

ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ РОЛИ НЕЙРОТРАНСМИТТЕРОВ В ТЕЧЕНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

© Г. А. Бузников*, Ю. Б. Шмуклер*, Дж. М. Лаудер**

* Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Россия, 117808, Москва, ул. Вавилова, 26; ** Университет Северной Каролины, Чэпел Хилл NC 27599-7090, США

Классические нейротрансмиттеры (ацетилхолин и биогенныеmonoамины) — мультифункциональные вещества, участвующие во внутри- и межклеточной сигнализации на всех этапах онтогенеза у многоклеточных животных. Предложена циклическая схема, описывающая возрастные изменения нейротрансмиттерных функций на стадиях развития от созревания ооцитов до формирования нейронов. Возможно, что она отражает не только пространственно-временную организацию нейротрансмиттерных процессов, но и генез функций ацетилхолина и биогенных monoаминов при переходе от протосинапсов дробящихся зародышей к нейрональным синапсам.

Ключевые слова: нейротрансмиттеры, ооциты, эмбриогенез, морфогенез, нейрогенез.

G. A. Buznikov*, Yu. B. Shmukler* and J. M. Lowder**. CHANGES OF THE NEUROTRANSMITTERS' PHYSIOLOGICAL ROLE IN THE COURSE OF INDIVIDUAL DEVELOPMENT.

*Institute of Developmental Biology of the Russian Acad. Sci., Moscow 117808, Vavilov St., 26, Russia, and **University of North Caroline, Chapel Hill, NC 27599-7090, USA.

Classical neurotransmitters acetylcholine and biogenic monoamines act as multifunctional substances throughout the metazoan ontogenesis. A suggested cyclic scheme describes developmental changes of neurotransmitter functions from the oocyte maturation to neuron formation,

Key words: neurotransmitters, oocytes, embryogenesis, morphogenesis, neurogenesis.

Сейчас известно свыше 40 веществ — доказанных или предполагаемых нейротрансмиттеров. Среди этих веществ, чрезвычайно разнообразных по химической природе (от пептидов до NO и CO), часто выделяют так называемые классические нейротрансмиттеры — ацетилхолин и биогенные monoамины: серотонин (5-НТ), дофамин, норадреналин, адреналин и гамма-аминомасляную кислоту (ГАМК). Не исключено, что классические нейротрансмиттеры имеют что-то общее, принципиально отличающее их от других нейротрансмиттеров. Еще Х. С. Коштоянц [6] отметил, что биогенные monoамины образуются из аминокислот, используемых и для белкового синтеза. Кроме того, пока только для ацетилхолина и биогенных аминов показано, что они функционально активны в течение всего онтогенеза, в том числе и на донервных стадиях развития [1, 2, 18, 20, 21, 26, 61, 93].

Переход от донервных к нейрональным этапам онтогенеза неизбежно должен сопровождаться изменениями физиологической роли классических нейротрансмиттеров [1, 20, 21, 26, 64]. Ранее [1] было предположено, что ацетилхолин и биогенные monoамины функционируют сперва как внутриклеточные регуляторы, затем становятся локальными гормонами и, наконец, приобретают роль синаптических передатчиков. Сходные представления были обоснованы позднее и другими авторами [18, 93]. Сейчас мы располагаем данными, позволяющими развить эту элементарную схему. В новой схеме учитывается, что за переходом от донервных к дефинитивным функциям ацетилхолина и биогенных monoаминов должен следовать возврат к

донервным функциям. На протяжении всего этого цикла действие нейротрансмиттеров точно адресовано. Именно благодаря этому как донервные, так и нейрональные нейротрансмиттеры играют важную роль в пространственно-временной организации онтогенеза.

ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИЙ НЕЙРОТРАНСМИТТЕРОВ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Предлагаемая схема представлена на рис. 1. Описываемые ею онтогенетические изменения нейротрансмиттерных функций носят закономерный и, следовательно, предсказуемый характер. Блоки этой схемы соответствуют последовательным периодам онтогенеза с характерной для каждого из них организацией нейротрансмиттерных процессов.

1. *Нейрональные и донервные нейротрансмиттеры как триггеры и регуляторы гаметогенеза.* Данные об участии ацетилхолина и биогенныхmonoаминов в регуляции сперматогенеза и роста ооцитов фрагментарны. Поэтому мы ограничимся здесь сведениями о роли этих веществ в созревании ооцитов, достигших окончательного размера. По предварительным данным, в интактных (окруженных фолликулярной оболочкой) ооцитах морских звезд и амфибий присутствуют ацетилхолин, 5-HT и катехоламины [^{20, 24}]. Биогенные monoамины, в том числе 5-HT, найдены в фолликулярной жидкости человека [¹⁵]. Предполагается, что эти вещества синтезируются как в ооцитах и фолликулярных клетках, так и в материнском организме, т. е. могут иметь смешанное (донервное, ненервное и нейрональное) происхождение [^{24, 26}].

Нейротрансмиттерные системы ооцитов имеют рецепторное звено, сопряженное со вторичными мессенджерами. На поверхности ооцитов или фолликулярных клеток морских звезд, амфибий, млекопитающих и других животных найдены рецепторы 5-HT, ацетилхолина и катехоламинов, сходные с рецепторами дифференцированных клеток [²⁶]. В ооцитах амфибий найдены и внутриклеточные 5-HT-рецепторы, по-видимому, идентичные таковым у ранних зародышей [^{9, 24}].

И наконец, нейротрансмиттерные системы ооцитов функционально активны. У некоторых животных нейротрансмиттеры играют роль триггеров созревания. Так, у двусторчатых моллюсков 5-HT, действуя через локализованные на поверхности ооцитов рецепторы, возобновляет деления созревания, а некоторые антагонисты 5-HT специфически блокируют мейоз [^{36, 43, 44, 48, 56, 57}]. У морских звезд и позвоночных нейротрансмиттеры функционируют как модуляторы гормонов созревания — соответственно 1-метиладенина или гипофизарных гормонов и прогестерона [^{3, 4, 9, 16, 17, 24, 31, 76}]. У морских звезд 5-HT потенцирует действие 1-метиладенина, а некоторые антагонисты 5-HT специфически и обратимо тормозят созревание ооцитов, вызванное 1-метиладенином. Соответствующие рецепторы, функционально сопряженные со вторичными мессенджерами, локализованы на поверхности ооцита [^{3, 4, 24, 85}].

У амфибий и, по-видимому, костистых рыб 5-HT действует, наоборот, как негативный модулятор активности гормонов созревания, а некоторые антагонисты 5-HT сами по себе вызывают полноценное созревание ооцитов [^{9, 24, 31, 76}]. Результаты, полученные на амфибиях, позволяют предположить, что 5-HT является главным эндогенным фактором, обеспечивающим блокаду мейоза вплоть до начала сезона размножения. Существует по меньшей мере три группы 5-HT-рецепторов, участвующих в реализации этой функции 5-HT и локализованных соответственно на поверхности фолликулярных клеток, на поверхности ооцитов и в цитоплазме ооцитов. По мере того как приближается сезон размножения, происходит последовательное включение этих рецепторных уровней [^{9, 24, 76}].

У всех исследованных групп животных 5-HT, действуя на созревание ооцитов, препятствует активации протеинкиназы C экзогенными или эндогенными активаторами. Возможно, поэтому при всем разнообразии физиологических эффектов 5-HT как регулятора созревания ооцитов у различных животных эти эффекты всегда опосредуются через Ca^{2+} и диацилглицерины [⁸].

