DOI: 10.31016/978-5-9902340-8-6.2019.20.379-383
УДК 595.122; 577.175.823

DICROCOELIUM LANCEATUM (TREMATODA, DICROCOELIIDAE): ИССЛЕДОВАНИЕ НЕРВНОЙ И МЫШЕЧНОЙ СИСТЕМ

Мочалова Н. В.[1], Теренина Н. Б.[1], Крещенко Н. Д.[2], Яшин В. А.[2], Нефёдова Д. А.[1], Никогосян М. А.[3], Петросян Р. А.[3], Мовсесян С. О.[1]

Аннотация

В работе приводятся данные о наличии и локализации в нервной системе возбудителя дикроцелиоза, *Dicrocoelium lanceatum* серотонинергических и FMRFаминергических структур. С помощью иммуноцитохимического метода и конфокальной сканирующей лазерной микроскопии исследуемые вещества обнаружены в центральных и периферических отделах нервной системы паразита – в головных ганглиях, центральной нервной комиссуре, продольных нервных стволах и поперечных комиссурах, связывающих их. Показана иннервация иммунореактивными к серотонину и нейропептиду нервными волокнами мускулатуры прикрепительных органов трематод.

Ключевые слова: трематоды, *Dicrocoelium lanceatum*, нейромедиаторы, серотонин (5-HT), FMRFамид.

DICROCOELIUM LANCEATUM (TREMATODA, DICROCOELIIDAE): THE STUDY OF THE NEURO-MUSCULAR SYSTEM

Mochalova N. V.[1], Terenina N. B.[1], Kreshchenko N. D.[2], Yashin V. A.[2], Nefedova D. A.[1], Nikogosyan M. A.[3], Petrosyan R. A.[3], Movsesyan S. O.[1]

[1] Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (Москва, Ленинский пр-т, 33), chiljuta@mail.ru
[2] Институт биофизики клетки ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН (Моск. обл., Пущино, Институтская ул., 3)
[3] Институт зоологии Научного центра зоологии и гидробиологии НАН РА, Армения

[1] Center for Parasitology Institute of Ecology and Evolution named after A.N. Severtsov of Russian Academy of Sciences (Moscow, 33 Leninsky Ave., 33), chiljuta@mail.ru
[2] Institute of Cell Biophysics of Federal Publicly Funded Institution of Science Federal Research Center of Russian Academy of Sciences (Moscow Region, Pushchino, Institutskaya, 3)
[3] Institute of Zoology of Scientific Centre for Zoology and Hydroecology of National Academy of Sciences (Armenia)

Abstract

The work provides data on the presence and localization in the nervous system of the causative agent of dicroceliosis, *Dicrocoelium lanceatum* serotonergic and FMRFaminergic structures. Using the immunocytochemical method and confocal scanning laser microscopy, the test substances were found in the central and peripheral parts of the parasite's nervous system — in the head ganglia, the central nervous commissure, the longitudinal nerve trunks and the transverse commissures connecting them. The innervation of the nerve fibers of the attachment organs of trematodes by immunoreactive to serotonin and neuropeptide is shown.

Trematode *Dicrocoelium lanceatum* (Stiles and Hassal, 1896) (Dicrocoeliidae) is the causative agent of Dicroceliosis, a widespread helminthiasis of domestic and wild animals. Dwelling in the bile ducts of the liver and in the gallbladder, dicroceliums cause irreversible pathological changes in the host organism, chronic inflammation of the bile ducts, cirrhosis of the liver, and metabolic processes in animals occur. As a result of the disease, animals are depleted, their productivity decreases, growth and development lag, and the nutritional and caloric value of meat decrease.

In the cycle of development of the causative agent of dicroceliasis, the intermediate hosts are land mollusks, while the additional hosts are ants. The eggs of the parasite along with the bile enter the host intestine, and then with the feces into the external environment. Mollusks swallow eggs, miracidia come out from the eggs in the intestines of the mollusk, and penetrate the liver, where daughter sporocysts develop, in which cercariae form. Of the daughter sporocysts, cercariae are introduced into the respiratory cavity of the mollusk, where they are covered with sticky mucous substance. The formed mucous lumps are pushed by the respiratory movements of the mollusk into the external environment. Infection of ants occurs when eating these mucous balls. Once in the intestinal tract, cercariae enter the ant's abdominal cavity, where they turn into metacercariae. The definitive owners infect on pastures, swallowing invasive ants along with grass.

