

**МОРФОЛОГИЯ ЗАЩИТНЫХ ОБОЛОЧЕК МЕТАЦЕСТОДЫ
MICROSOMACANTHUS PARAPARVULA REGEL, 1994 ИЗ
ЛИЧИНОК РУЧЕЙНИКА *GRENSIA PRAETERITA* WALK.**

Н.А. Поспехова, К.В. Регель

*Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, ул. Портовая, 18, Магадан,
685000, Россия. E-mail: posna@ibpn.ru; kire@ibpn.ru*

Изучено тонкое строение защитных оболочек метацестоды *Microsomacanthus paraparvula* Regel, 1994, паразитирующей в гемоцеле личинки ручейника *Grensia praeterita* Walk. Характерным для развития метацестоды этого вида является наличие двух защитных оболочек, экзо- и эндоцисты, имеющих различное строение. Экзоциста состоит из гранулярного материала, который организован в два нечётко дифференцированных слоя разной плотности. Эндоциста имеет типичное строение. У зрелой метацестоды экзоциста плотно прилегает к наружной поверхности эндоцисты, содержащей проспективную часть организма – сколекс и шейку. Хвостовой придаток располагается за пределами экзоцисты. В дистальных частях хвостовых придатков отмечены активные синтетические процессы. Обсуждаются возможные источники формирования экзоцисты.

**MORPHOLOGY OF PROTECTIVE ENVELOPES IN
METACESTODE *MICROSOMACANTHUS PARAPARVULA*
REGEL, 1994 FROM CADDIS FLY LARVA
GRENSIA PRAETERITA WALK.**

N.A. Pospekhova, K.V. Regel

*Institute of the biological problems of the North FEB RAS, 18 Portovaya Str.,
Magadan, 685000, Russia, posna@ibpn.ru; kire@ibpn.ru*

Fine structure of protective envelopes in *Microsomacanthus paraparvula* Regel, 1994 metacestode, parasitizing in hemocoel of caddis fly's nymph *Grensia praeterita* Walk, has been studied. Presence of two protective envelopes, namely, exo- and endocyst, which have different structure, is characteristic for metacestode's development of this species. Exocyst consists of granular material arranged in two poor-differentiated layers of different density. The endocyst has typical structure. Mature metacestode has exocyst tightly adjoining to the outer surface of endocyst, containing prospective part of organism – scolex and neck. Tail appendage is located outside of exocyst. In distal parts of tail appendages active synthetic processes were marked. Possible formation sources of exocyst are discussed.

Большинство цестод семейства Hymenolepididae является диксенными паразитами, а гименолепидиды водоплавающих птиц, как правило, используют в

качестве промежуточного хозяина ракообразных или олигохет. Поэтому находка гименолепидидной метацестоды в личинке ручейника вызвала большой интерес, а сама метацестода была описана как новая морфологическая модификация цистицеркоида – тектациста (Регель, Кашин, 1995). Одной из особенностей строения тектацисты является наличие неклеточной наружной оболочки (экзоцисты), которая регистрируется на самых ранних стадиях постэмбрионального развития, ещё до появления первичной полости. Эта оболочка, тонкая и прозрачная при светоптическом наблюдении, окружает весь развивающийся цистицеркоид вплоть до стадии раннего сколекогенеза, после чего хвостовой придаток, вероятно, перфорирует наружную оболочку, т.к. развивается за её пределами, оставаясь, впрочем, связанным с эндоцистой (Регель, Кашин, 1995).

