

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА КАРДИОРЕГУЛЯТОРНЫЕ РЕФЛЕКСЫ У МОЛЛЮСКОВ

Н. Н. Камардин, Е. Л. Корниенко, Г. П. Удалова, С. В. Холодкевич

Учреждение Российской Академии наук Санкт-Петербургский Научно-исследовательский Центр
экологической безопасности РАН, г. Санкт-Петербург, Россия,
e-mail: nik-kamardin@yandex.ru

С помощью метода электронной микроскопии показано сходство структур осфрадия у четырёх видов гастропод (сем. Viviparidae, Lymnaeidae и Littorinidae). Рецепторы осфрадиев являются первичной мишенью, реагирующей на химические вещества, в частности на ионы тяжёлых металлов. Выявлены изменения электрофизиологических реакций нейронов осфрадия при действии ионов тяжелых металлов (Cu, Cd). Нейроны осфрадия связаны с ганглиями ЦНС, которые, в свою очередь иннервируют сердце моллюсков. Существенной частью настоящей работы составляло исследование функциональных связей сердца моллюска с рецепторами осфрадия, реагирующими на химические вещества. Показаны изменения ЧСС при действии ионов тяжёлых металлов у интактных моллюсков *Littorina littorea* и после экстирпации осфрадия. Полученные результаты могут быть существенны для понимания нервных механизмов и путей, посредством которых ионы тяжёлых металлов влияют на сердечную активность. Они важны и потому, что ЧСС используется как демонстративный физиологический биомаркер для оценки физиологического состояния водных беспозвоночных, а также качества воды.

Введение

В настоящее время в экотоксикологических исследованиях в качестве биомаркера довольно широко применяется регистрация кардиоактивности декапод (Depledge et al., 1996; Холодкевич, 2007), а также моллюсков: двусторчатых и гастропод (Brown et al., 2004; Chelazzi et al., 2004; Santini et al., 2000; De Pirro, 2004; Romero, Hoffmann, 2008; Холодкевич и др. 2009). Хронотропные характеристики сердечных сокращений оказались достаточно информативными для

оценки функционального состояния указанных беспозвоночных как в нормальных условиях их существования, так и при действии токсических веществ, в том числе соединений тяжёлых металлов (ТМ) (Styrishave et al. 1995; Камардин и др. 2009, Холодкевич и др. 2009). Очевидно, что если в экотоксикологических исследованиях регистрации частоты сердечных сокращений (ЧСС) может быть достаточно для анализа ответной реакции со стороны кардиосистемы на внешнее химическое воздействие, то для понимания физиологических механизмов, протекающих при этом в организме, необходимо проследить нейрогормональные процессы в разных звеньях хемосенсорной системы, а также в нервных путях, связывающих её с кардиосистемой.

В настоящей работе предпринята попытка использования кардиоактивности как биомаркера у водных моллюсков *Littorina littorea* при загрязнении воды соединениями тяжёлых металлов. В задачу исследования входило также выявление возможного участия в ответных реакциях кардиосистемы осфрадия моллюсков, т.е. первичной мишени, на которую оказывают влияния ионы ТМ.

Материалы и методы

Морфологические исследования осфрадиев проводили на изолированных препаратах пресноводных моллюсков *Viviparus sp.*, *Lymnaea stagnalis* и морского беломорского моллюска *Littorina littorea*, а так же *Littorina angulifera*, используя трансмиссионную и сканирующую электронную микроскопию.

Трансмиссионная электронная микроскопия. Выделенные из животных осфрадии фиксировали традиционными методами в 1%-ном растворе OsO₄ и 2,5%-ного глутарового альдегида. Серий-

ные срезы изготавливали на ультратоме LKB-III и окрашивали спиртовым раствором уранилацетата и цитратом свинца по Рейнольдсу (Уикли, 1975). Смонтированные на блендах три-четыре последовательных среза просматривали на микроскопах Tesla BS-613 или Hitachi H-300.

Сканирующая электронная микроскопия. Препараты осфрадиев готовили обычными методами и просматривали с помощью электронного микроскопа Jeol T-200.

Нейрофизиологические методы изучения осфрадиев.

Осуществляли запись токов осфрадиальных нейронов *Lymanaea stagnalis* в конфигурации «целая клетка» (Hamill et al., 1981). В условиях фиксации тока импульсы записывались на чернилопишущем регистраторе Gould-Brush. Регистрировали медленные суммарные потенциалы рецепторной поверхности осфрадиев моллюсков *Viviparus sp.* с помощью электродов сравнения, предназначенных для рН-метра РН-340 и имеющих собственное сопротивление порядка 15 кОм. В нейрофизиологических опытах в качестве раздражителей использовали растворы L-глутаминовой аминокислоты и L-аспартата.

