

УДК 591

ДОНЕРВНЫЕ ТРАНСМИТТЕРЫ КАК РЕГУЛЯТОРЫ ЭМБРИОГЕНЕЗА. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ¹

© 2007 г. Г. А. Бузников

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

119334 Москва, ул. Вавилова, д. 26

Университет Северной Каролины, Чэпел Хилл, NC 27599, США

E-mail: buznikov@hotmail.com

Поступила в редакцию 19.04.06 г.

Окончательный вариант получен 04.07.06 г.

Посвящаю этот обзор профессору-хирургу Филиппу Уолтеру
(Philip Walther, Duke University Hospital), благодаря которому,
продолжая работать, перешагнул порог 75-летия

Наши представления о донервных нейротрансмиттерных системах и их функциях вплоть до последнего времени основывались на старых фармакологических и биохимических данных, недавно подтвержденных и существенно дополненных. Специфические компоненты донервных серотонинергической и эндоканнабиноидной систем были идентифицированы у развивающихся зародышей иглокожих с помощью иммуоцитохимии, Вестерн-иммуоэлектроблоттинга и высокоскоростной жидкостной хроматографии–масс-спектрометрии. Эти данные были подкреплены результатами фармакологических опытов: найдено, что некоторые лиганды серотонинрецепторов, а также агонист каннабиноидных рецепторов анандамид приводят к возникновению аномальных зародышевых фенотипов, выраженность которых зависит от концентрации лиганда-тератогена. Возникновение этих аномальных фенотипов предотвращается соответственно серотонином и его липофильными (или гидрофильными) аналогами или антагонистами каннабиноидных (CB₁/CB₂)-рецепторов.

Ключевые слова: серотонин, серотонинрецепторы, каннабиноидные рецепторы, зародыши морских ежей.

Классические нейротрансмиттеры (ацетилхолин, серотонин, катехоламины) функционируют не только как синаптические передатчики, но и как регуляторы раннего (донервного) эмбриогенеза, что стало известно около 45 лет тому назад (Koshtoyants et al., 1961; Бузников, 1963; Buznikov et al., 1964). Уже через несколько лет после этого появился первый обзор по проблеме донервных трансммиттеров, в основном посвященный их обнаружению у различных групп животных – позвоночных и беспозвоночных (Бузников, 1967). К 1980-м гг. эти сведения были подтверждены и расширены (Gustafson, Toneby, 1970; Toneby, 1977; Renaud et al., 1983; Buznikov, 1984). Были получены первые данные о функциональном сопряжении донервных трансммиттеров с внутриклеточными регуляторными каскадами (Renaud et al., 1983; Шмуклер и др., 1984; Ростомян и др., 1985). Новые результаты были рассмотрены в очередной серии обзоров (Бузников, 1987; Buznikov,

1990; Pendleton et al., 1998; Azmitia, 2001), в частности, была предложена схема, описывающая возрастную динамику эмбриогенетических функций у донервных и нервных трансммиттеров (Buznikov et al., 1996). Мы продолжаем свои эксперименты вплоть до настоящего времени, увеличилось и число других исследователей, занимающихся донервными трансммиттерами. Сведения о соответствующих регуляторных системах были проверены с помощью современных методов; получены первые молекулярно-биологические и иммуоцитохимические данные о присутствии и локализации в клетках развивающихся зародышей самих трансммиттеров, их рецепторов и белков-переносчиков, а также о возможной роли донервных трансммиттеров в регуляции работы генома. Ранние (донервные) зародыши различных животных, особенно морских ежей, стали все чаще использоваться как биосенсоры для выявления и изучения фармакологически активных веществ, проверки тератогенной активности химических загрязнений внешней среды и поиска соответствующих антидотов. Этот прогресс в развитии проблемы

¹ Работа частично поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проекты № 02-04-48129, 05-04-48293) и National Institute of Drug Abuse (NIDA, проект № 1-R21DA01-103-01).

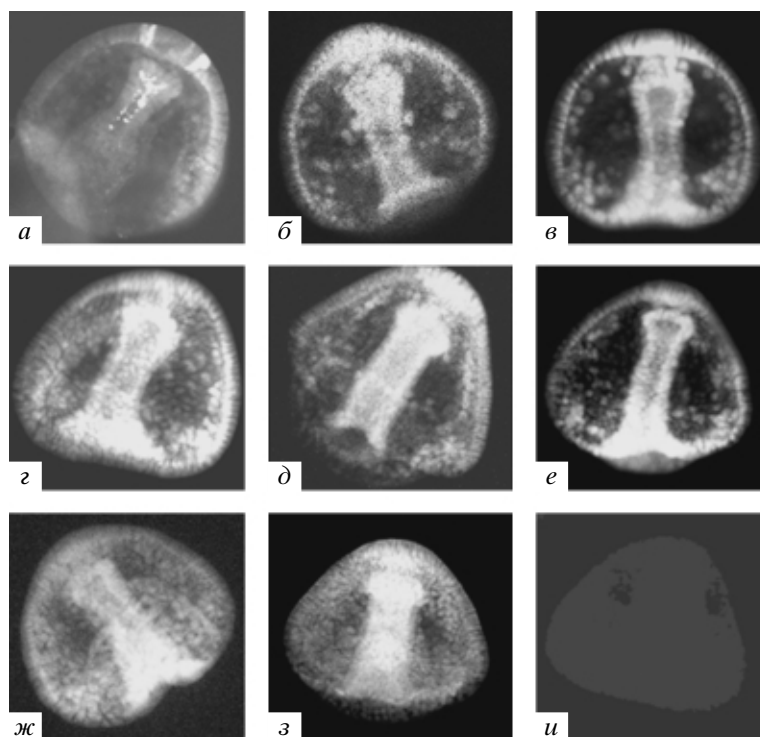


Рис. 1. Иммуноцитохимическая экспрессия компонентов серотонинергической системы у донервных личинок морского ежа *Lytechinus variegatus* (стадия поздней гаструлы).

a – серотонин; *б–з* – его рецепторы: 5-HTR_{1A} (*б*); 5-HTR_{1B} (*в*); 5-HTR_{2A} (*г*); 5-HTR_{2B} (*д*); 5-HTR₃ (*е*); 5-HTR₄ (*ж*); SERT (серотонин-транспортер, *з*); *и* – контроль (SERT + блокирующий пептид). По: Buznikov et al., 2005, с модификациями.

