

УДК 576.7;576.8;57.017.23

<https://doi.org/10.31016/978-5-6050437-8-2.2024.25.221-225>

УЧАСТИЕ НЕЙРОПЕПТИДА NPF В ИННЕРВАЦИИ МУСКУЛАТУРЫ ТЕЛА ПЛОСКИХ ЧЕРВЕЙ

Крещенко Н. Д. ¹,

кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник,
nkreshch@rambler.ru

Митьковский Д. Е. ²,

студент

Аннотация

Свободноживущие плоские черви, планарии, часто используются в качестве биологической модели для изучения процессов морфогенеза и регенерации, а также структуры и функции мышечной системы. В настоящем исследовании у планарий *Girardia tigrina* (Turbellaria, Platyhelminthes) изучали пространственные взаимоотношения между мускулатурой тела и нервной системой с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии с использованием гистохимического окрашивания нитевидного актина флуоресцентно-меченым фаллоидином и иммуноцитохимического окрашивания нервной системы антителами к нейропептиду NPF паразитических червей. Мускулатура стенки тела червей содержит три слоя: наружный кольцевой, внутренний продольный и расположенный между ним слой редких диагональных мышечных волокон, которые тянутся в двух перпендикулярных направлениях. Результаты показали, что мускулатура стенки тела интенсивно снабжена NPF-иммунопозитивными (-ип) нервными элементами. Так, обнаружена локализация NPF-ип нервных волокон в слое мускулатуры стенки тела червей и в мускулатуре хвостовой области тела. Такая идентификация нейронов NPF-ип и его окончаний вблизи соматических мышечных волокон стенки тела могут указывать на возможность участия нейропептида NPF в регуляции сократительной активности мускулатуры у плоских червей.

Ключевые слова: плоские черви, *Girardia tigrina*, мускулатура, иннервация

¹ 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, г. Пушкино, ул. Институтская, д. 3)

² Государственное бюджетное профессиональное образовательное учреждение Московской области «Серпуховский колледж» (142207, Россия, г. Серпухов, ул. Центральная, д. 154)

THE PARTICIPATION OF NEUROPEPTIDE F IN THE INNERVATION OF FLATWORM MUSCULATE

Kreshchenko N. D. ¹,

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

Mitkovskii D. E. ²,

Student

Abstract

Free-living flatworms, planarians, are often used as a biological model to study the morphogenesis and regeneration processes, as well as structure and function of their muscle system. In this study, the spatial relationships between musculature and the nervous system were examined in planarians *Girardia tigrina* (Turbellaria, Platyhelminthes) using confocal laser scanning microscopy, histochemical staining of filamentous actin with fluorescently labelled phalloidin, and immunocytochemical staining of the nervous system with parasitic worm neuropeptide F antibodies. The body wall musculature contains three layers: an outer circular layer, an inner longitudinal layer, and a layer of rare diagonal muscle fibers in-between running in two perpendicular directions. The results showed that the body wall musculature was intensively supplied with NPF-immunopositive (-IP) nerve fibers. Thus, NPF-IP nerve fibers were localized in the body wall muscle layer of worms including the tail region musculature. Such identification of NPF-IP neurons and its endings near the somatic muscle fibers of the body wall may indicate the potential neuropeptide F participation in the muscle contractility regulation in flatworms.

Keywords: flatworms, *Girardia tigrina*, musculature, innervations

Введение. Семейство специфических NPF-подобных пептидов плоских червей представлено пятью молекулами, выделенными у цестод *Moniesia expansa*, турбеллярий *Artioposthia triangulate*, у трематод *Schistosoma mansoni* и *S. japonicum* [5], и планарий *Schmidtea mediterranean* [1]. Эти нейропептиды содержат от 36 до 41 аминокислотных остатков в длину и характеризуются наличием в молекуле мотива GRPRF-амида и консервативными остатками тирозина в позиции 10 и 17 от С-конца. Локализация NPF была выявлена в

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)

центральной нервной системе представителей Platyhelminthes. Иммуноцитохимически NPF был обнаружен в нервной системе – головном ганглии и нервных стволах некоторых видов паразитических трематод *Fasciola hepatica*, *Schistosoma* sp., цестод *Diphyllbothrium dendriticum*, и микротурбеллярий [3].

Материалы и методы. Планарий *G. tigrina* (Turbellaria, Platyhelminthes), 7 особей размером 9-10 мм фиксировали 4% параформальдегидом, и окрашивали антителами к С-концевому фрагменту нейропептида NPF (FAHGRPRF, полученным от A. Maule, Queen's University of Belfast, код антител, 792.3), в разведении 1:1000. После промывки препараты дополнительно окрашивали TRITC-меченым фаллоидином (Sigma, 1:200) для визуализации мускулатуры тела. Препараты анализировали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа Leica TCS SP5 (Leica Microsystem, Germany).