Регистрация кардиоактивности моллюсков. Записывали ЧСС переднежаберных моллюсков *Littorina littorea*, собранных на сублиторали Чупинской гупы Кандалакшского залива Белого моря. Животных сначала 3–4 недели акклиматизировали в лабораторных условиях в искусственной морской воде с соленостью 26,0 ‰ при постоянной температуре $11 \pm 0,3^\circ\text{C}$ и 24-часовом постоянном освещении (люминесцентная лампа в 60 Вт). Кардиоактивность регистрировали, используя оригинальный неинвазивный автоматизированный метод записи в режиме on-line (Холодkevич и др. 2007). Характеристики кардиоактивности обрабатывали статистически с помощью программы Статистика 6.0. В качестве токсических воздействий применяли соединения меди: CuSO_4 (0,2, 0,3, 0,5, 1,0 и 5,0 мг/л) и кадмия: CdCl_2 (0,3, 1,0 и 5,0 мг/л). Растворы вводили шприцом через катетер непосредственно в мантийную полость моллюска, свободно передвигавшегося в аквариуме. Всего проделано более 40 проб. Проводили ряд опытов на моллюсках с удаленным осфрадием. Для этого литорин наркотизировали, инъецируя в ногу 1,0 мл 20%-ный раствор $\text{MgCl}_2 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$ на дистиллированной воде, и после их обездвиживания осфрадий экстирпировали под контролем бинокулярного микроскопа МБС-9. В других экспериментах в аквариуме с моллюсками устанавливали повы-

шенное содержание ионов меди за счёт добавления CuSO_4 . Суммарная концентрация меди в аквариуме оказалась равной 45,5 мг/л, что было несколько выше обнаруженной в природных условиях (концентрация ионов меди в загрязненных точках Кандалакшского залива Белого моря может достигать 30,0 мг/л). У моллюсков определяли способность к аккумуляции за 26 суток ионов Cu^{2+} с помощью атомно-адсорбционного спектрофотометра С-117-М 1. Контролем служили моллюски, находившиеся в чистой морской воде при прочих сходных условиях.

Результаты

По нашим данным, наиболее простое строение имеют осфрадии у представителей семейств Viviparidae и Littorinidae (Gastropoda, Prosobranchia). Обычно это уплощенный валик, образованный однослойным цилиндрическим эпителием (рис. 1, А). Центральную часть валика занимает рецепторная зона, а по его бокам располагаются две мерцательные зоны, сформированные ресничными клетками (рис. 1, Б).

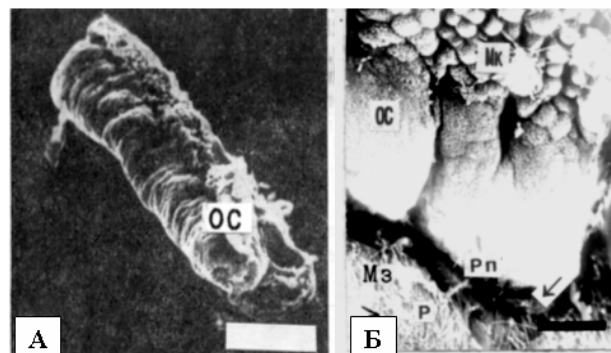


Рис. 1. А – внешний вид осфрадия моллюска *Viviparus sp.*; Б – ультраструктурная организация поверхности осфрадия моллюска *Littorina littorea*

Обозначения: Ос – осфрадий, Мк – мерцательная клетка, Мз – зона мерцательных клеток, Рп – рецепторная поверхность, Р – реснички. Масштаб: 1 мкм

Особую роль в рецепции играют небольшие пограничные участки осфрадиальной поверхности, имеющие вид щели или небольшого желобка и располагающиеся между ресничной и рецепторными зонами (рис. 2, А, В). Микроворсинчатые опорные клетки латеральных зон осфрадия в области щели обладают широкими цитоплазматическими выростами – «воротничками» с высотой до двух мкм. Плотнo сомкнутые «воротнички» изолируют от окружающей среды небольшое пространство, заполняемое микро-

ворсинками и короткими видоизмененными цилиями рецепторных клеток (рис. 2, Б, Г). Округлые или веретеновидные тела рецепторных клеток располагаются в рецепторной зоне ближе к базальной мембране и имеют дифференцированные центральный и периферический отростки (рис. 2, А). Рецепторная зона имеет ровный рельеф с пучками ресничек одиночных ресничных клеток. Цилии хемосенсорных клеток располагаются в слое микроворсинок опорных клеток и лишены корешков (рис. 2, Б).

