

КОГНИТИВНАЯ НАУКА В МОСКВЕ 2015

**КОГНИТИВНАЯ НАУКА
В МОСКВЕ: НОВЫЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ**

**МАТЕРИАЛЫ
КОНФЕРЕНЦИИ**



2015

Под ред. Е.В. Печенковой, М.В. Фаликман

ISBN 978-5-4465-0705-4



9 785446 507054 >

НЕЙРОМЕДИАТОРНОЕ ПРОГРАММИРОВАНИЕ «ПСИХОТИПА» НА СТАДИИ ЯЙЦЕКЛЕТКИ? ПРОСТЫЕ НЕРВНЫЕ МОДЕЛИ СВИДЕТЕЛЬСТВУЮТ⁵²

Хабарова М.Ю. (1), Воронежская Е.Е. * (1), Мельникова В.И. (1),
Харченко О.А. (1), Ивашкин Е.Г. (2)

lenavor@gmail.com

1 – Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН,

2 – ФГБНУ Научный центр неврологии

Аннотация. Характер двигательной активности является базовой составляющей психотипа. Хотя паттерны активности имеют генетическую предрасположенность, они пластичны в развитии. Адаптации, формирующиеся на самых ранних стадиях развития и имеющие негенетическую основу, называются материнскими эффектами. На модели моллюсков и рыб мы показали, что уровень серотонина в репродуктивной системе матери определяет динамику развития, выживаемость и поведение потомков вплоть до второго поколения. В основе механизма такой долговременной модификации лежит серотонилирование, которое происходит в бластомерах при высоком содержании серотонина и активации мембранных рецепторов. Таким образом, у зародыша уже в организме матери формируется приспособленность к условиям среды, с которой он встретится только в будущем, после рождения или вылупления.

Ключевые слова: материнские эффекты, серотонин, сезонные осцилляции, моллюски, серотонилирование

Типологические особенности психики — «психотип» — лежат в основе как простых поведенческих программ, так и высших когнитивных процессов. В настоящее время активно разрабатываются экспериментальные подходы, позволяющие приблизиться к пониманию причин и механизмов передачи психологических свойств от родителей к детям. Наиболее состоятельными на данном этапе являются генетические или эпигенетические подходы к наследованию базовых свойств психики, влиянию на формирование поведения факторов внешней среды. Достоверно показано, например, что разные уровни материнской заботы (Weaver et al., 2004), диета взрослой самки (Waterland, Jirtle, 2003), сочетанные с запахом травмирующие переживания у самцов (Dias, Ressler, 2014) вызывают метилирование определенных участков ДНК, модифицирующее фенотип и поведение потомков. С другой стороны, не подлежит сомнению, что формирующиеся свойства психики пластически перестраиваются в процессе

⁵² Работа поддержана грантами РФФИ № 15-04-07573, 14-04-32027.

воспитания, собственного опыта, адаптации в социуме и т.п. Эти два уровня — генетический и социокультурный — значительно разнесены во времени. На промежуточном этапе, во время эмбрионального развития, генетические свойства уже определены, а влияние социума минимально. Именно в этот период, начиная с оплодотворенной яйцеклетки и до процесса рождения (или вылупления), значимым каналом информации является химическое окружение зародыша. В случае внутриутробного развития химическая коммуникация между матерью и зародышем сопровождает весь процесс эмбриогенеза, в других случаях такая коммуникация возможна только на начальных этапах формирования зародыша. Какие же из множества приходящих от матери химических стимулов могут оказывать долговременный, отсроченный эффект? Могут ли они предопределять спектр поведенческих реакций молодой особи, программируя таким образом психотип потомка?