Keywords: Trematoda, *Dicrocoelium lanceatum*, neurotransmitters, serotonin (5-HT), FMRFamide.

Введение. Трематода *Dicrocoelium lanceatum* (Stiles and Hassal, 1896) (Dicrocoeliidae) является возбудителем дикроцелиоза – широко распространённого гельминтоза домашних и диких животных. Обитая в жёлчных протоках печени и в жёлчном пузыре, дикроцелии вызывают необратимые патологические изменения в организме хозяина, наблюдается хроническое воспаление желчных протоков, цирроз печени, происходит нарушение метаболических процессов у животных. В результате заболевания происходит истощение животных, снижение их продуктивности, отставание в росте и развитии, снижение пищевой ценности и калорийности мяса.

В цикле развития возбудителя дикроцелиоза промежуточными хозяевами являются сухопутные моллюски, а дополнительными – муравьи. Яйца паразита вместе с желчью попадают в кишечник хозяина, а затем с фекалиями во внешнюю среду. Моллюски заглатывают яйца, в кишечнике моллюска из яиц выходят мирацидии, которые проникают в печень, где развиваются дочерние спороцисты, в которых формируются церкарии. Из дочерних спороцист церкарии заносятся в дыхательную полость моллюска, где обволакиваются клейким слизистым веществом. Образовавшиеся слизистые комочки выталкиваются дыхательными движениями моллюска во внешнюю среду. Заражение муравьев происходит при поедании этих слизистых шаров. Попав в кишечный тракт, церкарии выходят в брюшную полость муравья, где превращаются в метацеркариев. Дефинитивные хозяева заражаются на пастбищах, проглатывая вместе с травой инвазионных муравьёв.

Имеющиеся в литературе данные о нервной и мышечной системах *Dicrocoelium lanceatum* очень ограничены и фрагментарны, тогда как исследование в этом направлении имеет не только общебиологическое значение, но и может служить научной основой при дальнейшей разработке новых эффективных антигельминтных препаратов. В литературе есть ряд данных о том, что в нервной системе трематод присутствует широкий спектр сигнальных молекул, включая серотонин и нейропептиды (Теренина, Густафссон, 2003; Halton, Maule, 2004). Предполагают, что эти нейромедиаторные вещества осуществляют регуляцию различных функций паразитов.

Задачей нашей работы явилось иммуноцитохимическое исследование наличия и локализации нейромедиаторов – серотонина и нейропептида FMRFамида у возбудителя дикроцелиоза – *Dicrocoelium lanceatum*.

Материалы и методы. В работе использовали трематод *D. lanceatum*, собранных при забое овец на экспериментальной базе РАСНЭЦ (Армения). Гельминтов фиксировали в 4% параформальдегиде в 0,1 М фосфатном буферном растворе (pH 7,4) при 4^0С и затем сохраняли в 10% сахарозе, приготовленной на 0,1 М фосфатном буфере.

Локализацию серотонинергических и FMRFамидергических нервных структур определяли иммуноцитохимически в соответствии с методом Coons et al. (1955). Работа проводилась как на тотальных препаратах, так и на криостатных срезах.

При исследовании взаимоотношения нервных структур, содержащих исследуемые нейромедиаторы, с мышечными элементами паразита проводили окраску мышечных волокон, используя связанный с

флуорофором фаллоидин. Окраска мускулатуры проводилась TRITC (тетраметилродамин изотиоцианат) меченым фаллоидином в соответствии с методом, описанным Wahlberg (1998). Препараты исследовались с помощью флуоресцентного микроскопа Leica DM 1000 и конфокального сканирующего лазерного микроскопа Leica TCS SP5.

Результаты исследований. Мускулатура тела трематоды *D. lanceatum* хорошо развита и представлена кольцевыми, продольными и диагональными мышечными волокнами. В ротовой и брюшной присосках, помимо кольцевых и продольных мышц, хорошо выявляются радиальные волокна.

