

УДК 595.12:577.175.82

**НЕЙРОПЕПТИДЫ У ПЛОСКИХ ЧЕРВЕЙ  
(ТРЕМАТОДЫ, ЦЕСТОДЫ, ТУРБЕЛЛЯРИИ):  
ЛОКАЛИЗАЦИЯ, ФУНКЦИЯ, РЕЦЕПТОРЫ***Т.А. Малютина, Н.Б. Теренина, Н.Д. Крещенко***Аннотация**

В статье анализируются данные об иммуноцитохимической локализации, физиологических эффектах и функциональном значении нейропептида FMRFамида (и FMRFамид-подобных веществ) у представителей плоских паразитических червей – взрослых и личиночных форм трематод и цестод, а также плоских свободноживущих червей – турбеллярий. Обсуждается вопрос о филогенетическом родстве исследуемых объектов, а также о возможности создания антигельминтных препаратов, биологической мишенью для которых могут быть нейропептидные рецепторы плоских паразитических червей (или отдельные звенья пептидергической системы этих организмов).

**Ключевые слова:** нейропептиды, иммуноцитохимия, плоские паразитические черви, цестоды, трематоды, турбеллярии, рецепторы.

**Введение**

Нейропептиды – биологически активные вещества, состоящие из различного числа аминокислотных остатков (от двух до нескольких десятков). Среди них различают олигопептиды, состоящие из небольшого числа аминокислотных остатков, и более крупные – полипептиды. Однако, по мнению специалистов, четкой границы между этими двумя группами веществ не существует. Еще более крупные аминокислотные последовательности, содержащие более сотни аминокислотных остатков, обычно называют регуляторными белками. Нейропептиды синтезируются, как правило, в нейронах центральной или периферической нервной системы животных.

Биосинтез пептидов в клетке, включая нейропептиды, подробно изучен у позвоночных животных. Синтез нейроактивных пептидов выглядит следующим образом: группирование аминокислот и других предшественников в крупные полипептидные прегормоны происходит в шероховатом эндоплазматическом ретикулуме. В аппарате Гольджи они превращаются в несколько меньшие прогормоны, которые, в свою очередь, расщепляются ферментами неспецифических протеаз на фрагменты, являющиеся активными пептидами, которые заключаются в пузырьки [1].

Многочисленными исследованиями установлено наличие нейропептидов в нервной системе всех животных. В организме человека и животных нейропептиды выполняют роль регуляторов разнообразных физиологических функций, участвуя в процессах обмена веществ и поддержании гомеостаза, действуя

на иммунные процессы, регулируя температуру тела, дыхание, мышечный тонус, организуя коммуникации между разными клетками с помощью специализированного химического сигнала. Кроме того, нейропептиды обладают способностью модулировать функции нервной и других клеток, принимать участие в осуществлении различных физиологических реакций в организме животных. Относительно недавно выявлены полифункциональные возможности нейропептидов, которые связаны со их способностью индуцировать выход определенной группы других пептидов, в результате чего первичные эффекты того или иного пептида развиваются во времени в виде цепных или каскадных процессов [2].

Нейропептиды, как и другие классические нейротрансмиттеры (например, ацетилхолин, серотонин, норадреналин), высоко специфичны в своих действиях, но различаются по силе и сложности воздействия.

Медиаторные функции нейропептидов наиболее подробно исследованы на позвоночных животных [2].

Наряду со сходством с классическими нейромедиаторами, нейропептиды отличаются от последних большей длительностью времени действия их физиологических эффектов, которые могут длиться минутами или даже часами. При этом нейропептиды могут диффундировать из мест высвобождения, перемещаться с помощью тока крови, действуя на расстоянии от тканевой мишени, а также выступать в качестве посредников во многих долго длящихся трофических эффектах (в течение нескольких дней) путем изменения состояния роста или дифференциации (разделения, разграничения) клеточных мишеней [2].

Учитывая всеобъемлющую роль нейропептидов в регуляции большинства физиологических функций у животных, в литературе высказывается мнение о том, что на самом деле существует мало биологических процессов, в которые не были бы включены нейропептиды.

Считается, что физиологическое воздействие нейропептидов на клетки-мишени реализуется через взаимодействие этих нейроактивных веществ с рецепторами, расположенными на поверхности клеток-мишеней. Это взаимодействие может быть либо локальным, либо на некотором расстоянии от места высвобождения нейропептидов и оно влечет за собой развитие физиологических событий, которые осуществляются либо при участии набора G-протеинов, активирующих вторичные мессенджеры, либо путем изменения мембранного потока ионов.

В настоящее время нейропептиды причисляют к классу универсальных химических регуляторов, имеющих ряд общих биохимических свойств и обладающих широким спектром физиологических эффектов.

Исследования физиологической роли нейропептидов у животных показали, что для проявления биологической активности большинство нейропептидов нуждается в наличии альфа-амидной группы в карбоси-терминальном окончании. Установлено, что амидирование пептидов осуществляется с помощью двух ферментов – пептидилглицин-альфа-гидроксилирующей монооксигеназы и пептидил-альфа-гидроксиглицин-альфа-амидирующей лиазы, которые у большинства эукариот экспрессируются как отдельные домены единого протеина пептидилглицин альфа-амидирующей монооксигеназы [3, 4].

Один из таких энзимов (пептидилглицин-альфа-гидроксилирующая монооксигеназа) идентифицирован у трематоды *Schistosoma mansoni*, и определена его локализация в сети аппарата Гольжи и в секреторных везикулах нервных отростков центральной и периферической нервных систем червя [5].

Настоящая статья посвящена анализу данных литературы о распределении короткого амидированного тетрапептида Phe-Met-Arg-Phe-NH<sub>2</sub> (FMRFамид) в тканях некоторых представителей паразитических и свободноживущих плоских червей, относящихся к типу *Platyhelminthes*, и попытке обобщить имеющиеся в литературе данные о физиологической роли и функциях нейропептидов, включая FMRFамид, у этих животных.

Такой выбор объектов обусловлен попыткой связать сходство в распределении нейропептидов на примере короткого нейропептида FMRFамида в тканях некоторых представителей паразитических и свободноживущих плоских червей с их филогенетическим родством.

Впервые нейропептид FMRFамид был выделен в 1977 г. из ганглиев моллюска *Macrocallista nimbosa* [6].

В последующих исследованиях этими авторами была изучена фармакологическая активность нейропептида на целом ряде сердечных и других мышц и нейронов у различных видов моллюсков [7].

В 90-е годы прошлого столетия в литературе появились сообщения о выявлении в нервных структурах беспозвоночных животных ряда других коротких нейропептидов, родственных по химической структуре FMRFамиду – FMRFамид-подобных пептидов (FaRPs). К этим пептидам относятся нейропептид YIRFамид (выделен из турбеллярии *Bdelloura candida*), GYIRFамид (выделен из турбеллярий *Dugesia tigrina* и *B. candida*), RYIRFамид (выделен из наземной турбеллярии *Artioposthia triangulate*), GNFFRFамид (выделен из цестоды *Moniezia expansa*) [8–11].

Сведения о присутствии FMRFамида и FMRFамид-подобных пептидов в тканях плоских червей приведены в нескольких зарубежных обзорах [12–17].

Одним из крупнейших достижений современной нейробиологии явилась разработка иммуноцитохимических методов определения локализации и идентификации нейропептидов в нервной и других тканях. Эти методы оказались одинаково применимыми для исследований, как на позвоночных, так и на беспозвоночных животных, включая свободно живущих и паразитических червей.

Для определения локализации FMRF-подобных пептидов у плоских червей обычно используют различные антитела к RФамиду, GYIRF-амиду, GYRFамиду, GNFFRFамиду, FMRFамиду, анти-пероксидазный метод и другие известные методы определения локализации FMRF-подобных пептидов в биологических объектах.

В настоящее время сочетание иммуноцитохимических и радиометрических методов, использование конфокальной микроскопии, а также молекулярно-генетических методов являются основными инструментами для исследования распределения FaRP-активностей в тканях позвоночных и беспозвоночных животных.

В настоящей статье приводятся и анализируются данные об иммуноцитохимической активности и физиологических эффектах FMRFамида и FMRFамид-

подобных веществ, полученные при исследовании некоторых представителей плоских паразитических червей – взрослых и личиночных форм трематод и цестод, а также плоских свободноживущих червей – турбеллярий.

## 1. Результаты

### 1.1. Нейропептид FMRFамид у трематод.

#### *Иммуноцитохимические исследования.*

Использование антисыворотки к нейропептиду FMRFамиду показало наличие иммунореактивности к этому веществу в центральных и периферических отделах нервной системы нескольких видов трематод [14, 17].

В целом пептидергические нейроны и нервные волокна обнаружены в церебральных ганглиях, продольных нервных стволах, поперечных комиссурах взрослых и личиночных форм трематод (церкарий и метацеркарий). Иннервация пептидергическими волокнами обнаружена в прикрепительных и репродуктивных органах трематод. Предполагается, что существует иннервация пептидергическими компонентами чувствительных органов стенки тела этих паразитических организмов.

Сведения о наличии и локализации нейропептидов имеются в отношении ряда представителей как взрослых форм трематод (*Fasciola hepatica*, *Echinostoma caproni*, *Echinoparyphium aconiatum*, *Corrigia vitta*, *Cryptocotyle lingua*, *C. concavum*, *Schistosoma mansoni*, *Gorgoderina vitelliloba*, *Haplometra cylindracea*, *Bucephaloides gracilescens*) [14, 18–25], так и личиночных форм – метацеркарий *Apatemon cobitidis proterorhini* (Strigeidae), *Echinostoma caproni* (Echinostomatidae), *Bucephaloides gracilescens* (Bucephalidae), *Opisthorchis felineus* (Opisthorchidae), *Microphallus piriformis* (Microphallidae) [22, 26–28] и церкарий различных таксономических групп [22, 25, 29–34] трематод.

У печеночного сосальщика *F. hepatica* FMRFамид-иммунореактивные нервные клетки и волокна выявлены в центральных и периферических отделах нервной системы, включая церебральные ганглии, главные нервные стволы, поперечные комиссуры. Установлено, что нервные стволы направляют к ротовой присоске тонкие отростки, образующие плексус, который иннервирует боковые стороны ротовой присоски, стенку глотки и пищевода фасциолы [12, 35, 36].

FMRFамид-иммунореактивность выявлена в нервных элементах, иннервирующих различные структуры репродуктивной системы трематод, в том числе специализированную мускулатуру репродуктивной системы этих гельминтов. Учитывая сведения о способности FMRFамида-подобных нейропептидов вызывать сократительный эффект мускулатуры трематод, высказывается предположение о том, что эти нейропептиды могут координировать запуск сокращений оотипа и связанных с ним протоков у этих животных [14].

Сходная картина распределения FMRFамид-иммунореактивных нервных клеток и волокон в центральной и периферической нервной системе у *F. hepatica*, *S. mansoni* и других трематод, полученная различными исследователями в разное время, является дополнительным подтверждением тесной связи этого нейропептида с центральной и периферической нервными системами и органами и тканями, иннервируемыми ими у трематод.

*Физиологические исследования.*

Широкое распространение нейропептидов у трематод предполагает их важную роль в нервно-мышечной физиологии этих животных, включая участие этих веществ в регуляции сократительной активности мускулатуры тела, прикрепительных органов, репродуктивной системы, мышц экскреторной и пищеварительной систем трематод [12, 14].

В литературе имеются сведения о физиологических эффектах FMRFамида и FMRFамид-подобных пептидов, таких как RYIRFамид, GYIRFамид и GNFFRFамид, на интактные фасциолы и препарированные мышечные фрагменты их тела [37–39].

Экспериментально определены дозозависимые эффекты тестируемых нейропептидов на амплитуду и частоту сокращений изолированных мышечных препаратов трематод и интактных червей. Так, нейропептид FMRFамид в концентрациях 0.5 и 5 мМ вызывал достоверное увеличение амплитуды и частоты сокращений мышечных препаратов фасциолы, а пептид GYIRFамид в концентрациях 50 нМ, равных или больше, чем 3 мкМ, а также 0.5 и 5 мМ также вызывал значительное увеличение амплитуды и частоты сокращений изолированного мышечного фрагмента тела трематоды [39].

