



УДК 611.8

EDN PPVSSL

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-2-235-243>

Электрические синапсы на аксоне формируют пачечную импульсную активность нейронов Ретциуса пиявки

С. С. Сергеева^{✉1}

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

Сведения об авторе

Светлана Сергеевна Сергеева, SPIN-код: 3683-6538, Scopus AuthorID: 7005881602, ResearcherID: AAP-2211-2021, ORCID: 0000-0003-4654-2545, e-mail: sveta.serga@yandex.ru

Для цитирования: Сергеева, С. С. (2023) Электрические синапсы на аксоне формируют пачечную импульсную активность нейронов Ретциуса пиявки. *Интегративная физиология*, т. 4, № 2, с. 235–243. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-2-235-243> EDN PPVSSL

Получена 7 февраля 2023; прошла рецензирование 15 марта 2023; принята 17 марта 2023.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке Госпрограммы 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019–2030), тема 0134-2019-0001.

Права: © С. С. Сергеева (2023). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Ранее с помощью протеолитического фермента — проназы, разрушающей глиальные клетки, на основе нервного ганглия медицинской пиявки создана нервная структура, состоящая исключительно из нейронов, соединенных электрическими синапсами — своеобразная безглиальная нервная система. Было показано, что при отсутствии глии на отростках нейронов в ганглии происходит формирование электрических синапсов (ЭС). Исследование импульсной активности одного из нейронов в ганглии — нейрона Ретциуса (НР) показало, что вместо одиночного спонтанного спайка, характерного для нейрона в норме, НР генерирует пачку импульсов реверберационного типа. Каждая пачка состоит из 3–7 импульсов, количество которых характерно для каждого нейрона. Длительность первого импульса в пачке равна длительности спайка нейрона в контроле (в среднем 6 мс), а длительность всех последующих в три раза меньше (в среднем 2 мс). Статистический анализ длительности импульсов позволил предположить, что первый импульс в пачке — собственный спонтанный спайк нейрона, а последующие импульсы — это производные от первого, сформированные электрическими синапсами на его отростках и возвратившиеся к нейрону по его нервному волокну антидромно. Путем графического моделирования проанализирован механизм формирования пачечной активности нейрона. Показано, как при преодолении одним импульсом цепочки электрических синапсов на отростках нейрон может генерировать пачечную активность реверберационного типа.

Ключевые слова: нейрон Ретциуса, *Hirudo medicinalis*, проназа, реверберационная активность, спонтанная импульсная активность, электрический синапс, gap junction

Electrical synapses on the axon form spontaneous burst activity of the Retzius neuron of the leech

S. S. Sergeeva^{✉1}

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

Author

Svetlana S. Sergeeva, SPIN: 3683-6538, Scopus AuthorID: 7005881602, ResearcherID: AAP-2211-2021, ORCID: 0000-0003-4654-2545, e-mail: sveta.serga@yandex.ru

For citation: Sergeeva, S. S. (2023) Electrical synapses on the axon form spontaneous burst activity of the Retzius neuron of the leech. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 2, pp. 235–243. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-2-235-243> EDN PPVSSL

Received 7 February 2023; reviewed 15 March 2023; accepted 17 March 2023.

Funding: This study was supported by the State Programme 47 GP 'Scientific and Technological Development of the Russian Federation' (2019-2030), Topic No. 0134-2019-0001.

Copyright: © S. S. Sergeeva (2023). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. The purpose of this article was to demonstrate the variation of impulse activity of a neuron when electrical synapses (ES) appear on its branches. The object of research was an abdominal nerve ganglion of a medical leech. Spontaneous impulse activity of one of the neurons on the surface of a ganglion was registered. In order to obtain ES we used 0.4% pronase solution to transform the ganglion into a new nerve structure, namely, a glial-free ganglion. We studied impulse activity frequency, amplitude and the duration of spikes of an individual neuron. It was found that in the glial-free ganglion, the neuron generates a burst of impulses. The duration of the first impulse in the burst is equal to the duration of a spontaneous spike of a neuron, usually (6.00 ± 0.86 ms and 5.95 ± 0.29 ms), and the duration of subsequent impulses in the burst is equal to 2.45 ± 0.5 ms. A gradual drop in the amplitude and a change in the duration of impulses in the burst is a typical sign of reverberation. Using a graphical model, we have attempted to demonstrate the way in which a chain of ES between neuronal processes in a ganglion can generate reverberant activity in one cell without involving the soma of other cells. The graphic model shows the processes underlying this reaction. Thus, both the experimental and theoretical analysis of such a simple model of nervous tissue as the modified ganglion of an abdominal nerve chain of the leech demonstrates the diversity and undiscovered possibilities of ES contribution to the neural mechanisms of the nervous system.