донервных трансммиттеров делает необходимым хотя бы краткий обзор новых результатов.

СУЩЕСТВУЮТ ЛИ ДОНЕРВНЫЕ ТРАНСМИТТЕРНЫЕ СИСТЕМЫ?

Если для ряда специалистов по нейробиологии и биологии развития существование функционально активных донервных нейротрансммиттеров – само собой разумеется и не нуждается в специальном изучении, то для некоторых других – абсолютно невозможно, и поэтому опять-таки не заслуживает изучения. Разумеется, и те и другие неправы, но наличие подобных диаметрально противоположных точек зрения указывает на необходимость проверить само существование донервных трансммиттерных систем с помощью современных методов исследования. Такую проверку провели и проводят многие исследователи; в ходе ее был расширен спектр донервных трансммиттеров и найдены ранее не идентифицированные, хотя и постулированные, компоненты соответствующих регуляторных систем.

Существование донервного серотонина было подтверждено иммуноцитохимически (рис. 1), фармакологически (у немертины, морских ежей, моллюсков, насекомых, асцидии, ланцетника, у млекопитающих: Cerda et al., 1998; Colas et al.,

1999a, b; Walther, Bader, 1999; Stricker, Smythe, 2000, 2001; Candiani et al., 2001; П'кова et al., 2004; Amireault, Dube 2005; Buznikov et al., 2005) и с помощью высокоскоростной жидкостной хроматографии–масс-спектрометрии (у морских ежей: Anitole-Misleh, Brown, 2004). Дофамин и ацетилхолин были идентифицированы у зародышей морских ежей (Buznikov, Rakich, 2000; Anitole-Misleh, Brown, 2004) и в ооцитах разных групп позвоночных и беспозвоночных (см. ниже). При этом было подтверждено, что уровень дофамина у развивающихся зародышей морских ежей, как полагали ранее (Toneby, 1977), значительно выше уровня других донервных трансммиттеров (Anitole-Misleh, Brown, 2004).

Фармакологические, электрофизиологические, иммуноцитохимические (рис. 1) и молекулярно-биологические исследования, проведенные на зародышах и личинках морских ежей, обнаружили у них и другие компоненты донервной серотонинергической системы – различные группы рецепторов (или, более осторожно, рецептороподобных белков, мишеней для серотонина), белок-переносчик серотонина (SERT) и энзим триптофангидроксилазу (Cameron et al., 1994; Buznikov et al., 2001, 2005; Vesela et al., 2003; Fukumoto et al., 2005; см. также “Sea Urchin Genome Project” – <http://sugp.caltech.edu> и “Sea Urchin Ge-

nome Resources” – www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/sea_urchin/).

С помощью аналогичных методов у зародышей и ооцитов были найдены рецепторы и энзимы синтеза других трансммиттеров (ацетилхолина и дофамина) (Bodis et al., 1993; Ivonnet, Chambers, 1997; Mayerhofer et al., 1998; Angelini et al., 2004; Anitole-Misleh, Brown, 2004; Candiani et al., 2005; Cikos et al., 2005). И, наконец, были получены данные о существовании у ооцитов, зародышей и личинок донервной каннабиноидной системы (анандамида, каннабиноидных и ваниллоидных рецепторов, мембранного переносчика анандамида) (Berdyshev, 1999; Buznikov et al., 2002; Schuel et al., 2002; Schuel, Burkman, 2005). В частности, анандамид идентифицирован с помощью жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии у развивающихся ранних зародышей морского ежа *Lytechinus variegatus*; соответствующие опыты проводим и мы, но они еще не завершены. Таким образом, к числу известных или предполагаемых донервных трансммиттеров причислен анандамид. Его рецепторы были найдены у зародышей не только иммуноцитохимически, но и с помощью Вестерн-иммуноэлектроблоттинга (неопубл. данные). На основании ряда косвенных данных, полученных на морских ежах и заднежаберных моллюсках, было высказано предположение, согласно которому функционально активные донервные трансммиттеры (серотонин и дофамин) могут присутствовать у развивающихся зародышей не только сами по себе, но и в виде амидов полиеновых жирных кислот (Бузников, Безуглов, 2000); проверка этого предположения является одной из задач будущих исследований. Положительные результаты этой проверки могли бы открыть новые пути для изучения функционального взаимодействия донервных трансммиттерных систем, поскольку названные амиды активны по отношению к компонентам как серотонин- и дофаминергической, так и каннабиноидно-ваниллоидной систем.

ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА ТРАНСМИТТЕРНЫХ СИСТЕМ

В наших предыдущих обзорах было обосновано представление, согласно которому вещества, идентичные классическим нейротрансммиттерам, функционально активны как во время предзародышевого развития, при созревании ооцитов и оплодотворении, так и в течение всего последующего онтогенеза (Buznikov, 1990; Buznikov et al., 1996, 2001). Это представление подтверждено последующими исследованиями. В ооцитах различных групп позвоночных и беспозвоночных найдены классические нейротрансммиттеры и другие компоненты соответствующих трансммиттерных систем – рецепторы и белки-переносчики. Эти си-

стемы функционально активны: трансммиттеры участвуют в регуляции созревания ооцитов, действуя на рецепторы, сопряженные с внутриклеточными сигнальными каскадами (Bodis et al., 1993; Mayerhofer et al., 1998; Arellano et al., 1999; Leclerc et al., 2000; Fritz et al., 2001; Cikos et al., 2005; Schuel, Burkman, 2005). В частности, показано, что серотонин является регулятором (у морских звезд, рыб, амфибий, птиц, млекопитающих) или даже триггером (у немертин, моллюсков) созревания ооцитов (Buznikov et al., 1993; Никитина, Бузников, 1996; Cerda et al., 1998; Mayerhofer et al., 1998; Arellano et al., 1999; Stricker, Smythe, 2000, 2001; Vesela et al., 2003; Amireault, Dube, 2005; Sheng et al., 2005). При этом во всех исследованных случаях серотонин функционально сопряжен с ионами кальция и с сигнальной системой “аденилилциклаза – цАМФ”. Если цАМФ активирует созревание ооцитов (немертины, моллюски), то аналогичное действие оказывает и серотонин – как экзогенный, так, по-видимому, и эндогенный. Если же цАМФ выступает как сигнальное вещество, тормозящее или блокирующее созревание ооцитов на профазе второго мейоза, то серотонин также тормозит или блокирует созревание, действуя как функциональный антагонист гормона созревания прогестерона.

Имеются новые данные и об участии нейротрансммиттеров (серотонина, катехоламинов, ацетилхолина, анандамида) в регуляции различных этапов оплодотворения – от движения сперматозоида и его проникновения в яйцеклетку до кортикальной реакции и блока полиспермии (Misamore et al., 1996; Nicotra, Schatten, 1996; Schuel, Burkman, 2005).

Что же касается собственно зародышевого и личиночного развития, то роль донервных и нервных нейротрансммиттеров в его регуляции была подтверждена неоднократно как в наших работах (Buznikov et al., 2001, 2003, 2005; Qiao et al., 2003), так и в публикациях других авторов (Colas et al., 1999a, b; Candiani et al., 2001, 2005; Vesela et al., 2003; Anitole-Mysleh, Brown, 2004; Cikos et al., 2005; Fukumoto et al., 2005). Эти вещества необходимы для делений дробления, для ранних межклеточных взаимодействий, для регуляции морфогенетического движения клеток (особенно во время гастрюляции и на постгастрюляционных стадиях развития) и эмбриональной моторики. Накапливается все больше данных об участии нейротрансммиттеров в метаморфозе (McCauley, 1997; Pires et al., 2000; Falugi et al., 2002; Dobretsov, Qian, 2003; Leise et al., 2004; Clark et al., 2005). Экстраэмбриональные скопления клеток, имеющие зародышевое или смешанное (зародышевое и материнское) происхождение (зародышевые оболочки, плацента), и жидкости внутри эмбриональных оболочек также содержат нервные трансммиттерные системы, участвующие в регуля-

торных процессах, что было установлено еще в 1970–1980-е гг. (см. обзоры: Buznikov et al., 1996, 2001) и подтверждено новыми исследованиями (Manukhin, Boiko, 2000; Falugi et al., 2002; Nechaeva, Turpaev, 2002; Sakuragawa et al., 2004).

То, что донервные трансмиссивные системы изменяются по ходу раннего эмбриогенеза и что наиболее резкие их изменения у морских ежей совпадают с началом гаструляции, стало очевидным на основании иммуноцитохимических опытов. Именно при гаструляции, как предполагалось и в наших старых работах (Бузников, 1967, 1987), начинается трансмиссивная специализация клеток (Buznikov et al., 2005). Иммуноцитохимическая экспрессия серотонина, его белка-переносчика, серотонинергических и каннабиноидных рецепторов (более осторожно, рецептороподобных белков) перестает быть выраженной во всех эмбриональных клетках и обнаруживается сначала преимущественно в зоне бластопора, а затем и в клетках архентерона, перемещаясь по мере его роста в направлении к анимальному полюсу личинки. На стадии призмы серотонин появляется в клетках апикального органа, предшественника апикальных нервных ганглиев (рис. 1). Сведения о возрастных изменениях донервных нейротрансмиссивных систем были получены и в ходе фармакологических опытов.

АНОМАЛЬНЫЕ ФЕНОТИПЫ

В наших опытах на зародышах и личинках иглокожих (главным образом, морских ежей) было показано, что многие лиганды донервных нейротрансмиссивных рецепторов или ингибиторы транспорта нейротрансмиссивов, использованные в умеренных концентрациях (обычно не выше 20 мкМ, а чаще в значительно более низких), нарушают постбластуляционное развитие, вызывая возникновение аномальных зародышевых и личиночных фенотипов. Эти фенотипы изучены наиболее подробно для лигандов, влияющих на серотонинергическую систему (исследовано свыше 40 подобных веществ), но определенные сведения получены также и для дофамин-, холинергических и каннабиноидных соединений, особенно анандамида. Все исследованные аномальные фенотипы имеют много общего – они всегда сопровождаются торможением или блокадой гаструляции и массовым выселением эктодермальных клеток в бластоцель. Некоторые аномальные фенотипы сопровождаются также образованием внезародышевых скоплений выселившихся клеток (таблица). Ранее мы предполагали, что при этом имеет место и гиперпродукция клеток первичной и вторичной мезенхимы (Buznikov et al., 2005), но позднее обнаружили, что их число при

