оборонительной реакции наблюдалась на 10–30-й минутах после окончания раздражения ( $17.3 \pm 4.84$  мин).

Мы сравнили динамику сенситизации оборонительной реакции улитки, описанную выше, с кри-



**Рис. 3.** Пример изменения оборонительной реакции (отклонения вверх) виноградной улитки на тактильные стимулы после ритмического электрического раздражения. Интервал между тактильными стимулами – 10 мин. А – влияние тетанического электрического раздражения на амплитуду оборонительной реакции, Б – динамика оборонительной реакции улитки на тактильную стимуляцию в течение 90 мин. Стрелкой отмечен момент нанесения ритмического электрического раздражения.

вой посттетанической потенциации АХ-тока, полученную в ранее опубликованной работе [6]. Динамики сенситизации оборонительной реакции виноградной улитки и ПТП АХ-тока не различались ( $p = 0.1178$ , парный критерий Вилкоксона;  $p = 0.0652$ , критерий знаков; рис. 4).

## 2. Влияние физиологического раствора на сенситизацию оборонительной реакции виноградной улитки

Инъекция физиологического раствора не повлияла на амплитуду оборонительной реакции улитки ( $111.45 \pm 15.15\%$ ;  $p = 0.0915$ , критерий Вилкоксона;  $p = 0.1313$ , критерий Ван дер Вардена).

Ритмическое электрическое раздражение после инъекции физиологического раствора вызывало возрастание оборонительного ответа улитки. Изменения амплитуды оборонительной реакции после электрического ритмического раздражения ноги животного (опыт,  $n = 10$ ) и без него (контроль,  $n = 10$ ) достоверно отличались ( $p = 0.0088$ , парный критерий Вилкоксона;  $p = 0.0116$ , критерий знаков). Это свидетельствует о наличии сенситизации оборонительной реакции виноградной улитки. Степень сенситизации оборонительной реакции составила  $32.34 \pm 9.41\%$ , латентность –  $9.22 \pm 2.976$  мин, длительность –  $38.89 \pm 5.88$  мин. Максимальная сенситизация оборонительной реакции была на 10–30-й минутах после окончания раздражения ( $22.2 \pm 6.03$  мин).

Динамики сенситизации оборонительного рефлекса у интактных животных и после инъекции физиологического раствора не различались ( $p = 0.0636$ , критерий Вилкоксона;  $p = 0.0652$ , критерий Ван дер Вардена).

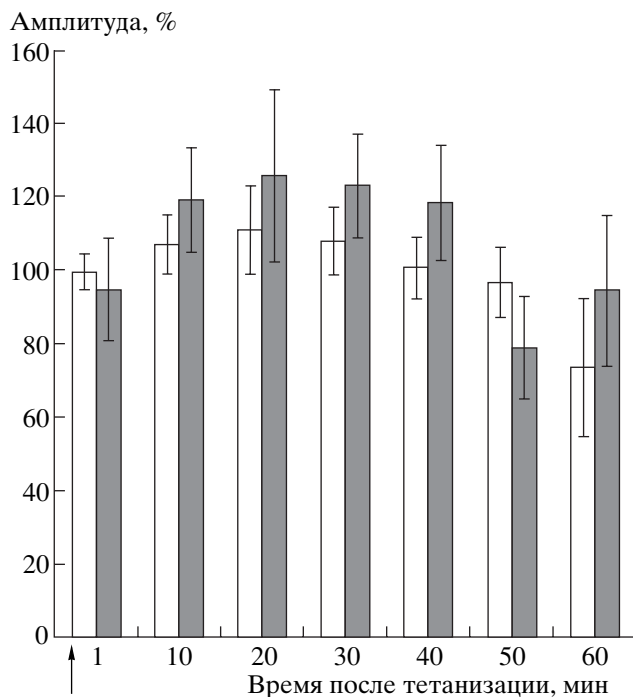
## 3. Влияние метиотепина на посттетаническую потенцию вызванного ацетилхолином входящего тока

В настоящей работе метиотепин (30–50 мкМ) снижал амплитуду АХ-тока за 30–40 мин на  $33.71 \pm 5.89\%$  ( $n = 23$ ;  $p = 0.0000$ , критерий Вилкоксона;  $p = 0.0000$ , критерий Ван дер Вардена). После этого амплитуда АХ-тока стабилизировалась. На фоне стабилизированной амплитуды АХ-тока в результате аппликации метиотепина исследовали его влияние на посттетаническое изменение амплитуды АХ-тока.

