

*Н. П. Кудикина*

**ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ ГОРМОНАЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ  
НА ПРОЦЕСС РЕГЕНЕРАЦИИ У ПЛОСКИХ ЧЕРВЕЙ**

*Описан характер влияния трех гормональных препаратов: двух аналогов половых стероидных гормонов (прогестерон и тестостерон) и гормона группы глюкокортикоидов преднизолона (дегидрированный аналог гидрокортизона) – на процесс регенерации пресноводной планарии *Dugesia lugubris* Schmidt, 1861. Гормональные препараты разной химической природы и физиологической активности разнонаправленно воз-*



действуют на ход процесса регенерации исследованного вида. Скорость пролиферации зависит от качества восстанавливающегося участка. Планарии могут быть тест-объектами для определения эффектов воздействия химических соединений гормональной природы на процессы регенерации.

*This article describes the effect of three hormonal specimens – two analogues of sex steroid hormones (progesterone and testosterone) and a glycocorticoid hormone prednisolone (dehydrogenated analogue of hydrocortisone) – on the process of regeneration of freshwater planarian Dugesia lugubris Schmidt, 1861. The hormonal specimens differing on chemical nature and physiological activity have differently directed effect on the processes of regeneration. The rate of proliferation generally depends on the quality of recovering body part. This study confirms that planarians are suitable test objects for a study into the effects of chemicals of different nature on regeneration processes.*

**Ключевые слова:** плоские черви, нейросекреторные гормоны, стероидные гормоны, регенерация, пролиферация.

**Key words:** flatworms, neurosecretory hormones, steroid hormones, regeneration, proliferation.

Регенерация – универсальное свойство всего живого, обеспечивающее восстановление и обновление утраченных структур тела. Планарии – группа просто организованных животных с хорошо развитыми восстановительными возможностями, которые обеспечиваются присутствием в их теле необластов – недифференцированных клеток, лежащих в паренхиме и перемещающихся при повреждениях к раневой поверхности [1–3]. Методики прижизненной морфометрии, разработанные специально для этой группы, позволяют достоверно оценивать динамику процесса восстановления, что делает планарий очень удобным объектом для изучения процессов регенерации [4].

Регуляцию регенерации у планарий осуществляют нейросекреторные гормоны, продуцируемые в разных участках ЦНС. Их химическая природа мало изучена. Есть предположения о сходстве некоторых из них с гормонами позвоночных. Подтверждением этого может служить морфогенетическая активность пептидных гормонов позвоночных, обнаруженная у планарий, а также наличие у них важных элементов АДЦ-системы.

Особую роль в регуляции процессов жизнедеятельности, включая пролиферацию клеток, у позвоночных играют стероидные гормоны. У плоских червей они практически не исследованы. Есть лишь несколько упоминаний о наличии их у трематод [5]. В литературе нет данных о функциональной активности таких соединений у плоских червей. У вышших беспозвоночных стероиды активно участвуют в регуляции процессов обмена, размножения и развития [6; 7].

Восстановление утраченных структур и исходных пропорций тела у планарий может служить моделью для изучения возможностей химического воздействия на ход регенерации. Это имеет особое значение, так как в настоящее время огромное количество химических соедине-



ний, поступающих в окружающую среду, воздействует на рецепторы стероидных гормонов, нарушая гормональный гомеостаз, и, как следствие, процессы роста и развития животных [8].

Цель данной работы – изучение влияния половых стероидных гормонов (прогестерона и тестостерона), а также гормона группы глюкокортикоидов (гидрокортизона) на активность пролиферации у планарий.

### Материал и методика

86

Объектом исследования послужили планарии *Dugesia lugubris* Schmidt, 1861 (Plathelminthes, Turbellaria, Tricladida, Dugesiidae). Условия содержания животных соответствовали стандартным [9].

Был изучен характер воздействия трех медицинских препаратов: двух аналогов половых стероидов – тестостерона (мужской половой гормон группы андрогенов) и прогестерона (женский половой гормон группы прогестинов) и гормона группы глюкокортикоидов – преднизолона (дегидрированный аналог гидрокортизона).

Планариям отсекали переднюю треть тела с головным ганглием. После этого животных рассаживали в сосуды с 25 мл воды. Ход восстановительного процесса у планарий изучали по стандартной методике прижизненной морфометрии [3]. Препарат вводили инсулиновым микрошприцом в корм (личинки мотыля). Доза введенного препарата – 0,1 мл. Рабочие концентрации препаратов определяли в ходе предварительных опытов (прогестерон – 0,025 мг/мл; тестостерон – 0,25 мг/мл; преднизолон – 0,0003 мг/мл).

