

Сигнальные молекулы и поведение. Сравнительный подход

В. Дьяконова



Варвара Дьяконова
8-й выпуск биокласса (Микробоссы), школа № 520 (1986 г.), закончила кафедру физиологии ВНД Биофака МГУ (1992 г.), к.б.н., старший научный сотрудник в Институте биологии развития РАН, dyakonova@nm.ru

Когда мы учились в 10-м классе, меня попросили однажды в качестве домашнего задания приготовить доклад по опиоидным пептидам. Эти вещества были открыты около десяти лет назад в мозге млекопитающих, и изучение их функций находилось тогда на переднем крае физиологических и медицинских исследований.

Я выяснила, что опиоидные пептиды, или опиоиды, вырабатываются определенными нервными клетками и, в свою очередь, влияют на другие клетки, имеющие опиатные рецепторы, т.е. определенные молекулярные структуры в мембране, которые узнают и связывают эти пептиды. Уже было известно, что опиоиды вызывают обезболивание и положительное подкрепление (чувство удовольствия), а опиатные рецепторы связывают также морфий и отвечают за его наркотические эффекты.

Через несколько лет, уже при подготовке диплома, я узнала о работе немецкого исследователя Нерешаймера 1903 г., в которой описывалось действие морфина на поведение ресничной инфузории *Stentor* (трубач) (рисунок 1). У трубача морфин вызывал эффект, сходный с обезболивающим действием опиатов у высших животных: он подавлял сокращение в ответ на тактильную стимуляцию (прикосновение). В конце 1980-х гг. у инфузории нашли уже и настоящие опиатные рецепторы, описали внутриклеточные механизмы, обеспечивающие подавление сократительного ответа при действии опиатов.

Меня поразило тогда, что вещество воспринималось сходно одноклеточным организмом и человеком. Это было случайное, кажущееся

сходство или мы, в самом деле, унаследовали реакцию на эти вещества от фантастически далеких предков? Не является ли вообще «химия» — универсальным языком, который используют и понимают одинаково все организмы от простых до сложных?

Естественно, появилось желание узнать, как обстоят дела с опиоидной регуляцией у представителей других групп животных. Прежде всего у разных типов беспозвоночных. К 1990-м гг. опиатные рецепторы и опиоидные пептиды были обнаружены у представителей практически всех крупных таксономических групп беспозвоночных. Поиск литературы по их поведенческим эффектам и собственные эксперименты показали, что у всех исследованных беспозвоночных опиаты также подавляют защитное и болевое поведение, а их антагонисты, наоборот, усиливают ответ на «пугающие» или болевые стимулы. Такие эффекты наблюдали у пиявок (annelиды), у наземных, морских, пресноводных гастропод (моллюски), у крабов (ракообразные), у представителей разных отрядов насекомых (рисунок 2). У беспозвоночных были выявлены условия, при которых происходит активация опиоидной системы и выброс эндогенных опиоидов. Как и у млекопитающих, это были разные виды стрессов и половое поведение. В этих условиях у животных наблюдалось такое же снижение болевой чувствительности (аналгезия), как и при введении опиатов. Аналгезия снималась опиатным антагонистом налоксоном.

У высших беспозвоночных — брюхоногих моллюсков, крабов и насекомых — были обнаружены и другие функции опиоидов, известные для млекопитающих, например участие в обучении, регуляция пищевого, полового поведения, общей активности. Стимуляцию опиоидергической зоны в мозге улитки можно использовать



Рисунок 1. Инфузория *Stentor* (трубач) сокращается в ответ на тактильную стимуляцию (прикосновение).

Эту реакцию блокирует морфин, а также опиоидный пептид человека — β-эндорфин. Оба вещества влияют на один и тот же опиатный рецептор.