Защитные оболочки (экзо- и эндоциста), вместе с хвостовым придатком, составляют лярвальный орган – церкомер (Краснощеков, 1980), который отбрасывается при попадании паразита в организм дефинитивного хозяина. В эволюции метацестод циклофиллидей происходит усложнение организации хвостового придатка, в ряде случаев трансформирующегося (например, у диплоцисты) в экзоцисту сложного строения. Последняя компенсирует снижение защитных свойств тегумента эндоцисты, наступающее вследствие его дифференцировки (Краснощеков и др., 1989). Цистицеркоиды дилепидид, относящиеся к модификации криптоцерк (Спаская, Спасский, 1978; Гуляев, Корниенко, 1998), отличаются от других модификаций ранним отделением хвостового придатка от тела метацестоды и распадом его на фолликулы, а также наличием неклеточной наружной оболочки – экзоцисты (Краснощеков, Томиловская, 1978). Впоследствии неклеточная экзоциста была обнаружена не только у дилепидид, но и у представителей семейства *Hymenolepididae* (Краснощеков, Плужников, 1984; Регель, 1986; Максимова, 1990; Grytner-Zieczina, 1994; Регель, Кашин, 1995).

Происхождение и строение наружной неклеточной оболочки до сих пор является предметом дискуссий, и ряд авторов трактует её как капсулу (т.е. производное организма хозяина) (Jarecka e.a., 1984), либо оболочку неизвестной природы (Bondarenko, Kontrimavitchus, 2004).

Защитные оболочки являются одними из наиболее значимых адаптивных структур, обеспечивающих нормальное развитие метацестод в промежуточном хозяине, и сохраняющих перспективную часть метацестоды (сколекс и шейку) во время прохождения начальных отделов пищеварительного тракта окончательного хозяина. Кроме того, защитные оболочки, как более вариабельная по своему строению составляющая цистицеркоидов, могут быть источником информации о филогенетических взаимоотношениях цестод (Краснощеков, 1980). Целью нашей работы было изучение морфологии защитных оболочек и хвостового придатка тектацисты *Microsomacanthus paraparvula* Regel, 1994 из гомоцели личинки ручейника *Grensia praeterita* Walk.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Зрелые цистицеркоиды *M. paraparvula* были получены при вскрытии спонтанно заражённых личинок ручейника *G. praeterita*. Длинные хвостовые придатки извлечённых метацестод, как правило, представляли собой единый клубок, и раз-

деление их представлялось затруднительным. Фиксацию материала проводили 4 % раствором глутарового альдегида на фосфатном буфере (рН 7,2) от двух часов до нескольких дней при температуре около 4 °С. После фиксации материал отмывали в растворе сахарозы, дополнительно фиксировали в 2 % растворе OsO₄ в течение 12 часов, окрашивали в насыщенном растворе уранилацетата, обезживали и заключали в смесь ЭПОН-аралдит. Срезы, полученные на ультрамикротоме LKB, исследовали в электронных микроскопах JEM-1011 и Libra-120. Полутонкие срезы окрашивали метиленовым синим по Моргенштерну.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Размер цистицеркоидов *M. paraparvula* (без хвостового придатка) около 350 × 250 мкм. Наружная оболочка (экзоциста) толщиной от 0,5 до 3 мкм, образована рыхлым гранулярным материалом с небольшим включением везикул, уплотненным на внешней поверхности в виде тонкого мембраноподобного слоя. Иногда просматривается некоторое увеличение плотности гранулярного материала на границе с гликокаликсом эндоцисты, однако четкой двуслойности наружной оболочки, видимой в световом микроскопе, не наблюдается.

Эндоциста состоит из тегумента, покрытого мощным слоем гликокаликса, базальной пластинки, фиброзно-мышечного и клеточного слоев.

Гликокаликс толщиной от 3 до 6 мкм, образован фибриллярным материалом сетчатой структуры с включением везикул разного диаметра.

Дистальная цитоплазма тегумента эндоцисты толщиной около 1 мкм, заполнена плотным материалом, в котором нечетко различаются зоны повышенной плотности. Под дистальной цитоплазмой располагается тонкая базальная пластинка. Фиброзные слои с включением мышечных отростков пронизаны цитоплазматическими мостиками, связывающими дистальную цитоплазму с расположенными глубже цитонами тегумента. В них иногда регистрируется везикулярный и хлопьевидный материал. В составе клеточного слоя обнаружены цитоны тегумента и элементы экскреторной системы (циртоциты и экскреторные каналы вместе с формирующими их цитонами), а также мышечные и секреторные клетки, продуцирующие круглые плотные гранулы диаметром до 350 нм. Крупные известковые тельца располагаются в пристеночной части шейки.