Keywords: Retzius neurons, *Hirudo medicinalis*, pronase, reverberation activity, spontaneous impulse activity, electrical synapse, gap junction

Введение

Электрические синапсы (ЭС) представляют собой широко распространенную форму межнейронной коммуникации мозга. Известно, что они обеспечивают метаболическую связь, облегчают и синхронизируют нейрональную активность, контролируя сенсорную, моторную и нейроэндокринную функции у позвоночных и беспозвоночных животных. В настоящее время значительное количество ЭС выявлено практически в каждой структуре головного мозга млекопитающих, где они образуют сети связанных нейронов (Alcamí, Pereda 2019; Curti et al. 2020; Ixmatlahua et al. 2020; Nagy et al. 2018; Thomas et al. 2020). Основываясь на кажущейся простоте механизма, лежащего в основе структуры ЭС, взаимодействие между связанными нейронами изучали в основном с точки зрения

синхронизации возбуждения. Работы, проведенные на мышах, нокаутных по белку ЭС, и исследования с применением блокаторов позволили косвенно определить функциональную роль ЭС в электрогенезе и участие их в более сложных нервных процессах, в том числе памяти (Başar, Düzgün 2016; Bissiere et al. 2011; Curti et al. 2022; Nagy et al. 2018; Wang, Belousov 2011).

Существует мнение, что ЭС между нервными клетками в ЦНС остаются в зрелом мозге после постнатального развития в меньшем количестве, достаточном для его нормальной активности, и вопрос, возникают ли они *de novo*, как и когда, остается открытым (Lee et al. 2010; Peinado et al. 1993; Walton, Navarette 1991). Исследования, посвященные новообразованию ЭС в нервных структурах, показывают неоднозначные результаты. Например, ЭС, возникающие между клетками мозга при травмах, приводят к формиро-

ванию патологического состояния (Belousov et al. 2017; Kirichenko et al. 2021; Mylvaganam et al. 2014), а новообразование ЭС по мере взросления организма вызывает улучшение ряда функций нейронов (Long et al. 2004; Parker et al. 2009).

Таким образом, ЭС, их особые свойства, роль в формировании импульсной активности как взаимосвязанных, так и отдельных нервных клеток в мозге остаются все еще мало исследованными. Изучение свойств и особенностей ЭС *in vivo* сдерживает ряд факторов, главным из которых, как считают, является сложность доступа к нервным клеткам и их отросткам в мозге *in vivo* и отсутствие простого экспериментального объекта.

В морфологических исследованиях на ганглиях пиявки, моллюска и лягушки, используя проназу в качестве агента, разрушающего глиальные клетки, мы получили и проанализировали структуру и свойства этой своеобразной безглиальной нервной системы. Электронно-микроскопические исследования показали, что нейроны в такой нервной системе соединены между собой исключительно ЭС (Sotnikov et al. 2023). В прижизненных исследованиях регистрация импульсной активности нервных клеток, входящих в состав такого ганглия, показала, что отдельный нейрон приобретает способность вместо одиночного спонтанного спайка генерировать пачечную активность (Sergeeva et al. 2020).

Таким образом, нам удалось создать “простую нервную систему”, позволяющую в прижизненных экспериментах ответить на ряд нерешенных до настоящего времени вопросов, таких как условия и время, необходимое для образования ЭС *de novo*, механизм формирования импульсной активности отдельного нейрона, специфика электрогенеза нейрона при аксональных или дендритных ЭС на его отростках.

Цель настоящей работы — проанализировать спонтанную импульсную активность нейрона при образовании на его аксонах ЭС и возможный механизм формирования нейроном в этих условиях пачечной активности реверберационного типа.

Материалы и методы исследования

Объект исследования

Объектом исследования служил брюшной нервный ганглий медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis*). Половозрелые пиявки были специально выращены на «КНМ Биофабрика», Санкт-Петербург. Животных наркотизировали в холодной воде, вскрывали с брюшной стороны,

извлекали часть брюшной нервной цепочки. Один из ганглиев помещали в пластиковую камеру и фиксировали на резиновой подложке за окружающие ткани, заливали препарат раствором Рингера для пиявки (130 мМ NaCl, 4 мМ KCl, 1,8 мМ CaCl₂, 48 мМ глюкозы, pH = 7,4). Нервные клетки в ганглии (n = 20) подкрашивали 0,01%-ным раствором нейтрального красного, в результате чего на поверхности ганглия становились видны два крупных нейрона Ретциуса (НР). Экстраклеточный отводящий золотой микроэлектрод в стеклянной изоляции подводили к одному из них под контролем микроскопа МБС-10. Регистрировали спонтанную импульсную активность НР. Затем раствор Рингера для пиявки заменяли на раствор, содержащий проназу в концентрации 0,4% (лиофилизированная проназа из *Streptomyces griseus*, Serva). В этом растворе ганглий находился в течение часа. После этого времени ганглий аккуратно перфузировали стандартным раствором Рингера, удаляя разрушенные глиальные оболочки. Вновь регистрировали спонтанную импульсную активность НР. Для статистического анализа амплитуды и длительности импульсов выбирали нейроны, у которых в пачке было от четырех до шести импульсов. Статистически обрабатывали первые четыре импульса. Электрическую активность нейрона визуально анализировали на осциллографах: С1-93 (Россия), цифровом осциллографе GDS-806S «GW Instek» (Тайвань). Результаты экспериментов обрабатывали на компьютере, используя программу-приложение к цифровому осциллографу GDS-806S Free Capture V2.05 и специальное программное обеспечение. Статистическую обработку результатов (подсчет среднего и ошибки среднего) проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel for Windows.

