

УДК 591.69; 576.89

<https://doi.org/10.31016/978-5-6046256-9-9.2022.23.271-275>

## СЕРОТОНИНОВЫЕ СТРУКТУРЫ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ ПЛАНАРИЙ *POLYCELIS TENUIS*: МОРФОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Крещенко Н. Д. <sup>1</sup>,кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник,  
nkreshch@rambler.ruМитьковский Д. Е. <sup>2</sup>,

учащийся

### Аннотация

Серотонинергические компоненты нервной системы определяли у планарий *Polycelis tenuis* с помощью непрямого иммуноцитохимического метода окраски замороженных срезов тканей и их анализа с помощью флуоресцентного микроскопа. Морфометрические измерения проводили на микрофотографиях, сделанных с помощью цифровой фотокамеры с окрашенных серотонин-иммунопозитивных срезов. У *P. tenuis* центральный отдел нервной системы представлен парными головными ганглиями, соединенными нервной перемычкой, вместе имеющими форму бабочки, а также хорошо выраженными брюшными нервными стволами, простирающимися вдоль всего тела планарии. Каждый из головных ганглиев на последовательных срезах имел размеры от 132 до 310 мкм. От 12 до 17 серотониновых были различимы в одном ганглии на одном срезе. Толщина нервных стволов составила 138–60 мкм в разных областях тела. Нервные узлы, расположенные по ходу брюшных нервных стволов, содержали от 5–6 до 8 серотонинергических нейронов размером 11–23 мкм. Полученные результаты могут быть полезны для проведения сравнительного анализа нервной системы у свободноживущих и паразитических плоских червей, для выявления аспектов их эволюционного развития.

**Ключевые слова:** серотонин, планарии, плоские черви, нервная система

<sup>1</sup> 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, Московская обл., г. Пушкино, ул. Институтская, д. 3)

<sup>2</sup> Муниципальное бюджетное образовательное учреждение Средняя общеобразовательная школа № 1 (142290, Россия, Московская область, г. Пушкино, микрорайон В, д. 7а)

**SEROTONIN STRUCTURES IN THE NERVOUS SYSTEM  
OF PLANARIANS *POLYCELIS TENUIS*:  
MORPHOMETRIC RESEARCH**

**Kreshchenko N. D.**<sup>1</sup>,

Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher,  
nkreshch@rambler.ru

**Mitkovskii D. E.**<sup>2</sup>,

Student

**Abstract**

The serotonergic components in the nervous system of the planarian *Polycelis tenuis* were studied by the indirect immunocytochemical method for staining frozen tissue sections and their analysis using a fluorescence microscope. Morphometric measurements were conducted on microphotographs taken from stained serotonin immune-positive sections using a digital photo camera. The *P. tenuis* central nervous system is represented by a pair of cerebral ganglia connected by a commissure having together a butterfly-like shape and prominent ventral nerve cords that lie along the whole planarian's body. Each cerebral ganglion had a size of 132–310  $\mu\text{m}$  on serial sections. From 12 to 17 serotonin components were visible in one ganglion on one tissue section. The thickness of the nerve cords was 138 to 60  $\mu\text{m}$  in different areas of the body. Nerve knots located along the way of the ventral nerve cords had 5–6 up to 8 serotonergic neurons of 11 to 23  $\mu\text{m}$ . The obtained results can be useful for comparative analysis of the nervous system in free-living and parasitic flatworms to define their evolutionary development aspects.

**Keywords:** serotonin, planarian, flatworms, nervous system

**Введение.** Планарии – свободноживущие черви, относящиеся к таксону Platyhelminthes, большинство видов которого являются паразитическими. Планарии давно используются в качестве биологического объекта для изучения регенерации, стволовых клеток, а также роли нейропептидов и классических нейротрансмиттеров в их регуляции. У планарий *Girardia tigrina* были описаны морфологические парамет-

---

<sup>1</sup> Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences (3, Institutskaya st., Pushchino, Moscow Region, 142290, Russia)

<sup>2</sup> Municipal Budgetary Educational Institution, Secondary General Education School No.1 (7a, Microdistrict B, Pushchino, Moscow Region, 142290, Russia)

