

**Организация мышечной системы и распределение
NO-ергических и серотонинергических элементов у
трематод *Allocreadium isoporum* Looss, 1894
(Allocreadiidae) и *Paramphistomum cervi* Zeder, 1790
(Paramphistomatidae)**

**О.О. Толстенков¹, Н.Б. Теренина¹,
Н.М. Шалаева², Т.В. Гайворонская¹**

¹ Центр паразитологии — филиал Института проблем экологии и эволюции имени А.Н. Северцова РАН, Ленинский проспект 33, 119071 Москва, Россия. e-mail: otolo@mail.ru

² Кафедра зоологии беспозвоночных Биологического факультета Московского Государственного Университета, Воробьевы горы, 119991 Москва, Россия.

РЕЗЮМЕ: С использованием TRITC-меченного фаллоидина изучена анатомическая организация мышечной системы у трематод *Allocreadium isoporum* и *Paramphistomum cervi*. Исследовано распределение NO-ергических и 5-НТ-ергических элементов в нервной системе и мускулатуре. Структуры, генерирующие оксид азота, и 5-НТ-ергические элементы найдены в центральной и периферической нервной системе обоих видов. Наличие NO-ергических структур и 5-НТ-ергических элементов в толще мускулатуры свидетельствует об участии оксида азота и серотонина в регуляции сократительной активности трематод.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: трематоды, *Allocreadium isoporum*, *Paramphistomum cervi*, мускулатура, нервная система, нейромедиаторы, оксид азота, серотонин.

**The organization of the muscular system and the
distribution of NO-ergic and serotonergic elements of
trematodes *Allocreadium isoporum* Looss, 1894
(Allocreadiidae) and *Paramphistomum cervi* Zeder, 1790
(Paramphistomatidae)**

**O.O. Tolstenkov¹, N.B. Terenina¹,
N.M. Shalaeva², T.V. Gaivoronskaja¹**

¹ Center of Parasitology of A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Science, Leninskiy prospect 33, 119071 Moscow, Russia. e-mail: otolo@mail.ru

² Department of Invertebrate Zoology, Biological Faculty, Moscow State University, Vorobievsky Gori, 119899 Moscow, Russia

ABSTRACT: TRITC-conjugated phalloidin staining was used to investigate the anatomical organization of the musculature of *Allocreadium isoporum* and *Paramphistomum cervi*.

The distribution of NO-ergic and 5-HT-ergic elements in the nervous system and the musculature was studied. Structures generating NO and 5-HT-ergic elements were observed in the central and peripheral nervous system of both species. The presence of NO-ergic and 5-HT-ergic nerve elements in the musculature testified the participation of nitric oxide and serotonin in the regulation of the motility of trematodes.

KEY WORDS: Trematoda, *Allocreadium isoporum*, *Paramphistomum cervi*, musculature, nervous system, neuromediators, nitric oxide, serotonin.

Введение

Применение гистохимических и иммуноцитохимических методов позволило выявить в нервной системе гельминтов холинэргические, серотонинэргические, пептидергические элементы (Шишов, 1991; Barton et al., 1993; Biserova et al., 1996; Biserova et al., 2000; Gzubaj, Grabda-Kazubska, 1993; Marks et al., 1995; Niewiadomska et al., 1996 и др.). Открытие функции оксида азота как атипичного нейронального мессенджера в нервной системе млекопитающих (Garthwaite, 1991; Snyder, 1992) дало толчок к исследованию этого вещества не только у млекопитающих, но и у других животных, в том числе и беспозвоночных. В последние годы появились данные о наличии структур, генерирующих оксид азота, у гельминтов (Gustafsson et al., 2001; Terenina, Gustafsson, 2002; Terenina et al., 2006).

В настоящей работе приведены результаты изучения мышечной системы, а также данные иммуноцитохимического и гистохимического исследования серотонинэргических нервных структур и структур, генерирующих оксид азота (NO-эргических, нитроксиэргических), у двух видов трематод: *Allocreadium isoporum* Looss, 1894 (сем. Allocreadiidae) и *Paramphistomum cervi* Zeder, 1790 (сем. Paramphistomatidae).

Материал и методы

Взрослые формы *A. isoporum* были взяты из кишечника уклеи (*Alburnus alburnus*), пойманной в водоемах Карелии, *P. cervi* — из рубца домашней коровы (*Bos taurus*) в

Московской области. Материал фиксировали в 4%-ном параформальдегиде в 0,01 М фосфатном буферном растворе (рН 7,4) при 4°C и затем сохраняли в 10%-ной сахарозе, приготовленной на 0,01 М фосфатном буфере. Часть материала была использована для приготовления криостатных срезов толщиной 20 мкм, другую часть использовали для окрашивания целых паразитов.

Окраску мускулатуры проводили с использованием TRITC (тетраметилпродамин изотиоцианат) меченного фаллоидина (в разведении 1:200) во влажной камере в течение 1 ч в темноте при температуре 4°C в соответствии с методом, описанным Wahlberg (1998).

Для идентификации нервных структур, содержащих синтазу оксида азота — фермент синтеза оксида азота (NO-синтазу), использовали НАДФН (никотинамидадениндинуклеотидфосфат, восстановленная форма)-диафоразный (НАДФН-д) гистохимический метод. Метод основан на определении фермента НАДФН-диафоразы, известного как маркер NO-синтазы, согласно стандартной методике (Hope, Vincent, 1989).