Эффект нейропептида RYIRFамида в концентрациях 0.5 и 5 мМ выражался только в увеличении частоты сокращения изолированного мышечного препарата [38]. В то же время этот нейропептид, по данным других авторов, в концентрации 10 мкМ стабильно увеличивал частоту и амплитуду спонтанных сокращений мышечных препаратов фасциолы, а в пороговой концентрации, равной 1 нМ, увеличивал частоту спонтанных сокращений [37]. Показано также, что нейропептид GNFFRFамид в концентрациях 5 нМ – 5 мМ не оказывал эффекта на двигательную активность *in vitro* препаратов *F. hepatica* либо слабо увеличивал частоту спонтанных сокращений мышечных препаратов трематоды [37].

Физиологический эффект нейропептида GYIRFамида и RYIRFамида на двигательную активность мышечных препаратов фасциолы был подтвержден другими авторами [40, 41], которые показали, что эти нейропептиды в концентрациях 5–7 мкМ вызывают возбуждающую реакцию мышечного препарата фасциолы, обладающего спонтанной двигательной активностью. Эффект выражается в увеличении частоты и амплитуды сокращений мускулатуры червя.

Установлено, что добавление в инкубационную среду ингибиторов протеаз, (предотвращающих деградацию нейропептидов), таких как иодацетамид, Z-Phe-Arg-АМС, E-64 и др., в концентрации 100 мкМ вызывает увеличение спонтанных сокращений мускулатуры *F. hepatica* [41]. На изолированных мышечных волокнах другой трематоды – *S. mansoni* – исследован фармакологический эффект нейропептидов FMRFамида, RYIRFамида и GNFFRFамида [42]. Метод получения изолированных мышечных волокон впервые описан в экспериментальной работе [43]. Эксперименты, выполненные на таких препаратах, дают возможность получить наиболее однозначные и достоверные результаты по сравнению с интактными червями или мышечными фрагментами их тела.

Установлено, что FMRFамид в концентрации 1 мкМ вызывает сокращение у 75% тестируемых мышечных волокон шистосом. Нейропептид RYIRFамид был максимально эффективен в концентрации 100 нМ и вызывал сокращение

80% тестируемых мышечных волокон трематод. Показано, что нейропептид GNFFRFамид в концентрации 10 мкМ вызывает сокращение у 75% тестируемых мышечных волокон [42].

Исследование активности специфических антагонистов FMRFамид-рецепторов позвоночных животных показало, что d-изомер FMRFамида препарат FMR-d-Фамид существенно блокирует фармакологическое воздействие нейропептидов FMRFамида, RYIRFамида и GNFFRFамида на мышечные волокна шистосомы. Установлено также, что удаление из инкубационной среды ионов  $Ca^{2+}$  предотвращает сократительные эффекты нейропептидов на мускулатуре шистосом, а классические блокаторы кальциевых каналов (никардипин, верапамил, дилтиазем) не влияют на эффекты нейропептидов, в то время как блокатор кальциевых каналов никардипин в концентрации 10 мкМ угнетает сокращения изолированных мышечных волокон, индуцированные высокой концентрацией ионов  $K^+$  в инкубационной среде [42].

#### *Нейропептидный рецептор.*

Долгое время вопрос о наличии у плоских червей специфического(их) нейропептидного(ых) рецептора(ов) – структуры, распознающей нейропептиды, был исключительно гипотетичным.

Однако относительно недавно было установлено, что фармакологический эффект нейропептида GYIRFамида на спонтанную мышечную активность препаратов фасциолы реализуется или может быть реализован через G-протеин-связанный рецептор при участии вторичных мессенжеров фосфолипазы C и протеинкиназы C [39].

В дальнейшем в результате применения современных методов молекулярной биологии у трематоды *S. mansoni* было выявлено большое количество пептидных G-протеин-связанных рецепторов, посредством которых может быть осуществлен физиологический эффект нейропептидов [44]. В то же время до сих пор ни один из тестируемых на шистосоме нейропептидов не выделен из тканей трематод. Этот факт объясняют в литературе рядом методических трудностей, связанных как с самой процедурой выделения нейропептидов и получением анти-сывороток к нейропептидам, так и сложным морфологическим строением плоских паразитических червей, их препарированием, малыми размерами тела и проблемой получения достаточного количества биологического материала для биохимических исследований.

## **1.2. Нейропептид FMRFамид у цестод.**

### *Иммуноцитохимические исследования.*

Первые сведения о наличии FMRFамидной иммунореактивности у паразитических ленточных плоских червей были получены в экспериментах на цестодах *Diphyllobothrium dendriticum* (процеркоид, плероцеркоид, взрослые формы) и *Schistocephalus solidus* [45–47].

Так, у цестоды *D. dendriticum* положительная реакция выявлена в нервных волокнах, иннервирующих сколекс, в главных нервных стволах, в периферической нервной сети и в нервных терминалях на внутренней стороне ботридий.

У цестоды *Schistocephalus solidus* FMRFамид-иммунореактивность была обнаружена в различных отделах центральной и периферической нервных систем

паразита и имела сходную картину в распределении нейропептида FMRФаида с цестодой *D. dendriticum*.

Кроме того, пептидергические компоненты выявлены в центральных и периферических отделах нервной системы у взрослых и личиночных форм цестод других таксономических групп, в том числе отр. Cyclophyllidea у взрослых форм *Echinococcus granulosus* [48], *Hymenolepis diminuta* [49], *Moniezia expansa* [50], *Echinococcus multilocularis* [51], личиночных форм *E. multilocularis* и *Echinococcus granulosus* (протосколексы) [48, 52], *Hymenolepis diminuta* (цистицеркоиды) [53], *Mesocestoides corti* (тетрапиридии) [54], отр. Pseudophyllidea у *Triaenophorus nodulosus* [55], отр. Spatheobothriidea у взрослых форм *Cyathocephalus truncatus* [56], отр. Tetraphylidea у *Proteocephalus exigius* [57], отр. Caryophyllidea у *Caryophyllaeus laticeps* [58].

Иммуноцитохимическое определение FMRФаида у цестоды *Cyathocephalus truncatus* выявило положительную иммунореактивность к FMRФаиду в области головных ганглиев, в волокнах, идущих от ганглия к краю сколекса, в продольных нервных стволах, многочисленных комиссурах между ними, в сети нервных волокон поверхности тела [56]. Кроме того, FMRФамид-положительные волокна и мелкие клетки обнаружены в различных отделах репродуктивной системы цестоды, в том числе вокруг отверстия цирруса, а также вблизи утеро-вагинального атриума.

У взрослой формы *E. multilocularis* специфическое для нейропептида FMRФаида окрашивание выявляется в нервных волокнах ганглиев сколекса, в продольных стволах, идущих вдоль тела. Показано, что волокна, содержащие FMRФамид, иннервируют мускулатуру хоботка и присосок червя. Иммуноспецифическая реакция к FMRФаиду отмечена также в области репродуктивного отверстия паразита [51].

У плероцеркоида *Phyllobothrium caudatum* иммунореактивность к нейропептиду FMRФаиду выявлена в сколексе, в центральной нервной системе, в продольных нервных стволах, число которых составляет 5–6 пар, и в поперечных комиссурах, связывающих их. Густая сеть из FMRФамидергических нервных волокон обнаружена в ботридиях плероцеркоида [59].

Полученные данные о наличии иммунореактивности в нервных структурах, иннервирующих соматическую мускулатуру тела и специализированную мускулатуру прикрепительных и репродуктивных органов цестод, дают основание предположить, что функциональное значение нейропептида FMRФаида у цестод может быть связано с регуляцией активности мускулатуры тела, прикрепительных и репродуктивных органов этих ленточных паразитов.

#### *Физиологические исследования.*

В современной литературе представлено относительно мало сведений о чувствительности соматической и специализированной мускулатуры ленточных паразитов к FMRФаиду и FMRФамид-подобным нейропептидам.

В экспериментах на интактных личинках (тетрапиридиях) цестоды *Mesocestoides corti* исследована фармакологическая активность нейропептидов GNFFRFаида (пороговая концентрация 100 нМ), YIRФаида (пороговая концентрация 10 мМ) и GYIRFa (пороговая концентрация 30 мМ) [60].

Установлено, что все тестируемые нейропептиды обладают дозозависимыми возбуждающими эффектами на соматическую мускулатуру тетратиридий. При этом наиболее эффективным из исследованных нейропептидов оказался GNFFRFамид. На основании этих данных высказано предположение о структурной консервативности FMRFамид-подобных нейропептидов цестод, учитывая тот факт, что нейропептид GNFFRFамид был выделен впервые именно из ткани цестод (*Moniezia expansa*) [60].

#### *Нейропептидный рецептор.*

В современной литературе отсутствуют прямые данные, подтверждающие наличие нейропептидных рецепторов на мускулатуре цестод. Однако более высокая чувствительность мускулатуры личинок цестод *M. corti* к нейропептиду GNFFRFамиду, выделенному из тканей цестод, по сравнению с нейропептидами, выделенными из турбеллярий (YIRFамид и GYIRFамид), может служить косвенным доказательством наличия FMRFамид-подобных рецепторов у цестод, хотя строгая идентификация и подтверждение специфичности таких рецепторов на(в) мускулатуре ленточных червей требуют специальных исследований.

### **1.3. Нейропептид FMRFамид у турбеллярий.**

#### *Иммуноцитохимические исследования.*

FMRFамидная иммунореактивность выявлена в нервной системе у ряда свободноживущих плоских червей (турбеллярий), среди которых можно отметить следующие виды: *Microstomum lineare* [61], *Stenostomum leucops* [62], *Microdalyella fusca*, *Protostoma marmoratum*, *Typhloplana viridata*, *Gyratrix hermaphroditus*, *Archila unipunktata* [63], *Polycelis nigra* [63, 64], *Convoluta paradoxa*, *Notoplana atomata*, *Temnocephala minor*, *Syndesmis franciscana*, *Pterastericol australis*, *Bdellasimilis barwicki*, *Polycelis felina* [65], *Dugesia (Girardia) tigrina* [66–69], *Arthiopostia triangulata*, *Dendrocoelum lacteum* [64, 70], *Bdelloura candada* [71, 72], *Planaria torva* [73], *Procerodes littoralis* [66, 74], *Castrella truncata* [75], *Microstomum lignano* [76], *Schmidtea mediterranea* [77], *Polycelis tenuis* [69, 70].

Исследования, проведенные на планариях (Turbellaria, Tricladida), выявили в центральной и периферической нервных системах этих животных присутствие FMRF-иммунопозитивных клеток и волокон [66–68, 73, 74, 78].

В центральной нервной системе многих видов планарий FMRF-подобная иммунореактивность выявлена, в частности, в нервных клетках и волокнах парного головного (церебрального) ганглия, в парных вентральных нервных стволах, простирающихся вдоль боковых сторон тела, в дорзальных нервных стволах (тех видов, у которых эти стволы ярко выражены), в поперечных комиссурах, соединяющих нервные стволы. У планарий *P. littoralis*, *B. candida*, *P. tenuis*, головной ганглий интенсивно окрашен антителами к GYIRFамиду или FMRFамиду [66, 69, 70, 74, 80]. Тела FMRFамид-иммунопозитивных нервных клеток обычно располагаются на периферии головного ганглия, в то время как его центральную область занимает плотное скопление отростков, так называемый «нейропиль», иммунопозитивных к FMRFамиду, GYIRFамиду или RFамиду [66, 67, 70].

Установлено, FMRFамид-иммунопозитивные клетки, находящиеся вокруг нервных узлов, которые образуются на пересечении продольных нервных стволов и поперечных комиссур, являются в основном биполярными и мультиполярными

нейронами с множеством разветвляющихся отростков, простирающихся в разных направлениях [77].

Периферическая нервная система планарий, сформированная из двух нервных сетей – субэпителиальной и субмышечной, иннервирует все периферические органы тела (глотку, разветвленный слепой кишечник, половые органы) и осуществляет контроль жизнедеятельности всех важных органов и систем червя, включая пищеварительную, мышечную, репродуктивную системы.

В периферической нервной системе планарий *P. tenuis*, *G. tigrina* и *S. mediterranea* FMRF-иммунопозитивная окраска была выявлена в многочисленных нервных волокнах и телах нейронов [77].

У планарий выявлена интенсивная окраска к FMRFамиду и GYIRFамиду в автономной глоточной нервной системе, включая нервные структуры якорного аппарата глотки, который удерживает глотку в глоточном кармане и обеспечивает ее подвижность в процессе нагнетания пищи в кишечник [66, 68–70, 76, 79, 80].