Хвостовой придаток ограничен тонким плотным слоем дистальной цитоплазмы, покрытой разреженными микроворсинками. Сразу под поверхностной цитоплазмой располагаются рыхлые фиброзные волокна, образующие матрикс хвостовых придатков. В него погружены небольшие по сечению, разрозненные пучки субтегументальной мускулатуры и клеточные элементы: цитоны тегумента, мышечные и мелкие малодифференцированные клетки. Некоторые клетки демонстрируют признаки деструкции, однако большая часть цитонов тегумента и миоцитонов имеет признаки активной синтетической деятельности: многочисленные зоны Гольджи и развитый эндоплазматический ретикулум (ЭПР).

Цитоплазма цитонов тегумента содержит многочисленные митохондрии с плотным матриксом и расширенными кристами. Митохондрии такого типа отмечены в цитоплазматических отростках, связывающих цитоны с наружной цитоплазмой, а также в самой наружной цитоплазме.

Характерной чертой миоцитонов является присутствие расширенных канальцев шероховатого ЭПР, заполненных мелкогранулярным содержимым умеренной плотности. Иногда цистерны ЭПР занимают основной объём цитоплазмы, а в ряде случаев они сливаются между собой. Тогда ядро располагается в центральном островке цитоплазмы, окружённом сплошным массивом синтезированного материала.

Пространство между соседними хвостовыми придатками заполнено фрагментами клеток и массивными скоплениями гранулярного и везикулярного материала, содержащими фиброзные волокна.

ОБСУЖДЕНИЕ

Морфология защитных оболочек тектацисты *M. paraparvula* в целом сходна с таковой других морфологических модификаций цистицеркоидов, имеющих не-клеточную наружную оболочку. В частности, с защитными оболочками циклоцерка, свойственного некоторым гименолепидидам (Краснощёков, Плужников, 1984). К признакам, объединяющим цистицеркоиды этих двух модификаций, помимо наличия неклеточной экзоцисты, можно отнести фибриллярный гликокаликс эндоцисты и расположение отростков мышечных клеток в пределах фиброзных слоёв, что является характерным и для некоторых других цистицеркоидов гименолепидоидей.

Необычной является повышенная синтетическая активность миоцитонов в хвостовом придатке тектацисты. По-видимому, она связана с отмеченным у этого вида интенсивным ростом хвостового придатка, который достигает 3 мм длины (Регель, Кашин, 1995). Не исключено также, что часть синтезируемого материала выделяется за пределы тегумента хвостовых придатков, формируя скопления гранулярного и фибриллярного материала. Функция этого материала в организме промежуточного хозяина может заключаться в изоляции поверхности агрегированных хвостовых придатков от иммунных механизмов ручейника.

Наличие неклеточной оболочки (экзоцисты) было установлено у метацестод семейства Dilepididae, в том числе и по результатам электронномикроскопических исследований (Gabrion, Gabrion, 1976; Краснощёков и др., 1983; Краснощёков и др., 1989; Гуляев, Ишигинова, 2003; Поспехова, Никишин, 2010). Происхождение неклеточной экзоцисты остаётся неясным до сих пор, что приводит к появлению самых разных предположений относительно её природы и времени формирования.

У цистицеркоида *Anomotaenia constricta* из гемоцели жуков отмечено наличие неклеточной наружной оболочки (l'enveloppe larvaire), которая непосредственно контактирует с клетками хозяина (Gabrion, Gabrion, 1976), однако при сравнении строения защитных оболочек *A. constricta* и *Tatria octocantha* авторы обозначают в качестве внешней оболочки *A. constricta* фолликулы церкомера.

