

УДК 576.5:577.3:591.3

ФОРМИРОВАНИЕ РЕГЕНЕРАЦИОННОЙ БЛАСТЕМЫ У ПЛАНАРИИ *GIRARDIA TIGRINA*

¹Тирас Х.П., ¹Петрова О.Н., ²Мякишева С.Н., ³Асланиди К.Б.

¹Пуцинский государственный естественнонаучный институт,

Пуцино, e-mail: tiras1950@yandex.ru;

²ФГБУ «Институт биофизики клетки» РАН, Пуцино, e-mail: myakisheva@mail.ru;

³ФГБУ «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» РАН,

Пуцино, e-mail: kbaslanidi@gmail.com

В работе проведён анализ позиционных различий способности к регенерации отдельных частей тела планарии *Girardia (Dugesia) tigrina*. Показано значение размеров и позиционных различий отдельных фрагментов планарии в их способности к регенерации, а также принципиальное различие в механизмах формирования головных и хвостовых бластем. Предложена схема регенерации, которая включает две популяции плюрипотентных стволовых клеток – необластов, различающихся как ролью, так и распределением вдоль тела планарии. В частности, популяция необластов, участвующая в формировании любой бластемы, мигрирует к ближайшей бластеме, а популяция, участвующая только в создании головной бластемы, мигрирует вдоль участка тела планарии по градиенту биомассы повреждённых аксонов, возникающих после ампутации головного конца. Максимальный размер головной бластемы обнаружен у фрагмента, полученного после рассечения планарии на уровне глаз, а максимальная часть всех плюрипотентных стволовых клеток, мигрирующих в две бластемы, обнаружена у фрагмента, полученного перерезкой планарии на уровне выше ротового отверстия с последующим отсечением головного фрагмента на уровне глаз.

Ключевые слова: планария, регенерация, прижизненная компьютерная морфометрия, площадь проекции фрагмента, бластема, необласт, пролиферация, специализация, апоптоз, миграция

THE FORMATION OF THE REGENERATION BLASTEMA IN PLANARIANS *GIRARDIA TIGRINA*

¹Tiras K.P., ¹Petrova O.N., ²Myakisheva S.N., ³Aslanidi K.B.

¹Pushchino State Institute of Natural Sciences, Puschino, e-mail: tiras1950@yandex.ru;

²Institute of Cell Biophysics Russian Academy of Sciences, Puschino, e-mail: myakisheva@mail.ru;

³Institute of Theoretical and Experimental Biophysics Russian Academy of Sciences Puschino,
e-mail: kbaslanidi@gmail.com

The aim of the work was to analyze the positional differences in the ability to regenerate body parts in planarian *Girardia (Dugesia) tigrina*. It will be shown the value of the size and position of individual fragments of planarians differences in their ability to regenerate, and the fundamental difference in the mechanisms of formation of head and tail blasts. The proposed scheme of regeneration includes two populations of pluripotent stem cells – neoblasts differing as the role and distribution along the planarian body. Based on the results of the scheme of planarian regeneration, including two populations neoblasts differing as the role and distribution along the planarian body. In particular, the population neoblasts involved in the formation of any blastema, migrates to the nearest blastema, and the population participating only in the creation of blastema head migrates along the planarian body part on a gradient of biomass damaged axons arising after the amputation of the head. The maximum size of the head detected in blastema fragment obtained after cutting head fragment at eye level, and the maximum of all pluripotent stem cells migrating into two blastema, found in fragment obtained planarians transection at the level above the mouth, followed by cutting off the head piece at eye level.

Keywords: planaria, regeneration, computer morphometry lifetime, the projected area of the fragment, blastema, neoblasts, proliferation, specialization, apoptosis, migration

Планарии являются классической модельной системой для изучения регенерации и биологии стволовых клеток [17, 18, 23]. Предлагается даже использовать планарий в качестве удобного объекта для изучения биологии стволовых клеток студентами [26]. Однако данные о потенциальной способности к регенерации разных частей тела планарии фрагментарные и часто противоречивые [9, 11, 23]. Известно, что после травмы необласты фагоцитируют, пролиферируют и мигрируют,

образуя непигментированный бутон регенерирующей ткани – бластему [11, 20], но мнения исследователей расходятся в вопросах оптимизации условий эксперимента, изменения размеров регенерирующего фрагмента в процессе регенерации, взаимовлияния головных и хвостовых бластем и т.д. [7, 9, 11, 18, 21, 23, 26]. Другими словами, надёжные количественные оценки регенеративных возможностей различных фрагментов тела *Girardia tigrina* отсутствуют.

Целью работы было сравнение бластем, формирующихся на отдельных частях тела планарии *Girardia (Dugesia) tigrina*. Ниже будет показано значение размеров и позиционных различий отдельных фрагментов тела планарии в их способности к регенерации, а также принципиальное различие в механизмах формирования головных и хвостовых бластем. Предложенная схема регенерации включает две популяции плюрипотентных стволовых клеток – необластов, различающихся как ролью, так и распределением вдоль тела планарии.

