УДК 576.895.122:595.122

ОКСИД АЗОТА У ЦЕРКАРИЙ ТРЕМАТОД: ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

© И. Б. Теренина

Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции
им. А. Н. Северцова РАН
Ленинский пр., 33, Москва, 119071
E-mail: terenina_n@mail.ru
Поступила 14.07.2015

Оксид азота (NO) относится к новой атипичной категории нейрональных сигнальных веществ. NO синтезируется из аминокислоты L-аргинина семейством высоко регулируемых ферментов, синтазами оксида азота (NOS). Селективным маркером NOS в нервной ткани, как полагают, является NADPH-диафоразная (НАДФН-д) реакция. С помощью НАДФН-д гистохимического метода исследовали наличие и распределение синтазы оксида азота у церкарий трематод 7 семейств. Позитивное НАДФН-д окрашивание обнаружено в главных продольных нервных стволах, в волокнах, идущих к пигментированным глазкам, а также в мышцах брюшной и ротовой присосок. Полученные данные подтверждают, что нитроксидергическая сигнальная система может играть важную роль в физиологии церкарий трематод.

Ключевые слова: трематоды, церкарии, нервная система, нейромедиаторы, оксид азота.

В нервной системе трематод выявлен ряд нейрональных сигнальных веществ: аминергических, пептидергических, холинергических и др. Сведения о наличии этих веществ имеются в отношении как взрослых, так и личиночных форм различных представителей этого класса паразитических плоских червей (McKay et al., 1990, 1991; Skuce et al., 1990; Шишов, 1991; Magee et al., 1993; Pan et al., 1994; Niewiadomska et al., 1996; Mair et al., 2000; Stewart et al., 2003; Halton Maule, 2004; Šebelová et al., 2004; Terenina et al., 2006; Tolstenkov et al., 2008, Теренина, Толстенков, 2013).

Открытие в начале 1980-х годов свойств оксида азота (NO) как нового нейронального регулятора физиологических процессов и первого известного трансмиттерного газа, выполняющего нейромедиаторную функцию у млекопитающих (Ignarro et al., 1987; Snyder, 1992; Garthwaite et al., 1995), явилось революционным шагом в биологии и медицине и дало толчок к исследованию этого уникального и атипичного нейронального сигнального вещества у других животных, в том числе и паразитических червей.

Синтез оксида азота катализируется семейством высоко регулируемых ферментов, синтазами оксида азота (NO-синтазами), которые в присутствии кислорода, НАДФН-диафоразы и других кофакторов трансформируют L-аргинин в L-цитруллин с освобождением NO (Nathan, Xie, 1994). У позвоночных животных идентифицировано 3 основные формы NO-синтазы: нейрональная (тип I), индуцибельная (тип II) и эндотелиальная (тип III) (Moncada et al., 1991; Bredt, 1995). Каждая из этих форм продуцируется различными генами (Sessa, 1994). Нейрональная и эндотелиальная NO-синтазы являются Ca^{2+} зависимыми, тогда как индуцибельная NO-синтаза в большинстве тканей является Ca^{2+} независимой. В связи с тем что NO имеет короткий период жизни и труден для изучения, исследование этого вещества фокусируются главным образом на изучении фермента его синтеза, синтазы оксида азота. Для выявления синтазы оксида азота в нервной ткани широко применяется НАДФН-диафоразная гистохимическая реакция, которая при определенных условиях фиксации является селективным гистохимическим маркером NO синтазы (Bredt et al., 1991a, b; Hope et al., 1991; Brehner, Stach, 1997).

В литературе появились данные о том, что в нервной системе паразитических плоских червей, в частности трематод, наряду с классическими нейромедиаторами присутствуют структуры, генерирующие оксид азота, — вещество, являющееся представителем нового типа сигнальных молекул со свойствами нейропередатчика (Gustafsson et al., 2001; Kohn et al., 2001, 2006; Tandon et al., 2001; Terenina, Gustafsson, 2003; Terenina et al., 2006).

Подтверждением гистохимических данных о наличии оксида азота в нервной системе трематод явились результаты радиометрического исследования, показавшего наличие активности фермента синтеза оксида азота — синтазы оксида азота в тканях *Fasciola hepatica* и *F. gigantica* (Terenina et al., 2003; Soha et al., 2009).

