



Форма направления реферативно-библиографических сведений
о результатах научно-исследовательской, опытно-конструкторской и
технологической работы

I. Сведения о НИОКТР

Номер государственного учета НИОКТР

Дата постановки НИОКТР на учет

| | |
|-------------------------|------------|
| AAAA-A19-119101690032-9 | 16/10/2019 |
|-------------------------|------------|

Наименование НИОКТР

| |
|--|
| -Нейрогуморальные механизмы регуляции развития и активации адаптивных ресурсов организма |
|--|

Руководитель НИОКТР

Фамилия, Инициалы

Ученая степень

Ученое звание

| | | |
|------------------|---------------------------|------------|
| Воронежская Е.Е. | Доктор биологических наук | Не указано |
|------------------|---------------------------|------------|

II. Сведения об отчете

Номер государственного учета отчета

Дата постановки отчета на учет

| | |
|-------------------------|------------|
| AAAA-B20-220032090121-8 | 20/03/2020 |
|-------------------------|------------|

Наименование отчета

| |
|--|
| НЕЙРОГУМОРАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ РАЗВИТИЯ И АКТИВАЦИИ АДАПТИВНЫХ РЕСУРСОВ ОРГАНИЗМА по Разделу № 50 «Биология развития и эволюция живых систем» Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 гг. (заключительный отчет) |
|--|

Тематическая(-ие) рубрика(-и)

Индекс УДК

| | |
|------------------------------|---------|
| 34.15.45; 34.23.33; 34.41.15 | 577.353 |
|------------------------------|---------|

Коды международной классификации отраслей наук

| |
|--------------------|
| 01.06.CU; 01.06.HY |
|--------------------|

Дата утверждения отчета

27/12/2019

Кол-во книг (томов)

1

Общее кол-во страниц

18

Номера книг (томов)/Кол-во страниц

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 1/18 | 2/0 | 3/0 | 4/0 | 5/0 | 6/0 | 7/0 | 8/0 | 9/0 | 10/0 | 11/0 | 12/0 | 13/0 | 14/0 | 15/0 | 16/0 | 17/0 | 18/0 | 19/0 | 20/0 |
|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|

Приложений

0

Таблиц

0

Иллюстраций

3

Библиография

21

Публикаций по результатам НИОКТР

1

Руководитель организации-исполнителя

Фамилия, инициалы

Должность

СНИЛС

Подпись

| | | | |
|----------------|----------|-------------|--|
| Васильев А. В. | Директор | 00133521977 | |
|----------------|----------|-------------|--|

Место для печати

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ ИМ. Н.К. КОЛЬЦОВА РАН
(ИБР РАН)

УДК 577.353

Рег. № ГЗ FFEE-2019-0005

Рег. мнемокод ГЗ 0088-2019-0005

Рег. № НИОКТР АААА-А19-119101690032-9

УТВЕРЖДАЮ

Директор ИБР РАН

доктор биологических наук,

член-корреспондент РАН



А.В. Васильев

1 «27» декабря 2019 г.

ОТЧЕТ

О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

НЕЙРОГУМОРАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ РАЗВИТИЯ И АКТИВАЦИИ
АДАПТИВНЫХ РЕСУРСОВ ОРГАНИЗМА

по Разделу № 50 «Биология развития и эволюция живых систем»

Программы фундаментальных научных исследований
государственных академий наук на 2013-2020 гг.

(заключительный отчет)

Руководитель НИР,
главный научный сотрудник,
доктор биологических наук

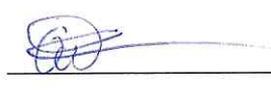
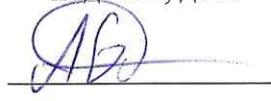
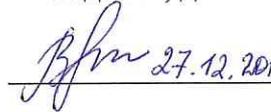
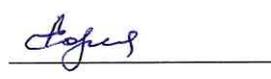
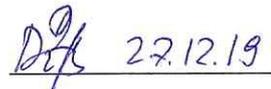
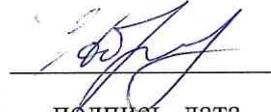
Е.Е. Воронежская

