

УДК 577.171:593.3

ОСОБЕННОСТИ НЕЙРОСЕКРЕТОРНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНА РЕТЦИУСА МЕДИЦИНСКОЙ ПИЯВКИ

© 2020 г. С. С. Сергеева*

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: sveta.serga@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.04.2018 г.

После доработки 17.10.2019 г.

Принята к публикации 17.10.2019 г.

Обобщены литературные и собственные экспериментальные данные, посвященные нейросекреторной активности клетки Ретциуса. Показано, что серотонинэргическая клетка Ретциуса обладает, по крайней мере, пятью нейросекреторными функциями: нейротрансмиссивной – серотонин, синтезируемый клеткой, является медиатором, активирующим интернейроны; нейроэндокринной – эндогенный серотонин, выделяемый в межклеточное пространство ганглия, влияет на разные типы 5-HT-рецепторов соседних нейронов, возбуждая или тормозя их; паракринной – эндогенный серотонин поглощается глиальной клеткой; эндокринной – эндогенный серотонин секретируется в кровь животного, оказывая воздействие на весь организм в целом; аутокринной – соматический серотонин, выделяемый нейроном, взаимодействует с рецепторами на своей мембране по механизму отрицательной обратной связи (аутоингибирования), блокируя электрическую и секреторную активность.

Ключевые слова: серотонин, нейрон Ретциуса, нейросекреторная активность, медицинская пиявка

DOI: 10.31857/S0042132420010056

ВВЕДЕНИЕ

Серотонин является важнейшим медиатором объемной и локальной передачи информации в нервной ткани беспозвоночных животных. Одним из примеров таких животных, имеющих крупные серотонинэргические нейроны, являются пиявки – беспозвоночные животные рода *Hirudo*, семейства Hirudinidae, отряда Бесхоботные пиявки, типа Кольчатые черви.

НЕЙРОСЕКРЕТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНА РЕТЦИУСА

Более 100 лет назад Густав Ретциус (Retzius, 1891), окрашивая метиленовым синим нервную систему двух типов пиявок *Hirudo medicinalis* и *Aulostoma gulo*, впервые подробно описал две самые крупные нервные клетки, расположенные на вентральной поверхности в центре каждого из 21 брюшного нервного ганглия. Впоследствии эти нейроны были названы его именем – клетки, или нейроны, Ретциуса (НР). Как оказалось, строение этих крупных клеток размером 80–100 микрон в полной мере отражает те многочисленные секреторные функции, которые клетка Ретциуса выполняет в организме животного. От тела каждого нейрона отходит один центральный короткий отросток. Эксперименты по окрашиванию

НР люцифером желтым выявили, что от центрального отростка НР в самом ганглии отходит множество мелких веточек (De-Miguel, Trueta, 2005). На расстоянии нескольких сотен микрометров центральный отросток разветвляется на три крупные ветви – это, так называемая, зона бифуркации, область, где в нейроне генерируются потенциалы действия. После зоны бифуркации два нервных отростка через боковые коннективы нервного ганглия направляются к стенке тела, где иннервируют слизистые железы. Третий отросток через межганглионарную коннективу направляется в два последующих нервных ганглия, где также имеет много мелких веточек. В обзорных статьях (Lent, 1981; Carretta, 1988) приведены описания многочисленных гистохимических исследований, доказавших, что сома и отростки НР содержат серотонин. Электронно-микроскопические и флуоресцентные методы исследования выявили, что серотонин в соме и отростках НР содержится соответственно в плотных и прозрачных везикулах (Coggeshall, 1972; Yaksta-Sauerland, Coggeshall, 1973; Bruns et al., 2000). В отличие от других серотонинсодержащих клеток в ганглиях НР – единственные клетки, которые синтезируют серотонин не только в качестве медиатора для синаптической передачи. Эксперименты с внутриклеточным раздражением НР показали, что в

зависимости от частоты электрического раздражения можно вызвать либо синаптический, либо соматический экзоцитоз серотонина этой клеткой (De-Miguel, Trueta, 2005; De-Miguel, Nicholls, 2015), то есть НР функционирует либо как классический тормозный нейрон, либо как секреторная клетка.

