

# Взаимодействие между нервной и секреторной функциями в осуществлении интегративной деятельности нейросекреторной клетки Ретциуса пиявки.

## Обзор

С. С. Сергеева<sup>✉1</sup>

<sup>1</sup> Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

### Сведения об авторе

Светлана Сергеевна Сергеева,  
SPIN-код: 3683-6538, e-mail:  
SergeevaSS@infran.ru

### Для цитирования:

Сергеева, С. С. (2020)  
Взаимодействие между нервной и секреторной функциями в осуществлении интегративной деятельности нейросекреторной клетки Ретциуса пиявки. Обзор. *Интегративная физиология*, т. 1, № 3, с. 212–217. DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-3-212-217

**Получена** 24 января 2020; прошла рецензирование 11 февраля 2020; принята 16 апреля 2020.

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

**Права:** © Автор (2020). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

**Аннотация.** На основе литературных и собственных экспериментальных данных автор показывает, как две важнейшие функции нейрона Ретциуса медицинской пиявки — секреторная и электрическая — связаны между собой. При низкочастотной активации нейрон Ретциуса ведет себя как типичная нервная клетка, выделяя серотонин из пресинаптических окончаний. При высокочастотном раздражении нейрон Ретциуса проявляет свойства секреторной клетки, выделяя серотонин путем соматического экзоцитоза. Механизм аутоингибирования (секреторная функция), выявленный при высокочастотном синаптическом раздражении нейрона Ретциуса, позволяет предотвратить гиперактивацию его импульсной активности (нервная функция), что, в свою очередь, через аутоингибирование тормозит гиперактивацию соматического экзоцитоза (секреторная функция). Приведенные данные демонстрируют, что нейрон Ретциуса является уникальной нейросекреторной клеткой, обладающей полифункциональной активностью.

**Ключевые слова:** нейросекреторная клетка Ретциуса пиявки, соматический экзоцитоз, импульсная активность.

# The interaction between nervous and secretory functions in the integrative activity of the neurosecretory Retzius cell of the leech

## A review

S. S. Sergeeva<sup>✉1</sup>

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

**Abstract.** Based on the literature review and our own experimental data, it is shown how the two most important functions of the Retzius neuron (RN)

**Author**

Svetlana S. Sergeeva, SPIN: 3683-6538, e-mail: [SergeevaSS@infran.ru](mailto:SergeevaSS@infran.ru)

**For citation:** Sergeeva, S. S. (2020)

The interaction between nervous and secretory functions in the integrative activity of the neurosecretory Retzius cell of the leech. A review. *Integrative Physiology*, vol. 1, no. 3, pp. 212–217. DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-3-212-217

**Received** 24 January 2020; reviewed 11 February 2020; accepted 16 April 2020.

**Funding:** The paper was supported by the Programme for Basic Research of the Russian Academies of Sciences for 2013–2020 (GP-14, Field of Research 64).

**Copyright:** © The Author (2020). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

of the medical leech — secretory and electrical — are related to each other. During low-frequency activation, RN behaves like a typical nerve cell, releasing serotonin from the presynaptic endings. During high-frequency stimulation, RN demonstrates properties of a secretory cell, releasing serotonin by somatic exocytosis. The mechanism of autoinhibition (secretory function), revealed during high-frequency synaptic stimulation of RN, allows to prevent hyperactivation of its impulse activity (nervous function), which, in turn, through autoregulation inhibits hyperactivation of somatic exocytosis (secretory function). These data demonstrate that RN is a unique neurosecretory cell with polyfunctional activity.

**Keywords:** neurosecretory Retzius cell of leeches, somatic exocytosis, impulse activity.

## Введение

Нейросекреторные клетки широко представлены как у позвоночных, так и у беспозвоночных животных, они имеют схожее строение и выполняют в организме схожие функции. Однако изучение многих процессов, связанных с их активностью в ЦНС позвоночных животных, затруднено. Особенно это касается соматического экзоцитоза, который часто подтверждается лишь косвенно. Более простое строение нервной системы беспозвоночных, меньшее количество нейросекреторных клеток, их поверхностное расположение в мозге делают эти клетки исключительным объектом для исследования их нервных и секреторных функций. Одним из таких объектов являются нейроны Ретциуса (НР) мозга медицинской пиявки. Несмотря на то, что НР является давно и хорошо изученным объектом с точки зрения морфологии, цитохимии и электрофизиологии (Lent 1981; Carretta 1988), связь между его основными функциями — секреторной и электрической — освещена недостаточно.

