

УДК 57.017.64: 575.87: 575.854: 579.89

## ПИОНЕРНЫЕ НЕЙРОНЫ: ОСНОВА ИЛИ ОГРАНИЧИВАЮЩИЙ ФАКТОР РАЗНООБРАЗИЯ НЕРВНЫХ СИСТЕМ Lophotrochozoa?<sup>1</sup>

© 2010 г. Е. Е. Воронежская, Е. Г. Ивашкин

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

119334 Москва, ул. Вавилова, д. 26

E-mail: lena\_vor@mail.ru

Поступила в редакцию 10.03.10 г.

Окончательный вариант получен 18.03.10 г.

На примере развития личинок трохофорных животных разной систематической принадлежности было показано, что самыми первыми дифференцируются периферические нервные клетки. Основываясь на характеристиках ранних периферических нейронов, а именно на их локализации в местах, не совпадающих с известными зонами закладки центральных ганглиев, на характере сложного контура отростков, которые используются в качестве “остова” дифференцирующимися нейронами дефинитивной нервной системы, а также транзитной экспрессии специфических маркеров, можно считать, что эти клетки являются пионерными. С одной стороны, пионерные нейроны являются ограничивающим фактором разнообразия морфогенеза поздних стадий развития, создавая уже у ранних личинок контур будущей центральной нервной системы. С другой стороны, навигация и маркирование при помощи пионерных нейронов может служить также и механизмом эволюционной лабильности дефинитивных нейральных структур. Функциональное приспособительное значение пионерных нейронов личинок трохофорных животных, по-видимому, заключается в обеспечении быстрого перехода от личиночной жизненной формы к взрослой во время метаморфоза, что сокращает пребывание животного на промежуточных стадиях морфогенеза, которые связаны со значительным снижением приспособленности.

*Ключевые слова:* трохофора, нейрогенез, пионерные нейроны, апикальный орган, личинки.

Абсолютное большинство беспозвоночных животных имеет сложный жизненный цикл, в котором взрослому или ювенильному животному предшествует одна или несколько личиночных стадий. Личинки морфологически обычно сильно отличаются от взрослых форм, так как занимают другие экологические ниши, приспособлены к иному типу питания и передвижения. Бифазный жизненный цикл имеет несомненные эволюционные преимущества, так как позволяет каждой из форм наилучшим образом адаптироваться к внешним условиям, снизить внутривидовую конкуренцию, обеспечить лучшую выживаемость и расселяемость потомков. Однако момент перехода от одной жизненной формы к другой сопряжен со значительным снижением приспособленности, обусловленным морфологическими перестройками всех органов и систем организма. В том случае, когда невозможно уйти в стадию покоя (как это происходит, например, у насекомых с полным превращением), возникает необходимость формирования комплекса приспособлений, направленных на сокращение продолжительности этого периода и/или оптимизации его прохождения. Одним из та-

ких приспособлений можно считать пионерные нейроны личинок. С их помощью осуществляется предварительное маркирование, создание “остова” дефинитивной нервной системы.

### ОТКРЫТИЕ ПИОНЕРНЫХ НЕЙРОНОВ

Термин “пионерные нейроны” (pioneer neurons) начал активно использоваться с 80-х гг. XX в., когда была обобщена накопленная к тому времени информация о ранних этапах формирования периферической нервной системы насекомых (Bate, 1976; Bentley, Keshishian, 1982; Ho, Goodman, 1982; Klose, Bentley, 1989). Авторы подробно описали механизм, благодаря которому возникает четкий, всегда повторяющийся паттерн периферической иннервации длинной задней конечности зеленого кузнечика. Оказалось, что самыми первыми в процессе эмбриогенеза дифференцируются сенсорные нейроны, расположенные в дистальной части ноги. Отходящий от тела ранней клетки конус роста следует по сложной, с несколькими поворотами, траектории к центральной нервной системе, ориентируясь на своем пути по цепочке так называемых “опорных клеток” (guidepost cells). Именно вдоль этого первого сформированного аксоном пионерного нейрона пути и происходит в дальнейшем прораствание отростков всех бо-

<sup>1</sup> Работа была поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проекты № 09-04-01326, 06-04-49401).

лее поздних нервных клеток — как афферентных, так и эфферентных. А пионерные нейроны, выполнив свою морфогенетическую функцию, подвергаются запрограммированной гибели (Kutsch, Bentley, 1987). Подобный механизм был найден и при исследовании других модельных членистоногих (представителей разных отрядов насекомых и ракообразных). Была выявлена глубокая гомология общих планов развития нервных структур членистоногих (Goodman et al., 1984; Thomas et al., 1984). После серии этих замечательных работ термин “пионерные нейроны” прочно вошел в арсенал нейробиологов и стал применяться к нервным клеткам (независимо от их типа), конусы роста которых первыми прокладывают путь для образования других, более поздних нейронных структур. Казалось бы, такой механизм должен быть универсальным для нейрогенеза. Однако в других группах беспозвоночных животных ничего похожего на такие нейроны не обнаруживалось.

### ОБЩЕПРИНЯТЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О НЕЙРОГЕНЕЗЕ ТРОХОФОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Одним из самых крупных и разнообразных таксонов животного царства, является обширная группа Trochozoa. Ранее систематики беспозвоночных помещали Trochozoa (животных с личинкой трохофорой) и Lophophorata (животных с венчиком щупалец) в принципиально разные группы — первичноротых (Protostomia) и вторичноротых (Deuterostomia). Однако в настоящее время на основании молекулярно-биологических данных эта точка зрения пересмотрена. По ряду морфологических и генетических признаков была выделена группа Lophotrochozoa (Field et al., 1988; Kim et al., 1996). В эту группу входят все беспозвоночные, относящиеся ранее к трохофорным (Nemertea, Mollusca, Sipuncula, Echiura, Pogonophora и Annelida) и к щупальцевым (Bryozoa, Entoprocta, Phoronida, и Brachiopoda). Сюда же иногда включают плоских червей (Platyhelminthes) и коловраток (Rotifera).

К концу XX в. было накоплено большое количество сравнительно-морфологических данных о строении личиночной и дефинитивной нервных систем трохофорных. Повышенный интерес к строению личинок не случаен. Большое разнообразие строения и образа жизни взрослых форм зачастую не давало возможности четко определить филогенетические отношения между группами, а неполнота палеонтологической летописи мягкотелых, не имеющих скелетных элементов или твердых покровов беспозвоночных, лишала возможности воссоздавать филогенетические ряды по предковым промежуточным формам. Поэтому исследователи, изучающие беспозвоночных, широко применяли положения, высказанные еще Дарвином в 1859 г. в книге “Происхождение видов” о том, что строение зародыша имеет для классификации даже большее значение, чем строение взрослого животного. И если группы животных

проходят через сходные стадии эмбрионального развития, мы можем быть уверены, что они находятся в близком родстве. Таким образом, общность строения зародыша указывает на общность происхождения.

Сведения о морфологии личинок были собраны и обобщены в таких классических трудах сравнительной и эволюционной эмбриологии, как книги Беклемишева (1964), Буллока и Хорриджа (Bullock, Horridge, 1965), Ивановой-Казас (1977, 1995), Нильсена (Nielsen, 2001). В них авторы тщательнейшим образом анализировали строение практически всех личиночных систем органов самых разных представителей Trochozoa. И нервной системе в ряду этих описаний было уделено подобающее место, так как она признавалась одной из самых консервативных систем органов. Между тем, описываемая разными авторами личиночная нервная система имела самое разнообразное строение. С одной стороны, ее сложность коррелировала с типом питания и развития конкретного вида. Однако же, с другой стороны, выявление отдельных элементов в значительной мере зависело от используемых в каждом конкретном случае методов исследования.