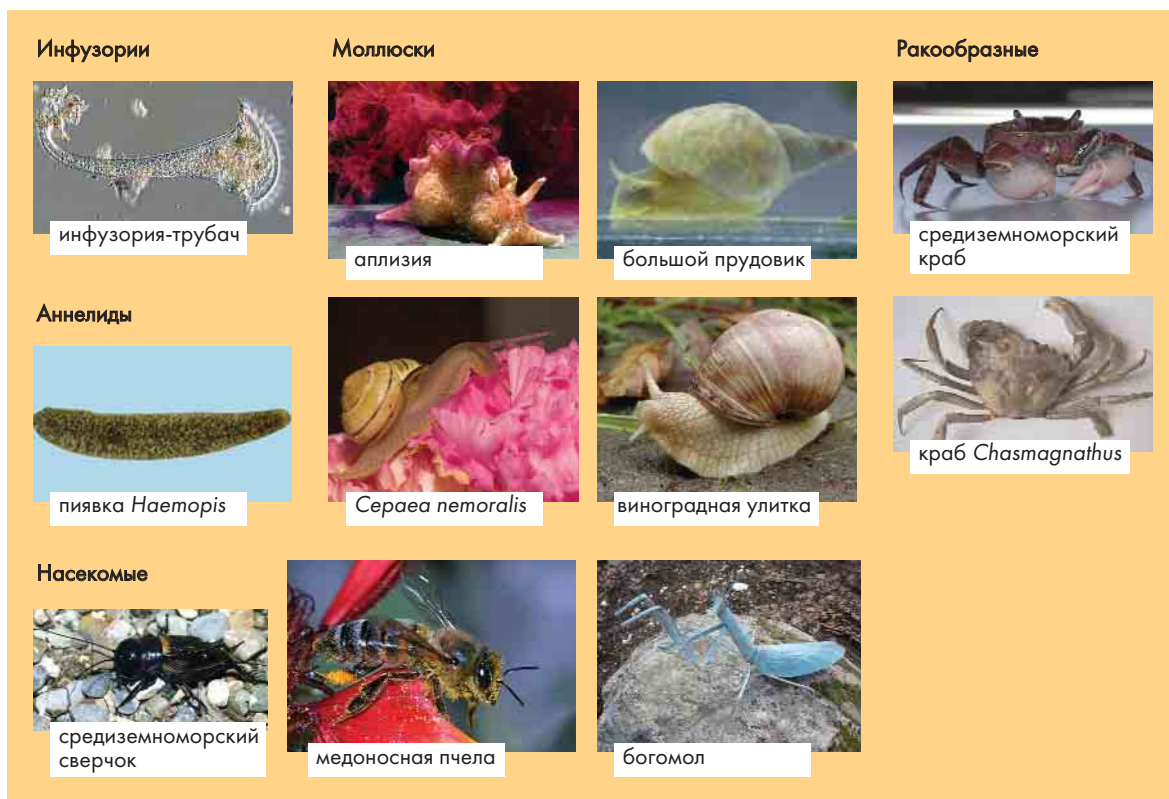


Рисунок 2. Беспозвоночные, у которых исследовали роль опиоидов в регуляции защитного и болевого поведения.

Инфузория трубач. Пиявка *Haemoris marmorata*. Моллюски: аплизия, большой прудовик, виноградная улитка, *Ceraea nemoralis*. Крабы: *Carcinus mediterraneus*, *Chasmagnathus*. Насекомые: медоносная пчела, богомол, сверчок *Gryllus bimaculatus*. У всех исследованных видов опиоиды подавляют защитные и болевые реакции, а их антагонисты наоборот усиливают пугливость и болевую чувствительность.

в качестве подкрепления в экспериментах с обучением. Так же, как и у высших животных, у улиток опиоидная система активируется во время любовных ласк и вызывает обезболивание (рисунок 3).

У ручейника (насекомые) при подавлении опиоидной системы замедляется строительство домика (рисунок 4). При этом животное двигается и работает не меньше, чем в норме. Оказалось, что дом строится медленно оттого, что ручейник с подавленной опиоидной системой «отбраковывает» и отбрасывает гораздо большее количество строительного материала. Можно предположить, что когда опиоидов не хватает, ручейнику



Рисунок 3. Ласкающиеся виноградные улитки.