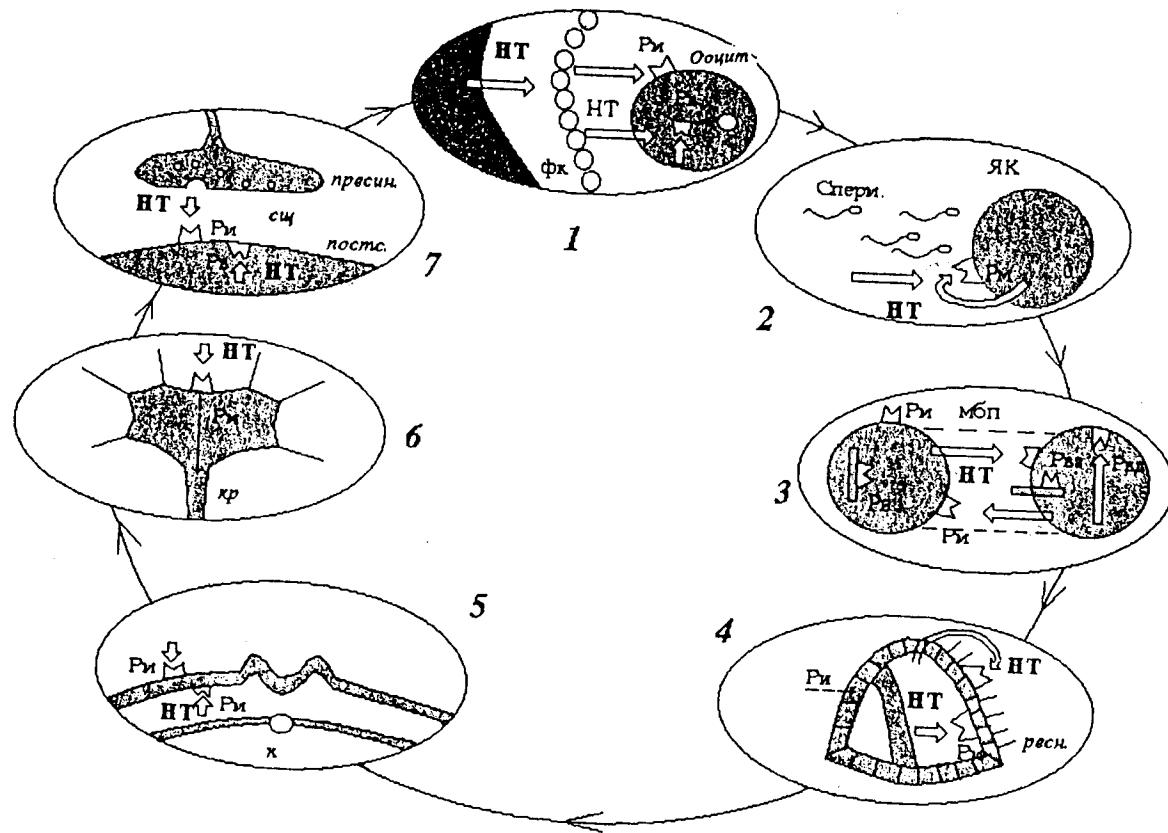
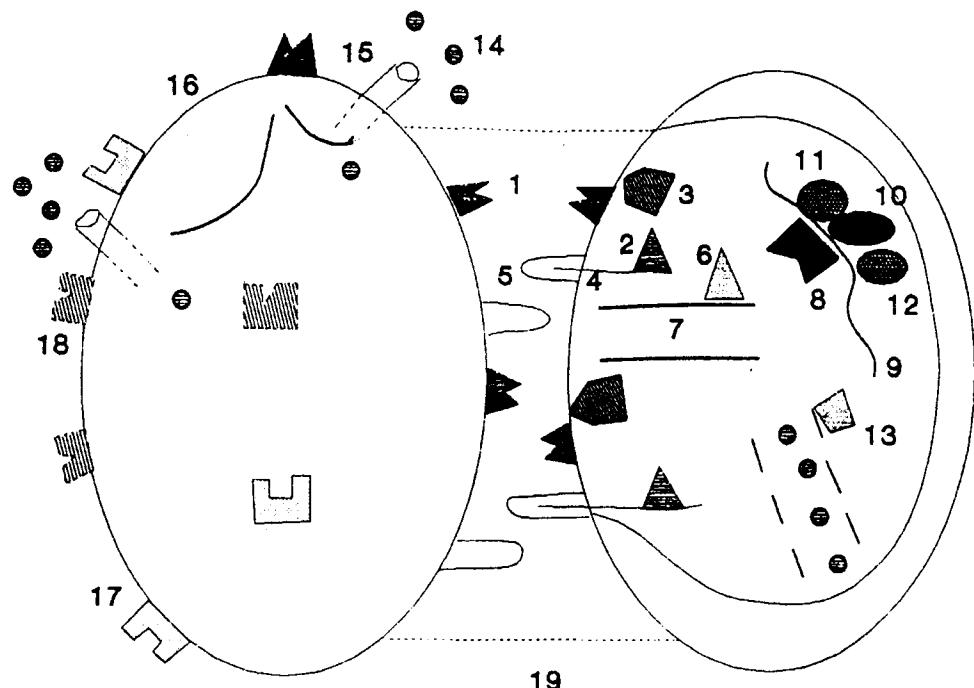


Рис. 1. Схема основных этапов изменения функций нейротрансмиттеров в онтогенезе.

1 — созревающий ооцит; 2 — оплодотворение; 3 — деления дробления; 4 — гастроуляция; 5 — нейруляция; 6 — нейрогенез; 7 — нейрон. НТ — нейротрансмиттер; Рм — мембранный нейротрансмиттерный рецептор; Рв — внутриклеточный нейротрансмиттерный рецептор; фк — фолликулярные клетки; МК — клетки материнского организма; Сperm. — сперматозоиды; ЯК — яйцеклетка; mbp — межblastостерное пространство; Рвд — внутриклеточный нейротрансмиттерный рецептор, участвующий в регуляции цитокинеза; Рва — внутриклеточный нейротрансмиттерный рецептор, участвующий в регуляции межклеточной адгезии; ресн. — ресничные клетки; кр — конус роста нейрона; х — хорда; пресин. — пресинаптическое окончание; постс. — постсинаптическая клетка; сщ — синаптическая щель.



19

Рис. 2. Функции нейротрансмиттеров и их взаимодействия с вторичными мессенджерами в регуляции делений дробления.

1 — мембранный 5-НТ-рецептор; 2 — внутриклеточный 5-НТ-рецептор, принимающий участие в адгезии бластомеров; 3 — аденилатцилаза контактной мембраны; 4 — цитоскелетные элементы микроворсинок; 5 — межblastомерное пространство; 6 — вероятные внутриклеточные места связывания 5-НТ на актине цитоскелета; 7 — элементы цитоскелета в борозде дробления; 8 — внутриклеточные 5-НТ-рецепторы, локализованные на эндоплазматическом ретикулуме; 9 — эндоплазматический ретикулум; 10 — аденилатцилаза эндоплазматического ретикулума; 11 — $G_{(i)}$ -белок; 12 — $G_{(s)}$ -белок; 13 — внутриклеточный А-рецептор, связанный с элементами цитоскелета борозды дробления; 14 — ионы кальция; 15 — кальциевые каналы L-типа; 16 — кальциевые каналы T-типа; 17 — мембранные рецепторы ацетилхолина; 18 — вероятные мембранные D-рецепторы; 19 — «зона протосинапса».

Другой нейротрансмиттер, ацетилхолин, известен как позитивный модулятор действия прогестерона на созревание ооцитов амфибий. Эта функция ацетилхолина осуществляется при посредстве М-холинорецепторов, локализованных на поверхности ооцита и функционально сопряженных с цГМФ и диацилглицеринами [33, 66]. Имеются данные об участии ацетилхолина в регуляции созревания ооцитов морских звезд [41] и млекопитающих [65, 66].

2. Донервные нейротрансмиттеры как участники регуляторных процессов при оплодотворении. Такое участие предполагалось давно [1], поскольку классические нейротрансмиттеры были обнаружены в сперматозоидах различных групп животных. Сейчас это предположение в ряде случаев доказано. Так, у морских ежей ацетилхолин необходим для взаимодействия сперматозоида с яйцеклеткой и для быстрой блокады полиспермии. Эта функция ацетилхолина осуществляется при посредстве М-холинорецепторов, локализованных на поверхности зрелого яйца и сопряженных с Ca^{2+} -каналами [33, 41, 105]. Судя по результатам опытов на морских ежах и моллюсках, в оплодотворении и в блокаде полиспермии участвуют также биогенные моноамины [29, 54, 70, 75].

Источник нейротрансмиттеров — регуляторов оплодотворения — пока не установлен. Очевидно, однако, что хотя бы у животных с внешним оплодотворением эти нейротрансмиттеры могут быть только ненервными (донервными).

3. Донервные нейротрансмиттеры как регуляторы делений дробления, ионного гомеостаза, ранних межклеточных взаимодействий. Эти функции нейротрансмиттеров (рис. 2) возникают у одноклеточных зародышей или во время делений дробления, т. е. в период развития от оплодотворения до завершения бластуляции, и изучены наиболее полно, что позволяет отметить некоторые особенности донервных трансмиттерных систем. Главная особенность определяется эпитетом «донервные» — нейротрансмиттеры синтезируются непосредственно в зиготе или бластомерах. Зигота (одноклеточный зародыш) является аутокринной системой, включающей все сигнальные вещества — первичные и вторичные мессенджеры — и всю машинерию трансдукции и рецепции сигналов [1, 2.25–28].

Клетки дробящегося зародыша (blastomeres) и генерируют, и воспринимают сигналы, определяющие дальнейшую судьбу этих клеток [26, 86]. В такой семиаутокринной системе нейротрансмиттеры сохраняют роль внутриклеточных регуляторов, но приобретают и функции межклеточных посредников. Сказанное относится в полной мере только к зародышам, развивающимся вне материнского организма. У животных с внутриутробным развитием источником нейротрансмиттеров, действующих на клетки зародышей, может быть и материнский организм [78, 95, 96, 103].