Личинки трохофорных — крайне неудобный объект для изучения их строения классическими микроскопическими методами. Они слишком малы для световой микроскопии и слишком велики для электронной. К тому же, на ранних этапах нейрогенеза практически невозможно идентифицировать слабо дифференцированные нервные клетки или распознать единичные нервные волокна. И хотя некоторые работы до сих пор поражают своей точностью и скрупулезностью (см., например: Lacalli, 1981, 1984), в ряду оригинальных описаний можно было найти практически все, начиная от плексуса мультиполярных клеток, выявляемых при окрашивании серебром (Åkesson, 1967), до строго централизованных нервных стволов, полученных при помощи гистохимической реакции на ацетилхолинстеразу (Бубко и др., 1979).

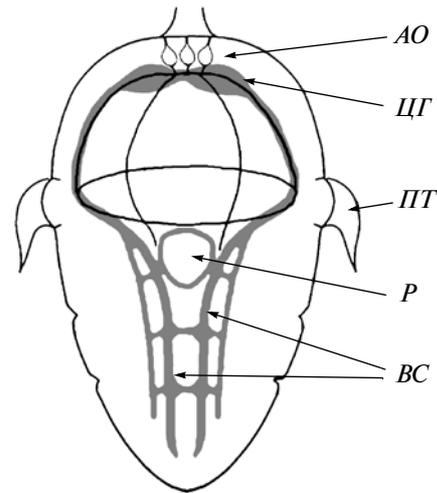
Зачастую рисунки, трактующие полученный материал, отражали скорее мировоззрения авторов (Raineri, Ospovat, 1994), чем реальное положение вещей. Из пестроты заявленных нейроонтогенетических феноменов не так просто было выделить нечто характерное для всей группы Trochozoa (или, как еще ее называли, Spiralia). Пожалуй, лучше всего то, в чем сходились все исследователи, сформулировал Нильсен, писавший, что у ранних личинок спиральных животных есть апикальный орган; вскоре по бокам апикального ганглия развивается пара церебральных ганглиев, которые соединяет комиссура, проходящая в основании апикального ганглия. Волокна из апикального органа/церебрального ганглия собираются в нерв под прототрохом и далее идут вокруг эзофагуса на вентральную сторону, где обычно присутствует пара нервов, ведущих в задний конец тела (Nielsen, 2001). Эта обобщенная картина личиноч-

ных и ранних дефинитивных нервных структур представлена на рис. 1.

Что касается закладки собственно взрослых центральных ганглиев, то в этом плане разнообразие сведений, полученных разными исследователями, было гораздо меньше. В своей книге о морфогенезе большого прудовика Равен (Raven, 1958) посвятил отдельную главу нервной системе и сделал обзор имеющихся к тому времени гистохимических данных об образовании ганглиев у моллюсков. Основываясь на литературных данных, обобщенных в этой, а также в упомянутых выше книгах, можно составить следующее представление о последовательности формирования центральной нервной системы у трохофорных животных. В цефалических пластинках (специфических парных зонах в претрохальной области) происходит активная клеточная пролиферация, затем клетки мигрируют вглубь тела, где дают начало паре церебральных ганглиев, соединенных комиссурой. Педальные ганглии возникают путем клеточной пролиферации и миграции клеток из парных вентролатеральных зон ноги.

Происхождение ганглиев висцеральной дуги не совсем ясно. Предполагается, что плевральные ганглии образуются из двух небольших эпителиальных зон сразу за велумом, а висцеральный ганглий — из непарного эктодермального утолщения стенки мантимальной полости. Таким образом, общепринятым было утверждение, что ганглиогенез у моллюсков прогрессирует в ретрокаудальном направлении, а связывающие ганглии комиссуры и коннективы формируются путем вторичного роста отростков нейронов, дифференцирующихся внутри ганглиев. Предложенная Равеном схема формирования центральных ганглиев у трохофорных животных представлена на рис. 2. Последующие исследования с использованием радиоавтографического мечения тимидином и электронной микроскопии (Jacob, 1984), а также избирательного выявления специфических пептидсодержащих клеток (McAllister et al., 1983), подтвердили картину, составленную на основе гистохимических данных.

Развитие в конце XX в. микроскопической техники, появление антител против маркеров, специфических для нервных клеток, и стойких флуоресцентных меток дало новый, невероятно тонкий и чувствительный инструмент в руки морфологов. Стало возможным увидеть в световом (флуоресцентном) микроскопе детали строения, ранее находившиеся за пределами оптического разрешения, выявлять нервную систему на тотальных препаратах личинок, а не воссоздавать ее из отдельных срезов. Последовал целый ряд работ с применением новых техник, которые выявили упущенные ранее детали, однако же не привели к существенному изменению концепции нейрогенеза Trochozoa (см. обзор: Croll, 2000). Полученные данные отражали подробную морфологию отдельных стадий развития, но не давали возможности составить картину о динамике перехода от личи-



**Рис. 1.** Обобщенная схема личиночных (—) и начинающих появляться дефинитивных нервных структур (■) у личинки трохофорных животных (по: Voronezhskaya et al., 2002, с изменениями).

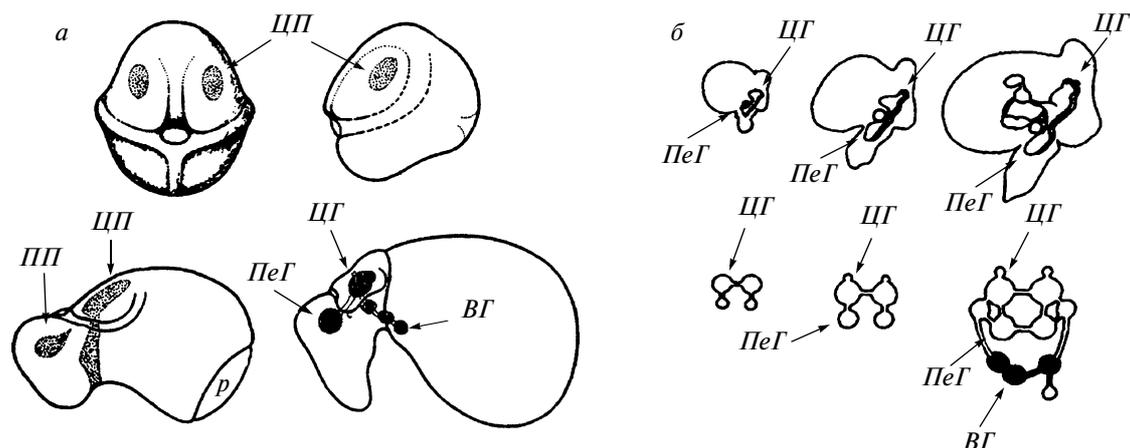
АО — апокальный орган, ВС — вентральные стволы, Пт — прототрох, Р — рот, ЦГ — церебральные ганглии.

ночного типа строения к взрослому. Непонятна была логика, по которой у разных животных разные части личиночной нервной системы включались или не включались в состав дефинитивной. Вдобавок ко всему стал накапливаться материал, не вписывающийся в общепринятую концепцию.

Так, электронно-микроскопические исследования развивающихся ганглиев аплизии выявили, что аксон у дифференцирующихся в ганглиях нейронов начинает образовываться только после того, как возникнет аксосоматический контакт молодой нервной клетки с неким пришедшим со стороны отростком (Schacher et al., 1979). В иммуногистохимических исследованиях у личинок обнаруживались окрашенные отростки еще до того, как начинали появляться первые клетки в ганглиях (Barlow, Truman, 1992). Какое же происхождение “триггерного” аксона и самых ранних нервных волокон? Выяснить это долгое время не удавалось.