Также, как и у высших животных, у моллюсков такое поведение вызывает активацию опиоидной системы и обезболивание.

все, что он ни возьмет, — «не нравится», также как и человеку при пониженном тоне опиоидной системы или в период наркотической абстиненции.

Некоторые формы поведения, контролируемые опиатными рецепторами, присущи не всем видам. К ним, помимо упомянутого строительства домика у ручейника, относится, например, межсамцовая агрессия: ритуальные или реальные драки самцов за лидерство (рисунок 5). Это поведение может проявляться сходно у животных, крайне далеких друг от друга в систематическом отношении, и отсутствовать у видов, близких «драчунам». В такой ситуации тем более трудно себе представить, чтобы сохранились и передались через гипотетического общего предка химические механизмы регуляции этого поведения. И тем не менее изучение действия опиатов на агрессивность самцов разного социального ранга у мыши и у сверчка выявили поразительное сходство. Результаты свидетельствовали о том, что опиоидная система принимает участие в подавлении агрессивности проигравших, субординантных самцов и у млекопитающих, и у насекомых.



Рисунок 4. Опиоиды необходимы для принятия положительного решения о пригодности материала при строительстве домика у ручейника.

Слева — ручейник, тестирующий частичку, справа — законченный домик. Подробнее о строительном поведении ручейника см. <http://www.gotai.net/documents/doc-art-002-06.aspx>. Печать фото — с любезного разрешения В.А. Непомнящих.

Таким образом, оказалось, что такая функция опиоидных пептидов, как контроль за уровнем защитных реакций, появилась в эволюции очень рано и, по-видимому, имела существенный адаптивный смысл уже для сравнительно просто организованных животных. Действительно, существуют ситуации, когда пассивные защитные реакции (или боль) мешают более важным для выживания программам поведения, тогда очень полезно иметь систему, способную эти реакции подавлять. Это исходное, наиболее древнее, сигнальное значение опиоидов могло стать основой для дивергентного развития их новых функций в эволюции, многие из которых, появились, по-видимому, еще у низших беспозвоночных.

К таким выводам привел сравнительный анализ поведенческих эффектов опиоидных пептидов. А как в отношении других сигнальных молекул? Можно ли считать, что, вообще, функции регуляторных веществ консервативны, т.е. сходны у всех животных?

Сейчас уже можно с уверенностью говорить о том, что судьба разных регуляторных систем в эволюции была различной. Для одних молекул консервативность функции четко прослеживается даже на больших таксономических расстояниях, для других — только в пределах одной или нескольких групп. К числу первых, помимо опиоидных пептидов, еще можно с уверенностью отнести инсулин, функция которого в энергетическом обмене остается неизменной у самых разных и эволюционно далеких представителей животного мира.

Хорошим примером сигнальной молекулы, функции которой сохраняются в пределах одной или нескольких таксономических групп, может служить серотонин. Серотонин выделяется во

время голода и координирует пищевое поведение у разных моллюсков. При этом у каждого исследованного вида он активирует свою видоспецифическую программу поиска пищи. Например, у фильтратора беззубки (двустворчатые моллюски) это проявляется сначала в ускорении движений раковины, обеспечивающих закачку воды в фильтрующую систему, а затем в инициации локомоторной активности и поиске более обеспеченного пищей участка дна. У пресноводного моллюска большого прудовика серотонин активирует локомоцию и поисковое поведение. У хищного морского ангела (крылоногий моллюск) — специфическую комплексную программу охотничьего поведения. Все известные эффекты серотонина у моллюсков, не только поведенческие, но и метаболические, хорошо согласуются между собой и, в целом, обеспечивают то поведенческое состояние, которое вызывает голод. Сходные функции серотонина обнаружены у представителей другого типа беспозвоночных — пиявок.