ры серотонинергических структур – размеров головного нервного ганглия, нервных стволов, комиссур и серотониновых нейронов [1]. Только одна работа посвящена изучению наличия и локализации серотонина у планарий *P. tenuis* [2], однако информация в этом исследовании является весьма скудной. Морфометрический анализ нервной системы у данного вида не проводился до настоящего времени, исследования были затруднены большими размерами этих животных (от 1,2 до 1,5 см в длину), вследствие чего было трудно получить качественную окраску серотониновых структур на тотальных препаратах. Возникла необходимость приготовления серийных срезов тканей планарий, окраска которых прошла успешно. Настоящая работа посвящена определению морфологических характеристик серотонинергических компонентов нервной системы планарий *P. tenuis*.

**Материалы и методы.** В нашей работе для идентификации серотонина были использованы замороженные срезы тканей, специфические антитела к серотонину, и флуоресцентная микроскопия. Животных фиксировали 4% параформальдегидом и помещали в 15% раствор сахарозы на 3–5 суток. Затем заливали в Tissue Tek, на криотоме готовили срезы, толщиной 14–17 мкм, которые помещали на покрытые полилизинном предметные стекла (Polysine, Menzel). Стекла хранили при -20 °С. Срезы размораживали при комнатной температуре и окрашивали антителами к серотонину (Immunostar, USA). Образцы исследовали под флуоресцентным микроскопом Leica DM6000B, соединенным с цифровой камерой DC300F (Leica Microsystems, Германия), с помощью которой производили съемку. Измерения проводили на микрофотографиях препаратов. Для этого использовали программу AxioVision Rel 4.8.1.0. (AxioVision, Carl Zeiss). Для каждого морфологического параметра выполняли 3–6 измерений. Всего в работе было использовано 11 особей.

**Результаты исследований.** Иммуноцитохимическая окраска показала наличие серотонина в нервной системе червей. Центральные отделы нервной системы *P. tenuis* представлены парными церебральными ганглиями, соединенными мозговой перемычкой, имеющими форму «бабочки», а также парой крупных брюшных нервных стволов, расположенных вдоль туловища, соединенных поперечными нервными комиссурами. Размер одного ганглия – 132,9x260,5 мкм; 157,2x310,3 мкм. На разных срезах длина ганглия составила 187,8; 219,6; 172,8 мкм; ширина ганглия – 195,7; 151,5 мкм. Размер тел серотониновых нейронов головного ганглия 13,2; 11,3; 10,1; 10,0; 18,6; 13,0; 17,7; 12,1; 12,7 мкм. Число серотониновых нейронов в одном из парных

ганглиев (1/2), которое удавалось подсчитать на одном срезе, проходящем через ганглий, составило от 12 до 17. Большинство серотониновых нейронов располагалось снаружи ганглия (но есть и внутри), в то время, как нервные волокна образуют нейропилль внутри ганглия. Серотониновых волокон в ганглии не так много, и они очень тонкие. У планарии *P. tenuis* перемычка, соединяющая оба головных ганглия, тонкая, и не содержит тела серотониновых нейронов. Толщина «мозговой» перемычки – 45,4; 43,9; 32,8 мкм.

Толщина нервных стволов, вблизи головного ганглия составила 100,4, 138,6 мкм. Серотонинергические нейроны, расположенные в этой области в нервных стволах (близко к головному ганглию), на разных срезах, имели размеры от 11,1x12,2; 17,1x13,1; 18,6x12,9 до 23,9x13,8 мкм. Далее по направлению к каудальному отделу тела толщина нервных стволов составила 85,5; 74,9; 64,4; 77,6; 79,8 мкм; нейроны в нервных стволах головного отдела тела имели размеры 12,7; 16,7; 13,7; 14,0; 12,3; 14,7 мкм.

Толщина нервных стволов в средней части тела – 60,2; 68,9; 66,8; 73,1 мкм. Нейроны в стволах биполярные, вытянутые 21,6x7,2 мкм; 23,3x13,2; 16,2x11,9 мкм или более округлые мультиполярные 16,7; 11,0; 16,9; 16,4 мкм.