Среди более частных особенностей следует отметить следующие. Во-первых, синтез нейротрансмиттеров у ранних зародышей происходит обычными путями, но в необычных местах. У всех исследованных животных (полихет, иглокожих, амфибий, птиц) биогенныеmonoамины и, по-видимому, ацетилхолин синтезируются в желтке [20, 37, 38]. Во-вторых, для одноклеточных и дробящихся зародышей характерно сосуществование нескольких функционально активных нейротрансмиттеров в одной и той же клетке. Так, в зиготах и бластомерах морских ежей найдены ацетилхолин, дофамин, норадреналин, адреналин, 5-HT и триптамин [2, 26, 42], а у амфибий — катехоламины и 5-HT [82]. Иногда эти сосуществующие в одной клетке трансмиттеры выступают как синергисты, но могут быть и антагонистами [21]. В-третьих, сами функции нейротрансмиттеров у ранних зародышей своеобразны. Участие этих веществ в запуске и регуляции клеточных делений, в адгезии бластомеров и в межblastomerных взаимодействиях, в регуляции уровня ионов Ca^{2+} в цитоплазме если и сохраняется на более поздних стадиях развития, то в очень модифицированном виде [26]. Предполагается, кроме того, что возобновление донервных нейротрансмиттерных функций у взрослых организмов возможно при определенных отклонениях от нормы (регенерация, опухолевый рост) [1, 2, 30], а также при бесполом размножении [81]; для всех этих случаев характерно резкое усиление клеточной пролиферации. Своебразие донервных нейротрансмиттерных функций проявляется и в том, что в качестве соответствующих эффекторов обычно выступают те или иные элементы цитоскелета, например микрофиламенты кортикального сократительного кольца [21, 26, 74, 75]. Донервные нейротрансмиттеры, как и нейротрансмиттеры нейрональные, являются мультифункциональными регуляторами. Так, 5-HT ранних зародышей морских ежей участвует во всех перечисленных функциях.

И наконец, крайне своеобразным является то, что функции донервных ацетилхолина и биогенных monoаминов осуществляются при посредстве двух независимых групп рецепторов, одна из которых локализована внутриклеточно, а вторая на клеточной поверхности [2, 18, 26, 86]. Эта особенность доказана пока только для ранних зародышей морских ежей и амфибий, но, скорее всего, носит универсальный характер.

Внутриклеточные рецепторы участвуют в запуске и регуляции делений дробления и в межblastomerной адгезии. Для каждого из нейротрансмиттеров — регуляторов делений дробления, по-видимому, существует своя группа внутриклеточных рецепторов [21, 26]. Они отличаются крайним фармакологическим своеобразием и (во всяком случае, у морских ежей) не идентичны ни одному из известных типов рецепторов для 5-HT, дофамина, адреналина или ацетилхолина [2]. Возможно, даже, что это не истинные фармакологические рецепторы, а их функциональные эквиваленты.

У морских ежей нейротрансмиттерные рецепторы, локализованные на клеточной

3. Донервные нейротрансмиттеры как регуляторы делений дробления, ионного гомеостаза, ранних межклеточных взаимодействий. Эти функции нейротрансмиттеров (рис. 2) возникают у одноклеточных зародышей или во время делений дробления, т. е. в период развития от оплодотворения до завершения бластуляции, и изучены наиболее полно, что позволяет отметить некоторые особенности донервных трансмиттерных систем. Главная особенность определяется эпитетом «донервные» — нейротрансмиттеры синтезируются непосредственно в зиготе или бластомерах. Зигота (одноклеточный зародыш) является аутокринной системой, включающей все сигнальные вещества — первичные и вторичные мессенджеры — и всю машину трансдукции и рецепции сигналов [1, 2, 25–28].

Клетки дробящегося зародыша (blastomeres) и генерируют, и воспринимают сигналы, определяющие дальнейшую судьбу этих клеток [26, 86]. В такой семиавтоматической системе нейротрансмиттеры сохраняют роль внутриклеточных регуляторов, что приобретают и функции межклеточных посредников. Сказанное относится в полной мере только к зародышам, развивающимся вне материнского организма. У животных с внутриутробным развитием источником нейротрансмиттеров, действующих на клетки зародышей, может быть и материнский организм [78, 95, 96, 103].

Среди более частных особенностей следует отметить следующие. Во-первых, синтез нейротрансмиттеров у ранних зародышей происходит обычными путями, но в необычных местах. У всех исследованных животных (полихет, иглокожих, амфибий, птиц) биогенныеmonoамины и, по-видимому, ацетилхолин синтезируются в клетке [20, 37, 38]. Во-вторых, для одноклеточных и дробящихся зародышей характерно сосуществование нескольких функционально активных нейротрансмиттеров в одной и той же клетке. Так, в зиготах и бластомерах морских ежей найдены ацетилхолин, дофамин, норадреналин, адреналин, 5-HT и триптамин [2, 26, 42], а у амфибий — катехоламины и 5-HT [82]. Иногда эти сосуществующие в одной клетке трансмиттеры выступают как синергисты, но могут быть и антагонистами [21]. В-третьих, сами функции нейротрансмиттеров у ранних зародышей своеобразны. Участие этих веществ в запуске и регуляции клеточных делений, в адгезии бластомеров и в межblastomerных взаимодействиях, в регуляции уровня ионов Ca^{2+} в цитоплазме если и сохраняется на более поздних стадиях развития, то в очень модифицированном виде [26]. Предполагается, кроме того, что возобновление донервных нейротрансмиттерных функций у взрослых организмов возможно при определенных отклонениях от нормы (регенерация, опухолевый рост) [1, 2, 30], а также при бесполом размножении [81]; для всех этих случаев характерно резкое усиление клеточной пролиферации. Своебразие донервных нейротрансмиттерных функций проявляется в том, что в качестве соответствующих эффекторов обычно выступают те или иные элементы цитоскелета, например микрофиламенты кортикального сократительного кольца [21, 26, 74, 75]. Донервные нейротрансмиттеры, как и нейротрансмиттеры гейроидальные, являются мультифункциональными регуляторами. Так, 5-HT ранних зародышей морских ежей участвует во всех перечисленных функциях.

И наконец, крайне своеобразным является то, что функции донервных ацетилхолина и биогенных monoаминов осуществляются при посредстве двух независимых групп рецепторов, одна из которых локализована внутриклеточно, а вторая на клеточной поверхности [2, 18, 26, 86]. Эта особенность доказана пока только для ранних зародышей морских ежей и амфибий, но, скорее всего, носит универсальный характер.

Внутриклеточные рецепторы участвуют в запуске и регуляции делений дробления в межblastomerной адгезии. Для каждого из нейротрансмиттеров — регуляторов делений дробления, по-видимому, существует своя группа внутриклеточных рецепторов [21, 26]. Они отличаются крайним фармакологическим своеобразием и (во всяком случае, у морских ежей) не идентичны ни одному из известных типов рецепторов для 5-HT, дофамина, адреналина или ацетилхолина [2]. Возможно, даже, что это и истинные фармакологические рецепторы, а их функциональные эквиваленты.

У морских ежей нейротрансмиттерные рецепторы, локализованные на клеточной

поверхности, участвуют в регуляции цитоплазматического уровня ионов кальция, в ранних межклеточных взаимодействиях [5, 26, 86, 88], а также в регуляции трансмембранных транспорта биогенныхmonoаминов [29] и некоторых мембранных процессов, непосредственно следующих за оплодотворением [75]. Среди этих рецепторов к настоящему времени идентифицированы с большей или меньшей достоверностью серотоно- [4, 5, 23, 26, 86], холино- (мускарино- и никотино-) [13, 22, 41], дофамино- [29] и адренорецепторы [75]. Если они и отличаются от одноименных рецепторов дифференцированных клеток, то, по-видимому, в значительно меньшей степени, чем рецепторы внутриклеточные. Однако впредь до получения молекулярно-биологических данных окончательная идентификация мембранных нейротрансмиттерных рецепторов у ранних зародышей представляется преждевременной.

Донервные нейротрансмиттеры (как и нейротрансмиттеры нейрональные) могут быть функционально сопряжены со вторичными мессенджерами (ионами Са, цАМФ, диацилглицеринами, инозитолтрифосфатом и др.) [2, 26, 27]. В клетках ранних зародышей сосуществуют два уровня этого сопряжения — внутриклеточный и мембранный, соответствующие двум группам донервных нейротрансмиттерных рецепторов. Наиболее четко такое сосуществование было показано при изучении функционального сопряжения биогенных monoаминов с системой «аденилатциклаза — цАМФ» [10, 27, 28, 80], а также 5-HT и ацетилхолина с другим важнейшим регуляторным ферментом — протеинкиназой С [5, 23, 26] — у ранних зародышей морских ежей.

Данные о функциональном сопряжении донервных 5-HT-рецепторов, локализованных на клеточной поверхности зародышей морских ежей, с системами вторичных мессенджеров позволили сформулировать концепцию «протосинапса» как онтогенетического и, быть может, филогенетического предшественника синапсов нейрональных [86]. Согласно этой концепции, межblastомерное пространство является замкнутым и может рассматриваться как аналог синаптической щели, в которую поступает 5-HT, выделяемый blastомерами. В мембранах по обе стороны этой щели присутствуют как 5-HT-рецепторы, так и функционально сопряженная с ними аденилатциклаза (рис. 2). Через такую двусторонне-симметричную структуру осуществляются межblastомерные взаимодействия, определяющие судьбу blastомеров.

4. *Донервные нейротрансмиттеры как регуляторы морфогенетических клеточных движений и специализированных физиологических процессов (гастроуляция и первые постгастроуляционные стадии развития).* Дальнейшие возрастные изменения нейротрансмиттерных функций, по-видимому, очень сложны. Они могут быть разными в различных группах клеток зародыша, появляться и исчезать, быть то антагонистическими, то синергическими и т. д. Эта динамика связана с появлением нейротрансмиттерной специализации клеток, изменениями свойств и локализации рецепторов и характера их сопряжения со вторичными мессенджерами. Что же касается конкретного характера этих функций, то доказано или предполагается участие ацетилхолина и биогенных monoаминов в регуляции морфогенетических клеточных движений при гастроуляции и нейрорулации, в осуществлении самых ранних специализированных физиологических процессов и в эмбриональной индукции. Эти данные были получены главным образом на моллюсках, морских ежах и позвоночных [1, 2, 18, 20, 26, 41, 42, 50, 51, 58, 82, 101].