В качестве показателей скорости регенерации рассматривали линейные размеры отрастающего участка – бластемы и коэффициент регенерации ( $K_p$ ), характеризующий ход восстановления общих пропорций тела.

Объем материала – 180 планарий. Количество регенерантов в каждой группе (декапитированные и сохранившие головной ганглий) – 180 экз. Для каждой экспериментальной группы использовалась отдельная контрольная группа регенерантов.

Для оценки достоверности применяли Т-критерий Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

**Половые стероиды.** На начальных этапах восстановления прогестерон почти не влиял на активность роста бластемы декапитированных участков. Краткий ингибирующий эффект препарата отмечен на четвертый день опыта. С шестых суток действие препарата приобрело обратный характер. Скорость роста бластемы передних регенерантов на ранних сроках тоже не зависела от прогестерона. Наблюдался лишь незначительный ингибирующий эффект. В ходе эксперимента угнетающее действие прогестерона усиливалось (табл. 1).



Таблица 1

## Изменение длины бласты под влиянием прогестерона

Группа	Сутки опыта								
	1-е	2-е	3-е	4-е	5-е	6-е	7-е	8-е	9-е
<i>Декапитированные участки</i>									
Контрольная	0,04 ±0,06	0,09 ±0,02	0,17 ±0,01	0,31 ±0,01	0,38 ±0,02	0,43 ±0,02	0,49 ±0,02	0,51 ±0,02	0,55 ±0,03
Экспериментальная	0,04 ±0,01	0,07 ±0,01	0,15 ±0,01	0,26 ±0,02	0,36 ±0,01	0,57 ±0,01	0,59 ±0,02	0,63 ±0,01	0,64 ±0,02
td	0,06	1,19	1,42	2,05	1,0	6,0	4,12	4,54	2,73
tst	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
<i>Участки с церебральными ганглиями</i>									
Контрольная	0,02 ±0,01	0,05 ±0,01	0,08 ±0,01	0,13 ±0,01	0,15 ±0,02	0,18 ±0,02	0,2 ±0,02	0,26 ±0,02	0,29 ±0,02
Экспериментальная	0,02 ±0,01	0,04 ±0,01	0,07 ±0,01	0,10 ±0,01	0,13 ±0,02	0,15 ±0,02	0,18 ±0,02	0,20 ±0,02	0,22 ±0,03
td	0,20	1,69	0,54	1,46	1,28	0,96	2,39	1,66	2,09
st	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0

87

Эксперимент с тестостероном не выявил достоверных различий между длиной бласты у контрольных и экспериментальных животных. Поэтому мы не приводим здесь соответствующих цифровых данных. Основная тенденция действия гормона — снижение скорости роста бласты.

Прогестерон снижал скорость восстановления пропорций тела у декапитированных участков планарий. У головных регенерантов ингибирующее действие прогестерона сохранялось лишь в течение первых 5 дней. Далее он заметно ускорял внутреннюю перестройку в теле планарий.

Тестостерон тоже менял динамику процесса восстановления пропорций тела. В течение первых двух суток опыта у хвостовых регенерантов гормон незначительно ускорял этот процесс. В дальнейшем значения  $K_p$  у экспериментальных особей колебались относительно контроля. У регенерантов, сохранивших церебральный ганглий, наиболее заметным было ингибирующее действие тестостерона во второй половине опыта (табл. 2).

Таблица 2

Изменение  $K_p$  под влиянием половых стероидов (%)

Стероид	Группа	Сутки опыта								
		1-е	2-е	3-е	4-е	5-е	6-е	7-е	8-е	9-е
Прогестерон	<i>Декапитированные участки</i>									
	Контрольная	0,025	0,026	0,027	0,050	0,025	0,027	0,072	0,011	0,043
	Экспериментальная	0,013	0,010	0,017	0,018	0,014	0,017	0,014	0,013	0,015
	<i>Участки с церебральными ганглиями</i>									
	Контрольная	0,033	0,038	0,069	0,108	0,055	0,038	0,043	0,013	0,035
Экспериментальная	0,015	0,013	0,032	0,051	0,038	0,081	0,008	0,013	0,094	



Окончание табл. 2

Стероид	Группа	Сутки опыта								
		1-е	2-е	3-е	4-е	5-е	6-е	7-е	8-е	9-е
Тестостерон	<i>Декапитированные участки</i>									
	Контрольная	1,2	2,7	4,0	6,4	7,2	7,4	8,1	8,0	9,1
	Экспериментальная	2,1	3,2	4,0	5,7	6,8	7,8	8,1	8,7	9,1
	<i>Участки с церебральными ганглиями</i>									
	Контрольная	1,1	3,2	4,0	5,7	7,1	8,3	8,2	10,4	10,3
Экспериментальная	1,6	3,2	4,9	5,7	7,7	7,4	8,0	6,8	7,2	

88

**Преднизолон.** В первые сутки опыта введение преднизолона вызвало у декапитированных планарий резкое увеличение скорости роста регенерирующего участка. Стимулирующее действие сохранялось вплоть до завершения эксперимента. Однако выявленные различия в этот период не были достоверными. Гормон стимулировал рост бластемы и у передних регенерантов. У них его активность была наиболее яркой на заключительном этапе регенерации (табл. 3).

