

УДК 576.895.121

**ИЗМЕНЕНИЯ ЦЕРКОМЕРА МОНОЦЕРКОВ
В ПОЛОСТИ ЦИСТИЦЕРКОИДА
И ГЕМОЦЕЛЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ХОЗЯИНА**

Г. П. Краснощеков, Л. Т. Плужников, Н. С. Томиловская

При трансплантации личинок цестод *Paricterotaenia porosa* в полость тела гаммарусам наблюдается повышение функциональной активности тегумента церкомера с полным распадом его фолликул на 4-е сутки. Попадание фолликул церкомера в полость цистицеркоида ведет к их разрушению в результате взаимодействия с тегументом сколекса и шейки.

В эволюции личинок циклофиллидей происходит усложнение организации хвостового придатка, трансформирующегося у наиболее продвинутых форм в экзоцисту. Последняя компенсирует снижение защитных свойств тегумента эндоцисты, наступающее в результате его дифференцировки (Краснощечков, 1983). Первичный лярвальный тегумент, сохраняющийся у зрелых личинок цестод в области хвостового придатка, противодействует клеточной реакции хозяина секрецией мембранного материала в виде трубочек, везикул с поверхности микроворсинок (Engelkirk, Jeffrey, 1982; Краснощечков, 1987). Экзоциста моноцерков дилепидид отличается от церкомера других цистицеркоидов двумя особенностями: во-первых, отделением хвостового придатка от цисты и его распадом на фолликулы и, во-вторых, наличием наружной бесклеточной оболочки, продуцируемой цистогенными железами онкосфер (Краснощечков, Томиловская, 1978). Оболочка экзоцисты исключает непосредственный контакт между микроворсинками, секретлируемыми ими везикулами и клетками хозяина. Это предполагает, при сохранении защитной функции экзоцисты моноцерков, иные пути воздействия на клеточную реакцию хозяина.

С целью выявления изменений гомолога хвостового придатка моноцерков в условиях повышенной гемоцитарной реакции хозяина мы провели опыты по пересадке личинок *Paricterotaenia porosa* от хирономиды *Chironomus obtusidens* в гемоцель рака *Gammarus lacustris*. Выбор реципиента был обусловлен следующими обстоятельствами. Попытки трансплантации личинок хирономидам оказались безуспешными вследствие крупных размеров личинок и соответственно раневых отверстий. Пересадка вызывала быструю гибель хирономид из-за потери гемолимфы. Использование гаммарусов, не являющихся в естественных условиях промежуточными хозяевами этого вида цестод, не противоречило целям эксперимента — получению выраженной клеточной реакции на трансплантат, поскольку они не адаптированы к личинкам *P. porosa* и обладают хорошо развитым клеточным иммунитетом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Личинок из естественно и экспериментально инвазированных хирономид извлекали в 50 %-ном растворе Локка, в котором сохраняли их в течение нескольких минут, необходимых для подготовки раков к трансплантации, и затем вводили с помощью стеклянной микропипетки в дорсальнокаудальный отдел полости тела гаммарусов. Таким образом, было заражено 45 раков; большая их часть погибла в 1-е сутки после операции. Из 18 выживших личинки обнаружены у 6, в том числе при вскрытии через 12 ч — 1; 30—36 ч — 3; 3 и 4 сут — по 1 личинке. Кроме того, трем гаммарусам были пересажены личинки, находившиеся на стадии позднего сколексогенеза. Раки были вскрыты через 4 сут и в одном из них найдена личинка с инвагинированным сколексом.