Локализацию серотонинэргических (5-HT-эргических) нервных структур определяли иммуноцитохимически в соответствии с методом Coons et al. (1955). Окрашивание проводили на криостатных срезах и тотальных препаратах. Срезы инкубировали в первичной антисыворотке (Inctar, USA, в разведении 1:500) 48 ч при температуре 4°C; во вторичной антисыворотке (TRITC, DAKO, в разведении 1:30) препараты инкубировали в течение 3 ч.

Для сопоставления НАДФН-д структур, содержащих серотонин, и мышеч-

ных волокон было проведено тройное окрашивание срезов: НАДФН-диафоразным гистохимическим методом, затем иммуногистохимическое окрашивание на серотонин и окраска мышечных волокон с использованием TRITC-меченного фаллоидина.

Препараты исследовали с помощью конфокального сканирующего лазерного микроскопа Leica TCS 4D, соединенного с флуоресцентным микроскопом Leitz Aristoplan, а также микроскопа Axiostar plus, Zeiss.

Результаты

Allocreadium isoporum. Мускулатура стенки тела *A. isoporum* представлена тремя слоями мышечных волокон: наружным кольцевым, промежуточным продольным, а также слоем внутренних диагональных волокон (рис. 1А). Кольцевые волокна ориентированы в основном под прямым углом к продольной оси тела. Они являются самыми тонкими и многочисленными, расположены чаще других. Продольные волокна имеют большую толщину, чем кольцевые, и расположены реже. Толстые диагональные волокна располагаются парами и пересекаются под углом 120–150°.

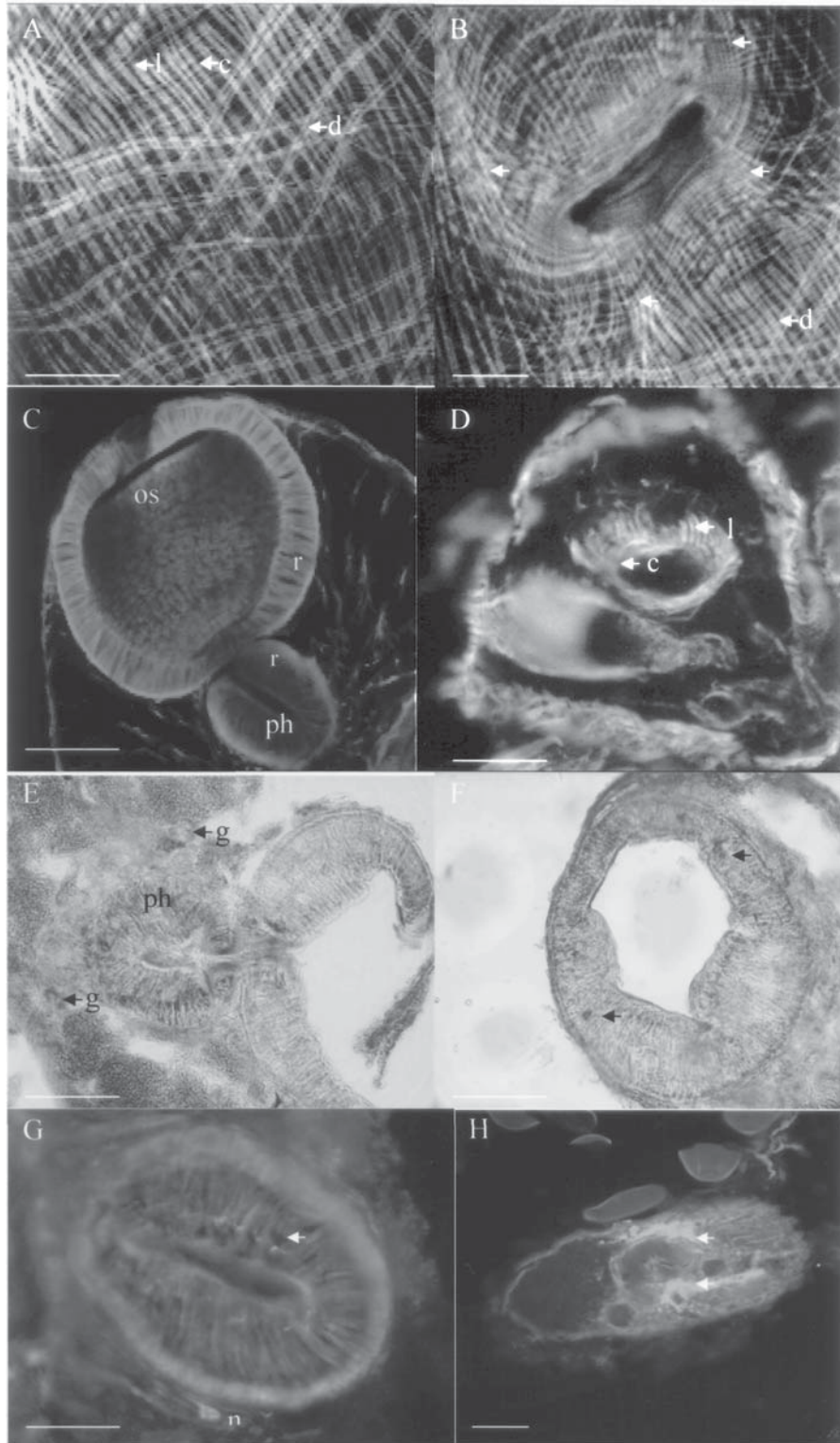
Мощно развитая мускулатура ротовой и брюшной присосок представлена тремя типами мышечных волокон: радиальными, кольцевыми и продольными. Кольцевые волокна образуют внешний мышечный слой стенки присоски, под ними располагается тонкий слой продольных волокон, радиальные волокна проходят от внутренней к внешней стенке присоски. От стенки тела к брюшной присоске с четырех сторон идут пучки мышечных волокон (рис. 1В). Мускулистая глотка имеет шарообразную форму и включает два слоя мышечных волокон: хорошо развитый радиальный слой и кольцевой слой (рис. 1С). На границе ротовой присоски и префаринкса имеется сужение типа сфинктера, ограниченное кольцевыми волокнами. Пищевод имеет развитый мышечный слой, представленный хорошо выраженными наружными продольными и внутренними коль-

цевыми волокнами. Ветви кишечника в районе бифуркации и до изгиба в каудальном направлении также имеют два мышечных слоя — менее развитый наружный продольный и внутренний кольцевой. В целом, мускулатура кишечника становится менее выраженной по мере удаления от места бифуркации.