Впервые неклеточная наружная оболочка дилепидид получила название наружной цисты в работе Краснощёкова и Томиловской (1978). Через три дня после заражения личинка *Paricterotaenia porosa* окружена гомогенной оболочкой толщиной 4 мкм, после чего весь цикл развития личинки в хирономиде происходит в полости наружной цисты (Краснощёков, Томиловская, 1978). По мнению авторов, она является, вероятно, продуктом цистогенных желез онкосфер. В пользу этого говорит наличие у онкосфер двух крупных железистых клеток, которые, как

и экзоциста, окрашиваются альциановым синим, что свидетельствует о наличии кислых мукополисахаридов.

У дилепидиды *Unciunia raymondii* развивающаяся метацестода находится внутри тонкой (4–5 мкм) фибриллярной оболочки, образованной железистым тегументом личинки на более ранних стадиях её развития (Гуляев, Ишигенова, 2003).

Раннее появление (до образования первичной полости) неклеточной наружной оболочки отмечено также у гименолепидид: у циклоцерков *Fimbriaria* spp. (Котельников, 1971; Grytner-Ziecina, 1994), *Microsomacanthus* spp. (Реголь, 1986) и тектацисты *M. paraparvula* (Реголь, Кашин, 1995). Прозрачная наружная оболочка неизвестной природы описана у метацестод трёх видов *Branchiopodataenia* (Hymenolepididae) из ракообразных (Bondarenko, Kontrimavitchus, 2004).

Большинство перечисленных работ содержат информацию о раннем появлении неклеточной экзоцисты, что позволяет предполагать, что её формирование начинается едва ли не одновременно с миграцией онкосферы в полость промежуточного хозяина, и, следовательно, источником её, скорее всего, является сама онкосфера. Это предположение было ранее высказано Кашиным (1986), вскоре после того, как он обнаружил существование множественных протоков желез проникновения онкосфер и описал у них три типа секреторных клеток (Кашин, Плужников, 1983). «Дополнительные протоки желез проникновения могут иметь существенное значение на начальных этапах лярвогенеза, когда первостепенной становится функция защиты против макрофагальных реакций хозяина. Мы неоднократно наблюдали образование мощного полисахаридного бордюра на поверхности онкосфер, проникших в целом беспозвоночных промежуточных хозяев» (Кашин, 1986). Чуть позже к тому же мнению пришли авторы, изучавшие изменение структуры церкомера метацестод *P. porosa* в гемоцеле неспецифического хозяина (Краснощевков и др., 1989).

Если ранее неклеточная наружная оболочка (экзоциста) считалась принадлежностью лишь одной модификации цистицеркоидов – моноцерка (ныне – криптоцерка), характерного для семейства Dilepididae, то к настоящему времени она зарегистрирована и у других модификаций цистицеркоидов, свойственных, в частности, семейству Hymenolepididae. Таким образом, можно предположить, что формирование защитной неклеточной оболочки на ранних стадиях постэмбрионального развития распространено, по крайней мере, в пределах подотряда Hymenolepidata. Вероятно, относительная простота и быстрота формирования неклеточной экзоцисты по сравнению с более сложной по структуре эндоцистой, объясняет широкое распространение этой первой преграды на пути иммунных реакций хозяина.

ЛИТЕРАТУРА

- Гуляев В.Д., Корниенко С.А. 1998. О морфологическом своеобразии цистицеркоидов *Monocercus* (Cestoda: Cyclophyllidae: Dilepididae) // Паразитология. Т. 32, вып. 2. С. 141–145.
- Гуляев В.Д., Ишигенова Л.А. 2003. О жизненном цикле *Unciunia raymondii* (Cestoda: Cyclophyllidae: Dilepididae) // Паразитология. Т. 37, вып. 5. С. 411–417.
- Кашин В.А., Плужников Л.Т. 1983. Цитоморфология зрелых яиц цестоды *Fimbriaria fasciolaris* (Cestoidea, Hymenolepididae) // Паразитология. Т. 17, вып. 6. С. 430–435.