Целью нашей работы было на основе литературных и собственных экспериментальных данных показать, как эти две важнейшие функции нейросекреторной клетки связаны между собой.

### Нервная и секреторная активность НР

Два парных НР, расположенные на поверхности ганглиев брюшной нервной цепочки медицинской пиявки, являются единственными

нейросекреторными клетками в каждом ганглии (Lent 1981; Carretta 1988). От сомы НР отходит один отросток, который вблизи тела клетки делится на несколько. Самый крупный направляется через центральную коннективу в соседние ганглии — это дендрит. Отходящие в боковые коннективы два крупных отростка и многочисленные мелкие веточки внутри ганглия — аксоны НР. Именно по этим отросткам серотонин, синтезируемый в соме клетки, диффундирует к клеткам-мишеням. Было показано, что и сома НР, и его аксоны содержат большое количество темных и светлых везикул, заполненных серотонином (Bruns et al. 2000).

В экспериментах, совмещающих электрофизиологические и электронномикроскопические исследования, было показано, что при внутриклеточном раздражении НР одиночными импульсами электрического тока частотой 1 Гц наблюдается выделение серотонина из пресинаптических окончаний, расположенных на мелких веточках НР внутри ганглия, где НР контактирует с постсинапсами вставочных и моторных нейронов. При этом не происходит значительного изменения в перегруппировке или движении крупных нейросекреторных гранул, находящихся в теле клетки (Beck et al. 2001; Trueta et al. 2003; De-Miguel, Trueta 2005). Таким образом, при раздражении низкими частотами НР ведет себя как типичная нервная клетка, и серотонин, выступая в роли нейромедиатора, в зависимости от типа 5-НТ-рецепторов на постсинаптической мембране активизирует или тормозит импульсную активность (ИА)

нейронов внутри ганглия (Nusbaum, Kristan 1986). Внутриклеточная стимуляция НР частотами 10–20 Гц, как показано электронно-микроскопическими и люминесцентными методами, вызывает активное продвижение крупных нейросекреторных гранул из внутренних компартментов нейрона к его мембране. В конечном счете происходит экзоцитоз серотонина в межклеточное пространство ганглия (De-Miguel, Trueta 2005; De-Miguel et al. 2012; De-Miguel, Nicholls 2015). Таким образом, при высокочастотном раздражении НР ведет себя как секреторная клетка. Необходимо подчеркнуть, что все эти эксперименты, доказавшие связь между функциональной активностью НР и частотой раздражающего воздействия, выполнены при внутриклеточном раздражении НР.

Эксперименты, модулирующие действие соматического экзогенного серотонина, показали, что аппликация серотонина на нервный ганглий вызывает повышение импульсной активности (ИА) большинства нейронов, начинают генерировать импульсы даже «молчащие» нервные клетки (Mar, Drapeau 1996; Moshtagh-Khorasani et al. 2013). В то же время сама нейросекреторная клетка — НР на аппликацию серотонина отвечает торможением ИА (Kerkut, Walker 1967; Smith, Walker 1973).

Действие экзогенного серотонина не ограничивается его влиянием только на нервные клетки внутри ганглия. Повышение концентрации серотонина в межклеточном пространстве ганглия вызывает деполяризацию глияльной клетки, которая активно поглощает экзогенный серотонин (паракринная функция) и транспортирует его в другие участки не только ганглия, но и в кровь животного. В этом случае НР выполняет эндокринную функцию (Willard 1981; Bruns et al. 1993; 2000). Кроме того, именно путем прямого экзоцитоза из отростков НР, направляющихся через боковые коннективы ганглия, серотонин активирует секрецию слизи железистыми клетками, расположенными в коже животного (Ehinger et al. 1968; Marsden, Kerkut 1969; Mason et al. 1979).

Таким образом, обзор литературных данных позволяет сделать вывод, что от частоты прямого (внутриклеточного) раздражающего воздействия будет зависеть, какую функцию будет исполнять НР — нервную или секреторную. Эти модельные эксперименты позволяют показать по крайней мере три секреторных функций НР: нейрокринную, паракринную и эндокринную.

