**СЕРОТОНИН СТИМУЛИРОВАЛ РЕГЕНЕРАЦИЮ ГЛОТКИ
В ХВОСТОВЫХ ФРАГМЕНТАХ ПЛАНАРИЙ
*SCHMIDTEA MEDITERRANEA***

Крещенко Н. Д.¹, Гребенщикова Е. В.¹,
Карпов А. Н.¹, Митьковский Д. Е.¹

Аннотация

Серотонин идентифицирован во всех классах паразитических и свободноживущих плоских червей. Его функция в организме представителей Platyhelminthes остается мало изученной. В настоящей работе впервые было исследовано влияние серотонина на морфогенетические процессы. Изучали регенерацию глотки у планарий *Schmidtea mediterranea*. Глотка планарий — относительно автономный орган, обладающий хорошо дифференцированной структурой и специализированной функцией. Отсеченные хвостовые фрагменты планарий регенерировали новую глотку, способную осуществлять свою функцию — питания и поглощения пищи. Исследования показали, что регенерация глотки в группе планарий проходила с 5 по 10 дни после отсечения фрагментов. Сроки регенерации в разных сериях опытов варьировались и зависели от сезона проведения опыта. Максимальное число животных восстанавливали пищевую реакцию на 6–8 дни после операции. У особей, находившихся под воздействием серотонина в концентрациях (10–0,001 μM), наблюдали ускорение восстановления функции глотки по сравнению с контрольными животными. Предварительные результаты свидетельствуют о стимулирующем действии серотонина на регенерацию новой глотки в хвостовых фрагментах планарий *S. mediterranea*. Итак, были продемонстрированы морфогенетические свойства нейромедиатора серотонина.

Ключевые слова: серотонин, планарии, регенерация глотки.

¹ Институт биофизики клетки ФИЦ ПНЦБИ РАН (142290, г. Пушкино, Московская область, ул. Институтская, 3), nkreshch@rambler.ru

SEROTONIN ACCELERATED PHARYNGEAL REGENERATION IN PLANARIAN *SCHMIDTEA MEDITERRANEA* TAIL FRAGMENTS

Kreshchenko N. D.¹, Grebenshchikova E. V.¹,
Karpov A. N.¹, Mitkovsky D. E.¹

Abstract

Serotonin has been identified in all classes of parasitic and free-living Platyhelminthes. Its function in the body of Platyhelminthes remains poorly studied. In present work, the serotonin effect on morphogenetic processes in planarian *Schmidtea mediterranea* was studied for the first time. Pharyngeal regeneration was studied in *Schmidtea mediterranea* planaria. Pharynx is a relatively autonomous organ with well differentiated morphological structure and specialized function. The dissected planarian body fragments were able to regenerate the new pharynx and restore its function – food uptake and feeding. It was observed that in group of animals, the pharynx regeneration occurred from day 5 to day 10 after amputation. The regeneration time varied in different experimental series and seems to depend on the season of the experiment. The maximum number of animals restored their feeding response for 6–8 days after the intervention. Under the serotonin treatments (10–0.001 μM), the acceleration of the restoration of a new pharynx function has been observed as compared to the control animals. The preliminary results exhibit the stimulatory action of serotonin on pharyngeal regeneration in tail fragments of *S. mediterranea*, thus, indicating the morphogenetic properties of serotonin.

Keywords: serotonin, planarian, pharynx, regeneration.

Введение. Цилиндрической формы мускулистая глотка, лежащая в глоточной полости в середине тела и с ротовым отверстием на брюшной стороне, способна выдвигаться наружу через ротовое отверстие и обеспечивать захват пищи и ее нагнетание в полость кишечника (рис. 1а). Серотонин выявлен в нейронах центральных и периферических отделов нервной системы представителей всех классов паразитических Platyhelminthes – трематод, цестод и моногеней (Mochalova et al., 2019; Terenina et al., 2020), а также у свободноживущих планарий (Kreshchenko, 2017). Физиологическая роль серотонина у планарий мало изучена. В настоящей работе исследовали влияние серотонина на морфогенетические процессы у планарий.

¹ Institute of Cell Biophysics Russian Academy of Sciences (3, Institutskaya st., Pushchino, Moscow Region, 142290), nkreshch@rambler.ru

a

Рис. 1а. Фото планарии *S. mediterranea*, длинной стрелкой показано положение мускулистой глотки, расположенной в центре тела, толстая стрелка указывает на головной отдел тела; масштаб — 1 мм

Материалы и методы. Планарий *S. mediterranea* содержали в аквариумах с водопроводной и дистиллированной водой (2:1) при 20 ± 1 °С, кормили личинками насекомых. Перед опытом животных держали голодными в течение недели. В опыт отбирали особей одинаковой длины (8–9 мм), которым отсекали хвостовые фрагменты (рис. 1б). Операцию производили тонким скальпелем под бинокулярным микроскопом; использовали лед для обездвиживания планарий. Прооперированных животных (контрольная группа) помещали в стаканчики с водой, подопытных — в свежеприготовленный раствор серотонина (Sigma), держали в темноте в ходе эксперимента. Группа состояла из 45–50 особей. Опыты проводили методом слепого контроля. Каждая серия опытов сопровождалась индивидуальным контролем. Анализировали восстановление функции глотки, т.е. появление пищевой реакции у регенерирующих планарий. Для этого с 4 дня после операции животным предлагали пищу. Поевших планарий учитывали и удаляли из стаканчика, определяли их процент от общего числа животных в группе. В каждый из дней эксперимента находили кумулятивный (суммарный) процент особей с восстановленной глоткой (табл. 1). Результаты повторных опытов суммировали (при наличии достаточного количества повторов, рис. 1в). Статистическую обработку проводили с помощью Т-критерия Стьюдента.

