**Функционирование нервной системы пиявки**

##### Сенсорные клетки в ганглиях пиявки

Когда кто-то задевает, давит или прищипывает кожу пиявки, она отвечает серией движений. Один или несколько сегментов резко сокращаются, на поверхности появляется серия четко различимых складок. Затем пиявка изгибается, разворачивается и уплывает прочь.

Отдельные сенсорные и моторные клетки можно отличить друг от друга по форме, размеру, расположению и электрическим характеристикамИх чувствительные окончания состоят из небольших утолщений, расположенных между эпителиальными клетками на поверхности кожи. Клетки быстро адаптируются к производимому давлению и прекращают активность уже через доли секунды. Модальности и ответы этих нейронов у пи явки аналогичны реакции механорецепторов кожи человека, которые способны различать прикосновение, давление и болевые раздражители. У беспозвоночных, однако, одиночная нервная клетка способна выполнять функцию многих чувствительных клеток кожи человека, иннервирующих, к примеру, кончики пальцев — очень густо иннервированную зону.

Каждая чувствительная клетка иннервирует строго определенную территорию. Эта территория может быть очерчена посредством регистрации активности клетки при раздражении кожи механическими стимулами или окрашиванием клетки и ее аксонов специальными маркерами, например, пероксидазой хрена (horseradish peroxidase). Границы иннервируемойзоны могут быть четко идентифицированы также по различным ориентирам, таким как сегментация или окраска тела, так что можно с уверенностью сказать, какая именно клетка активируется при прикосновении, давлении или пришипывании определенной области кожи. Таким образом, одна клетка, чувствительная к прикосновению, иннервирует кожу дорзальной и вентральной части, а также треть боковой поверхности сегмента. Аналогично, две чувствительные клетки разделяют поверхность сегмента на 2 примерно одинаковые области: вентральную и дорзальную. Пример развитой и стереотипной системы ветвления клетки, полученный при использовании пероксидазы хрена (horseradish peroxidase) клетки также посылают отростки к соседним ганглиям, которые потом иннервируют вторичные зоны по обе стороны от исходного сегмента. Конечные веточки отдельных чувствительных клеток иннервируют кольцевидный участок тела. Области их иннервации не перекрываются, хотя окончания разных нейронов одной модальности могут иногда вторгаться на чужую территорию. Как будет показано далее, в этом случае проведение в мельчайших веточках таких нейронов блокируется. Когда границы иннервируемых областей так хорошо различимы, также можно определить, каким образом происходит формирование зон иннервации при развитии и регенерации.

Добавочные сенсорные клетки, специфически реагирующие на свет, химические раздражители, вибрацию и растяжение, были обнаружены в головном конце, а также в теле пиявки.

##### 

##### Моторные клетки

Индивидуальные моторные клетки ганглия пиявки. Критерием того, что данные клетки являются моторными, служит тот факт, что каждый импульс данной клетки вызывает потенциал действия в ее аксоне, идущем к мышце, а затем и синаптический потенциал мышечного волокна. Более 20 пар двигательных клеток, иннервирующих мускулатуру, а также управляющих работой «сердца», были обнаружены в сегментарном ганглии. Благодаря им пиявка способна уплощаться, вытягиваться, сокращаться и изгибаться. Мышцы получают тормозное и модулирующее пептидэргическое влияние, а также возбуждающие импульсы через ацетилхолиновые синапсы. Нехватка всего одной клетки вызывает очевидный дефект в поведении — подобно генетическим "knockout" экспериментам на одиночных зрелых нейронах. Например, в каждом ганглии имеется только по одной двигательной клетке справа и слева, которые управляют сегментарной мышцей эректора тела (annulus erector,). Импульсация этих клеток приводит к образованию на коже пиявки поперечных складок, подобных мехам баяна. Можно убить эту двигательную клетку путем введения смеси протеолитических ферментов (проназ) в сегмент интактного животного. После этого пиявка не способна выпрямлять сегмент тела, иннервируемый ранее данным двигательным нейроном, в ответ на соответствующую сенсорную стимуляцию. Однако подобный дефект непостоянен, постепенно веточки из соседних, интактных нейронов возмещают дефект иннервации.

