

УДК 591; 577.175.823

<https://doi.org/10.31016/978-5-6048555-6-0.2023.24.229-234>

МЕЛАТОНИН СТИМУЛИРУЕТ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ ФОТОРЕЦЕПТОРОВ В ХОДЕ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЛАНАРИЙ *SCHMIDTEA MEDITERRANEA*

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

студент

Аннотация

У планарий *Schmidtea mediterranea* (Turbellaria, Platyhelminthes) на головном конце тела имеется пара глаз, состоящих из пигментированных и фоторецепторных клеток и способных к регенерации. Работа представляет собой исследование влияния мелатонина на дифференцировку фоторецепторов после декапитации планарий. В ходе эксперимента у червей отрезали головной конец размером 1/6 длины тела и наблюдали за регенерацией глаз на 3-й, 4-й и 5-й дни регенерации. В ходе наблюдения были выявлены разные стадии дифференцировки фоторецепторов, такие как: наличие двух глаз у регенерирующих планарий, планарии с одним глазом или планарии без глаз. У большинства животных вновь сформированные фоторецепторы были видны у животных уже на 4-й день после операции. У подопытных планарий, подвергшихся воздействию мелатонина в концентрациях 1 и 0,1 мМ, наблюдали ускорение процесса дифференцировки фоторецепторов в ходе регенерации. Стимулирующий эффект мелатонина был выявлен в трех группах животных на 3-й и 4-й дни после отсечения головного конца тела. Исследование будет продолжено для оценки механизмов действия мелатонина на регенерацию планарий.

Ключевые слова: планарии, регенерация, фоторецепторы, мелатонин

¹ Институт биофизики клетки Российской академии наук – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский 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)

**MELATONIN STIMULATES PHOTORECEPTOR
DIFFERENTIATION IN REGENERATION OF PLANARIAN
*SCHMIDTEA MEDITERRANEA***

Kreshchenko N. D.¹,

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

Mitkovskii D. E.²,

Student

Abstract

The planarian *Schmidtea mediterranea* (Turbellaria, Platyhelminthes) has a pair of eyes on the anterior part of the body consisting of pigment cells and photoreceptor neurons capable of regeneration. The research represents a study of the effects of melatonin on photoreceptor differentiation after decapitation of the planarian. During the experiment, the worms were decapitated, and the eye regeneration was observed at days 3 and 4 of the regeneration. Different stages of the photoreceptor regeneration were observed such as both eyes in the regenerating planarians, planarians with one eye, and planarians with no eyes. In most of the animals, the photoreceptors were already visible at day 4 after the decapitation. In the experimental planarians exposed to melatonin at concentrations of 1 and 0.1 μM , the accelerated photoreceptor differentiation was observed. The stimulating effects of melatonin were detected in three animal groups on day 3 and 4 after the decapitation. The study will be continued to evaluate mechanisms of the melatonin action on planarian regeneration.

Keywords: planarians, regeneration, photoreceptors, melatonin

Введение. Планарии – свободноживущие представители Platyhelminthes. На дорзальной поверхности головного отдела тела у планарий *Schmidtea mediterranea* расположена пара простых глаз, также называемых фоторецепторами. Глаза планарий состоят из фоторецепторных и пигментных клеток, с помощью которых животные могут различать интенсивность и направление светового потока [3]. Простейшие глаза планарий образовались вследствие интеграции зрительных клеток, объединения их с пигментными клетками и ухода с поверхности тела

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)

вглубь. Глаза планарий могут регенерировать после ампутации головного конца тела. Этот процесс поддается описанию с помощью качественных морфологических критериев визуального наблюдения и количественных характеристик [1]. При изучении регенерации глаз у планарий *Polycelis tenuis* и *Dugesia tigrina* применяются также функциональные тесты. Изучение развития функции глаз планарий может дать дополнительные сведения о становлении фоторецепторной системы животных. Их реакция на свет выражается отрицательным фототаксисом или избеганием света, которая постепенно восстанавливается в ходе регенерации [3]. Морфологические показатели регенерации фоторецепторов отражают степень их дифференцировки: сначала может появляться один глаз, затем второй, если сразу появляются оба глаза — один из них может быть развит слабее, чем второй, или оба глаза все еще слабо развиты [2]. Также важной характеристикой может быть размер дифференцирующихся фоторецепторов. Ранее были установлены сроки регенерации глаз у планарий. Например, у планарий *Girardia tigrina*, как и у *S. mediterranea* регенерация глаз происходила с 3 по 6 дни в срединных и хвостовых фрагментах тела, после их отсечения [1]. О регуляции регенерации фоторецепторов малоизвестно. Было показано, что у планарий *G. tigrina* серотонин в концентрации 1 и 0,1 μM ускорял регенерацию фоторецепторов в срединных фрагментах тела на 5-й день их регенерации [1]. Задачей настоящего исследования было изучение влияния мелатонина на регенерацию фоторецепторов у планарий *Schmidtea mediterranea*. Мелатонин — нейрорегулятор сна и суточных биоритмов у млекопитающих, является производным серотонина.