## РАННИЙ НЕЙРОГЕНЕЗ МОЛЛЮСКОВ

Следует отметить, что хотя развитие техники выявления нервных элементов и шагнуло далеко вперед, однако иммуногистохимические методики были ограничены уже существующим разнообразием специфических нейрональных маркеров. Особенно принципиально это было для беспозвоночных, где не работают многие широко используемые для млекопитающих коммерческие антитела. Исследователям было доступно в основном выявление классических нейромедиаторов, таких как серотонин и дофамин (Marois, Carew, 1990, 1997; Marois, Croll, 1992; Kempf et al., 1992; Voronezhskaya, Elekes, 1994; Voronezhskaya et al., 1999), или высококонсервативных нейропептидов, среди которых самым популярным



**Рис. 2.** Схема формирования центральных ганглиев у трохофорных животных: *а* — закладка плакод и порядок формирования центральных ганглиев у пресноводного брюхоногого моллюска *Lymnaea* (по: Raven, 1958, с изменениями); *б* — последовательность формирования центральных ганглиев у морского заднежаберного моллюска *Aplysia* (по: Kriegstein, 1977, с изменениями).

*ВГ* — ганглий висцеральной дуги, *ПеГ* — pedalный ганглий, *ПП* — pedalные плакоды, *ЦП* — церебральные плакоды, ост. обозначения см. на рис. 1.

был SCP (small cardioactive peptide) (Kempf et al., 1987, 1992), впоследствии идентифицированный как FMRF-амид (Price, Greenberg, 1977).

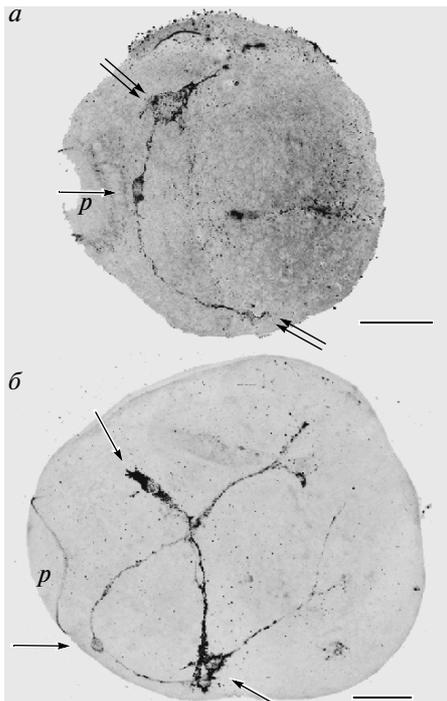
Известно, что у взрослых моллюсков продукты экспрессии гена FMRF-амида синтезируются в нейронах-модуляторах нейрональных сетей, которые ответственны за кардиореспираторное поведение, питание, защитное втягивание тела в раковину и моторный контроль пениса (Bright et al., 1993; Benjamin, Burke, 1994; Santama et al., 1995). По аналогии с позвоночными трудно было предположить, что они же будут присутствовать у личинок на ранних стадиях развития, когда ни одна из вышеперечисленных форм поведения еще не выражена. Поэтому можно представить, насколько же велико было наше удивление, когда при окрашивании антителами против FMRF-амида (которые выявляют все пептиды семейства RF-амидов) зародышей большого прудовика и аквариумной катушки (*Lymnaea stagnalis*, *Helisoma trivolvis*: Mollusca: Pulmonata) мы обнаружили единичную нервную клетку у трохофоры (Croll, Voronezhskaya, 1995, 1996; Voronezhskaya, Elekes, 1996) (рис. 3, *а*). После множества контролей и проверок мы убедились, что это окрашивание, действительно, специфично.

Самая первая, выявляемая антителами против FMRF-амида, клетка располагалась в каудальной части зародыша, вентральнее формирующейся раковины, а не в апикальной области, как можно было бы предположить на основании существующих в то время представлений о нейрогенезе моллюсков. От тела довольно большой клетки (22–25 мкм) отходят три отростка. Два длинных, с конусами роста, расходятся латерально и поворачивают вперед; третий короткий отросток выходит на поверхность эпителия. Когда длинные отростки каудальной клетки достигают пе-

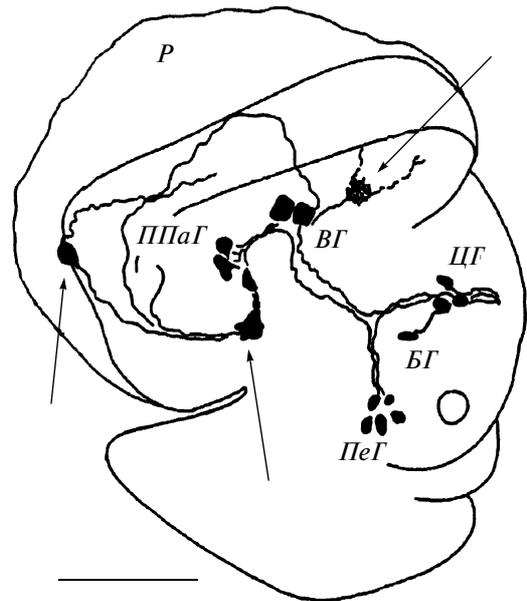
реднего отдела зародыша, по ходу их следования примерно в средней части начинают выявляться еще по одной клетке с каждой стороны. Каждая такая латеральная клетка посылает один из двух своих длинных отростков навстречу такому же отростку другой клетки по вентральной стороне тела эмбриона, а второй длинный отросток следует по ходу отростка каудальной клетки в переднюю часть тела зародыша. При достижении апикальной области единый пучок, составленный отростками трех ранних клеток (одной каудальной и двух латеральных), разделяется на два: часть аксонов резко поворачивает и направляется на контролатеральную сторону, другие также резко поворачивают и следуют в ногу (рис. 3, *б*).

Таким образом, к стадии раннего велигера отростки трех ранних периферических клеток формируют контур, соответствующий таковому дефинитивной нервной системы пульмонат. Двойное иммуномечение с антителами против ацетилированного  $\alpha$ -тубулина, маркирующего нейротубулы, доказало, что у трохофоры нет других нервных клеток, кроме ранних периферических нейронов. Чуть позже можно обнаружить нейроны апикального органа, однако на стадии трохофоры–раннего велигера они морфологически никак не связаны с системой отростков каудальной и латеральных клеток. На стадии позднего велигера FMRF-амид-, серотонин- и дофаминиммунореактивные клетки начинают выявляться в местах поворотов, слияний или расхождений отростков ранних нейронов (Marois, Croll, 1992; Voronezhskaya, Elekes, 1994, 2003; Voronezhskaya et al., 1999) (рис. 4), причем растущие аксоны вновь дифференцирующихся клеток следуют, прилегая к отросткам ранних клеток (Voronezhskaya, Elekes, 2003).

Во время метаморфоза число нейронов, экспрессирующих специфические маркеры, увеличивается,



**Рис. 3.** Иммуноцитохимическое окрашивание на FMRF-амид у трохофоры (а) и раннего велигера (б) большого прудовика *Lymnaea stagnalis*, выявляющее ранние периферические нейроны: а – вид с вентральной стороны, (→) – тело первого каудального нейрона, (⇐) – конусы роста латеральных отростков первого нейрона; б – латероventральный вид, (→) тела каудального и двух латеральных пионерных нейронов. Р – раковина. Масштаб: 50 мкм.



**Рис. 4.** Зарисовка иммуноцитохимического окрашивания на FMRF-амид у позднего велигера большого прудовика *Lymnaea stagnalis*; вид сбоку, справа; нейроны дефинитивных ганглиев начинают дифференцироваться в местах поворотов, разветвлений или окончаний отростков пионерных нейронов. (→) – тела пионерных нейронов; БГ – буккальный ганглий, ВГ – висцеральный ганглий, ППаГ – правый парietальный ганглий, ост. обозначения см. на рис. 2, 3 (по: Voronezhskaya, Elekes, 1994, с изменениями). Масштаб: 100 мкм.