Изучение оптического сигнала флуоресцентного красителя Oregon Green 488 ВАРТА-1 АМ (ОГВ1) – индикатора ионов Ca^{2+} – показало, что синаптический экзоцитоз серотонина активируется при низкочастотной стимуляции нейрона (Catarsi, Drapeau, 1996; Beck et al., 2001). При посредстве синаптической связи с интернейронами клетка Ретциуса регулирует активность мотонейронов (Nusbaum, Kristan, 1986), модулируя мышечную активность пиявки (Lent, 1973; Mason et al., 1979), которая вызывает плавание (Willard, 1981; Kristan, Nusbaum, 1982–1983; Lent, 1985; Angstaadt, Friesen, 1993), укорочение и изгиб тела (Lockery, Kristan, 1990).

Внутриклеточная стимуляция НР высокой частотой (10–20 Гц) вызывает соматический экзоцитоз серотонина (De-Miguel, Trueta, 2005; De-Miguel, Fuxe, 2012; De-Miguel, Nicholls, 2015). Изучение именно этой функции нейрона в последнее время привлекает внимание исследователей. Электронно-микроскопическим и люминесцентным методами показано, что при высокочастотном раздражении происходит как движение плотных непрозрачных везикул, заполненных серотонином, к внутренней поверхности мембраны НР, так и выход серотонина в межклеточное пространство ганглия. Такой реакции не наблюдали при раздражении нейрона частотой 1 Гц (Trueta et al., 2003; De-Miguel, Trueta, 2005). Соматический экзоцитоз приводит к повышению уровня серотонина во внеклеточном пространстве, изменяя (повышая или понижая) импульсную активность нервных клеток в ганглии (Mar, Drapeau, 1996; Moshtagh-Khorasani et al., 2013). Регистрация электрической активности нейронов в нервном ганглии показывает, что стимуляция клеток Ретциуса может производить эффекты, которые длятся несколько часов, модулируя поведение животных в течение длительного периода, что авторы объясняют длительным соматическим экзоцитозом серотонина (Kristan et al., 2005; De-Miguel, Nicholls, 2015). Известно, что НР окружен гигантской глиальной клеткой (Coggeshall, Fawcett, 1964; Kuffler, Nicholls, 1966), активно поглощающей серотонин и транспортирующей его не только в другие участки нервного ганглия, но и в кровь животного (Willard, 1981; Bruns et al., 1993; Bruns et al., 2000).

В наших экспериментах при синаптическом раздражении НР частотой 10 Гц было определено, что в норме при этой частоте раздражения наблюдается торможение его электрической активности по типу реакции привыкания (Сергеева,

1994). Мы предположили, что эта электрофизиологическая реакция может быть связана с феноменом аутоингибирования, при котором соматический серотонин, выделяемый клеткой при высокочастотном раздражении, оказывает тормозное влияние на возбудимую мембрану своей клетки. Действительно, блокада кальций-зависимого выброса соматического серотонина блокаторм цитоскелета цитохалазином и блокаторм Са-каналов L-типа нимодипином снимает тормозное влияние серотонина на импульсную активность НР (Сергеева, Лактионова, 2017). Важно отметить, что схожая реакция на серотонин наблюдается в пресинаптических окончаниях НР, содержащих 5-НТ₁-рецепторы, взаимодействие которых с избытком серотонина в синаптической щели подавляет и выход нейромедиатора, и электрическую активность постсинаптического нейрона (Cercós et al., 2009).

Большое количество гранул серотонина обнаружено в периферических отростках, которые направляются через боковые коннективы нервного ганглия к мышечной стенке тела пиявки. Через эти нервные отростки НР осуществляет контроль над железистыми клетками, расположенными в поверхностных слоях мышц (Mason et al., 1979). Выявлена взаимосвязь между секреторной активностью железистых клеток и количеством вызванных потенциалов действия НР (Nicholls, Baylor, 1968). Выделяемая железами слизь играет важную роль в защите тела пиявки от воздействия окружающей среды, в размножении, во взаимодействии особой друг с другом. Как и в случае соматического экзоцитоза, серотонин выделяется из отростков НР не синаптически, а путем прямого экзоцитоза (Ehinger et al., 1968; Marsden, Kerkut, 1969).