Материалы и методы исследования

В экспериментах использовали бесполоую расу пресноводных червей – планарий *D. (Girardia) tigrina*. Планарий содержали в аквариумной воде при жесткости $dH \approx 1,0\text{--}2,0$ мг экв/л, $pH \approx 6,5$ и температуре 26°C . Кормили личинками двукрылых. Для экспериментов отбирали животных длиной 10–11 мм после недельного голодания [2, 5]. Регенерацию вызывали ампутацией некоторой части тела планарии. В каждой серии экспериментов обычно использовали по 30 особей, помещаемых в пластиковую чашку Петри ($d = 40$ мм), содержащую 13 мл аквариумной воды. Для количественной оценки результата регенерации использовали метод прижизненной компьютерной морфометрии, основанный на регистрации фотоконтраста между старыми и новыми частями тела регенерирующей планарии [2, 5, 6, 7]. Площади проекции бластем измеряли через 72 ч после операции. Изображения планарий получали с помощью бинокулярного микроскопа Stemi 2000-C, оснащенного цифровой видеокамерой AxioCamMRc (фирма Carl Zeiss). Оцифрованные изображения регенерирующих планарий обрабатывали в программе Plana 5.0 [3, 4]. Значения длин и площадей проекции бластемы и регенерирующего фрагмента обрабатывали в программе Microsoft Office Excel 2010. Для каждой модели регенерации (M1–M11), представляющей группу из 22–28 регенерирующих фрагментов, определяли среднее значение параметра и стандартное отклонение от среднего.

Схематические изображения моделей регенерации (M1–M11) и планарий *G. tigrina* (рис. 1) позволяют оценить размеры и положение каждого регенерирующего фрагмента относительно головного конца.

На основании значений длин и площадей проекций регенерирующих фрагментов вычисляли координаты раневых поверхностей относительно головного конца. В качестве количественного критерия развития бластемы использовали абсолютное значение площади проекции бластемы s или относительное значение размера бластемы, введенное ранее как коэффициент регенерации $R = (s/S) 100\%$, где S – площадь проекции бластемы, s – площадь проекции регенерирующего фрагмента [2, 5]. При этом было показано, что увеличение площади проекции бластемы является результатом пролиферации и миграции плюрипотентных стволовых клеток через раневую поверхность. [2, 5]. Экспериментальные результаты и дальнейшие рассуждения приведены в предположении о пропорциональности объемов бластем и регенерирующих фрагментов соответствующим регистрируемым площадям проекций [3, 4]. Модели M1 и M9, M2 и M10, а также M3 и M11 получали из одной особи одним

рассечением. Для получения моделей M4–M8 на первом этапе ампутировали хвостовой конец, а затем у продолжающей равномерное движение планарии удаляли головной конец. Для получения моделей M4 и M5, а также M7 и M8 также использовали по одному фрагменту. При этом в экспериментах вместо 330 использовали только 180 планарий, из которых удалось получить 277 качественных изображений регенерирующих фрагментов (рис. 1).

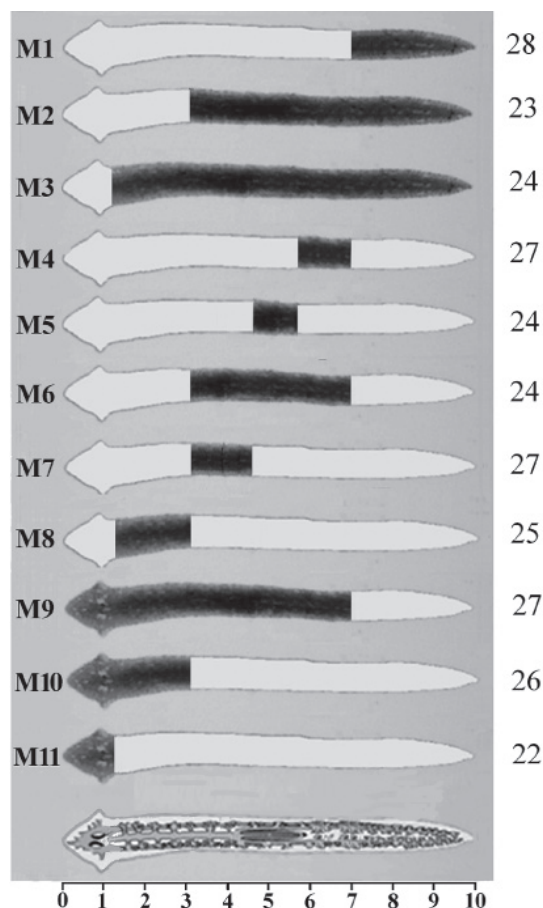


Рис. 1. Модели регенерации планарий. Цифры справа от изображений означают количество фрагментов, использованных в экспериментах на соответствующих моделях. Номера моделей от M1 до M11 проставлены слева перед схематическими изображениями фрагментов.

Регенерирующие фрагменты окрашены в темные цвета, а ампутированные части – в светлые. Внизу рисунка представлена схема строения планарии, включающая глаза, нервные ганглии, нервные стволы, ветви кишечника и глотку, а также линейка, позволяющая оценивать расстояния от головного конца до места отсечения

Результаты исследования и их обсуждение

Определены регенерационные возможности 11 фрагментов, полученных посредством пяти сечений тела планарии на разных расстояниях от головного конца.