##### 

##### Взаимодействие чувствительных и двигательных нейронов

В нервной системе беспозвоночных синапсы между нейронами обычно располагаются не на соме, а на отростках в центральной части ганглия (область нейропиля). Синаптические потенциалы из нейропиля распространяются на сому клетки, где они и регистрируются как тормозные или возбуждающие потенциалы. Токи, протекаюшие через сому клетки, способны влиять на синаптические потенциалы и высвобождение медиатора. Несмотря на сложность строения, организация нейропиля крайне упорядочена. Это было установлено в экспериментах Мюллера и Мак Махана, которые первыми разработали методику внутриклеточного введения пероксидазы хрена на изолированных нейронах пиявки.

Характер ветвления чувствительных и двигательных клеток в нейропиле имеет свои особенности: каждая клетка демонстрирует свойственную только ей конфигурацию.. Единичная чувствительная клетка образует много модулирующих синапсов с другими клетками, получая в то же время регуляторные импульсы от значительного количества нервных клеток. Электрические синапсы напоминают щелевые контакты (gap junctions) с зазором порядка 4-6 нм между мембранами. Флуоресцентные красители, такие как люцифер желтый при введении их в клетку обычно, но не всегда, проходят через электрические синапсы и проникают в соседние клетки.

Клетки, отвечающие на соответствующие механические стимулы, образуют возбуждающие связи с L клетками (названными так потому, что они иннервируют продольные — longitudinal — мышцы), которые управляют сокращением пиявки. Несколькими способами, в том числе и посредством электронной микроскопии, было показано, что эти связи являются прямыми, т. е. отсутствуют какие-либо вставочные нейроны. Это является очень важным фактом, так как только при условии, что известны все составляющие данной цепочки, состоящей из нервных клеток, можно точно выделить те участки, на которых происходят интересные изменения сигнала.

Механизм передачи сигнала на двигательные L клетки различен и уникален для каждой чувствительной клетки. N клетки образуют химический синапс (с еле заметным намеком на электрическое соединение), Т клетки формируют выпрямляющий электрический синапс, а Р клетки — комбинацию обоих способов. Также Ρ и N клетки образуют прямые химические синапсы еще на одной клетке — АЕ мотонейроне. Трансмиттерами служат ацетилхолин, ГАМК, глутамат, дофамин, серотонин и пептиды.

##### 

##### Кратковременные изменения синаптической передачи

Во время того, как пиявка плывет или передвигается по поверхности, механическая стимуляция кожи вызывает серии импульсов. В этих условиях повторной активности передача в химических синапсах значительным образом меняется по силе. Различная активность разных химических синапсов способствует последовательной активации или инактивации двух различных постсинаптических мишеней одним чувствительным нейроном, активируя сначала одну, а потом другую. Такой тип «дифференцированно го» воздействия хорошо объясняет тот факт, что при давлении на кожу пиявки сначала возникает сокращение, а потом выпрямление сегментов.

Сокращение стенок тела возникает быстро и длится недолго, в то время как распрямление (erection) мышечного кольца происходит более медленно и длится дольше. Такая реакция хорошо объясняется синаптическими потенциалами, которые вызывают облегчение на определенных частотах и управляют последовательной активацией двух мотонейронов. Когда клетка посылает серию импульсов в ответ на физиологический раздражитель, синаптические потенциалы в химических синапсах могут быть обнаружены и в мотонейронах. Эти синаптические потенциалы проходят фазы облегчения и депрессии. Облегчение (facilitation), однако, значительно более выражено и дольше длится в синапсах АЕ мотонейронов. Большое количество косвенных экспериментов позволяют предполагать, что облегчение и депрессия зависят от количества медиатора, высвобожденного из терминалей N клеток. Сходные эффекты были обнаружены в клетках-мишенях, иннервируемых кортикальными нейронами.