FMRF-подобные иммунопозитивные нервные элементы (волокна, нервные клетки) выявлены в мускулатуре стенки тела планарий *B. candida*, *G. tigrina*, *S. mediterranea* [68, 72, 78, 79], в разветвленных отделах кишечника и репродуктивной системы плоского червя *Polycelis tenuis* [69], а также вокруг фоторецепторных органов у *G. tigrina* и *S. mediterranea*, расположенных на переднем конце тела над церебральным ганглием, и фоторецепторов, окаймляющих передний отдел тела у *P. tenuis* [77].

#### Физиологические исследования.

Первые физиологические исследования на единичных мышечных клетках турбеллярий по определению фармакологической активности нейропептидов и других биологически активных веществ были начаты в 1994 г. [82]. В результате исследований на изолированных мышечных волокнах планарий *Bdelloura candida* не было обнаружено какого-либо эффекта от воздействия на мышечные волокна пептидов FMRFамида и SDPFLRFамида в концентрации 10 мкМ [72].

Однако в последующих работах был выявлен дозозависимый эффект пептидов GYIRFамида, RYIRFамида, YIRFамида на изолированные мышечные волокна *Bdelloura candida*, который выражался в сократительной реакции мышечных волокон червя [82].

Фармакологические эффекты FMRFамид-подобных нейропептидов GYIRFамида, YIRFамида и GNFFRFамида довольно подробно изучены на изолированных мышечных клетках планарии *Procerodes littoralis* [83]. Установлено, что все испытанные вещества вызывали дозозависимую сократительную реакцию изолированных мышечных волокон червя. Так, GYIRFамид в концентрации 10 мкМ вызывал сокращение у более 70% мышечных волокон, используемых в экспериментах, YIRFамид в концентрации 10 мкМ – примерно у более 70% мышечных волокон, а GNFFRFамид в концентрации 10 мкМ – только примерно у 30% мышечных волокон.

Эти данные могут свидетельствовать о том, что нейропептидный(е) рецептор(ы) свободно живущих и паразитических плоских червей наряду со сходством имеют фармакологические отличия и не являются идентичными.

На мышечных волокнах планарии *P. littoralis* был испытан препарат GYIR-d-Фамид, являющийся аналогом нейропептида GYIRФамида и обладающий конкурентными свойствами по отношению к пептидным рецепторам. Показано, что GYIR-d-Фамид в концентрациях 1–1000 мкМ не имел никакого эффекта на изолированные мышечные волокна планарии, но будучи введенным в инкубационную среду в концентрации 100 мкМ вместе с GYIRФамидом (10 мкМ) вызывал значительное достоверное уменьшение сократительных ответов мышечных волокон. Сходное достоверное уменьшение сократительных реакций мышечных волокон на YIRФамид и GNFFRФамид было отмечено при добавлении в инкубационную среду 100 мкМ GYIR-d-Фамида. Уменьшение сократительных реакций мышечных волокон в ответ на воздействие YIRФамида и GNFFRФамида в присутствии GYIR-d-Фамида указывает на способность последнего связывать мышечные нейропептидные рецепторы планарий. Кроме того, способность GYIR-d-Фамида ослаблять эффекты на мышечных волокнах всех трех испытанных нейропептидов может свидетельствовать о слабой фармакологической избирательности нейропептидного рецептора(ов) планарий по отношению к ингибиторам таких рецепторов.

В последние 10–12 лет начаты исследования по определению роли FMRF-амида и FMRFамид-подобных нейропептидов в регенеративных процессах различных органов у планарий [84–86]. Следует отметить, что свободноживущие представители плоских червей, планарии, давно используются в качестве удобной биологической модели для исследования регуляторных функций нейропептидов на процессы морфогенеза и развития [87].

#### *Нейропептидный рецептор.*

Впервые пептидный G-протеин-связанный рецептор (GPCR) был идентифицирован у планарий *Girardia tigrina* (Turbellaria, Dugesidae), и было показано, что он активируется различными FMRF-подобными пептидами, среди которых наибольшей активностью отличался пептид GYIRФамид [88].

Установлено также, что сократительный эффект FMRFамид-подобных пептидов на мускулатуре планарий *P. littoralis* реализуется посредством G-протеин связанного рецептора и двух вторичных мессенджеров, одним из которых является цАМФ и протеинкиназа А, а вторым – фосфоинозитол дифосфат (4,5) и протеинкиназа С [89].

## 2. Обсуждение

Многочисленные сообщения о выявлении нейропептидов, в частности олигопептидов (состоящих из небольшого числа остатков альфа-аминокислот, соединенных пептидными связями), в нервных, мышечных, репродуктивных и других структурах тела у различных представителей типа *Platyhelminthes*, опубликованные за последние 15–20 лет, свидетельствуют о широком распространении коротких нейропептидов в центральной и периферической нервных системах плоских свободноживущих и паразитических червей. Такое представление нейропептидов в нервной системе плоских червей служит одним из важных аргументов, подтверждающих существующую точку зрения о том, что примитивные нервные системы по существу являются пептидергическими по своей природе [90].

Известно, что нервная система плоских червей всегда была трудна для анатомических исследований и ее невозможно было описать с помощью традиционного окрашивания с использованием метиленового синего или окрашивания по Гольджи либо с помощью импрегнации золотом и хлоридом серебра, и она не поддавалась ультраструктурной реконструкции с помощью серийных срезов [90]. Основная трудность заключается в том, что все структуры нервной системы плоских червей погружены в паренхиматозную ткань, поэтому практически невозможно препарировать нервные структуры плоских червей и свободно отделить их от остальной части тела. Поэтому большинство опубликованных данных представляет собой результаты иммуоцитохимических исследований, проведенных на нескольких видах свободноживущих плоских червей, включая планарий, и паразитических червей – трематод и цестод. Эти исследования были существенно усилены за счет применения конфокальной сканирующей лазерной микроскопии, позволяющей видеть исследуемые нейрональные элементы и структуры в трехмерном изображении [22, 32, 91].

Анализ литературы показал, что с помощью современных иммуоцитохимических и радиоиммунометрических методов исследования пептидергические нервные элементы выявлены на всех стадиях жизненного цикла плоских паразитических червей. Так, у трематод они обнаружены в мирацидиях и церкариях трематоды *S. mansoni* [32], а также в мирацидиях, церкариях и редиях *F. hepatica* [31].

У цестод пептидергические нервные клетки были выявлены у процеркоидов, плероцеркоидов и цистицеркоидов *Diphyllobotrium dendriticum* [45, 46], *Hymenolepis diminuta* [53], *Trilocularia acanthiaevulgaris* [92] и других видов цестод.

Широко представленная FMRFамидная иннервация таких органов и тканей, как соматическая мускулатура и специализированная мускулатура прикрепительных органов, репродуктивных органов (у паразитических червей), выделительные и пищеварительные структуры (у планарий и трематод), покровные ткани (тегумент у цестод и трематод), глотка (планарии, трематоды), однозначно указывает на важную биологическую роль нейропептида в обеспечении жизнедеятельности плоских свободноживущих и паразитических представителей типа *Platyhelminthes*.

В то же время большинство авторов публикаций приходит к общему мнению о том, что конкретная(ые) физиологическая(ии) функция(ии) и механизм действия нейропептидов, включая FMRFамид и FMRFамид-подобные пептиды, у плоских червей четко не определены.

Возможно, что одной из причин трудности определения физиологической функции нейропептидов, в том числе FMRFамида и FMRFамид-подобных пептидов, у плоских червей является полифункциональность этих нейроактивных веществ. Полифункциональность нейропептидов и взаимное перекрывание функций между различными нейропептидами были впервые выявлены в многочисленных исследованиях на более высокоорганизованных животных [2].

Хотя к настоящему времени не так много представлено сведений, объясняющих физиологическую роль нейропептидов у плоских червей, тем не менее, к обсуждению этого вопроса можно было бы отнести следующее.

Анализ представленных в литературе данных показывает, что функциональная роль нейропептидов больше изучена у свободноживущих плоских червей турбеллярий, чем у паразитических червей.

Установлено, что нейросекреторные вещества, в частности нейропептиды, могут быть вовлечены в контролирование регенерации и половой продукции у некоторых видов планарий, в том числе могут стимулировать созревание и дифференциацию гамет из необластов [93]. Недавно показано, что нейропептид FMRФамид в концентрациях  $1.10^{-8}$ – $1.10^{-6}$  М ускоряет срок восстановления пищевой реакции вновь сформированной глотки *Girardia tigrina*, что может свидетельствовать о регуляторной роли нейропептидов в процессе восстановления функции глотки в ходе регенерации у планарий [85, 86].

Учитывая сведения о локализации FMRФамид-иммунопозитивных нейронов и их отростков в таких отделах тела планарий, как кончик головы, фоторецепторы, аурикулы, боковые края тела, ротовое отверстие, репродуктивная система (если есть), в которых, вероятно, локализованы разнообразные рецепторные структуры, высказывается предположение о том, что нейропептиды, возможно, принимают непосредственное участие в регулировании сложных поведенческих реакций у планарий, включая ориентацию в среде обитания, обнаружение и ловлю добычи, питание, реакцию на свет, химический состав воды [94].

В отношении возможной физиологической роли нейропептидов у плоских паразитических червей на примере шистосом можно выделить следующее.

Физиологический механизм, посредством которого FMRФамид и FMRФамид-подобные пептиды реализуют сократительное действие на изолированные мышечные волокна шистосом, пока полностью не раскрыт, хотя установлено, что для проявления биологической активности нейропептиды должны иметь в своей формуле амидированный С-терминальный остаток, а инкубационная среда обязательно должна содержать внеклеточный  $Ca^{2+}$  [42].

Установлено, что FMRФамид и FMRФамид-подобные пептиды не влияют на двигательную активность интактных шистосом *in vitro* [42]. Этот факт авторы объясняют тем, что исследованные пептиды не способны проникать через тегумент червей и, возможно, по этой причине не достигают своих рецепторов, а разрушаются протеазами паразитов. В то же время высокая чувствительность изолированных мышечных волокон шистосом к FMRФамид и FMRФамид-подобным пептидам свидетельствует о том, что рецепторы, узнающие эти вещества, локализованы на мышечных волокнах червя.

Многочисленные исследования, проведенные на плоских паразитических червях, продемонстрировали обильную пептидную иммунореактивность в различных отделах их центральной и периферической нервных систем. В периферической нервной системе иммунореактивность выявлена главным образом в нервных плексусах, которые иннервируют соматическую мускулатуру, присоски и мышечные волокна, которые обслуживают выделительную и репродуктивную системы, предполагаемые сенсорные органы, а также волокна, связанные с гонадами [95, 96]. У трематоды *S. mansoni* пептидная иммунореактивность выявлена в выстилке гинекофорного канала и в нервах, иннервирующих дорзальные бугорки у самца [97].

Таким образом, с большой долей вероятности можно говорить о том, пептидергические элементы вовлечены в регуляцию двигательной активности соматической мускулатуры тела червей, прикрепительных органов (присосок), а также специализированной мускулатуры, которая ответственна за приток яйцеклеток и

желточных клеток в яичную камеру и за выход вновь образованных яиц в матку, что может предполагать наличие и участие нейропептидрегулируемого механизма продукции яиц у плоских паразитических червей [90, 95, 96, 98].

В связи с проблемой резистентности паразитических червей к ряду известных антипаразитарных препаратов и необходимостью поиска новых лекарственных средств, которые могли бы эффективно и направленно воздействовать на наиболее уязвимые компоненты нервной системы плоских паразитических червей, в литературе давно обсуждается вопрос о возможности использования отдельных звеньев пептидергической системы паразитов в качестве нейрофизиологических мишеней для новых лекарственных веществ [42, 91, 98].

С теоретической точки зрения из многообразия предполагаемых способов ограничения паразитарной инвазии, вызываемой плоскими паразитическими червями, наиболее реальными путями вмешательства в деятельность пептидергической системы плоских паразитов может быть создание лекарственных веществ, препятствующих синтезу собственных нейропептидов, способность к которому обнаружена у этих паразитов [90].

Другой реальной мишенью могут быть нейропептидные рецепторы, посредством которых пептиды осуществляют свое воздействие, например, на мышечные клетки трематод и цестод.

Ранее отмечалось, что низкие концентрации тетрапептида FMRFамида, пептидов RYIRFамида и GNFFRFамида вызывают сокращение мышечных фрагментов тела фасциолы, изолированных мышечных волокон шистосомы и соматической мускулатуры интактных личинок (тетраперидий) цестоды *Mesocostoides corti* [41, 42, 60].