Рис. 16. Схема операций: у планарий отсекали хвостовые фрагменты тела, которые не содержат глотку, в этих фрагментах глотка формировалась заново; средний фрагмент тела — отбрасывали (он тоже регенерирует, образуя новую голову и хвост)

Рис. 1в. 7-й день регенерации глотки, хвостовые фрагменты *S. mediterranea*: по оси абсцисс — средний процент животных с функционирующей глоткой в контрольной и подопытной группах ($\pm$ стандартное отклонение), количество повторных опытов $N = 5$, число животных $n_0 = 253$; $n_k = 251$; ** — степень достоверности различий при $p < 0,05$, ($p = 0,0089$, paired two-tailed T-Student test)

Таблица 1

Восстановление функции глотки в хвостовых фрагментах планарий *S. mediterranea* под воздействием серотонина (кумулятивный %, отдельные опыты)

Концентрация (М), дата опыта	Дни регенерации глотки						Число особей
	5	6	7	8	9	10	
Хвостовые фрагменты							
Контроль — 18/06/18	-	5,0	22,5	57,5	97,5	100	n = 40
Серотонин 10^{-6} — 18/06/18	-	5,9	17,7	66,7↑	100	-	n = 51
Хвостовые фрагменты							
Контроль — 16/05/18	-	14,0	30,2	65,1	93,0	100	n = 43
Серотонин 10^{-7} — 16/05/18	-	12,8	38,3↑	55,3	87,2	100	n = 47
Серотонин 10^{-6} — 16/05/18	-	4,8	45,2↑	73,8↑	90,5	100	n = 42
Серотонин 10^{-6} — 16/05/18	-	11,1	38,9↑	81,5↑	96,3	100	n = 54
Хвостовые фрагменты							
Контроль — 10/04/14	1,9	14,8	75,9	95,0	100	-	n = 54
Серотонин 10^{-8} — 10/04/14	1,9	15,1	90,6↑	100	-	-	n = 53

↑ — направление эффекта

Результаты исследований. Сроки регенерации варьировались между группами и зависели от сезона проведения опыта. Однако при анализе собранных данных можно заметить общие закономерности регенерации глотки у планарий. Появление пищевой реакции глотки в регенерирующих хвостовых фрагментах происходило с 5-го по 10-й дни после операции (см. табл. 1). Максимальное число животных восстанавливали пищевую реакцию на 6–8 дни после операции. Серотонин проявлял достоверное стимулирующее влияние на процесс регенерации глотки в концентрации 10^{-5} М (см. рис. 1в). В подопытных группах особей, находящихся под воздействием серотонина (10^{-6} , 10^{-7} и 10^{-8} М), глотка также восстанавливалась быстрее, чем у контрольных животных. Стимулирующий эффект серотонина проявлялся в разные дни регенерации, в основном в то время, когда у максимального числа животных появлялась пищевая реакция. Необходимо проведение дальнейших исследований с проведением повторных экспериментов и использованием большего числа особей.

Предварительные результаты свидетельствуют о стимулирующем действии серотонина на восстановление глотки у планарий.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-04-00349а.

Литература

1. Mochalova N.V., Terenina N.B., Poddubnaya L.G., et al. First evidence of serotonergic components in the nervous system of the monogenean *Chimaericola leptogaster* (Chimaericolidae, Polyopisthocotylea), a gill parasite of the relict holocephalan fish // *Folia Parasitologica*. 2019. Vol. 66. P. 008. DOI: 10.14411/fp.2019.008.
2. Terenina N.B., Kreshchenko N.D., Mochalova N.V., et al. The new data on the serotonin and FMRFamide localization in the nervous system of *Opisthorchis felineus* metacercaria // *Acta Parasitologica*. 2020. DOI: 10.2478/s11686-019-00165-2
3. Kreshchenko N.D. Immunocytochemical identification of serotonergic neurons in planaria *Girardia tigrina* // *Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*. 2017. Vol.11. P. 68–76.

References

1. Mochalova N.V., Terenina N.B., Poddubnaya L.G., et al. First evidence of serotonergic components in the nervous system of the monogenean *Chimaericola leptogaster* (Chimaericolidae, Polyopisthocotylea), a gill parasite of the relict holocephalan fish. *Folia Parasitologica*. 2019; (66):008. DOI: 10.14411/fp.2019.008.

2. Terenina N.B., Kreshchenko N.D., Mochalova N.V. et al. The new data on the serotonin and FMRFamide localization in the nervous system of *Opisthorchis felineus* metacercaria. *Acta Parasitologica*. 2020; DOI: 10.2478/s11686-019-00165-2
3. Kreshchenko N.D. Immunocytochemical identification of serotonergic neurons in planaria *Girardia tigrina*. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*. 2017; (11):68–76.