Таблица 3

## Изменение длины бластемы под влиянием преднизолона

Группа	Сутки опыта								
	1-е	2-е	3-е	4-е	5-е	6-е	7-е	8-е	9-е
<i>Декапитированные участки</i>									
Контрольная	0,17 ±0,07	0,35 ±0,11	0,58 ±0,12	00,86 ±0,18	10,09 ±0,20	10,40 ±0,19	10,51 ±0,20	10,70 ±0,20	10,89 ±0,21
Экспериментальная	,0,31 ±0,06	00,44 ±0,08	00,58 ±0,09	00,96 ±0,19	10,24 ±0,23	10,47 ±0,21	10,69 ±0,17	10,82 ±0,17	10,99 ±0,16
td	0,42	0,86	0,08	0,06	0,32	0,57	0,89	0,18	0,07
tst	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
<i>Участки с церебральными ганглиями</i>									
Контрольная	0,19 ±0,09	0,42 ±0,08	00,64 ±0,10	00,98 ±0,21	10,19 ±0,24	10,35 ±0,26	10,53 ±0,26	10,70 ±0,25	10,85 ±0,25
Экспериментальная	00,23 ±0,05	00,49 ±0,09	00,70 ±0,11	00,93 ±0,15	10,21 ±0,16	10,57 ±0,19	10,84 ±0,18	10,99 ±0,18	20,17 ±0,20
td	0,07	0,44	0,09	0,60	0,13	0,81	0,57	0,51	0,74
st	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0

В первые сутки опыта выявлено стимулирующее влияние преднизолона на величину  $K_p$  у декапитированных особей. Далее соответствующий эффект сохранялся, но степень его воздействия на скорость восстановления исходных пропорций снижалась. У головных участков гормон в течение всего опыта слабо увеличивал скорость регуляции продольных и поперечных осей тела. Исключение – четвертые сутки, когда гормон замедлял этот процесс (табл. 4).



Таблица 4

Изменение  $K_p$  под влиянием преднизолона (%)

Группа	Сутки опыта								
	1-е	2-е	3-е	4-е	5-е	6-е	7-е	8-е	9-е
<i>Декапитированные участки</i>									
Контрольная	1,11	2,34	3,83	5,65	7,17	9,25	9,88	11,15	12,36
Экспериментальная	2,10	3,02	3,94	6,51	8,37	9,78	11,25	12,05	13,16
<i>Участки с церебральными ганглиями</i>									
Контрольная	0,83,	1,85	2,86	4,44	5,41	6,11	6,98	7,77	8,48
Экспериментальная	0,98	2,08	3,05	4,01	5,27	6,94	8,21	8,95	9,80

89

Использованные препараты различной химической природы и физиологической активности морфогенетически эффективны и разнонаправленно воздействуют на ход регенерации исследуемого вида.

Морфогенетический эффект воздействия половых стероидов у позвоночных хорошо известен. Наивысшей ростовой и анаболической активностью обладает тестостерон. У млекопитающих ростовой эффект тестостерона наиболее полно проявляется в период полового созревания [10]. Отсутствие достоверных данных о влиянии тестостерона на активность регенерации планарий в нашем эксперименте можно объяснить введением его уже зрелым планариям, у которых его воздействие на ростовые процессы слабое. Ингибирующее действие тестостерона подтверждается подобным эффектом этого гормона при введении его в среду содержания других беспозвоночных.

Обнаруженное нами стимулирующее действие прогестерона подтверждается его способностью увеличивать скорость митозов и усиливать регенерацию некоторых тканей у позвоночных [11]. Прогестерон обладает и анаболическим эффектом, связанным с увеличением общего количества структурных и функциональных белков в клетке, благодаря чему происходит увеличение ее массы и размеров [12]. Это может быть еще одной причиной его морфогенетической активности.

Противоположный эффект действия данного гормона у передних регенерантов может быть связан с различиями механизмов регуляции регенерационного процесса у разных участков планарий. Его ход осуществляется благодаря участию эндогенных стимулирующих и ингибирующих факторов нейросекреторной природы. В головных регенерантах они синтезируются в церебральном ганглии. Он же определяет скорость и продолжительность их расходования. У хвостовых участков нейросекреторный материал до образования нового ганглия не синтезируется, а выделяется клетками паренхимы, расположенными вдоль брюшных нервных стволов. Только к пятым суткам происходит окончательное формирование нового ганглия и его включение в нейросекреторный механизм управления регенерацией. Сроки активности факторов регенерации в процессе восстановления в разных участках тела тоже различаются [13; 14].