Обзор литературных и собственных экспериментальных данных, посвященных нейросекреторной активности НР, позволяет заключить, что одна клетка обладает целым рядом нейросекреторных функций. Во-первых, нейротрансмиттерной – серотонин, синтезируемый НР, является медиатором, активирующим интернейроны. Во-вторых, нейроэндокринной – эндогенный серотонин, выделяемый в межклеточное пространство ганглия, влияет на разные типы соматических 5-НТ-рецепторов соседних нейронов, возбуждая или тормозя их. В-третьих, паракринной – эндогенный серотонин переносится во внеклеточное пространство ганглия к глиальной клетке и поглощается ею. В-четвертых, эндокринной – эндогенный серотонин секретируется в кровь животного, связывая нервную систему с организмом животного. В-пятых, аутокринной – серотонин, выделяемый нейроном, реагирует с рецепторами на своей мембране по механизму отрицательной обратной связи (аутоингибирование), блокируя и электрическую, и секреторную активность (Сергеева, Лактионова, 2017).

Показано, что тип секреторной активности НР зависит от его синаптических входов. Выявлено, что раздражение кожных покровов животного вызывает возбуждающий постсинаптический потенциал и спайки в НР (Szczipak, Kristan, 1995; Velázquez-Ulloa et al., 2003). В модельных экспериментах при внутриклеточном раздражении НР (De-Miguel, Trueta, 2005; De-Miguel, Nicholls, 2015) или при раздражении межганглионарной коннективы (Сергеева, 1995) определено, что импульсный ответ зависит от частоты активации, которая совпадает с частотными характеристиками трех типов механосенсорных нейронов пиявки: N, P и T (De-Miguel, Nicholls, 2015; Fischer et al., 2017). Механосенсорные нейроны либо прямо, либо через интернейроны вызывают возбуждающий постсинаптический потенциал и потенциалы действия в НР (De-Miguel, Trueta, 2005; De-Miguel, Nicholls, 2015), следовательно, могут привести к активации того или иного типа его нейро-секреторной активности, жизненно важной для пиявки в каждый конкретный момент. Так механосенсорные ноцептивные клетки (N-нейроны) генерируют спайки низкой частоты при сильном (болевым) давлении на стенку тела животного (Fischer et al., 2017), возможно, вызывая стимуляцию синаптического выброса серотонина и, как следствие, активацию мышц. Слабое давление на стенку тела или поглаживание активируют T-механосенсорные клетки, генерирующие высокочастотные разряды (Fischer et al., 2017), возможно, вызывающие стимуляцию соматического выброса серотонина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные экспериментальные данные демонстрируют, что НР является уникальной нейро-секреторной клеткой, обладающей плеiotропной (полифункциональной) активностью, корректирующей все стороны жизнедеятельности пиявки. Хорошо известно, что серотонинэргические нейроны широко представлены у позвоночных животных, они имеют схожее строение и выполняют в организме те же функции, что и у беспозвоночных. Однако изучение многих внутриклеточных процессов, связанных с их функциональной активностью, в ЦНС затруднено. Особенно это касается соматического экзоцитоза, наличие которого подтверждается лишь косвенными свидетельствами. Прямые доказательства наличия соматического экзоцитоза и его механизмов впервые были продемонстрированы на НР, что, несомненно, делает НР полезной моделью для объяснения процессов внесинаптического и синаптического высвобождения серотонина в ЦНС позвоночных (Bruns et al., 2000; Trueta et al., 2003; De-Miguel, Trueta, 2005; Cercós et al., 2009).