Характеристика сформированной нервной структуры

Действие проназы вызывает разрушение глиальных оболочек и околочелюстных белков сети, что приводит к формированию межклеточных щелевых контактов между отдельными нейронами (Sotnikov et al. 2009).

Протеазы не изменяют амплитудные и кинетические характеристики возбудимых мембран нервных клеток (Lunko et al. 2014), что позволяет работать с нейронами, мембрана которых сохранила свои электрические свойства.

Секвенирование генома медицинской пиявки показало наличие генов иннексина, что указывает на способность формировать между

нервными клетками и их волокнами ЭС (Dykes et al. 2004; Firme et al. 2012; Kandarian et al. 2012).

В культуре нервной ткани при отсутствии глиальных клеток нейроны пиявки при контакте мембран формируют между собой ЭС (DeMiguel 2000), схожий феномен наблюдается и в наших экспериментах (Sotnikov et al 2023).

Электронно-микроскопические исследования и опыты с заменой ионов Ca^{2+} в физиологическом растворе на ионы Mg^{2+} подтвердили, что в созданной нервной структуре нет химических синапсов между нейронами (Sergeeva et al. 2020; Sotnikov et al. 2023).

Таким образом, обработка брюшного нервного ганглия медицинской пиявки проназой позволила создать «простую нервную систему» адаптированную к исследованию роли ЭС в формировании электрической активности отдельного нейрона, включенного в эту нервную структуру.

Результаты экспериментов

Электрическая активность отдельного нейрона

НР обладает спонтанной ритмической импульсной активностью (ИА), что снимает необходимость внутриклеточно раздражать нейрон искусственно подобранными стимулами.

В контроле нейрон генерирует спонтанную ИА частотой $0,28 \pm 0,004$ имп/с.

После действия проназы спонтанная ИА у НР приобретает характер пачечной активности. Вместо одиночного спонтанного спайка НР генерируют пачку импульсов частотой $0,25 \pm 0,07$ пачки в сек, то есть клетка вместо одиночного спайка с той же частотой генерирует пачку импульсов. Частота спонтанной ИА в норме достоверно не отличается от частоты спонтанной пачечной ИА при действии проназы (рис. 1, с).

На рисунке 1 а, b представлены осциллограммы опытов. Такая связь между частотой спонтанной активности нейронов в норме и после изменения структуры нервного ганглия под действием проназы может свидетельствовать о том, что именно одиночный спонтанный спайк нейрона, претерпевая изменение в цепочке ЭС, преобразуется в реверберационный спонтанный электрический сигнал.

Длительность спонтанного спайка в норме равна $5,95 \pm 0,29$ мсек (рис. 2, а).

Такая длительность спайка характерна для НР и зависит от активности двух типов Na-каналов на его мембране (Sergeeva 2020). Важным фактом является то, что длительность первого спайка в пачке (рис. 2, b) равна $6,00 \pm 0,86$ мсек, что достоверно не отличается от длительности спонтанного спайка в контроле-