24.12.2019

подпись, дата

Москва 2019

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

| | | |
|---|---|-------------------------------|
| Руководитель, главный научный сотрудник, доктор биологических наук |  подпись, дата | Е.Е. Воронежская 27.12.19 |
| Исполнители: Ведущий научный сотрудник, доктор биологических наук |  подпись, дата | Л.П. Незлин 27.12.2019 |
| Младший научный сотрудник |  подпись, дата | А.Л. Обухова 27.12.2019 |
| Младший научный сотрудник |  подпись, дата | А.М. Соколова 27.12.2019 |
| Старший научный сотрудник, кандидат биологических наук |  подпись, дата | В.И. Мельникова 27.12.2019 |
| Научный сотрудник, кандидат биологических наук |  подпись, дата | С.Н. Воронова 26.12.2019. |
| Научный сотрудник, кандидат биологических наук |  подпись, дата | А.И. Куртова 27.12.19 |
| Нормоконтроль, ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук |  подпись, дата | Е.Б. Абрамова 27.12.2019 |

РЕФЕРАТ

Отчет 18 с., 3 рис., 0 табл., 21 источник, 0 приложений, 1 отчетная публикация

Ключевые слова: МОЛЛЮСКИ, НЕЙРОГЕНЕЗ, РАННИЕ НЕЙРОНЫ, НАВИГАЦИЯ ОТРОСТКОВ, СЕРОТОНИН, ПЕПТИД FMRF-АМИД, ТРАНСПОРТЕР АЦЕТИЛХОЛИНА VASNT, ВЕНТРАЛЬНЫЕ СТВОЛЫ, АПИКАЛЬНЫЙ ОРГАН

Целью исследования является детализация клеточных основ и молекулярных механизмов, лежащих в основе нейрогуморальной регуляции развития и активации адаптивных ресурсов организма. В качестве модели исследования на данном этапе выполнения работы служило личиночное развитие двустворчатых моллюсков.

Целью данного этапа выполнения работы являлось раскрытие моноамин-опосредованных нейрогуморальных механизмов, задействованных на самых ранних этапах становления нервной системы у модельных двустворчатых моллюсков. Выявлялись клеточные источники серотонина на стадиях, предшествующих формированию дефинитивной нервной системы, определялось функциональное значение ранних периферических сенсорных нейронов для формирования нервной системы личинки, определялись мишени серотонин-опосредованной регуляции нейрогенеза.

В работе использовали современные методы экспериментальной эмбриологии, совмещающие культивирование личинок заданных стадий развития, фармакологические воздействия, последующее иммунохимическое маркирование специфических элементов и анализ изображений, позволяющий качественно и количественно оценить характер вызванных изменений.

В результате выявлены самые ранние нервные элементы, появляющиеся в развитии двустворчатых моллюсков, установлена медиаторная специфичность и сенсорная природа ранних нейронов. Подтверждена концепция о ведущей роли пионерных нейронов в нейрогенезе трохофорных животных. Экспериментально доказано, что серотонин играет ключевую роль в навигации аксонов пионерных нейронов, от расположения которых зависит место формирования важной citoархитектонической структуры нервной системы беспозвоночных животных – вентральных нервных стволов.

Полученные результаты вносят существенный вклад в понимание механизмов раннего нейрогенеза у трохофорных животных, дополняют существующие представления о роли серотонина как морфогенетического фактора на ранних этапах нейрогенеза.

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|--|----|
| Перечень сокращений и обозначений | 5 |
| Введение | 6 |
| Материалы и методы | 8 |
| Результаты и обсуждение..... | 9 |
| Список использованных источников | 15 |
| Заключение | 17 |
| Список работ, опубликованных по теме | 18 |

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящем отчете о НИР применяют следующие сокращения и обозначения

АО – апикальный орган

5-НТ – серотонин

FMRФамид – пептид FMRФамид

VАChT – везикулярный транспортер ацетилхолина VАChT

ВВЕДЕНИЕ

Данная тема была выделена в отдельное направление в 2019 г, соответственно, представленные результаты отражают начальный период развития этого нового направления исследований.

Адаптационные изменения на самых разных уровнях жизнедеятельности любого организма происходят непрерывно в течение всего жизненного цикла (онтогенеза). Именно они определяют устойчивость существования в меняющейся внешней среде, обеспечивают выживание всей популяции (адаптационная пластичность). Критическим периодом для формирования адаптационной пластичности организма, реализующейся в течение последующей жизни, является раннее развитие. Вещества, выделяемые ранними дифференцирующимися нервными клетками (в частности серотонин), и действующие на ранних стадиях развития как нейрогуморальные факторы, оказывают влияние на формирование других частей нервной системы, действуя как морфогенетические агенты.