В половой системе *A. isoporum* мышечный слой наиболее сильно развит в области ее дистальных отделов. Дистальный отдел матки — метратерм, а также дистальные отделы мужской половой системы имеют толстую мышечную стенку, состоящую из хорошо развитого кольцевого слоя и менее мощного продольного слоя (рис. 1D). Кольцевые и продольные мышечные волокна окружают половое отверстие, открывающееся медианно. Оотип имеет утолщенную мышечную стенку, состоящую из кольцевых и продольных мышечных волокон. Проксимальные отделы половой системы имеют тонкую мышечную стенку, состоящую преимущественно из кольцевых волокон.

При исследовании NO-ергических структур у *A. isoporum* обнаружено, что НАДФН-диафоразная реакция выявляется по бокам глотки, на уровне верхней ее части, т.е. в области церебральных ганглиев (рис. 1E). NO-ергические волокна видны в отходящих от церебральных ганглиев продольных нервных стволах, которые прослеживаются на срезах до уровня брюшной присоски. В дистальной части тела паразита положительное окрашивание продольных нервных стволов не выявлено. Специфически окрашенные волокна отмечены между радиальными мышечными волокнами брюшной и ротовой присосок в субтегументе. Помимо этого, среди мышечных волокон ротовой и брюшной присосок, а также глотки обнаружены несколько радиально расположенных структур, имеющих положительную реакцию на НАДФН-диафорузу (рис. 1F). Реакция наблюдалась также в волокнах, расположенных вблизи брюшной присоски.

Сильное положительное окрашивание на НАДФН-диафорузу обнаружено в дистальных и проксимальных отделах мужской и



женской половой системы: в мышечной стенке семяизвергательного канала, а также в простатических железах. Интенсивное окрашивание найдено также вдоль мышечных волокон глотки, пищевода и кишечника.

При исследовании серотонинергических (5-НТ-ергических) нервных структур крупные биполярные 5-НТ-иммунореактивные нейроны и нервные волокна выявлены в области расположения церебральных ганглиев. Серотонинергические нейроны были отмечены также в продольных нервных стволах. Несколько биполярных 5-НТ-иммунореактивных нейронов и волокон найдено вблизи ротовой и брюшной присосок (рис. 1G). Кроме того, сеть тонких нервных волокон обнаружена в толще мускулатуры обеих присосок, а также глотки.

Интенсивная реакция на 5-НТ наблюдалась вблизи дистальных отделов репродуктивной системы (рис. 1H). В верхних отделах как мужской, так и женской половой системы иногда можно было видеть 5-НТ-иммунореактивные волокна.

Paramphistomum cervi. Мускулатура стенки тела *P. cervi* хорошо развита и представлена наружными тонкими кольцевыми, более толстыми продольными и внутренними диагональными волокнами (рис. 2A).

Ротовая и брюшная присоски расположены терминально на противоположных концах тела. Они имеют развитую мускула-

туру и состоят из тонкого слоя продольных и кольцевых волокон, а также многочисленных радиальных мышц. Кроме того, в толще мускулатуры ротовой присоски отмечены крупные пучки продольных мышечных волокон, расположенные симметрично с двух сторон по краям внутренней полости присоски. С двух сторон ротовой щели выявляются также полукольцевые волокна (рис. 2B).

От ротовой и брюшной присосок с наружной стороны отходят толстые пучки мышечных волокон. Мышечная стенка пищевода и кишечных стволов представлена внутренним кольцевым и наружным продольным слоями волокон.

Половое отверстие лежит против бифуркации кишечной трубки. Половой сосочек почти целиком состоит из мышц, синус окружен специальным субкутикулярным утолщением. Матка и семяизвергательный канал имеют толстую мышечную стенку, образованную кольцевыми и продольными мышечными волокнами. Снаружи матка и семяизвергательный канал, входящие в состав способного к выпячиванию полового сосочка, покрыты несколькими слоями кольцевой мускулатуры. Половой сосочек расположен в половом синусе, имеющем кольцевые и радиальные мышечные волокна (рис. 2C).

НАДФН-диафоразная реакция, свидетельствующая о наличии NO-ергических структур, наблюдается в парных симмет-

Рис. 1. Нервная и мышечная система *Allocreadium isoporum* Looss, 1894.

A — мускулатура стенки тела: кольцевые (c), продольные (l) и диагональные (d) мышечные волокна (стрелки); B — диагональные волокна (d) и пучки продольных волокон (стрелки) в области брюшной присоски; C — мускулатура ротовой присоски (os) и глотки (ph); радиальные мышечные волокна (r); D — кольцевые (c) и продольные (l) мышечные волокна матки; E — парные NO-ергические элементы (g) по бокам глотки (ph), видно также положительное НАДФН-диафоразное окрашивание между мышечными волокнами глотки (стрелка); F — НАДФН-д окрашенные элементы в толще мускулатуры ротовой присоски (стрелки); G — 5-НТ-иммунореактивный биполярный нейрон и волокна (n) в области ротовой присоски, волокна в толще мускулатуры (стрелка); H — 5-НТ-иммунореактивные элементы в области половой бурсы. A–C, E — продольные срезы; D, F–H — поперечные срезы. Масштаб: A, D — 30 мкм; B, C, E–H — 100 мкм.