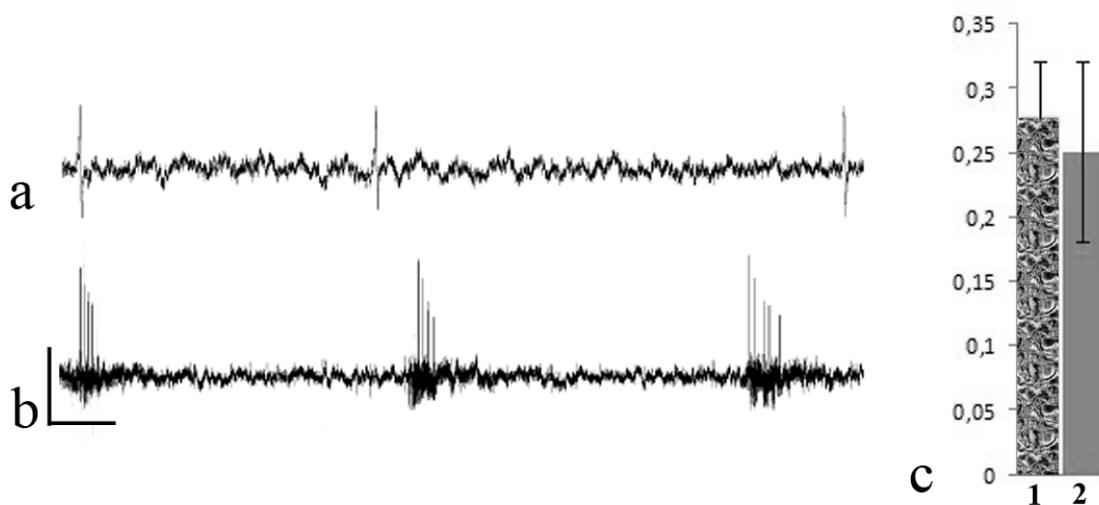


Рис. 1. Спонтанная импульсная активность нейрона: а — в норме; б — после действия проназы на нервную структуру ганглия, калибровка: 50 мкВ, 1 сек; в — частотные характеристики нейрона: 1 — в норме в имп/сек, 2 — после действия проназы в пачка/сек

Fig. 1. Spontaneous impulse activity of the neuron: а—normal; б—after the exposure of the ganglion nerve structure to pronase, calibration: 50 μV , 1 s; в—a comparison of the neuronal frequency characteristics: 1—normal, imp/sec, 2—after the action of pronase, bursts/sec

ном эксперименте. В то же время, длительность последующих импульсов в пачке достоверно отличается от первого импульса в пачке и от спонтанного спайка в норме и равна $2,45 \pm 0,5$ мсек (рис. 2, с).

Различия в длительности спайков свидетельствуют, что первый спайк в пачке — это собственный спонтанный спайк нейрона, который генерируется в аксонном холмике. Последующие импульсы, почти в три раза меньшие по длительности, схожи с нервными импульсами, которые обычно распространяются по нервному волок-

ну при его прямом или антидромном раздражении. По-видимому, эти импульсы являются производными первого спайка, который, пройдя через несколько ЭС между двумя волокнами и претерпев изменения формы и амплитуды, возвращается к нейрону по его нервному волокну. И этот факт подтверждает наше высказанное ранее предположение. Возможный механизм превращения одиночного спайка в пачку импульсов и участие в этом цепочки ЭС мы постараемся объяснить при помощи графической модели.