В результате физиологических исследований было установлено, что антагонист FMRFамидных рецепторов – FMR-d-Фамид – резко снижает способность нейропептидов вызывать сокращение мышечных волокон шистосомы. Эти данные могут быть взяты за основу для создания лекарственных веществ, конкурирующих с эндогенными нейропептидами за взаимодействие с пептидным рецептором соматической мускулатуры плоских паразитов.

Такой же эффект, вероятно, антагонисты типа FMR-d-Фамида могут иметь и на нейропептидных рецепторах мускулатуры прикрепительных органов плоских паразитов. Конечным результатом воздействия таких потенциальных антипаразитарных веществ может стать снижение двигательной активности соматической мускулатуры тела паразитов и открепление червей от биологического субстрата. Поводом к такому предположению служат данные о выявлении обильной иммунореактивности в нервных волокнах, иннервирующих мускулатуру ротовой и брюшной присосок трематод [12, 35, 36]. Аналогичным способом, теоретически, можно вмешаться и в нейропептидрегулируемый механизм продукции и продвижения яиц по специализированным отделам половой системы у плоских паразитических червей.

Любой из предполагаемых способов воздействия на пептидергический компонент нервной системы паразитических плоских червей при возможности его реализации будет способствовать снижению паразитарной инвазии их хозяев – человека и животных – и паразитарного загрязнения окружающей среды.

Полифункциональность нейропептидов и трудности в определении основных физиологических функций этих веществ, выявленные первоначально в физиологических исследованиях на высокоорганизованных животных, вероятно, свойственны и нейропептидами, обнаруженным с помощью современных иммунохимических, радиометрических и молекулярных методов, в центральной и периферической нервных системах относительно примитивных животных, относящихся к типу *Platyhelminthes*.

Оценка физиологических функций нейропептидов может значительно осложняться и в результате того, что протеолитическая деградация нейропептидов, как известно, часто не является простым их разрушением, а может привести к образованию нового биоактивного вещества пептидной природы, активность которого не совпадает с активностью исходного нейропептида [2].

В связи с этим становится частично объяснимым тот факт, что выявленные обильные пептидные иммунореактивности в нервных структурах у плоских паразитических червей до сих пор не могут быть однозначно сопоставимы с их физиологической функцией у исследованных паразитических организмов.

#### Литература

1. Шенерд Г. Нейробиология. – М.: Мир, 1987. – Т. 2. – 368 с.
2. Ашмарин И.П., Каменская М.А. Нейропептиды в синаптической передаче // Итоги науки и техники. Сер. Физиология человека и животных. – М: ВИНТИ, 1988. – Т. 34. – 184 с.
3. Eipper B.A., Stoffers D.A., Mains R.E. The biosynthesis of neuropeptides: peptide alpha-amidation // Annu Rev. Neurosci. – 1992. – V. 15. – P. 57–85.
4. Eipper B.A., Milgram S.L., Husten E.J., Yun H.Y., Mains R.E. Peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase: a multifunctional protein with catalytic, processing, and routing domains // Protein Sci. – 1993. – V. 2, No 4. – P. 489–497.
5. Mair G.R., Niciu M.J., Stewart M.T., Brennan G., Omar H., Halton D.W., Mains R., Eipper B.A., Maule A.G., Day T.A. A functionally atypical amidating enzyme from the human parasite *Schistosoma mansoni* // FASEB J. – 2004. – V. 18, No 1. – P. 114–121.
6. Price D.A., Greenberg M.J. Structure of a molluscan cardioexcitatory neuropeptide // Science. – 1977. – V. 197. – P. 670–671. – doi: 10.1126/science.877582.
7. Price D.A., Greenberg M.J. The pharmacology of the molluscan cardioexcitatory neuropeptide FMRFamide // Gen. Pharmacol. – 1980. – V. 11, No 2. – P. 237–241.
8. Maule A., Shaw C., Halton D., Thim L. GNFFRFamide: a novel FMRFamide-immunoreactive peptide isolated from the sheep tapeworm, *Moniezia expansa* // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1993. – V. 193, No 3. – P. 1054–1060.
9. Maule A.G., Shaw C., Halton D.W., Curry W.J., Thim L. RYIRFamide: a turbellarian FMRFamide-related peptide (FaRP) // Regul. Pept. – 1994. – V. 50, No 1. – P. 37–43.
10. Johnston R.N., Shaw C., Halton D.W., Verhaert P., Baguna J. GYIRFamide: a novel FMRFamide-related peptide (FaRP) from the triclad turbellarian, *Dugesia tigrina* // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1995. – V. 209, No 2. – P. 689–697.
11. Johnston R.N., Shaw C., Halton D.W., Verhaert P., Blair K.L., Brennan G.P., Price D.A., Anderson P.A. Isolation, localization, and bioactivity of the FMRFamide-related neuropeptides GYIRFamide and YIRFamide from the marine turbellarian *Bdelloura candida* // J. Neurochem. – 1996. – V. 67, No 2. – P. 814–821.

12. Day T.A., Maule A.G. Parasitic peptides! The structure and function of neuropeptides in parasitic worms // *Peptides*. – 1999. – V. 20, No 8. – P. 999–1019.
13. Maule A.G., Mousley A., Marks N.J., Day T.A., Thompson D.P., Geary T.G., Halton D.W. Neuropeptide signaling systems – potential drug targets for parasite and pest control // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2002. – V. 2, No 7. – P. 733–758.
14. Halton D.W., Maule A.G. Flatworm nerve–muscle: structural and functional analysis // *Can. J. Zool.* – 2004. – V. 82, No 2. – P. 316–333. – doi: 10.1139/z03-221.
15. Mousley A., Marks N.J., Maule A.G. Neuropeptide signalling: a repository of targets for novel endectocides? // *Trends Parasitol.* – 2004. – V. 20, No 10. – P. 482–487.
16. McVeigh P., Kimber M.J., Novozhilova E., Day T.A. Neuropeptide signalling systems in flatworms // *Parasitology*. – 2005. – V. 131. – P. S41–S55.
17. Halton D.W., Gustafsson M.K.S. Functional morphology of the platyhelminth nervous system // *Parasitology*. – 1996. – V. 113. – P. S47–S72.
18. Gustafsson M.K.S. Immunocytochemical demonstration of neuropeptides and serotonin in the nervous system of adult *Schistosoma mansoni* // *Parasitol. Res.* – 1987. – V. 74, No 2. – P. 168–174.
19. McKay D.M., Halton D.W., Johnston C.F., Fairweather I., Shaw C. Occurrence and distribution of putative neurotransmitters in the frog-lung parasite *Haplometra cylindracea* (Trematoda: Digenea) // *Parasitol. Res.* – 1990. – V. 76, No 6. – P. 509–517.
20. Magee C.A., Cahir M., Halton D.W., Johnston C.F., Shaw C. Cytochemical observations on the nervous system of adult *Corrigia vitta* // *J. Helminthol.* – 1993. – V. 67, No 3. – P. 189–199.
21. McKay D.M., Halton D.W., Johnston C.F., Fairweather I., Shaw C. Cytochemical demonstration of cholinergic, serotonergic and peptidergic nerve elements in *Gorgoderina vitelliloba* (Trematoda: Digenea) // *Int. J. Parasitol.* – 1991. – V. 21, No 1. – P. 71–80.
22. Šebelová Š., Stewart M.T., Mousley A., Fried B., Marks N.J., Halton D.W. The musculature and associated innervation of adult and intramolluscan stages of *Echinostoma caproni* (Trematoda) visualised by confocal microscopy // *Parasitol. Res.* – 2004. – V. 93, No 3. – P. 196–206.
23. Mair G.R., Maule A.G., Day T.A., Halton D.W. A confocal microscopical study of the musculature of adult *Schistosoma mansoni* // *Parasitology*. – 2000. – V. 121, Pt. 2. – P. 163–170.
24. Stewart M.T., Marks N.J., Halton D.W. Neuroactive substances and associated major muscle systems in *Bucephaloides gracilescens* (Trematoda: Digenea) metacercaria and adult // *Parasitol. Res.* – 2003. – V. 91, No 1. – P. 12–21.
25. Теренина Н.Б., Толстенков О.О., Густафссон М., Осипова О.С., Куклин В.В., Куклина М.М. Нервная и мышечная система церкарий и взрослых форм трематод *Cryptocotyle lingua* и *C. concavum* (Heterophyidae) // *Рос. паразитол. журн.* – 2010. – № 1. – С. 22–29.
26. Stewart M.T., Mousley A., Koubková B., Šebelová Š., Marks N.J., Halton D.W. Gross anatomy of the muscle systems and associated innervation of *Apatemon cobitidis proterorhini* metacercaria (Trematoda: Strigeidea), as visualized by confocal microscopy // *Parasitology*. – 2003. – V. 126, Pt. 3. – P. 273–282.
27. Теренина Н.Б., Толстенков О.О., Густафссон М., Мовсесян С.О. Серотонинергические компоненты в нервной системе метацеркарий *Microphallus piriformis* (Odhner, 1905): Trematoda, Microphallidae // *Рос. паразитол. журн.* – 2011. – № 2. – С. 93–98.
28. Terenina N., Gustafsson M., Tolstenkov O., Movsesyan S. Serotonin and neuropeptide immunoreactivities in metacercariae of some trematodes // XI European Multicolloquium of Parasitology EMOP 11: *Int. Proc. – Bologna, Italy: Editografica*, 2013. – P. 73–76.

29. Сербина Е.А., Толстенков О.О., Теренина Н.Б. Церкарии *Sphaerostomum globiporum* (Rudolphi, 1802): Trematoda, Opecoelidae – биология, распространение, морфо-функциональная характеристика // Труды Центра паразитологии. ИПЭЭ РАН. – М.: Наука, 2012. – Т. 47. – С. 230–238.
30. Pan J.Z., Halton D.W., Shaw C., Maule A.G., Johnston C.F. Serotonin and neuropeptide immunoreactivities in the intramolluscan stages of three marine trematode parasites // Parasitol. Res. – 1994. – V. 80, No 5. – P. 388–395.
31. Теренина Н.Б. Нейромедиаторы у гермафродитного поколения трематод // Междунар. науч. конф. «Современные проблемы общей паразитологии». – М., 2012. – С. 347–351.
32. Skuce P.J., Johnston C.F., Fairweather I., Halton D.W., Shaw C. A confocal scanning laser microscope study of the peptidergic and serotonergic components of the nervous system in larval *Schistosoma mansoni* // Parasitology. – 1990. – V. 101, Pt. 2. – P. 227–234.
33. Terenina N.B., Tolstenkov O., Fagerholm H.P., Serbina E.A., Vodjanitskaja S.N., Gustafsson M.K.S. The spatial relationship between the musculature and the NADPH-diaphorase activity, 5-HT and FMRFamide immunoreactivities in redia, cercaria and adult *Echinoparyphium aconiatum* (Digenea) // Tissue Cell. – 2006. – V. 38, No 2. – P. 151–157.
34. Tolstenkov O.O., Akimova L.N., Terenina N.B., Gustafsson M.K.S. The neuromuscular system in freshwater furcocercaria from Belarus. II Diplostomidae, Strigeidae, and Cyathocotylidae // Parasitol. Res. – 2012. – V. 110, No 2. – P. 583–592.
35. Halton D.W., Shaw C., Maule A.G., Smart D. Regulatory peptides in helminth parasites // Adv. Parasitol. – 1994. – V. 34. – P. 163–227.
36. Mousley A., Maule A.G., Halton D.W., Marks N.J. Inter-phyla studies on neuropeptides: the potential for broad-spectrum anthelmintic and/or endectocide discovery // Parasitology. – 2005. – V. 131S. – P. S143–S167.
37. Marks N.J., Johnson S., Maule A.G., Halton D.W., Shaw C., Geary T.G., Moore S., Thompson D.P. Physiological effects of platyhelminth RFamide peptides on muscle-strip preparations of *Fasciola hepatica* (Trematoda: Digenea) // Parasitology. – 1996. – V. 113, Pt 4. – P. 393–401.
38. Graham M.K., Fairweather I., McGeown J.G. The effects of FaRPs on the motility of isolated muscle strips from the liver fluke, *Fasciola hepatica* // Parasitology. – 1997. – V. 114, Pt. 5. – P. 455–465.
39. Graham M.K., Fairweather I., McGeown J.G. Second messengers mediating mechanical responses to the FARP GYIRFamide in the fluke *Fasciola hepatica* // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2000. – V. 279, No 6. – P. 2089–2094.
40. Campbell L.A., Halton D.W., Marks N., Day T.A., Maule A. Comparative studies on the structure-activity requirements of the RYIRFamide receptor in *Fasciola hepatica* and *Procerodes littoralis* // Proc. 10th Int. Congress of Parasitology (ICOPA X). – Vancouver, Canada, 2002. – P. 159–162.
41. Крещенко Н.Д., Нетреба М.В., Теренина Н.Б., Толстенков О.О., Рейтер М., Густафссон М. Морфо-функциональные характеристики мускулатуры паразитических и свободноживущих червей // Материалы Междунар. науч. конф., посвящ. 130-летию акад. К.И. Скрябина «Биоразнообразие и экология паразитов наземных и водных ценозов». – М., 2008. – Т. 1. – С. 176–179.
42. Day T.A., Maule A.G., Shaw C., Halton D.W., Moore S., Bennett J.L., Pax R.A. Platyhelminth FMRFamide-related peptides (FaRPs) contract *Schistosoma mansoni* (Trematoda: Digenea) muscle fibres *in vitro* // Parasitology. – 1994. – V. 109, Pt. 4. – P. 455–459.
43. Blair K.L., Day T.A., Lewis M.C., Bennett J.L., Pax R.A. Studies on muscle cells isolated from *Schistosoma mansoni*: a Ca<sup>2+</sup>-dependent K<sup>+</sup> channel // Parasitology. – 1991. – V. 102, Pt. 2. – P. 251–258.