В организме позвоночных глюкокортикоиды в отношении ростовых и анаболических процессов считаются антагонистами ростовых гормонов. Однако в опытах *in vitro* было показано, что низкие концентрации гормона могут стимулировать ростовые и анаболические процессы в соединительнотканых структурах [12]. Этим, возможно, объясняется выявленный нами эффект преднизолонa. Активность продукции глюкокортикоидов у позвоночных определяется гипофизарным адренокортикотропным гормоном (АКТГ).

Установлено, что АКТГ позвоночных может оказывать стимулирующее действие на восстановление нервных волокон и стволов у плоских червей. Нет данных о наличии АКТГ у последних, однако приведенные выше факты, включая сведения о наличии у представителей этой группы эндогенного гидрокортизона [5], тоже могут в определенной степени объяснить выявленный нами стимулирующий эффект его аналога — преднизолонa. Различия в степени и характере его воздействия на хвостовые и головные участки, как и в случае с прогестероном, связаны, скорее всего, с особенностями гормонального обеспечения восстановительного процесса.

На основе имеющихся данных крайне сложно объяснить различия, обнаруженные в характере воздействия примененных гормонов на скорость восстановления исходных пропорций тела регенерирующих планарий. Очевидно, в первую очередь это зависит от особенностей функциональной активности каждого гормона.

Следовательно, использованные в эксперименте стероидные гормональные препараты преднизолон и прогестерон включаются в естественные эндокринные механизмы регуляции процесса регенерации у планарий. Поэтому они могут служить тестами для определения эффектов воздействия химических соединений гормональной природы на процессы регенерации.

#### Список литературы

1. Лиознер Л. Д. Основные проблемы учения о регенерации. М., 1974.
2. Kiyokazu A. Molecular and cellular approaches to planarian regeneration // Zool. Sci. 2002. Vol. 12. P. 1391–1392.
3. Salo E., Baguna J. Regeneration in Planarians and Oter Worms: New 4. Findings, New Tool, and New Perspectives // Exp. zool. 2002. Vol. 35. P. 523–530.
4. Тирас Х. П., Сахарова Н. Ю. Прижизненная морфометрия регенерации планарий // Онтогенез. 1984. Т. 15, № 1. С. 374–380.
5. Кудикина Н. П. Организация эндокринной функции у плоских червей // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. 2011. Вып. 7. С. 126–132.
6. Kudikina N. P. Effekt of Hormonal Compounds on Embryogenesis of the Ponds Snail *Lymnaea stagnalis* (L., 1758) // Russian Journal of Develohement Biology. 2010. Vol. 42, №3. P. 179–184.
7. Кудикина Н. П. Экологические аспекты динамики стероидных гормонов в репродуктивном цикле морских двустворчатых, брюхоногих и головоногих моллюсков // Уч. зап. Казанского гос. ун-та. 2007. Т. 149, кн. 3. С. 214–221.
8. Dodson S. I., Shurin I. B., Girvin K. M. Daphnia reproductive bioassay for testing toxicity of aqueous samples and presence of an endocrine disrupter // Wisconsin Alum. Research Foundation. 2000. №8. P. 76–84.
9. Schurman W., Roland P. Inhibition of regeneration in the planarian *Dugesia polychroa* (Schmidt) by treatment with magnesium chloride: a morphological study of wound closure // Hydrobiologia. 1998. Vol. 383. P. 111–116.



10. Баранов В.Г. Физиология эндокринной системы. Л., 1979.
11. Рослякова Н.А. Влияние прогестерона на митотический цикл эпителия репродуктивных органов. // Медицина : бюл. экспериментальной биологии и медицины. 1970. №10. С. 92 – 95.
12. Розен В.Б. Основы эндокринологии. М., 1994.
13. Тирас Х.П., Шейман И.М. Химические факторы – регуляторы морфогенеза планарий // Онтогенез. 1984. Т. 15, №4. С. 374 – 380.
14. Сахарова Н.Ю., Гордон Р.Я. Нейросекреторная активность в период регенерации планарий // Онтогенез. 1981. Т. 12. С. 152 – 154.

### **Об авторе**

Наталья Петровна Кудикина – канд. биол. наук, доц., Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград.

E-mail: knatpost@mail.ru

### **About author**

Dr Natalya Kudikina, Associate Professor, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad.

E-mail: knatpost@mail.ru