Имеющиеся сведения о наличии у трематод нитроксидергических структур касаются главным образом взрослых паразитов, тогда как в отношении личиночных форм соответствующие данные очень ограничены.

С целью исследования роли нитроксидергической системы в жизнедеятельности трематод в настоящей работе исследовали наличие и распределение фермента синтеза оксида азота — синтазы оксида азота у церкарий трематод различных семейств.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В работе использовали 9 видов церкарий трематод, принадлежащих к 7 семействам: *Moliniella anceps* Molin, 1859 (сем. Echinostomatidae Looss, 1899) из *Lymnaea palustris*, Белоруссия; *Notocotylus attenuatus* Rudolphi, 1809 (сем. Notocotylidae Lühe, 1909) из *L. stagnalis*, Новосибирская обл.; *Paramphistomum cervi* Zeder, 1790 (сем. Paramphistomidae Fischoeder, 1901) из *Planorbis planorbis*, Белоруссия; *Trichobilharzia szidati* Neuhaus, 1952 (сем. Schistosomatidae Stiles and Hassall, 1898) из *L. stagnalis*, Белоруссия; *Bilharziella polonica* Kowalewski, 1895 (сем. Schistosomatidae Stiles and Hassall, 1898) из *P. corneus*, Белоруссия; *Opisthorchis felineus* Rivolta, 1884

(сем. Opisthorchiidae Looss, 1899) из *Bithynia tentaculata*, Зап. Сибирь; *Metorchis bilis* Braun, 1890 (сем. Opisthorchiidae Looss, 1899) из *B. tentaculata*, Белоруссия; *Cotylurus szidati* Zazornova, 1991 (сем. Strigeidae Railliet, 1919) из *P. corneus*, Белоруссия; *Cryptocotyle lingua* Creplin, 1825 (сем. Heterophyidae Leiper, 1909) из *Littorina littorea*, Белое море.

Выделенных моллюсками церкарий фиксировали в 4%-ном параформальдегиде в 0.1 М фосфатном буферном растворе (pH 7.4) при 4 °С и затем сохраняли в 10%-ной сахарозе, приготовленной на 0.1 М фосфатном буфере. Для идентификации структур, содержащих синтазу оксида азота (NO-синтазу), использовали никотинамидаденин динуклеотидфосфат-диафоразный (НАДФН-д) гистохимический метод. Метод основан на определении фермента НАДФН-диафоразы, известного как маркер NO-синтазы (Hope, Vincent, 1989; Hope et al., 1991; Dawson et al., 1991; Vincent, Kimura, 1992). Время инкубации составляло от 0.5 до 1.0 ч при 37 °С. Конечная концентрация в инкубационной среде нитроголубого тетразолия (Nitro Blue Tetrazolium, Sigma) составляла 1 мг/мл, β-НАДФН (β-Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, Sigma) — 2 мг/мл.

Полученные результаты исследовались при помощи светового микроскопа Axiostar plus (Zeiss).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Положительная НАДФН-д реакция, свидетельствующая о наличии структур, генерирующих оксид азота, выявлена в наиболее развитых главных продольных нервных стволах церкарий исследованных трематод (рис. 1, *а—з*). У ряда церкарий реакция была более выражена в передней части тела. У церкарий, имеющих чувствительные глазки (*P. cervi*, *O. felineus*, *B. polonica*, *Cryptocotyle lingua*, *T. szidati*), можно было видеть положительное НАДФН-д окрашивание в нервных волокнах, идущих к пигментированным глазкам (рис. 2, *а—в*).

Помимо нервных элементов, НАДФН-д реакция обнаружена в мышцах ротовой и брюшной присосок (*Moliniella anceps*, *Cotylurus szidati*, *B. polonica*, *T. szidati*), продольных мышцах хвоста (*Moliniella anceps*, *O. felineus*), а также в радиально направленных мышечных волокнах, идущих к брюшной присоске у *T. szidati*, *B. polonica* (рис. 2, *г*, *д*).