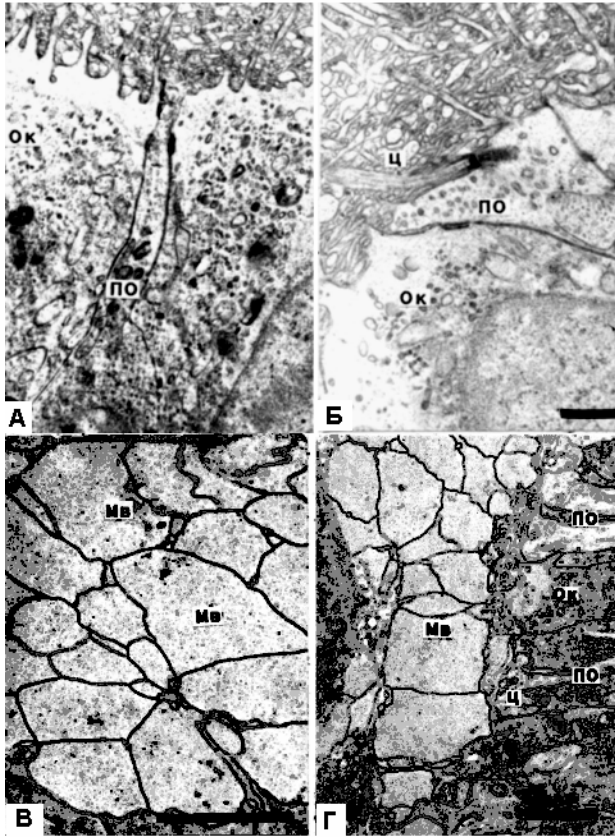


Рис. 2. Ультраструктурная организация рецепторной и щелевой зон моллюска *Littorina littorea*. Рецепторная клетка (А), видоизменённые реснички (цилии) периферических отростков рецепторных клеток (Б), ультраструктура микроворсинчатых опорных клеток зоны щели (В, Г). Масштаб: 1 мкм

Обозначения: Рк – рецепторная клетка, ПО – периферический отросток рецепторной клетки, Ок – опорная клетка, Ц – цилия, Бт – базальное тело реснички, Мв – микроворсинка, ПГ – пигментная гранула. Масштаб: 1 мкм.

Известна (Croll, 1983) чувствительность моллюсков к аминокислотам, поэтому в электрофизиологических опытах нами регистрировались ответы осфрадия живородки (*Viviparus* sp.) на раствор L-глутаминовой аминокислоты (10^{-4} моль/л), апплицированный на его поверх-

ность. В ответ на это воздействие возникал суммарный рецепторный потенциал (СРП) поверхности осфрадия, представлявший собой волну деполяризации длительностью до 40 секунд и амплитудой более 100 мкВ (рис. 3, I, А). При последующем трехминутном воздействии ионов меди в концентрации 4,0 ммоль/л амплитуда СРП на раствор L-глутаминовой аминокислоты снижалась в среднем на 51% (рис. 3, I, Б). Это указывало на прямое влияние меди на рецепторные процессы в осфрадии.

Нейроны препарата осфрадия прудовика отвечали реакций возбуждения на аппликацию L-аспартата в концентрации 10^{-5} моль/л. Трёхминутная перфузия осфрадия раствором хлористого кадмия (4,0 ммоль/л) приводила к модификации этой реакции (рис. 3, II).

Записывая кардиоактивность морского моллюска *Littorina littorea* неинвазивно с помощью прикрепленных к раковине датчиков получили следующие результаты. До применения соединений меди или кадмия ЧСС равнялась в среднем для выборки $18 \pm 2,3$ уд/мин, при этом наблюдались индивидуальные колебания величины ЧСС. Инъекции в мантийную полость через катетер 1 мл морской воды с растворами соединений Cd или Cu вызывали увеличение частоты сердечных сокращений, причём наблюдался дозозависимый эффект (рис. 4, I, II). Величина приращения ЧСС составляла 2–7 ударов в минуту и зависела от концентрации инъецированного раствора ТМ. Латентный период реакции колебался от 3 до 5 минут. Длительность реакции зависела от концентрации и в случае с 5,0 мг/л раствором меди могла достигать полутора часов (рис. 4, I, Г). При этом контрольные инъекции морской воды не вызывали достоверных изменений ЧСС (рис. 4, II, А).

Особое значение осфрадия литорин для проявления обнаруженной со стороны ЧСС реакции проявилось в опытах с его экстирпацией. Операция вызывала торможение двигательной активности моллюсков, однако уже через 2–3 суток она восстанавливалась: моллюски начинали ползать и питаться. При этом по сравнению с дооперационной величиной ЧСС возросла в 2 раза и составила 45,3 уд/мин (рис. 4, III, А) Можно предположить, что осфрадий у литорин оказывает постоянное тормозное воздействие на сердце, поэтому его удаление приводило к тахикардии. На вторые сутки, уже при восстановленной двигательной активности моллюска, но при высокой фоновой ЧСС, инъекция Cd^{+2} (5,0 мг/л) не вызвала заметного изменения ЧСС (рис. 4, III, А).