### **Взаимодействие между нервной и секреторной функциями при синаптической активации НР**

Было показано, что электрическая активность НР увеличивается при механическом раздражении кожного покрова пиявки (Szczupak, Kristan 1995; Velázquez-Ulloa et al. 2003). Выявлены три типа механочувствительных рецепторов в коже животного — N-, P- и T-типа. При сильном болевом воздействии на стенку тела животного N-механочувствительные нейроны генерируют низкочастотные спайки от 0,5 до 2 Гц. Слабое давление или поглаживание вызывает активацию механосенсорных клеток T-типа, генерирующих высокочастотные разряды от 5 до 12 Гц, механосенсорные нейроны P-типа генерируют разряды средней частоты (Fischer et al. 2017). Поскольку НР имеет синаптическую связь с механосенсорными нейронами (De-Miguel, Nicholls 2015; Fischer et al. 2017; De-Miguel, Trueta 2005), то, следовательно, и *in vivo* он может получать раздражающее воздействие самой различной частоты, тесно связанной с жизнедеятельностью животного.

В наших экспериментах мы проводили синаптическую активацию НР, используя частоты, аналогичные диапазону частот сенсорных нейронов при механическом раздражении поверхности тела пиявки от 1 до 10 Гц (Sergeeva 1994; 1995). Было обнаружено, что импульсный ответ НР находится в определенной корреляционной зависимости от частоты раздражающих стимулов. При синаптическом раздражении от 1 до 5 Гц нейрон пропорционально увеличивает частоту ИА, отвечая потенциалом действия (ПД) на каждый раздражающий стимул.

При более высокой частоте синаптической активации от 7 до 10 Гц наблюдается зависимость от частоты раздражения уменьшение частоты импульсной активности НР (табл. 1, контроль).

Наблюдая уменьшение частоты ИА и зная о тормозящем действии экзогенного серотонина на НР (Kerkut, Walker 1967; Smith, Walker 1973), мы предположили, что соматический экзогенный серотонин может формировать эту реакцию по аутокринному типу. То есть серотонин, выделяемый НР, оказывает тормозящее воздействие на его импульсную активность. Чтобы проверить эту гипотезу, были проведены эксперименты в бескальциевом растворе, в растворах нимодипина и колхицина (Sergeeva et al. 2018). Известно, что взаимодействие ионов  $Ca^{+2}$  с цитоскелетом стимулирует транспорт везикул нейросекрета к пресинаптической мембране НР (Bruns et al.

Табл. 1. Изменение ИА нейрона Ретциуса при синаптическом раздражении частотами от 1 до 10 Гц  
 Table 1. Change in the IA of the Retzius neuron during synaptic stimulation at frequencies from 1 to 10 Hz

Частота активации Серии	1 Гц	3 Гц	5 Гц	7 Гц	10 Гц
Контроль n = 30	1,05 ± 0,13	3,0 ± 0,0	5,0 ± 0,0	3,64 ± 0,2	3,07 ± 0,2
Раствор без Ca <sup>+2</sup> n = 14	1,0 ± 0,0	3,0 ± 0,0	5,0 ± 0,0	7,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0
Нимодипин n = 14	1,0 ± 0,0	3,0 ± 0,01	5,0 ± 0,0	7,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0
Колхицин n = 14	1,0 ± 0,0	3,2 ± 0,1	5,1 ± 0,1	6,3 ± 0,3	7,90 ± 0,5

2000; De-Miguel, Santamaria-Holek et al. 2012). Поэтому блокада поступления в клетку ионов Ca<sup>+2</sup>, которая происходит в бескальциевом растворе и в растворе нимодипина (блокатора кальциевых каналов), предотвращает соматический экзоцитоз серотонина, а следовательно, и вызываемое им торможение импульсной активности НР. То же происходит и при действии колхицина, который предотвращает сборку субъединиц тубулина в микротрубочки, также блокируя транспорт везикул серотонина к мембране нейрона НР. В условиях действия бескальциевого раствора, нимодипина и колхицина при синаптической активации частотами от 7 до 10 Гц НР отвечает ПД на каждый раздражающий стимул — тормозная реакция не развивается (табл. 1, без Ca<sup>+2</sup>, нимодипин, колхицин). Таким образом, выявленная при синаптическом раздражении тормозная реакция в условиях, наиболее приближенных к *in vivo*, демонстрирует, что НР обладает еще одной нейросекреторной функцией — аутоингибированием. Для НР наличие реакции ауто-

ингибирования соматического серотонина (секреторная функция) является чрезвычайно важным феноменом, поскольку позволяет предотвратить гиперактивацию ИА (нервная функция) при высокочастотном раздражении, а это, в свою очередь, через аутооторможение будет блокировать и гиперактивацию соматического экзоцитоза (секреторная функция).

Еще одним фактом, доказывающим участие НР в выполнении или нервной, или секреторной активности, является генерация клеткой отличных по амплитуде и длительности ПД при различной частоте синаптической активации. В ответ на низкочастотное синаптическое раздражение НР генерирует высокоамплитудные спайки малой длительности — форма импульса, которая имеет преимущественное значение для активации синаптических процессов. При высокочастотном раздражении нейрон генерирует спайки меньшей амплитуды, но большей длительности, которые будут более значимы для формирования соматического экзоцитоза (табл. 2).