Тетаническое ортодромное раздражение на фоне действия антагониста серотониновых 5-НТ<sub>1</sub>-рецепторов метиотепина не вызывало посттетанического возрастания АХ-тока нейронов (рис. 5, А). Не выявлено различий между медианами выборок средних амплитуд АХ-тока в контрольной ( $n = 11$ ) и экспериментальной ( $n = 12$ ) сериях. Средняя разность составила  $5.84 \pm 1.89\%$  ( $p = 0.1178$ , парный критерий Вилкоксона;  $p = 0.0652$ , критерий знаков). Степень посттетанического изменения АХ-тока на фоне действия метиотепина достоверно ниже, чем в условиях остановленного протока без фармакологического воздействия (результаты серии взяты из работы [6]) ( $p = 0.0088$ , парный критерий Вилкоксона;  $p = 0.0116$ , критерий знаков).

## 4. Влияние серотонина на посттетаническую потенцию вызванного ацетилхолином входящего тока

Серотонин в концентрации 100–200 мкМ снижал амплитуду АХ-тока командных нейронов через 30–40 мин после аппликации на  $20.20 \pm 4.24\%$  ( $n = 23$ ;  $p = 0.0000$ , критерий Вилкоксона;  $p = 0.0011$ , критерий Ван дер Вардена). Мы убедились, что использованная внеклеточная концент-



**Рис. 4.** Сравнение динамик посттетанических изменений амплитуды АХ-тока и сенситизации амплитуды оборонительной реакции виноградной улитки. Светлые столбики – амплитуда АХ-тока в остановленном протоке, темные – амплитуда оборонительной реакции виноградной улитки. Интервалы между тактильными стимулами в поведенческих экспериментах и между аппликациями АХ в электрофизиологических экспериментах составляли 10 мин. По вертикали – амплитуда АХ-тока после ортодромной тетанизации, % относительно амплитуды последнего перед тетанизацией ответа и амплитуда оборонительной реакции виноградной улитки, % относительно средней амплитуды трех оборонительных реакций перед ритмическим электрическим раздражением. По горизонтали – время, мин. Представлены суммарные результаты всех экспериментов. Динамика ПТП АХ-тока взята из опубликованной ранее работы [6]. Остальные обозначения как на рис. 2.

рация серотонина достаточна для активации серотониновых рецепторов на соме командных нейронов виноградной улитки.

Тетаническое ортодромное раздражение на фоне действия серотонина не вызывало посттетанического возрастания АХ-тока нейронов (рис. 5, Б). Не выявлено различий между медианами выборок средних амплитуд АХ-тока в контрольной (без тетанизации,  $n = 11$ ) и экспериментальной (с использованием тетанического раздражения,  $n = 12$ ) сериях. Средняя разность составила  $0.09 \pm 1.18\%$  ( $p = 0.50$ , критерий Вилкоксона;  $p = 0.23$ , критерий знаков).

##### 5. Влияние метиотепина на сенситизацию оборонительной реакции виноградной улитки

Метиотепин (0.1 мл 2.8 мМ раствора,  $n = 22$ ) не оказывал достоверного влияния на амплитуду обо-

ронительной реакции улитки. Это следует из сравнения средних амплитуд оборонительного ответа улитки через 40 мин после инъекции метиотепина и физиологического раствора ( $n = 20$ ). Величины оборонительной реакции улитки после инъекций метиотепина ( $126.24 \pm 14.25\%$ ) и физиологического раствора ( $111.45 \pm 15.15\%$ ) не различались ( $p = 0.3118$ , критерий Вилкоксона;  $p = 0.2893$ , критерий Ван дер Вардена).