Результаты исследований. У *G. tigrina* (рис. 1б) обнаружено обилие NPF-ип окраски в нервных клетках и волокнах центральных и периферических отделов нервной системы. Особое внимание привлекли NPF-ип нервные волокна, идентифицированные в субмышечной нервной сети. Мускулатура червей представлена мускулатурой стенки тела и внутренней соматической мускулатурой. Стенка тела содержит наружные кольцевые, внутренние продольные, промежуточные диагональные мышечные волокна, расположенные в двух перпендикулярных направлениях (рис. 1а). Окраска фаллоидином выявлена дорзо-вентральных, а также в поперечных мышечных волокнах, тянущихся от одного бокового края тела червя к другому. Между вентральными нервными стволами наблюдаются мышечные волокна продольного и дорзо-вентрального направлений (рис. 1в). Нами выявлено тесное пространственное взаиморасположение NPF-ип нервных отростков и мускулатуры стенки тела (рис. 1б), внутренней соматической мускулатуры и мускулатуры хвостовой области (рис. 1в). В стенке тела обнаружены многочисленные NPF-ип нервные волокна, организованные в виде ячеистого паттерна их распределения (рис. 1). В области тела между нервными стволами, NPF-ип нейроны и их отростки расположены в гуще мускулатуры, нервные волокна нейронов проходят параллельно нервным стволам в переднезаднем направлении, вдоль продольных мышечных тяжей, состоящих из нескольких мышечных волокон. Мы также наблюдали разветвление пептидергических нервных отростков в латеральном направлении. Обнаруженное расположение NPF-ип нейронов и их окончаний вблизи соматических мышечных волокон указывает на иннервацию

мускулатуры тела *G. tigrina* NPF-ип нервными элементами, и на роль пептида в осуществлении функциональной активности мускулатуры.

Заключение. Исследованы пептидергические нервные компоненты у *G. tigrina*. Результаты указывают на присутствие NPF-ип нейронов, и нервных волокон в толще мускулатуры стенки тела червей. Это может свидетельствовать об участии нейропептида NPF в регуляции функционирования мускулатуры. Ранее, применение пептида NPF в ранге концентраций 5 нМ – 5 мМ не обнаружило влияния на активность мускулатуры трематод *Fasciola hepatica*, но позже было выявлено, что в концентрациях 1 мМ, 100, 10 мМ NPF вызывал достоверное увеличение двигательной активности личинок цестод *Mesocestoides corti*. Возбуждение наблюдали в течение 3–10 минут после добавления пептида [4]. Полученные нами морфологические данные свидетельствуют в пользу возможности участия NPF в осуществлении миорегуляторной функции у плоских червей. Требуются дальнейшие исследования роли нейропептида в организме плоских червей.

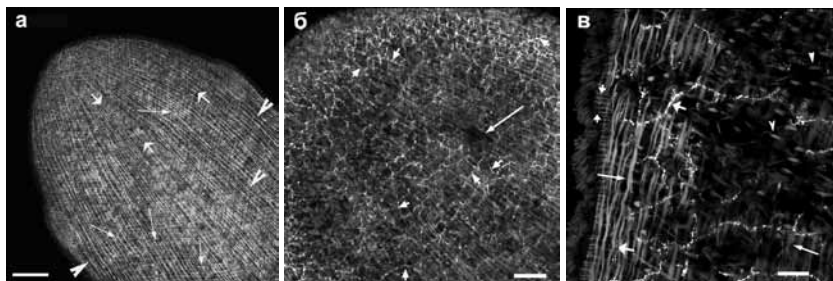


Рис. 1. Тотальные препараты *Girardia tigrina*, окраска мускулатуры тела фаллоидином (серым), и NPF-иммунопозитивная (-ип) окраска нервных элементов (белым); а-б – головной, в – хвостовой отделы тела червя; конфокальная лазерная сканирующая микроскопия

(а) – общий вид: продольные (острия стрелок), диагональные (длинные тонкие стрелки) и кольцевые (тупые стрелки) мышечные волокна стенки тела; (б) – NPF-ип нервная сеть в составе нервного плексуса (короткие стрелки), иннервирует стенку тела планарии, длинная стрелка – указывает расположение глаза; (в) – ячеистый паттерн NPF-ип окраски в нервных волокнах (большие тупые стрелки), иннервирующих мускулатуру стенки тела, кольцевая мускулатура (мелкие тупые стрелки), продольная мускулатура (тонкие длинные стрелки), и дорзовентральные мышечные пучки (острия стрелок).

Масштаб: а – 100 мкм, б – 75 мкм, в – 25 мкм

Список источников / References

1. Cebria F. Organization of the nervous system in the model planarian *Schmidtea mediterranea*: an immunocytochemical study. *Journal of Neuroscience Research*. 2008; 61(4): 375-384.
2. Graham M. R., Fairweather I., McGeown J. G. The effects of FaRPs on the motility of isolated muscle strips from the liver fluke, *Fasciola hepatica*. *Parasitology*. 1997; 114: 455-465.
3. Gustafsson M. K. S., Halton D. W., Kreshchenko N. D., Movsessian S. O., Raikova O. I., Reuter M., Terenina N. B. Neuropeptides in flatworms. *Peptides*. 2002; 23: 2053-2061.
4. Hrchkova G., Velebny S., Halton D. W., Day T. A., Maule A. G. Pharmacological characterisation of neuropeptide F (NPF)-induced effects on the motility of *Mesocostoides corti* (syn. *Mesocostoides vogae*) larvae. *International Journal for Parasitology*. 2004; 34: 83-93.
5. Humphries J. E., Kimber M. J., Barton Y. W., Hsu W., Marks N. J., Greer B., Harriott P., Maule A. G., Day T. A. Structure and bioactivity of neuropeptide F from the human parasites *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum*. *Journal of Biological Chemistry*. 2004; 279: 39880-39885.