Площади проекции регенерирующих фрагментов, представленных на рис. 1, составляли относительно интактной особи от 83 % у модели М3, до 11 % у модели М5, площадь проекции бласты не превышала 2,7%.

фрагментов (М4–М11) были одинаковыми и не зависели от величины фрагментов. Зависимости площадей головных s_r и хвостовых бластем s_x от длин регенерирующих фрагментов представлены на рис. 2.

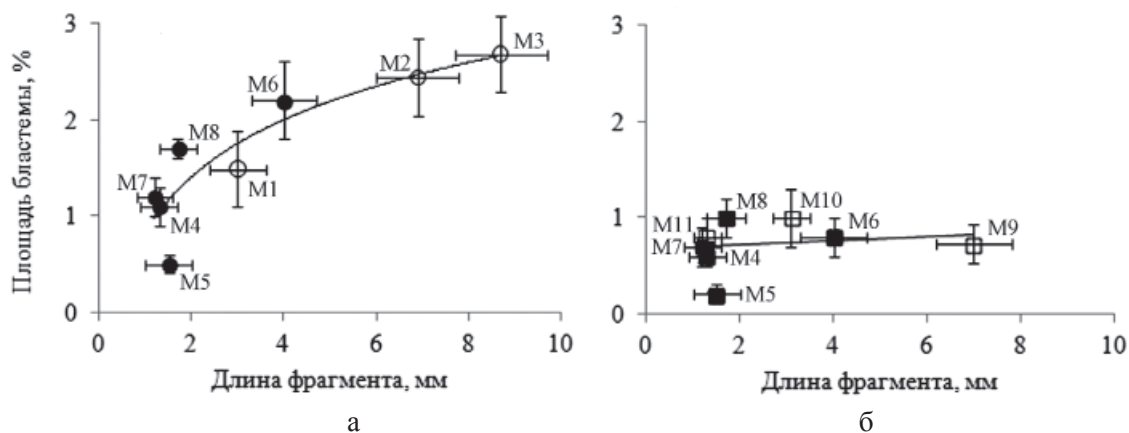


Рис. 2. Зависимости площадей головных (а) и хвостовых (б) бластем от длин регенерирующих фрагментов:

○ – площади головных бластем s_r , □ – площади хвостовых бластем s_x . Площади головных и хвостовых бластем, развивающиеся на двухбластных фрагментах, обозначены заштрихованными маркерами. М1–М11 – номера соответствующих моделей

Площади проекции головных бластем s_r у всех фрагментов были больше площадей хвостовых бластем s_x . Минимальная площадь хвостовой бласты s_x составила 0,2% у модели М5, а максимальная площадь головной бласты s_r достигала 2,7% в модели М3.

Максимальная сумма площадей головной и хвостовой бластем составила 3,0% у модели М6. У фрагментов, имеющих одну головную бласту (М1–М3), площади бластем были пропорциональны площадям соответствующих регенерирующих фрагментов, а у фрагментов, имеющих одну хвостовую бласту (М9–М11), площади бластем не зависели от площадей регенерирующих фрагментов. У модели М6 сумма площадей двух бластем составляла абсолютный максимум развития бластем. Эта модель обладала самой большой площадью регенерирующего фрагмента из моделей, имеющих две раневые поверхности. Площади головных бластем как у однобластных, так и у двухбластных регенерирующих фрагментов существенно менялись вдоль тела планарии. Максимальный размер головной бласты был зарегистрирован вблизи головного конца, а минимальный – у хвостового конца. Размеры головных бластем у всех регенерирующих фрагментов (М1–М8) увеличивались по мере увеличения длин соответствующих регенерирующих фрагментов, а размеры хвостовых бластем у всех регенерирующих

Таким образом, результаты измерений свидетельствуют о том, что размеры головных бластем увеличивались по мере увеличения размеров соответствующих регенерирующих фрагментов, а размеры хвостовых бластем практически не зависели от размеров регенерирующих фрагментов и не имели позиционных различий. Эти результаты указывают на различные механизмы формирования головных и хвостовых бластем. Для объяснения полученных результатов необходимо рассмотреть строение планарии и последовательность событий, приводящих к развитию бластем в процессе регенерации.

Планария на 70–80% состоит из нескольких типов дифференцированных клеток, в частности нескольких типов нейронов, нейросекреторных клеток, рецепторных клеток, различных мышечных клеток, эпителиальных клеток поверхности, клеток кишечного эпителия и клеток выделительной системы – нефридий. Остальные 20–30% клеток в теле планарии составляют стволовые клетки – необласты [17, 19, 23], которые являются источником всех без исключения клеток взрослого организма планарии. Все необласты способны к пролиферации и, в частности, экспрессируют ген *smadwi-1*, который кодирует белок семейства PIWI. Этот ген служит каноническим маркером всех необластов [19, 23]. Кроме того, в некоторых необластах