Но вот в еще одном крупном таксоне беспозвоночных, у насекомых, практически все эффекты серотонина отличны и даже противоположны тем, что описаны для моллюсков и пиявок. Зато «знакомый» серотониновый набор

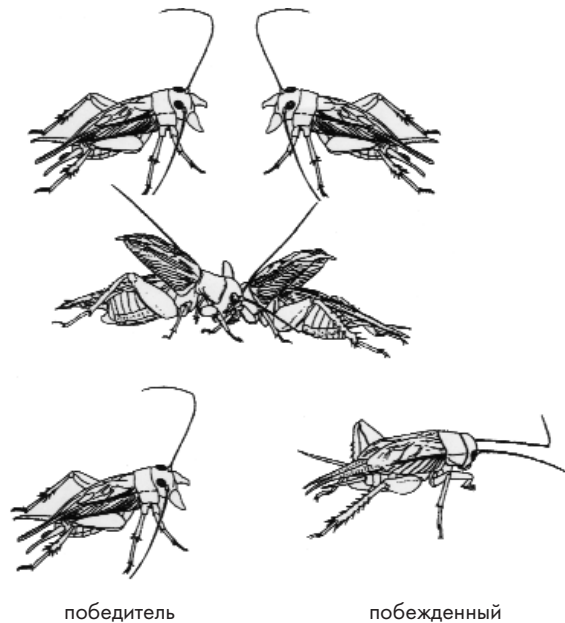


Рисунок 5. Демонстрация, драка и установление социального ранга у самцов средиземноморского свечка *Gryllus bimaculatus*.

Опиоидная система принимает участие в регуляции поведения и победителя, и побежденного после драки. У первого она подавляет избигательное поведение и пугливость, у второго — агрессию. Опиатный антагонист налоксон делает доминанта пугливым, а субординанта — агрессивным. Сходное влияние налоксона описано у побежденных самцов мышей (из Stevenson *et al.*, 2005, с изменениями).

эффектов, обеспечивающих интенсификацию поведения и метаболизма при голоде, обнаружен у другого вещества — октопамина. Почему? На этот вопрос пока нет ответа, существуют только гипотезы.

Похожую ситуацию наблюдали и у низших позвоночных: серотониновая система, хорошо развитая у ланцетника, асцидии, миноги, катастрофически деградировала у низших рыб на фоне бурного развития катехоламиновой системы. Предполагается, что эти изменения связаны с переходом от древнего фильтрационного питания к челюстному. Что произошло при переходе к челюстному питанию, почему пришлось поменять звено химической регуляции, тоже пока неизвестно.

Иногда одна и та же регуляторная молекула, в каждой крупной таксономической группе приобретает новую функцию. Например, пролактин, связанный с такой специфической функцией млекопитающих, как лактация, химически вовсе не был изобретен млекопитающими. Он есть и у других позвоночных, однако выполняет у них совсем другие функции. У рыб пролактин отвечает за осморегуляцию, у амфибий вызывает метаморфоз, у тетрапод стимулирует рост.

У организмов, перешедших к паразитизму, основной функцией синтезируемой сигнальной молекулы может быть регуляция не собственного поведения, а поведения хозяина. Паразиты с выгодой для себя умеют химически стимулировать пищевое поведение хозяина, подавлять его общую активность, снижать иммунитет. Существует пример, когда простейшее, передающееся половым путем, научилось даже активно стимулировать половое поведение хозяина, синтезируя стероидные половые гормоны последнего. Такая изобретательность кажется удивительной только на первый взгляд. На самом деле, стероидные гормоны были изобретены еще на заре эволюции и используются многими свободноживущими одноклеточными в регуляции собственной жизнедеятельности. Паразиту было достаточно активировать уже имеющийся аппарат для синтеза этих молекул. Он воспользовался тем, что высшие животные когда-то сами «позаимствовали» эти сигнальные молекулы у своих давних предков.

