

УДК 576.7;576.895.122;59.089

<https://doi.org/10.31016/978-5-6050437-8-2.2024.25.226-230>

ИДЕНТИФИКАЦИЯ FMRF-ПОДОБНЫХ НЕЙРОПЕПТИДОВ У ТРЕМАТОД *ACROLICHANUS AURICULATUS*

Крещенко Н. Д.¹,

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

Теренина Н. Б.²,

доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник,
terenina_n@mail.ru

Аннотация

Впервые с помощью иммуноцитохимического метода и конфокальной лазерной сканирующей микроскопией изучено строение нервной системы, включающей FMRFамид-иммунопозитивные (FMRFa-ип) нервные элементы у трематод *Acrolichanus auriculatus* (Digenea, Allocreadiidae), кишечного паразита осетровых рыб. В результате исследования выявлено наличие окрашивания к FMRFамиду в центральных отделах нервной системы червей: в нейронах и нейритах головных ганглиев, мозговой комиссуры и трех пар продольных нервных стволов. Интенсивность окраски была выше в нервных волокнах, чем в телах FMRFa-ип нейронов. На периферии FMRF-ип нервные элементы обнаружены в нейронах и волокнах, иннервирующих ротovou и брюшную присоски, глотку и пищевод. В области расположения дистальных отделов репродуктивной системы, вблизи генитальной поры видны три FMRFa-ип нейрона, и сеть нервных волокон. Вокруг экскреторной поры были идентифицированы FMRFa-ип структуры. Локализация FMRFa-ип нервных элементов, иннервирующих органы прикрепления и отделы пищеварительной, половой и выделительной систем у *A. auriculatus* позволяет предположить их роль в прикреплении к хозяину, в функционировании данных органов и систем у трематод, вероятно, через регуляцию их мускулатуры.

Ключевые слова: трематоды, нервная система, FMRF-подобные пептиды, иммуноцитохимия

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 Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова Российской академии наук (119071, Россия, г. Москва, Ленинский пр-т, д. 33)

IDENTIFICATION OF FMRFAMIDE-LIKE NEUROPEPTIDES IN TREMATODES *ACROLICHANUS AURICULATUS*

Kreshchenko N. D. ¹,

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

Terenina N. B. ²,

Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher,
terenina_n@mail.ru

Abstract

For the first time, using the immunocytochemical analysis and confocal laser scanning microscopy, we studied the nervous system structure including FMRFamide-immunopositive (FMRFa-ip) nerve elements in trematode *Acrolichanus auriculatus* (Digenea, Allocreadiidae), an intestinal parasite of sturgeons. The study results revealed FMRFamide staining in the central parts of the nervous system of worms: in neurons and neurites of the cephalic ganglia, cerebral commissure, and three pairs of longitudinal nerve cords. The staining intensity was higher in nerve fibers as compared to the bodies of FMRFa-ip neurons. At the periphery of FMRFa-ip, neural elements were found in neurons and fibers that innervated the oral and ventral suckers, pharynx and esophagus. In the area where the distal parts of the reproductive system were located, near the gonopore, three FMRFa-ip neurons and a network of nerve fibers were visible. FMRFa-ip structures were identified around the excretory pore. The localization of FMRFa-ip nerve elements innervating the attachment organs and parts of the digestive, reproductive and excretory systems in *A. auriculatus* suggests their role in attachment to the host, and functioning of such organs and systems in trematodes, probably through the regulation of their musculature.

Keywords: trematodes, nervous system, FMRFamide-like peptides, immunocytochemistry

Введение. В нервной системе плоских червей были выделены и охарактеризованы четыре специфических нейропептида, принадлежащие к семейству FMRF-подобных: YIRFамид, GYIRFамид, RYIRFамид и GNFFRFамид. Информация о наличии нейропептидов у представителей плоских червей была подтверждена методами

¹ Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences (3, Institutskaya st., Pushchino, 142290, Russia)

² Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences (33, Leninsky pr., Moscow, 119071, Russia)

биоинформатики [1, 2]. Иммунореактивность к FMRF-подобным пептидам была выявлена в нервной системе трематод различных таксономических групп [3]. Трематода *Acrolichanus auriculatus* Wedl, 1858, Ward, 1917 является кишечным паразитом осетровых рыб. Морфология нервной системы *A. auriculatus* не изучена. Целью исследования стало изучение наличия и локализации FMRFa-ип элементов у *A. auriculatus* с использованием иммуноцитохимического метода и конфокальной сканирующей лазерной микроскопии.

Материалы и методы. Для выявления пептидергических структур у трематод *A. auriculatus* ($n = 8$), извлеченных из рыб *Acipenser ruthenus* Linnaeus (Acipenseridae) образцы инкубировали пять дней в первичных антителах к FMRFамиду (Immunostar, США) в растворе PBS-T, содержащем 0,1 М PBS и 1% Тритона X-100. После промывки образцы переносили во вторичные AlexaFluor488 козьи антикроличьи IgG (Abscam, США) на пять дней при 4 °С. Контроль включал: (1) инкубацию образцов только с вторичными иммуноглобулинами или (2) использование не иммунной кроличьей сыворотки вместо первичной анти-сыворотки. Оба контроля показали отсутствие неспецифического окрашивания. Препараты исследовали под сканирующим микроскопом Leica TCS SP5 (Leica Microsystem, Германия).

