

УДК 591.69; 576.89

<https://doi.org/10.31016/978-5-6048555-6-0.2023.24.251-255>

СЕРТОНИНОВЫЕ СТРУКТУРЫ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ ПЛАНАРИЙ *SCHMIDTEA MEDITERRANEA* (PLATYHELMINTHES)

Кузнецов Г. В. ¹,
аспирант

Митьковский Д. Е. ²,
студент

Крещенко Н. Д. ¹,
кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник,
nkreshch@rambler.ru

Аннотация

Серотонин-иммунопозитивные(-ип) компоненты выявлены в нервной системе планарий *Schmidtea mediterranea* с помощью иммуноцитохимического метода и флуоресцентной микроскопии. Иммуноцитохимическая окраска выявила характеристики серотонинергической нервной системы. Нервная система у планарий *S. mediterranea* представлена головным нервным ганглием, имеющем форму дуги, и расположенным в переднем отделе тела планарии, внутренняя часть ганглия составлена нервными отростками, тогда как тела нейронов расположены по поверхности ганглия. От ганглия в каудальном направлении отходят хорошо окрашенные брюшные нервные стволы, соединенные серотонин-ип нервными комиссурами. На серийных замороженных срезах тканей планарий проводили морфометрический анализ серотонинергических нервных элементов, который показал, что ширина нервного ганглия, окрашенного антителами к серотонину, составляет около 110 мкм, размер серотониновых нейронов головного ганглия варьирует от 9 до 26 мкм, размер серотонинергических нейронов, входящих в состав нервного плексуса, иннервирующего мускулатуру тела планарии, составляет от 7 до 13 мкм. Эти сведения могут иметь эволюционное значение и будут полезны

¹ Институт биофизики клетки Российской академии наук – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (142290, Россия, г. Пушкино, ул. Институтская, д. 3)

² Государственное бюджетное профессиональное образовательное учреждение Московской области «Серпуховский колледж» (142207, Россия, г. Серпухов, ул. Центральная, д. 154)

для сравнительного анализа морфометрических параметров серотонинергических нервных структур у свободноживущих и паразитических плоских червей.

Ключевые слова: плоские черви, *Schmidtea mediterranea*, нервная система, серотонин, морфометрия

SEROTONIN NEURON STRUCTURES IN THE NERVOUS SYSTEM OF PLANARIANS *SCHMIDTEA MEDITERRANEA* (PLATYHELMINTHES)

Kuznetsov G. V.¹,
Postgraduate Student

Mitkovskii D. E.²,
Student

Kreshchenko N. D.¹,
Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher,
nkreshch@rambler.ru

Abstract

Serotonin-immunopositive (IP) components were detected in the nervous system of planarians *Schmidtea mediterranea* using immunocytochemistry and fluorescence microscopy. Characteristics of serotonergic nervous system were detected by the immunocytochemical staining. The nervous system of the planarian *S. mediterranea* is represented by the arc-shaped head nerve ganglion located in the anterior region of the planarian; the inner part of the ganglion is formed by nerve cell processes; whereas neurocytons are situated on the ganglion surface. Well-stained ventral nerve cords connected by serotonin-IP commissures are extending from the ganglion caudally. A morphometric analysis of serotonergic nerve elements was performed on frozen serial sections of planarian tissues and showed that the thickness of the nerve ganglion stained by serotonin antibodies was about 110 μm , the size of serotonin neurons in the head ganglion varied from 9 to 26 μm , and the size of serotonergic neurons within the nerve plexus innervating the planarian body musculature was 7 to 13 μm . This information may be of evolutionary importance and will be useful for a comparative analysis of morphometric parameters of serotonergic neuron structures in free-living and parasitic flatworms.