Ритмическое электрическое раздражение средней части ноги улитки после инъекции антагониста серотониновых рецепторов метиотепина не вызывало сенситизацию оборонительной реакции улитки (рис. 6). Не выявлено различий между медианами выборок средних амплитуд реакции между контролем ( $n = 11$ ) и экспериментом ( $n = 11$ ). Средняя разность амплитуд оборонительных реакций в экспериментах и контроле составляла  $1.429 \pm 8.367\%$  ( $p = 0.4999$ , парный критерий Вилкоксона;  $p = 0.4999$ , критерий знаков).

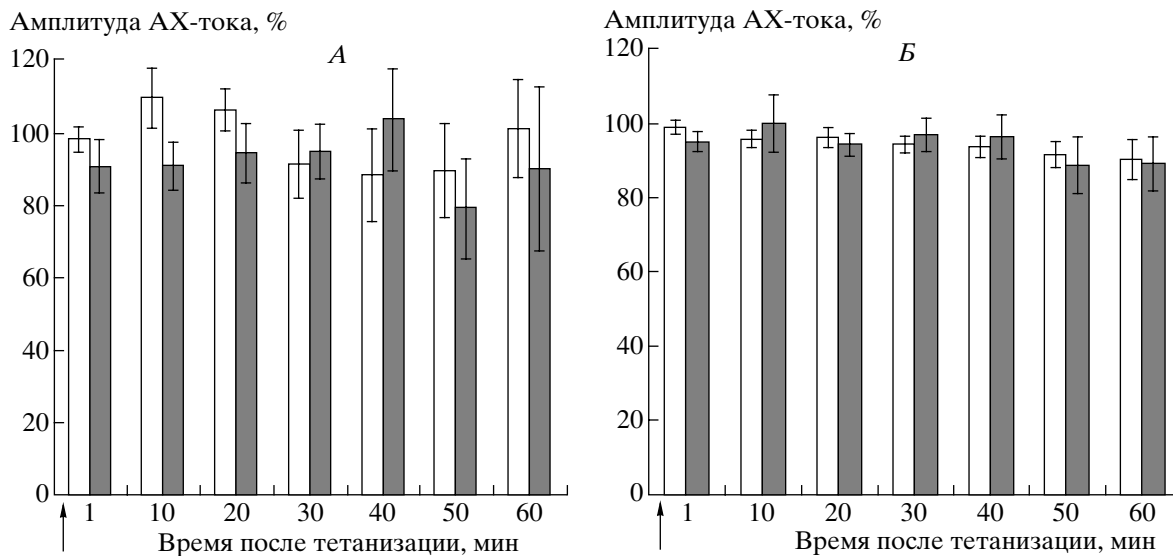
## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Выявленное сходство динамик поведенческой сенситизации улитки и ПТП АХ-тока командных нейронов позволяет предполагать ПТП холиночувствительности вероятным клеточным аналогом сенситизации. Поэтому возрастание холиночувствительности соматической мембраны командных нейронов оборонительного поведения виноградной улитки можно рассматривать как возможный постсинаптический механизм сенситизации оборонительной реакции.

Результаты проведенных экспериментов позволяют утверждать, что антагонист серотониновых рецепторов метиотепин и экзогенный серотонин предотвращают посттетаническую потенциацию холиночувствительности соматической мембраны командных нейронов ЛПа3, ППа3 и ППа2.