Результаты исследований. Интенсивное FMRFa-ип окрашивание обнаружено в центральной нервной системе *A. auriculatus* – в головных ганглиях и примерно в семи нейронах, принадлежащих к каждому ганглию; в нервных волокнах мозговой комиссуры, а также брюшных, дорсальных и латеральных продольных нервных стволах и соединяющих их нервных комиссурах. Вдоль брюшных нервных стволов располагалось несколько FMRFa-ип нейронов. Интенсивность FMRFa-ип окрашивания в телах нейронов была ниже, чем в нервных волокнах, входящих в состав ганглиев, мозговой комиссуры и продольных нервных стволов, состоящих преимущественно из нейритов. От каждого головного ганглия в сторону ротовой присоски идет FMRFa-ип нервный пучок, разветвляющийся по пути на три отростка, направленные к мускулатуре. Вдоль него расположены два слабоокрашенных FMRFa-ип нейрона.

В теле трематоды, по переднему и заднему краю брюшной присоски, расположены нервные FMRFa-ип комиссуры, соединяющие брюшные нервные стволы, и, вероятно, иннервирующие брюшную присоску. Вдоль нервных стволов на уровне брюшной присоски

видны FMRFa-ип нейроны, посылающие свои волокна к присоске. FMRFa-ип нервные волокна отходят от каждого головного ганглия, огибая глотку и пищевод с обеих сторон и достигая области кишечной бифуркации. В области генитальной поры видны три FMRFa-ип нейрона. От каждого из брюшных нервных столов FMRF-ип нейриты распространяются к генитальной поре. Вблизи экскреторной поры дорсальные нервные стволы объединяются в одну ветвь, идущую к экскреторной поре. Вокруг экскреторной поры наблюдали около восьми небольших FMRFa-ип структур, возможно, клеток.

Заключение. Впервые получены данные о распределении FMRFамид-подобной иммунореактивности в нервной системе трематоды *A. auriculatus*. FMRFa-ип нейроны и их волокна обнаружены как в центральном, так и в периферических отделах нервной системы *A. auriculatus*. Локализация FMRF-ип нервных элементов выявлена вблизи пищеварительной, репродуктивной и выделительной системы трематод. На периферии FMRF-ип нервные элементы обеспечивают иннервацию ротовой и брюшной присосок, глотки, пищевода, а также дистальных отделов репродуктивной и выделительной систем, что позволяет предположить их роль в прикреплении к хозяину, в функционировании данных органов и систем у трематод [5]. Данные о наличии и локализации FMRFa-ип нервных элементов у *A. auriculatus* согласуются с предположением о участии FMRF-подобных нейропептидов в регуляции мышечных сокращений стенки тела, а также прикрепительных, репродуктивных и выделительных органов паразитов. Роль нейропептидов в нервно-мышечной физиологии паразитических плоских червей изучается [4].

В структурной организации нервной системы различных представителей трематод имеются как общие (консервативные), так и специфические черты, присущие тому или иному виду. Наличие FMRFa-ип компонентов в нервной системе трематод является консервативным признаком, позволяющим использовать пептидергическую сигнальную систему как мишень для антипаразитарных препаратов.

Список источников / References

1. Koziol U., Koziol M., Preza M., Costabile A., Brehm K., Castillo E. De novo discovery of neuropeptides in the genomes of parasitic flatworms using a novel comparative approach. *International Journal for Parasitology*. 2016; 46(11): 709-721.
2. McVeigh P., Mair G. R., Atkinson L., Ladurner P., Zamanian M., Novozhilova E., Marks N. J., Day T. A., Maule A. G. Discovery of multiple neuropeptide families in the phylum Platyhelminthes. *International Journal for Parasitology*. 2009; 39: 1243-1252.
3. Nefedova D. A., Terenina N. B., Mochalova N. V., Poddubnaya L. G., Movsesyan S. O., Gordeev I. I., Kuchin A. V., Kreshchenko N. D. The neuromuscular system in flatworms: serotonin and FMRFamide immunoreactivities, and musculature in *Prodistomum alaskense* (Digenea: Lepocreadiidae), an endemic fish parasite of the north-western Pacific. *Canadian Journal of Zoology*. 2021; 99: 689-701.
4. Novozhilova E., Kimber M. J., Qian H., McVeigh P., Robertson A. P., Zamanian M., Maule A. G., Day T. A. FMRFamide-like peptides (FLPs) enhance voltage-gated calcium currents to elicit muscle contraction in the human parasite *Schistosoma mansoni*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2010; 4(8): e790.
5. Terenina N., Kreshchenko N., Movsesyan S. Musculature and neurotransmitters of internal organs of trematodes (the digestive, reproductive and excretory systems). *Zoology (Jena)*. 2022; 150: 125986.