Нормальный ход процессов гастроуляции обеспечивается всей совокупностью нейротрансмиттеров и сопряженных с ними вторичных мессенджеров, регуляторные функции которых определенным образом организованы во времени и пространстве. Об этом, в частности, свидетельствует только что упомянутая трансмиттерная специализация клеток, возникающая у морских ежей и других животных с регуляционным типом развития (в том числе позвоночных) именно во время гастроуляции и непосредственно после нее [26, 61, 64, 69, 82]. Кроме того, антагонисты различных нейротрансмиттеров действуют на морфогенетические движения клеток при гастроуляции по-разному, а чувствительность этих клеток к различным группам антагонистов возникает несинхронно [7, 51]. Соответствующие рецепторы локализованы, как и во

время делений дробления, и внутриклеточно, и на клеточной поверхности. Их многообразие во время гастроуляции возрастает [^{1, 2, 26, 41, 51}].

Трансмиттерная специализация клеток связана и с первыми специализированными физиологическими процессами. Ограничимся только одним примером — ролью 5-HT и ацетилхолина в запуске и регуляции донервной и ненервной эмбриональной моторики. 5-HT синтезируется или по крайней мере аккумулируется в моторных клетках личинок морских ежей и моллюсков, исчезая из остальных эктодермальных клеток. Ацетилхолин, участвующий в регуляции эмбриональной моторики у морских ежей, также имеет ненервное происхождение [^{1, 34, 50, 69}]. У зародышей и личинок голожаберных моллюсков [^{1, 20}] 5-HT-рецепторы локализованы на поверхности моторных клеток и сходны с классическими 5-HT₂-рецепторами. Аналогичную фармакологическую характеристику имеют 5-HT-рецепторы моторных клеток и у зародышей легочных моллюсков, где в качестве регулятора моторики выступает нейрональный 5-HT [^{32, 46}].

У личинок морских ежей часть моторных клеток в результате первичной (нейральной) индукции превращается в нейроны. Веществом-индуктором здесь, по-видимому, служит 5-HT, выделяемый клетками первичной кишки на заключительных этапах гастроуляции [⁵¹]. Таким образом, намечается по крайней мере два пути перехода от донервного трансмиттера, локального гормона эмбриональной моторики, к синаптическому передатчику. Моторные клетки, синтезирующие трансмиттер, могут превращаться в нейроны соответствующей ергичности (морские ежи) или приобрести иннервацию и начать реагировать на соответствующий синаптический передатчик (легочные моллюски).

5. *Донервные и нейрональные нейротрансмиттеры как морфогены.* Термин «морфогены» используется для обозначения эндогенных веществ, специфически влияющих на морфогенетические процессы в определенных группах клеток. Выраженность этих влияний зависит от градиента концентрации морфогена [^{49, 59}]. Морфогенетическая активность нейротрансмиттеров, в частности биогенныхmonoаминов, возникает в конце гастроуляции или на постгастроуляционных стадиях донервного эмбриогенеза (у позвоночных во время нейруляции). Так, у амфибий и птиц 5-HT и катехоламины, синтезируемые в желтке и позднее в клетках хорды, активно захватываются клетками нервной трубы [^{47, 83, 98}]. Эти monoамины, действуя в конечном итоге на цитоскелет, регулируют морфогенетические клеточные движения и изменения формы клеток при замыкании нервной трубы. Пространственно-временная организация замыкания коррелирует с градиентами monoаминов в нервной трубке. Блокаторы захвата monoаминов, ингибиторы monoаминоксидазы (МАО) и некоторые лиганды 5-HT- и A-рецепторов вызывают различные нарушения нейруляции [^{26, 59, 77, 98}].

В серии работ, выполненных на нейрулирующих зародышах мыши, была показана роль 5-HT как морфогена, регулирующего развитие краинофациальной области [^{64, 73, 89, 90}] и сердца [¹⁰⁴]. Этой функции 5-HT соответствует преходящая (с 9-го по 12-й день зародышевого развития) экспрессия как самого 5-HT, так и мест его связывания в краинофациальном эпителии и миокарде [^{61, 64, 91, 104}]. Эти места связывания вместе с monoaminokсидазой участвуют в создании морфогенетического градиента 5-HT. Первоначально полагали, что источником 5-HT-морфогена являются какие-то ткани нейрулирующего зародыша, но позднее обнаружили, что этот monoамин поступает к эмбриональным клеткам-мишеням из материнского организма через плаценту [¹⁰³], т. е. может иметь и нейрональное происхождение. В связи с этим отметим, что в мембранных клеток плаценты есть транспортер 5-HT [⁷⁸].

Морфогенетическая функция 5-HT подтверждена и фармакологическими опытами. Ингибиторы захвата 5-HT при действии на культивируемые *in vitro* зародыши мыши вызывают серьезные нарушения развития краинофациальной области и миокарда, обусловленные подавлением пролиферации мезенхимных клеток и их гибелю. Аномалии развития характерны именно для тех структур, где наблюдается преходящая экспрессия мест связывания 5-HT. При изучении развития краинофациальной

области было найдено, что наиболее чувствительны к ингибиторам захвата 5-HT те мезенхимные клетки, в которых нет выраженной экспрессии белка, связывающего 5-HT (SBP). По-видимому, SBP там, где он есть, защищает клетки от действия избытка 5-HT. Предполагается, что ингибиторы захвата 5-HT нарушают морфогенетический градиент 5-HT, не влияя на поступление этого вещества, но подавляя его захват клетками миокарда и последующую деградацию [89, 90, 104]. Дефекты в развитии краинофациальной области наблюдались и при действии определенных агонистов и антагонистов 5-HT на культивируемых *in vitro* мышиных зародышей. Иммуноцитохимически показано, что в мезенхиме краинофациальной области присутствуют две группы 5-HT-рецепторов, одна из которых идентична 5-HT_{1A}-рецепторам [63]. Краинофациальные аномалии были обнаружены также у трансгенных мышей с подавленной («knocked out») экспрессией 5-HT₂-рецепторов [92]. Нарушения развития сердца и краинофациальной области, обнаруженные во всех этих фармакологических опытах, очень сходны с морфологическими аномалиями, наблюдаемыми при синдроме Дауна, а также у мышей с трисомией 16 (экспериментальной модели синдрома Дауна) [39, 100]. Имеются и другие фармакологические данные, свидетельствующие о возможной связи этих аномалий с нарушениями морфогенетической функции 5-HT [2].

К сказанному можно добавить, что активация 5-HT_{1A}-рецепторов регулирует у мышиных зародышей перемещение клеток нервного гребня в черепной области и что антагонисты 5-HT_{1A}, 5-HT_{1C/2}- и 5-HT₃-рецепторов по-разному влияют на экспрессию определенных белков, в том числе S100β, в этих клетках [71, 72]. Совокупность всех рассмотренных данных доказывает морфогенетическую функцию 5-HT во время нейруляции; механизмы этой функции в настоящее время исследуются.

6. *Нейрональные нейротрансмиттеры как регуляторы нейрогенеза.* В 80-е годы были опубликованы работы, посвященные роли классических нейротрансмиттеров в процессах нейрогенеза — в дифференцировке определенных групп нейронов, в регуляции аксонального роста, в синаптогенезе, в определении постоянной или преходящей ергичности нейронов (нейротрансмиттерного фенотипа). Эти материалы подробно рассмотрены в наших ранних обзора [2, 20, 60]. Здесь будут изложены только новые данные о нейрогенетической роли 5-HT у зародышей млекопитающих, хотя соответствующие функции продолжают исследоваться и для других нейротрансмиттеров [40, 79, 84].

На зародышах крысы было показано, что нейроны 5-HTергических ядер шва формируются раньше большинства их мишени, в частности дофаминергических нейронов черного вещества (*substantia nigra*). Подавление синтеза 5-HT в ядрах шва задерживает дифференцировку нейронов-мишней, а усиление этого синтеза, наоборот, ускоряет ее [60, 101, 102]. 5-HT, действующий как дифференцировочный сигнал, по-видимому, высвобождается конусами роста соответствующих нейронов [53]. Судя по результатам опытов с молекулярной гибридизацией *in situ* и с действием агониста 5-HT_{1C/2}-рецепторов DOI на нейроны, культивируемые *in vitro*, нейрогенетическое действие 5-HT осуществляется при посредстве 5-HT_{1C}- и 5-HT₂-рецепторов нейронов-мишней [52] (также Дж. Лаудер, неопубликованные данные).

5-HT является авторегулятором дифференцировки 5-HTергических нейронов как у беспозвоночных (легочные моллюски, дрозофилы), так и позвоночных (млекопитающие) [14, 60, 101, 102]. Это было продемонстрировано, в частности, на культуре 5-HTергических нейронов, взятых у зародышей крысы на 14-й день развития [60].