44. Zamanian M., Kimber M.J., McVeigh P., Carlson S.A., Maule A.G., Day T.A. The repertoire of G protein-coupled receptors in the human parasite *Schistosoma mansoni* and the model organism *Schmidtea mediterranea* // BMC Genomics. – 2011. – V. 12. – P. 596. – doi: 10.1186/1471-2164-12-596.
45. Gustafsson M.K.S., Wikgren M.C. Peptidergic and aminergic neurons in adult *Diphyllobothrium dendriticum* Nitzsch, 1824 (Cestoda, Pseudophyllidea) // Z. Parasitenkd. – 1981. – V. 64, No 2. – P. 121–134.
46. Gustafsson M.K., Wikgren M.C., Karhi T.J., Schot L.P.C. Immunocytochemical demonstration of neuropeptides and serotonin in the tapeworm *Diphyllobothrium dendriticum* // Cell Tissue Res. – 1985. – V. 240, No 2. – P. 255–260.
47. Бисерова Н.М., Корнева Ж.В. Онтогенетическое развитие нервной системы цестод и амфилиний // Зоология беспозвоночных. – 2006. – Т. 3, Вып. 2. – С. 157–184.
48. Fairweather I., McMullan M.T., Johnston C.F., Rogan M.T., Hanna R.E. Serotonergic and peptidergic nerve elements in the protoscolex of *Echinococcus granulosus* (Cestoda, Cyclophyllidea) // Parasitol. Res. – 1994. – V. 80, No 8. – P. 649–656.
49. McKay D.M., Fairweather I., Johnston C.F., Shaw C., Halton D.W. Immunocytochemical and radioimmunometrical demonstration of serotonin- and neuropeptide-immunoreactivities in the adult rat tapeworm, *Hymenolepis diminuta* (Cestoda, Cyclophyllidea) // Parasitology. – 1991. – V. 103, Pt. 2. – P. 275–289.
50. Maule A.G., Halton D.W., Shaw C., Johnston C.F. The cholinergic, serotonergic and peptidergic components of the nervous system of *Moniezia expansa* (Cestoda, Cyclophyllidea) // Parasitology. – 1993. – V. 106, Pt. 4. – P. 429–440.
51. Теренина Н.Б., Толстенков О.О., Густафссон М.К.С. *Echinococcus multilocularis*: аминергические, пептидергические и нитроксидергические элементы в нервной системе // Труды Центра паразитологии ИПЭЭ РАН. – М.: Наука, 2010. – Т. 46. – С. 270–276.
52. Gustafsson M.K.S., Terenina N.B., Bessonov A.S., Kovalenko F.P., Rusakov S.V. The aminergic and peptidergic nervous system in *Echinococcus multilocularis* protoscolex // Proc. 10th Int. Congress of Parasitology (ICOPA X). – Vancouver, Canada, 2002. – P. 369–373.
53. Fairweather I., Macartney G.A., Johnston C.F., Halton D.H., Buchanan K.D. Immunocytochemical demonstration of 5-hydroxytryptamine (serotonin) and vertebrate neuropeptides in the nervous system of excysted cysticercoid larvae of the rat tapeworm, *Hymenolepis diminuta* (Cestoda, Cyclophyllidea) // Parasitol. Res. – 1988. – V. 74, No 4. – P. 371–379.
54. Hrkčková G., Halton D.W., Maule A.G., Brennan G.P., Shaw Ch., Johnston C.F. Neuropeptide F-immunoreactivity in the tetrathyridium of *Mesocestoides corti* (Cestoda: Cyclophyllidea) // Parasitol. Res. – 1993. – V. 79, No 8. – P. 690–695.
55. Biserova N.M., Gustafsson M.K.S., Reuter M., Terenina N.B. The nervous system of the pike-tapeworm *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda: Pseudophyllidea) – ultrastructure and immunocytochemical mapping aminergic and peptidergic elements // Invert. Biol. – 1996. – V. 115, No 4. – P. 273–285.
56. Terenina N.B., Poddubnaya L.G., Tolstenkov O.O., Gustafsson M.K. An immunocytochemical, histochemical and ultrastructural study of the nervous system of the tapeworm *Cyathocephalus truncatus* (Cestoda, Spathebothriidea) // Parasitol. Res. – 2009. – V. 104, No 2. – P. 267–275.
57. Gustafsson M.K., Fagerholm H.P., Halton D.W., Hanzelová V., Maule A.G., Reuter M., Shaw C. Neuropeptides and serotonin in the cestode, *Proteocephalus exiguus*: an immunocytochemical study // Int. J. Parasitol. – 1995. – V. 25, No 6. – P. 673–682.

58. Бисерова Н.М. Нервная система цестод и амфилинид: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – М., 2004. – 46 с.
59. Теренина Н.Б., Толстенков О.О., Густафссон М.К.С. Серотонинергические и пептидергические компоненты в нервной системе плероцеркоида *Phyllobothrium caudatum* (Cestoda, Tetraphyllidea). Иммуноцитохимическое исследование // Рос. паразитол. журн. – 2012. – № 4. – С. 89–96.
60. Hřčková G., Velenbný S., Halton D.W., Maule A.G. *Mesocestoides corti* (syn. *M. vogae*): modulation of larval motility by neuropeptides, serotonin and acetylcholine // Parasitology. – 2002. – V. 124, Pt. 4. – P. 409–421.
61. Reuter M., Karhi T., Schot L.P. Immunocytochemical demonstration of peptidergic neurons in the central and peripheral nervous systems of the flatworm *Microstomum lineare* with antiserum to FMRF-amide // Cell Tissue Res. – 1984. – V. 238, No 3. – P. 431–436.
62. Wikgren M.C., Reuter M. Neuropeptides in a microturbellarian – whole mount immunocytochemistry // Peptides. – 1985. – V. 6, Suppl. 3. – P. 471–475.
63. Reuter M., Lehtonen M., Wikgren M. Immunocytochemical evidence of neuroactive substances in flatworms of different taxa – a comparison // Acta Zoologica. – 1988. – V. 69, No 1. – P. 29–37.
64. Johnston R.N., Shaw C., Brennan G.P., Maule A.G., Halton D.W. Localisation, quantitation, and characterisation of neuropeptide F- and FMRFamide-immunoreactive peptides in turbellarians and a monogenean: A comparative study // J. Compar. Neurol. – 1995. – V. 357, No 1. – P. 76–84.
65. Shaw C., Maule A.G., Halton D.W. Platyhelminth FMRFamide-related peptides // Int. J. Parasitol. – 1996. – V. 26, No 4. – P. 335–345.
66. Reuter M., Gustafsson M.K., Sahlgren C., Halton D.W., Maule A.G., Shaw C. The nervous system of Tricladida. I. Neuroanatomy of *Procerodes littoralis* (Maricola, Procerodidae): an immunocytochemical study // Invert. Neurosci. – 1995. – V. 1, No 2. – P. 113–122.
67. Reuter M., Sheiman I.M., Gustafsson M.K.S., Halton D.W., Maule A.G., Shaw C. Development of the nervous system in *Dugesia tigrina* during regeneration after fission and decapitation // Invert. Reprod. Develop. – 1996. – V. 29, No 3. – P. 199–211.
68. Kreshchenko N.D., Reuter M., Sheiman I.M., Halton D.W., Johnston R.N., Shaw C., Gustafsson M.K.S. Relationship between musculature and nervous system in the regenerating pharynx in *Girardia tigrina* (Plathelminthes) // Invert. Reprod. Develop. – 1999. – V. 35, No 2. – P. 109–125.
69. Kreshchenko N., Tolstenkov O.O. Some aspects of the immunolocalization of FMRFamide in the nervous system of turbellarians, *Polycelis tenuis* and *Girardia tigrina*. Short communication // Acta Biol. Hung. – 2012. – V. 63, Suppl. 2. – P. 83–87. – doi: 10.1556/ABiol.63.2012.Suppl.2.10.
70. Reuter M., Gustafsson M.K.S., Mäntylä K., Grimmelikhuijzen C.J.P. The nervous system of Tricladida. III. Neuroanatomy of *Dendrocoelum lacteum* and *Polycelis tenuis* (Plathelminthes, Paludicola): an immunocytochemical study // Zoomorphology. – 1996. – V. 116, No 3. – P. 111–122.
71. Johnston R.N., Shaw C., Halton D.W., Verhaert P., Baguna J. GYIRFamide: a novel FMRFamide-related peptide (FaRP) from the triclad turbellarian, *Dugesia tigrina* // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1995. – V. 209, No 2. – P. 689–697.
72. Blair K.L., Anderson P.A.V. Physiological and pharmacological properties of muscle cells isolated from the flatworm *Bdelloura candida* (Tricladia) // Parasitology. – 1994. – V. 109, No 3. – P. 325–335.