Для исследования клеточных основ и молекулярных механизмов регуляции раннего нейрогенеза, успешно используются модельные беспозвоночные животные. Для личинок трохофорных животных нервная система является одной из ведущих, обеспечивающих адаптивные реакции организма. Известно, что абсолютное большинство трохофорных 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, обеспечивая адаптивную приспособленность. 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 таких приспособлений является образование в процессе развития ранних, «пионерных» нейронов личинок.

Термин “пионерные нейроны” (pioneer neurons) начал активно использоваться с 80х годов XX в., когда была обобщена накопленная к тому времени информация о ранних

этапах формирования периферической нервной системы насекомых [1-4]. Принцип заключается в том, что самыми первыми дифференцируются нервные клетки не внутри будущих ганглиев нервной системы, а на периферии. Прорастающий в сторону центральных структур отросток пионерного нейрона служит направляющей, вдоль которой растут в дальнейшем аксоны всех дифференцирующихся нервных клеток. В 1996 г подобный механизм был установлен и для личинок трохофорных животных, в частности, брюхоногих моллюсков [5, 6]. В последующих работах было показано, что пионерные нейроны являются самыми ранними дифференцирующимися нервными клетками у представителей различных моллюсков и полихет, причем ранние нейроны иммунопозитивны в нейромедиатору серотонину (5-НТ) и/или пептиду FMRFамиду и практически все они являются сенсорными [7, 8].

Несмотря на функциональную значимость обнаруженного феномена, детали его реализации в разных группах трохофорных животных изучены недостаточно. Так, неизвестно, какие нейроны дифференцируются самыми первыми у личинок двустворчатых моллюсков, какие именно медиаторы они содержат, где расположены тела и куда следуют отростки самых ранних клеток. Кроме того, личинки двустворчатых моллюсков являются удобной моделью для исследования функциональной роли серотонина, как вещества, участвующего в навигации отростков пионерных нейронов. Решение этих фундаментальных задач позволит подтвердить концепцию ведущей роли пионерных нейронов в развитии беспозвоночных животных и установить морфогенетическую роль серотонина для процесса нейрогенеза у двустворчатых моллюсков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовалась комбинация классических эмбриологических и морфологических методов, в сочетании с современными методами экспериментальной биологии развития и высокочувствительными методами иммунохимического маркирования.

Для иммунохимического маркирования использованы антитела против тубулина, серотонина (5-HT), пептидов семейства RFамидов (FMRFамид), везикулярного транспортера ацетилхолина (VACHT). Анализ препаратов с использованием лазерного конфокального микроскопа (LCSM) позволил идентифицировать тонкие структуры на всех стадиях развития личинки, взаимное расположение иммунопозитивных элементов в режиме 3D. Большинство стандартных протоколов было дополнено специфическими модификациями, разработанными в нашей лаборатории для работы с личинками пресноводных и морских беспозвоночных. Полученные иммунофлуоресцентные многоцветные препараты исследованы с помощью лазерной сканирующей конфокальной микроскопии и последующим 3D моделированием с помощью оригинального программного обеспечения (Leica, ImageJ). Проведенное двойное и тройное иммуномечение, сочетающее окраску нескольких систем на последовательных стадиях развития, позволило установить временной и пространственный паттерн распределения выявленных элементов на ключевых стадиях развития, а также их изменение после определенных фармакологических воздействий.

Исследование деталей прохождения нейрогенеза проводилось как в норме, так и после фармакологической модуляции уровня серотонина на ранних стадиях развития, как до, так и во время формирования отростков пионерных нейронов. Ранее нами было доказано, что применяемая методика модуляции уровня моноаминов внутри личинки является адекватной для морских трохофорных животных [8]. Во всех случаях проводилось сравнение морфологии пионерных нейронов, мест расположения их тел и хода отростков, в контрольной и экспериментальной группах. Статистическая достоверность полученных результатов определялась повторением экспериментов как минимум в трех независимых группах, с последующим стандартным иммунохимическим маркированием и анализом полученных препаратов двойным слепым методом.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1.1 Ранние нейрональные элементы в развитии двустворчатых моллюсков.