Табл. 2. Изменение амплитуды и длительности потенциала действия при синаптическом раздражении нейрона Ретциуса частотами от 1 до 10 Гц

Table 2. Changes in the amplitude and duration of action potential of the Retzius neuron during synaptic stimulation at frequencies from 1 to 10 Hz

Серии	Контроль	1 Гц	3 Гц	10 Гц
Форма ПД				
Амплитуда мкВ	51,1 ± 0,4	44,0 ± 10,8	58,0 ± 0,2	38,34 ± 1,7
Длительность мс	6,0 ± 0,04	7,2 ± 0,3	5,9 ± 0,02	10,0 ± 0,1

## Заключение

Приведенные данные демонстрируют, что НР является уникальной нейросекреторной клеткой, обладающей полифункциональной активностью. Поскольку в каждом ганглии брюшной нервной цепочки находятся только

два нейрона, выполняющих одновременно и нервную, и секреторную функции, эти клетки являются исключительным объектом для понимания того, как специализированная нервная клетка может регулировать многие стороны жизнедеятельности беспозвоночного животного.

## References

- Beck, A., Lohr, C., Deitmer, J. W. (2001) Calcium transients in subcompartments of the leech Retzius neuron as induced by single action potentials. *Journal of Neurobiology*, vol. 48, no. 1, pp. 1–18. PMID: 11391646. DOI: 10.1002/neu.1039 (In English)
- Bruns, D., Engert, F., Lux, H. D. (1993) A fast activating presynaptic reuptake current during serotonergic transmission in identified neurons of *Hirudo*. *Neuron*, vol. 10, no. 4, pp. 559–572. PMID: 8386524. DOI: 10.1016/0896-6273(93)90159-o (In English)
- Bruns, D., Riedel, D., Klingauf, J., Jahn, R. (2000) Quantal release of serotonin. *Neuron*, vol. 28, no. 1, pp. 205–220. PMID: 11086995. DOI: 10.1016/s0896-6273(00)00097-0 (In English)
- Carretta, M. (1988) The Retzius cells in the leech: A review of their properties and synaptic connections. *Comparative Biochemistry and Physiology — Part A: Molecular and Integrative Physiology*, vol. 91, no. 3, pp. 405–413. PMID: 2906825. DOI: 10.1016/0300-9629(88)90611-1 (In English)
- De-Miguel, F. F., Fuxe, K. (2012) Extrasynaptic neurotransmission as a way of modulating neuronal functions. *Frontiers in Physiology*, vol. 3, article 16. PMID: 22363292. DOI: 10.3389/fphys (in English)
- De-Miguel, F. F., Nicholls, J. G. (2015) Release of chemical transmitters from cell bodies and dendrites of nerve cells. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, vol. 370, no. 1672, article 20140181. PMID: 26009760. DOI: 10.1098/rstb.2014.0181 (In English)
- De-Miguel, F. F., Santamaría-Holek, L., Noguez, P. et al. (2012) Biophysics of active vesicle transport, an intermediate step that couples excitation and exocytosis of serotonin in the neuronal soma. *PLoS One*, vol. 7, no. 10, article e45454. DOI: 10.1371/journal.pone.0045454 (In English)
- De-Miguel, F. F., Trueta, C. (2005) Synaptic and extrasynaptic secretion of serotonin. *Cellular and Molecular Neurobiology*, vol. 25, no. 2, pp. 297–312. PMID: 16047543. DOI: 10.1007/s10571-005-3061-z (In English)
- Ehinger, B., Falck, B., Myhrberg, H. E. (1968) Biogenic monoamines in *Hirudo medicinalis*. *Histochemi*, vol. 15, no. 2, pp. 140–149. PMID: 5741854. DOI: 10.1007/BF00306364 (In English)
- Fischer, L., Scherbarth, F., Chagnaud, B., Felmy, F. (2017) Intrinsic frequency response patterns in mechano-sensory neurons of the leech. *Biology Open*, vol. 6, no. 7, pp. 993–999. PMID: 28546342. DOI: 10.1242/bio.023960 (In English)
- Kerkut, G. A., Walker, R. J. (1967) The action of acetylcholine, dopamine and 5-hydroxytryptamine on the spontaneous activity of the cells of Retzius of the leech *Hirudo medicinalis*. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*, vol. 30, no. 3, pp. 644–654. PMID: 6050503. DOI: 10.1111/j.1476-5381.1967.tb02171.x (In English)
- Lent, C. M. (1981) Morphology of neurons containing monoamines within leech segmental ganglia. *Journal of Experimental Zoology*, vol. 216, no. 2, pp. 311–316. DOI: 10.1002/jez.1402160212 (In English)
- Mar, A., Drapeau, P. (1996) Modulation of conduction block in leech mechanosensory neurons. *The Journal of Neuroscience*, vol. 16, no. 14, pp. 4335–4343. PMID: 8699244. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.16-14-04335.1996 (In English)
- Marsden, C. A., Kerkut, G. A. (1969) Fluorescence microscopy of the 5HT- and catecholamine-containing cells in the central nervous system of the leech *Hirudo medicinalis*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, vol. 31, no. 6, pp. 851–862. PMID: 5308458. DOI: 10.1016/0010-406x(69)91795-2 (In English)
- Mason, A., Sunderland, A. J., Leake, L. D. (1979) Effects of leech Retzius cells on body wall muscles. *Comparative Biochemistry and Physiology — Part C: Toxicology & Pharmacology*, vol. 63C, no. 2, pp. 359–361. PMID: 40750. DOI: 10.1016/0306-4492(79)90086-8 (In English)
- Moshtagh-Khorasani, M., Miller, E. W., Torre, V. (2013) The spontaneous electrical activity of neurons in leech ganglia. *Physiological Reports*, vol. 1, no. 5, article e00089. PMID: 24303164. DOI: 10.1002 / phy2.89 (In English)
- Nusbaum, M. P., Kristan, W. B. Jr. (1986) Swim initiation in the leech by serotonin-containing interneurons, cells 21 and 61. *The Journal of Experimental Biology*, vol. 122, pp. 277–302. PMID: 3723072. (In English)
- Sergeeva, S. S. (1994) Изменение характера импульсной активности нейронов Retziуса при возрастании частоты его синаптической активации [Electrophysiological research on the topography of the axodendritic synapses of Retzius' neuron in the leech]. *Zhurnal vysshej nervnoj dejatel'nosti im. I. P. Pavlova — I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*, vol. 44, no. 6, pp. 1144–1147. (In Russian)