Некоторые особенности аномальных фенотипов, вызванных нейрoхимическими тератогенами у зародышей и личинок морских ежей

Вещества**	Локализация мишеней	Изменения фенотипа зародышей и личинок				
		блок дробления	образование многослойной стенки тела	аккумуляция клеток в бластоцеле	выселение клеток в среду*	скопление клеток вне зародыша
5-HTR _{1A} , агонисты	Поверхность клеток	–	–	около бластопора	–	
5-HTR _{1B} , агонисты	То же, цитоплазма	+	–	сбоку от бластопора	–	
Ритансерин	Цитоплазма	+	+	по всей внутренней поверхности	–	
MDL-11939	Поверхность клеток	–	–	?	?	
Другие антагонисты, 5-HTR ₂	Цитоплазма	+, –	+	по всей внутренней поверхности	+	–
TDB, 5-HTR ₃ , антагонист	Поверхность клеток, цитоплазма	–	–	около бластопора	–	
5-HTR ₄ , антагонисты	?	+, –	–	у анимального полюса	–	
Флуоксетин, ингибитор SERT	Поверхность клеток	+	–	равномерное распределение	+	
Никотин	То же	–	–	около бластопора		
AA-Ch	То же, цитоплазма	+	–	»»	+	+
Хлорпирифос	То же	–	–	»»		

Примечания. * Подразумевается прижизненное выселение клеток, а не посмертная дезагрегация зародышей или личинок; ** концентрации обычно не превышали 40–80 мкМ.

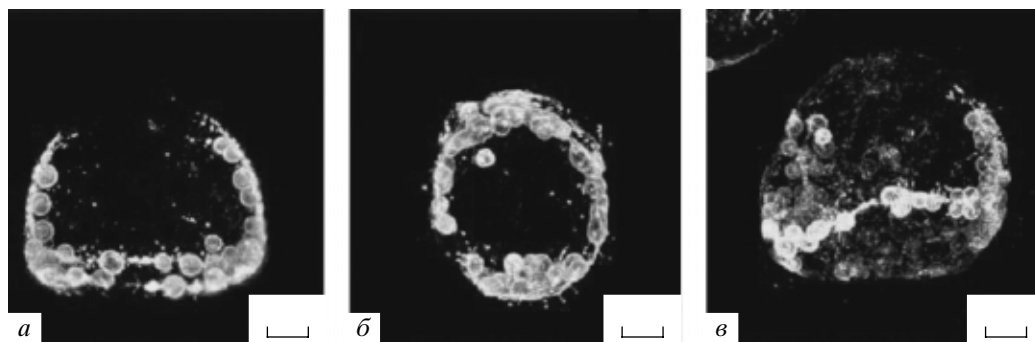


Рис. 2. Иммуноцитохимическое выявление клеток первичной мезенхимы у донервных личинок морского ежа *Lytechinus variegatus* (стадия ранней гаструлы): контрольных (а) и обработанных 25 мкМ анандамидом (AEA) и 25 мкМ AEA + 40 мкМ арванилом (агонистом ваниллоидных и каннабиноидных рецепторов) (б, в соответственно). Видно неполное, но очевидное защитное действие арванила против AEA. Масштаб: 50 мкм.

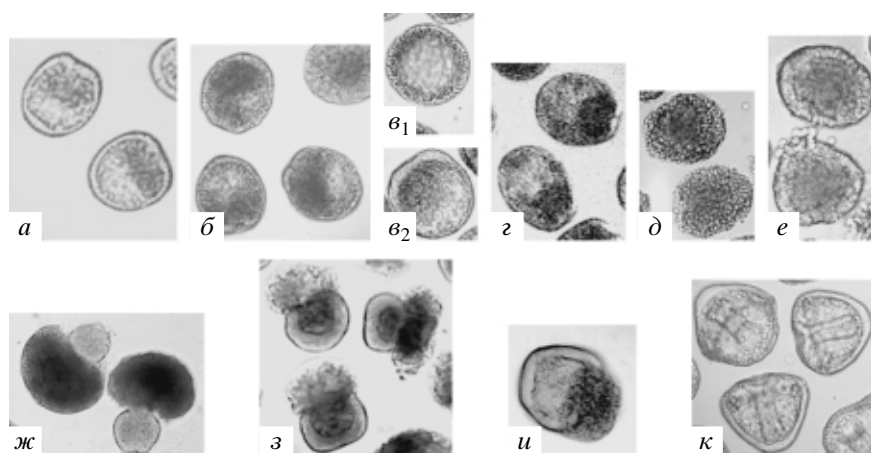


Рис. 3. Типичные нарушения развития, вызванные различными нейрехимическими препаратами во время гаструляции морского ежа *Strongylocentrotus droebachiensis*: а – агонистами 5-HTR_{1A} (8-OH-DPAT, 8-OH-PIPAT); б – агонистами 5-HTR_{1B} (CGS 12066B, 5-нонилокситриптамиин); в₁ – в₂ – антагонистами 5-HTR₂: ритансерин (в₁) и цинансерин, ципрогептадином и др. (в₂); г – антагонистом 5-HTR₃ тропанил-3,5-диметилбензоатом; д – антагонистом 5-HTR₄ GR-113808; е – ингибиторами SERT (имипрамин, флуоксетин); ж – агонистом н-холинорецепторов никотином; з – арахидоноилхолином; и – холинергическим пестицидом хлорпирифосом; к – контроль (стадия поздней гаструлы).

действию тератогена (в данном случае анандамида) не увеличивается – нарушается лишь нормальный паттерн их распределения (рис. 2).