Мы промаркировали самые ранние нервные элементы на последовательных стадиях развития двустворчатого моллюска *Crassostrea gigas*. В процессе развития FMRFамид-иммунопозитивные клетки появляются на стадии трохофоры и располагаются двумя группами в двух зонах гипосферы: дорсальная группа (dn) и вентральная группа (vn). Отростки нейронов дорсальной группы посылают свои отростки вперед, под основание формирующегося АО, а затем поворачивают вниз и следуют по вентральной стороне в сторону группы вентральных нейронов. На апикальном полюсе каждый FMRFамид-иммунопозитивный нейрон дорсальной группы несет пучок ресничек, что позволяет с достаточной степенью достоверности считать его сенсорным. По мере развития от трохофоры к велигеру, нейроны вентральной группы, а также нейроны АО, посылают свои отростки вдоль путей, сформированных отростками дорсальных нейронов (рисунок 1).

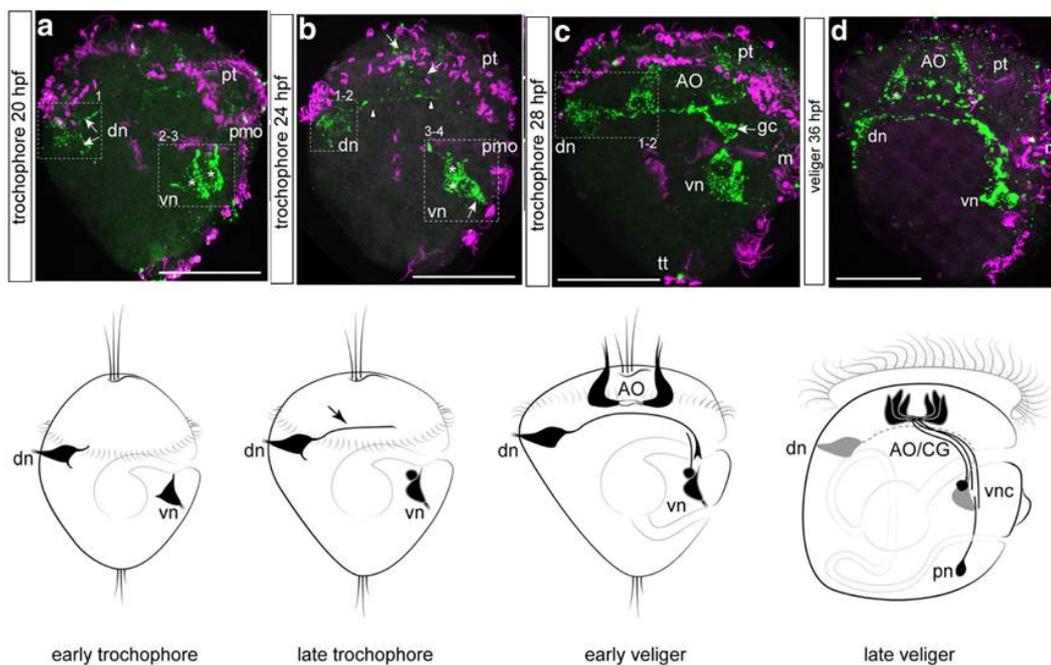


Рисунок 1. - Ранние FMRFамид-иммунопозитивные клетки на последовательных стадиях развития личинки *Crassostrea gigas*. Обозначения: зеленым промаркированы клетки, иммунопозитивные к пептиду FMRFамиду, пурпурным промаркированы реснички, выявленные антителами к ацетилированному тубулину. АО – апикальный орган, АО/CG –

апикальный орган/церебральный ганглий, dn – дорсальные нейроны, vn – вентральные нейроны, pn – постериорные нейроны, gc – конус роста, m – рот, pt – прототрох. Стрелками на b помечены места дифференцировки нейронов АО. В квадратах указано число нейронов в вентральной группе

Для определения последовательности дифференцировки клеток разной медиаторной специфичности было проведено попеременное двойное и тройное окрашивание на различные нейромедиаторы и маркер ресничек: 5-НТ, FMRFамид, VACHT и тубулин. Анализ полученных изображений позволил выявить точную локализацию и взаимное расположение идентифицированных ранних нейронов и клеток, дифференцирующихся в формирующихся центральных ганглиях: церебральном и педальном, а также отростки, образующие вентральный нервный ствол (рисунок 2).