Планируя эти серии, мы предполагали, что эндогенный гуморальный серотонин через рецепторы 5-НТ<sub>1</sub>-типа участвует в ПТП холиночувствительности командных нейронов. Соответственно искусственное предварительное влияние на эти серотониновые рецепторы должно было модифицировать динамику посттетанического изменения холиночувствительности нейронов. Как объяснить полученные результаты по влиянию серотонина и метиотепина на посттетаническую потенциацию, если наше предположение о вовлечении гуморального серотонина, действующего через 5-НТ<sub>1</sub>-рецепторы, в механизм потенциации верно?

Введение серотонина в омывающий ганглии физиологический раствор приводит к его связыванию с обнаруженными ранее модуляторными серотониновыми рецепторами 5-НТ<sub>1</sub>-типа [7]. Серо-

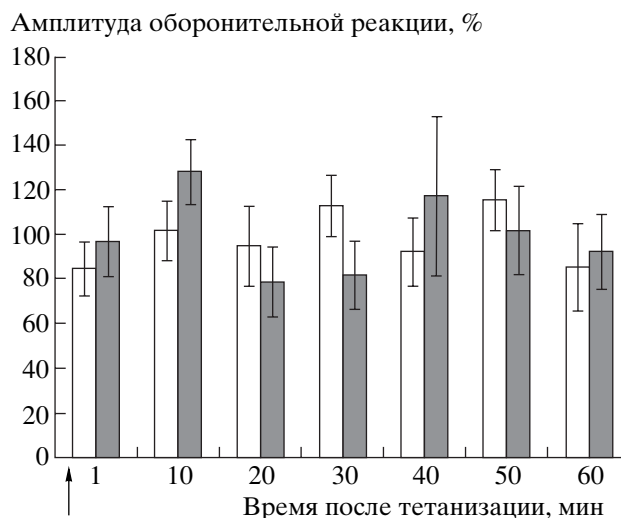


**Рис. 5.** Влияние лигандов серотониновых рецепторов на посттетаническое изменение амплитуды АХ-тока. А – влияние антагониста 5-НТ рецепторов метиотепина, Б – влияние агониста 5-НТ рецепторов серотонина. Светлые столбики – амплитуда АХ-тока без тетанического раздражения, темные столбики – амплитуда АХ-тока после тетанического раздражения. По вертикали – амплитуда АХ-тока после ортодромной тетанизации, % относительно амплитуды последнего перед тетанизацией ответа (экспериментальные серии), по горизонтали – время, мин. В контрольных сериях за 100 % принимали амплитуду АХ-тока через 30–40 мин после добавления лигандов серотониновых рецепторов. Представлены суммарные результаты всех экспериментов. Остальные обозначения как на рис. 2.

тонин оставался в проточной камере после его введения (эксперименты проведены в условиях остановленного протока физиологического раствора через камеру с препаратом). Можно предположить, что в наших экспериментах серотонин оккупировал большую часть 5-НТ<sub>1</sub>-рецепторов и активировал их. Наличие серотонина во внеклеточном растворе не позволяло распасться комплексу серотонин–5НТ<sub>1</sub>-рецептор. Это препятствовало дополнительной активации 5-НТ<sub>1</sub>-рецепторов эндогенным серотонином, который выделялся при тетанизации. В таком случае серотонин должен препятствовать развитию посттетанической потенциации, что и наблюдали в эксперименте.

Метиотепин также оставался в проточной камере после его введения (эксперименты проведены в условиях остановленного протока физиологического раствора через камеру с препаратом). В использованной концентрации метиотепин ингибировал модуляторный эффект серотонина на АХ-ток [7]. Следовательно, в наших экспериментах метиотепин оккупировал 5-НТ<sub>1</sub>-рецепторы и блокировал их. Наличие метиотепина во внеклеточном растворе не позволяло распасться комплексу метиотепин–5НТ<sub>1</sub>-рецептор. Это препятствовало активации связанных метиотепином 5-НТ<sub>1</sub>-рецепторов эндогенным серотонином, который выделялся при тетанизации. В таком случае метиотепин также должен препятствовать развитию посттетанической потенциации, что и наблюдали в эксперименте.