экспрессировались и гены тканеспецифических факторов транскрипции, в частности гены, специфичные для мышечной ткани, различных нейронов, зрительных рецепторов, нефридий и т.д. Идентифицирована большая коллекция факторов транскрипции (более 40 генов), экспрессирующихся в небольших подмножествах неопластов, участвующих в регенерации [20, 23, 25]. Нервная система планарии состоит из головного ганглия и двух нервных стволов, проходящих вдоль всего тела и соединённых перемычками, образуемыми аксонами нейронов периферических ганглиев. В головном ганглии сосредоточены тела эффекторных нейронов, аксоны которых проходят внутри нервных стволов и оканчиваются на мышцах во всём объёме планарии. Неопласты, мышечные клетки, поверхностные эпителиальные клетки, клетки кишечного эпителия, а также клетки нефридий практически равномерно распределены вдоль тела планарии [1, 17, 23]. Эти особенности анатомического строения планарии во многом, как будет показано ниже, определяют процесс регенерации. Схема первичных этапов регенерации представлена на рис. 3.

вичные неопласты (аналог тотипотентных стволовых клеток) преобразуются, прямо или опосредованно, в специализированные неопласты (аналог мультипотентных стволовых клеток) [12, 19].

На рис. 3 интактная планария (А) схематически изображена в виде центрального и периферического нейронов, неспециализированных неопластов, клеток нефридий и мышечных клеток. Рассечение по пунктирной линии приводит к повреждению аксонов как центральных, так и периферических нейронов, мембран клеток нефридий и мышечных клеток, расположенных по линии рассечения. При этом образуются фрагменты: головной регенерирующий фрагмент (В) и хвостовой регенерирующий фрагмент (С). На головном регенерирующем фрагменте формируется хвостовая бластема, а на хвостовом регенерирующем фрагменте – головная бластема.

Механическая травма приводит к повреждению плазматических мембран клеток, прилегающих к раневой поверхности, к утечке ионов калия в межклеточную среду и деполяризации неповрежденных мышечных клеток, что вызывает сокращение

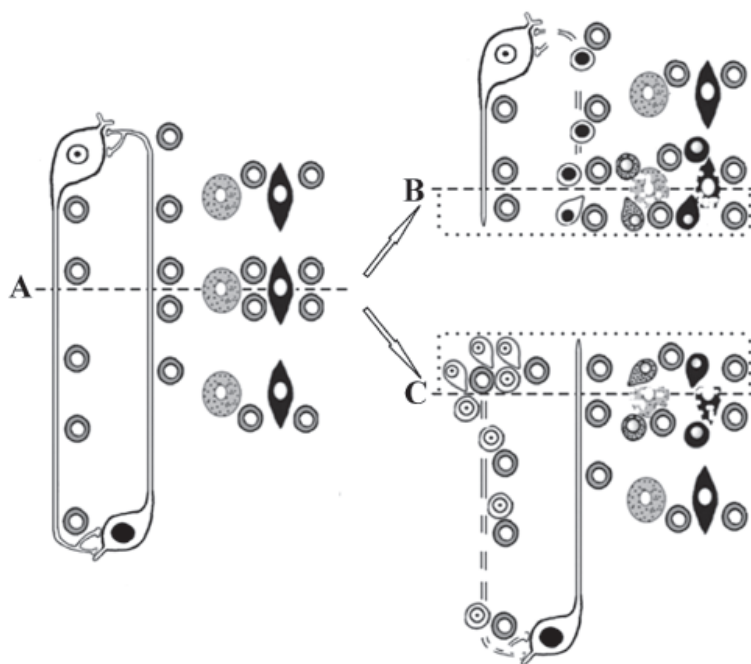


Рис. 3. Схема специализации неопластов при поперечном рассечении планарии:
А – интактная планария. Головной конец вверху; В – формирование хвостовой бластемы на головном фрагменте; С – формирование головной бластемы на хвостовом фрагменте

Важнейший шаг в процессе регенерации планарий – первичная специализация неопластов, формирующих бластему [19, 20, 23, 25]. В процессе регенерации пер-

мышц и закрытие раны в течение нескольких минут [13]. Наличие щелевых межклеточных контактов позволяет деполяризации распространиться на расстояние нескольких

размеров клетки [14, 15, 18], что для животных клеток обычно не превышает 0,5 мм [16]. Важность этого типа межклеточной коммуникации показали с помощью блокады щелевых контактов, приводящей к нарушению регенерации [10, 15, 18]. Деполяризация, распространяющаяся через щелевые контакты от механически поврежденных клеток, приводит к изменению ионного состава интактных клеток. Для интактных клеток, соединённых с повреждёнными клетками проницаемыми контактами, рассечение планарии эквивалентно увеличению пассивной проницаемости плазматической мембраны или уменьшению активности Na-K-АТФазы, что приводит к увеличению внутриклеточных активностей ионов натрия и кальция, а также к уменьшению внутриклеточного калия [14, 15, 22]. Развивающийся окислительный стресс модулирует экспрессию генов, связанных с травмой, индуцирует гибель повреждённых клеток, пролиферацию и первичную специализацию необластов [12, 13, 23].