Fig. 1. Nervous and muscular system of *Allocreadium isoporum* Looss, 1894.

A — the musculature of the body wall: circular (c), longitudinal (l) and diagonal (d) muscle fibers (arrows); B — diagonal fibers (d) and longitudinal fibers (arrows) connected to the ventral sucker; C — the musculature of oral sucker (os) and pharynx (ph); radial muscle fibers (r); D — circular (c) and longitudinal (l) muscle fibers of the uterus; E — two NO-ergic elements (g) surrounded the pharynx (ph), the pattern of NADPH-d staining between the muscle fibers of pharynx (arrow); F — NADPH-d staining between the muscle fibers of oral sucker (arrows); G — 5-HT-IR bipolar neurons (n) and fibers close to oral sucker, between the muscle fibers of oral sucker (arrow); H — 5-HT-IR patterns in the cirrus sack. A–C, E — longitudinal section; D, F–H — transversal section. Scale bars: A, D — 30 μm; B, C, E–H — 100 μm.

ричных образованиях, лежащих по бокам префаринкса, у основания ротовой присоски, что соответствует расположению церебральных ганглиев (рис. 2D).

Структуры с положительной реакцией на НАДФН-диафоруазу были отмечены также в толще мускулатуры ротовой и брюшной присосок (рис. 2E). Вблизи брюшной присоски выявлены НАДФН-д положительные волокна. Кроме того, специфическое окрашивание наблюдалось непосредственно между мышечными волокнами ротовой и брюшной присосок и пищевода, вблизи мышечных волокон стенки тела (рис. 2D). Несколько положительно окрашенных структур можно было видеть вблизи пищевода.

НАДФН-диафоразное окрашивание отмечено в дистальных отделах половой системы. Положительная НАДФН-диафоразная реакция выявлена между мышечными волокнами половых выводных протоков — семяизвергательного канала и матки, а также в простатических железах. Положительно окрашенные структуры обнаружены вблизи стенки матки, а также в толще мускулатуры полового сосочка (рис. 2F).

Характерное зеленое свечение, свидетельствующее о наличии серотонинергических нервных элементов, наблюдалось у основания ротовой присоски в области расположения церебральных ганглиев (рис. 2G). Отхо-

дящие от окологлоточного нервного кольца продольные нервные стволы также содержат серотонинергические нервные волокна. Кроме того, 5-НТ-иммунореактивные элементы выявлены в поперечных комиссурах, связывающих продольные нервные стволы.

Серотонинергические клетки и волокна найдены в толще мускулатуры ротовой и брюшной присосок (рис. 2H). 5-НТ-иммунореактивные элементы и волокна обнаружены вблизи стенки матки и дистальных отделов мужской половой системы.

Обсуждение

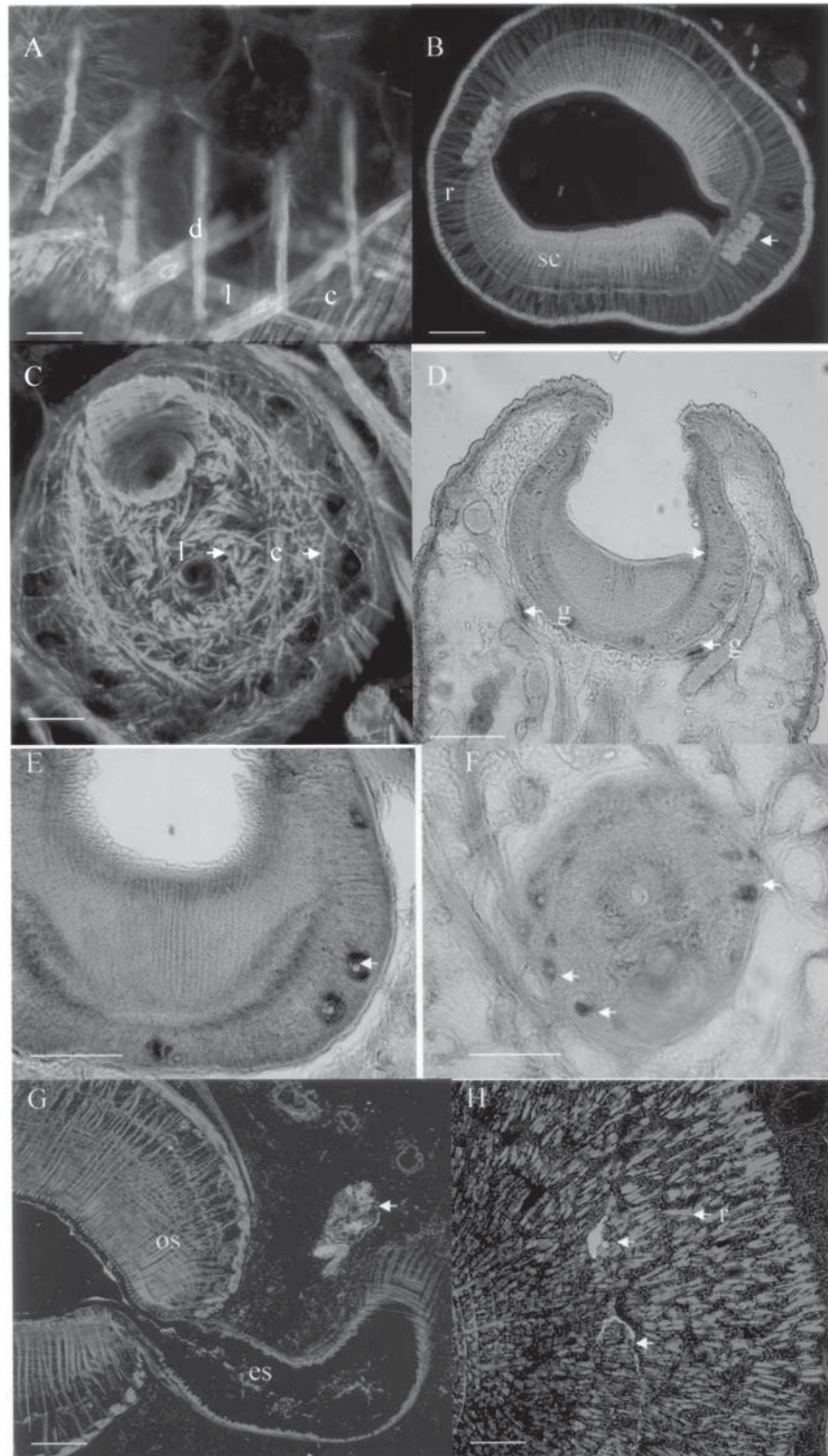
Организация мышечной системы *A. isoporum* и *P. cervi* в целом соответствует типичной схеме строения мускулатуры трематод (Галактионов, Добровольский, 1998; Halton, Maule, 2003 и др.). По данным Ястребовой (2005), стенка тела трематоды *Gastrothylax crumenifer* содержит не три, как у многих описанных в этом отношении трематод, а четыре мышечных слоя (кольцевой, наружный продольный, диагональный, внутренний продольный), при этом наружный продольный слой уступает по толщине внутреннему. Ранее подобное нетипичное строение стенки тела отмечалось также у другого представителя семейства Paramphistomidae — *Diplodiscus subclavatus* (см. Ястребов,