- Кашин В.А. 1986.** Сравнительная морфология и гистохимия желез проникновения онкосфер некоторых циклофиллидей // Паразитология. Т. 20, вып. 2. С. 126–131.
- Котельников Г.А. 1971.** Типология личиночных форм у цестод семейства гименолепидид // Материалы научн. конф. Всес. об-ва гельминтологов. Вып.22. С.116–126.
- Краснощеков Г.П., Томиловская Н.С. 1978.** Морфология и развитие цистицеркоидов *Paricterotaenia porosa* (Cestoda : Dilepididae) // Паразитология. Т. 12, вып. 2. С. 108–115.
- Краснощеков Г.П. 1980.** Церкомер – личиночный орган цестод // Журн. Общ. Биол. Т. 41, вып. 4. С. 615–627.
- Краснощеков Г.П., Никишин В.П., Плужников Л.Т. 1983.** Ультраструктура стенки цисты личинок цестод типа моноцерка // Паразитология. Т. 17, вып. 5. С. 391–396.
- Краснощеков Г.П., Плужников Л.Т. 1984.** Ультраструктура цистицеркоидов *Fimbriaria fasciolaris* (Hymenolepididae) // Паразитология. Т. 18, вып. 1. С. 47–51.
- Краснощеков Г.П., Плужников Л.Т., Томиловская Н.С. 1989.** Изменения церкомера моноцерков в полости цистицеркоида и гемоцеле неспецифического хозяина // Паразитология. Т. 23, вып. 1. С. 54–59.
- Поспехова Н.А., Никишин В.П. 2010.** Функциональная морфология защитных оболочек цистицеркоида *Rauschitaenia ancora* (Cestoda : Dilepididae) // Первые Международные Беккеровские чтения. Т. 1. Волгоград: ТриАС. С. 499–501.
- Максимова А.П. 1990.** Жаброногие рачки (Anostraca) – промежуточные хозяева цестод рода *Wardium* (Hymenolepididae) // Паразитология. Т. 24, вып. 1. С. 89–92.
- Регель К.В. 1986.** Развитие лярвоцист типа циклоцерк // Паразитология. Т.20, вып. 3. С. 188–194.
- Регель К.В., Кашин В.А. 1995.** Жизненный цикл и тонкая морфология зародышевых оболочек *Microsomacanthus paraparvula* (Cestoda: Hymenolepididae) паразита нырковых уток Чукотки // Паразитология. Т. 29, вып.6. С. 511– 519.
- Спаская Л.П., Спаский А.А. 1978.** Цестоды птиц СССР. Дилепидиды лимнофильных птиц. М.: Наука. 315 с.
- Bondarenko S.K., Kontrimavitchus V.L. 2004.** Life-cycles of cestodes of the genus *Branchiopodataenia* Bondarenko & Kontrimavitchus, 2004 (Cestoda: Hymenolepididae), from gulls in Chukotka // Systematic Parasitology. V.57. P. 191–199.
- Gabrion C., Gabrion J. 1976.** Etude uhrasturculaire de la larve de *Anomotaenia constricta* (Cestoda, Cyclophyllidea) // Z. Parasitenk. B. 49. S. 161–177.
- Grytner-Ziecina B. 1994.** The life cycle of *Fimbriaria czaplinskii* Grytner-Ziecina, 1994 (Cestoda, Hymenolepididae) // Acta Parasitologica. V. 39, N 3. P. 141–145.
- Jarecka L., Vance G.N., Burt M.D.B. 1984.** On the life cycle of *Anomotaenia micracantha dominicana* (Railliet et Henry, 1912) with ultrastructural evidence supporting the definition cercoscolex for dilepidid larvae (Cestoda, Dilepididae) // Acta Parasitologica Polonica. V. 29, fasc. 3. P. 27–34.