¹ Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences (3, Institutskaya st., Pushchino, 142290, Russia)

² State Budgetary Professional Educational Institution of Moscow Region "Serpukhovskiy College" (154, Centralnaya st., Serpukhov, 142207, Russia)

Keywords: flatworms, *Schmidtea mediterranea*, nervous system, serotonin, morphometry

Введение. Планарии *Schmidtea mediterranea* (Turbellaria, Platyhelminthes) являются модельным биологическим объектом, используемым в зарубежных лабораториях для изучения стволовых клеток и молекулярных механизмов регенерационных процессов, благодаря наличию полного генома [4]. Исследование нервной системы и ее нейромедиаторов у плоских червей проводится в российских лабораториях [1, 3]. В настоящей работе для идентификации серотонина были использованы серийные срезы планарий и специфические антитела к серотонину. В литературе имеются сведения о наличии серотонин-ип компонентов в нервной системе планарий [2]. Морфометрические данные о серотониновых нейронах у *S. mediterranea* получены впервые.

Материалы и методы. Планарий *S. mediterranea* (Turbellaria, Platyhelminthes) размером около 1 мм фиксировали 4% параформальдегидом, помещали в 15% раствор сахарозы на 5 суток, заливали в Tissue Tek и готовили срезы, толщиной 15–18 мкм, помещали на обработанные предметные стекла (Polysine, Menzel). Для приготовления замороженных срезов использовано 7 особей планарий. Образцы размораживали и окрашивали антителами к серотонину (Immunostar, USA) прямым иммуноцитохимическим методом. Препараты анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа Leica DM6000B, соединенного с цифровой камерой Leica DFC 300 FX (Leica Microsystems, Германия), с помощью которой производили фотосъемку. Измерения проводили на микрофотографиях препаратов с помощью программы AxioVision Rel 4.8.1.0. Измеряли нейроны различной формы – округлой, овальной, удлинённой, треугольной.

Результаты исследований. У *S. mediterranea* (рис. 1а) обнаружено обилие серотонин-иммунопозитивных(-ип) клеток и нервных волокон в центральных и периферических отделах нервной системы (рис. 1б, в). Нервная система представлена головным ганглием, имеющим форму дуги, и парой брюшных нервных стволов, простирающихся до хвостового отдела тела червя. Поперечные нервные комиссуры соединяют нервные стволы. Ширина дуги головного ганглия *S. mediterranea* составила $109,2 \pm 15,3$ мкм (здесь и далее – среднее арифметическое \pm стандартное отклонение, SD; N=7, число особей). Внутренняя часть окрашенного антителами к серотонину головного ганглия, составляет так называемый «нейропиль», состоящий из тонких серотонин-ип нервных волокон, отростков серотониновых нейронов (рис. 1б). Боль-

шинство тел серотонин-ип нейронов головного ганглия располагаются у *S. mediterranea* по его периферии. Серотонин-ип нейроны головного ганглия – это биполярные и мультиполярные, реже униполярные нейроны. Средний максимальный размер (длина) тела нейрона в головном ганглии составила $13,39 \pm 3,59$ мкм ($n=120$, число измерений), ширина $9,34 \pm 2,42$ мкм ($n=120$). Число серотониновых нейронов в ганглии *S. mediterranea*, наблюдаемых на одном срезе, проходящем через головной ганглий, составило $25,7 \pm 3$ ($N=3$, число особей).

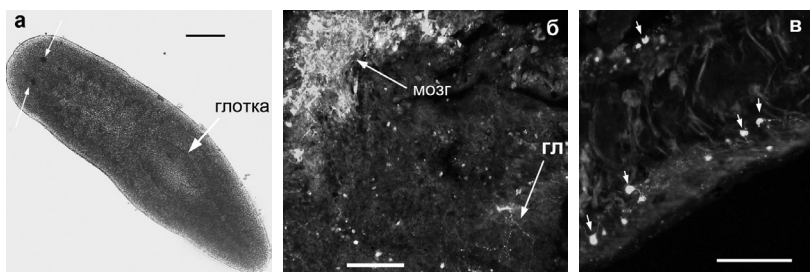


Рис. 1. Планария *Schmidtea mediterranea*. (а) общий вид, световая микроскопия, тотальный препарат, тонкие стрелки – пара глаз на переднем конце тела, глотка, расположенная в центральной части тела, отмечена толстой стрелкой; (б, в) серотонин-ип структуры в нервной системе планарий (зеленым), мускулатура (красным), флуоресцентная микроскопия, замороженные срезы; (б) стрелки – окраска к серотонину в головном ганглии (мозг), серотонин-ип нервная сеть в глотке (гл), (в) – нейроны периферического нервного плексуса в толще мускулатуры тела. Масштаб: а – 200 мкм, б, в – 100 мкм