все они выявляются рядом с уже существующими клетками и формируют ганглии дефинитивной нервной системы. А самые ранние нервные клетки так и остаются на периферии и не входят в состав ни одного из формирующихся ганглиев. Незадолго до вылупления они перестают экспрессировать характерный набор RF-содержащих пептидов, а изменения морфологии позволяют считать, что они погибают (Voronezhskaya, Elekes, 2003).

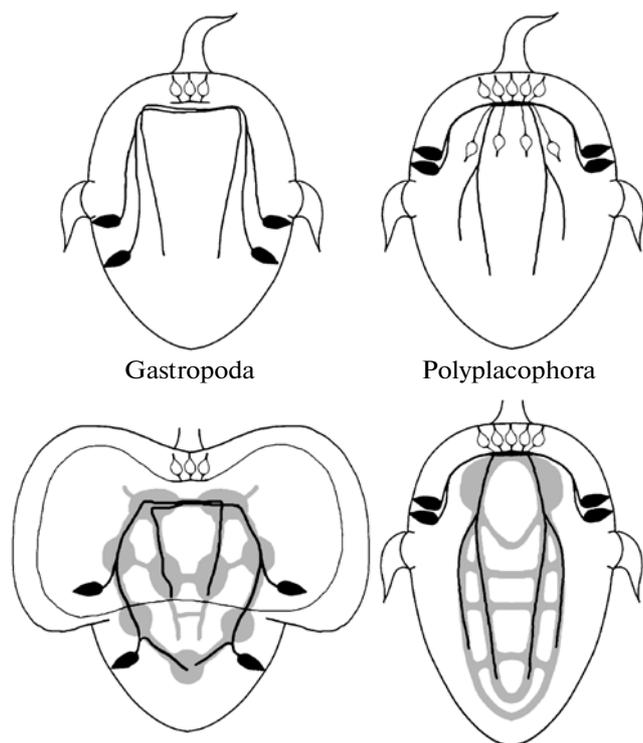
На основании того, что описанные нами ранние периферические нейроны: 1) начинают экспрессировать специфические нейрональные маркеры самыми первыми, 2) расположены в местах, не совпадающих с известными местами закладки центральных ганглиев, 3) их отростки образуют сложный контур, напоминающий контур дефинитивной нервной системы, 4) они не входят в состав формирующихся центральных ганглиев и, по-видимому, подвергаются запрограммированной клеточной гибели, 5) аксоны вновь дифференцирующихся нейронов используют отростки ранних клеток как предпочтительный адгезивный субстрат – мы предположили, что они являются пионерными нейронами, причем маркируют строение не периферической, а

дефинитивной центральной нервной системы (Croll, Voronezhskaya, 1996).

Однако пресноводные pulmonаты имеют измененный тип зародышевого развития, в котором отсутствует “настоящая” трохофора и свободноплавающий велигер. Так, может быть, обнаруженные пионерные нейроны являются специфическим приспособлением именно этого отряда моллюсков?

Исследования, проведенные на личинках Trochozoa разной систематической принадлежности однозначно опровергли такое предположение. Так, у морских гастропод (*Aplysia*: Mollusca: Opisthobranchia; *Ilyanassa*, *Crepidula*: Mollusca: Prosobranchia, Caenogastropoda), имеющих в развитии свободноплавающий велигер, первые нервные элементы также иммунореактивны к FMRF-амиду и появляются у трохофоры. Все они выявляются на периферии. Расположенные в эписфере клетки составляют апикальный орган, их базальные отростки не отходят далеко от тел клеток и формируют нейропиль апикального ганглия. В то же время клетки, расположенные в гипосфере, посылают длинные отростки по всему телу зародыша и формируют специфическую для каждого вида сеть (Dickinson et al., 1999, 2000; Dickinson, Croll, 2003).

У двустворчатых моллюсков (*Mytilus*: Mollusca: Bi-valvia) все ранние нейроны расположены в эпи-



**Рис. 5.** Схема взаимного расположения ранних периферических (пионерных) нейронов (—) и центральных ганглиев формирующейся дефинитивной нервной системы (■) у *Gastropoda* и *Polyplacophora*; верхний и нижний ряды — ранние и поздние личинки соответственно; нейроны апикального органа не закрашены (по: Voronezhskaya et al., 2002, с изменениями).

сфере. В процессе развития они разделяются на две группы: одна составляет апикальный орган, а другие посылают в каудальную область отростки, вдоль которых и начинается потом последовательная дифференцировка нейронов центральных ганглиев в rostroкаудальном направлении (Voronezhskaya et al., 2008).

У представителя группы моллюсков, считающейся одной из самых древних, — хитона *Ischnochiton* (Mollusca: Polyplacophora) — самые первые нервные клетки также расположены претрохально, часть их формирует апикальный орган, а отростки клеток двух латеральных пар (которые иммунореактивны одновременно и к FMRF-амиду, и к серотонину) идут контралатерально, проходят под апикальным нейропилем, затем круто поворачивают назад и разделяются на два пучка (Voronezhskaya et al., 2002). У всех описанных выше личинок в состав апикального органа входят также и серотонинергические нейроны. Схема ранних периферических нейронов и формирующейся дефинитивной нервной системы гастропод и хитона представлена на рис. 5.

Даже в тех случаях, когда исследователи говорят о формировании нервной системы только уже у достаточно развитой личинки (*Antalis*: Mollusca: Scaphoro-

da), они тем не менее отмечают, что на ранних стадиях в район апикального органа приходят какие-то отростки с периферии (Wanninger, Haszprunar, 2003). Так что мы вполне можем предположить, что в данном случае тела самих клеток не были обнаружены из-за технических причин, как это было в случае ранее упомянутых нами работ.

#### РАННИЕ НЕЙРОНЫ В ДРУГИХ ГРУППАХ Lophotrochozoa

В отличие от моллюсков у аннелид самые ранние нервные элементы по большей части иммунореактивны к серотонину (5-НТ). Так, у филлодоце, являющегося представителем одного из самых примитивных отрядов полихет (*Phyllodoce*: Annelidae: Polychaetae: Phyllodocida), самый первый нейрон выявляется на дорсальной стороне заднего конца тела (Voronezhskaya et al., 2003). Отходящие от тела клетки два латеральных отростка сначала переходят на вентральную сторону, затем поворачивают под углом 90° и идут к прототроху. При достижении прототроха каждый из отростков дихотомически делится, вновь образованные ветви опять поворачивают на 90° и далее следуют под прототрохом. К этому моменту начинают выявляться FMRFa- и 5-НТ-иммунореактивные клетки в апикальном органе, их отростки формируют очень компактный апикальный нейропиле (рис. 6, а). Вслед за этим появляются другие нейроны на периферии: часть из них посылает свои отростки вдоль уже проложенных путей, укрупняя вентральные стволы и нерв прототроха, а часть формирует пути совершенно новые, продлевая вентральный ствол и образуя будущую церебральную комиссуру или околоротовое кольцо (рис. 6, б).