Клетки, механически поврежденные при фрагментировании тела планарии, гибнут по механизму некроза или апоптоза. Некроз проявляется в набухании, денатурации и коагуляции цитоплазматических белков, разрушении клеточных органелл и, наконец, всей клетки. Клетки, следующие механизму программируемой клеточной гибели, фрагментируются на отдельные апоптотические тельца, ограниченные плазматической мембраной, а затем уничтожаются по механизму каспаза – независимого апоптоза, называемого аутофагией. Фрагменты погибших клеток фагоцитируются близлежащими необластами в течение 1–3 часов [19, 23].

Отметим, что любая поперечная перерезка тела планарии создает асимметрию регенерирующих фрагментов по некоторым типам повреждённых клеток. На границе раневой поверхности головного регенерирующего фрагмента (В) имеются повреждённые клетки нефридий, мышечные клетки и необласты, а в глубине регенеранта располагаются тела центральных нейронов с повреждёнными аксонами и аксоны периферических нейронов, лишённые клеточных тел. Вблизи раневой поверхности хвостового регенерирующего фрагмента (С) также находятся повреждённые клетки нефридий, мышечные клетки и необласты, а в глубине – повреждённые аксоны центральных нейронов, а также тела и повреждённые аксоны периферических нейронов. Некоторая часть клеток нефридий, мышечных и эпителиальных клеток, а также необластов в глубине обоих фрагментов (В и С) не повреждается.

Нарушение целостности плазматических мембран центральных и периферических нейронов, необластов, клеток нефридий, мышечных и эпителиальных клеток приводит к деполяризации мембран этих клеток и развитию окислительного стресса. Через щелевые контакты или межклеточную среду будут активированы необласты, расположенные на расстоянии до 0,5 мм [14, 16, 22] от поврежденных брюшных нервных стволов, т.е. практически необласты будут активироваться во всем объеме обоих регенерирующих фрагментов, что и наблюдается в эксперименте [25].

Неспециализированные необласты в головном регенерирующем фрагменте (В), фагоцитируют повреждённые эпителиальные и мышечные клетки, специализируются, пролиферируют и мигрируют в хвостовую бластему. В формировании хвостовой бластемы принимают участие также необласты, получившие первичную специализацию в процессе фагоцитоза аксонов периферических нейронов, прорастающие аксоны центральных нейронов, а также неспециализированные необласты. В хвостовом регенерирующем фрагменте (С) неспециализированные необласты фагоцитируют повреждённые эпителиальные и мышечные клетки, а также повреждённые аксоны центральных нейронов, специализируются, пролиферируют и мигрируют в головную бластему. В головную бластему также мигрируют неспециализированные необласты и прорастают аксоны периферических нейронов.

Результаты наших экспериментов, представленные на рис. 2, убедительно показали, что объём головной бластемы в значительной степени зависит от длины регенерирующего фрагмента. Если допустить, что объём необластов, мигрирующих в бластему пропорционально объёму фагоцитированных клеточных фрагментов, следует признать, что в формировании головной бластемы (рис. 3, С) существенный вклад вносят необласты, получившие первичную специализацию при фагоцитировании повреждённых клеточных элементов в глубине регенерирующего фрагмента, т.е. аксонов центральных нейронов. Отметим, что только объём повреждённых аксонов центральных нейронов, в отличие от всех других тканей, растёт с увеличением длины регенерирующего хвостового фрагмента, а размеры хвостовой бластемы, формирующейся на головном регенерирующем фрагменте (В), не зависят от количества повреждённых аксонов периферических нейронов и количества прорастающих аксонов центральных нейронов.

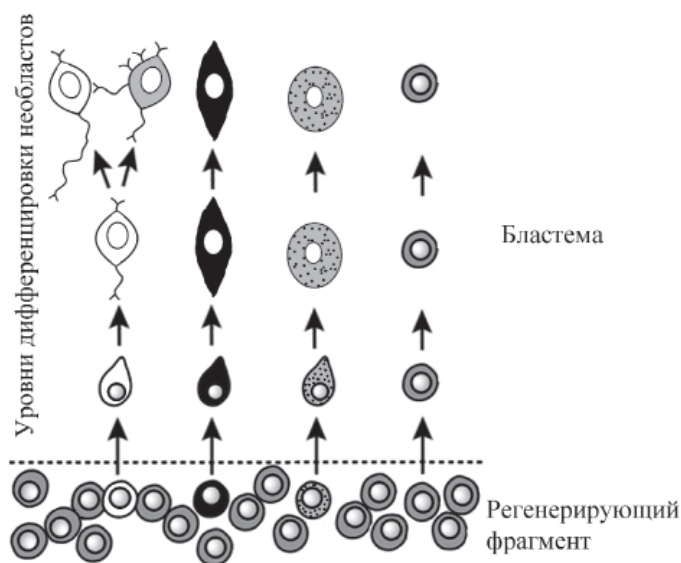


Рис. 4. Схема специализации и дифференцировки необластов в бластеме

Дальнейшая специализация необластов происходит в бластеме. Недифференцированные клетки бластемы являются потомством разных необластов. Как в головной, так и в хвостовой бластеме присутствуют необласты, прошедшие первичную специализацию на нервные клетки, мышечные клетки, клетки нефридиев и неспециализированные необласты (рис. 4).