У пиявок и *Aplysia*,имеются и более медленные пути проведения сигнала, посредством интернейронов, которые идут параллельно основному пути. Они служат для координации более сложных движений в определенную сторону в ответ на механическое раздражение. Например, Кристан и его коллеги показали, что в случае давления на одну сторону пиявки возникает сгибание тела. Направление сгибания зависит от того, на какой участок тела наносится раздражение. Рефлекс сгибания способствует развороту тела от раздражителя. Относительная частота активности четырех Ρ нейронов, которые распознают место нанесения раздражения, анализируется сетью из 25-30 интернейронов, контролирующих сгибание тела в нужном направлении. Это достигается путем сокращения одних мышц и расслабления других. То, каким образом происходит активация двигательных нейронов, зависит от результатов работы этой нейронной сети. Интересно, что в стоматогастрическом ганглии омаров любой интернейрон может быть вовлечен в анализ большого количества движений.

##### 

##### Мембранный потенциал, пресинаптическое ингибирование и освобождение медиатора

У пиявки насосную функцию кровеносных сосудов, составляющих сегментарные «сердца», контролируют мотонейроны ЦНС. Циркуляция крови зависит от перистальтических волн, распространяющихся вдоль тела животного, и скоординированного насосного механизма по обеим сторонам тела. В хорошо изученных нейронах пиявки, управляющих частотой сокращения «сердец», ритмическая активность формируется путем циклического изменения мембранного потенциала за счет синапсов вставочных нейронов24). Это, в свою очередь, регулирует процесс освобождения медиатора в двигательных клетках. Деполяризация и гиперполяризация на пресинаптическом уровне уже в течение короткого времени вызывают значительные реакции. В частности, длительная деполяризация пресинаптической терминали в синапсе между интернейроном и двигательным мотонейроном «сердца» приводит к тому, что в ответ на потенциал действия выделяется больше медиатора. И наоборот, если пресинаптическая терминаль гиперполяризуется, высвобождается меньшее количество передатчика.

Сдвиг потенциала покоя даже на 5 мВ (от —40 до —35 мВ) может вызвать трехкратное увеличение количества высвобождаемого медиатора, в то время как амплитуда и продолжительность потенциала действия не так явно меняются в ответ на подобное изменение МП. Нервная терминаль периодически гиперполяризуется в результате тормозного влияния отдельных интернейронов, что значительно уменьшает количество квантов медиатора, выделяющихся в ответ на приходящий импульс. Это является примером того, как осуществляется пресинаптическое ингибирование при гиперполяризации, механизм которой можно объяснить путем анализа квантового состава. Торможение так реализовано во времени, чтобы обеспечивать расслабление сосудов тела с одной стороны во время сокращения их на контралатеральной стороне. Аналогичное влияние величины мембранного потенциала на пресинапсе на секрецию медиатора можно более тщательно изучить на синапсах, образующихся между нейронами в культуре клеток

##### 

##### Повторная активность и блок проведения сигнала

Угнетение проведения сигнала представляет собой еще один хорошо изученный механизм регулирования работы синапса. В ЦНС пиявок и тараканов, а также в двигательных аксонах ракообразных в ответ на серию потенциалов действия физиологической частоты возникает угнетение проводимости сигнала на определенных участках ветвления. В Т, N и Ρ нейронах пиявки механизм подобного ингибирования зависит от гиперполяризации, вызываемой электрогенным натриевым насосом и длительными изменениями проводимости кальций-активируемых калиевых каналов. Так, например, частые повторные прикосновения или давление на кожу пиявки вызывают серию импульсов и длительную гиперполяризацию Ρ клеток. В результате это го проведение сигнала блокируется в точках ветвления в области нейропиля, где создаются неблагоприятные условия для проведения импульса. Именно здесь аксоны малого диаметра переходят в большие по диаметру, в то время как в других веточках этого же нейрона сигнал проводится.

Блок проведения является несинаптическим механизмом, который на время отсоединяет или клетки от некоторых их мишеней. Когда же блокированными оказываются не все, а только часть волокон, освобождение передатчика происходит, но в меньшем количестве. Повреждая при помощи лазера определенные точки ветвления, Мюллер с коллегами сумели оценить вклад отдельных веточек. Синаптические потенциалы, записанные на пресинапсах мотонейронов, полностью исчезли при блоке проведения в ответ на повреждения лазером, нанесенные в точках. Однако одновременно с этим синаптические потенциалы были зарегистрированы в мотонейроне, иннервируемом той же клеткой, поскольку этот мотонейрон получал сигналы от веточек, проведение в которых не было нарушено. Повторная активность в физиологическом диапазоне частот привела (в этом случае) к достоверному уменьшению поверхности кожи, с которой вызывались ответы мотонейрона, т. е. к временному сокращению размеров рецепторного поля.