Рассматриваемое действие 5-HT на нейроны-мишени может быть как прямым, так и опосредованным через рецепторы глиальных клеток [62, 67, 97]. Предполагается, в частности, что 5-HT, высвобождаемый соответствующими нейронами, активирует 5-HT_{1A}-рецепторы глиальных клеток; это приводит к выделению последними белка S100β, являющегося фактором роста для нейронов-мишней. Возможно, что в этом нейрогенетическом действии 5-HT участвуют и другие факторы роста, высвобождаемые глиальными клетками [61, 62, 94, 101].

Нейрогенетические функции классических нейротрансмиттеров, по-видимому, сохраняются в модифицированном виде и у взрослых организмов. Известно, что 5-НТ нейронального происхождения необходим для поддержания нейротрансмиттерного фенотипа у определенных групп нейронов в ЦНС млекопитающих [102].

7. *Нейрональные нейротрансмиттеры как синаптические передатчики.* Эта функция классических нейротрансмиттеров, давшая им название, изучена наиболее полно и ее рассмотрение не входит в задачи настоящей статьи. Здесь представляется уместным еще раз подчеркнуть, что эти регуляторные вещества мультифункциональны как у взрослых организмов, так и на более ранних этапах индивидуального развития. Предполагается, что все дефинитивные функции классических нейротрансмиттеров, включая синаптическую, возникли на основе их более ранних (донервных) функций.

8. *Нейрональные и донервные нейротрансмиттеры как триггеры и регуляторы гаметогенеза — и так снова и снова.*

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предлагаемая схема универсальна (т. е. приложима к развитию любых животных, имеющих нервную систему) только как базовая схема и в каждом конкретном случае может нуждаться в определенных дополнениях. Например, некоторые животные проходят в своем развитии метаморфоз, сопровождающийся значительным или даже почти полным разрушением личиночной нервной системы и гибелью большого количества ненервных клеток [45]. В этом случае непосредственно за метаморфозом следует дополнительный как бы донервный период развития, что, безусловно, усложняет возрастную динамику нейротрансмиттерных функций. Действительно, в ряде случаев те или иные нейротрансмиттеры участвуют в запуске и регуляции метаморфоза, а следовательно, и в программируемой смерти клеток (апоптозе) ([1, 12, 41, 61, 90]; обзор более ранних работ см. [20, 26]). По-видимому, нейротрансмиттеры функционируют как регуляторы апоптоза и в тех случаях, когда развитие является прямым. О такой более универсальной функции донервных и нейрональных классических нейротрансмиттеров свидетельствуют данные, полученные при изучении роли 5-НТ как морфогена (см. выше), а также в опытах на взрослых животных [19, 55]. Экспериментальной моделью для изучения роли нейротрансмиттеров в апоптозе могут быть ранние (одноклеточные или дробящиеся) зародыши морских ежей. На этой модели показано, что ацетилхолин потенцирует, а 5-НТ предотвращает гибель клеток, вызванную активаторами протеинкиназы С [5, 13].

В скором времени могут потребоваться изменения и базовой схемы. Известно, что в период развития от оплодотворения до перехода одноклеточных зародышей на режим делений дробления происходят сильнейшие морфологические и биохимические изменения, в частности изменения цитоскелета, сегрегация цитоплазмы, запуск и активация макромолекулярных синтезов, мощные и закономерные колебания цитоплазматического уровня Ca^{2+} . Не вдаваясь в рассмотрение литературы, посвященной этим изменениям, отметим, что уже появились первые публикации, свидетельствующие о возможном участии донервных трансмиттеров в их регуляции [74, 75, 88]. Поэтому, быть может, придется включить новое звено между вторым и третьим звеньями базовой схемы.

Прогностические возможности предлагаемой схемы становятся очевидными и при изучении особенностей какого-либо из ее звеньев у различных животных. Например, роль донервных нейротрансмиттеров в запуске и регуляции делений дробления представляется универсальной. Она обнаружена у всех исследованных групп беспозвоночных и позвоночных, причем всегда осуществляется при посредстве внутриклеточных рецепторов. Есть все основания ожидать, что аналогичные данные будут получены на новых объектах, хотя и здесь возможны определенные отклонения от стандарта (например, у насекомых, где первые деления ядер идут без сопутствующих цитокинезов). В то же время функции донервных нейротрансмиттеров, связанные с

ранними межклеточными взаимодействиями, должны, как и сами эти взаимодействия, выглядеть совершенно по-разному у животных с регуляционным (иглокожие, позвоночные) и мозаичным (полихеты, моллюски, асцидии) типами раннего эмбриогенеза [20]. По-видимому, нейротрансмиттеры могут быть посредниками взаимодействий не только между дочерними бластомерами, но и между различными участками цитоплазмы внутри одной клетки [25]. У мозаичных зародышей с их чрезвычайно сегрегированной цитоплазмой это внутриклеточное посредничество может быть выражено особенно сильно и в значительной степени определять судьбу дочерних клеток еще до их формирования (что, разумеется, не исключает и функционального межклеточного взаимодействия) [20].

Не менее интересным и к тому же практически важным может оказаться изучение особенностей донервных нейротрансмиттерных процессов у плацентарных млекопитающих. Уже отмечалось, что источником нейротрансмиттеров здесь может быть материнский организм. Добавим, что такие экзогенные нейротрансмиттеры могут действовать как регуляторы доимплантационного развития через донервные 5-HT₂- и D₂-рецепторы, обнаруженные в клетках трофобласта, а после имплантации не только поступать в кровь зародышей, но и взаимодействовать с рецепторами плаценты [95, 96, 103].

Анализ всего цикла возрастных изменений нейротрансмиттерных функций позволяет по-новому подойти к обсуждению ряда важных вопросов нейробиологии. Это, в частности, вопрос о так называемой множественности нейротрансмиттеров, с констатации которой была начата настоящая статья. Вплоть до недавнего времени были распространены представления, согласно которым для полноценного функционирования нервной системы даже у высших животных был бы достаточен один нейротрансмиттер (критический обзор этих представлений см. [11]). Еще более избыточным представляется множественность нейротрансмиттеров и сопряженных с ними вторичных мессенджеров у ранних зародышей (особенно если учесть, что к настоящему времени, наверняка, идентифицированы далеко не все донервные нейротрансмиттеры).

Эта избыточность является кажущейся даже у одноклеточных зародышей — все донервные нейротрансмиттеры функционально активны и необходимы как для выживания зародышей, так и для их дальнейшего нормального развития. Функционально необходима и вся связанная с этой множественностью сложнейшая пространственно-временная организация донервного нейротрансмиттерного процесса, в том числе такие ее особенности, как существование внутриклеточных и мембранных рецепторов (а следовательно, и двух уровней трансдукции сигналов) или как транзиторные протосинапсы, появляющиеся и исчезающие в каждом из первых клеточных циклов. Более подробно об этом сказано в другой нашей работе [87].

Предполагается, что донервные нейротрансмиттерные системы — не только онтогенетические, но и филогенетические предшественники нейрональных систем. Рассмотренные возрастные изменения нейротрансмиттерных функций — от внутриклеточной регуляции и протосинаптической передачи у дробящихся зародышей до синаптической передачи у взрослых организмов — могут отражать изменения этих функций в процессе эволюции. Множественность нейротрансмиттеров у взрослых организмов будет в этом случае прямым следствием множественности донервных нейротрансмиттеров.

Разумеется, напрашивается вопрос о том, как возникла множественность нейротрансмиттеров у ранних зародышей. Этот вопрос является частью более общей проблемы происхождения нейротрансмиттеров и может обсуждаться пока чисто спекулятивно. Были предложены различные гипотезы возникновения нейротрансмиттерных систем в эволюции. Эти гипотезы, в том числе и наша собственная, рассмотрены в другой статье [87]. Здесь достаточно отметить только, что все они постулируют независимое возникновение множества будущих нейротрансмиттеров.

И в заключении, возвращаясь в вопросу о преемственности функций нейротрансмиттеров в онтогенезе, скажем, что для его изучения перспективно