Идея о том, что язык химической сигнализации унаследован многоклеточными организмами от одноклеточных, была впервые высказана уже более 50-и лет назад Х.С. Коштойнцем. Тогда список известных сигнальных молекул был еще очень скромным. За прошедшее время открыто огромное количество регуляторных молекул, принадлежащих по химическому строению к

совершенно разным классам веществ (пептиды, стероиды, модифицированные аминокислоты и нуклеотиды, производные жирных кислот, газы). Каждое новое открытое сигнальное вещество почти всегда оказывалось эволюционно «старым», т.е. обнаруживалось у представителей низших позвоночных и беспозвоночных. Очевидно, что в ходе эволюции язык химической сигнализации тоже эволюционировал. Какие законы (или хотя бы закономерности) управляют функциональной эволюцией сигнальных молекул? Сохраняется ли донервное значение сигнальной молекулы у многоклеточных животных? Как появляются новые функции у сигнальных молекул? В какой момент и почему возникает необходимость в смене сигнального значения вещества? На эти вопросы ищет ответы сравнительная физиология сигнальных систем.

Несколько слов следует сказать о методах, о том, как изучают роль сигнальных молекул в регуляции поведения. Сейчас нормой для сравнительно-физиологических исследований стал комплексный подход. Поведенческие функции сигнальных молекул изучают в фармакологических опытах *in vivo*, когда животному вводят вещество и наблюдают за изменениями в поведении. Находят клетки, вырабатывающие данную сигнальную молекулу, изучают, где, в каких отделах организма они расположены, в какие области происходит секреция вещества. В распоряжении морфологов сейчас два основных метода, позволяющих выявить клетки, синтезирующие определенное вещество: иммуногистохимия (использование антител к нужной молекуле) и гибридизация *in situ*. Последний метод позволяет выявить экспрессию гена, отвечающего за синтез данного вещества или ферментов, участвующих в его синтезе. Этот метод является к тому же количественным, он позволяет оценивать изменения в уровне экспрессии гена. В количественной оценке синтеза сигнальных молекул большую роль играют химические методы, жидкостная хроматография и др. Количественные методы необходимы, чтобы понять, как и при каких условиях меняется в организме синтез данной сигнальной молекулы.

У многих модельных беспозвоночных известны нейроны, отвечающие за то или иное поведение. В электрофизиологических экспериментах можно исследовать характер активности этих клеток и непосредственное влияние на нейроны исследуемых веществ. Для некоторых простых ритмических программ, например локомоции или жевания, найдены клеточные генераторы повторяющихся движений. Они состоят из последовательно работающих нейро-

нов, выбрасывающих каждый свое сигнальное вещество, или нейротрансмиттер. Клетки, входящие в состав таких генераторов, можно изолировать и высадить в культуру, в которой через определенное время они вновь объединяются в работающий генератор (рисунок 6). Тогда свойства генератора, зависимость их от окружающей химической среды можно изучать уже в изолированном виде, отдельно от сенсорных и двигательных отделов.

Методы молекулярной биологии, позволяющие изменять экспрессию генов, связанных с метаболизмом сигнальных молекул, и изучать последствия таких изменений, разработаны пока только для небольшого числа видов: мыши, человека, дрозофилы и червя *Cenorhabditis*. Эти методы настолько перспективны, что современная научная политика склоняется к тому, чтобы большинство исследований свести к изучению упомянутых четырех видов. Однако, воплощение в жизнь такого подхода, конечно, означает ущемление сравнительных исследований. К счастью, отдельные герои продолжают создавать генные библиотеки для разных видов животных. И сравнительные физиологи им благодарны за это.

Литература

Обзоры:

- Дьяконова В.Е.** 2001. Поведенческие функции опиоидных пептидов у беспозвоночных. // Журн. эвол. биохим.-физиол., 37 (4): 253–261.
- Сахаров Д.А.** 1990. Интегративная функция серотонина у примитивных Metazoa // Журн. общ. биол., 51: 437–449.
- Сахаров Д.А.** 1990. Множественность нейротрансмиттеров: функциональное значение // Журн. эвол. биохим.-физиол., 26 (5): 733–741.
- Bicker G, Menzel R.** 1989. Chemical codes for the control of behaviour in arthropods // Nature, 337: 33–39. Обзор.
- Harrison L.M., Kastin A.J., Weber J., Banks W., Hurley D., Zadin J.** 1994. The opiate system in Invertebrates // Peptides, 15: 1309–1329.
- Libersat F., Pflueger H.I.** 2004. Monoamines and the orchestration of behavior // BioScience, 54: 17–25.
- Nagabhushanam R., Sarojini R., Reddy P.S., Devi M., Fingerman M.** 1995. Opioid peptides in invertebrates: Localization, distribution and possible functional roles // Curr. Sci., 69: 659–671.
- Stoka A.M.** 1999. Phylogeny and evolution of chemical communication: an endocrine approach // Journal of Mol. Endocrinology, 22: 207–225.