Материалы и методы. Животных содержали в затемненных аквариумах, кормили 2 раза в неделю и перед экспериментом выдерживали голодными в течение 7 дней. В опыт отбирали планарий *S. mediterranea* размером 8—9 мм. В ходе операции животным отсекали головной конец тела, примерно 1/6 части тела. Прооперированных особей, помещали в стеклянные стаканчики с 100 мл воды (контрольная группа) или свежеприготовленного раствора мелатонина в концентрации 1 и 0,1 μM (подопытные группы) и оставляли регенерировать при 21 ± 1 °C. Начиная с третьих суток после операции, каждую планарию просматривали под бинокулярным микроскопом (Stemi DV4, Carl Zeiss, Германия), оценивая степень дифференцировки фоторецепторов. Опыты проводили методом слепого контроля, номер группы был закодирован, и наблюдателю не было известно какая группа контрольная или подопытная. Визуальные наблюдения подтверждены

фотосъемкой с помощью цифровой фотокамеры Scopetek DCM130E (Микромед), соединенной с микроскопом.

Результаты исследований. У *S. mediterranea* наблюдали за динамикой дифференцировки фоторецепторов в головной регенерационной бластеме после отсечения головного конца тела (рис. 1а-в). Дифференцировка глаз планарий происходила на 3-5 день после операции. Обнаружено, что мелатонин ускорял регенерацию глаз при его экзогенном применении в концентрациях 1 и 0,1 μM . Влияние мелатонина было обнаружено в трех опытах, начиная с 3-го дня регенерации (таблица). У большинства планарий глаза появлялись на 4-й день регенерации. Так, в контрольных группах (1–3) к 4-му дню по два глаза были сформированы у 75,7%, 77,1% и 74,2% планарий. К 4-му дню регенерации в подопытных группах с мелатонином 1 μM по два глаза были у 95,8%, 94,5% и 91,3% особей. В группах, находящихся под воздействием мелатонина 0,1 μM на 4-й день наблюдали, соответственно, 91,1%, 88,4% и 94,3% животных с фоторецепторами. На 5-й день регенерации восстановление фоторецепторов происходило у небольшого числа животных – от 14 до 18% в контроле, и от 1 до 10% в опыте.

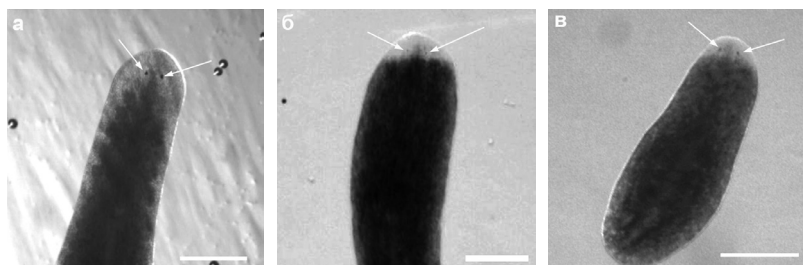


Рис. 1. Планария *Schmidtea mediterranea* с интактными глазами (а), стрелки, на 4-й день регенерации (б) и на 5-й день регенерации фоторецепторов (в). Масштаб: а и б – 1 мм, в – 1,5 мм

Ранее было установлено, что биогенный амин серотонин, являющийся предшественником мелатонина, ускорял регенерацию глаз у планарий *G. tigrina* [1] и *S. mediterranea* [1, 5]. Недавно было показано, что у планарий *S. mediterranea* инъекция триптофангидроксилазы, ключевого фермента участвующего в синтезе серотонина и мелатонина, является необходимым условием восстановления пигментации

Таблица

Регенерация глаз у планарий *Schmidtea mediterranea* под воздействием мелатонина. Количество животных и их процент от общего числа на 3-й день регенерации