Аномальные фенотипы при всем своем сходстве имеют и различия: некоторые их особенности оказались типичными для того или иного класса исследованных лигандов (Buznikov et al., 2001, 2005) (таблица, рис. 3). Следует добавить, что результаты рассматриваемых опытов характеризуются замечательным единообразием: нарушения развития, вызванные определенной эффективной концентрацией данного нейрехимического тератогена, оказываются практически одними и теми же для всех опытных зародышей или личинок (для ~3000 особей, полученных от разных самок) и никогда не наблюдаются в контроле.

Выраженность аномальных фенотипов зависит от концентраций лиганда. Как правило, они несовместимы с дальнейшим развитием личинок и завершаются смертью, наступающей тем раньше, чем выше эта концентрация. Возникновение аномальных фенотипов может быть полностью или частично предотвращено специфическими антагонистами лигандов-тератогенов. Наблюдаемое защитное действие также зависит от концентрации, что обнаруживается не только на прижизненных изображениях зародышей или личинок (рис. 4), но и на иммуноцитохимических препаратах (рис. 2). При использовании в качестве антидотов серотонина и его производных было показано, что выраженность их защитных действий зависит от локализации белков-мишеней и, следовательно, позволяет судить об этой локализации. Там, где наиболее эффективными являются

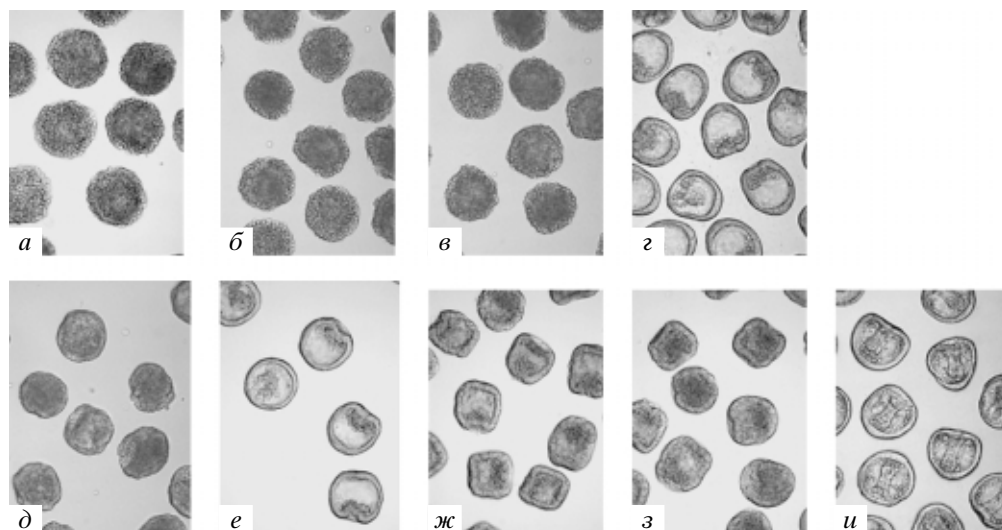


Рис. 4. Защитное действие серотонина и его производных против ритансерина (а–з) и флуоксетина (д–з) у морского ежа *S. droebachiensis*: а – 10 мкМ ритансерин; б – а + 40 мкМ 5-НТQ, защитного действия нет; в – а + 40 мкМ серотонин, слабая защита; з – а + 40 мкМ АА-5-НТ (арахидоноилсеротонин), хорошая, хотя и неполная, защита; д – 5 мкМ флуоксетин; е – д + 40 мкМ 5-НТQ, хорошая, хотя и неполная, защита; ж – д + 40 мкМ серотонин, слабая защита; з – д + 40 мкМ АА-5-НТ, защитного действия нет; и – контроль.

липофильные антитоды, например арахидоноилсеротонин (АА-5-НТ), функционально активные белки-мишени, по-видимому, локализованы внутриклеточно. Если же наиболее эффективным антитодом оказывается гидрофильный дериват серотонина 5-НТQ, белки-мишени функционируют на клеточной поверхности (рис. 4, таблица).

Многие из исследованных нейрехимических препаратов, например ципрогептадин, ритансерин и агонист каннабиноидных рецепторов SR 55940, не только вызывают нарушения постбластуляционного развития, но при более раннем внесении тормозят или блокируют деления дробления. С началом гастрюляции чувствительность к этим веществам повышается, а фармакологические характеристики их действия меняются. Другие нейрехимические тератогены, например миансерин, хлорпирифос, никотин или анандамид, даже в высоких концентрациях (до 80–100 мкМ и выше) совершенно не влияют на деления дробления и начинают специфически действовать только по завершении бластуляции. В обоих случаях подтверждается сделанный на основании иммуноцитохимических данных (см. выше) вывод о резком, непосредственно после стадии средней бластулы, изменении донервных нейротрансмиттерных систем, которое происходит одновременно с переключением генома на новый, зародышевый, уровень, т.е. совпадает с так называемым периодом “mid-blastula transition”. Можно предположить поэтому прямое участие донервных нейротрансмиттеров, действующих через соответствующие рецепторы и функционально сопряженные

с ними внутриклеточные сигнальные пути, в регуляции работы генома. Более того, сопоставляя аномальные фенотипы, вызванные нейрехимическими тератогенами и антисенс-нуклеотидами (нуклеотидами, специфически выключающими определенные участки генома), можно сделать предварительные выводы о конкретном характере этого участия. Описанные фармакологические опыты являются необходимой подготовкой к молекулярно-биологическому изучению донервных трансмиссивных функций.