Очевидно, что только головная бластема содержит специализированные необласты, участвующие в формировании центральной нервной системы или глаз. Другие специализированные необласты, необходимые, в частности, для формирования мышечной, пищеварительной и выделительной систем, а также неспециализированные необласты, должны содержаться как в головной, так и в хвостовой бластеме (рис. 4). Эти плюрипотентные клетки в бластеме при определенных условиях преобразуются в полностью дифференцированные клетки [19, 25]. При этом некоторые факторы транскрипции могут экспрессироваться под влиянием локального клеточного окружения, в частности, благодаря проницаемым межклеточным контактам [10, 14, 18, 22].

Уже в ранних исследованиях по морфологии регенерирующих планарий отмечалось, что после удаления головного конца необласты скапливались вдоль остаточных нервных волокон центральных нейронов и двигались в сторону раневой поверхности, где окружали нервные волокна периферических нейронов, прорастающие из регенерирующего фрагмента, и формировали нервные ганглии [1, 8]. Более того, уже

тогда было высказано предположение, что контакт с нервными стволами индуцирует в необластах дифференцировку в нервные клетки [8]. Действительно, специализация необластов начинается в процессе фагоцитоза поврежденных дифференцированных тканей, т.е. необласты, фагоцитирующие дегенерирующие нервные стволы центральных нейронов, после митоза экспрессируют нейронные факторы транскрипции, а необласты, фагоцитирующие поврежденные мышечные клетки, получают первичную мышечную специализацию. Другими словами, первичная специализация необластов определяется фагоцитируемыми клетками [24].

Таким образом, головная бластема формируется двумя популяциями необластов: необластами, фагоцитирующими и пролиферирующими вблизи раневой поверхности, и необластами, фагоцитирующими поврежденные центральные аксоны вдоль всего регенерирующего фрагмента, а затем мигрирующими к раневой поверхности (рис. 3), а хвостовая бластема — только из необластов, фагоцитирующих и пролиферирующих вблизи раневой поверхности. Это заключение сделано на основании следующих экспериментальных результатов (рис. 2):

- размеры головных бластем у всех фрагментов были больше, чем у хвостовых бластем;
- размеры головных бластем увеличивались по мере увеличения размеров соответствующих регенерирующих фрагментов;
- размеры хвостовых бластем практически не зависели от размеров регенерирующих фрагментов и от расстояния до головного конца;

● максимальный размер головной бластемы у однобластных фрагментов был зарегистрирован вблизи головного конца (МЗ), а минимальный – у хвостового конца (М1).

Отметим, что благодаря применению метода прижизненной компьютерной морфометрии выявлено принципиальное различие в механизмах формирования головных и хвостовых бластем регенерирующих планарий. На основании этих результатов предложена схема регенерации планарии, включающая две популяции необластов, различающихся как ролью, так и распределением вдоль тела планарии.

Проведенные исследования подтвердили, что преобразование площади проекции регенерирующего фрагмента в площадь проекции бластемы отражает миграцию плюрипотентных стволовых клеток. При этом регенерационные возможности 11 фрагментов, полученных посредством пяти сечений тела планарии на разных расстояниях от головного конца, были весьма разнообразны.

Максимальный размер головной бластемы обнаружен у фрагмента, полученного после отсечения головного фрагмента на уровне глаз, а максимальная часть всех плюрипотентных стволовых клеток, мигрирующих в две бластемы, обнаружена у фрагмента, полученного перерезкой планарии на уровне выше ротового отверстия с последующим отсечением головного фрагмента на уровне глаз.

Полученные результаты могут использоваться для картирования экспрессии факторов транскрипции необластов вдоль тела планарии.

Работа поддержана грантами РФФИ № 15-29-01135 и Госзадания Министерства образования и науки РФ, № 2912.