применение молекулярно-биологических методов. В частности, ценные результаты могут быть получены при клонировании внутриклеточных и мембранных нейротрансмиттерных рецепторов на различных стадиях индивидуального развития.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты № 93-04-07374 и 96-04-49191) и Национального института здоровья (грант HD 22052).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Бузников Г. А. Низкомолекулярные регуляторы зародышевого развития. М. Наука. 1967.
- [2] Бузников Г. А. Нейротрансмиттеры в эмбриогенезе. М. Наука. 1987.
- [3] Бузников Г. А., Мальченко Л. А., Никитина Л. А., Галанов А. Ю., Еманов В. С. Действие нейротрансмиттеров и их антагонистов на созревание ооцитов. I. Влияние серотонина и его антагонистов на чувствительность ооцитов морских звезд к 1-метиляденину. Онтогенез. 21(5) : 530—536. 1990.
- [4] Бузников Г. А., Мальченко Л. А., Никитина Л. А., Галанов А. Ю., Погосян С. А., Папаян Г. Л., Еманов В. С. Действие нейротрансмиттеров и их антагонистов на созревание ооцитов. II. Влияние антагонистов серотонина на чувствительность ооцитов морской звезды к форсколину и иономицину. Онтогенез. 21(6) : 612—619. 1990.
- [5] Бузников Г. А., Мартынова Л. Е., Маршак Т. Л., Галанов А. Ю., Дунгенова Р. Е., Никитина Л. А., Милеуснич Р., Ракич Л. Действие активаторов и ингибиторов протеинкиназы С на ранних зародышах иглокожих. Онтогенез. 24(3) : 58—69. 1993.
- [6] Коштоянц Х. С. Белковые тела, обмен веществ и первая регуляция. М. Изд-во АН СССР. 1951.
- [7] Мартынова Л. Е. Гастроуляция у морского ежа *Strongylocentrotus drobachiensis* в норме и при обработке различными веществами. Онтогенез. 12(3) : 310—314. 1981.
- [8] Никитина Л. А., Бузников Г. А. Серотонин тормозит созревание ооцитов зеленої жабы, вызываемое форболовым эфиром. Онтогенез. 27(2) : 122—125. 1996.
- [9] Никитина Л. А., Мальченко Л. А., Теплиц Н. А., Бузников Г. А. Действие серотонина и его антагонистов на созревающие *in vitro* ооциты амфибий. Онтогенез. 19(5) : 499—507. 1988.
- [10] Ростомян М. А., Абрамян К. С., Бузников Г. А., Гусарева Э. В. Электронно-цитохимическое выявление аденилатциклизы у ранних эмбрионов морского ежа. Цитология. 27(8) : 877—881. 1985.
- [11] Сахаров Д. А. Множественность нейротрансмиттеров: функциональное значение. Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 26(5) : 733—740. 1990.
- [12] Avila C., Tamse C. T., Kuzirian A. M. Induction of metamorphosis in *Hermisenda crassicornis* larvae (Mollusca, Nudibranchia) by GABA, choline and serotonin. Invertebr. Reprod. Devel. 29(2) : 127—141. 1996.
- [13] Baccetti B., Burrini A. G., Colloidei G., Falugi C., Moretti E., Piomboni P. Receptor-like molecules in sperms of different animal species. Zygote. 3(3) : 207—217. 1995.
- [14] Baker M. W., Vohra M. M., Croll R. P. Serotonin depleters, 5,7-dihydroxytryptamine and p-chlorophenylalanine, cause sprouting in the CNS of the adult snail. Brain Res. 623(2) : 311—315. 1993.
- [15] Bodis J., Hartmann G., Torok A., Bognar Z., Tinneberg H. R., Cledon P., Hanf V. Relationship between the monoamine and gonadotropine contents in follicular fluid of preovulatory graafian follicles after superovulation treatment. Exp. Clin. Endocrinol. 101(2) : 178—182. 1993.
- [16] Bodis J., Tinneberg H. R., Torok A., Cledon P., Hanf V., Pappenfuss F. Effect of noradrenaline and dopamine on progesterone and estradiol secretion of human granulosa cells. Acta Endocrinol. 129(1) : 65—168. 1993.
- [17] Bodis J., Torok A., Tinneberg H. R., Hanf V., Hamori M., Cledon P. Influence of serotonin on progesterone and estradiol secretion of cultured human granulosa cells. Fertil. Steril. 57(5) : 1008—1011. 1992.
- [18] Brown K. M., Anitole K. G. Serotonin in early embryogenesis. Trends Comp. Biochem. Physiol. 1(2) : 281—288. 1993.
- [19] Burke W. J., Schmitt C. A., Gillespie K. N., Li S.W. Norepinephrine transmitter metabolite is a selective cell death messenger. Brain Res. 722(1—2) : 232—235.
- [20] Buznikov G. A. Neurotransmitters in embryogenesis. Harwood Acad. Press, Chur. 1990.
- [21] Buznikov G. A. The biogenic monoamines as regulators of early (pre-nervous) embryogene-

применение молекулярно-биологических методов. В частности, ценные результаты могут быть получены при клонировании внутриклеточных и мембранных нейротрансмиттерных рецепторов на различных стадиях индивидуального развития.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты № 93-04-07374 и 96-04-49191) и Национального института здоровья (грант HD 22052).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Бузников Г. А. Низкомолекулярные регуляторы зародышевого развития. М. Наука. 1967.
- [2] Бузников Г. А. Нейротрансмиттеры в эмбриогенезе. М. Наука. 1987.
- [3] Бузников Г. А., Мальченко Л. А., Никитина Л. А., Галанов А. Ю., Еманов В. С. Действие нейротрансмиттеров и их антагонистов на созревание ооцитов. I. Влияние серотонина и его антагонистов на чувствительность ооцитов морских звезд к 1-метиладенину. Онтогенез. 21(5): 530—536. 1990.
- [4] Бузников Г. А., Мальченко Л. А., Никитина Л. А., Галанов А. Ю., Погосян С. А., Папаян Г. Л., Еманов В. С. Действие нейротрансмиттеров и их антагонистов на созревание ооцитов. II. Влияние антагонистов серотонина на чувствительность ооцитов морской звезды к форсколину и иономицину. Онтогенез. 21(6): 612—619. 1990.
- [5] Бузников Г. А., Мартынова Л. Е., Маршак Т. Л., Галанов А. Ю., Дунгенова Р. Е., Никитина Л. А., Милеуснич Р., Ракич Л. Действие активаторов и ингибиторов протеинкиназы С на ранних зародышей иглокожих. Онтогенез. 24(3): 58—69. 1993.
- [6] Коштоянц Х. С. Белковые тела, обмен веществ и нервная регуляция. М. Изд-во АН СССР. 1951.
- [7] Мартынова Л. Е. Гаструляция у морского ежа *Strongylocentrotus drobachiensis* в норме и при обработке различными веществами. Онтогенез. 12(3): 310—314. 1981.
- [8] Никитина Л. А., Бузников Г. А. Серотонин тормозит созревание ооцитов зеленой жабы, вызываемое форболовым эфиром. Онтогенез. 27(2): 122—125. 1996.
- [9] Никитина Л. А., Мальченко Л. А., Теплиц Н. А., Бузников Г. А. Действие серотонина и его антагонистов на созревающие *in vitro* ооциты амфибий. Онтогенез. 19(5): 499—507. 1988.
- [10] Ростомян М. А., Абрамян К. С., Бузников Г. А., Гусарева Э. В. Электронно-цитохимическое выявление аденилатциклазы у ранних эмбрионов морского ежа. Цитология. 27(8): 877—881. 1985.
- [11] Сахаров Д. А. Множественность нейротрансмиттеров: функциональное значение. Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 26(5): 733—740. 1990.
- [12] Avila C., Tamse C. T., Kuzirian A. M. Induction of metamorphosis in *Hermisenda crassicornis* larvae (Mollusca, Nudibranchia) by GABA, choline and serotonin. Invertebr. Reprod. Devel. 29(2): 127—141. 1996.
- [13] Baccetti B., Burrini A. G., Collodei G., Falugi C., Moretti E., Piomboni P. Receptor-like molecules in sperms of different animal species. Zygote. 3(3): 207—217. 1995.
- [14] Baker M. W., Vohra M. M., Croll R. P. Serotonin depletors, 5,7-dihydroxytryptamine and p-chlorophenylalanine, cause sprouting in the CNS of the adult snail. Brain Res. 623(2): 311—315. 1993.
- [15] Bodis J., Hartmann G., Torok A., Bognar Z., Tinneberg H. R., Cledon P., Hanf V. Relationship between the monoamine and gonadotropine contents in follicular fluid of preovulatory graafian follicles after superovulation treatment. Exp. Clin. Endocrinol. 101(2): 178—182. 1993.
- [16] Bodis J., Tinneberg H. R., Torok A., Cledon P., Hanf V., Pappenfuss F. Effect of noradrenaline and dopamine on progesterone and estradiol secretion of human granulosa cells. Acta Endocrinol. 129(1): 65—168. 1993.
- [17] Bodis J., Torok A., Tinneberg H. R., Hanf V., Hamori M., Cledon P. Influence of serotonin on progesterone and estradiol secretion of cultured human granulosa cells. Fertil. Steril. 57(5): 1008—1011. 1992.
- [18] Brown K. M., Anitole K. G. Serotonin in early embryogenesis. Trends Comp. Biochem. Physiol. 1(2): 281—288. 1993.
- [19] Burke W. J., Schmitt C. A., Gillespie K. N., Li S.W. Norepinephrine transmitter metabolite is a selective cell death messenger. Brain Res. 722(1—2): 232—235.
- [20] Buznikov G. A. Neurotransmitters in embryogenesis. Harwood Acad. Press, Chur. 1990.
- [21] Buznikov G. A. The biogenic monoamines as regulators of early (pre-nervous) embryoge-

nesis: new data. In: Plasticity and regeneration of the nervous system. Eds P. S. Timiras, A. Privat, E. Giacobini, I. Lauder. N. Y., London. Plenum Press. 1991.

[22] Buznikov G. A., Koikov L. N., Shmukler Yu. B., Whitaker M. J. Nicotinic antagonists (piperidines and quinuclidines) reduce the susceptibility of early sea urchin embryos to agents evoking calcium shock. *Gen. Pharmacol.* 29(1) : 49—53. 1997.

[23] Buznikov G. A., Marshak T. L., Malchenko L. A., Nikitina L. A., Shmukler Yu. B., Buznikov A. G., Rakic Lj., Whitaker M. J. Serotonin and acetylcholine modulate the sensitivity of early sea urchin embryos to protein kinase C activators. *Comp. Biochem. Physiol. OOC* () : 000—000. 1997.