Рис. 2. Нервная и мышечная система *Paramphistomum cervi* Zeder, 1790.

A — кольцевые (c), продольные (l) и диагональные (d) мышечные волокна стенки тела; B — радиальные (r) мышечные волокна ротовой присоски, крупные пучки продольных мышечных волокон (стрелка), полукольцевые волокна (sc); C — мускулатура дистальных отделов половой системы; продольные (l) и кольцевые (c) мышечные волокна полового сосочка; D — НАДФН-д окрашенные структуры у основания ротовой присоски (g) в месте расположения церебральных ганглиев, между мышечными волокнами присоски (стрелка); E — НАДФН-д положительные структуры в толще ротовой присоски (стрелки); F — НАДФН-д положительные структуры в области дистальных отделов половой системы; G — 5-НТ-иммунореактивные элементы в церебральных ганглиях (стрелка) (os — ротовая присоска, es — пищевод); H — 5-НТ-ергические элементы в брюшной присоске (r — радиальные мышечные волокна). D, E, G — продольные срезы; A — C, F, H — поперечные срезы. Масштаб: A — 20 мкм; B, D, E — 100 мкм; C, F, H — 50 мкм.

Fig. 2. Nervous and muscular system of *Paramphistomum cervi* Zeder, 1790.

A — circular (c), longitudinal (l) and diagonal (d) muscle fibers of the body wall; B — radial (r) muscle fibers of the oral sucker, large bands of longitudinal muscle fibers (arrows), semicircular fibers (sc); C — the musculature of the distal part of reproductive system; longitudinal (l) and circular (c) muscle fibers of the genital sinus; D — NADPH-d staining close to oral sucker (g), between the muscle fibers of the oral sucker (arrow); E — NADPH-d staining between the muscle fibers of oral sucker (arrows); F — NADPH-d patterns close to the distal part of reproductive system; G — 5-HT-IR patterns in cerebral ganglions (arrow) (os — oral sucker, es — esophagus); H — 5-HT-ergic patterns in the ventral sucker (r — radial muscle fibers). D, E, G — longitudinal section; A — C, F, H — transversal section. Scale bars: A — 20 μm; B, D, E — 100 μm; C, F, H — 50 μm.



1997). В наших исследованиях подобное строение стенки тела мариты *P. cervi* не обнаружено. В то же время, отмеченное у *G. crumenifer* слабое развитие дорсовентральных мышечных волокон, расположенных в основном латерально, подтверждается и для *P. cervi*.

Мощно развитая мускулатура ротовой и брюшной присоски *P. cervi* представлена тремя слоями мышечных волокон: радиальными, кольцевыми и продольными, что согласуется с существующими сведениями о строении мускулатуры присосок трематод (Halton, Maule, 2003; Stewart et al., 2003; Sebelova et al., 2004 и др.). В ротовой и брюшной присосках *G. crumenifer* Ястребовой (2005) отмечены диагональные мышцы, а в ротовой присоске найдены еще и полукольцевые мышцы. По мнению Ястребовой (2005), это может свидетельствовать об их участии в активном питании мариты, что было подтверждено в отношении других представителей семейства Paramphistomatidae (см. Halton, 1967). Предполагается, что диагональные мышцы увеличивают разнообразие движений присоски, тогда как полукольцевые, прикрепляясь к углам щелевидной ротовой полости, способны изгибать ее дорсально или вентрально (Halton, 1967). У *P. cervi* мы также обнаружили полукольцевые мышцы в толще мускулатуры ротовой присоски, а также толстые пучки продольных мышечных волокон, расположенные симметрично по краям внутренней полости присоски.