73. Mäntylä K., Halton D.W., Reuter M., Maule A.G., Lindroos P., Shaw C., Gustafsson M.K.S. The nervous system of Tricladida. IV. Neuroanatomy of *Planaria torva* (Paludicola, Planariidae): an immunocytochemical study // *Hydrobiologia*. – 1998. – V. 383, No 1–3. – P. 167–173.
74. Mäntylä K., Reuter M., Halton D.W., Maule A.G., Brennan G.P., Shaw C. Gustafsson M.K.S. The nervous system of *Procerodes littoralis* (Maricola, Tricladida). An ultrastructural and immunoelectron microscopical study // *Acta Zoologica*. – 1998. – V. 79, No 1. – P. 1–8.
75. Kotikova E.A., Raikova O.I., Reuter M., Gustafsson M.K. The nervous and muscular systems in the free-living flatworm *Castrella truncata* (Rhabdocoela): an immunocytochemical and phalloidin fluorescence study // *Tissue Cell*. – 2002. – V. 34, No 5. – P. 365–374.
76. Egger B., Gschwentner R., Rieger R. Free-living flatworms under the knife: past and present // *Dev. Genes Evol.* – 2007. – V. 217, No 2. – P. 89–104. – doi: 10.1007/s00427-006-0120-5.
77. Крещенко Н. Пептидергическая сигнализация в нервной системе планарий (Turbellaria, Platyhelminthes) // Междунар. конф. «Рецепторы и внутриклеточная сигнализация»: Сб. ст. – Пушкино, 2013. – Т. 2. – С. 516–524.
78. Wikgren M., Reuter M., Gustafsson M. Neuropeptides in free-living and parasitic flatworms (Platyhelminthes). An immunocytochemical study // *Hydrobiologia*. – 1986. – V. 132, No 1. – P. 93–99.
79. Reuter M., Maule A.G., Halton D.W., Gustafsson M.K.S., Shaw C. The organization of the nervous system in Plathelminthes. The neuropeptide F-immunoreactive pattern in Catenulida, Macrostomida, Proseriata // *Zoomorphology*. – 1995. – V. 115, No 2. – P. 83–97.
80. Johnston R.N., Halton D.W., Anderson P.A., Johnston C.F., Shaw C. The peptidergic nervous system of the triclad turbellarian, *Bdelloura candida* (Maricola, Bdellouridae): an immunocytochemical study using an antiserum raised to an endogenous neuropeptide, GYIRFamide // *J. Comp. Neurol.* – 1996. – V. 376, No 2. – P. 214–222.
81. Joffe B.I., Reuter M. The nervous system of *Bothriomolus balticus* (Proseriata) – a contribution to the knowledge of the orthogon in the Plathelminthes // *Zoomorphology*. – 1993. – V. 113, No 2. – P. 113–127.
82. Johnston R.N., Shaw C., Halton D.W., Verhaert P., Blair K.L., Brennan G.P., Price D.A., Anderson P.A. Isolation, localization, and bioactivity of the FMRFamide-related neuropeptides GYIRFamide and YIRFamide from the marine turbellarian *Bdelloura candida* // *J. Neurochem.* – 1996. – V. 67, No 2. – P. 814–821.
83. Moneypenny C.G., Kreshchenko N., Moffett C.L., Halton D.W., Day T.A., Maule A.G. Physiological effects of FMRFamide-related peptides and classical transmitters on dispersed muscle fibres of the turbellarian, *Procerodes littoralis* // *Parasitology*. – 2001. – V. 122, Pt. 4. – P. 447–455.
84. Kreshchenko N., Sheiman I., Reuter M., Gustafsson M.K.S., Halton D.W., Maule A.G. Effects of FMRFamide-related peptides and Neuropeptide F on planarian regeneration (Platyhelminthes, Tricladida) // *Belg. J. Zool.* – 2001. – V. 131, Suppl. 1. – P. 147–148.
85. Kreshchenko N.D. Functions of flatworm neuropeptides NPF, GYIRF and FMRF in course of pharyngeal regeneration of anterior body fragments of planarian, *Girardia tigrina* // *Acta Biol. Hung.* – 2008. – V. 59, Suppl. 1. – P. 199–207. – doi: 10.1556/ABiol.59.2008.Suppl.29.
86. Крещенко Н.Д. NPF и FMRF-подобные пептиды плоских червей и их функциональная роль в процессе регенерации глотки у планарий *Girardia tigrina* и *Schmidtea mediterranean* // Междунар. науч. конф. «Современные проблемы общей паразитологии». – М., 2012. – С. 175–178.
87. Reuter M., Kreshchenko N. Flatworm asexual multiplication implicates stem cells and regeneration // *Can. J. Zool.* – 2004. – V. 82, No 2. – P. 334–356.

88. Omar H.H., Humphries J.E., Larsen M.J., Kubiak T.M., Geary T.G., Maule A.G., Kimber M.J., Day T.A. Identification of a platyhelminth neuropeptide receptor // *Int. J. Parasitol.* – 2007. – V. 37, No 7. – P. 725–733.
89. Totten M., Kreshchenko N.D., Day T.A., Marks N.J., Halton D.W., Maule A.G. Signal transduction mechanisms mediating muscle contraction in platyhelminths // *Proc. 10th Int. Congress of Parasitology (ICOPA X)*. – Vancouver, Canada, 2002. – P. 117–120.
90. Halton D.W., Shaw C., Maule A.G., Johnston C.F., Fairweather I. Peptidergic messengers: a new perspective of the nervous system of parasitic Platyhelminths // *J. Parasitol.* – 1992. – V. 78, No 2. – P. 179–193.
91. Johnston C.F., Shaw C., Halton D.W., Fairweather I. Confocal scanning laser microscopy and helminth neuroanatomy // *Parasitology Today*. – 1990. – V. 6, No 9. – P. 305–308.
92. Fairweather I., Mahendrasingam S., Johnston C.F., Halton D.M., Shaw C. Peptidergic nerve elements in three developmental stages of the tetraphyllidean tapeworm *Trilocularia acanthiaevulgaris*. An immunocytochemical study // *Parasitol. Res.* – 1990. – V. 76, No 6. – P. 497–508.
93. Webb R.A. Endocrinology of Acoelomates // *Downer R.G.H., Laufer H. (eds.) Nerve elements in Gorgoderina Invertebrate Endocrinology*. – 1988. – V. 2. – P. 31–62.
94. Крещенко Н.Д., Шейман И.М., Яшин В.А., Теренина Н.Б. Некоторые особенности строения нервной системы плоских червей, планарий (NPF- и FMRF-эргические элементы) // *Материалы Междунар. науч. конф. «Теоретические и практические проблемы паразитологии»*. – М., 2010. – С. 188–191.
95. McKay D.M., Halton D.M., Johnston C.F., Fairweather I., Shaw C. Cytochemical demonstration of cholinergic, serotonergic and peptidergic nerve elements in *Gorgoderina vitelliloba* (Trematoda: Digenea) // *Int. J. Parasitol.* – 1991. – V. 21, No 1. – P. 71–80.
96. Fairweather I., Halton D.M. Neuropeptides in platyhelminths // *Parasitology*. – 1991. – V. 102. – P. S77–S92.
97. Skuce P.J., Johnston C.F., Fairweather I., Halton D.M., Shaw C., Buchanan K.D. Immunoreactivity to the pancreatic polypeptide family in the nervous system of the adult human blood fluke, *Schistosoma mansoni* // *Cell Tissue Res.* – 1990. – V. 261, No 3. – P. 573–581.
98. Fairweather I., Skuce P.J. Flatworm neuropeptides – present status, future directions // *Hydrobiologia*. – 1995. – V. 305, No 1–3. – P. 309–316.

Поступила в редакцию  
26.04.13

---

**Малютина Татьяна Анатольевна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Центра паразитологии, Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, г. Москва, Россия.

E-mail: [maliytina@mail.ru](mailto:maliytina@mail.ru)

**Теренина Надежда Борисовна** – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник Центра паразитологии, Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, г. Москва, Россия.

E-mail: [terenina\\_n@mail.ru](mailto:terenina_n@mail.ru)

**Крещенко Наталья Дмитриевна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, Россия.

E-mail: [nkreshch@rambler.ru](mailto:nkreshch@rambler.ru)

\* \* \*

**NEUROPEPTIDES IN FLATWORMS (TREMATODES, CESTODES, TURBELLARIANS): LOCALIZATION, FUNCTION, RECEPTORS***T.A. Malyutina, N.B. Terenina, N.D. Kreshchenko***Abstract**

Recent data on the immunocytochemical localization, physiological effects and functional roles of the FMRFamide and the FMRFamide-like neuropeptides in some representatives of parasitic flatworms (adults and larvae of trematodes and cestodes) and free-living worms (turbellarians) are reviewed. The phylogenetic relationship between the flatworm taxons under investigation is discussed. The possibilities of the development of a new line of anthelmintic drugs, with neuropeptide receptors or some components of the peptidergic system of parasitic flatworms used as possible candidates for the biological target, are considered.

**Keywords:** neuropeptides, immunocytochemistry, parasitic flatworms, cestodes, trematodes, turbellarians, receptors.

**References**

1. Shepherd G. Neurobiology. Moscow, Mir, 1987, vol. 2, 368 p. (In Russian)
2. Ashmarin I.P., Kamenskaya M.A. Neuropeptides in synaptic transmission. Itogi nauki i tekhniki. Ser. Fiziologiya cheloveka i zhivotnykh [Results of Science and Technology. Human and Animal Physiology Series]. Mpscow, VINITI, 1988, vol. 34, 184 p. (In Russian)
3. Eipper B.A., Stoffers D.A., Mains R.E. The biosynthesis of neuropeptides: peptide alpha-amidation. *Annu Rev. Neurosci.*, 1992, vol. 15, pp. 57–85.
4. Eipper B.A., Milgram S.L., Husten E.J., Yun H.Y., Mains R.E. Peptidylglycine alpha-amidating monoxygenase: a multifunctional protein with catalytic, processing, and routing domains. *Protein Sci.*, 1993, vol. 2, no. 4, pp. 489–497.
5. Mair G.R., Niciu M.J., Stewart M.T., Brennan G., Omar H., Halton D.W., Mains R., Eipper B.A., Maule A.G., Day T.A. A functionally atypical amidating enzyme from the human parasite *Schistosoma mansoni*. *FASEB J.*, 2004, vol. 18, no. 1, pp. 114–121.
6. Price D.A., Greenberg M.J. Structure of a molluscan cardioexcitatory neuropeptide. *Science*, 1977, vol. 197, pp. 670–671. doi: 10.1126/science.877582.
7. Price D.A., Greenberg M.J. The pharmacology of the molluscan cardioexcitatory neuropeptide FMRFamide. *Gen. Pharmacol.*, 1980, vol. 11, no. 2, pp. 237–241.
8. Maule A., Shaw C., Halton D., Thim L. GNFFRFamide: a novel FMRFamide-immunoreactive peptide isolated from the sheep tapeworm, *Moniezia expansa*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1993, vol. 193, no. 3, pp. 1054–1060.
9. Maule A.G., Shaw C., Halton D.W., Curry W.J., Thim L. RYIRFamide: a turbellarian FMRFamide-related peptide (FaRP). *Regul. Pept.*, 1994, vol. 50, no. 1, pp. 37–43.
10. Johnston R.N., Shaw C., Halton D.W., Verhaert P., Baguna J. GYIRFamide: a novel FMRFamide-related peptide (FaRP) from the triclad turbellarian, *Dugesia tigrina*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1995, vol. 209, no. 2, pp. 689–697.
11. Johnston R.N., Shaw C., Halton D.W., Verhaert P., Blair K.L., Brennan G.P., Price D.A., Anderson P.A. Isolation, localization, and bioactivity of the FMRFamide-related neuropeptides GYIRFamide and YIRFamide from the marine turbellarian *Bdelloura candida*. *J. Neurochem.*, 1996, vol. 67, no. 2, pp. 814–821.
12. Day T.A., Maule A.G. Parasitic peptides! The structure and function of neuropeptides in parasitic worms. *Peptides*, 1999, vol. 20, no. 8, pp. 999–1019.
13. Maule A.G., Mousley A., Marks N.J., Day T.A., Thompson D.P., Geary T.G., Halton D.W. Neuropeptide signaling systems – potential drug targets for parasite and pest control. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2002, vol. 2, no. 7, pp. 733–758.