[24] Buznikov G. A., Nikitina L. A., Galanov A. Yu., Malchenko L. A., Trubnikova O. B. The control of oocyte maturation in the starfish and amphibians by serotonin and its antagonists. *Int. J. Dev. Biol.* 37(2) : 363—364. 1993.

[25] Buznikov G. A., Shmukler Yu. B. The possible role of prenervous neurotransmitters in cellular interactions of early embryogenesis: a hypothesis. *Neurochem. Res.* 6(1) : 55—69. 1981.

[26] Buznikov G. A., Shmukler Yu. B., Lauder J. M. From oocyte to neuron: do neurotransmitters function in the same way throughout development? *Cell. Molec. Neurobiol.* 16(5) : 532—559. 1996.

[27] Capasso A., Creti P., De Petrocellis B., De Prisco P., Parisi E. Role of dopamine and indolamine derivatives in the regulation of sea urchin adenylate cyclase. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 154 (2) : 758—764. 1988.

[28] Capasso A., Parisi E., De Prisco P., De Petrocellis B. Catecholamine secretion and adenylate cyclase activation in sea urchin eggs. *Cell Biol. Int. Rep.* 11(6) : 457—463. 1987.

[29] Carginale V., Borrelli L., Capasso A., Parisi E. Changes in dopamine uptake and developmental effects of dopamine receptor inactivation in the sea urchin. *Molec. Reprod. Develop.* 40(3) : 379—385. 1995.

[30] Carnevali M. D. C., Bonasoro F., Invernizzi R., Lucca E., Welsch U., Thorndyke M. C. Tissue distribution of monoamine neurotransmitters in normal and regenerating arms of the feather star Antedon mediterranea. *Cell. Tissue Res.* 285(2) : 341—352. 1996.

[31] Cerda J., Petrino T. R., Lin Y. W. P., Wallace R. A. Inhibition of *Fundulus heteroclitus* oocyte maturation *in vitro* by serotonin (5-hydroxytryptamine). *J. Exp. Zool.* 273(3) : 224—233. 1995.

[32] Christopher K. J., Chang J. P., Goldberg J. I. Stimulation of ciliary beat frequency by serotonin is mediated by a Ca^{2+} influx in ciliated cells of *Helisoma trivolvis*. *J. Exp. Biol.* 199(5) : 1105—1113. 1996.

[33] Dascal N., Landau E., Lass Y. Xenopus oocyte resting potential, muscarinic responses and the role of calcium and guanosine 3',5'-cyclic monophosphate. *J. Physiol. (L.)* 352 : 551—574. 1984.

[34] Dautov S. S., Nezlin L. P. Nervous system of the *Tornaria* larva (Hemichordata: Enteropneusta). A histochemical and ultra-structural study. *Biol. Bull.* 183 (3) : 463—475. 1992.

[35] Deguchi R., Osanai K. Serotonin-induced meiosis reinitiation from the first prophase and from the first metaphase in oocytes of the marine bivalve *Hiatella flaccida*: Respective changes in intracellular Ca^{2+} and pH. *Develop. Biol.* 171(2) : 483—496. 1995.

[36] Durocher Y., Guerrier P. Activation of an 85 kDa ribosomal S6 kinase during serotonin-induced oocyte maturation. *Int. J. Develop. Biol.* 40(3) : 557—566. 1996.

[37] Emanuelsson H. Autoradiographic localization in polychaete embryos of ritiated mesulergine, a selective antagonist of serotoninreceptors that inhibits early polychaete development. *Int. J. Develop. Biol.* 36(2) : 293—302. 1992.

[38] Emanuelsson H., Carlberg M., Lowkvist B. Presence of serotonin in early chick embryos. *Cell. Deff.* 24(1) : 191—200. 1988.

[39] Epstein C. J. Aneuploidy and morphogenesis. In: The Morphogenesis of down syndrome. Ed. C. J. Epstein. N. Y. Wiley-Liss. 1991.

[40] Ernsberger U., Rohrer H. The development of the noradrenergic transmitter phenotype in postganglionic sympathetic neurons. *Neurochem. Res.* 21(7) : 823—829. 1996.

[41] Falugi C. Localization and possible role of molecules associated with the cholinergic system during «non-nervous» developmental events. *Eur. J. Histochem.* 37(4) : 287—294. 1993.

[42] Falugi C., Prestipino G. Localization of putative nicotinic cholinoreceptors in the early development of *Paracentrotus lividus*. *Cell. Molec. Biol.* 35(2) : 147—161. 1989.

[43] Fong P. P., Kyozuka K., Abdelghani H., Hardege J. D., Ram J. L. *In vivo* and *in vitro* induction of germinal vesicle breakdown in a freshwater bivalve, the zebra mussel *Dreissena polymorpha* (Pallas). *J. Exp. Zool.* 269(5) : 467—474. 1994.

[44] Fong P. P., Wade S., Rostafin M. Characterization of serotonin receptor mediating partu-

rition in fingernail clams *Sphaerium* (*Musculium*) Spp from eastern North America. *J. Exp. Zool.* 275(4): 326—330. 1996.

[45] *Gilbert S. F.* Developmental biology. Sunderland, USA. Sinauer Assoc. Inc Publ. 1994.

[46] *Godin I., Gipouloux J. D.* Notochordal catecholamines in exogastrulated *Xenopus* embryos. *Develop. Growth Diff.* 28(2) : 137—142. 1986.

[47] *Goldberg J. I., Koehncke N. K., Christopher K. J., Neumann C., Diefenbach T. J.* Pharmacological characterization of a serotonin receptor involved in an early embryonic behaviour of *Helisoma trivolis*. *J. Neurobiol.* 25(12) : 1545—1557. 1994.

[48] *Guerrier P., Leclerc-David C., Moreau M.* Evidence for the involvement of internal calcium stores during serotonin-induced meiosis reinitiation in oocytes of the bivalve mollusc *Ruditapes philippinarum*. *Develop. Biol.* 159(2) : 474—484. 1993.

[49] *Gurdon J. B., Mitchell A., Ryan K.* An experimental system for analyzing response to a morphogen gradient. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 93(18) : 9334—9338. 1996.

[50] *Gustafson T.* Pharmacological control of muscular activity of the sea urchin larva. IV. Effects of monoamines and adenosine. *Comp. Biochem. Physiol.* 98C(2) : 307—315. 1991.

[51] *Gustafson T., Toneby M.* On the role of serotonin and acetylcholine in sea urchin morphogenesis. *Exp. Cell Res.* 62(1) : 102—117. 1970.

[52] *Hellendall R. P., Shambra U., Liu J., Lauder J. M.* Prenatal expression of 5-HT_{1C} and 5-HT₂ receptors in the developing nervous system. *Exp. Neurol.* 120(2) : 186—201. 1993.

[53] *Ivgy-May N., Tamir H., Gershon M. D.* Synaptic properties of serotonergic growth cones in developing rat brain. *J. Neurosci.* 14(3, Pt 1) : 1011—1029. 1994.

[54] *Jaffe L.* First messengers at fertilization. *J. Reprod. Fert. Syppl.* 42 : 107—116. 1990.

[55] *Josefsson E., Bergquist J., Ekman R., Tarkowski A.* Catecholamines are synthesized in mouse lymphocytes and regulate function of apoptosis. *Immunology.* 88(1) : 140—146. 1996.

[56] *Juneja R., Ito E., Koide S. S.* Effect of serotonin and tricyclic antidepressants on intracellular calcium concentrations in *Spisula* oocytes. *Cell Calcium.* 15(1) : 1—6. 1994.

[57] *Krantic S., Guerrier P., Dube F.* Meiosis reinitiation in surf clam oocytes is mediated via a 5-hydroxytryptamine membrane receptor and a vitelline envelope-associated high affinity binding site. *J. Biol. Chem.* 268(1) : 7983—7989. 1993.

[58] *Laasberg T.* Ca²⁺-mobilizing receptors of gastrulating chick embryo. *Comp. Biochem. Physiol.* 97C(1) : 9—12. 1990.

[59] *Lauder J. M.* Neurotransmitters as morphogens. *Progr. Brain Res.* 73 : 365—387. 1988.

[60] *Lauder J. M.* Ontogeny of the serotonergic system in the rat. Serotonin as a developmental signal. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 600 : 297—314. 1990.

[61] *Lauder J. M.* Neurotransmitters as growth regulatory signals: role of receptors and second messengers. *Trends Neurosci.* 16(6) : 233—240. 1993.

[62] *Lauder J. M., Liu J.* Glial heterogeneity and developing neurotransmitter systems. *Persp. Develop. Neurobiol.* 2(3) : 239—250. 1994.

[63] *Lauder J. M., Moiseiwitsch J., Liu J., Wilkie M. B.* Serotonin in development and pathophysiology. Eds H. C. Lou, G. Grisen, J. Larsen. In: *Brain lesions in the newborn*, Munksgaard, Copenhagen, pp. 60—72, 1994.

[64] *Lauder J. M., Tamir H., Sadler T. W.* Serotonin and morphogenesis I. Sites of serotonin uptake and binding protein immunoreactivity in the midgestation mouse embryo. *Development.* 102(4) : 709—720. 1988.