Как показывают данные литературы, в нервной системе трематод наряду с классическими нейромедиаторами (ацетилхолин, катехоламины, нейропептиды и др.) присутствуют нитроксидергические структуры, т. е. структуры, генерирующие оксид азота, — вещество, являющееся представителем нового типа сигнальных молекул со свойствами нейропередатчика. Для идентификации нервных структур, генерирующих оксид азота, широко используется гистохимическая реакция, основанная на определении фермента НАДФН-диафоразы, который является топографическим маркером фермента синтеза оксида азота — NO-синтазы (NOS; EC 1.14.13.39) (Dawson et al., 1991; Hope et al., 1991). Сведения о наличии структур, генерирующих оксид азота, имеются в отношении взрослых форм ряда трематод: *F. hepatica*, *O. felineus*, *Allocreadium isoporum*, *P. cervi*, *Aspidogaster conchicola*, *Echinoparyphium aconiatum*, *Fasciolopsis buski*,

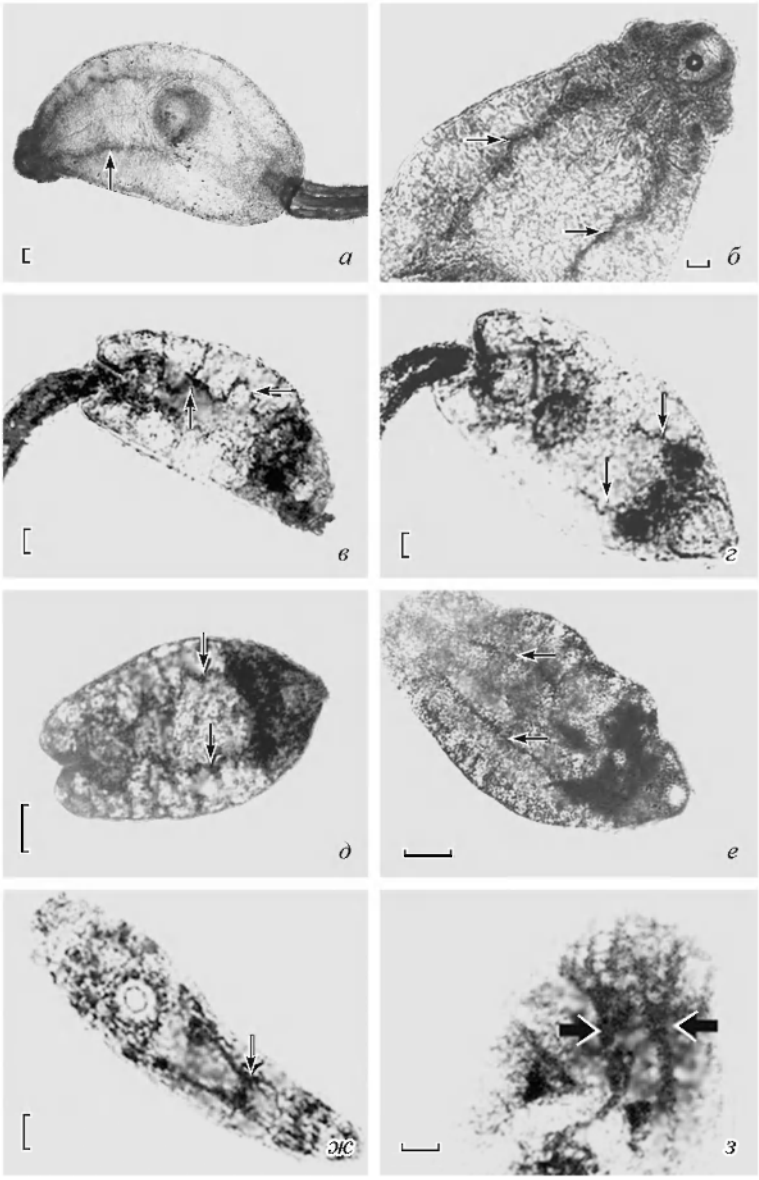

Рис. 1. НАДФ-д окрашивание (стрелки) в главных нервных стволах церкарий трематод.

а, б — Moliniella anceps; *в, г — Opisthorchis felineus*; *д — Metorchis bilis*; *е — Notocotvlus attenuatus*; *ж — Cotylurus szidati*; *з — Trichobilharzia szidati*. Масштабные линейки, мкм: *а, б, д* — 20; *е* — 50; *в, г, ж, з* — 10.

Fig. 1. NADPH-d staining (arrows) in the main nervous cords of trematode cercariae.

Schistosoma mansoni (Gustafsson et al., 2001; Kohn et al., 2001; Tandon et al., 2001; Terenina et al., 2006; Толстенков и др., 2007; Теренина, Густафссон, 2012, 2014). Эти данные подтверждены результатами радиометрического исследования фермента синтазы оксида азота у трематод (Terenina et al., 2003).