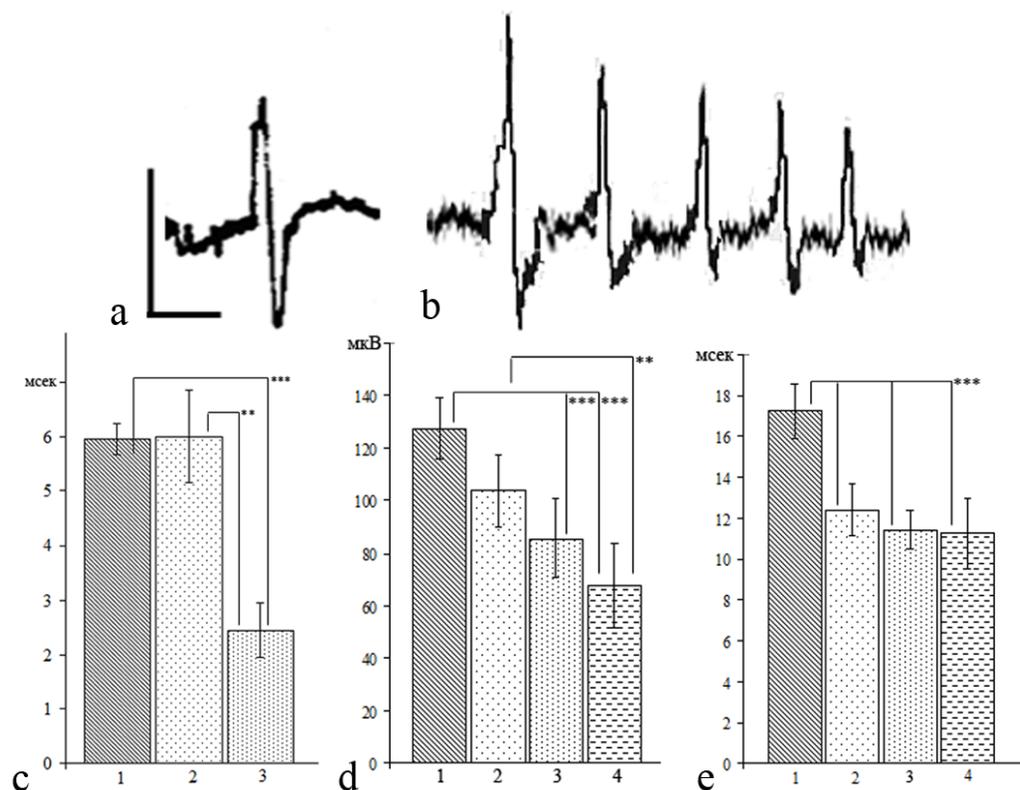


Рис. 2. Электрические характеристики импульсной активности нейрона: а — спонтанный спайк в норме; б — пачечная активность после действия проназы, калибровка: 50 мкВ, 10 мсек; с: 1 — амплитуда спонтанного спайка в норме, 2 — амплитуда первого импульса в пачке после действия проназы, 3 — амплитуда последующих импульсов в пачке после действия проназы; д — изменения длительности импульсов в пачке, 1 — период между первым и вторым спайками, 2, 3, 4 — между последующими; е — латентные периоды между импульсами в пачке, 1 — период между первым и вторым спайками, 2, 3, 4 — между последующими. По оси ординат: с — длительность в мсек, д — амплитуда в мкВ, е — длительность в мсек

Fig. 2. The electrical characteristics of the impulse activity of the neuron: а—the spontaneous spike in the norm; б—burst activity after the action of pronase, calibration: 50 μ V, 10 ms; с: 1—the amplitude of the spontaneous spike in the norm, 2—the amplitude of the first impulse in the burst after the action of pronase, 3—the amplitude of subsequent impulses in the burst after the action of pronase; д— changes in the duration of impulses in the burst, 1—the period between the first and the second spikes, 2, 3, 4—the period between the subsequent spikes; е—the latency period between the impulses in a burst, 1—the period between the first and the second spikes, 2, 3, 4—the period between the subsequent spikes. The ordinate axis: с—duration, ms, д—amplitude, μ V, е—duration, ms

Анализ амплитуды показал, что каждый последующий импульс в пачке в среднем уменьшается на 15%, изменяясь от $127,5 \pm 11,7$ мкВ до $69,5 \pm 10,6$ мкВ (рис. 2, d). Такая форма пачечной активности характерна для процесса реверберации и, по-видимому, связана со свойствами ЭС, которые требуют дальнейшего исследования. Латентные периоды между импульсами в пачке в среднем равны 13 мсек и достоверно не отличаются друг от друга (рис. 2, e). В этом тоже есть определенная закономерность, которая требует анализа в дальнейшем. Число импульсов в пачке, а их в различных опытах может быть от трех до семи, возможно будет зависеть от количества ЭС на нервном волокне НР.

Таким образом, электрические контакты на отростках нейрона не просто полностью перестраивают его спонтанную электрическую активность, но и вызывают формирование у этой клетки импульсной активности реверберационного типа.

Обсуждение

Графическое моделирование реакции реверберации

Графические модели являются общепринятым инструментом для отображения межнейронных связей (Hunnicuttt, Krzywinski 2016; Maraver et al. 2018; Simões de Souza, De Schutter 2011;

Sotnikov 2021), они использовались в том числе и для самых ранних доказательств механизма возникновения реверберации (Arbib et al. 1974; Eccles 1973). С помощью графической модели мы попытаемся показать треки импульсов, проходящих через ЭС, и объяснить механизм формирования реверберационной активности отдельного нейрона. Рассматривая возможные пути и направления спонтанного нервного импульса от сомы по отростку нейрона, на котором расположено то или иное количество щелевых электрических контактов, мы естественно включили в схему отросток еще одной нервной клетки в ганглии, с которой наш нейрон сформировал ЭС. Обязательным условием является двустороннее направление движения импульса по соседнему волокну после прохождения ЭС. На фрагменте «а» рисунка 3 представлена упрощенная графическая модель движения спонтанного спайка (красный трек) от нейрона (Н) по его волокну (4) и прохождения его через электрические синапсы (1, 2, 3), сформированные между двумя нервными волокнами — волокном нейрона Ретциуса (4) и волокном еще одного нейрона в ганглии (5).

Как показывает схема, спонтанный спайк, пройдя через первый ЭС (1) в постсинаптическом волокне, раздваивается на два импульса, которые направляются налево и направо по нервному волокну второй клетки (5). Распространяясь направо по волокну второй клетки до второго