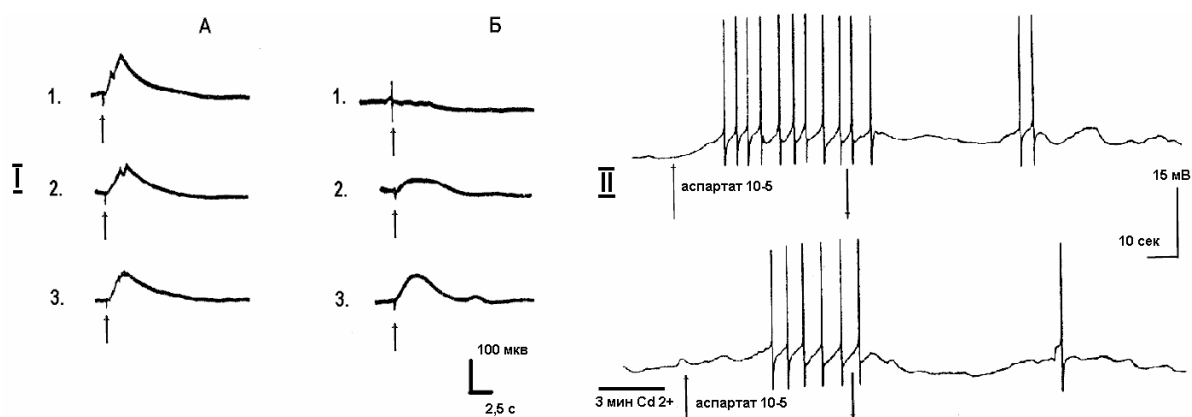


Рис. 3. I – Суммарные рецепторные потенциалы поверхности осфрадия моллюска *Viviparus* sp. в эксперименте с тремя последовательными аппликациями (1–3) L-глутаминовой аминокислоты (10^{-4} моль/л) (А) и тремя последующими, но при трёхминутного воздействия на осфрадий Cu^{2+} (4. 0 моль/л) (Б). II-Регистрация «patch-clamp whole cell» в условиях фиксации тока рецепторных нейронов осфрадия прудовика при аппликации L-аспартата в норме (верхняя кривая) и после 10-ти минутной перфузии препарата ионами Cd^{2+} (1,0 мМ)