Блокирование проведения может привести порой к неожиданному эффекту. Потенциал действия, который не смог перейти с малого аксона на большой, вызывает на последнем локальный потенциал. Этот деполяризационный потенциал, имеющий подпороговую амплитуду, длится гораздо дольше, чем исходный потенциал действия. Таким образом, может возникнуть второй потенциал действия, распространяющийся ретроградно от точки ветвления в сторону терминали чувствительной клетки и там вызывающий повторное выделение медиатора, с небольшой задержкой после первого импульса.

Блок проведения в дорзальных аксонах спинного мозга млекопитающих впервые был описан Барроном и Метьюсом в 1935 году, затем прочно забыт и только гораздо позже стал изучаться на беспозвоночных. Сейчас уже очевидно, что блок проведения является ключевым моментом интегративных процессов на дендритах ЦНС млекопитающих.

##### 

##### Высшие уровни интеграции

Одной из целей изучения таких животных, как пиявки, является исследование того, каким образом простейшие элементарные рефлексы образуют сложные поведенческие реакции. Пиявка оказалась особенно подходящим объектом для изучения путей и отдельных клеток, которые действуют слаженно во время плавания. Этот сложный тип движений изучался Стентом, Кристаном, Фризером и их коллегами. Активность головного и хвостового «мозга» вовсе не являются необходимым условием для осуществления плавательного движения, которое возникает и в нескольких изолированных сегментах и даже всего в одном сегменте. Как и у других беспозвоночных (таких как тараканы, саранча и сверчки), у которых высшие моторные программы с участием небольшого количества нейронов способны контролировать сложные движения, базовый ритм движений пиявки задается рядом возбуждающих и тормозных взаимодействий в ЦНС. Периферические рецепторы служат для регуляции, усиления, ослабления или полной остановки движений пиявки. Сходным же образом препараты изолированного мозга млекопитающих способны генерировать ритм дыхательных движений *in vitro*.

У позвоночных, в свою очередь, интересную роль в регуляции двигательной активности играют биогенные амины. В крови неподвижных, вялых и не плавающих пиявок уровень серотонина ниже, чем у активных пиявок. Более того, стимуляция секретирующих серотонин клеток (известных как клетки Ретциуса (Retzius cells)), приводит к увеличению его концентрации в крови, и в конечном счете способствует повышению активности всего животного. Можно полностью удалить серотонин из крови эмбриона при помощи специального реактива (5,6-дигидрокситриптамин), который избирательно разрушает серотонин--эргические нейроны в развивающихся ганглиях. Такое взрослое животное само по себе не способно плавать, однако плавательные движения появляются при добавлении в среду серотонина.

Беспозвоночные демонстрируют большое разнообразие сложных типов поведения.

∙ Свойства нейронов и глиальных клеток беспозвоночных аналогичны свойствам клеток позвоночных.

∙ НС беспозвоночных состоит из сотен или тысяч нейронов.

∙ Каждый вид беспозвоночных имеет определенные преимущества для изучения тех или иных вопросов нейробиологии.

∙ Свойства отдельных нервных клеток и синапсов можно использовать для объяснения поведения животного и его изменений.

∙ Объективное изучение поведения пролило свет на многие фундаментальные принципы нейробиологии.

∙ Не все работы, выполняемые на ЦНС беспозвоночных, непременно имеют цель понять механизмы работы мозга человека. Некоторые проблемы беспозвоночных сами по себе привлекательны для изучения.

**Литература**

1. Пенроуз О компьютерах, мышлении и законах физики.
2. Грегори Р.Л. Разумный глаз.
3. Леках В.А. Ключ к пониманию физиологии.
4. Гамов Г., Ичас М. Мистер Томпкинс внутри самого себя: Приключения в новой биологии.