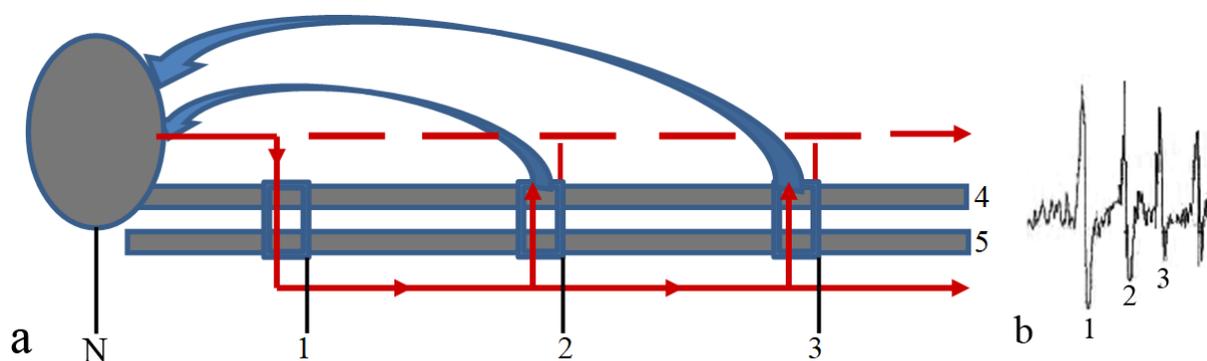


Рис. 3. Графическая модель распространения спонтанного импульса по отросткам нейронов, объясняющая формирование реверберации. а — N — нейрон Ретциуса, 1, 2, 3 — электрические синапсы, 4 — нервное волокно нейрона Ретциуса, 5 — нервное волокно второго нейрона. Стрелками показаны треки: красным — спонтанного спайка, синим — «возвратных» импульсов. б — возможная связь между числом электрических синапсов и количеством импульсов в пачке: 1 — спонтанный спайк, 2 — импульс, сформированный во втором синапсе, 3 — импульс, сформированный в третьем синапсе

Fig. 3. A graphical model of the propagation of a spontaneous impulse through the branches of neurons explaining the formation of a reverberation. A: N—Retzius neuron, 1, 2, 3—electrical synapses, 4—Retzius neuron nerve fiber, 5—the nerve fiber of the second neuron. The arrows show the tracks: the spontaneous spike in red, 'return' pulses in blue. B—a possible relationship between the number of electrical synapses and the number of impulses in the burst: 1—a spontaneous spike, 2—the impulse formed in the second synapse, 3—the impulse formed in the third synapse

ЭС (2) и пересекая его, электрический сигнал делится на два импульса, один из которых антидромно возвращается по волокну нейрона Ретциуса (4) к его телу, вызывая генерацию второго импульса. Движение импульса по волокну второй клетки к третьему синапсу вызывает возникновение третьего «возвратного» импульса. Понятно, что это упрощенная схема. Штриховая линия демонстрирует трек спонтанного спайка, который, распространяясь дальше по волокну НР, может встретить ЭС и пройти через него на нервное волокно второй клетки, и так далее. Может создаться мнение, что на нейритах должно произойти неуправляемое хаотичное движение электрических импульсов, но электрофизиологические эксперименты демонстрируют, что ЭС формируют строгую ритмичность импульсной активности нейрона. И это еще одно важное неисследованное свойство цепочки ЭС.

Таким образом, графическая модель позволяет приблизиться к объяснению того, как спонтанный спайк нейрона и цепочка ЭС между нервными волокнами могут сформировать пачечную реверберационную активность одного нейрона.

Заключение

Электрофизиологические эксперименты демонстрируют, что в результате преодоления спайком ЭС наблюдается изменение его формы. Изменение длительности спайка, по-видимому, происходит в ЭС, где он трансформируется в короткий электрический импульс, а постепенное падение амплитуды вызвано падением силы тока при преодолении каждым из электрических импульсов последующего ЭС. Изучение выявленных в данном исследовании свойств ЭС, приводящих к столь значимым перестройкам электрической активности нейронов, демонстрирует роль отдельных клеток и их отростков в работе нейронной сети с ЭС.

Графическая модель демонстрирует, что для возникновения реверберационной активности не обязательны многоклеточные взаимосвязанные структуры, как это продемонстрировано в классических работах Эклса и Арбиба с со-

авторами (Arbib et al. 1974; Eccles 1973). Реверберационную активность может формировать отдельный нейрон, обладающий спонтанной активностью и ЭС на отростках. Как видно из модели, в постсинаптическом нервном волокне импульс теоретически способен перемещаться в любом направлении, вызывая как антидромную, так и ортодромную активацию нервных клеток, связанных между собой электрическими контактами, демонстрируя все многообразие вклада ЭС в нейрональные механизмы нервной системы в целом. Представляется, что в наших экспериментах при спонтанной активности сигнал от нейрона распространяется по аксонам и возвращается по ним, демонстрируя свойства аксональных ЭС. Будет ли импульсная активность нейрона иной при другой локализации ЭС, например, на дендритах, представляет определенный не только теоретический (Pereda, Miller 2021), но и практический интерес. Предполагается изучить этот феномен при синаптическом раздражении нейрона Ретциуса.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The author declares that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Благодарности

Автор благодарит профессора О. С. Сотникова и н. с. Н. М. Парамонову за разработку биологической прижизненной модели и обсуждение графической модели.