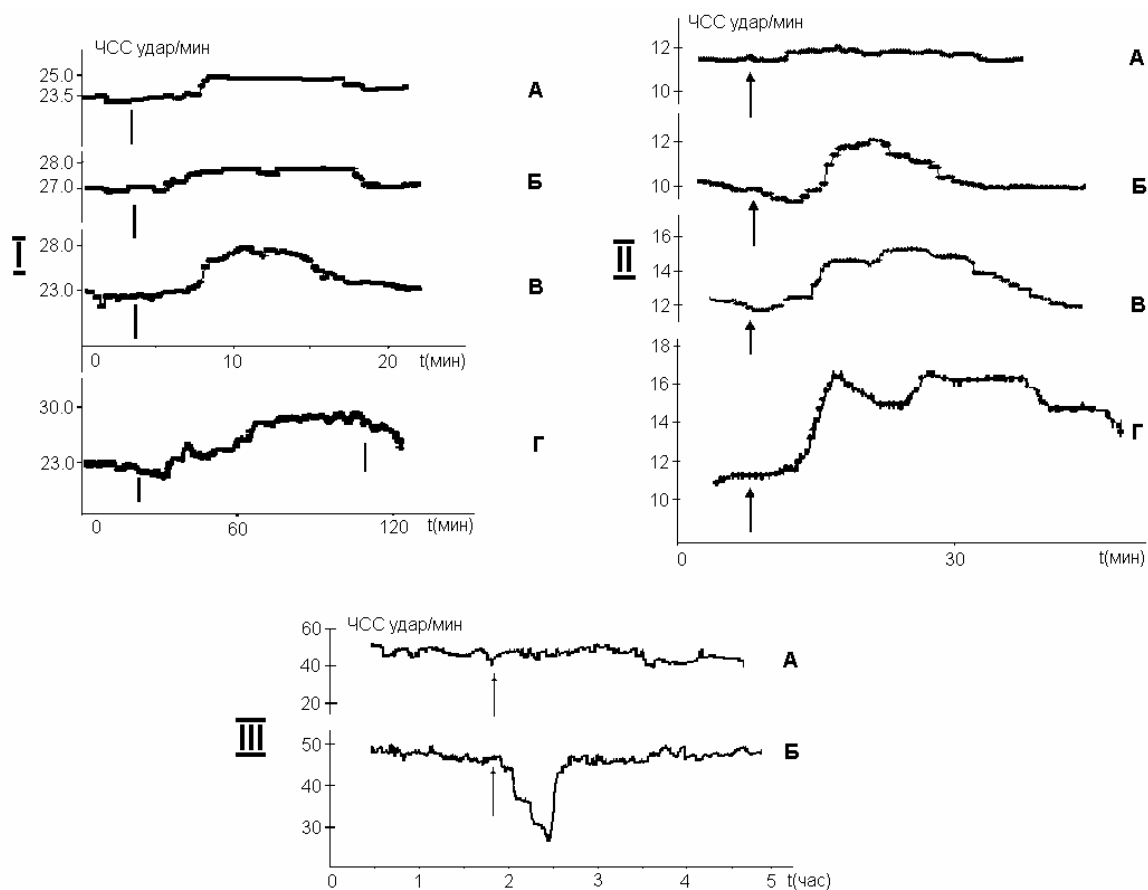


Рис. 4. Оригинальные записи изменения ЧСС моллюсков *Littorina littorea* в ответ на введение в мантийную полость воды с различными концентрациями солей меди или кадмия. I – Изменения ЧСС при действии растворов CuSO_4 : А, Б, В, Г – соответственно – 0,2, 300, 1000 и 5000 мг/л. Первая стрелка – момент начала инъекции, вторая – начало инъекции чистой морской воды. II – Изменения ЧСС при действии одинаковых объёмов чистой морской воды (А) и растворов CdCl_2 с концентрациями 0,5 мг/л (Б), 5,0 мг/л (В) и 5 мг/л (Г). Стрелка – момент начала инъекции. III – Запись ЧСС у моллюска с удалённым осфрадием при инъекции раствора CdCl_2 (5,0 мг/л) через двое (А) и пять (Б) суток после экстирпации. Стрелка – момент начала инъекции.

Однако на 5–7 сутки после экстирпации осфрадия, в ответ на инъекцию этого же раствора удалось зарегистрировать снижение ЧСС (рис. 4, III, Б). Возможно, за это время произошла, по крайней мере, частичная регенерация структур осфрадия и восстановление нервной проводимости от этого органа через структуры ЦНС до сердечной системы моллюска. Принципиальная способность структур осфрадиев к регенерации показана (Камардин, Ноздрачев, 2004).

В серии длительных, до 1,5 месяцев, наблюдений за кардиоактивностью литорин при пребывании их в морской воде с концентрацией Cu значительно более высокой (45,5 мкг/л), чем нормальной (для Белого моря это 3,0–5,0 мкг/л),

выявили уже на 3–5 сутки у большинства моллюсков небольшое, но достоверное увеличение ЧСС (рис. 5. I). На 5 сутки обнаружили также увеличение внутритканевой концентрации Cu^{2+} , которая превысила нормальную (18 мкг/г влажного веса.) на 17%. В течение последующих 26 дней наблюдалось дальнейшее увеличение (максимально на 22 день до 68 мкг/г) внутритканевой концентрации Cu^{2+} (рис. 5, II). Параллельно этому изменению внутритканевой концентрации меди шло постепенное возрастание ЧСС до 50–75% по сравнению с нормой (рис. 5, I). При замене загрязнённой воды на чистую морскую внутритканевая концентрация меди увеличивалась, в то время как ЧСС снижалась (рис. 5).