Фармакологические характеристики исследованных нейрехимических лигандов, а следовательно, и фармакологические характеристики соответствующих рецепторов, как правило, не совпадают или не вполне совпадают с таковыми, полученными при изучении действия этих лигандов на нервную систему взрослых животных. Следовательно, донервные нейротрансмиттерные рецепторы могут существенно отличаться от рецепторов дифференцированных клеток не только по локализации, но и по свойствам. Было предположено поэтому, что донервные рецепторы как филогенетически более древние белки имеют собственные характеристики и являются эволюционными предшественниками нейрональных рецепторов (Buznikov et al., 2005). Более того, была высказана гипотеза о том, что внутриклеточные и расположенные на клеточной поверхности донервные рецепторы возникли в эволюции независимо друг от друга и что непосредственным предшественником нейрональных рецепторов является только вторая из названных групп. Для проверки этих предположений необ-

ходимо молекулярно-биологическое клонирование донервных трансмиссерных рецепторов.

Детальное изучение вызванных нейрoхимическими тератогенами аномальных фенотипов открыло путь ко все более широкому использованию ранних зародышей иглокожих в качестве биосенсоров для недорогого, быстрого и массового исследования и изучения этих веществ и для обнаружения лигандов, могущих предотвращать возникновение этих аномалий. Мы уже многие годы проводим такое изучение с использованием оригинальной техники, получившей в последнее время название "повреждай и спасай" ("disturb and rescue strategy") (Buznikov et al., 2003, 2005).

Таким образом, исследования донервных нейротрансмиссерных систем, проведенные с помощью современных методов, не только подтвердили существование этих систем, но и открыли много нового. К числу донервных нейротрансмиссеров причислен анандамид, получены иммуноцитохимические сведения о донервных трансмиссерных рецепторах и белках-переносчиках, прослежены возрастные изменения локализации и функционального значения этих рецепторов, высказаны обоснованные предположения о ранее неизвестных функциях донервных трансмиссерных систем. Накоплены сведения о множественности мишеней белков-нейротрансмиссеров у развивающихся зародышей и о их сопряженности с различными регуляторными каскадами белков. Выявлены наиболее перспективные направления дальнейших исследований – как фундаментальных (изучение молекулярно-биологических механизмов функционирования донервных трансмиссерных систем), так и прикладных (поиск веществ, защищающих эмбриональные клетки от действия нейрoхимических тератогенов).

Экспериментальные материалы, использованные для этого обзора, получены с помощью Л.А. Никитиной, В.В. Безуглова, Р.Э. Петерсона, М. Франсиско, А. Обиспо-Пик, Т. Слоткина и Дж.М. Лаудер. Автор очень признателен им за активное участие в изучении донервных трансмиссерных систем.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бужников Г.А. Применение дериватов триптамина для изучения роли 5-окситриптамина в эмбриональном развитии беспозвоночных // Докл. АН СССР. 1963. Т. 152. С. 1270–1272.
- Бужников Г.А. Низкомолекулярные регуляторы зародышевого развития. М.: Наука, 1967. 265 с.
- Бужников Г.А. Нейротрансмиссеры в эмбриогенезе. М.: Наука, 1987. 232 с.
- Бужников Г.А., Безуглов В.В. 5-Гидрокситриптаминиды и 3-гидрокситриптаминиды полиеновых жирных кислот в изучении донервных функций биогенных моноаминов // Рос. физиол. журн. 2000. Т. 86. С. 1093–1108.
- Никитина Л.А., Бужников Г.А. Серотонин тормозит созревание ооцитов зеленой жабы, вызываемое фоболовым эфиром // Онтогенез. 1996. Т. 27. № 2. С. 122–125.
- Ростомян М.А., Абрамян К.С., Бужников Г.А. и др. Электронно-цитохимическое выявление аденилатциклазы у ранних эмбрионов морского ежа // Цитология. 1985. Т. 27. С. 877–881.
- Шмуклер Ю.Б., Бужников Г.А., Григорьев Н.Г. и др. Влияние циклических нуклеотидов на чувствительность ранних зародышей морских ежей к цитотоксическим нейрофармакологическим препаратам // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1984. Т. 97. № 3. С. 354–355.
- Amireault P., Dube F. Serotonin and its antidepressant-sensitive transport in mouse cumulus-oocyte complexes and early embryos // Biol. Reprod. 2005. V. 73. P. 358–365.
- Angelini C., Baccetti B., Piomboni P. et al. Acetylcholine synthesis and possible functions during sea urchin development // Eur. J. Histochem. 2004. V. 48. P. 235–243.
- Anitole-Misleh K.G., Brown K.M. Developmental regulation of catecholamine levels during sea urchin embryo morphogenesis // Comp. Biochem. Physiol. Mol. Integr. Physiol. 2004. V. 137. P. 39–50.
- Arellano R.O., Garay E., Miledi R. Muscarinic receptor heterogeneity in follicle-enclosed *Xenopus* oocytes // J. Physiol. 1999. V. 521. Pt. 2. P. 409–419.
- Azmitia E.C. Modern views on an ancient chemical: serotonin effects on cell proliferation, maturation, and apoptosis // Brain Res. Bull. 2001. V. 56. P. 413–424.
- Berdyshev E.V. Inhibition of sea urchin fertilization by fatty acid ethanolamides and cannabinoids // Comp. Biochem. Physiol. C. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol. 1999. V. 122. P. 327–330.
- Bodis J., Hartmann G., Tinneberg H.R. et al. Relationship between the monoamine, progesterone and estradiol content in follicular fluid of preovulatory graafian follicles after superovulation treatment // Gynecol. Obstet. Invest. 1993. V. 35. P. 232–235.
- Buznikov G.A. The action of neurotransmitters and related substances on early embryogenesis // Developmental pharmacology. L.: Pergamon Press, 1984. P. 23–59.
- Buznikov G.A. Neurotransmitters in embryogenesis. Chur, Switzerland: Harwood Academic Press, 1990. 526 p.
- Buznikov G.A., Rakich L. Cholinergic receptors of early (preneural) sea urchin embryos // Neurosci. Behav. Physiol. 2000. V. 30. P. 53–62.
- Buznikov G.A., Chudakova I.V., Zvezdina N.D. The role of neurohumors in early embryogenesis. I. Serotonin content of developing embryos of sea urchin and loach // J. Embryol. Exp. Morph. 1964. V. 12. P. 563–573.
- Buznikov G.A., Nikitina L.A., Galanov A. et al. The control of oocyte maturation in the starfish and amphibians by serotonin and its antagonists // Int. J. Devel. Biol. 1993. V. 37. P. 363–364.
- Buznikov G.A., Shmukler Y.B., Lauder J.M. From oocyte to neuron: do neurotransmitters function in the same way