- Sergeeva, S. S. (1995) Elektrofiziologicheskoe issledovanie topografii akso-dendritnykh sinapsov nejrona Rettsiusa pijavki [Electrophysiological research on the topography of the axodendritic synapses of Retzius' neuron in the leech]. *Fiziologicheskij zhurnal im. I. M. Sechenova — Russian Journal of Physiology*, vol. 81, no. 10, pp. 117–120. (In Russian)
- Sergeeva, S. S., Laktionova, A. A., Fomina, N. Yu. (2018) Effects of nimodipine, calcium-free medium and colchicine on electrogenesis of neurosecretory Retzius cells in the leech *Hirudo medicinalis*. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 54, no. 4, pp. 332–337. DOI: 10.1134/S0022093018040105 (In English)
- Smith, P. A., Walker, R. J. (1973) Studies on 5-hydroxytryptamine receptors of neurones from *Hirudo medicinalis*. *British Journal of Pharmacology*, vol. 47, no. 3, pp. 633P–634P. PMID: 4730849 (In English)
- Szczupak, L., Kristan, W. B. Jr. (1995) Widespread mechanosensory activation of the serotonergic system of the medicinal leech. *Journal of Neurophysiology*, vol. 74, no. 6, pp. 2614–2624. PMID: 8747219. DOI: 10.1152/jn.1995.74.6.2614 (In English)
- Trueta, C., Méndez, B., De-Miguel, F. F. (2003) Somatic exocytosis of serotonin mediated by L-type calcium channels in cultured leech neurons. *The Journal of Physiology*, vol. 547, no. 2, pp. 405–416. PMID: 12562971. DOI: 10.1113/jphysiol.2002.030684 (In English)
- Velázquez-Ulloa, N., Blackshaw, S. E., Szczupak, L. et al. (2003) Convergence of mechanosensory inputs onto neuromodulatory serotonergic neurons in the leech. *Journal of Neurobiology*, vol. 54, no. 4, pp. 604–617. PMID: 12555272. DOI: 10.1002/neu.10184 (In English)
- Willard, A. L. (1981) Effects of serotonin on the generation of the motor program for swimming by the medicinal leech. *The Journal of Neuroscience*, vol. 1, no. 9, pp. 936–944. PMID: 7288474. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.01-09-00936.1981 (In English)