Сильно отличается от всего описанного ранее для моллюсков следующий шаг в нейрогенезе филлодоце, когда формируется мощная личиночная нервная система. Она включает в себя и множество сенсорных нейронов, и дополнительные меридиональные стволы (рис. 6, в). Интересно, что после метаморфоза исчезают именно эти структуры, не использующие в качестве каркаса отростки ранних нейронов, в то время как промаркированный “пионерными” аксонами контур дефинитивной нервной системы начинает все больше пополняться за счет отростков нейронов, дифференцирующихся в церебральных ганглиях и вентральных стволах (рис. 6, г). Аналогичную последовательность возникновения нервных структур можно проследить и у личинок других полихет, например у *Platynereis* (Annelidae: Polychaetae: Nereididae) (Nezlin et al., 2010) и *Pomatoceros* (Annelidae: Polychaetae: Serpulidae). (McDougall et al., 2006), с той лишь разницей, что личиночная нервная система в каждом конкретном случае развита тем слабее, чем меньше времени проводит личинка в планктоне и чем меньше ей требуется усилий на добывание пищи.

У немертин, личинка которых совсем не похожа на трохофору, формирование нервной системы, тем

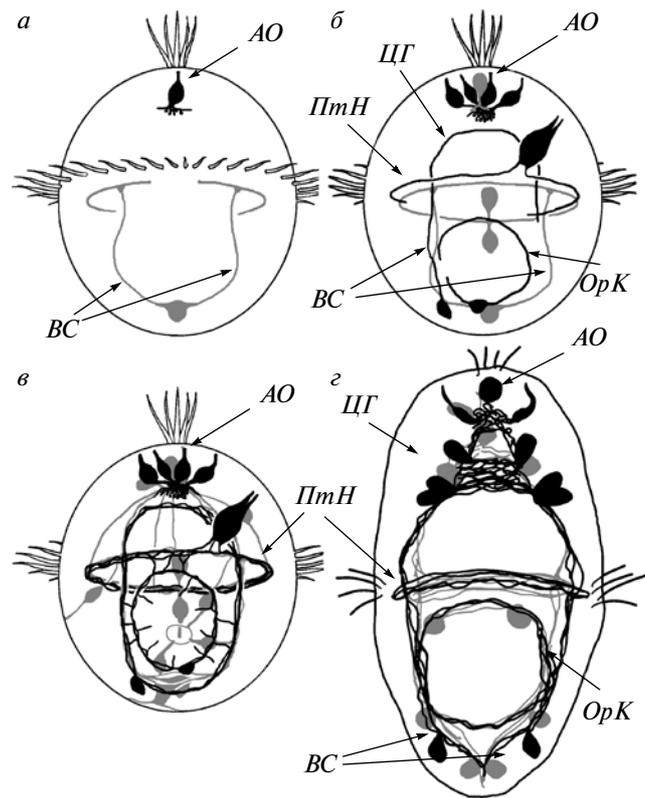
не менее, идет поразительно похожим образом (Чернышев, Магарламов, 2010). У только что вышедшей из яйца личинки вооруженной немертины *Quasitetrastremma stimpsoni* (Nemertea: Hoplonemertea) имеется один 5-НТ-иммунореактивный нейрон в каудальном отделе и комплекс 5-НТ-иммунореактивных апикальных клеток. Отростки каудального нейрона вместе с появляющимися чуть позже отростками латеральных клеток, по словам авторов, еще до окончания метаморфоза личинки маркируют общий план строения нервной системы взрослой немертины (Чернышев, Магарламов, 2010).

Среди другой обширной группы, входящей в состав Lophotrochozoa, Lophophorata, только для личинки форонид актинотрохи имеются данные о формировании нервной системы. К сожалению, ранние личинки исследовались с применением методик, не позволяющих однозначно выявлять самые ранние нервные элементы (Hay-Schmidt, 1990a, b). А более современные исследования проводились на достаточно продвинутой личинке, уже обладающей развитой нервной системой (Santagata, 2002). Сведения о ранних элементах нервной системы представителей других групп скудны. Так, есть описание 5-НТ-иммунореактивных клеток, ассоциированных с экваториальным мышечным кольцом и апикальным органом у личинок мшанки *Bugula neritina* (Pires, Woollacott, 1997), но в данном случае в задачу авторов не входило исследовать процесс развития, поэтому в работе представлена только одна из стадий.

### ЛИЧИНОЧНАЯ НЕРВНАЯ СИСТЕМА И ПИОНЕРНЫЕ НЕЙРОНЫ

Описанные события раннего нейрогенеза у широкого ряда представителей разных типов Lophotrochozoa позволяют нам разделить самые первые дифференцирующиеся клетки на две функциональные группы, на начальных этапах развития не связанные между собой морфологически: нейроны апикального органа и ранние периферические. Апикальный орган – “личиночный мозг” – объединяет сенсорные нейроны, позволяющие личинке адаптировать свое поведение и/или темпы развития в зависимости от изменяющихся сигналов внешней среды. Показано, что такими стимулами могут быть изменение концентрации кислорода (Kuang, Goldberg, 2001; Kuang et al., 2002) или химические вещества, выделяемые голодными взрослыми особями, занимающими сходную экологическую нишу (Воронежская, Хабарова, 2003; Voronezhskaya et al., 2004).

Наряду с этим богатый варикозами апикальный нейропил является местом выброса нейромедиаторов (Lacalli, 1984; Kempf et al., 1997). Градиент этих веществ в теле личинки может служить для навигации отростков других нервных клеток. Косвенно указывают на такую функцию нейропиля апикального органа наши эксперименты по повышению уровня серотонина в личинке на ранних стадиях раз-



**Рис. 6.** Схема формирования нервной системы в онтогенезе *Phyllodoce*: (■, □) – FMRF-амид- и серотониниммунореактивные нервные элементы соответственно.

*a–в* – трохофора сразу после вылупления, развитая и активно плавающая и питающаяся соответственно; *г* – личинка незадолго до метаморфоза (по: Voronezhskaya et al., 2003, с изменениями).

*ОпК* – околоротовое кольцо, *ПмН* – нерв прототроха, ост. обозначения см. на рис. 1, объяснения см. в тексте.

вития. Если инкубировать трохофоры *Platynereis* в предшественнике серотонина (5-гидрокситриптофане), то концентрация медиатора возрастает только в серотонинергических клетках и формирование нервной системы идет нормально. Если же инкубировать трохофору в самом серотонине (что приводит к полному нивелированию концентрационного градиента внутри личинки), то существенно нарушается конфигурация формирующейся нервной системы, а вместо четких, ограниченных по числу стволов возникают множественные беспорядочные ветвления и личинка погибает (Nezlin et al., 2010).

Итак, хотя отростки нейронов апикального органа и могут неким образом участвовать в навигации аксонов других растущих нейронов, морфологически они чаще всего формируют компактный нейропил и не проецируются далеко от апикальной области. Нет никаких указаний на то, что аксоны каких-либо других клеток следуют вдоль отростков апикальных нейронов. Следовательно, нейроны апикального органа не могут считаться пионерными.

Ранние периферические нейроны отличаются по многим признакам у представителей разных групп Lophotrochozoa. Они расположены в разных областях тела личинки: в претрохальной (хитон, мидия), построхальной (пресноводные и морские гастроподы, полихеты, немертины) или экваториальной (полихеты, немертины). Они иммунореактивны к разным нейрональным маркерам: только к FMRF-амиду (гастроподы и двусторчатые моллюски); FMRF-амиду одновременно с серотонином (хитон, платинереис); только к серотонину (платинереис, немертины); часть нейронов к серотонину, а часть – к FMRF-амиду (филлодоце). Трудно предположить единое происхождение этих клеток, а следовательно, под большим вопросом находится и их гомологичность. Однако все они имеют несомненное функциональное сходство – их конусы роста первыми прокладывают путь, следуя по сложной, характерной для каждого вида траектории (вероятно, как и у насекомых, используя некие опорные клетки и имеющиеся градиенты), и маркируют таким образом контур дефинитивной нервной системы. В формирующихся ганглиях нейроны начинают экспрессировать медиаторы, когда конус роста ранней клетки достигнет области соответствующего ганглия, и посылают свои аксоны вдоль отростков ранних клеток. Сами ранние клетки не входят в состав формирующихся ганглиев и чаще всего погибают после завершения метаморфоза. Такие черты позволяют нам с полным правом считать эту группу ранних периферических нейронов пионерными.