Статьи:

- Дьяконова В.Е., Сахаров Д.А.** 1994. Участие эндогенной опиоидной системы в регуляции пищевого и защитного поведения моллюска // Журн. высш. нервной деятельности, 44 (2): 316–322.

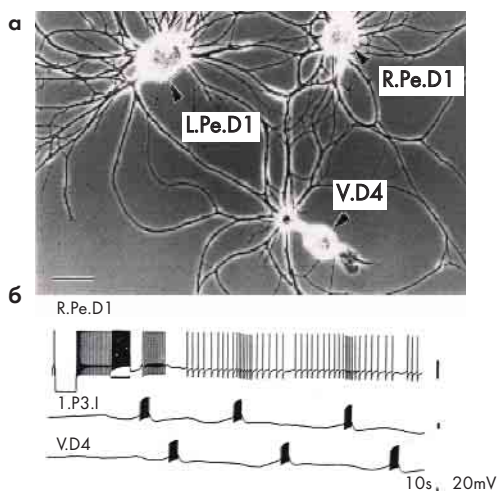


Рисунок 6. Центральный генератор дыхания моллюска в культуре. Три нервные клетки, обеспечивающие полный цикл дыхательных движений. Внизу — регистрация их активности. Клетки разряжаются последовательно, каждая в свою фазу. Из статьи Lukowiak *et al.* (Science, 1991).

Дьяконова В.Е., Сахаров Д.А. 1994. Нейротрансмиттерная основа поведения моллюска: управление выбором между ориентировочным и оборонительным ответом на предъявление незнакомого объекта // Журн. высш. нервной деятельности, 44 (3): 526–531.

Непомнящих В.А., Подгорный К.А. 1994. Формирование упорядоченного поведения при случайной последовательности раздражителей у личинок ручейника // Журн. общ. биол., 55: 328–336.

Dyakonova V.E., Elofsson R., Carlberg M., Sakharov D.A. 1995. Complex avoidance behaviour and its neurochemical regulation in the land snail *Cepaea nemoralis* // Gen. Pharmac., 26: 773–777.

Dyakonova V.E., Sakharov D.A., Schuermann F.-W. 1999. Effects of serotonergic and opioidergic drugs on escape behavior and social status of male crickets // Naturwissenschaften, 86: 435–437.

Dyakonova V.E., Schuermann F.-W., Sakharov D.A. 2002. Effects of opiate ligands on intraspecific aggression in crickets // Peptides, 23 (5): 835–842.

Dyakonova V.E., Schuermann F.-W., Dolgov V.V., Kudryavtseva N.N., Sakharov D.A. 2001. Increase of aggressiveness by opiate antagonists is common to rodent and insect submissive males. Proc. 28th Göttingen Neurobiol. Conference.

Lent C.M., Dickinson M.H. 1984. Serotonin integrates feeding behaviour of the medicinal leech // J. Comp. Physiol., 154A: 457–471.

Maksimova O.A., Balaban P.M. 1999. Two modulatory inputs exert reciprocal reinforcing effects on synaptic input of premotor interneurons for withdrawal in terrestrial snails // Abstr. from the Conference «Conceptual Advances in the Studies of Associative Learning and Memory»: 67.

Stevenson P.A., Dyakonova V.E., Rillich J., Schildberger K. 2005. Octopamine and Experience-Dependent Modulation of Aggression in Crickets // J. Neurosci., 25 (6): 1431–1441.