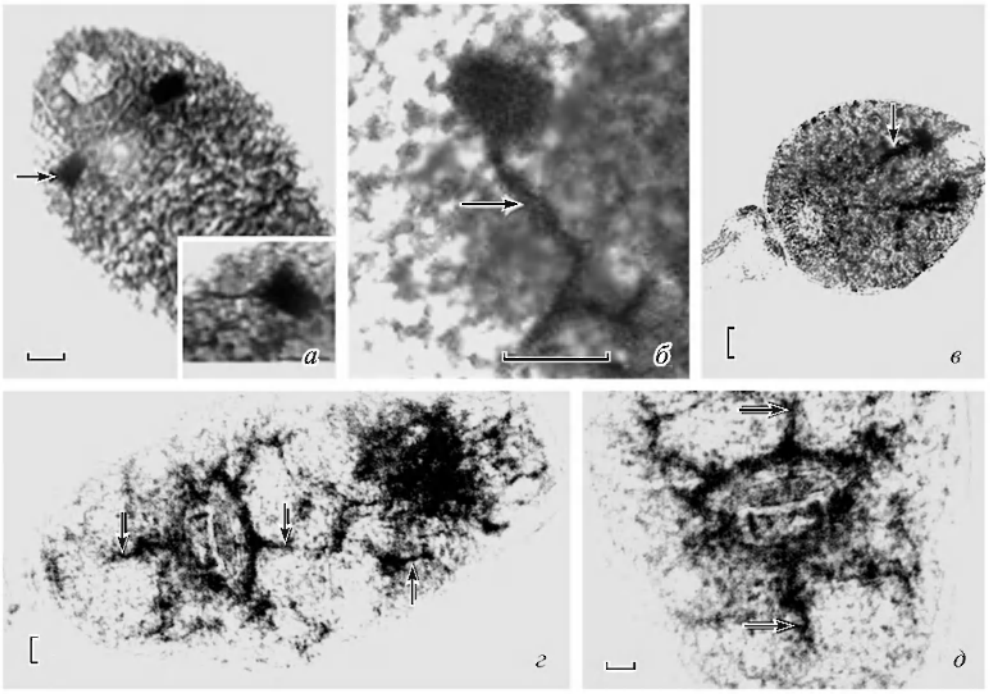

Рис. 2. NADPH-d позитивная реакция (стрелка) в волокнах, идущих к чувствительным глазкам (*а—в*), и в мышцах, идущих к брюшной присоске (*г*, *д*), у церкарий трематод.

а — *Cryptocotyle lingua* (вставка — увеличенное изображение области пигментированного глазка); *б*, *г*, *д* — *Trichobilharzia szidati*; *в* — *Paramfistomum cervi*. Масштабные линейки, мкм: *а* — 15; *б*, *г*, *д* — 10; *в* — 50.

Fig. 2. NADPH-d positive reaction (arrows) in fibers, running to eyespots (pigmented eyes) (*а—в*) and in muscle fibres, runing to the ventral sucker (*г*, *д*) in trematode cercaria.

Предполагают, что NO-ергические нервные структуры участвуют в регуляции активности мускулатуры стенки тела и органов прикрепления трематод (Gustafsson et al., 2001; Tandon et al., 2001; Толстенков и др., 2007). Кроме того, анализ данных о наличии положительной НАДФН-д реакции в структурах прикрепительных органов (*Allocreadium isoporum*, *P. cervi*) и дистальных отделах репродуктивной системы (*P. cervi*) предполагает также вероятное участие оксида азота в функции чувствительных структур у трематод (Теренина, Густафссон, 2012).

Что касается личиночных форм трематод, то сведения о нейромедиаторах у них более ограничены, чем у взрослых гельминтов. В нервной системе церкарий трематод обнаружены такие нейромедиаторы, как ацетилхолин (Niewiadomska, Moćzón, 1982; Niewiadomska et al., 1996), катехоламины (Незлин, Рыбаков, 1988; Шишов, 1991; Czubaj, Graba-Kazubska, 1993), серотонин и нейропептиды (Skuce et al., 1990; Pan et al., 1994; Теренина, Густафссон, 2003; Šebelová et al., 2004; Terenina et al., 2006). Единичные работы свидетельствуют о наличии нитроксидергических структур у церкарий (*E. aconiatum*, *Diplostomum chromatophorum*) и метацеркарий (*O. felineus*) трематод (Terenina, Gustafsson, 2003; Terenina et al., 2006; Теренина Густафссон, 2014).