Еще в конце 50-х – начале 60-х годов XX века было обнаружено, что некоторые моноамины и другие низкомолекулярные вещества, являющиеся во взрослом организме передатчиками нервных импульсов — нейромедиаторами, — присутствуют уже на стадиях раннего развития, задолго до появления нервной системы (Бузников, Манухин, 1961). Такие вещества, как дофамин, норадреналин, серотонин, содержатся в ооцитах и дробящихся эмбрионах животных самой разной систематической принадлежности (Бузников, 1987; Vuznikov et al., 2001). В дальнейшем в регуляции развития стала рассматриваться роль всей моноаминергической системы, включающей как сами медиаторы и их предшественники, так и ферменты синтеза и деградации медиаторов, их транспортеры и рецепторы. Одновременно с этим направлением исследований формировалась концепция трансмиссивно-зависимого поведения взрослых особей (Сахаров, 1990, 2012), когда повышение уровня определенного медиатора приводит к запуску комплекса связанных между собой поведенческих программ. Так, серотонин активизирует моторные программы локомоции, захвата и поглощения пищи, а также сопутствующие им вегетативные программы (например сердцебиение) (Дьяконова, 2012). Подавляющее большинство этих работ было выполнено на беспозвоночных или низших позвоночных животных, которые обладают набором простых поведенческих программ, а строение их нервной системы позволяет проводить анализ поведения на уровне идентифицированных нервных клеток и клеточных ансамблей.

В наших экспериментах мы попытались выяснить, связаны ли между собой уровень серотонина на стадиях яйцеклетки и раннего дробления (задолго до появления нервной системы) и степень проявления серотонин-зависимых моторных программ. Для этой цели мы использовали пресноводных моллюсков (большой прудовик, *Lymnaea stagnalis*) и костистых рыб (данио, *Brachidanio rerio*). Эмбриогенез этих животных

подробно изучен, описано формирование нервной системы, становление различных поведенческих программ и их медиаторная зависимость. Отработаны способы иммунохимического выявления серотонина в индивидуальных клетках, методики фармакологического воздействия и регистрации поведенческих паттернов. Эти методологические наработки позволили нам выявить разницу в поведении между нормальными (контрольными) животными и особями с измененным уровнем серотонина. Сначала мы показали, что у обоих выбранных объектов серотонин содержится в клетках, начиная со стадии яйцеклетки. При этом с самого начала эмбриогенеза присутствуют и функционально активны все компоненты серотонинергической системы. Активно осуществляется захват серотонина из окружающей среды, его транспорт, синтез из биохимических предшественников, экспрессируются мембранные рецепторы (Voronezhskaya et al., 2012). Чтобы изменить уровень серотонина (5-НТ) внутри клеток у раннего развивающегося зародыша, мы или блокировали его синтез, снижая таким образом содержание медиатора, или активировали, давая непосредственный биохимический предшественник (5-НТР). Воздействие оказывалось как непосредственно на дробящиеся зародыши (самые ранние стадии развития), так и на половозрелых особей (матерей). Во втором случае от экспериментальных животных собирались яйца, которые в дальнейшем развивались без какого-либо воздействия. Все эксперименты проводились на генетически сходных зародышах, полученных из одной кладки, каждый эксперимент повторялся не менее трех раз с использованием не менее 5 повторов экспериментальных групп, число особей в каждой экспериментальной группе было 25–40. Следует подчеркнуть, что оба экспериментальных подхода моделируют активность серотонинергической системы родителей, потому что и у моллюсков, и у рыб серотонин внутрь яйцеклетки может попасть только из окружающих тканей организма матери.

Интересно, что снижение уровня серотонина не приводило ни к каким существенным изменениям ни в развитии, ни в моторике развивающихся зародышей, ни в поведении ювенильных особей. Напротив, повышение серотонина внутри яйцеклетки и в период дробления направленно изменяло разворачивающиеся в развитии моторные программы. Так, у зародышей прудовиков существенно (в 1.5–1.7 раза) повышалась скорость вращения в яйце, вызываемая биением ресничек ($n = 90$). Вылупившиеся из яйца ювенильные моллюски проявляли значимые компоненты программы расселения: скорость ползания превышала движение контрольных особей в 1.7–2 раза ($n = 130–150$), чаще использовалась мышечная локомоция (*terrestrial locomotion*), более 50 % особей выползали над поверхностью воды на расстояние, в несколько десятков раз превышающее размер ювенильного моллюска ($n = 60$). Этот комплекс поведения