Согласно данным Ястребовой (2005), у *G. crumenifer* внутренняя стенка присоски формируется наружными продольными мышечными волокнами, под которыми находится слой кольцевых мышц. Такое же расположение мышечных слоев выявлено нами у *P. cervi*.

По нашим данным, мускулатура пищеварительной системы (пищевода и кишечных стволов) исследованных трематод состоит из наружного продольного и внутреннего кольцевого слоя мышечных волокон. Кроме того, в глотке *A. isoporum* отмечен слой ра-

диальных мышечных волокон. Эти сведения отличаются от данных Mair et al. (2000), полученных для *Schistosoma mansoni*, согласно которым стенка кишечных стволов состоит только из одного слоя мышечных волокон — кольцевого. В то же время, Sebelova et al. (2004) также указывают на наличие двух слоев мышечных волокон в стенке кишечных стволов у *Echinostoma caproni*.

Известно, что развитая мускулатура дистальных отделов репродуктивной системы трематод играет важную роль в процессах оплодотворения и выделения яиц (Halton, Maule, 2003). Сведения о наличии мышечных элементов в дистальных отделах репродуктивной системы *A. isoporum* и *P. cervi* согласуются с тем, что известно для других трематод (Mair et al., 1998, 2000; Sebelova et al., 2004). Наши исследования, проведенные на *P. cervi*, подтверждают данные Ястребовой (2005) о наличии радиальных мышечных волокон в мускулатуре полового сосочка у *G. crumenifer*.

Анализ полученных нами результатов показал, что у *A. isoporum* и *P. cervi* специфическое окрашивание, свидетельствующее о наличии нитроксидергических структур, наблюдалось в центральных отделах нервной системы: церебральных ганглиях и связывающей их комиссуре, продольных нервных стволах. Эти данные соответствуют немногочисленным сведениям, имеющимся для других видов трематод, а именно: *Fasciola hepatica* и *Fasciolopsis busci* (Gustafsson et al., 2001; Tandon et al., 2001).

Нам не удалось обнаружить специфического окрашивания на НАДФН-диафразу в нервных стволах, расположенных в дистальной части тела исследованных паразитов. Этот факт был отмечен и другими авторами при исследовании трематоды *E. caproni* (см. Sebelova et al., 2004).

Данные литературы свидетельствуют о том, что у трематод *F. hepatica* и *F. busci* вблизи мускулатуры стенки тела расположены многочисленные разветвленные волокна, демонстрирующие реакцию на

НАДФН-диафору, которые образуют субтегументальное нервное сплетение (Gustafsson et al., 2001; Tandon et al., 2001). Наши исследования также показали наличие специфически окрашенных волокон в субтегументе у *A. isoporum* и *P. cervi*. Можно предположить, что NO-ергические нервные структуры могут играть роль в регуляции активности мускулатуры в стенке тела исследуемых гельминтов. В пользу этого предположения говорят данные о влиянии NO-ергических веществ на двигательную активность цестод. Так, инкубация фрагментов стробилы *Triaenophorus nodulosus* в растворе донора оксида азота — нитропруссиде натрия (SNP), вызвала статистически достоверное изменение параметров двигательной активности паразита. Добавление SNP приводило к увеличению среднего значения мышечного тонуса. Кроме того, при воздействии донора оксида азота наблюдалось уменьшение периода фибрилляций и уменьшение амплитуды сокращения мускулатуры. Воздействие на перистальтические волны выражалось в увеличении периода и в уменьшении амплитуды сокращений (Толстенков, 2006).

У исследованных нами трематод обнаружены NO-ергические волокна, идущие к органам прикрепления. Реакция на НАДФН-диафору выявлена также в радиальной мускулатуре ротовой и брюшной присосок. Эти данные могут свидетельствовать в пользу того, что оксид азота принимает участие в регуляции активности мускулатуры органов прикрепления трематод. Специфическое окрашивание на НАДФН-д было отмечено между мышечными волокнами присосок также у *Azygia lucii* и *Haplometra cylindracea* (см. Теренина, Густафссон, 2003), *F. hepatica* (см. Gustafsson et al., 2001), *Diplostomum chromatophorum* (см. Terenina, Gustafsson, 2002), что согласуется с полученными нами данными.

У исследованных нами трематод в толще мускулатуры ротовой и брюшной присосок обнаружены структуры, имеющие положительную НАДФН-диафоразную реакцию. В

брюшной и ротовой присосках *F. hepatica* также выявлены крупные нервные клетки, имеющие НАДФН-диафоразную реакцию, которые могут принимать участие в регуляции чувствительной и двигательной функции присоски (Gustafsson et al., 2001). Обращают на себя внимание также крупные размеры этих клеток, сравнимые с размерами нейронов церебральных ганглиев, большая вариабельность их размеров, а также их значительное количество в мускулатуре присосок у *F. hepatica* (см. Gustafsson et al., 2001).

По-видимому, одной из функций NO-ергических структур, обнаруженных в стенке пищеварительных органов и в половой системе исследованных трематод, может быть регуляция активности мышечных волокон данных органов. Согласно данным литературы, NO-ергические элементы отмечены в фаринксе *F. hepatica* (см. Gustafsson et al., 2001), в нервных клетках и волокнах в области сумки цирруса и полового отверстия *F. buski* (см. Tandon et al., 2001), матке *A. lucii* (см. Теренина и Густафссон, 2003). В наших исследованиях НАДФН-диафоразное окрашивание обнаружено в мышечной стенке пищевода и ветвей кишечника у трематод *A. isoporum* и *P. cervi*. Положительная реакция выявляется также между радиальными мышечными волокнами глотки у *A. isoporum*.