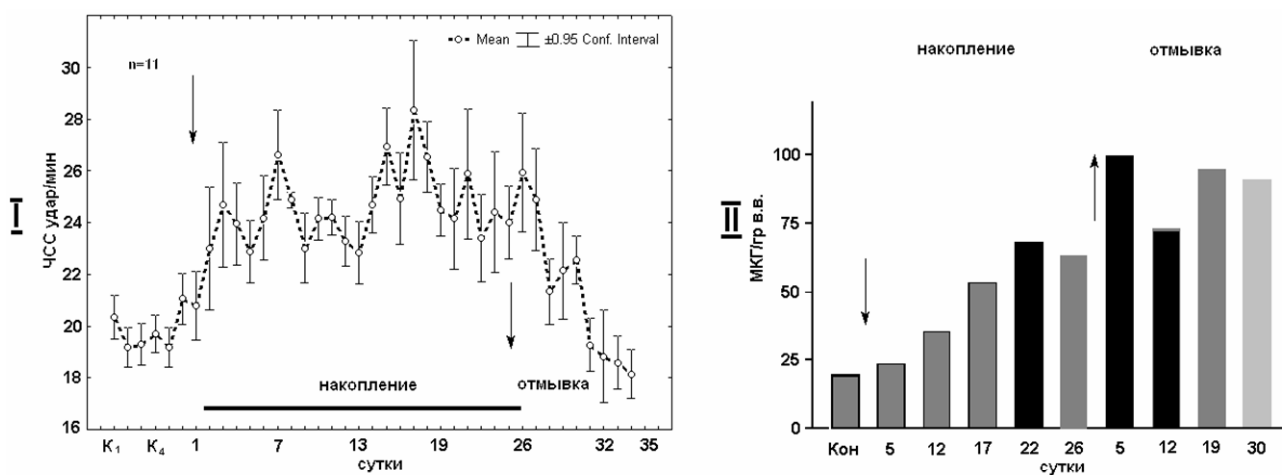


Рис. 5. I – Средние для выборки ($n=11$) моллюсков *Littorina littorea* значения ЧСС при нахождении животных в контрольной морской воде ($K_1 - K_4$) и в морской воде с раствором CuSO_4 с концентрацией 45,5 мкг/л (1–36 суток). Указаны доверительные интервалы для подопытных моллюсков за конкретные сутки ($p \leq 0,01$). II – Содержание меди в тканях моллюсков *Littorina littorea* в мкг на грамм влажного веса в контроле (Кон) и во время длительной их экспозиции в морской воде с концентрацией CuSO_4 45,5 мкг/л

Обсуждение результатов

В процессе эволюции у моллюсков сформировался специализированный сенсорный орган – осфрадий, реагирующий на изменение солёности, осмотического давления, гипоксию, гиперкапнию, аминокислоты и различные запаховые вещества. Обладая химической мультисенсорностью, осфрадий участвует в регуляции широкого спектра физиологических и поведенческих реакций, в том числе дыхания, питания, реакции избегания хищника, хоминга. При загрязнении среды обитания моллюсков, в частности ТМ, возможны неблагоприятные для организма изменения указанных реакции. При этом первой мишенью действия различных химических веществ являются периферические рецепторные осфради-

альные органы. У большинства представителей классов Mollusca осфрадий находится в мантийной полости в непосредственном контакте с водной средой (Камардин, Ноздрачев, 2004). Исследование ультраструктуры осфрадиев прудовика, живородки и литорин выявило их сложную рецепторную природу. До сих пор, однако, немного работ, посвященных воздействию ТМ на рецепторные клетки осфрадия. Так, показано негативное влияние HgCl_2 (10–20 мкМ/л) на электровозбудимые Ca^{2+} входные токи ганглиозных клеток и выходные электровозбудимые K^+ токи сенсорных клеток осфрадия прудовика (Kamardin et al., 1999). На ионы ТМ эти нейрональные структуры реагируют, благодаря свойственной им возбудимости и наличию разнообразных каналов, рецепторов, а также ион – канал – рецепторных ком-

плексов (S-Rozsa, Salanki, 1990; Riss, Osipenko, 1994). В идентифицированных нейронах ЦНС лёгочных моллюсков наблюдали в ответ на действие ТМ и различных медиаторов изменение импульсной активности, а также Na^+ и K^+ мембранных токов (Szucs et al. 1994). В наших электрофизиологических опытах приведены данные о тормозном влиянии трехминутного воздействия ионов Cu^{2+} на суммарный рецепторный потенциал (СРП) осфрадиальной поверхности живородки, а также влияние ионов Cd^{2+} на импульсную активность рецепторных клеток осфрадия. Некоторые из исследованных клеток осфрадия могут являться важными регуляторными элементами кардиореспираторной системы моллюсков (Winlow, Syed, 1992; Сафонова и др., 2008). По-видимому, через систему рецепторных клеток осфрадия, нервных путей и нейронов ЦНС реализуются ответные реакции кардиосистемы моллюсков на химические раздражители, в том числе и ТМ.

Непосредственное воздействие ионов ТМ на рецепторы осфрадия вызывает изменение текущих электрических процессов в этих органах, что в свою очередь посредством активации ганглиев ЦНС и регуляторных нейрогормональных процессов влияет на деятельность физиологических систем организма, в частности, как это показано в данном исследовании, на работу сердца. Это отчётливо проявилось в хронических экспериментах с регистрацией ЧСС литорин, находившихся в чистой воде или в загрязнённой соединениями меди. У интактных моллюсков кратковременная инъекция ионов меди или кадмия в мантийную полость приводила к увеличению ЧСС, причём наблюдался дозозависимый эффект. Нарушение периферического звена хемосенсорной системы, в результате экстирпация осфрадия, привело к повышению ЧСС почти в 2 раза. По-видимому, в рефлекторной хемосенсорной системе (осфрадий-ЦНС-сердце) резко снизились тормозные влияния на сердце. На 2–3 сутки инъекция Cd^{2+} в мантийную полость не вызвала изменения ЧСС. Существенно, что на 5–7 сутки после удаления осфрадия в ответ на инъекцию кадмия было зарегистрировано снижение ЧСС. Это указывало на восстановление центральной регуляции кардиосистемы, возможно, в результате регенерации рецепторов осфрадия. Снижение, а не повышение ЧСС (как до операции), можно объяснить предельно высокими для моллюска фоновыми значениями ЧСС.