Acknowledgements

The author would like to thank Prof. O. S. Sotnikov and N. M. Paramonova for the development of the biological living model and discussion of the graphical model.

References

- Alcamí, P., Pereda, A. E. (2019) Beyond plasticity: The dynamic impact of electrical synapses on neural circuits. *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 20, no. 5, pp. 253–271. <https://doi.org/10.1038/s41583-019-0133-5> (In English)
- Arbib, M. A., Boylls, C. C., Dev, P. (1974) Neural models of spatial perception and the control of movement. In: W. D. Keidel, W. Händler, M. Spreng (eds.). *Cybernetics and bionics*. Munich: R. Oldenbourg Verlag, pp. 216–231. (In English)

- Başar, E., Düzgün, A. (2016) The brain as a working syncytium and memory as a continuum in a hyper timespace: Oscillations lead to a new model. *International Journal of Psychophysiology*, vol. 103, pp. 199–214. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2015.02.019> (In English)
- Belousov, A. B., Fontes, J. D., Freitas-Andrade, M. et al. (2017) Gap junctions and hemichannels: Communicating cell death in neurodevelopment and disease. *BMC Molecular and Cell Biology*, vol. 18, no. 1, article 4. <https://doi.org/10.1186/s12860-016-0120-x> (In English)
- Bissiere, S., Zelikowsky, M., Ponnusamy, R. et al. (2011) Electrical synapses control hippocampal contributions to fear learning and memory. *Science*, vol. 331, no. 6013, pp. 87–91. <https://doi.org/10.1126/science.1193785> (In English)
- Curti, S., Davoine, F., Dapino, A. (2022) Function and plasticity of electrical synapses in the mammalian brain: Role of non-junctional mechanisms. *Biology*, vol. 11, no. 1, article 81. <https://doi.org/10.3390/biology11010081> (In English)
- De-Miguel, F. F. (2000) Steps in the formation of neurites and synapses studied in cultured leech neurons. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, vol. 33, no. 5, pp. 487–497. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2000000500002> (In English)
- Dykes, I. M., Freeman, F. M., Bacon, J. P., Davies, J. A. (2004) Molecular basis of gap junctional communication in the CNS of the Leech *hirudo medicinalis*. *Journal of Neuroscience*, vol. 24, no. 4, pp. 886–894. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3676-03.2004> (In English)
- Eccles, J. C. (1973) *The understanding of the brain*. New York: McGraw-Hill Publ., 224 p. (In English)
- Firme, C. P. III, Natan, R. G., Yazdani, N. et al. (2012) Ectopic expression of select innexins in individual central neurons couples them to pre-existing neuronal or glial networks that express the same innexin. *Journal of Neuroscience*, vol. 32, no. 41, pp. 14265–14270. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.2693-12.2012> (In English)
- Hunnicutt, B. J., Krzywinski, M. (2016) Neural circuit diagrams. *Nature Methods*, vol. 13, no. 3, article 189. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3777> (In English)
- Ixmattlahua, D. J., Vizcarra, B., Gómez-Lira, G. et al. (2020) Neuronal glutamatergic network electrically wired with silent but activatable gap junction. *Journal of Neuroscience*, vol. 40, no. 24, pp. 4661–4672. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.2590-19.2020> (In English)
- Kandarian, B., Sethi, J., Wu, A. et al. (2012) The medicinal leech genome encodes 21 innexin genes: Different combinations are expressed by identified central neurons. *Development Genes and Evolution*, vol. 222, no. 1, pp. 29–44. <https://doi.org/10.1007/s00427-011-0387-z> (In English)
- Kirichenko, E. Yu., Skatchkov, S. N., Ermakov, A. M. (2021) Structure and functions of gap junctions and their constituent connexins in the mammalian CNS. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*, vol. 15, no. 2, pp. 107–119. <https://doi.org/10.1134/s1990747821020069> (In English)
- Lee, S.-C., Cruikshank, S. J., Connors, B. W. (2010) Electrical and chemical synapses between relay neurons in developing thalamus. *The Journal of Physiology*, vol. 588, no. 13, pp. 2403–2415. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.187096> (In English)
- Long, M. A., Landisman, C. E., Connors, B. W. (2004) Small clusters of electrically coupled neurons generate synchronous rhythms in the thalamic reticular nucleus. *Journal of Neuroscience*, vol. 24, no. 2, pp. 341–349. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.3358-03.2004> (In English)
- Lunko, O. O., Isaev, D. S., Maximyuk, O. P. et al. (2014) Kharakteristiki postijnogo natrievogo strumu v piramidal'nykh nejronakh CA1 zoni gipokampa shchuriv pislya obrobki proteolitichnimi fermentami [The effect of enzymatic treatment using proteases on properties of persistent sodium current in CA1 pyramidal neurons of rat hippocampus]. *Fiziologichnyi Zhurnal*, vol. 60, no. 3, pp. 75–79. PMID: 25097934 (In Ukrainian)
- Maraver, J. J. A., Mata, S., Benavides-Piccione, R. et al. (2018) A method for the symbolic representation of neurons. *Frontiers in Neuroanatomy*, vol. 12, article 106. <https://doi.org/10.3389/fnana.2018.00106> (In English)
- Mylvaganam, S., Ramani, M., Krawczyk, M., Carlen, P. L. (2014) Roles of gap junctions, connexins, and pannexins in epilepsy. *Frontiers in Physiology*, vol. 5, article 172. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00172> (In English)
- Nagy, J. I., Pereda, A. E., Rash, J. E. (2018) Electrical synapses in mammalian CNS: Past eras, present focus and future directions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Biomembranes*, vol. 1860, no. 1, pp. 102–123. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.05.019> (In English)
- Parker, P. R. L., Cruikshank, S. J., Connors, B. W. (2009) Stability of electrical coupling despite massive developmental changes of intrinsic neuronal physiology. *Journal of Neuroscience*, vol. 29, no. 31, pp. 9761–9770. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4568-08.2009> (In English)
- Peinado, A., Yuste, R., Katz, L. C. (1993) Gap junctional communication and the development of local circuits in neocortex. *Cerebral Cortex*, vol. 3, no. 5, pp. 488–498. <https://doi.org/10.1093/cercor/3.5.488> (In English)
- Pereda, A. E., Miller, A. C. (2021) On the location of electrical synapses. *Developmental Cell*, vol. 56, no. 23, pp. 3178–3180. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2021.11.010> (In English)
- Sergeeva, S. S. (2020) Vzaimodejstvie mezhdru nervnoj i sekretornoj funktsiyami v osushchestvlenii integrativnoj deyatel'nosti nejrosekretornoj kletki Rettsiusa piyavki. Obzor [The interaction between nervous and secretory functions in the integrative activity of the neurosecretory Retzius cell of the leech. A review]. *Integrativnaya*

- fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 1, no. 3, pp. 212–217. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2020-1-3-212-217> (In Russian)
- Sergeeva, S. S., Sotnikov, O. S., Paramonova, N. M. (2020) Sposob sozdaniya nejrofiziologicheskoy modeli prostoј nervnoj sistemy, obladayushcheј reverberatsieј [Method for creating a neurophysiological model of a simple nervous system possessing reverberation]. *Rossijskij fiziologicheskij zhurnal im. I. M. Sechenova — Russian Journal of Physiology*, vol. 106, no. 9, pp. 1163–1169. <https://doi.org/10.31857/S0869813920080075> (In Russian)
- Simões de Souza, F. M., De Schutter, E. (2011) Robustness effect of gap junctions between Golgi cells on cerebellar cortex oscillations. *Neural Systems & Circuits*, vol. 1, no. 1, article 7. <https://doi.org/10.1186/2042-1001-1-7> (In English)
- Sotnikov, O. S. (2021) Seriya eksperimental'nykh elektricheskikh sinapsov i reverberatsiya nervnogo impul'sa [A series of experimental electrical synapses and reverberation of a nerve impulse]. *Tekhnologii zhivykh sistem — Technologies of Living Systems*, vol. 18, no. 3, pp. 52–57. (In Russian)
- Sotnikov, O. S., Lukovnikova, M. V., Vasyagina, N. Yu. et al. (2009) Izmenenie neјronov mollyuska pri dejstvii proteoliticheskikh fermentov [Changes of molluscan neurons under the influence of proteolytic enzymes]. *Morfologiya — Morphology*, vol. 136, no. 5, pp. 36–41. (In Russian)
- Sotnikov, O. S., Sergeeva, S. S., Paramonova, N. M. (2023) The effect of pronase on mollusk, leech and frog nerve ganglia causes the formation of neuron–neuronal gap junctions. *Cell and Tissue Biology*, vol. 17, no. 2, pp. 197–202. <https://doi.org/10.1134/S1990519X23020128> (In English)
- Thomas, D., Senecal, J. M., Lynn, B. D. et al. (2020) Connexin 36 localization along axon initial segments in the mammalian CNS. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*, vol. 12, no. 6, pp. 153–165. PMID: [33500746](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33500746/) (In English)
- Walton, K. D., Navarette, R. (1991) Postnatal changes in motoneurone electronic coupling studied in the in vitro at lumbar spinal cord. *The Journal of Physiology*, vol. 433, no. 1, pp. 283–305. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1991.sp018426> (In English)
- Wang, Y., Belousov, A. B. (2011) Deletion of neuronal gap junction protein connexin 36 impairs hippocampal LTP. *Neuroscience Letters*, vol. 502, no. 1, pp. 30–32. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.07.018> (In English)