- throughout development? // *Cell. Mol. Neurobiol.* 1996. V. 16. P. 537–559.
- Buznikov G. A., Lambert H. W., Lauder J. M. Serotonin and serotonin-like substances as regulators of early embryogenesis and morphogenesis // *Cell Tis. Res.* 2001. V. 305. P. 177–186.
- Buznikov G. A., Nikitina L.A., Bezuglov V.V. et al. The putative role of cannabinoids in regulation of early sea urchin embryogenesis // Abstract “Annual conference of SFN”. Washington et al., 2002, P. Program 23.24.
- Buznikov G.A., Slotkin T.A., Lauder J.M. Sea urchin embryos and larvae as biosensors for neurotoxicants // *Curr. Prot. Toxicol.* 2003. V. 2. Suppl. 16. P. 1–24.
- Buznikov G.A., Peterson R.E., Nikitina L.A. et al. The pre-nervous serotonergic system of developing sea urchin embryos and larvae: pharmacologic and immunocytochemical evidence // *Neurochem. Res.* 2005. V. 30. P. 825–837.
- Cameron R.A., Smith L.C., Britten R. J. et al. Ligand-dependent stimulation of introduced mammalian brain receptors alters spicule symmetry and other morphogenetic events in sea urchin embryos // *Mech. Devel.* 1994. V. 45. P. 31–47.
- Candiani S., Augello A., Oliveri D. et al. Immunocytochemical localization of serotonin in embryos, larvae and adults of the lancelet, *Branchiostoma floridae* // *Histochem. J.* 2001. V. 33. P. 413–420.
- Candiani S., Oliveri D., Parodi M. et al. AmphiD1/beta, a dopamine D1/beta-adrenergic receptor from the amphioxus *Branchiostoma floridae*: evolutionary aspects of the catecholaminergic system during development // *Devel. Genes Evol.* 2005. V. 215. P. 631–638.
- Cerda J., Subhedar N., Reich G. et al. Oocyte sensitivity to serotonergic regulation during the follicular cycle of the teleost *Fundulus heteroclitus* // *Biol. Reprod.* 1998. V. 59. P. 53–61.
- Cikos S., Vesela J., Il'kova G. et al. Expression of beta adrenergic receptors in mouse oocytes and preimplantation embryos // *Mol. Reprod. Devel.* 2005. V. 71. P. 145–153.
- Clark J., Meisner S., Torkkeli P.H. Immunocytochemical localization of choline acetyltransferase and muscarinic ACh receptors in the antenna during development of the sphinx moth *Manduca sexta* // *Cell Tis. Res.* 2005. V. 320. P. 163–173.
- Colas J.F., Launay J.M., Maroteaux L. Maternal and zygotic control of serotonin biosynthesis are both necessary for *Drosophila* germband extension // *Mech. Devel.* 1999a. V. 87. P. 67–76.
- Colas J.F., Launay J.M., Vonesch J. et al. Serotonin synchronizes convergent extension of ectoderm with morphogenetic gastrulation movements in *Drosophila* // *Ibid.* 1999b. V. 87. P. 77–91.
- Dobretsov S.V., Qian P.J. Pharmacological induction of larval settlement and metamorphosis in the blue mussel *Mytilus edulis* L. // *Biofouling*. 2003. V. 19. P. 57–63.
- Falugi C., Diaspro A., Angelini C. et al. Three-dimensional mapping of cholinergic molecules by confocal laser scanning microscopy in sea urchin larvae // *Micron*. 2002. V. 33. P. 233–239.
- Fritz S., Wessler I., Breitling R. et al. Expression of muscarinic receptor types in the primate ovary and evidence for non-neuronal acetylcholine synthesis // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001. V. 86. P. 349–354.
- Fukumoto T., Kema I.P., Levin M. Serotonin signaling is a very early step in patterning of the left-right axis in chick and frog embryos // *Curr. Biol.* 2005. V. 15. P. 794–803.
- Gustafson T., Toneby M. On the role of serotonin and acetylcholine in sea urchin morphogenesis // *Exp. Cell Res.* 1970. V. 62. P. 102–117.
- Il'kova G., Rehak P., Vesela J. et al. Serotonin localization and its functional significance during mouse preimplantation embryo development // *Zygote*. 2004. V. 12. P. 205–213.
- Ivonnet P.I., Chambers E.L. Nicotinic acetylcholine receptors of the neuronal type occur in the plasma membrane of sea urchin eggs // *Ibid.* 1997. V. 5. P. 277–287.
- Koshtoyants K.S., Buznikov G.A., Manukhin B.N. The possible role of 5-hydroxytryptamine in the motor activity of embryos of some marine gastropods // *Comp. Biochem. Physiol.* 1961. V. 3. P. 20–26.
- Leclerc C., Guerrier P., Moreau M. Role of dihydropyridine-sensitive calcium channels in meiosis and fertilization in the bivalve molluscs *Ruditapes philippinarum* and *Crassostrea gigas* // *Biol. Cell*. 2000. V. 92. P. 285–299.
- Leise E.M., Kempf S.C., Durham N.R. et al. Induction of metamorphosis in the marine gastropod *Ilyanassa obsoleta*: 5HT, NO and programmed cell death // *Acta. Biol. Hung.* 2004. V. 55. P. 293–300.
- Manukhin B.N., Boiko O.V. Analysis of the beta-adrenergic reaction of the chick amnion // *Dokl. Biol. Sci.* 2000. V. 374. P. 458–461.
- Mayerhofer A., Smith G.D., Danilchik M. et al. Oocytes are a source of catecholamines in the primate ovary: evidence for a cell-cell regulatory loop // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998. V. 95. P. 10990–10995.
- McCauley D.W. Serotonin plays an early role in the metamorphosis of the hydrozoan *Phialidium gregarium* // *Devel. Biol.* 1997. V. 190. P. 229–240.
- Misamore M., Silverman H., Lynn J.W. Analysis of fertilization and polyspermy in serotonin-spawned eggs of the zebra mussel, *Dreissena polymorpha* // *Mol. Reprod. Devel.* 1996. V. 43. P. 205–216.
- Nechaeva M.V., Turpaev T.M. Rhythmic contractions in chick amnio-yolk sac and snake amnion during embryogenesis // *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 2002. V. 131. P. 861–870.
- Nicotra A., Schatten G. Propranolol induces polyspermy during sea urchin fertilization // *Mol. Reprod. Devel.* 1996. V. 43. P. 387–391.
- Pendleton R. G., Rasheed A., Roychowdhury R. et al. A new role for catecholamines: ontogenesis // *Trends Pharmacol. Sci.* 1998. V. 19. P. 248–251.
- Pires A., Croll R.P., Hadfield M.G. Catecholamines modulate metamorphosis in the opisthobranch gastropod *Phestilla sibogae* // *Biol. Bull.* 2000. V. 198. P. 319–331.
- Qiao D., Nikitina L.A., Buznikov G.A. et al. The sea urchin embryo as a model for mammalian developmental neurotoxicity: ontogenesis of the high-affinity choline transporter and its role in cholinergic trophic activity // *Environ. Health Perspect.* 2003. V. 111. P. 1730–1735.