Личинки были фиксированы в 6.5 %-ном растворе глютаральдегида на 0.1 М фосфатном буфере (рН 7.4), промыты в 4.5 %-ном растворе сахарозы на том же буфере, дополнительно фиксированы в 2 %-ном растворе четырехоксида осмия и заключены в смесь эпон-аралдит. Срезы готовили на ультратоме LKB, контрастировали по Рейнольдсу и изучали в электронном микроскопе BS-500 фирмы «Тесла».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При обследовании погибших в 1-е сутки гаммарусов (3—24 ч после операции) светооптическое изучение не выявило каких-либо изменений личинок и адгезии клеток на поверхности экзоцисты. Электронно-микроскопическое исследование в эти сроки не проводилось, за исключением одной личинки, обнаруженной в живом гаммарусе через 12 ч после пересадки. Эта личинка отличалась от других наличием глубоких ритмических сокращений стенки цисты. Она свободно располагалась в полости тела гаммаруса и была лишена экзоцисты. Адгезия клеток хозяина на поверхности цисты не выявлена. Выходная щель и полость цистицеркоида расширены, в них обнаружены сферические тельца, принятые при светооптическом исследовании за клетки хозяина. Часть телец свободно перемещается, выходя на поверхность цисты при ее сокращении и втягиваясь обратно в просвет выходной щели при расслаблении. Подвижность сколекса не выявлена.

Электронно-микроскопически тегумент цисты имеет характерный для дилепидид вид (Красношеков и др., 1983). В тканях личинки располагаются многочисленные, круглые в сечении тельца, представляющие собой срезы микроорганизмов. Они ограничены цитоплазматической мембраной, содержат гранулярный материал высокой электронной плотности. Тельца располагаются как вне-, так и внутриклеточно, преимущественно в стенке цисты и паренхиме шейки. Какой-либо реакции вокруг них, за исключением некоторого увеличения плотности ткани в виде ореола, не выявлено.

Тельца в полости цистицеркоида идентифицированы при электронно-микроскопическом исследовании как фолликулы церкомера. Одни из них имеют типичный для моноцерков вид: образованы тканью тегумента, нередко имеют центральную полость, поверхность их покрыта микроворсинками. Цитоплазма цитонов обеднена органеллами, митохондрии немногочисленные, представлены мелкими формами с плотным матриксом, каналцы гранулярной эндоплазматической сети отсутствуют, комплекс Гольджи не обнаружен. Наряду с органеллами в цитоплазме тегумента содержится большое число ламеллярных телец, различной величины и формы полостей, включающих мембранные профили, резидуальные тельца. В прилежащих к сколексу и шейке участках микроворсинки изогнуты, проникают между микротрихиями, контактируя с поверхностью последних (рис. 1, 1; см. вкл.).

Другие фолликулы церкомера уплощены, распластаны на поверхности тегумента сколекса и шейки или «ущемлены» между складками поверхностных отделов последних (рис. 1, 3). В местах контакта с тегументом дефинитивных отделов личинок микроворсинки церкомера ориентированы вдоль его поверхности, имеют нечеткие контуры, образуя войлокоподобную массу, в которую погружены вершины микротрихий (рис. 1, 2). Цитоплазматическая мембрана последних в этих участках утолщена, повышенной плотности. Помимо нарушения архитектоники микроворсинчатого бордюра, в зоне контакта имеются поля с полным разрушением микроворсинок и лишённые цитоплазматической мембраны; микротрихии дефинитивного тегумента здесь непосредственно погружены в цитоплазму фолликулов церкомера. Микроворсинчатый покров фолликул на поверхности, обращенной в полость цистицеркоида, как правило, имеет обычный вид. Кроме фолликул церкомера в полости цистицеркоида выявляются продукты их распада: фрагменты клеток, скопления мембранного и зернистого материала, ассоциированного с микротрихиями и проникающего между ними до цитоплазматической мембраны тегумента.

Поверхностный синцитий тегумента дефинитивных отделов личинок в местах контактов с фолликулами церкомера утолщен, особенно на вершинах складок; содержит повышенное по сравнению с другими отделами количество светлых овоидных телец; включает небольшие участки матрикса, не содержащие включений. На поверхности тегумента здесь располагаются различные по величине выпячивания овоидной или грибовидной формы, заполненные матриксом с единичными включениями. Палочковидные формы последних обычно примыкают к наружной цитоплазматической мембране. Встречаются также «тени» включений тегумента, возникающие, по-видимому, в результате выделения их содержимого на поверхность тегумента. Поверхность выпячиваний лишена микротрихий, нередко непосредственно контактирует с фолликулами церкомера. Вершина выпячиваний в этих случаях уплощена, цитоплазматическая мембрана в зоне контакта утолщена, повышенной плотности; снаружи от нее зона контакта заполнена зернистым материалом (рис. 1, 3, 4). Эти структуры напоминают плотные контакты. Идентичные выпячивания образования выявляются на поверхности церкомера и вне связи с тегументом сколекса, что предполагает их секрецию с поверхности последнего (рис. 1, 5).