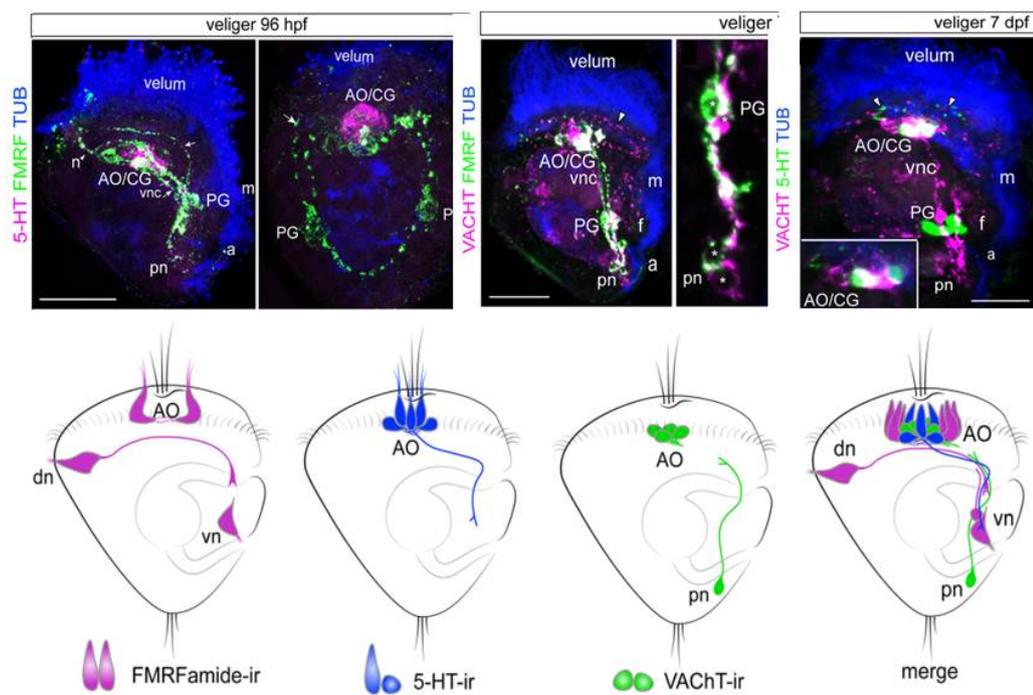


Рисунок 2. - Определение взаимного расположения ранних нейронов различной медиаторной специфичности и нейронов, дифференцирующихся в формирующихся ганглиях, в развитии двустворчатого моллюска *Crassostrea gigas*. Обозначения: В верхнем ряду промаркированные медиаторы указаны слева от оригинальной фотографии. На схеме в нижнем ряду пурпурным промаркированы клетки, иммунопозитивные к пептиду FMRFамиду, синим - клетки, иммунопозитивные к серотонину, зеленым - клетки, иммунопозитивные к транспортеру ацетилхолина VACHT. АО – апикальный орган, АО/CG – апикальный орган/церебральный ганглий, PG – педальный ганглий, vnc – вентральный нервный ствол, dn – дорсальные нейроны, vn – вентральные нейроны, pn – постериорные нейроны, a – анус, m – рот, f – нога.

1.2 Морфогенетическая роль серотонина при формировании нервной системы и навигации отростков ранних пионерных нейронов.

Для доказательства функциональной значимости серотонина, синтезируемого и выделяемого идентифицированными нейронами АО, были проведены эксперименты по повышению уровня серотонина в среде, в которой развивались зародыши. При инкубации на поздних стадиях развития, когда основные ганглии и пути нервной системы уже были сформированы (стадия позднего велигера), серотонин не оказывал существенного влияния на морфологию нервной системы личинки. В случае, если повышение уровня серотонина в среде, а значит и внутри личинки (так как личинки морских беспозвоночных легко проницаемы для фармакологических агентов моноаминергического ряда, см Материалы и Методы), происходило до начала роста аксонов пионерных нейронов (на стадии ранней трохофоры), формирование нервной системы нарушалось специфическим образом. Так, время и место дифференцировки личиночных нейронов не нарушались, но существенно менялся ход их отростков. Вместо направленного роста в сторону АО, а затем вдоль вентральной стороны, отростки пионерных нейронов (в случае мидии расположенных на вентральной стороне) претерпевали нескоординированный спрутинг. Аналогичные мальформации нейрогенеза наблюдались и для нейронов, дифференцирующихся в формирующихся плевральных ганглиях висцеральной дуги. Вместо скоординированной ориентации отростков вдоль аксонов ранних пионерных нейронов по вентральной стороне тела личинки, нейроны плеврального ганглия посылали свои отростки ненаправленно в разные стороны (рисунок 3). В результате, кардинальным образом нарушалась архитектура формирующейся нервной системы, что приводило к необратимым изменениям в развитии и последующей гибели личинки ещё до достижения стадии метаморфоза.