14. Halton D.W., Maule A.G. Flatworm nerve–muscle: structural and functional analysis. *Can. J. Zool.*, 2004, vol. 82, no. 2, pp. 316–333. doi: 10.1139/z03-221.
15. Mousley A., Marks N.J., Maule A.G. Neuropeptide signalling: a repository of targets for novel endectocides? *Trends Parasitol.*, 2004, vol. 20, no. 10, pp. 482–487.
16. McVeigh P., Kimber M.J., Novozhilova E., Day T.A. Neuropeptide signalling systems in flatworms. *Parasitology*, 2005, vol. 131, pp. S41–S55.
17. Halton D.W., Gustafsson M.K.S. Functional morphology of the platyhelminth nervous system. *Parasitology*, 1996, vol. 113, pp. S47–S72.
18. Gustafsson M.K.S. Immunocytochemical demonstration of neuropeptides and serotonin in the nervous system of adult *Schistosoma mansoni*. *Parasitol. Res.*, 1987, vol. 74, no. 2, pp. 168–174.
19. McKay D.M., Halton D.W., Johnston C.F., Fairweather I., Shaw C. Occurrence and distribution of putative neurotransmitters in the frog-lung parasite *Haplometra cylindracea* (Trematoda: Digenea). *Parasitol. Res.*, 1990, vol. 76, no. 6, pp. 509–517.
20. Magee C.A., Cahir M., Halton D.W., Johnston C.F., Shaw C. Cytochemical observations on the nervous system of adult *Corrigia vitta*. *J. Helminthol.*, 1993, vol. 67, no. 3, pp. 189–199.
21. McKay D.M., Halton D.W., Johnston C.F., Fairweather I., Shaw C. Cytochemical demonstration of cholinergic, serotonergic and peptidergic nerve elements in *Gorgoderina vitelliloba* (Trematoda: Digenea). *Int. J. Parasitol.*, 1991, vol. 21, no. 1, pp. 71–80.
22. Šebelová Š., Stewart M.T., Mousley A., Fried B., Marks N.J., Halton D.W. The musculature and associated innervation of adult and intramolluscan stages of *Echinostoma caproni* (Trematoda) visualised by confocal microscopy. *Parasitol. Res.*, 2004, vol. 93, no. 3, pp. 196–206.
23. Mair G.R., Maule A.G., Day T.A., Halton D.W. A confocal microscopical study of the musculature of adult *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 2000, vol. 121, Pt. 2, pp. 163–170.
24. Stewart M.T., Marks N.J., Halton D.W. Neuroactive substances and associated major muscle systems in *Bucephaloides gracilescens* (Trematoda: Digenea) metacercaria and adult. *Parasitol. Res.*, 2003, vol. 91, no. 1, pp. 12–21.
25. Terenina N.B., Tolstenkov O.O., Gustafsson M., Osipova O.S., Kuklin V.V., Kuklina M.M. Nervous and muscular system of cercaria and adult forms of trematodes of *Cryptocotyle lingua* and *C. conca-vum* (Heterophyidae). *Ros. Parazitol. Zh.*, 2010, no. 1, pp. 22–29. (In Russian)
26. Stewart M.T., Mousley A., Koubková B., Šebelová Š., Marks N.J., Halton D.W. Gross anatomy of the muscle systems and associated innervation of *Apatemon cobitidis proterorhini* metacercaria (Trematoda: Strigeidae), as visualized by confocal microscopy. *Parasitology*, 2003, vol. 126, Pt. 3, pp. 273–282.
27. Terenina N.B., Tolstenkov O.O., Gustafsson M., Movsesyan S.O. Serotonergic components in the nervous system of the metacercaria of *Microphallus piriformis* (Odhner, 1905): Trematoda, Microphallidae. *Ros. Parazitol. Zh.*, 2011, no. 2, pp. 93–98. (In Russian)
28. Terenina N., Gustafsson M., Tolstenkov O., Movsesyan S. Serotonin and neuropeptide immunoreactivities in metacercariae of some trematodes. *XI European Multicollloquium of Parasitology EMOP 11: Int. Proc. Bologna, Italy, Editografica*, 2013, pp. 73–76.
29. Serbina E.A., Tolstenkov O.O., Terenina N.B. Cercaria larvae of *Sphaerostomum globiporum* (Rudolphi, 1802): Trematoda, Opaeoelidae – iology, distribution, and morfofunctional characteristics. *Trudy Tsentra parazitologii. IPEE RAN* [Proc. Parasitol. Center. Inst. Ecol. Evol., Russ. Acad. Sci.]. Moscow, Nauka, 2012, vol. 47, pp. 230–238. (In Russian)
30. Pan J.Z., Halton D.W., Shaw C., Maule A.G., Johnston C.F. Serotonin and neuropeptide immunoreactivities in the intramolluscan stages of three marine trematode parasites. *Parasitol. Res.*, 1994, vol. 80, no. 5, pp. 388–395.
31. Terenina N.B. Neurotransmitters in the hermaphroditic generation of trematodes. *Mezhdunar. nauch. konf. "Sovremennye problemy obshchei parazitologii"* [Int. Sci. Conf. "Current Problems in General Parasitology"]. Moscow, 2012, pp. 347–351.
32. Skuce P.J., Johnston C.F., Fairweather I., Halton D.W., Shaw C. A confocal scanning laser microscope study of the peptidergic and serotonergic components of the nervous system in larval *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 1990, vol. 101, Pt. 2, pp. 227–234.

33. Terenina N.B., Tolstenkov O., Fagerholm H.P., Serbina E.A., Vodjanitskaja S.N., Gustafsson M.K.S. The spatial relationship between the musculature and the NADPH-diaphorase activity, 5-HT and FMRFamide immunoreactivities in redia, cercaria and adult *Echinoparyphium aconiatum* (Digenea). *Tissue Cell*. 2006, vol. 38, no. 2, pp. 151–157.
34. Tolstenkov O.O., Akimova L.N., Terenina N.B., Gustafsson M.K.S. The neuromuscular system in freshwater furcocercaria from Belarus. II Diplostomidae, Strigeidae, and Cyathocotylidae. *Parasitol. Res.*, 2012, vol. 110, no. 2, pp. 583–592. doi: 10.1007/s00436-011-2526-x.
35. Halton D.W., Shaw C., Maule A.G., Smart D. Regulatory peptides in helminth parasites. *Adv. Parasitol.*, 1994, vol. 34, pp. 163–227.
36. Mousley A., Maule A.G., Halton D.W., Marks N.J. Inter-phyla studies on neuropeptides: the potential for broad-spectrum anthelmintic and/or endectocide discovery. *Parasitology*, 2005, vol. 131S, pp. S143–S167.
37. Marks N.J., Johnson S., Maule A.G., Halton D.W., Shaw C., Geary T.G., Moore S., Thompson D.P. Physiological effects of plathyhelminth RFamide peptides on muscle-strip preparations of *Fasciola hepatica* (Trematoda: Digenea). *Parasitology*, 1996, vol. 113, Pt. 4, pp. 393–401.
38. Graham M.K., Faiweather I., McGeown J.G. The effects of FaRPs on the motility of isolated muscle strips from the liver fluke, *Fasciola hepatica*. *Parasitology*, 1997, vol. 114, Pt. 5, pp. 455–465.
39. Graham M.K., Faiweather I., McGeown J.G. Second messengers mediating mechanical responses to the FARP GYIRFamide in the fluke *Fasciola hepatica*. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2000, vol. 279, no. 6, pp. 2089–2094.
40. Campbell L.A., Halton D.W., Marks N., Day T.A., Maule A. Comparative studies on the structure-activity requirements of the RYIRFamide receptor in *Fasciola hepatica* and *Procerodes littoralis*. *Proc. 10th Int. Congress of Parasitology (ICOPA X)*. Vancouver, Canada, 2002, pp. 159–162.
41. Kreshchenko N.D., Neteba M.V., Terenina N.B., Tolstenkov O.O., Reiter M., Gustafsson M. Morphofunctional characteristics of the musculature of parasitic and free-living worms. *Materialy mezhdunar. nauch. konf., posvyashchennoi 130-letiyu akad. K.I. Skryabina "Bioraznoobrazie i ekologiya parazitov nazemnykh i vodnykh tsenozov"* [Proc. Int. Sci. Conf. "The Biodiversity and Ecology of Parasites of Terrestrial and Water Cenoses" dedicated to the 130th anniversary of academician K.I. Skryabin]. Moscow, 2008, vol. 1, pp. 176–179. (In Russian)
42. Day T.A., Maule A.G., Shaw C., Halton D.W., Moore S., Bennett J.L., Pax R.A. Plathyhelminth FMRFamide-related peptides (FaRPs) contract *Schistosoma mansoni* (Trematoda: Digenea) muscle fibres *in vitro*. *Parasitology*, 1994, vol. 109, Pt. 4, pp. 455–459.
43. Blair K.L., Day T.A., Lewis M.C., Bennett J.L., Pax R.A. Studies on muscle cells isolated from *Schistosoma mansoni*: a Ca<sup>2+</sup>-dependent K<sup>+</sup> channel. *Parasitology*, 1991, vol. 102, Pt. 2, pp. 251–258.
44. Zamanian M., Kimber M.J., McVeigh P., Carlson S.A., Maule A.G., Day T.A. The repertoire of G protein-coupled receptors in the human parasite *Schistosoma mansoni* and the model organism *Schmidtea mediterranea*. *BMC Genomics*, 2011, vol. 12, pp. 596. doi: 10.1186/1471-2164-12-596.
45. Gustafsson M.K.S., Wikgren M.C. Peptidergic and aminergic neurons in adult *Diphyllobothrium dendriticum* Nitzsch, 1824 (Cestoda, Pseudophyllidea). *Z. Parasitenkd.*, 1981, vol. 64, no. 2, pp. 121–134.
46. Gustafsson M.K., Wikgren M.C., Karhi T.J., Schot L.P.C. Immunocytochemical demonstration of neuropeptides and serotonin in the tapeworm *Diphyllobothrium dendriticum*. *Cell Tissue Res.*, 1985, vol. 240, no. 2, pp. 255–260.
47. Biserova N.M., Korneva Zh.V. Ontogenetic development of the nervous system of cestodes and sturgeon cestodes. *Zoologiya bespozvonochnykh*, 2006, vol. 3, no. 2, pp. 157–184. (In Russian)
48. Fairweather I., McMullan M.T., Johnston C.F., Rogan M.T., Hanna R.E. Serotonergic and peptidergic nerve elements in the protoscolex of *Echinococcus granulosus* (Cestoda, Cyclophyllidea). *Parasitol. Res.*, 1994, vol. 80, no. 8, pp. 649–656.
49. McKay D.M., Fairweather I., Johnston C.F., Shaw C., Halton D.W. Immunocytochemical and radioimmunometrical demonstration of serotonin- and neuropeptide-immunoreactivities in the adult rat tapeworm, *Hymenolepis diminuta* (Cestoda, Cyclophyllidea). *Parasitology*, 1991, vol. 103, Pt. 2, pp. 275–289.

50. Maule A.G., Halton D.W., Shaw C., Johnston C.F. The cholinergic, serotonergic and peptidergic components of the nervous system of *Moniezia expansa* (Cestoda, Cyclophyllidea). *Parasitology*, 1993, vol. 106, Pt. 4, pp. 429–440.
51. Terenina N.B., Tolstenkov O.O., Gustafsson M.K.S. Echinococcus multilocularis: aminergic, peptidergic and nitroxidergic elements in the nervous system. *Trudy Tsentra parazitologii IPEE RAN* [Proc. Parasitol. Center, Inst. Ecol. Evol., Russ. Acad. Sci.]. Moscow, Nauka, 2010, vol. 46, pp. 270–276. (In Russian)
52. Gustafsson M.K.S., Terenina N.B., Bessonov A.S., Kovalenko F.P., Rusakov S.V. The aminergic and peptidergic nervous system in *Echinococcus multilocularis* protoscolex. *Proc. 10th Int. Congress of Parasitology (ICOPA X)*. Vancouver, Canada, 2002, pp. 369–373.
53. Fairweather I., Macartney G.A., Johnston C.F., Halton D.H., Buchnan K.D. Immunocytochemical demonstration of 5-hydroxytryptamine (serotonin) and vertebrate neuropeptides in the nervous system of excysted cysticeroid larvae of the rat tapeworm, *Hymenolepis diminuta* (Cestoda, Cyclophyllidea). *Parasitol. Res.*, 1988, vol. 74, no. 4, pp. 371–379.
54. Hřková G., Halton D.W., Maule A.G., Brennan G.P., Shaw Ch., Johnston C.F. Neuropeptide F-immunoreactivity in the tetrathyridium of *Mesocestoides corti* (Cestoda: Cyclophyllidea). *Parasitol. Res.*, 1993, vol. 79, no. 8, pp. 690–695.
55. Biserova N.M., Gustafsson M.K.S., Reuter M., Terenina N.B. The nervous system of the pike-tape-worm *Trienophorus nodulosus* (Cestoda: Pseudophyllidea) – ultrastructure and immunocytochemical mapping aminergic and peptidergic elements. *Invert. Biol.*, 1996, vol. 115, no. 4, pp. 273–285.
56. Terenina N.B., Poddubnaya L.G., Tolstenkov O.O., Gustafsson M.K. An immunocytochemical, histochemical and ultrastructural study of the nervous system of the tapeworm *Cyathocephalus truncatus* (Cestoda, Spathebothriidea). *Parasitol. Res.*, 2009, vol. 104, no. 2, pp. 267–275.
57. Gustafsson M.K., Fagerholm H.P., Halton D.W., Hanzelová V., Maule A.G., Reuter M., Shaw C. Neuropeptides and serotonin in the cestode, *Proteocephalus exiguus*: an immunocytochemical study. *Int. J. Parasitol.*, 1995, vol. 25, no. 6, pp. 673–682.
58. Biserova N.M. The nervous system of cestodes and sturgeon cestodes. *Extended Abstract of Dr. Biol. Sci. Dissertation*. Moscow, 2004. 46 p. (In Russian)
59. Terenina N.B., Tolstenkov O.O., Gustafsson M.K.S. Serotonergic and peptidergic components in the nervous system of the plerocercoid *Phyllobothrium caudatum* (Cestoda, Tetraphyllidea). Immunocytochemical analysis. *Rossiiskii Parazitol. Zh.*, 2012, no. 4, pp. 89–96. (In Russian)
60. Hřková G., Velenbný S., Halton D.W., Maule A.G. *Mesocestoides corti* (syn. *M. vogae*): modulation of larval motility by neuropeptides, serotonin and acetylcholine. *Parasitology*, 2002, vol. 124, Pt. 4, pp. 409–421.
61. Reuter M., Karhi T., Schot L.P. Immunocytochemical demonstration of peptidergic neurons in the central and peripheral nervous systems of the flatworm *Microstomum lineare* with antiserum to FMRF-amide. *Cell Tissue Res.*, 1984, vol. 238, no. 3, pp. 431–436.
62. Wikgren M.C., Reuter M. Neuropeptides in a microturbellarian – whole mount immunocytochemistry. *Peptides*, 1985, vol. 6, Suppl. 3, pp. 471–475.
63. Reuter M., Lehtonen M., Wikgren M. Immunocytochemical evidence of neuroactive substances in flatworms of different taxa – a comparison. *Acta Zoologica*, 1988, vol. 69, no. 1, pp. 29–37.
64. Johnston R.N., Shaw C., Brennan G.P., Maule A.G., Halton D.W. Localisation, quantitation, and characterisation of neuropeptide F- and FMRFamide-immunoreactive peptides in turbellarians and a monogenean: A comparative study. *J. Compar. Neurol.*, 1995, vol. 357, no. 1, pp. 76–84.
65. Shaw C., Maule A.G., Halton D.W. Platyhelminth FMRFamide-related peptides. *Int. J. Parasitol.*, 1996, vol. 26, no. 4, pp. 335–345.
66. Reuter M., Gustafsson M.K., Sahlgren C., Halton D.W., Maule A.G., Shaw C. The nervous system of Tricladida. I. Neuroanatomy of *Procerodes littoralis* (Maricola, Procerodidae): an immunocytochemical study. *Invert. Neurosci.*, 1995, vol. 1, no. 2, pp. 113–122.
67. Reuter M., Sheiman I.M., Gustafsson M.K.S., Halton D.W., Maule A.G., Shaw C. Development of the nervous system in *Dugesia tigrina* during regeneration after fission and decapitation. *Invert. Reprod. Develop.*, 1996, vol. 29, no. 3, pp. 199–211.