#### ПИОНЕРНЫЕ НЕЙРОНЫ И ДЕФИНИТИВНАЯ НЕРВНАЯ СИСТЕМА

В отличие от членистоногих (Ecdysozoa) у Lophotrochozoa пионерные нейроны маркируют не периферическую, а центральную нервную систему. Клетки-предшественники, мигрирующие из эпителиальных пролиферативных зон, начинают экспрессировать специфические нейрональные маркеры только после того, как достигнут определенных мест, внешне обозначенных поворотами и ветвлениями отростков пионерных нейронов. Появляющиеся у центральных нейронов аксоны на начальных этапах своего роста всегда следуют по пути, обозначенному пионерными отростками. В настоящее время нет данных, позволяющих предположить, что играет более значимую роль для дифференцировки нейронов центральных ганглиев – непосредственный контакт с аксоном пионерного нейрона или какие-то свойства микроокружения области, в которую мигрировала клетка, и что именно на поверхности пионерного аксона делает его предпочтительным адгезивным субстратом для прорастающих отростков дефинитивных нервных клеток.

Полученные на личинках разных трохофорных животных морфологические данные однозначно демонстрируют, что формирование ганглиев во всех исследованных случаях происходит в морфологиче-

ской связи с пионерными нейронами. Более того, изменение конфигурации отростков таких нейронов в процессе развития позволяет проследить онтогенетические события, характерные для конкретной группы. Так, некоторые гастроподы во взрослом состоянии имеют билатерально-симметричную нервную систему, без хиазматического перекреста висцеральных коннектив. Если проследить изменение траекторий аксонов пионерных нейронов при развитии личинки, то можно увидеть торзионный и деторзионный процессы, а также следующую за ними концентрацию ганглионарного кольца вокруг эзофагуса. Это было показано у заднежаберного моллюска *Aplysia* (Dickinson et al., 2000), пульмонаты *Lymnaea* (Voronezhskaya, Elekes, 2003), ценогастроподы *Trichotropis* (Page, 2003). Кроме того, выявление пионерных отростков позволяет доказать парность вентральных стволов сипункулид (Wänninger et al., 2005; Kristof et al., 2009), а также изначальную сегментированность эхиурид и сипункулид (Hessling, Westheide, 2002; Kristof et al., 2009).

Таким образом, в развитии личинок трохофорных животных выделяются три четких нейрональных паттерна: система пионерных нейронов, возникающая чуть позже собственно личиночная нервная система (дегенерирующая при метаморфозе) и дефинитивная нервная система, возникающая после метаморфоза. Собственно функции регуляции поведения личинки несут только личиночные нейроны. Их удаление не влияет на процесс формирования дефинитивной нервной системы, однако существенно изменяет способность личинки реагировать на внешние стимулы, например на сигнал к метаморфозу (Hadfield et al., 2000) или снижение уровня кислорода (Kuang, Goldberg, 2001).

Экспериментальных данных о том, участвуют ли пионерные нейроны в регуляции поведения личинки, в настоящее время нет. По аналогии с пионерными нейронами насекомых мы можем предположить, что они не являются “истинными” нейронами, а выполняют главным образом морфогенетическую функцию.

#### РАЗНООБРАЗИЕ ИЛИ ОГРАНИЧИВАЮЩИЙ ФАКТОР?

Так являются ли пионерные нейроны основой разнообразия нервных систем взрослых животных или, наоборот, служат ограничивающим фактором?

С одной стороны, механизм, при котором клетки-предшественники нейронов центральных ганглиев мигрируют в места, промаркированные аксонами пионерных нейронов, может служить основой для эволюционной лабильности дефинитивных нервных структур. Учитывая, что конус роста пионерного нейрона прокладывает путь в теле личинки, ориентируясь по химическим градиентам и, вероятно, опорным клеткам (морфогенетическому полю), можно представить, что смещение какой-либо реперной точки приведет к изменению морфологии

нервных структур. В наших экспериментах нарушение градиента серотонина внутри тела личинки приводило к беспорядочному ветвлению аксонов пионерных нейронов и отсутствию закладок дефинитивной нервной системы, однако личинка сохраняла способность двигаться.

Закрепленное генетически смещение траектории отростка пионерного нейрона или изменение ветвления или поворота, которое приводит к смещению места формирования ганглия, могут быть подхвачены естественным отбором, в отдельных случаях ставясь заметным макроэволюционным трендом. И, действительно, когда места ветвлений и поворотов пионерных отростков сосредоточены в определенной части тела (например, в голове, как у *Lymnaea* и *Aplysia*), центральные ганглии располагаются компактной группой; дефинитивной нервной системе свойственна централизация, характерная для животных с подвижным образом жизни. В случае, когда пионерные отростки имеют малое число поворотов и ветвлений, равномерно распределенных по телу личинки, формируется нервная система с рассредоточенными ганглиями (как, например, у *Mytilus*), характерными для ведущих малоподвижный или сидячий образ жизни *Bivalvia*. При этом строение чисто личиночной структуры, которой является апикальный орган, у гастропод и двустворкок сходно. Между описанными крайними вариантами у моллюсков можно найти ряд промежуточных форм. Так что нам остается только согласиться со словами Гарштанга: “онтогенез не рекапитулирует филогенез – он его создает” (Garstang, 1922).

С другой стороны, формирование ганглиев центральной нервной системы взрослого животного облигатно детерминировано контурами, созданными отростками пионерных нейронов. Это подтверждается тем, что, по данным сравнительной морфологии, центральные ганглии ни в одном случае не были обнаружены вне анатомической связи с пионерными отростками. Расположение тел этих нейронов или их количество, скорее всего, не влияет на морфологию нервной системы. Что мы и видим на примере личинок различных групп трохофорных животных, когда при значительном разнообразии пионерных нейронов в процессе нейрогенеза сначала всегда возникают два вентральных ствола, но не один или три, а церебральные и педальные ганглии формируются как парные образования. У всех исследованных полихет личиночная нервная система существенно различается в зависимости от образа жизни и типа питания личинки. Однако пионерные нейроны маркируют поразительно схожий паттерн: два вентральных ствола, переходящих в околоторовые коннективы, нерв прототроха и околоторовое кольцо. Это хорошо согласуется со сравнительно малым разнообразием типов строения нервной системы взрослых полихет.

Наиболее важным нам представляется функциональное приспособительное значение пионерных нейронов личинок трохофорных. Описанный выше

тип закладки позволяет сместить момент формирования позиционных градиентов, определяющих морфологию дефинитивной нервной системы, на более ранние стадии. При метаморфозе происходит быстрый переход от одной жизненной формы к другой, сопряженный с принципиальными изменениями типа локомоции и питания. К этому моменту нейрональные центральные генераторы, активность которых лежит в основе соответствующих программ, должны быть уже сформированы, причем в определенных ганглиях. Маркирование нервной системы на ранних стадиях развития позволяет начать закладку нейронных систем генераторов в изоляции от поведенческих программ, реализуемых нервной системой личинки. Тогда в момент метаморфоза быстрая перестройка функциональных связей нервной системы и координируемых ею органов происходит с минимальной потерей приспособленности.

Таким образом, пионерные нейроны являются одним из интегральных механизмов, которые являются эволюционным приспособлением, позволяющим осуществлять чередование разных форм в жизненном цикле. С одной стороны, этот механизм лежит в основе значительного разнообразия в строении нервных систем у разных представителей группы трохофорных животных, а с другой – служит фактором, определяющим консервативность общего плана строения их дефинитивной нервной системы.