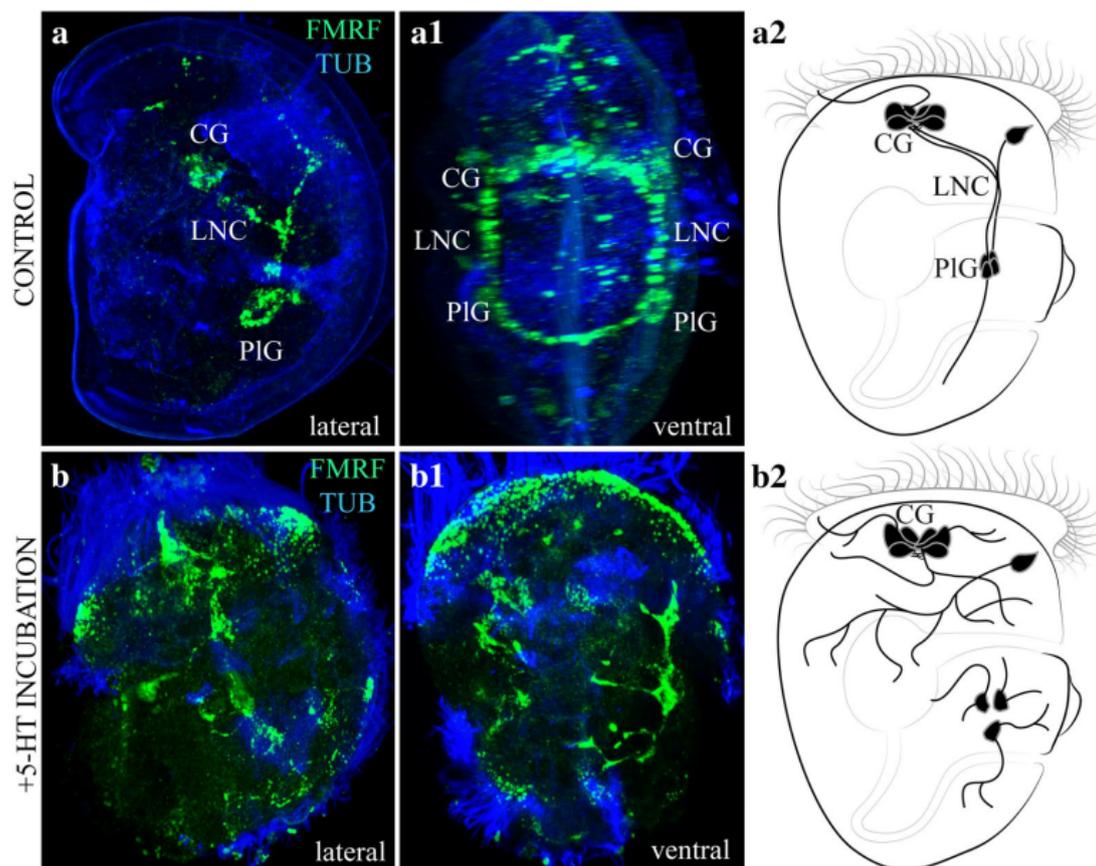


Рисунок 3. – Морфологические последствия экспериментального повышения уровня серотонина на стадии ранней трохофоры для формирования FMRFамид иммунопозитивных нервных элементов, хода отростков пионерных нейронов и формирования основных ганглиев и путей нервной системы у двустворчатого моллюска *Mytilus trossulus*. Обозначения: зеленым промаркированы клетки, иммунопозитивные к пептиду FMRFамиду, синим промаркированы реснички, выявленные антителами к ацетилированному тубулину. АО – апикальный орган, CG –церебральный ганглий, PLG – плевральный ганглий, LNC – латеральный нервный ствол

Таким образом, нами было показано, что у двустворчатых моллюсков, как и у других исследованных на настоящий момент трохофорных животных, нейрогенез начинается на стадии трохофоры, с периферических нейронов, которые являются иммунопозитивными к 5-НТ, FMRFамиду и VAChT [7]. Полученное морфологическое подтверждение имеет фундаментальное значение для понимания регуляции начальных этапов нейрогенеза у трохофорных животных. Ранее на широком ряде объектов различной таксономической принадлежности было показано, что самыми первыми дифференцируются именно периферические нейроны, отростки которых являются пионерными для создания контуров формирующейся нервной системы [8, 9].