[65] *Lawrence Y. M., Cuthbertson K. S. R.* Thapsigargin induces cytoplasmic free Ca²⁺ oscillations in mouse oocytes. *Cell Calcium.* 17(2) : 154—164. 1995.

[66] *Lipinsky D., Nussenzeig D. R., Gershengorn M. C., Oron Y.* Desensitization of the response to thyrotropin releasing hormone in *Xenopus* oocytes is an amplified process that precedes calcium mobilization. *Pflügers Arch.-Eur. J. Physiol.* 429(3) : 419—425. 1995.

[67] *Liu J., Lauder J. M.* S-100β and insulin-like growth factor-II differentially regulate growth of developing serotonin and dopamine neurons in vitro. *J. Neurosci. Res.* 33(2) : 248—256. 1992.

[68] *Malinger G., Zakut H., Soreq H.* Cholinceptive properties of human primordial, preantral, and antral oocytes: in situ hybridization and biochemical evidence for expression of cholinesterase genes. *J. Mol. Neurosci.* 1(2) : 77—84. 1989.

[69] *Markova L. N., Buznikov G. A., Kovacevic N., Rakic L., Salimova N. B., Volina E. V.* Histochemical study of biogenic monoamines in early (prenervous) and late embryos of sea urchins. *Int. J. Develop. Neurosci.* 3(5) : 493—500. 1985.

[70] *Misamore M., Silverman H., Lynn J. W.* Analysis of fertilization and polyspermy in serotonin-spawned eggs of the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*. *Molec. Reprod. Develop.* 43(2) : 205—216. 1996.

- [71] Moiseiwitsch J. R. D., Lauder J. M. *In vitro* effects of serotonergic drugs on expression of S-100 β and tenascin. *Teratology*. 47(5) : 383. 1993.
- [72] Moiseiwitsch J. R. D., Lauder J. M. Serotonin regulates mouse cranial neural crest migration. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 92(16) : 7182—7186. 1995.
- [73] Moiseiwitsch J. R. D., Lauder J. M. Stimulation of murine tooth development in organotypic culture by the neurotransmitter serotonin. *Arch. Oral Biol.* 41(2) : 161—165. 1996.
- [74] Nicotra A., Schatten G. Propranolol, a beta-adrenergic receptor blocker, affects microfilament organization, but not microtubules, during the first division in sea urchin eggs. *Cell Motil. Cytoskel.* 16(1) : 182—189. 1990.
- [75] Nicotra A., Schatten G. Propranolol induces polyspermy during sea urchin fertilization. *Molec. Reprod. Develop.* 43(3) : 387—391. 1996.
- [76] Nikitina L. A., Buznikov G. A., Lauder J. M. Putative role of serotonin in the maturation of amphibian oocytes. *Soc. Neurosci.*, 25th Ann. Meet. 2 : 862. San Diego, California. 1995.
- [77] Palen K., Thorneby L., Emanuelsson H. Effects of serotonin and serotonin antagonists on chick embryogenesis. *W. Roux's Arch.* 187 : 89—103. 1979.
- [78] Prasad P. D., Hoffmans B. J., Moe A. J., Smith C. H., Leibach F. H., Ganapathy V. Functional expression of the plasma membrane serotonin transporter but not the vesicular monoamine transporter in human placental trophoblasts and choriocarcinoma cells. *Placenta*. 17(4) : 201—207. 1996.
- [79] Reinoso B. S., Undie A. S., Levitt P. Dopamine receptors mediate differential morphological effects in cerebral cortical neurons in vitro. *J. Neurosci. Res.* 43(4) : 439—453. 1996.
- [80] Renaud F., Parisi E., Capasso A., De Prisco. On the role of serotonin and 5-methoxytryptamine in the regulation of cell division in sea urchin eggs. *Develop. Biol.* 98(1) : 37—47. 1983.
- [81] Reuter M., Gustafsson M. Neuronal signal substances in asexual multiplication and development in flatworms. *Cell. Molec. Neurobiol.* 16(5) : 591—616. 1996.
- [82] Rowe S. J., Messenger N. J., Warner A. E. The role of noradrenaline in the differentiation of amphibian embryonic neurons. *Development*. 19(4) : 1343—1357. 1993.
- [83] Ruiz I., Altaba A. Pattern formation in the vertebrate neural plate. *Trends Neurosci.* 17(6) : 233—243. 1994.
- [84] Schmidt U., Beyer C., Destreicher A. B., Reisert I., Shilling K., Pilgrim C. Activation of dopaminergic D-1 receptors promotes morphogenesis of developing striatal neurons. *Neuroscience*. 74(2) : 453—460. 1996.
- [85] Shilling F. M., Carroll D. J., Muslin A. J., Escobedo J. A., Williams L. T., Jaffe L. A. Evidence for both tyrosine kinase and G-protein-coupled pathways leading to starfish egg activation. *Develop. Biol.* 162(2) : 590—599. 1994.
- [86] Shmukler Yu. B. Possibility of membrane reception of neurotransmitter in sea urchin early embryos. *Comp. Biochem. Physiol.* 106C(1) : 269—273. 1993.
- [87] Shmukler Yu. B., Buznikov G. A. Functional coupling of neurotransmitters with second messengers during cleavage divisions: facts and hypotheses. *Perspectives Develop. Neurobiol.* 00(0) : 000—000. 1997.
- [88] Shmukler Yu. B., Buznikov G. A., Whitaker M. J. The effect of serotonergic substances on free calcium ion concentrations in the early *Lytechinus pictus* embryos. *Congr. Eur. Develop. Biol. Org.* Toulouse, France. 1995.
- [89] Shuey D. L., Sadler T. W., Lauder J. M. Serotonin as a regulator of craniofacial morphogenesis. Site specific malformations following exposure to serotonin uptake inhibitors. *Teratology*. 46(4) : 367—378. 1992.
- [90] Shuey D. L., Sadler T. W., Tamir H., Lauder J. M. Serotonin and morphogenesis. II. Transient expression of serotonin uptake and binding protein during craniofacial morphogenesis in the mouse. *Anat. Embryol.* 187(1) : 75—85. 1993.
- [91] Tamir H., Gershon M. D. Serotonin-storing secretory vesicles. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 600 : 53—67. 1990.
- [92] Toth M., Benjamin D., Shenk T. Targeted disruption of the 5-HT₂ receptor results in developmental abnormalities in mice. Abst. IUPHAR Third Satellite Meeting on Serotonin. 1994.
- [93] Turlejski K. Evolutionary ancient role of serotonin: long-lasting regulation of activity and development. *Acta Neurobiol. Exp.* 56(2) : 619—636. 1996.
- [94] Ueda S., Gu X. F., Whitaker-Azmitia P. M., Naruse I., Azmitia E. C. Neuro-glial neurotrophic interaction in the S-100 β retarded mutant mouse (Polydactyl Nagoya). I. Immuno-cytocochemical and neurochemical studies. *Brain Res.* 633(1—2) : 275—283. 1994.

monophosphate (cAMP) production in human term trophoblastic cells. Life Sci. 55(20) : 1545—1552. 1994.

[96]Vallancourt C., Petit A., Gallo Payet N., Bellabarba D., Lehoux J. G., Belisle S. Labeling of D₂-dopaminergic and 5-HT₂-serotonergic binding sites in human trophoblastic cells using [³H]-spiperone. J. Recept. Res. 14(1) : 11—22. 1994.

[97]Vernadakis A. Glia-neuron intercommunication and synaptic plasticity. Progr. Neurobiol. 49(3) : 185—214. 1996.

[98]Wallace J. A. Monoamines in the early chick embryo: demonstration of serotonin synthesis and the regional distribution of serotonin-concentrating cells during morphogenesis. Amer. J. Anat. 165(3) : 261—276. 1982.

[99]Walther M., Ulrich R., Kroher M., Berking S. Metamorphosis and pattern formation in *Hydractinia echinata*, a colonial hydroid. Int. J. Develop. Biol. 40(1) : 313—322. 1996.

[100]Webb S., Anderson R. A., Brown N. A. Mouse trisomy 16 model of heart defects in Down syndrome: atrioventricular cushion cells and volumes. Teratology. 49(5) : 373, 1994.

[101]Whitaker-Azmitia P. M., Druse M., Walker P., Lauder J. M. Serotonin as a developmental signal. Behav. Brain Res. 73(1—2) : 19—29. 1995.

[102]Whitaker-Azmitia P. M., Shemer A. V., Caruso J., Molino L., Azmitia E. C. Role of high affinity serotonin receptors in neuronal growth. Ann. N. Y. Acad. Sci. 600 : 315—330. 1990.

[103]Yavarone M. S., Shuey D. L., Sadler T. W., Lauder J. M. Serotonin uptake in the ectoplacental cone and placenta of the mouse. Placenta. 14(2) : 149—161. 1993.

[104]Yavarone M. S., Shuey D. L., Tamir H., Sadler T. W., Lauder J. M. Serotonin and cardiac morphogenesis in the mouse embryo. Teratology. 47(6) : 573—584. 1993.

[105]Yazaki I., Tosti E., Dale B. Cytoskeletal elements link calcium channel activity and the cell cycle in early sea urchin embryos. Development. 121(6) : 1827—1831. 1995.