сохранялся в течение месяца после вылупления, а некоторые его компоненты (повышенная скорость локомоции) проявлялись даже у второго поколения экспериментальных животных ($n = 180$). У личинок данио с повышенным уровнем серотонина на стадиях дробления скорость плавания экспериментальных 2-х и 4-х дневных мальков не отличалась от скорости плавания контрольных ($n = 80$). Однако в то время как контрольные мальки в ответ на тактильный стимул совершали лишь несколько плавательных движений и эта реакция достаточно быстро угасала, экспериментальные животные реагировали на такой же стимул более длительным интервалом плавания с низкой скоростью угасания ($n = 72$). Все перечисленные параметры локомоции хорошо изучены и являются компонентами серотонин-зависимого поведения.

Фармакологические эксперименты и биохимический анализ тканей зародышей позволили нам предположить возможный механизм, лежащий в основе отставленных, длительных модуляций серотонинергической системы у ювенильных особей, происходящих у них при изменении уровня серотонина на стадии яйцеклетки и раннего дробления. Мы показали, что серотонин не только синтезируется внутри бластомеров и захватывается ими из окружающей среды, но и активно выбрасывается наружу. В свою очередь, активация мембранных рецепторов запускает цАМФ-зависимый каскад внутриклеточных реакций, приводящий к долговременным изменениям внутри бластомеров. Одним из таких возможных изменений является посттрансляционная модификация белков. В нашем случае это специфическое ковалентное связывание серотонина с белками, происходящее при активации фермента транскламиназы — серотонилирование (Hummerich et al., 2012; Muma, Mi, 2015). Серотонилирование является необратимым и сохраняется значительное время, до момента деградации белка протеасомами. Наши эксперименты выявили, что серотонилирование действительно происходит и существенно усиливается именно на стадиях раннего дробления, при условиях, описанных нами выше. Серотонилированные белки присутствуют также и на более поздних стадиях, когда начинает формироваться нервная система, но их профиль существенно не меняется при повышении внутриклеточного серотонина и активации рецепторов (три эксперимента, для каждой из пяти экспериментальных групп использовано 600–800 зародышей). Прямое измерение количества серотонина показало, что его достоверно больше (на 40–60 %, $p < .005$) у ювенильных особей прудовиков, у матерей которых серотонин экспериментально был повышен. У данио, серотонин которых был экспериментально повышен на ранних стадиях дробления, серотонинергические клетки в определенных зонах мозга появлялись на два дня позже, чем у контрольных особей ($n = 15$). Следует отметить, что полученные в эксперименте изменения серотонин-зависимого поведения

совпадают с наблюдаемыми нами естественными сезонными модуляциями. Так, в летний период наиболее ярко выражены все компоненты расселительного поведения ювенильных прудовиков ($n = 140-160$). И именно в этот период уровень серотонина в половых путях материулитки является максимальным ($n = 27$). А минимальный уровень моторной активности ювенилей, наблюдаемый осенью ($n = 120-140$), коррелирует с наименьшим уровнем серотонина у матерей ($n = 27$). В настоящее время мы даже не можем предположить, через какое множество внутри- и межклеточных взаимодействий связаны между собой серотонилирование в раннем дроблении и изменение серотонин-зависимых программ ювенильных особей. Однако наши эксперименты однозначно показывают, что серотонин участвует в реализации длительных, отставленных эффектов, выполняя роль интегратора физиологических процессов на разных стадиях развития. А для реализации этих эффектов на уровне поведения ювенильного животного существенное значение имеет баланс уровня серотонина внутри и снаружи клеток уже на стадии яйцеклетки и раннего дробления.