Интенсивное НАДФН-диафоразное окрашивание обнаружено нами в дистальных отделах мужской и женской половой системы *A. isoporum* и *P. cervi*. У *P. cervi*, кроме того, в толще мускулатуры полового сосочка выявлено несколько положительно окрашенных структур, которые располагались по периметру мышечного утолщения. Положительно окрашенные элементы и волокна обнаружены вблизи стенки матки и семяизвергательного канала. Кроме того, НАДФН-диафоразная реакция отмечена между мышечными волокнами половых выводных протоков, в мышечной стенке семяизвергательного канала, в простатических железах у трематод. В проксимальных отделах мужской и женской половой системы *A. isoporum* и *P. cervi* также можно было видеть НАДФН-

диафоразное окрашивание отдельных частей стенки репродуктивных органов. В связи с нашими данными о наличии мышечных элементов в начальных отделах репродуктивной системы, можно предположить, что НО-ергические элементы нервной системы участвуют в регуляции их сократительной активности.

В нервной системе исследованных нами трематод были выявлены серотонинергические структуры. Как и у других исследованных в этом отношении различных представителей трематод (Fairweather et al., 1987; McKay et al., 1990; Gustafsson et al., 2001 и др.), 5-НТ-ергические нервные элементы имеются у исследованных видов в церебральных ганглиях, церебральной комиссуре, продольных нервных стволах. Серотонин рассматривается как возбуждающий нейромедиатор у трематод. Доказательством этому служат сведения о действии серотонинергических веществ на активность мускулатуры трематод. Показано, что серотонин оказывает стимулирующий эффект на мышечную активность у *F. hepatica* и *Sch. mansoni* (Hillman, Senft, 1973; Tomosky et al., 1974 и др.). Мы показали наличие серотонинергической иннервации мускулатуры ротовой и брюшной присосок у трематод *A. isoporum* и *P. cervi*. Иннервация 5-НТ-ергическими волокнами прикрепительных органов была показана для *F. hepatica* (см. Gustafsson et al., 2001), *Parafasciolopsis fasciolaemorphia* (см. Теренина и Густафссон, 2003), *H. cylindracea* (см. McKay et al., 1990) и других трематод. Эти данные свидетельствуют о том, что серотонинергические нервные элементы принимают участие в регуляции активности мускулатуры прикрепительных органов трематод.

Серотонинергические волокна выявлены нами в глотке у *A. isoporum*, ветвях кишечника у *A. isoporum*, *P. cervi*. Как показывают наши и литературные данные, эти отделы пищеварительной системы трематод имеют хорошо развитую мускулатуру. Можно предположить, что активность этой мускулатуры, способствующей продвижению

пищи в пищеварительном тракте, осуществляется при участии 5-НТ-ергических нервных элементов.

Серотонин-иммунореактивные клетки и волокна обнаружены вблизи дистальных отделов репродуктивной системы у исследованных нами видов трематод. Различия касались числа и размеров выявленных структур. Эти сведения согласуются с литературными данными, согласно которым 5-НТ-ергические клетки и волокна отмечены вблизи органов половой системы у *F. hepatica*, *H. cylindracea*, *Bucephaloides gracilescens*, *E. caproni* и др. (Fairweather et al., 1987; McKay et al., 1990; Stewart et al., 2003; Sebelova et al., 2004 и др.). Это говорит о возможном участии серотонинергических нервных волокон в регуляции мускулатуры репродуктивной системы у трематод.

Литература

- Галактионов К.В., Добровольский А.А. 1998. Происхождение и эволюция жизненных циклов трематод. С.-Пб.: Наука. 404с.
- Теренина Н.Б., Густафссон М.К.С. 2003. Нейротрансмиттеры у гельминтов. М.: Наука. 178с.
- Толстенков О.О. 2006. Морфо-функциональное исследование нейрональных сигнальных систем (серотонин и оксид азота) у паразитических плоских червей. Авт. дисс... канд. биол. наук. М. 16с.
- Шишов Б.А. 1991. Аминергические и холинергические элементы в нервной системе гельминтов // Труды зоологического института АН СССР. Т.241. С.112–137.
- Ястребов М.В. 1997. Мускулатура тела некоторых трематод и фиксация фаз в эволюции присасывательной функции // Зоологический журнал. Т.76. Вып.6. С.645–656.
- Ястребова И.В. 2005. Мышечная система некоторых реофильных представителей класса Trematoda. Дисс... канд. биол. наук. М. 184 с.
- Barton Ch.L., Halton D.V., Shaw C., Maule A.G., Johnston C.F. 1993. An immunocytochemical study of putative neurotransmitters in the metacercariae of two strigeoid trematodes from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Parasitology Research. Vol.79. P.389–396.
- Biserova N.M., Dudicheva V.A., Terenina N.B., Reuter M., Halton D.W., Maule A.G., Gustafsson M.K.S. 2000. The nervous system of *Amphilina foliaceae* (Platyhelminthes, Amphiliinea). An immunocytochemical, ultrastructure and spectrofluorometrical study // Parasitology. Vol.121. P.441–453.