В представленной работе исследования проводили на церкариях трематод различных таксономических, биологических и морфологических групп. Это — церкарии трематод, имеющие диксенный (*N. attenuatus*, *P. cervi*, *T. szidati*, *B. polonica*) или триксенный (*Moliniella anceps*, *O. felineus*, *Metorchis bilis*, *Cotylurus szidati*, *Cryptocotyle lingua*) типы развития. Промежуточными хозяевами исследованных церкарий являются брюхоногие моллюски, принадлежащие к различным семействам — Limniidae (*Moliniella anceps*, *N. attenuatus*, *T. szidati*), Planorbidae (*P. cervi*, *B. polonica*, *Cotylurus szidati*), Bithyniidae (*O. felineus*, *Metorchis bilis*), Littorinidae (*Cryptocotyle lingua*). Окончательными хозяевами исследованных церкарий трематод являются птицы (*Moliniella anceps*, *Cotylurus szidati*, *Cryptocotyle lingua*, *T. szidati*, *B. polonica*) или млекопитающие (*P. cervi*, *O. felineus*, *Metorchis bilis*).

Полученные нами данные показали, что положительная реакция на НАДФН-д, свидетельствующая о наличии фермента синтеза оксида азота, обнаружена в главных нервных стволах церкарий трематод различных семейств. Помимо главных нервных стволов, позитивная реакция на НАДФН-д обнаружена в мышцах ротовой и брюшной присосок, а также в чувствительных глазках церкарий и отходящих от них нервных волокон. Данные о связи чувствительных глазков с нервными ганглиями имеются в литературе (Галактионов, Добровольский, 1998). В связи с полученными результатами можно предположить участие нитроксидергической системы в функции чувствительных глазков у церкарий трематод. Кроме того, обнаружение позитивной НАДФН-д реакции в мышцах присосок церкарий предполагает важную роль нитроксидергической системы в деятельности их прикрепительных органов. Это предположение подкрепляется сведениями о стимулирующем действии аминокислоты L-аргинина, участвующей в синтезе оксида азота, на прикрепление церкарий шистосом к коже млекопитающих (Haas et al., 2002).

Ранее нами было показано участие нитроксидергической системы в прикреплении к субстрату личинок цестод *Mesoscestoides corti* (Terenina et al., 1999). Возможное участие оксида азота в функции прикрепительных органов было высказано также в отношении моногеней (Forsella et al., 2011). Таким образом, важная роль оксида азота в регуляции активности мускулатуры прикрепительных органов, а также чувствительных структур, вероятно, даст возможность направленно влиять на поведение трематод и функцию их прикрепительных органов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы приносят благодарность кандидату биологических наук О. О. Толстенкову (Центр паразитологии ИПЭЭ РАН) за предоставленный материал.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-16-00026).

Список литературы

Галактионов К. В., Добровольский А. А. 1998. Происхождение и эволюция жизненных циклов трематод. СПб.: Наука. 404 с.

Незлин Л. П., Рыбаков А. В. 1988. Гистохимическое исследование нервной системы церкарий трематод. Журн. общ. биол. 49 (5): 695—703.

Теренина Н. Б., Густафссон М. К. С. 2003. Нейротрансмиттеры у гельминтов. М.: Наука. 178 с.

Теренина Н. Б., Густафссон М. К. С. 2012. О нитроксидергических структурах в прикрепительных органах трематод. Тр. ИПЭЭ РАН Центр паразитологии. 47: 239—249.

Теренина Н. Б., Густафссон М. К. С. 2014. Функциональная морфология нервной системы паразитических плоских червей (трематоды, цестоды). М.: Товарищество научных изданий КМК. 296 с.

Толстенков О. О., Теренина Н. Б., Шалаева Н. М., Гайворонская Т. В. 2007. Нервно-мышечная система трематод *Allocreadium isoporum* Looss, 1894 (Allocreadiidae) и *Paramphistomum cervi* Zeder, 1790 (Paramphistomatidae). Зоология беспозвоночных. 4 (2): 139—149.