Помимо выпячиваний в зоне контактов с фолликулами церкомера изредка встречаются микротрихии с расширенными основаниями, содержащие в базальных отделах однородный зернистый матрикс. Цитоплазматическая мембрана таких микротрихий утолщена, многослойная, повышенной плотности. Эти изменения, по-видимому, предшествуют образованию выпячиваний.

Через 1.5 сут после трансплантации одна из трех личинок была спаяна с органами хозяина — освободить ее без повреждения экзоцисты не удалось. На поверхности экзоцисты двух других личинок выявлены локальные скопления клеток хозяина. Электронно-микроскопически оболочка экзоцисты без видимых изменений. Снаружи на ней располагаются небольшие группы и отдельные гемоциты, находящиеся на разных стадиях цитолиза. В клеточных скоплениях, кроме того, имеются менее измененные клетки: типичные или частично дегранированные гранулоциты; не поддающиеся идентификации агранулоциты; уплощенные фибробластоподобные клетки; амёбовидные клетки, располагающиеся преимущественно на наружной поверхности клеточных агломератов и имеющие в части случаев вид симпластов.

Фолликулы церкомера располагаются преимущественно вблизи оболочки экзоцисты, что в общем не обычно для моноцерков. Тегумент фолликул не однороден, представлен темной и светлой модификациями, встречающимися одновременно в составе одной личинки и в пределах одного фолликула (рис. 2, 1; см. вкл.), хотя имеются и фолликулы, образованные целиком той или иной его «разновидностью». Какой-либо закономерности в распределении указанных

модификаций тегумента в составе фолликул относительно оболочки экзоцисты или поверхности эндоцисты установить не удается.

Темный тегумент отличается повышенной плотностью цитоплазмы, большим количеством свободных рибосом при слабом развитии гранулярной эндоплазматической сети, немногими митохондриями с плотным матриксом, наличием кристаллоидных включений. Этот тегумент не отличается от описанного в фолликулах церкомера зрелых моноцерков (Краснощеков, 1978). Светлый тегумент демонстрирует признаки повышенной функциональной активности. Цитоплазма поверхностного синцития и цитонов разреженная, включает значительное число длинных канальцев гранулярной эндоплазматической сети; митохондрии более обильные и крупные, со светлым матриксом; комплекс Гольджи хорошо выражен. Микроворсинки в этих участках тегумента дистрофически изменены: матрикс разрежен, частью вакуолизирован, внутренняя структура нарушена, диаметр по длине микроворсинок не равномерный, апикальные отделы везикулярно трансформированы.

На 3—4 сутки после трансплантации скопления клеток на поверхности экзоцисты увеличиваются в размерах, но не образуют сплошной капсулы. Отложения пигмента в местах клеточной реакции не отмечаются. Личинки прозрачные, сколекс подвижен, движения цисты не выявляются. Оболочка экзоцисты на одном из полюсов прилежит к гликокаликсу эндоцисты (рис. 2, 2), на противоположном отделена от последней обширной полостью, заполненной детритом; в нем имеются фрагменты микроворсинок, группы дегенерирующих митохондрий, остатки ядер с глыбками конденсированного хроматина, менее измененные ядра с прилежащей цитоплазмой, лишенной наружной цитоплазматической мембраны (рис. 2, 3).