- Biserova N.M., Gustafsson M.K.S., Reuter M., Terenina N.B. 1996. The nervous system of the pike-tapeworm *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda: Pseudophyllidea) — ultrastructure and immunocytochemical mapping of aminergic and peptidergic elements // *Invertebrate Biology*. Vol.115. P.273–285.
- Coons A.H., Leduc E.H., Connolly J.M. 1955. Studies of antibody production. I. A method for the histochemical demonstration of specific antibody and its application to a study for the hiperimmune rabbit // *Journal of Experimental Medicine*. Vol.102. P.49–60.
- Fairweather I., Maule A.G., Mitchell S.H., Johnston C.F., Halton D.W. 1987. Immunocytochemical demonstration of 5-hydroxytryptamine (serotonin) in the nervous system of the liver fluke, *Fasciola hepatica* (Trematoda, Digenea) // *Parasitology Research*. Vol.73. P.255–258.
- Garthwaite J. 1991. Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system // *Trends Neurosciences*. Vol.14. P.60–67.
- Gustafsson M.K.S., Terenina N.B., Kreshchenko N.D., Reuter M., Maule A.G., Halton D.W. 2001. Comparative study of the spatial relationship between nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase activity, serotonin immunoreactivity, and GYIRfamide immunoreactivity and musculature of the adult liver fluke, *Fasciola hepatica* (Digenea, Fasciolidae) // *Journal of Comparative Neurology*. Vol.429. P.71–79.
- Gzubaj A., Grabda-Kazubska B. 1993. Localisation and distribution of catecholamines in the nervous system of *Opisthophryne ranae* (Frolich, 1791) cercaria (Digenea, Plagiogoriidae) // *Acta Parasitologica*. Vol.38. P.151–154.
- Halton D.W. 1967. Observations on the nutrition of digenetic trematodes // *Parasitology*. Vol.57. P.639–660.
- Halton D.W., Maule A.G. 2003. Flatworm nerve-muscle: structural and functional analysis // *Canadian Journal of Zoology*. Vol.82. P.316–333.
- Hillman C.R., Senft A.W. 1973. *Schistosoma* motility measurement: Response to drugs // *Journal of Pharmacology*. Vol.185. P.177–184.
- Hope B.T., Vincent S.R. 1989. Histochemical localization of neuronal NADPH-diaphorase // *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. Vol.37. P.653–661.
- Mair G., R., Maule A.G., Shaw C., Halton D.W. 1998. Muscling in parasitic flatworms // *Parasitology Today*. Vol.14. P.73–76.
- Mair G., R., Maule A.G., Day T.A., Halton D.W. 2000. A confocal microscopical study of the musculature of adult *Schistosoma mansoni* // *Parasitology*. Vol.121. P.163–170.
- Marks N.J., Halton D.V., Maule, Brennan G.P., Shaw C., A.G., Southgate V.R., Johnston C.F. 1995. Comparative analysis of the neuropeptide F(NPF)- and FMRFamide-related (FaRP)-immunoreactivities in *Fasciola hepatica* and *Schistosoma spp.* // *Parasitology*. Vol.110. P.371–381.
- McKay D.M., Halton D.W., Johnston C.F., Fairweather J., Shaw C. 1990. Occurrence and distribution of putative neurotransmitters in the frog-lung parasite *Haplometra cylindracea* (Trematoda: Digenea) // *Parasitology Research*. Vol.76. P.509–517.
- Niewiadomska K., Moszon T., Czubaj A., Kiseliene V. 1996. Cholinergic and aminergic nervous systems of *Cercaria globocaudata* U. Szidat, 1940 (Digenea, Strigeida) // *Acta Parasitologica*. Vol.41. P.84–89.
- Sebelova S., Stewart M., Mousley A., Fried B., Marks N.J., Halton D.W. 2004. The musculature and associated innervation of adult and intramolluscan stages of *Echinostoma caproni* (Trematoda) visualised by confocal microscopy // *Parasitology Research*. Vol.90. P.509–516.
- Snyder S.H. 1992. Nitric oxide: first in a new class of neurotransmitters // *Science*. Vol.257. P.494–496.
- Stewart M.T., Mousley A., Koubkova B., Sebelova S., Marks N.J., Halton D.W. 2003. Gross anatomy of the muscle systems and associated innervation of *Apatemon cobitidis* proterorhynchid metacercaria (Trematoda: Strigeida), as visualized by confocal microscopy // *Parasitology*. Vol.126. P.276–282.
- Tandon V., Kar P.K., Saha N. 2001. NO nerves in trematodes too! NADPH-diaphorase activity in adult *Fasciolopsis buski* // *Parasitology International*. Vol.50. P.157–163.
- Terenina N.B., Gustafsson M.K.S. 2002. Nitric oxide and its target cells in cercaria of *Diplostomum chromatophorum*: a histochemical and immunocytochemical study // *Parasitology Research*. Vol.89. P.199–206.
- Terenina N.B., Onufriev M.V., Gulyaeva N.V., Moiseeva Y.V., Gustafsson M.K.S. 2003. Nitric oxide synthase activity in *Fasciola hepatica*: a radiometric study // *Parasitology*. Vol.126. P.585–590.
- Terenina N.B., Tolstenkov O.O., Fagerholm H.-P., Serbina E.A., Vodjanitskaja S.N., Gustafsson M.K.S. 2006. The special relationship between the musculature and the NADPH-diaphorase activity, 5-HT and FMRFamide immunoreactivities in redia, cercaria and adult *Echinoparyphium aconiatum* (Digenea) // *Tissue and Cell*. Vol.38. P.151–157.
- Tomosky T.K., Bennet J.L., Bueding E. 1974. Tryptaminergic and dopaminergic responses of *Schistosoma mansoni* // *Journal of Pharmacology*. Vol.190. P.260–271.
- Wahlberg M.H. 1998. The distribution of F-actin during the development of *Diphyllobothrium dendriticum* (Cestoda) // *Cell and Tissue Research*. Vol.291. P.561–570.