Теренина Н. Б., Толстенков О. О. 2013. Иммуноцитохимическое исследование серотонина и нейропептида в нервной системе церкарий трематод — *Metorchis bilis* и *Sanguinicola armata*. Рос. паразитол. журн. 3: 35—40.

Шишов Б. А. 1991. Аминергические и холинергические элементы в нервной системе гельминтов. Тр. Зоол. ин-та АН СССР. 241: 112—137.

Bredt D. S. Molecular characterization of nitric oxide synthase. 1995. In: Vincent S. (ed.). Nitric oxide in the nervous system. London: Academic Press. 1—19.

Bredt S. D., Hwang P. M., Glatt C. E., Lovenstein C., Reed R. R., Snyder S. H. 1991a. Clonned and exprressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase. Nature (London). 351: 714—718.

Bredt S. D., Glatt C. E., Hwang P. M., Fothui M., Dawson T. M., Snyder S. H. 1991b. Nitric oxidesynthase protein and mRNA are discretely localized in neuronal populations of the mammalian CNS together with NADPH diaphorase. Neuron. 7: 615—624.

Brehner A., Stach W. 1997. Morphological classification of NADPHd-positive and negative myenteric neurons in the porcine small intestine. Cell and Tissue Research. 287: 127—134.

Czubaj A., Graba-Kazubska B. 1993. Localization and distribution of catecholamines in the nervous system of *Opisthioglyphe ranae* (Frölich, 1791) cercaria (Digenea, Plagiorchiidae). Acta Parasitologica. 38: 151—154.

Dawson T. M., Bredt D. S., Fotui M., Hwang P. M., Snyder S. H. 1991. Nitric oxide synthase and neuronal NADPH diaphorase are identical in brain and peripheral tissue. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA. 88: 7797—7801

Foreella M., Fusi P., Villa A., Tedeschi G., Giovannoni R., Bonelli S., Galli P. 2011. Importance of nitric oxide synthase in the anchoring structures of *Neobenedenia girellae* — an important fish parasite. Biochemical Systematics and Ecology. 39 (4): 841—845.

Garthwaite J., Boulton C. 1995. Nitric oxide signalling in the central nervous system. Annual Review of Physiology. 57: 683—706.

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 the Musculature of the Adult Liver Fluke, *Fasciola hepatica* (Diginea, Fasciolidae). Journal of Comparative Neurology. 429: 71—79.

Haas W., Grabe K., Stoll K., Fuchs M., Habert B., Loy C. 2002. Recognation and invesion of human skin by *Schistosoma mansoni* cercariae: the key-role of L-arginine. Parasitology. 124 (2): 153—167.