68. Kreshchenko N.D., Reuter M., Sheiman I.M., Halton D.W., Johnston R.N., Shaw C., Gustafsson M.K.S. Relationship between musculature and nervous system in the regenerating pharynx in *Girardia tigrina* (Plathelminthes). *Invert. Reprod. Develop.*, 1999, vol. 35, no. 2, pp. 109–125.
69. Kreshchenko N., Tolstenkov O.O. Some aspects of the immunolocalization of FMRFamide in the nervous system of turbellarians, *Polycelis tenuis* and *Girardia tigrina*. Short communication. *Acta Biol. Hung.*, 2012, vol. 63, Suppl. 2, pp. 83–87. doi: 10.1556/ABiol.63.2012.Suppl.2.10.
70. Reuter M., Gustafsson M.K.S., Mäntylä K., Grimmelikhuijzen C.J.P. The nervous system of Tricladida. III. Neuroanatomy of *Dendrocoelum lacteum* and *Polycelis tenuis* (Plathelminthes, Paludicola): an immunocytochemical study. *Zoomorphology*, 1996, vol. 116, no. 3, pp. 111–122.
71. Johnston R.N., Shaw C., Halton D.W., Verhaert P., Baguna J. GYIRFamide: a novel FMRFamide-related peptide (FaRP) from the triclad turbellarian, *Dugesia tigrina*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1995, vol. 209, no. 2, pp. 689–697.
72. Blair K.L., Anderson P.A.V. Physiological and pharmacological properties of muscle cells isolated from the flatworm *Bdelloura candida* (Tricladia). *Parasitology*, 1994, vol. 109, no. 3, pp. 325–335.
73. Mäntylä K., Halton D.W., Reuter M., Maule A.G., Lindroos P., Shaw C., Gustafsson M.K.S. The nervous system of Tricladida. IV. Neuroanatomy of *Planaria torva* (Paludicola, Planariidae): an immunocytochemical study. *Hydrobiologia*, 1998, vol. 383, no. 1–3, pp. 167–173.
74. Mäntylä K., Reuter M., Halton D.W., Maule A.G., Brennan G.P., Shaw C., Gustafsson M.K.S. The nervous system of *Procerodes littoralis* (Maricola, Tricladida). An ultrastructural and immunoelectron microscopical study. *Acta Zoologica*, 1998, vol. 79, no. 1, pp. 1–8.
75. Kotikova E.A., Raikova O.I., Reuter M., Gustafsson M.K. The nervous and muscular systems in the free-living flatworm *Castrella truncata* (Rhabdozoela): an immunocytochemical and phalloidin fluorescence study. *Tissue Cell*, 2002, vol. 34, no. 5, pp. 365–374.
76. Egger B., Gschwentner R., Rieger R. Free-living flatworms under the knife: past and present. *Dev. Genes Evol.*, 2007, vol. 217, no. 2, pp. 89–104. doi: 10.1007/s00427-006-0120-5.
77. Kreshchenko N. Peptidergic signalization in the nervous system of planarians (Turbellaria, Platyhelminthes). *Mezhdunar. konf. "Retseptory i vnutrikletchnaya signalizatsiya": Sbornik statei* [Int. Conf. "Receptors and Intracellular Signalization": Collect. Papers]. Pushchino, 2013, vol. 2, pp. 516–524. (In Russian)
78. Wikgren M., Reuter M., Gustafsson M. Neuropeptides in free-living and parasitic flatworms (Platyhelminthes). An immunocytochemical study. *Hydrobiologia*, 1986, vol. 132, no. 1, pp. 93–99.
79. Reuter M., Maule A.G., Halton D.W., Gustafsson M.K.S., Shaw C. The organization of the nervous system in Plathelminthes. The neuropeptide F-immunoreactive pattern in Catenulida, Macrostomida, Proseriata. *Zoomorphology*, 1995, vol. 115, no. 2, pp. 83–97.
80. Johnston R.N., Halton D.W., Anderson P.A., Johnston C.F., Shaw C. The peptidergic nervous system of the triclad turbellarian, *Bdelloura candida* (Maricola, Bdellouridae): an immunocytochemical study using an antiserum raised to an endogenous neuropeptide, GYIRFamide. *J. Comp. Neurol.*, 1996, vol. 376, no. 2, pp. 214–222.
81. Joffe B.I., Reuter M. The nervous system of *Bothriomolus balticus* (Proseriata) – a contribution to the knowledge of the orthogon in the Plathelminthes. *Zoomorphology*, 1993, vol. 113, no. 2, pp. 113–127.
82. Johnston R.N., Shaw C., Halton D.W., Verhaert P., Blair K.L., Brennan G.P., Price D.A., Anderson P.A. Isolation, localization, and bioactivity of the FMRFamide-related neuropeptides GYIRFamide and YIRFamide from the marine turbellarian *Bdelloura candida*. *J. Neurochem.*, 1996, vol. 67, no. 2, pp. 814–821.
83. Moneypenny C.G., Kreshchenko N., Moffett C.L., Halton D.W., Day T.A., Maule A.G. Physiological effects of FMRFamide-related peptides and classical transmitters on dispersed muscle fibres of the turbellarian, *Procerodes littoralis*. *Parasitology*, 2001, vol. 122, Pt. 4, pp. 447–455.
84. Kreshchenko N., Sheiman I., Reuter M., Gustafsson M.K.S., Halton D.W., Maule A.G. Effects of FMRFamide-related peptides and Neuropeptide F on planarian regeneration (Platyhelminthes, Tricladida). *Belg. J. Zool.*, 2001, vol. 131, Suppl. 1, pp. 147–148.
85. Kreshchenko N.D. Functions of flatworm neuropeptides NPF, GYIRF and FMRF in course of pharyngeal regeneration of anterior body fragments of planarian, *Girardia tigrina*. *Acta Biol. Hung.*, 2008, vol. 59, Suppl. 1, pp. 199–207. doi: 10.1556/ABiol.59.2008.Suppl.29.

86. Kreshchenko N.D. NPF- and FMRF-like peptides of flatworms and their functional role in the process of regeneration of the gullet of planarians *Girardia tigrina* and *Schmidtea Mediterranea*. *Mezhdunar. nauch. konf. "Sovremennye problemy obshchei parazitologii"* [Int. Sci. Conf. "Modern Problems of General Parasitology"]. Moscow, 2012, pp. 175–178.
87. Reuter M., Kreshchenko N. Flatworm asexual multiplication implicates stem cells and regeneration. *Can. J. Zool.*, 2004, vol. 82, no. 2, pp. 334–356.
88. Omar H.H., Humphries J.E., Larsen M.J., Kubiak T.M., Geary T.G., Maule A.G., Kimber M.J., Day T.A. Identification of a platyhelminth neuropeptide receptor. *Int. J. Parasitol.*, 2007, vol. 37, no. 7, pp. 725–733.
89. Totten M., Kreshchenko N.D., Day T.A., Marks N.J., Halton D.W., Maule A.G. Signal transduction mechanisms mediating muscle contraction in platyhelminths. *Proc. 10th Int. Congress of Parasitology (ICOPA X)*. Vancouver, Canada, 2002, pp. 117–120.
90. Halton D.W., Shaw C., Maule A.G., Johnston C.F., Fairweather I. Peptidergic messengers: a new perspective of the nervous system of parasitic Platyhelminths. *J. Parasitol.*, 1992, vol. 78, no. 2, pp. 179–193.
91. Johnston C.F., Shaw C., Halton D.W., Fairweather I. Confocal scanning laser microscopy and helminth neuroanatomy. *Parasitology Today*, 1990, vol. 6, no. 9, pp. 305–308.
92. Fairweather I., Mahendrasingam S., Johnston C.F., Halton D.M., Shaw C. Peptidergic nerve elements in three developmental stages of the tetraphyllidean tapeworm *Trilocularia acanthiaevulgaris*. An immunocytochemical study. *Parasitol. Res.*, 1990, vol. 76, no. 6, pp. 497–508.
93. Webb R.A. Endocrinology of Acoelomates. *Downer R.G.H., Laufer H. (eds.) Nerve elements in Gorgoderina Invertebrate Endocrinology*. 1988, vol. 2, pp. 31–62.
94. Kreshchenko N.D., Sheiman I.M., Yashin V.A., Terenina N.B. Some structural peculiarities of the nervous system of flatworms, planarians (NPF- and FMRF-ergic elements). *Materialy Mezhdunar. nauch. konf. "Teoreticheskie i prakticheskie problemy parazitologii"* [Proc. Int. Sci. Conf. "Theoretical and Practical Problems in Parasitology"], Moscow, 2010, pp. 188–191. (In Russian)
95. McKay D.M., Halton D.M., Johnston C.F., Fairweather I., Shaw C. Cytochemical demonstration of cholinergic, serotonergic and peptidergic nerve elements in *Gorgoderina vitelliloba* (Trematoda: Digenea). *Int. J. Parasitol.*, 1991, vol. 21, no. 1, pp. 71–80.
96. Fairweather I., Halton D.M. Neuropeptides in Platyhelminthes. *Parasitology*, 1991, vol. 102, pp. S77–S92.
97. Skuce P.J., Johnston C.F., Fairweather I., Halton D.M., Shaw C., Buchanan K.D. Immunoreactivity to the pancreatic polypeptide family in the nervous system of the adult human blood fluke, *Schistosoma mansoni*. *Cell Tissue Res.*, 1990, vol. 261, no. 3, pp. 573–581.
98. Fairweather I., Skuce P.J. Flatworm neuropeptides – present status, future directions. *Hydrobiologia*, 1995, vol. 305, no. 1–3, pp. 309–316.

Received  
April 26, 2013

---

**Malyutina Tatyana Anatolevna** – PhD in Biology, Senior Research Fellow, Center of Parasitology, A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia.  
E-mail: [maliytina@mail.ru](mailto:maliytina@mail.ru)

**Terenina Nadezhda Borisovna** – Doctor of Biology, Leading Research Fellow, Center of Parasitology, A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia.  
E-mail: [terenina\\_n@mail.ru](mailto:terenina_n@mail.ru)

**Kreshchenko Natalya Dmitrievna** – PhD in Biology, Senior Research Fellow, Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia.  
E-mail: [nkreshch@rambler.ru](mailto:nkreshch@rambler.ru)