*Автор выражает глубокую благодарность всем коллегам, в соавторстве с которыми были опубликованы оригинальные работы, на основании которых написана эта статья.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Беклемишев В.Н.* Основы сравнительной анатомии беспозвоночных. Т. 1. М.: Наука, 1964. 432 с.
- Бубко О.В., Львова Т.Г., Кулаковский Э.Г.* Развитие нервной системы *Nephtys minuta* (Polychaeta) // Зоол. журн. 1979. Т. 58. С. 949–957.
- Воронежская Е.Е., Хабарова М.Ю.* Функция апикального органа в развитии беспозвоночных // Докл. АН. 2003. Т. 390. С. 231–234.
- Иванова-Казас О.М.* Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. Трохофорные, щупальцевые, шетинкочелюстные, погонофоры. М.: Наука, 1977. 312 с.
- Иванова-Казас О.М.* Эволюционная эмбриология. СПб.: Наука, 1995. 565 с.
- Чернышев А.В., Магарламов Т.Ю.* Первые данные о нервной системе личинок вооруженных немертин (*Nemertea*, *Hoploneurtea*) // Докл. АН. 2010. Т. 430. С. 571–573.
- Åkesson B.* On the nervous system of *Lopadorhynchus* larva (Polychaeta) // Arkiv für Zoologi. 1967. V. 20. P. 55–78.
- Barlow L.A., Truman J.W.* Patterns of serotonin and SCP immunoreactivity during metamorphosis of the nervous system of the red abalone, *Haliotis rufescens* // J. Neurobiol. 1992. V. 23. P. 829–844.
- Bate C.M.* Pioneer neurons in an insects embryo // Nature (L.). 1976. V. 260. P. 54–56.

- Benjamin P.R., Burke J.F. Alternative mRNA splicing of the FMRFamide gene and its role in neuropeptidergic signaling in a defined neural network // *BioEssays*. 1994. V. 16. P. 335–342.
- Bentley D., Keshishian H. Pathfinding by peripheral pioneer neurons in grasshoppers // *Science*. 1982. V. 218. P. 1082–1088.
- Bright K., Kellett E., Saunders S.E. et al. Mutually exclusive expression of alternatively spliced FMRFamide transcripts in identified neuronal systems of the snail *Lymnaea* // *J. Neurosci.* 1993. V. 13. P. 2719–2729.
- Bullock T.H., Horridge G.A. Structure and function in the nervous systems of invertebrates. V. 1. San Francisco: Freeman, 1965. 798 p.
- Croll R.P. Insights into early molluscan neuronal development through studies of transmitter phenotypes in embryonic pond snails // *Microsc. Res. Tech.* 2000. V. 49. P. 570–578.
- Croll R.P., Voronezhskaya E.E. Early FMRFamide-like immunoreactive cells in gastropod neurogenesis // *Acta Biol. Hung.* 1995. V. 46. P. 295–303.
- Croll R.P., Voronezhskaya E.E. Early elements in gastropod neurogenesis // *Devel. Biol.* 1996. V. 173. P. 344–347.
- Dickinson A.J.G., Croll R.P. Development of the larval nervous system of the gastropod *Ilyanassa obsoleta* // *J. Comp. Neurol.* 2003. V. 466. P. 197–218.
- Dickinson A.J.G., Croll R.P., Voronezhskaya E.E. Development of embryonic cells containing serotonin, catecholamines and FMRFamide-related peptides in *Aplysia californica* // *Biol. Bull.* 2000. V. 199. P. 305–315.
- Dickinson A.J.G., Nason J., Croll R.P. Histochemical localization of FMRFamide, serotonin and catecholamines in embryonic *Crepidula fornicata* (Gastropoda, Prosobranchia) // *Zoomorphology*. 1999. V. 119. P. 49–62.
- Field K.G., Olsen G.J., Lane D.J. et al. Molecular phylogeny of the animal kingdom // *Science*. 1988. V. 239. P. 748–753.
- Garstang W. The theory of recapitulation: A critical restatement of the biogenetic law // *J. Linn. Soc. Zool.* 1922. V. 35. P. 81–101.
- Goodman C.S., Bastiani M., Doe C.Q. et al. Cell recognition during neuronal development // *Science*. 1984. V. 22. P. 1271–1279.
- Hadfield M.G., Meleshkevitch E.A., Boudko D.Y. The apical sensory organ of a gastropod veliger is a receptor for settlement cues // *Biol. Bull.* 2000. V. 198. P. 67–76.
- Hay-Schmidt A. Distribution of catecholamine-containing, serotonin-like and neuropeptide FMRFamide-like immunoreactive cells and processes of the nervous system of the actinotroch larva of *Phoronis muelleri* (Phoronida) // *Cell Tiss. Res.* 1990a. V. 259. P. 105–118.
- Hay-Schmidt A. Catecholamine-containing, serotonin-like, and FMRFamide-like immunoreactive cells and processes of the nervous system of the early actinotroch larva of *Phoronis vancouverensis* (Phoronida) distribution and development // *Can. J. Zool.* 1990b. V. 68. P. 1525–1536.
- Hessling R., Westheide W. Are Echiura derived from a segmented ancestor? Immunohistochemical analysis of the nervous system in developmental stages of *Bonellia viridis* // *J. Morphol.* 2002. V. 252. P. 100–113.
- Ho R.K., Goodman C.S. Peripheral pathways are pioneered by an array of central and peripheral neurones in grasshopper embryos // *Nature*. 1982. V. 297. P. 404–406.
- Jacob M.H. Neurogenesis in *Aplysia californica* resembles nervous system formation in vertebrates // *J. Neurosci.* 1984. V. 5. P. 388–407.
- Kempf S.C., Page, L.R., Pires A. Development of serotoninlike immunoreactivity in the embryos and larvae of nudibranch mollusks with emphasis on the structure and possible function of the apical sensory organ // *J. Comp. Neurol.* 1997. V. 386. P. 507–528.
- Kempf S.C., Chun G.V., Hadfield M.G. An immunocytochemical search for potential neurotransmitters in larvae of *Phestilla sibogae* (Gastropoda, Opisthobranchia) // *Comp. Biochem. Physiol.* 1992. V. 101C. P. 299–305.
- Kempf S.C., Mashinovskiy B., Willows A.O.D. A simple neuronal system characterized by a monoclonal antibody to SCP neuropeptides in embryos and larvae of *Tritonia diomedea* // *J. Neurobiol.* 1987. V. 18. P. 217–236.
- Kim C.B., et al. Phylogenetic relationships of annelids, molluscs, and arthropods evidenced from molecules and morphology // *J. Mol. Evol.* 1996. V. 43. P. 207–215.
- Klose M., Bentley D. Transient pioneer neurons are essential for formation of an embryonic peripheral nerve // *Science*. 1989. V. 245. P. 982–984.
- Kriegstein A.R. Development of the nervous system of *Aplysia californica* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1977. V. 74. P. 375–378.
- Kristof A., Wollesen T., Wanninger A. Segmental mode of neural patterning in Sipuncula // *Curr. Biol.* 2009. V. 18. P. 1129–1132.
- Kuang S., Goldberg, J.I. Laser ablation reveals regulation of ciliary activity by serotonergic neurons in molluscan embryos // *J. Neurobiol.* 2001. V. 47. P. 1–15.
- Kuang S., Doran S.A., Wilson R.J.A. et al. Serotonergic sensory-motor neurons mediate a behavioral response to hypoxia in pond snail embryos // *Ibid.* 2002. V. 52. P. 73–83.
- Kutsch W., Bentley D. Programmed death of peripheral pioneer neurons in the grasshopper embryo // *Devel. Biol.* 1987. V. 123. P. 517–525.
- Lacalli T.C. Structure and development of the apical organ in trochophores of *Spirobranchus polyceris*, *Phyllodoce maculata*, and *Phyllodoce mucosa* // *Proc. R. Soc. L. B.* 1981. V. 212. P. 381–402.
- Lacalli T.C. Structure and organization of the nervous system in the trochophore larva of *Spirobranchus* // *Phil. Trans. R. Soc. L. B. Biol. Sci.* 1984. V. 306. P. 79–135.
- Marois R., Carew T.J. The gastropod nervous system in metamorphosis // *J. Neurobiol.* 1990. V. 7. P. 1053–1071.
- Marois R., Carew T.J. Ontogeny of serotonergic neurons in *Aplysia californica* // *J. Comp. Neurol.* 1997. V. 386. P. 477–490.
- Marois R., Croll R.P. Development of serotonergic cells within the embryonic central nervous system of the pond snail, *Lymnaea stagnalis* // *Ibid.* 1992. V. 322. P. 255–265.
- McAllister L.B., Scheller R., Kandel E.R., Axel R. In situ hybridization to study the origin and fate of identified neurons // *Science*. 1983. V. 222. P. 800–808.
- McDougall C., Chen W.-C., Shimeld S.M., Ferrier D.E.K. The development of the larval nervous system, musculature and ciliary bands of *Pomatoceros lamarckii* (Annelida): heterochrony in polychaetes // *Frontiers Zool.* 2006. V. 3. P. 1–16.
- Nielsen C. Animal evolution: interrelations of living phyla. Oxford: Univ. Press, 2001. 563 p.