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013–2020 гг. (ГП-14, раздел 64).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Сергеева С.С.* Изменение характера импульсной активности нейронов Ретциуса при возрастании частоты его синаптической активации // Журн. ВНД. 1994. Т. 44 (6). С. 1144–1147.
- Сергеева С.С.* Электрофизиологическое исследование топографии аксо-дендритных синапсов нейрона Ретциуса пиявки // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 1995. Т. 81 (10). С. 117–120.
- Сергеева С.С., Лактионова А.А.* Связь нервной и паракринной функций нейрона Ретциуса медицинской пиявки при синаптической активации // Мат. XXIII съезда Физиол. общ. им. И.П. Павлова. Воронеж, 2017. С. 2015–2016.
- Angstaadt J.D., Friesen W.O.* Modulation of swimming behavior in the medicinal leech: I. Effects of serotonin on the electrical properties of swim-gating cell 204 // J. Comp. Physiol. A. 1993. V. 172 (2). P. 223–234.
- Beck A., Lohr C., Deitmer J.W.* Calcium transients in subcompartments of the leech Retzius neuron as induced by single action potentials // J. Neurobiol. 2001. V. 48 (1). P. 1–18.
- Bruns D., Engert F., Lux H.D.* A fast activating presynaptic reuptake current during serotonergic transmission in identified neurons of *Hirudo* // Neuron. 1993. V. 10 (4). P. 559–572.
- Bruns D., Riedel D., Klingauf J., Jahn R.* Quantal release of serotonin // Neuron. 2000. V. 28 (1). P. 205–220.
- Carretta M.* The Retzius cells in the leech: a review of their properties and synaptic connections // Comp. Biochem. Physiol. A Comp. Physiol. 1988. V. 91 (3). P. 405–413.
- Catarsi S., Drapeau P.* Modulation and selection of neurotransmitter responses during synapse formation between identified leech neurons // Cell Mol. Neurobiol. 1996. V. 16 (6). P. 699–713.
- Cercós M.G., De-Miguel F.F., Trueta C.* Real-time measurements of synaptic autoinhibition produced by serotonin release in cultured leech neurons // J. Neurophysiol. 2009. V. 102 (2). P. 1075–1085.
- Coggeshall R.E.* Autoradiographic and chemical localization of 5-hydroxytryptamine in identified neurons in the leech // Anat. Rec. 1972. V. 172 (3). P. 489–498.
- Coggeshall R.E., Fawcett D.W.* The fine structure of the central nervous system of the leech, *Hirudo medicinalis* // J. Neurophysiol. 1964. V. 27. P. 229–289.