Список литературы

1. Богоровская Г.И. Регенерация нервной системы планарий *Ijimia tenuis* // Цитология. – 1969. – № 11. – С. 964–972.
2. Тирас Х.П. Морфогенез и способы регенерации планарий. // Журнал общей биологии. – 1986. – № 47(1). – С. 103–109.
3. Тирас Х.П., Петрова О.Н., Мякишева С.Н., Асланиди К.Б. Биологические эффекты слабых магнитных полей: сравнительный анализ // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 12 (часть 7). – С. 1442–1451.
4. Тирас Х.П., Петрова О.Н., Мякишева С.Н., Дев А.А., Асланиди К.Б. Минимизация погрешностей морфометрии регенерирующих планарий // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 2 (часть 7). – С. 1412–1416.
5. Тирас Х.П., Сахарова Н.Ю. Прижизненная морфометрия регенерации планарий // Онтогенез. – 1984. – № 15(1). – С. 42–48.
6. Тирас Х.П., Скавуляк А.Н., Асланиди К.Б., Иваницкий Г.Р. Почему эффекты от воздействия слабых комбинированных магнитных полей на биосистемы не всегда воспроизводимы? // ДАН. – 2012. – № 443(6). – С. 1–3.
7. Тирас Х.П., Хачко В.И. Показатели и стадии регенерации планарий // Онтогенез. – 1990. – № 21 (6). – С. 620–624.
8. Шейман И.М. Регуляторы морфогенеза и их адаптивная роль. – М.: Наука, 1984. – 174 с.
9. Шейман И.М., Крещенко Н.Д. Регенерация у планарий: экспериментальный объект // Онтогенез. – 2015. – № 46(1). – С. 3–12.
10. Adell T., Cebrià F., Saló E. Gradients in planarian regeneration and homeostasis // Cold Spring Harb Perspect Biol. – 2010. – Jan;2(1):a000505. doi: 10.1101/cshperspect.a000505.
11. Adler C.E., Seidel C.W., McKinney S.A., Sánchez Alvarado A. Selective amputation of the pharynx identifies a FoxA-dependent regeneration program in planaria. – Elife. – 2014. – 3:e02238. doi: 10.7554/eLife.02238.
12. Agata K., Tasaki J., Nakajima E., Umesono Y. Recent identification of an ERK signal gradient governing planarian regeneration // Zoology. – 2014. – № 117 (3). – P. 161–162.
13. Almuedo-Castillo M., Crespo X., Seebeck F., Bartscherer K., Saló E., Adell T. JNK controls the onset of mitosis in planarian stem cells and triggers apoptotic cell death required for regeneration and remodeling // PLoS Genet. – 2014. – Jun 12; 10(6): e1004400.
14. Aslanidi K.B., Boitzova L.Ju., Ion interaction through permeable cell-to-cell junction in mammalian cells. In: Intercellular communication // Proceedings in nonlinear science, Manchester University Press. – 1991. – P. 3–11.
15. Aslanidi K.B., Boitzova L.Ju., Chailakhyan L.M., Kublik L.N., Marachova I.I., Potapova T.V., Vinogradova T.A. Energetic cooperation via ion-permeable junctions in mixed cell cultures. // FEBS Letters. – 1991. – № 283(2). – P. 295–297.
16. Aslanidi K.B., Vachadze D.M., Zamyatnin A.A., Pozharskaya T.R., Rochev Yu.A., Selezneva I.I., Tsyganov M.A., Chailakhyan L.M. Compartmentation determines dynamics of multicellular systems growth // Membr. and Cell Biol. – 1996. – № 10(3). – P. 311–321.
17. Baguna J. The planarian neoblast: the rambling history of its origin and some current black boxes // Int J Dev Biol. – 2012. – vol. 56(1–3). – C. 19–37. doi: 10.1387/ijdb.113463jb.
18. Barghouth P.G., Thiruvalluvan M., Oviedo N.J. Bioelectrical regulation of cell cycle and the planarian model system. – Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes. – 2015. – doi:10.1016/j.bbmem.
19. González-Estévez C., Saló E. Autophagy and apoptosis in planarians // Apoptosis. – 2010. – № 15(3). – P. 279–292.
20. Lapan S.W., Reddien P.W. Transcriptome analysis of the planarian eye identifies ovo as a specific regulator of eye regeneration // Cell Rep. – 2012. – № 2 – P. 294–307.
21. Mead R.W. Proportioning and Regeneration in Fissioned and Unfissioned Individuals of the Planarian *Dugesia tigrina*. // The Journal of Experimental Zoology – 1985. – № 235. – C. 45–54.
22. Potapova T.V., Aslanidi K.B., Boitzova L.Ju. Energy transfer via cell-to-cell junction: Ouabain-resistant cells maintain a membrane potential in ouabain-sensitive cells // FEBS Letters. – 1990. – № 262(1). – P. 69–71.
23. Roberts-Galbraith RH, Newmark PA. On the organ trail: insights into organ regeneration in the planarian // Curr Opin Genet Dev. – 2015. – № 32. – C. 37–46.
24. Reddien P.W. Specialized progenitors and regeneration // Development. – 2013. – № 140(5). – P. 951–957.
25. Scimone M.L., Kravarik K.M., Lapan S.L., Reddien P.W. Neoblast Specialization in Regeneration of the Planarian *Schmidtea mediterranea* // Stem Cell Reports. – 2014. – № 3(2). – P. 339–352.
26. Srougi M.C., Thomas-Swanik J., Chan J.D., Marchant J.S., Carson S. Making heads or tails: planarian stem cells in the classroom // J Microbiol Biol Educ. – 2014. – № 15(1). – P. 18–25.