Медиаторный профиль ранних нейронов у двустворчатых моллюсков не отличается от установленного ранее для моллюсков других филогенетических групп [6, 10-13].

Впервые для личинок двустворчатых моллюсков мы экспериментально доказали, что градиент серотонина, создаваемый в теле личинки на ранних стадиях развития нейронами апикального органа [14], принципиально важен для навигации отростков ранних пионерных нейронов. Аналогичная функция серотонина была обнаружена ранее для личинок полихет [9]. Ранее было высказано предположение, что АО личинок полихет и моллюсков – это не только сенсорный, но и эндокринный орган, выделяющий гормоны, которые влияют на эмбриональное или личиночное развитие и поведение [14-16]. На основании электронномикроскопических данных было предсказано, что в нервной системе брюхоногих моллюсков происходит непосредственный выброс 5-НТ в гемолимфу [17, 18]. Таким образом, компактный нейропил АО, состоящий из отростков с множественными варикозами, вероятнее всего служит местом активного выделения 5-НТ, создавая, таким образом, градиент этого медиатора в теле личинки. Нарушение градиента 5-НТ приводит к необратимым морфогенетическим последствиям и критическим нарушениям нейронеза.

Параллельное маркирование ресничных структур антителами к ацетилированному альфа тубулину подтвердили, что подавляющее большинство ранних нейронов у исследованных двустворчатых моллюсков являются сенсорными. Периферическое расположение, наличие базальных отростков, связывающих их с центральными отделами личинки, а также апикального дендрита, выходящего на поверхность тела и имеющего терминальное утолщение с ресничками на конце дендрита, отсутствие признаков, характерных для сенсорных нейронов другой модальности [19, 20] позволяет предположить хемосенсорную природу ранних нейронов у личинок двустворчатых моллюсков. Ранее нами уже была показана важная адаптивная особенность ранних нейронов, имеющих сенсорную природу, для личинок пресноводных моллюсков *Dreissena polymorpha* [21]. Пресноводный двустворчатый моллюск дрейсена является одним из агрессивных видов, активно распространяющихся в пресных и солоноватых водоемах, способен вытеснять эндемичные виды, меняя экологические сообщества и нанося вред водным сооружениям. Мы показали, что личиночные нейроны дрейсены, содержащие серотонин и пептид FMRФамид, увеличивают синтез специфических медиаторов при неблагоприятных условиях среды (изменение солености), позволяя личинкам адаптироваться в широком диапазоне изменений и обеспечивая максимальное расселение вида. По всей видимости, аналогичная адаптивная особенность присуща и личинкам

морских двустворчатых моллюсков, позволяя им осваивать экологические ниши в эстуариях.

Полученные фундаментальные знания о регуляции нейрогенеза трохофорных животных, в том числе и возможность воздействия на него со стороны внешних факторов (воспринимаемых ранними сенсорными нейронами) позволят предположить возможные стратегии направленного воздействия на популяции водных трохофорных животных. Например, поддержать размножение редких или исчезающих видов и затормозить распространение нежелательных инвазивных видов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Bate C.M. Pioneer neurons in an insects embryo // Nature. 1976. V. 260. P. 54–56.
2. Bentley D., Keshishian H. Pathfinding by peripheral pioneer neurons in grasshoppers//Science. 1982. V. 218. P. 1082–1088.
3. 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.
4. Klose M., Bentley D. Transient pioneer neurons are essential for formation of an embryonic peripheral nerve // Science. 1989 V. 245. P. 982–984.
5. Croll R.P., Voronezhskaya E.E. Early FMRFamide-like immunoreactive cells in gastropod neurogenesis // Acta Biol. Hung. 1995. V. 46. P. 295–303.
6. Croll R.P., Voronezhskaya E.E. Early elements in gastropod neurogenesis // Devel. Biol. 1996. V. 173. P. 344–347.
7. Yurchenko O.V., Savelieva A.V., Kolotuchina N.K., Voronezhskaya E.E.*, Dyachuk V.A.* Peripheral sensory neurons govern development of the nervous system in bivalve larvae // EvoDevo. 2019. V. 10(1) Art. no. 22.
8. Voronezhskaya EE, Ivashkin EG. Pioneer neurons: a basis or limiting factor of lophotrochozoa nervous system diversity? // Russ J Dev Biol. 2010. V.41. P. 337–46.
9. Nezlin LP, Voronezhskaya EE. Early peripheral sensory neurons in the development of trochozoan animals. //Russ J Dev Biol. 2017. V. 48. P. 130–43.
10. 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.
11. 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.
12. Voronezhskaya E.E., Tyurin S.A., Nezlin L.P. Neuronal development in larval chiton *Ischnochiton hakodadensis* (Mollusca: Polyplacophora) // J. Comp. Neurol. 2002. V. 444. P. 25–38.
13. Wanninger A., Haszprunar G. The development of the serotonergic and FMRF-amidergic nervous system in *Antalis entails* (Mollusca, Scaphopoda) // Zoomorphology. 2003. V. 122. P. 77–85.
14. Lacalli T.C. Structure and organization of the nervous system in the trochophore larva of *Spirobranchus* // Phil.Trans. R. Soc. London B. 1984. V. 306. P. 79–135.