- De-Miguel F.F., Trueta C.* Synaptic and extrasynaptic secretion of serotonin // *Cell Mol. Neurobiol.* 2005. V. 25 (2). P. 297–312.
- De-Miguel F.F., Fuxe K.* Extrasynaptic neurotransmission as a way of modulating neuronal functions // *Front. Physiol.* 2012. V. 3. P. 16.
- De-Miguel F.F., Nicholls J.G.* Release of chemical transmitters from cell bodies and dendrites of nerve cells // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2015. V. 370 (1672). P. 20140181.
- Ehinger B., Falck B., Myhrberg H.E.* Biogenic monoamines in *Hirudo medicinalis* // *Histochemie.* 1968. V. 15 (2). P. 140–149.
- Fischer L., Scherbarth F., Chagnaud B., Felmy F.* Intrinsic frequency response patterns in mechano-sensory neurons of the leech // *Biol. Open.* 2017. V. 6 (7). P. 993–999.
- Kristan W.B.Jr., Nusbaum M.P.* The dual role of serotonin in leech swimming // *J. Physiol. Paris.* 1982–1983. V. 78 (8). P. 743–747.
- Kristan W.B., Calabrese R.L., Friesen W.O.* Neuronal control of leech behavior // *Prog. Neurobiol.* 2005. V. 76 (5). 279–327.
- Kuffler S.W., Nicholls J.G.* The physiology of neuroglial cells // *Ergeb. Physiol.* 1966. V. 57. P. 1–90.
- Lent C.M.* Retzius cells: neuroeffectors controlling mucus release by the leech // *Science.* 1973. V. 179 (4074). P. 693–696.
- Lent C.M.* Morphology of neurons containing monoamines within leech segmental ganglia // *J. Exp. Zool.* 1981. V. 216. P. 311–316.
- Lent C.M.* Serotonergic modulation of the feeding behavior of the medicinal leech // *Brain Res. Bull.* 1985. V. 14 (6). P. 643–655.
- Lockery S.R., Kristan W.B.Jr.* Distributed processing of sensory information in the leech. I. Input-output relations of the local bending reflex // *J. Neurosci.* 1990. V. 10 (6). P. 1811–1815.
- Mar A., Drapeau P.* Modulation of conduction block in leech mechanosensory neurons // *J. Neurosci.* 1996. V. 16 (14). P. 4335–4343.
- Marsden C.A., Kerkut G.A.* Fluorescence microscopy of the 5-HT and catecholamine containing cells in the central nervous system of the leech *Hirudo medicinalis* // *Comp. Biochem. Physiol.* 1969. V. 31 (6). P. 851–862.
- Mason A., Sunderland A.J., Leake L.D.* Effects of leech Retzius cells on body wall muscles // *Comp. Biochem. Physiol.* 1979. V. 63 (2). P. 359–361.
- Moshtagh-Khorasani M., Miller E.W., Torre V.* The spontaneous electrical activity of neurons in leech ganglia // *Physiol. Rep.* 2013. V. 1 (5). P. e00089.
- Nicholls J.G., Baylor D.A.* Specific modalities and receptive fields of sensory neurons in CNS of the leech // *J. Neurophysiol.* 1968. V. 31 (5). P. 740–756.
- Nusbaum M.P., Kristan W.B.Jr.* Swim initiation in the leech by serotonin-containing interneurons, cells 21 and 61 // *J. Exp. Biol.* 1986. V. 122. P. 277–302.
- Retzius G.* Zur Kenntnis des centralen Nervensystem der Wurmer, das Nervensystem der Annulaten // *Biol. Untersuch. (N.F.)*. 1891. B. 2. S. 1–28.
- Szczupak L., Kristan W.B.Jr.* Widespread mechanosensory activation of the serotonergic system of the medicinal leech // *J. Neurophysiol.* 1995. V. 74 (6). P. 2614–2624.
- Trueta C., Méndez B., De-Miguel F.F.* Somatic exocytosis of serotonin mediated by L-type calcium channels in cultured leech neurons // *J. Physiol.* 2003. V. 547. Pt. 2. P. 405–416.
- Velázquez-Ulloa N., Blackshaw S.E., Szczupak L., Trueta C.* Convergence of mechanosensory inputs onto neuromodulatory serotonergic neurons in the leech // *J. Neurobiol.* 2003. V. 54 (4). P. 604–617.
- Willard A.L.* Effects of serotonin on the generation of the motor program for swimming by the medicinal leech // *J. Neurosci.* 1981. V. 1 (9). P. 936–944.
- Yaksta-Sauerland B.A., Coggeshall R.E.* Neuromuscular junctions in the leech // *J. Comp. Neurol.* 1973. V. 151 (1). P. 85–99.

The Peculiarities of the Neurosecretory Activity of the Retzius Neuron of the Medicinal Leech

S. S. Sergeeva*

Pavlov Institute of Physiology of the RAS, St. Petersburg, Russia

*e-mail: sveta.serga@yandex.ru

Received April 11, 2018

Revised October 17, 2019

Accepted October 17, 2019

The article is devoted to the generalization of literary and personal experimental data on the neurosecretory activity of the Retzius cell. It was concluded that the Retzius cell has at least 5 neurosecretory functions: the neurotransmitter function – serotonin, synthesized by it, is a mediator that activates interneurons. Neuroendocrine function – endogenous serotonin secreted into the intercellular space of the ganglion, affects the somatic receptors of neighboring neurons, exciting or inhibiting them. Paracrine function – endogenous serotonin is transported in the extracellular space of the ganglion to the glial cell and is absorbed by it. Endocrine function – endogenous serotonin is secreted into the blood of the animal, binding the nervous system to the rest of the animal's body. Autocrine function, serotonin secreted by a neuron, reacts with receptors on its membrane by the mechanism of negative feedback (auto-inhibition).

Keywords: serotonin, Retzius neuron, neurosecretory activity, medicinal leech