References

1. Bogorovskaja G.I. Regeneracija nervnoj sistemy planarij *Ijmia tenuis* // *Citologija*. 1969. no. 11. pp. 964–972.
2. Tiras H.P. Morfogenez i sposoby regeneracii planarij. // *Zhurnal obshhej biologii*. 1986. no. 47(1). pp. 103–109.
3. Tiras H.P., Petrova O.N., Mjakisheva S.N., Aslanidi K.B. Biologicheskie jeffekty slabych magnitnyh polej: sravnitelnyj analiz // *Fundamentalnye issledovanija*. 2014. no. 12 (chast 7). pp. 1442–1451.
4. Tiras H.P., Petrova O.N., Mjakisheva S.N., Deev A.A., Aslanidi K.B. Minimizacija pogreshnostej morfometrii regenerirujushhih planarij // *Fundamentalnye issledovanija*. 2015. no. 2 (chast 7). pp. 1412–1416.
5. Tiras H.P., Saharova N.Ju. Prizhiznennaja morfometrija regeneracii planarij // *Ontogenez*. 1984. no. 15(1). pp. 42–48.
6. Tiras H.P., Skavuljak A.N., Aslanidi K.B., Ivanickij G.R. Pochemu jeffekty ot vozdejstvija slabych kombinirovannyh magnitnyh polej na biosistemy ne vseгда vosproizvodimy? // *DAN*. 2012. no. 443(6). pp. 1–3.
7. Tiras H.P., Hachko V.I. Pokazateli i stadii regeneracii planarij // *Ontogenez*. 1990. no. 21 (6). pp. 620–624.
8. Shejman I.M. Reguljatory morfogeneza i ih adaptivnaja rol. M.: Nauka, 1984. 174 p.
9. Shejman I.M., Kreshhenko N.D. Regeneracija u planarij: jeksperimentalnyj obekt // *Ontogenez*. 2015. 46(1). C. 3–12.
10. Adell T., Cebrià F., Saló E. Gradients in planarian regeneration and homeostasis // *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010 Jan; 2(1): a000505. doi: 10.1101/cshperspect.a000505.
11. Adler C.E., Seidel C.W., McKinney S.A., Sánchez Alvarado A. Selective amputation of the pharynx identifies a FoxA-dependent regeneration program in planaria. *Elife*. 2014 3:e02238. doi: 10.7554/eLife.02238.
12. Agata K., Tasaki J., Nakajima E., Umesono Y. Recent identification of an ERK signal gradient governing planarian regeneration // *Zoology*. 2014. no. 117 (3). pp. 161–162.
13. Almuedo-Castillo M., Crespo X., Seebeck F., Barscherer K., Saló E., Adell T. JNK controls the onset of mitosis in planarian stem cells and triggers apoptotic cell death required for regeneration and remodeling // *PLoS Genet*. 2014. Jun 12; 10(6): e1004400.
14. Aslanidi K.B., Boitzova L.Ju., Ion interaction through permeable cell-to-cell junction in mammalian cells. In: *Intercellular communication* // *Proceedings in nonlinear science*, Manchester University Press. 1991. pp. 3–11.
15. Aslanidi K.B., Boitzova L.Ju., Chailakhyan L.M., Kublik L.N., Marachova I.I., Potapova T.V., Vinogradova T.A. Energetic cooperation via ion-permeable junctions in mixed cell cultures. // *FEBS Letters*. 1991. no. 283(2). pp. 295–297.
16. Aslanidi K.B., Vachadze D.M., Zamyatnin A.A., Pozharskaya T.R., Rochev Yu.A., Selezneva I.I., Tsyganov M.A., Chailakhyan L.M. Compartmentation determines dynamics of multicellular systems growth // *Membr. and Cell Biol*. 1996. no. 10(3). pp. 311–321.
17. Baguna J. The planarian neoblast: the rambling history of its origin and some current black boxes // *Int J Dev Biol*. 2012. Vol. 56(1–3). pp. 19–37. doi: 10.1387/ijdb.113463jb.
18. Barghouth P.G., Thiruvalluvan M., Oviedo N.J. Bioelectrical regulation of cell cycle and the planarian model system. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Biomembranes*. 2015. doi: 10.1016/j.bbamem.
19. González-Estévez C., Saló E. Autophagy and apoptosis in planarians // *Apoptosis*. 2010. no. 15(3). pp. 279–292.
20. Lapan S.W., Reddien P.W. Transcriptome analysis of the planarian eye identifies ovo as a specific regulator of eye regeneration // *Cell Rep*. 2012. no. 2. pp. 294–307.
21. Mead R.W. Proportioning and Regeneration in Fissioned and Unfissioned Individuals of the Planarian *Dugesia tigrina*. // *The Journal of Experimental Zoology*. 1985. no. 235. pp. 45–54.
22. Potapova T.V., Aslanidi K.B., Boitzova L.Ju. Energy transfer via cell-to-cell junction: Ouabain-resistant cells maintain a membrane potential in ouabain-sensitive cells // *FEBS Letters*. 1990. no. 262(1) pp. 69–71.
23. Roberts-Galbraith RH, Newmark PA. On the organ trail: insights into organ regeneration in the planarian // *Curr Opin Genet Dev*. 2015. no. 32. pp. 37–46.
24. Reddien P.W. Specialized progenitors and regeneration // *Development*. 2013. no. 140(5). pp. 951–957.
25. Scimone M.L., Kravarik K.M., Lapan S.L., Reddien P.W. Neoblast Specialization in Regeneration of the Planarian *Schmidtea mediterranea* // *Stem Cell Reports*. 2014. no. 3(2). pp. 339–352.
26. Srougi M.C., Thomas-Swanik J., Chan J.D., Marchant J.S., Carson S. Making heads or tails: planarian stem cells in the classroom // *J Microbiol Biol Educ*. 2014. no. 15(1). pp. 18–25.

Рецензенты:

Зинченко В.П., д.б.н., заведующий лабораторией внутриклеточной сигнализации, ФГБУ «Институт биофизики клетки» Российской академии наук, г. Пущино;

Буданцев А.Ю., д.б.н., профессор, главный научный сотрудник, ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» Российской академии наук, г. Пущино.