Хроническое пребывание (до полутора месяца) литорин в воде с высокой концентрацией

ионов меди вызвало увеличение ЧСС и возрастание внутритканевой концентрации Cu^{2+} . Тахикардия была обусловлена, по-видимому, не только воздействием повышенной концентрации меди на периферическое звено хемосенсорной системы (рецепторы осфрадия), но и непосредственным воздействием ТМ на нейроны ЦНС. Обнаруженная нами тахикардия при воздействии ТМ (в острых и хронических опытах), указывает на активизацию катехоламиновой системы регуляции. Увеличение ЧСС могло быть одним из механизмов детоксикации, так как оно способствует усилению фильтрационной способности гемолимфы в полости сердечной сумки, адсорбции ТМ в почечном эпителии и их последующим выведением из организма. Процессы биохимической детоксикации организма моллюска состоит в переводе меди из активной (токсической) и растворенной в гемолимфе ионной формы в менее биологически активную, связанную с металлотионеинами и/или окруженную биомембранами. (Hispard et al., 2008). Наблюдавшееся нами увеличение количества меди в тканях литорин в первые недели отмывки можно объяснить возрастающим уровнем низкомолекулярных тионеиноподобных белков, связывающих растворимый пул меди и снижающий концентрацию активной формы Cu^{2+} (Talbot, Magee, 1978). Постепенная нормализация ЧСС только к 10 дню отмывки происходила, вероятно, за счёт уменьшения концентрации Cu^{2+} в гемолимфе.

Итак, проведённые нами эксперименты позволяют считать доказанной связь периферического рецепторного органа (осфрадия) с нейрогуморальной системой регуляции сердца моллюсков. На появление в воде ТМ в периферическом звене хемосенсорной нервной системы изменяются текущие сенсорные (электрические) реакции, что может служить сигналом к запуску кардиорегуляторных возбуждающих механизмов, осуществляемых через ганглии ЦНС. Поступление ТМ в гемолимфу приводит к модуляции нервных и медиаторных процессов и возникновению физиологических и биохимических механизмов детоксикации. Одним из путей детоксикации является усиление кардиоактивности.

Выводы

Проведено морфофизиологическое исследование осфрадиев брюхоногих моллюсков с целью выяснения влияния периферической хеморецепции на кардиоактивность.

Полученные результаты являются физиологическим обоснованием для использования метода неинвазивной регистрации в реальном времени кардиоактивности моллюсков, являющейся весьма демонстративным физиологическим биомаркером при проведении исследований, направленных, с одной стороны, на определение функционального

состояния гидробионта, а, с другой стороны, на оценку степени загрязнения пресноводной и морской воды соединениями тяжёлых металлов.

Работа выполнена при поддержке средств гранта РФФИ № 08-04-92424-BONUS_a, а также гранта РФФИ № 10-05-00875

Литература

Камардин Н. Н., Кузнецова Т. В., Холодкевич С. В. и др. Биоиндикация загрязнения поверхностных вод Белого моря тяжёлыми металлами на основе биомаркеров кардиоактивности брюхоногих моллюсков // *Экологическая безопасность*. 2009. № 1–2 (21–22). С. 61–64

Камардин Н. Н., Ноздрачёв А. Д. Осфримальные сенсорные системы моллюсков. 2004. СПб. 172 с.

Сафонова Т. А., Журавлев В. Л., Ноздрачев А. Д. Кардиореспираторная система моллюсков: структура, функции, механизмы регуляции. СПб Университет., 2008, 244 с.

Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. 1975. М. 324 с.

Холодкевич С. В. Биоэлектронный мониторинг уровня токсичности природных и сточных вод в реальном времени // *Экологическая химия*. 2007. № 16 (4). С. 223–232.

Холодкевич С. В., Кузнецова Т. В., Иванов А. В., и др. Особенности движения створок и кардиоактивности двусторчатых моллюсков при действии различных стрессоров // *Журн. эвол. биохим. и физиол.* 2009. Т. 45. № 4. С. 432–434.

Brown R.J., Galloway T.S., Lowe D. Differential sensitivity of three marine invertebrates to copper assessed using multiple biomarkers // *Aquat. Toxicol.*, 2004/ Vol. 66. № 3. P. 267–278.