Дата постановки опыта	Группы	Стадии регенерации			Число особей
		Два глаза	Один глаз	Без глаз	
21/03/22	Контроль 1	11–15,7%	1–1,4%	58–82,9%	n=70
	Мелат 1 мМ	29–40,9% ↑	2–2,8%	40–56,3%	n=71
	Мелат 0,1 мМ	33–47,2% ↑	3–4,3%	34–48,6%	n=70
28/03/22	Контроль 2	11–15,72%	6–8,6%	53–75,7%	n=70
	Мелат 1 мМ	40–54,8% ↑	–	33–45,2%	n=73
	Мелат 0,1 мМ	37–53,6% ↑	–	32–46,4%	n=69
04/04/22	Контроль 3	11–15,7%	3–4,3%	56–80,0%	n=70
	Мелат 1 мМ	33–47,8% ↑	–	36–52,2%	n=69
	Мелат 0,1 мМ	38–54,3% ↑	–	32–45,7%	n=70

глаз в ходе их регенерации после нокаута гена *tph* фермента с помощью РНК интерференции [4].

Заключение. Таким образом, наши экспериментальные данные о влиянии серотонина и мелатонина на регенерацию глаз у планарий, дополняют немногочисленные литературные сведения. Необходимо дальнейшее детальное исследование наблюдаемых эффектов серотонина и его производного – мелатонина на регенерацию фоторецепторов у планарий, а также выявления клеточных и молекулярных механизмов этого воздействия.

Список источников

1. Крещенко Н. Д., Гребенщикова Е. В., Карпов А. Н. Влияние серотонина на регенерацию фоторецепторов у планарий // Сб. науч. ст. по матер. докл. научн. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». 2019. Вып. 20. С. 278-283.
2. Седельников З. Ф., Знобищева А. В., Крещенко Н. Д. Наблюдение за регенерацией фоторецепторов у планарий *Girardia tigrina* (Platyhelminthes) // Сб. науч. ст. по матер. докл. научн. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». 2016. Вып. 17. С. 429-432.
3. Шейман И. М., Крещенко Н. Д., Нетреба М. В. Формирование функции фоторецепторной системы на ранних этапах развития // Биофизика. 2010. Т. 55. № 4. С. 680-685.

4. Lambrus B. G., Cochet-Escartin O., Gao J., Newmark P. A., Collins E.-M. S., Collins J. J. Tryptophan hydroxylase is required for eye melanogenesis in the planarian *Schmidtea mediterranea* // PLoS ONE. 2015; 10(5): e0127074.
5. Sarkar A., Mukundan N., Sowndarya S., Dubey V. K., Babu R., Lakshmanan V., Rangiah K., Panicker M. M., Palakodeti D., Subramanian S. P., Subramanian R. Serotonin is essential for eye regeneration in planaria *Schmidtea mediterranea* // FEBS Letters. 2019; 593: 3198-3209.

References

1. Kreshchenko N. D., Grebenshchikova E. V., Karpov A. N. The effects of serotonin in the regeneration of planarian photoreceptors. *Materials of the Scientific Conference "Theory and practice of parasitic disease control"*. 2019; 20: 278-283. (In Russ.)
2. Sedelnikov Z. F., Znobishcheva A. V., Kreshchenko N. D. Observations on photoreceptors regeneration in planarian *Girardia tigrine* (Platyhelminthes). *Materials of the Scientific Conference "Theory and practice of parasitic disease control"*. 2016; 17: 429-432. (In Russ.)
3. Sheiman I. M., Kreshchenko N. D., Natreba M. V. Function formation of the photoreceptor system in the early development stage. *Biophysica*. 2010; 55(4): 680-685. (In Russ.)
4. Lambrus B. G., Cochet-Escartin O., Gao J., Newmark P. A., Collins E.-M. S., Collins J. J. Tryptophan hydroxylase is required for eye melanogenesis in the planarian *Schmidtea mediterranea*. *PLoS ONE*. 2015; 10(5): e0127074.
5. Sarkar A., Mukundan N., Sowndarya S., Dubey V. K., Babu R., Lakshmanan V., Rangiah K., Panicker M. M., Palakodeti D., Subramanian S. P., Subramanian R. Serotonin is essential for eye regeneration in planaria *Schmidtea mediterranea*. *FEBS Letters*. 2019; 593: 3198-3209.