15. Kempf S.C., Page L.R., Pires A. Development of serotonin-like 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.
16. Voronezhskaya E.E., Khabarova M.Yu., Nezhlin L.P. Apical sensory neurons mediate developmental retardation induced by conspecific environmental stimuli in freshwater pulmonate snails // *Development.* 2004. V. 131. P. 3671–3680.
17. Hernadi L., Elekes K., Salanki-Rosa K. Distribution of serotonin-containing neurons in the central nervous system of the snail *Helix pomatia*. Comparison of immunocytochemical and 5,6-dihydroxytryptamine labeling // *Cell Tissue Res.* 1989. V. 257. P. 313–323.
18. Elekes K. Serotonin-immunoreactive varicosities in the cell body layer and neural sheath of the snail, *Helix pomatia*, ganglia: An electron microscopic immunocytochemical study // *Neuroscience.* 1991. V. 42. P. 583–591.
19. Croll R.P. Gastropod chemoreception // *Biol. Rev.* 1983. V. 58. P. 293–319.
20. Shepherd G.M. *Neurobiology.* Oxford University Press, 1988. 689 p.
21. Battonyai I., Voronezhskaya E.E., Obukhova A., Horvath R., Nezhlin L.P., Elekes K. Neuronal Development in the Larvae of the Invasive Biofouler *Dreissena polymorpha* (Mollusca: Bivalvia), with Special Attention to Sensory Elements and Swimming Behavior // *Biol Bull.* 2018 V. 4(3) P. 192-206.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Задачи этапа 2019 г темы НИР решены полностью.

Впервые показана существенная роль серотонина в навигации отростков ранних нейронов, маркирующих контуры формирующейся нервной системы. На модели развития двусторчатого моллюска показано, что самыми первыми на стадии трохофоры дифференцируются периферические сенсорные нейроны. Тела нейронов, идентифицируемые по наличию в них позитивной реакции на антитела к нейромедиаторам: серотонину (5-НТ), пептиду FMRFамиду, везикулярному транспортеру ацетилхолина VAcHT, выявляются самыми первыми в различных периферических отделах тела личинки. Отростки FMRFамид- и VAcHT-позитивных клеток формируют два вентрально расположенных параллельных тяжа, вдоль которых в дальнейшем будет идти формирование ганглиев в передне-заднем направлении. Часть ранних клеток, относящихся к личиночному апикальному органу (АО), продуцирует серотонин. АО расположен на апикальном полюсе личинки, таким образом, выделяющийся гуморально из варикозных отростков нейропиля АО серотонин создает градиент в теле личинки. Нарушение градиента серотонина приводит к необратимому изменению хода отростков ранних пионерных нейронов, мальформациям в формирующихся нервных структурах и последующей гибели личинки на ранних стадиях развития.

Таким образом, выявлена клеточная основа формирования вентральных нервных стволов в развитии моллюсков, экспериментально показана ведущая роль серотонина в формировании адекватной архитектоники нервной системы в процессе развития. Полученные фундаментальные знания позволят в перспективе разработать стратегии направленного воздействия на популяции определенных видов трохофорных животных, воздействуя на их выживаемость на стадии ранней личинки.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ

1. Yurchenko O.V., Savelieva A.V., Kolotuchina N.K., Voronezhskaya E.E.*, Dyachuk V.A.*
Peripheral sensory neurons govern development of the nervous system in bivalve larvae // EvoDevo. – 2019. - V. 10(1). – Art. no. 22. DOI: 10.1186/s13227-019-0133-6. (WoS, Scopus). – Q3.

Отчет по теме утвержден решением Ученого совета ИБР РАН, «27» декабря 2019 г.,
Протокол № 14_