В периферических отделах нервной системы, а именно в мышечном нервном плексусе, обнаружены многочисленные серотонин-ип нервные волокна и тела нейронов (рис. 1в). Это в основном мультиполярные нейроны, реже биполярные, форма тел нейронов округлая или овальная. Размеры нейронов плексуса: длина – $10,19 \pm 2,56$ мкм, ширина – $7,51 \pm 1,78$ мкм ($n=87$). Серотонин-ип окраска также была отмечена в нервных волокнах глоточной нервной сети. Кроме того, от каждого нервного ствола к боковому краю тела направляются серотонин-ип нервные волокна.

Заключение. Работа посвящена исследованию серотонинергических компонентов в нервной системе свободноживущих планарий – ближайших родственников паразитических червей. Данные указы-

вают на широкое распространение нейромедиатора серотонина у плоских червей. Впервые приведены морфометрические характеристики серотонин-ип нейронов у планарий *S. mediterranea*, полученные с помощью большого количества измерений. Выявлено, что серотонинергические нейроны головного ганглия планарий более крупные, чем нейроны периферических отделов нервной системы. Эти сведения должны быть дополнены в дальнейшем исследованием окрашенных тотальных препаратов планарий, что, вместе с конфокальной лазерной сканирующей микроскопией, позволит уточнить пространственное расположение серотонинергических компонентов и их связей у планарий *S. mediterranea*, а также провести тотальный подсчет серотониновых нейронов в головном ганглии, и определить морфометрические характеристики нервных стволов. Данные могут быть использованы для выявления эволюционных закономерностей централизации нервной системы у плоских червей.

Список источников

1. Крещенко Н. Д. Пептидергическая сигнализация: иммуноцитохимическое определение FMRF-подобных пептидов в нервной системе планарий // Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии. 2013. Т. 30. № 5-6. С. 430-437.
2. Cebria F. Organization of the nervous system in the model planarian *Schmidtea mediterranea*: an immunocytochemical study // *Neurosci. Res.* 2008; 61(4): 375-384.
3. Nefedova D. A., Terenina N. B., Mochalova N. V., Poddubnaya L. G., Movsesyan S. O., Gordeev I. I., Kuchin A. V., Kreshchenko N. D. The neuromuscular system in flatworms: serotonin, FMRFamide and musculature in *Prodistomum alaskense* (Digenea: Lepocreadiidae), an endemic fish parasite of the north-western Pacific // *Can. J. Zool.* 2021; 99: 689-701.
4. Robb S. M. C., Ross E., Alvarado A. S. SmedGD: the *Schmidtea mediterranea* genome database // *Nucleic Acids Res.* 2008; 36: D599-D606.

References

1. Kreshchenko N. D. Peptidergic signaling: immunocytochemical determination of FMRF-related peptides in the nervous system of planarians. *Biological Membranes: Journal of Membrane and Cell Biology.* 2013; 30(5-6): 430-437. (In Russ.)
2. Cebria F. Organization of the nervous system in the model planarian *Schmidtea mediterranea*: an immunocytochemical study. *Neurosci. Res.* 2008; 61(4): 375-384.
3. Nefedova D. A., Terenina N. B., Mochalova N. V., Poddubnaya L. G., Movsesyan S. O., Gordeev I. I., Kuchin A. V., Kreshchenko N. D. The neuromuscular system in flatworms: serotonin, FMRFamide and musculature in *Prodistomum alaskense* (Digenea: Lepocreadiidae), an endemic fish parasite of the north-western Pacific. *Can. J. Zool.* 2021; 99: 689-701.
4. Robb S. M. C., Ross E., Alvarado A. S. SmedGD: the *Schmidtea mediterranea* genome database. *Nucleic Acids Res.* 2008; 36: D599-D606.