В результате проведённых экспериментов в центральных и периферических отделах нервной системы *D. lanceatum* обнаружены серотонин- и FMRFамид-иммунореактивные компоненты. Иммунореактивность к серотонину выявлена в нескольких нервных клетках, находящихся в парных головных ганглиях, в продольных нервных стволах и клетках, расположенных в них, в волокнах, идущих к ротовой и брюшной присоске. Мелкие иммунореактивные к серотонину структуры (возможно клетки) видны у полового отверстия, а две нервные клетки большего размера обнаруживаются ближе к брюшной присоске.

Иммунореактивность к FMRFамиду наблюдалась в волокнах головных ганглиев, центральной комиссуре, связывающей их, продольных нервных стволах, из которых наиболее развитыми являются вентральные нервные стволы, а также в нервных волокнах, идущих к ротовой и брюшной присоскам. Разветвлённую сеть FMRF-иммунореактивных нервных волокон, связывающих продольные нервные стволы, можно было видеть в задней части тела.

Заключение. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о наличии в нервной системе возбудителя дикроцелиоза – *Dicrocoelium lanceatum* серотонинергических и пептидергических (FMRFамидергических) структур. Локализация этих структур связана с центральными и периферическими отделами нервной системы. Функциональное значение нейромедиаторных веществ у возбудителя дикроцелиоза ещё предстоит выяснить. Однако уже теперь можно сказать, что исследуемые нейромедиаторы принимают участие в регуляции функции прикрепительных органов трематоды, на что указывает факт обнаружения иммунореактивных к исследуемым веществам нервных волокон, идущих к мышцам ротовой и брюшной присосок паразита. Эти данные соответствуют сведениям, полученным в от-

ношении других представителей этого класса гельминтов (Terenina et al., 2018). В связи с этим можно предположить, что, вероятно, прикрепительные органы трематод могут представлять удобную мишень при разработке новых антигельминтных препаратов, нарушающих функцию присосок паразитов и их прикрепление к тканям хозяина. Дальнейшие исследования нервной системы, нейромедиаторов и их функционального значения, в том числе на различных стадиях развития возбудителя дикроцелиоза, расширят наши представления о нейрохимических основах жизнедеятельности трематод и, в частности, этого имеющего важное экономическое значение паразита.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-04-00349а.

Литература

1. *Теренина Н.Б., Густафссон М.К.С.* Нейротрансмиттеры у гельминтов. М.: Наука. 2003. 178с.
2. *Coons A.H., Leduc E.H., Connolly J.M.* Studies of antibody production. I. A method for the histochemical demonstration of specific antibody and its application to a study for the hiperimmune rabbit // J. Exper. Med., 1955. 102: 49–60.
3. *Halton D.W., Maule A.G.* Flatworm nerve-muscle: structural and functional analysis // Can. J. Zool. 2004. 82: 316-333.
4. *Terenina N., Kreshchenko N., Mochalova N., Movsesyan S.* Serotonin and neuropeptide FMRFamide in the attachment organs of trematodes // Helminthologia. 2018. 55, 3: 185-194.
5. *Wahlberg M.H.* The distribution of F-actin during the development of Diphyllobothrium dendriticum (Cestoda) // Cell and Tissue Research. 1998. 291: 561–570.

References

1. Terenina NB, Gustafsson M.K.S. Neurotransmitters in helminths. Moscow, Science. 2003. 178 c. (In Russ.)
2. Coons A.H., Leduc E.H., Connolly J.M. Studies of antibody production. I. A method for the histochemical demonstration of specific antibody and its application to a study for the hiperimmune rabbit. *J. Exper. Med.* 1955; 102: 49–60.
3. Halton D.W., Maule A.G. Flatworm nerve-muscle: structural and functional analysis. *Can. J. Zool.* 2004. 82: 316-333.
4. Terenina N., Kreshchenko N., Mochalova N., Movsesyan S. Serotonin and neuropeptide FMRFamide in the attachment organs of trematodes. *Helminthologia*. 2018. 55, 3: 185-194.
5. Wahlberg M.H. The distribution of F-actin during the development of Diphyllobothrium dendriticum (Cestoda). *Cell and Tissue Research*. 1998. 291: 561–570.