Полученные результаты дают основания сделать следующий вывод: одним из компонентов гуморального фактора, принимающего участие в развитии посттетанического повышения холинчувствительности сомы командных нейронов обо-



**Рис. 6.** Влияние метиотепина на сенситизацию оборонительной реакции виноградной улитки. Светлые столбики – динамика оборонительной реакции улитки на тактильную стимуляцию в течение 60 мин, темные – амплитуда оборонительного ответа после ритмической электрической стимуляции. Представлены суммарные результаты всех экспериментов. Остальные обозначения как на рис. 2.

ронительного поведения виноградной улитки, может быть эндогенный серотонин, действующий через соматические метиотепин-чувствительные серотониновые рецепторы.

### ВЫВОДЫ

1. Тетаническая электрическая стимуляция кожи ноги улитки вызывает сенситизацию оборонительной реакции.

2. Повышение холиночувствительности соматической мембраны командных нейронов оборонительного поведения виноградной улитки может быть одним из механизмов сенситизации оборонительной реакции животного.

3. Метиотепин-чувствительные серотониновые рецепторы вовлечены в постсинаптический механизм поведенческой сенситизации.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 02-04-48014а).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамова М.С., Дроздова Е.И., Нистратова В.Л., Пивоваров А.С. Зависимость посттетанической потенциации холиночувствительности нейронов виноградной улитки от гуморального фактора // Журн. высш. нервн. деят. 2003. Т. 53. № 5. С. 533–536.
2. Котляр Б.И. Пластичности нервной системы. М.: Изд-во МГУ. 1986. 240 с.
3. Максимова О.А., Балабан П.М. Нейронные механизмы пластичности поведения. М.: Наука, 1983. 126 с.
4. Москвитин А.А., Пивоваров А.С. Установка для регистрации оборонительной реакции наземной улитки на тактильную стимуляцию // Журн. высш. нерв. деят. 2003. Т. 53. № 2. С. 249–252.
5. Пивоваров А.С., Дроздова Е.И. Идентификация холинорецепторов на соме нейронов ЛПа3 и ППа3 виноградной улитки // Нейрофизиология. 1992. Т. 24. № 1. С. 77–86.
6. Пивоваров А.С., Дроздова Е.И., Москвитин А.А. Генерализованные посттетанические изменения возбуждающих постсинаптических и вызванных ацетилхолином токов нейронов виноградной улитки // Журн. высш. нерв. деят. 1999. Т. 49. № 6. С. 990–998.
7. Пивоваров А.С., Нистратова В.Л. Модуляторные серотониновые рецепторы на соме командных нейронов виноградной улитки // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2003. Т. 136. № 8. С. 132–134.
8. Barbas D., Zappulla J.P., Angers S., Bouvier M., Castellucci V.F., DesGroseillers L. Functional characterization of a novel serotonin receptor (5-HT<sub>2</sub>) expressed in the CNS of *Aplysia californica* // J. Neurochem. 2002. V. 80. № 2. P. 335–345.
9. Dringenberg H.C., Vanderwolf C.H., Noseworthy P.A. Superior colliculus stimulation enhances neocortical serotonin release and electrocorticographic activation in the urethane-anesthetized rat // Brain Res. 2003. V. 964. № 1. P. 31–41.
10. Levenson J., Byrne J., Eskin A. Levels of serotonin in the hemolymph of *Aplysia* are modulated by light/dark cycles and sensitization training // J. Neurosci. 1999. V. 19. № 18. P. 8094–8103.
11. Luscombe G.P., Martin K.F., Hutchins L.J., Gosden J., Heal D.J. Mediation of the antidepressant-like effect of 8-OH-DPAT in mice by postsynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors // Br. J. Pharmacol. 1993. V. 108. № 3. P. 669–677.
12. Vehovszky A., Hernadi L., Elekes K., Balaban P.M. Serotonergic input on identified command neurons in *Helix* // Acta Biol. Hung. 1993. V. 44. № 1. P. 97–101.