- Nezlin L.P., Ponimaskin E.B., Voronezhskaya E.E. Neuronal development in the polychaete *Platynereis dumerilii* // J. Comp. Neurol. 2010. In press.
- Page L.R. Gastropod ontogenetic torsion: developmental remnants of an ancient evolutionary change in body plan // J. Exp. Zool. 2003. V. 297B. P. 11–26.
- Pires A., Woollacott R.M. Serotonin and dopamine have opposite effects on phototaxis in larvae of the Bryozoan *Bugula neritina* // Biol. Bull. 1997. V. 192. P. 399–409.
- Price D.A., Greenberg M.J. Structure of a molluscan cardio-excitatory neuropeptide // Science. 1977. V. 197. P. 670–671.
- Raven C.P. Morphogenesis: the analysis of molluscan development. L. et al.: Pergamon Press, 1958. 311 p.
- Raineri M., Ospovat M. The initial development of ganglia rudiments in a posterior position in *Mytilus galloprovincialis* (Mollusca: Bivalvia) // J. Mar. Biol. Ass. UK. 1994. V. 74. P. 73–77.
- Santagata S. Structure and metamorphic remodeling of the larval nervous system and musculature of *Phoronis pallida* (Phoronida) // Evol. Devel. 2002. V. 4. P. 28–42.
- Santama N., Benjamin P.R., Burke J.F. Alternative RNA splicing generates diversity of neuropeptide expression in the brain of the snail *Lymanea*: In situ analysis of mutually exclusive transcripts of the FMRFamide gene // Eur. J. Neurosci. 1995. V. 7. P. 65–76.
- Schacher S., Kandel E.R., Woolley R. Development of neurons in the abdominal ganglion of *Aplysia californica*: I. Axosomatic synaptic contacts // Devel. Biol. 1979. V. 71. P. 163–175.
- Thomas J.B., Bastiani M., Bate M., Goodman C.S. From grasshopper to *Drosophila*: a common plan for neuronal development // Nature. 1984. V. 310. P. 203–207.
- Voronezhskaya E.E., Elekes K. Distribution of serotonin-like immunoreactive neurons in the embryonic nervous system of lymnaeid and planorbid snails // Neurobiology (Budapest). 1994. V. 1. P. 371–383.
- Voronezhskaya E.E., Elekes K. Transient and sustained expression of FMRFamide-like immunoreactivity in the developing nervous system of *Lymnaea stagnalis* (Mollusca, Pulmonata) // Cell Mol. Neurobiol. 1996. V. 16. P. 661–676.
- Voronezhskaya E.E., Elekes K. Expression of FMRFamide gene neuropeptides is partly different in the embryonic nervous system of the pond snail, *Lymnaea stagnalis* L. // Neurobiology (Budapest). 1997. V. 5. P. 91–93.
- Voronezhskaya E.E., Elekes K. Expression of the FMRFamide gene encoded peptides by identified neurons in embryos and juveniles of the pulmonate snail *Lymnaea stagnalis* // Cell Tiss. Res. 2003. V. 314. P. 297–313.
- Voronezhskaya E.E., Hiripi L., Elekes K. et al. Development of catecholaminergic neurons in the pond snail, *Lymnaea stagnalis*: I. Embryonic development of dopamine-containing neurons and dopamine-dependent behaviors // J. Comp. Neurol. 1999. V. 404. P. 285–296.
- Voronezhskaya E.E., Khabarova M.Yu., Nezlin L.P. Apical sensory neurons mediate developmental retardation induced by conspecific environmental stimuli in freshwater pulmonate snails // Development. 2004. V. 131. P. 3671–3680.
- Voronezhskaya E.E., Nezlin L.P., Odintsova N.A. et al. Neuronal development in larval mussel *Mytilus trossulus* (Mollusca: Bivalvia) // Zoomorphology. 2008. V. 127. P. 97–110.
- Voronezhskaya E.E., Tsitrin E.B., Nezlin L.P. Neuronal development in larval polychaete *Phyllodoce maculata* (Phyllozoa) // J. Comp. Neurol. 2003. V. 455. P. 299–309.
- Voronezhskaya E.E., Tyurin S.A., Nezlin L.P. Neuronal development in larval chiton *Ischnochiton hakodadensis* (Mollusca: Polyplacophora) // Ibid. 2002. V. 444. P. 25–38.
- Wanninger A., Haszprunar G. The development of the serotonergic and FMRF-amidergic nervous system in *Antalis entalis* (Mollusca, Scaphopoda) // Zoomorphology. 2003. V. 122. P. 77–85.
- Wanninger A. et al. Nervous and muscle system development in *Phascolion strombus* (Sipuncula) // Devel. Genes Evol. 2005. V. 215. P. 509–518.

## Pioneer Neurons: A Basis or Bottleneck of Diversity of Nervous Systems of Lophotrochozoa?

E. E. Voronezhskaya and E. G. Ivashkin

Koltsov Institute of Developmental Biology, ul. Vavilova 26, Moscow, 119334 Russia  
e-mail: lena\_yor@mail.ru

**Abstract**—In a case study on development of larvae of Trochozoa species of different systematic positions, it was shown that peripheral neurons differentiated firstly. According to the characters of early peripheral neurons, in particular their localization in parts that differed from known zones of appearance of central ganglia, the difficult periphery of processes used as a “frame” by differentiated neurons of definitive nervous system, and transient expression of specific markers, it is reputed that these cells are pioneer. On the one hand, pioneer neurons are the bottleneck of morphogenesis diversity in late stages of development which prepare, in early larvae, the framework of the further central nervous system. On the other hand, navigation and marking using pioneer neurons can be a mechanism of evolutionary lability of definitive neural structures. Functional adaptive significance of pioneer neurons of larvae of Trochozoa animals, probably, is in the maintenance of a fast change from larvae life-form to adult life-form in metamorphosis that decreases the time of animals at intermediate stages of morphogenesis, which are associated with a dramatic fall in adaptation.

**Keywords:** trochophore, neurogenesis, pioneer neurons, apical organ, larvae