Halton D. W., Maule A. G. 2004. Flatworm nerve-muscle: structural and functional analysis. Canadian Journal of Zoology. 82: 316—333.
Hope B. T., Vincent S. R. 1989. Histochemical localization of neuronal NADPH-diaphorase. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 37: 653—661.
Hope B. T., Michael G. J., Knippe K. M., Vincent S. R. 1991. Neuronal NADPH-diaphorase is a nitric oxide synthase. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA. 88: 2811—2814.
Ignarro L. J., Buga G. M., Wood K. S., Byrns R. E., Chaudhuri G. 1987. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA. 84: 9265—9269.
Kohn A. B., Moroz L. L., Lea J. M., Grenberg R. M. 2001. Distribution of nitric oxide synthase immunoreactivity in the nervous system and peripheral tissues of *Schistosoma mansoni*. Parasitology. 122 (1): 87—92.
Kohn A. B., Lea J. M., Moroz L. L., Grenberg R. M. 2006. Schistosoma mansoni: Use of a fluorescence indicator to detect nitric oxide and related species in living parasites. Experimental Parasitology. 113 (2): 130—133.
Magee C. A., Cahir M., Halton D. W., Johanston C. F., Shaw C. 1993. Cytochemical observation on the nervous system of adult *Corrigia vitta*. Journal of Helminthology. 67 (3): 189—199.
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. 121: 163—170.
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: Diginea) Parasitology Research. 76 (6): 509—517.
McKay D. M., Halton D. W., Maule A. G., Johnston C. F., Fairweather J., Shaw C. 1991. Cytochemical demonstration of cholinergic, serotoninergic and peptidergic nerve elements in *Gorgoderina vitelliloba* (Trematoda: Digenea) Internation Journal for Parasitology. 21: 71—80.
Moncada S., Palmer R. M. J., Higgs E. A. 1991. Nitric oxide: physiology, phatolophysiology, and pharmacology. Pharmacological Reviews. 43: 109—142.
Nathan C., Xie Q. W. 1994. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. Cell. 78 (6): 915—918.
Niewiadomska K., Moczón T. 1982. The nervous system of *Diplostomum pseudospathaceum* Niewiadomska (Diginea, Diplostomatidae). I. Nervous system and chaetotaxy in cercaria. Zeitschrift fur Parasitenkunde. 68: 295—304.
Niewiadomska K., Czubaj A., Moczon N. 1996. Cholinergic and aminergic nervous systems in developing cercariae and metacercariae of *Diplostomum pseudospathaceum* Niewiadomska, 1984 (Digenea). International Journal for Parasitology. 6 (2): 161—168.
Pan J. Z., Halton D. W., Shaw C., Maule A. G., Johanston C. F. 1994. Serotonin and neuropeptide immunoreactivities in the intramolluscan stages of three marine trematode parasites. Parasitology. 80: 388—395.
Sessa W. C. 1994. The nitric oxide synthase family of proteins. Journal of Vascular Research. 31: 131—134.
Soha M., Hamdy, Ehab M. M. Ali. 2009. Purification and Characterization of Nitric Oxide Synthase in *Fasciola gigantica*. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 3 (3): 2410—2418.
Sebelová S., Stewart M., Mousley A., Fried B., Marks N., Halton D. 2004. The muscularture and associated innervation of adult and intramolluscan stages of *Echinostoma caproni* (Trematoda) visualized by confocal microscopy. Parasitology Research. 93: 196—206.
Skuce P. J., Johanston C. F., Fairweather I., Halton D. W., Shaw C. 1990. A confocal scanning laser microscope study of the peptidergic and serotoninergic components of the nervous system in larval *Schistosoma mansoni*. Parasitology. 101: 227—234.
Snyder S. H. 1992. Nitric oxide: first in a new class of neurotransmitters. Science. 257: 494—496.

Stewart M. T., Marks N. J., Halton D. W. 2003. Neuroactive substances and associated major muscle systems in *Bucephaloides gracilescens* (Trematoda: Digenea) metacercariae and adult. Parasitology Research. 91(1): 12—21.
Tandon V., Kar P. K., Saha N. 2001. NO nerves in trematodes too! NADPH-diaphorase activity in adult *Fasciolopsis buski*. Parasitology International. 50 (3): 157—163.
Terenina N. B., Reuter M., Gustafsson M. K. S. 1999. An experimental, NADPH-diaphorase histochemical and immunocytochemical study of *Mesocestoides vogae* tetrathyridia. International Journal for Parasitology. 29: 787—793.
Terenina N. B., Tolstenkov O., Fagerholm H. P., Serbina E. A., Vodjanitskaja S. N., Gustafsson M. K. S. 2006. The spacial relationship between the musculature and the NADPHdiaphorase activity of 5-HT and FMRF amide immunoreactivities in redia, cercaria and adult of *Echinoparyphium aconiatum* (Digenea). Tissue and Cell. 38 (2): 151—157.
Terenina N. B., Gustafsson M. K. S. 2003. Nitric oxide and its target cells in cercaria of *Diplostomum chromatophorum* — a histochemical and immunocytochemical study. Parasitology. Research. 89: 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. 126: 585—590.
Tolstenkov O. O., Terenina N. B., Gustafsson M. K. S., Serbina E. A., Kreshchenko N. D., Maklakova L. M., Jashina A. V. 2008. Imunocytochemical study of cercariae trematodes from different taxonmic groups. Acta Biologica Hungarica. Suppl. 59: 221—225.
Vincent S. R., Kimura H. 1992. Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain. Neuroscience. 46: 755—784.

DISTRIBUTION OF NADPH-DIAPHORASE ACTIVITY IN TREMATODE CERCARIAE

N. B. Terenina

Key words: trematodes, cercariae, nervous system, nitric oxide.

SUMMARY

The presence and distribution of nitric oxide sinthase was studied in cercariae of trematodes from seven families using the nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase (NADPH-d) histochemical method. The positive NADPH-d staining has been observed in nerve fibers in main nerve chords and in fibers running to eyespots (pigmented eyes) as well as in muscles of the oral and ventral suckers. The obtained data support an important role of the NO-signalling in the physiology of trematode cercariae.