Нервные стволы имеют утолщения – нервные «узлы», в которых расположено скопление нервных клеток от 5–6 до 8, серотониновые нейроны расположены снаружи вдоль нервных стволов, а тонкие нервные волокна образуют остов нервного ствола. Толщина нервных узлов – 49,5; 50,4; 34,3; 51,2; 62,6 мкм, размер нейронов, принадлежащих нервному узлу 13,9x8,9, 14,8x7,8; 17,0x7,4, 15,2x6,0 мкм; 13,5x10,8 мкм. Расстояние между узлами 350–400 мкм. Локализация нейронов вдоль нервных стволов не была равномерной, уменьшаясь по направлению к хвостовому отделу тела. Так, на длину 1137,5 мкм нервного ствола (близко к головному ганглию) наблюдали около 18 нейронов; на 424,6 мкм нервного ствола было расположено 10–12 нейронов; на 489,5 мкм длины ствола в средней части тела уже 8 нейронов и в хвостовой 5–7 нейронов на 360 мкм длины нервного ствола.

Брюшные нервные стволы соединены очень тонкими поперечными серотонин-иммунопозитивными нервными комиссурами, очень тонкими и плохо заметными на срезах. От нервных стволов к боковому краю тела простираются тонкие серотонинергические нервные волокна. Они формируют мышечный и субэпителиальный нервные плексусы. Большой объем тела планарии занимает трехветвистый,

множественно разветвленный слепой кишечник, окруженный тонким слоем мускулатуры. В районе кишечника наблюдали серотонин-иммунопозитивные клетки и волокна. Размеры серотониновых нейронов, расположенных возле кишечника, составляли 21,0x15,1; 15,7x13,6; 12,4x16,8; 13,2x9,5; 20,5x12,9 мкм. Также наблюдали серотониновые волокна в нервном плексусе глотки, которая расположена у планарий в центральной области тела. Размеры биполярных и мультиполярных серотониновых нейронов, выявленных в разных отделах нервной системы, варьировали, что, вероятно, могло зависеть как от их места локализации и назначения (функциональной роли), так и от размера самих особей планарий.

**Заключение.** Изучены морфологические характеристики серотонинергических элементов нервной системы планарий *Polycelis tenuis* с помощью современного иммуноцитохимического и морфометрического методов исследования. Полученные данные являются новыми, они указывают на широкое распространение нейромедиатора серотонина у плоских червей. Эти сведения будут полезны при проведении сравнительного анализа нервной системы свободноживущих и паразитических видов плоских червей для выявления эволюционных закономерностей централизации нервной системы в таксоне.

#### Список источников

1. Крещенко Н. Д., Митьковский Д. Е., Гребенщикова А. И., Выкиданец Г. Н., Теренина Н. Б. Морфометрическое исследование серотонинергических нервных компонентов у планарий *Girardia tigrina* // Сб. науч. ст. по матер. докл. научн. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». 2021. № 22. С. 276–281.
2. Reuter M., Gustafsson M. K. S., Mäntylä K., Grimmelikhuijzen C. J. P. The nervous system of Tricladida. III. Neuroanatomy of *Dendrocoelum lacteum* and *Polycelis tenuis* (Plathelminthes, Paludicola): an immunocytochemical study // *Zoomorphology*. 1996; 116: 111–122.

#### References

1. Kreshchenko N. D., Mitkovskii D. E., Grebenshchikova A. I., Vykidanets G. N., Terenina N. B. Morphometric study of serotonergic nervous components in planarians *Girardia tigrina*. *Materials of the Scientific Conference "Theory and practice of parasitic disease control"*. 2021; 22: 276–281. (In Russ.)
2. Reuter M., Gustafsson M. K. S., Mäntylä K., Grimmelikhuijzen C. J. P. The nervous system of Tricladida. III. Neuroanatomy of *Dendrocoelum lacteum* and *Polycelis tenuis* (Plathelminthes, Paludicola): an immunocytochemical study. *Zoomorphology*. 1996; 116: 111–122.