Уровень или степень реализации моторных программ является одной из базовых частей, характеризующих психотип. Разумеется, остается вопрос о том, можно ли применять само понятие «психотип» к низшим позвоночным и уж тем более к беспозвоночным животным? Но аналогии вполне допустимы. Так, можно провести смелое сравнение между активной моторикой при расселении ювенильных моллюсков и возникающей гиперактивностью детей. Если помнить, что в основе психотипа лежит совокупность физиологических процессов возбуждения и торможения, то именно простые нервные модели дают нам уникальную возможность исследовать клеточные и молекулярные механизмы его формирования, начиная со стадии яйцеклетки.

Литература

- Бузников Г. Нейротрансмиттеры в эмбриогенезе. М.: Наука, 1987.
- Бузников Г., Манухин Б. Серотонин-подобные вещества в эмбриогенезе некоторых брюхоногих моллюсков // Журнал общей биологии. 1961. Т. 22. С. 223–229.
- Дьяконова В. Нейротрансмиттерные механизмы контекст-зависимого поведения // Журнал высшей нервной деятельности. 2012. Т. 62. № 6. С. 1–17.
- Сахаров Д. Биологический субстрат генерации поведенческих актов // Журнал общей биологии. 2012. Т. 73. № 5. С. 334–348.
- Сахаров Д.А. Множественность нейротрансмиттеров: функциональное значение // Журнал эвол. биохим. физиол. 1990. Т. 26. № 5. С. 733–741.

- Buznikov G.A., Lambert W.H., Lauder J.M.* Serotonin and serotonin-like substances as regulators of early embryogenesis and morphogenesis // *Cell and tissue research*. 2001. Vol. 305. No. 2. P. 177–186.
- Dias B.G., Ressler K.J.* Parental olfactory experience influences behavior and neural structure in subsequent generations // *Nature neuroscience*. 2014. Vol. 17. No. 1. P. 89–96.
- Hummerich R., Thumfart Jö.-O., Findeisen P., Bartsch D., Schloss P.* Transglutaminase-mediated transamidation of serotonin, dopamine and noradrenaline to fibronectin: evidence for a general mechanism of monoamination // *FEBS letters*. 2012. Vol. 586. No. 19. P. 3421–3428.
- Muma N.A., Mi Z.* Serotonylation and transamidation of other monoamines // *ACS Chemical Neuroscience*. 2015. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25615632>.
- Voronezhskaya E.E., Khabarova M.Y., Nezhlin L., Ivashkin E.* Delayed action of serotonin in molluscan development // *Acta Biologica Hungarica*. 2012. Vol. 63. P. 210–216.
- Waterland R.A., Jirtle R.L.* Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation // *Molecular and cellular biology*. 2003. Vol. 23. No. 15. P. 5293–5300.
- Weaver I.C., Cervoni N., Champagne F.A., D'Alessio A.C., Sharma S., Seckl J.R., Dymov S., Szyf M., Meaney M.J.* Epigenetic programming by maternal behavior // *Nature neuroscience*. 2004. Vol. 7. No. 8. P. 847–854.

Can Neurotransmitters Program “Psycho-Type” At The Oocyte Developmental Stage? Evidences From a Simple Neural Model

Khabarova M.Yu. (1) , Voronezhskaya E.E. *(1), Melnikova V.I. (1) ,
Kharchenko O.A. (1), Ivashkin E.G. (2)

lenavor@gmail.com

1 — Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences,
2 — Department of Experimental Neurocytology, Brain Research Branch,
Scientific Centre of Neurology, Russian Academy of Medical Sciences

Abstract. Locomotor activity is one of the basic features of psycho-type. Although activity patterns are determined genetically, they are characterized by developmental plasticity. Non-genetic adaptations formed at very early developmental stages are called maternal effects. On the snail and fish experimental models, we demonstrated that the serotonin level in maternal reproductive systems determines the dynamics of development, survival and behavior of progeny up to the second generation. One of the mechanisms of such long-term modification is the serotonilation of proteins in blastomers, which requires a high serotonin level and activation of membrane receptors. Thus, while still in the mother's body, an embryo acquires the adaptation to the environmental conditions they will be facing in the future, after birth or hatching.

Keywords: maternal effects, serotonin, seasonal changes, mollusks, serotonylation