Chelazzi G., De Pirro M., Williams G.A. Different cardiac response to copper in limpets from metal polluted and clean shores of Hong Kong // *Mar. Environ.* 2004. Vol. 58. P. 83–93.

Depledge M.H., Lundebye A.K., Curtis T. et al. Automated interpulse-duration assessment (AIDA) a new technique for detecting disturbances, in cardiac activity in selected macroinvertebrates // *Marine Biol.* 1996. Vol. 26. P. 313–319.

De Pirro M. Ecophysiological responses to copper natural and anthropogenic extreme stressors, in marine mollusks. PhD thesis. Univ. Florence/ 2004. P. 1–299.

Hamill O.P., Marty A., Neher E et al. Improved patch-clamp techniques for high resolution current recording from cell and cell-free membrane patches // *Pflügers Arch.* 1981. Vol. 391. P. 85–100

Haszprunar G. The fine morphology of the osphradial sense organs of the Mollusca. I. Gastropoda,

Prosobranchia // *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 1985. Vol. 307. P. 457–496.

Haszprunar G. The fine morphology of the osphradial sense organs of the Mollusca. III. Placophora and Bivalvia // *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 1987. Vol. 315. P. 37–61

Hispard f., Schuler D., de Vaufléury A., et al. Metal distribution and metallothionein induction after cadmium exposure in the terrestrial snail *Helix aspersa* // *Environ. Toxicol. Chem.* 2008. № 27 (7). P. 1533–1542.

Kamardin N.N., Szucs A., S-Rozsa K. Influence of Hg Cl₂ on the osphradial multisensory system of *Lymnaea stagnalis* L // *Acta Biol. Hung.* 1999. Vol. 50. № 1–3. P.

Kiss T., Osipenko O.N. Toxic effects of heavy metals on ionic channels // *Pharmacological Reviews*. 1994. Vol. 46. № 3. P. 245–267

Romero S.M., Hoffmann A. Role of the cardiac nerve in the adaptive changes of heart rate in response to an aversive stimulus in *Megalobulimus mogianensis* // *Brasilia J. Medical and Biological Research*, 2008. Vol. 41. P. 432–436

Santini G., Williams G.A., Chellazzi G. Assessment of factors affecting heart rate of the limpets *Patella Vulgata* on the natural shore // *Mar. Biol.* 2000. Vol. 137. № 2. P. 291–296.

S-Rozsa K., Salanki J. Heavy metals regulate physiological and behavioural events by modulation ion channels in neuronal membranes of mollusks // *Environmental monitoring and assessment*. 1990. Vol. 14. P. 363–375.

Styrishave B., Rasmussen A.D., Depledge M.H. The influence of bulk and trace metals on the circadian rhythm of rates in freshwater crayfish *Astacus astacus* // *Marine pollution Bull.* 1995. Vol. 31 (1–3). P. 87–92.

Szucs A., Salanki J., S-Rozsa K. Effects of chronic exposure to cadmium – or lead-enriched environments on ionic currents of identified neurons in *Lymnaea stagnalis* L. // *Cellular and Molecular Neurobiology*/ 1994. Vol. 14. № 6. P. 769–780.

Talbot V., Magee R.G. Naturally occurring heavy metalbinding protein in invertebrate // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1978. Vol. 7. P. 149–168.

Winlow W., Syed N. I. The respiratory central pattern generator of *Lymnaea* // *Acta Biol. Hung.* 1992. Vol. 43. № 1–4. P. 399–408.

CHANGES OF HEART REACTIONS UNDER INFLUENCES OF HEAVY METAL IONS ON MOLLUSKS

N.N. Kamardin, E.L. Kornienko, G.P. Udalova, S.V. Kholodkevich

Scientific Research Center for Ecological Safety RAS, Sankt-Petersburg, Russia
e-mail: nik-kamardin@yandex.ru

By means of electronic microscopy technique it is showed resemblance of osphradium structures at four species of freshwater and marine gastropods (Viviparidae, Lymneidae and Littorinidae). The osphradium receptors are the primary target reacting on chemical substances, in particular heavy metals ions. It is showed alterations of electrophysiological reactions of osphradium neurons under influence of heavy metal ions (Cu, Cd). The neurons of osphradium connect with CNS ganglions, which in turn innervate mollusks heart. The essential part of our study was research of

functional connects of mollusk heart with osphradium receptors, reacted on chemical substances. It is described changes heart reactions under influences of heavy metal ions on intact mollusks *Littorina littorea* and after osphradium extirpation. Received results can be essential for understanding of neuronal mechanisms and ways by means of heavy metal ions influence on heart activity. It is importance also because in present time HR is used as demonstrative physiological biomarker for study of functional state of water invertebrates and for water quality estimation.