- Renaud F., Parisi E., Capasso A. et al.* On the role of serotonin and 5-methoxy-tryptamine in the regulation of cell division in sea urchin eggs // *Devel. Biol.* 1983. V. 98. P. 37–47.
- Sakuragawa N., Kakinuma K., Kikuchi A. et al.* Human amnion mesenchyme cells express phenotypes of neuroglial progenitor cells // *J. Neurosci. Res.* 2004. V. 78. P. 208–214.
- Schuel H., Burkman L.J.* A tale of two cells: endocannabinoid-signaling regulates functions of neurons and sperm // *Biol. Reprod.* 2005. V. 73. P. 1078–1086.
- Schuel H., Burkman L.J., Lippes J. et al.* Evidence that anandamide-signaling regulates human sperm functions required for fertilization // *Mol. Reprod. Devel.* 2002. V. 63. P. 376–387.
- Sheng Y., Wang L., Liu X.S. et al.* A serotonin receptor antagonist induces oocyte maturation in both frogs and mice: Evidence that the same G protein-coupled receptor is responsible for maintaining meiosis arrest in both species // *J. Cell. Physiol.* 2005. V. 202. P. 777–786.
- Stricker S.A., Smythe T.L.* Multiple triggers of oocyte maturation in nemertean worms: the roles of calcium and serotonin // *J. Exp. Zool.* 2000. V. 287. P. 243–261.
- Stricker S.A., Smythe T.L.* 5-HT causes an increase in cAMP that stimulates, rather than inhibits, oocyte maturation in marine nemertean worms // *Development.* 2001. V. 128. P. 1415–1427.
- Toneby M.* Functional aspects of 5-hydroxytryptamine and dopamine in early embryogenesis: Doctor's Diss. University of Stockholm, 1977. 126 p.
- Vesela J., Rehak P., Mihalik J. et al.* Expression of serotonin receptors in mouse oocytes and preimplantation embryos // *Physiol. Res.* 2003. V. 52. P. 223–228.
- Walther D.J., Bader M.* Serotonin synthesis in murine embryonic stem cells // *Brain Res. Mol. Brain Res.* 1999. V. 68. P. 55–63.

Preneural Transmitters as Regulators of Embryogenesis. Current State of Problem

G. A. Buznikov

Kol'tsov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 26, Moscow, 199334 Russia

University of North Carolina, Chapel Hill, NC 27599, USA

E-mail: buznikov@hotmail.com

Abstract—Our knowledge about the preneural neurotransmitter systems and their functions were based on the old pharmacological and biochemical data that have recently been confirmed and substantially supplemented. Specific components of the preneural serotonergic and endocannabinoid systems were identified in developing echinoderm embryos using immunocytochemistry, Western immunoelectroblotting, and HPLC-mass spectroscopy. These data were corroborated by the results of pharmacological experiments: it was found that some ligands of serotonin receptors, as well as the agonist of cannabinoid receptors anandamide induced the appearance of abnormal embryonic phenotypes, whose expression depended on the ligand-teratogen concentration. Their appearance was prevented, correspondingly, by serotonin and its lipophilic (or hydrophilic) analogs and antagonists of cannabinoid (CB₁/CB₂)-receptors.

Key words: serotonin, serotonin receptors, cannabinoid receptors, sea urchin embryos.