Скопления клеток хозяина в одних случаях сходны с наблюдающимися на предыдущей стадии, в других — имеют характер локальной инкапсуляции: в их средних отделах преобладают уплощенные фибробластоподобные клетки с плотными контактами между ними. Отмечается проникновение цитоплазматических отростков клеток хозяина в оболочку экзоцисты с фрагментацией и фагоцитозом образующих ее волокон. Отдельные клетки обнаруживаются в толще оболочки экзоцисты. Как и на предыдущей стадии, встречаются одиночные гемоциты, распластанные на оболочке экзоцисты или же связанные с ней цитоплазматическими отростками. Цитоплазматическая мембрана последней в зоне контакта обычно утолщена, повышенной плотности. Наряду с этим обширные участки оболочки экзоцисты свободны от клеток хозяина.

Оболочка экзоцисты на большем протяжении сохраняет свою структуру, но в зоне скопления клеток хозяина она местами истончена, а в отдельных участках полностью отсутствует; границу между продуктами распадающихся гемоцитов и содержимым экзоцисты установить не удается. В других участках гемоциты непосредственно контактируют с содержимым экзоцисты (рис. 2, 4).

Строение сколекса, шейки и стенки цисты личинок, трансплантированных на стадии позднего сколексогенеза не отличается от свойственного этому виду при развитии в специфическом хозяине. Полость экзоцисты отсутствует, и ее оболочка непосредственно прилежит к гликокаликсу эндоцисты; при этом фолликулы или продукты их распада между ними не выявляются.

ОБСУЖДЕНИЕ

При рассмотрении результатов эксперимента представляют интерес два момента: взаимодействие церкомера с дефинитивными отделами личинок и его изменения при пересадке личинок гаммарусам. Попадание фолликулов церкомера в полость цистицеркоидов явилось следствием тонических сокращений стенки цисты с частичным раскрытием выходной щели, вызванных, по-видимому, микробным поражением личинки. Это случайное стечение обстоятельств

создало уникальную возможность проследить реакции лярвального и дефинитивного тегумента при их непосредственном контакте.

До инвагинации вся поверхность личинки покрыта первичным лярвальным тегументом. Дифференцировка тегумента сколекса и шейки происходит в процессе инвагинации личинки, исключая его соприкосновение с лярвальными модификациями тегумента. Как ясно из приведенных данных, после дифференцировки тегумент сколекса и шейки отвечает на контакт с тегументом церкомера повышенной секреторной активностью. Особенностью этой реакции является образование множественных выпячиваний тегумента с формированием при соприкосновении с фолликулами церкомера структур, сходных с плотными контактами. Со стороны тегумента церкомера наблюдается дезинтеграция микроворсинчатого покрова, нарушение целостности цитоплазматической мембраны с последующим лизисом фолликул. Каких-либо признаков активизации лярвального тегумента, как это происходит при его взаимодействии с тканями хозяина, не выявлено. В целом в зоне контактов дефинитивного и лярвального тегументов создается ситуация, в которой фолликулы церкомера реагируют как ткань хозяина: разрушаются, не оказывая какого-либо влияния на тегумент сколекса и шейки. Описанные изменения имеют локальный характер, ограничиваясь участками соприкосновения фолликул церкомера с дефинитивным тегументом. Это позволяет говорить о несовместимости дефинитивных и лярвальных форм тегумента личинок цестод, основой которой является не только морфологическая, но и биохимическая перестройка покровных тканей в онтогенезе (Lumsden, 1975).

Несовместимость тегумента церкомера и дефинитивных отделов свидетельствует о его глубокой преадаптивной перестройке в процессе дифференцировки. Она, по-видимому, является одним из факторов, ведущих к развитию в эволюции цестод феномена погружения сколекса и шейки в тело личинки. При этом в результате изоляции сколекса возникают условия для прогрессивного развития хвостового придатка как защитного органа личинок циклофиллидей.

Наиболее выраженная реакция моноцерков на трансплантацию гаммарусам наблюдается со стороны фолликулов церкомера, хотя они и не соприкасаются со средой хозяина (обмен между ней и личинками продуктами метаболизма опосредуется бесклеточной оболочкой экзоцисты). Реакция фолликул церкомера на трансплантацию хорошо выражена через 1.5 сут после операции в виде повышения функциональной активности тегумента, хотя в этот срок в процесс вовлечена не вся масса церкомера. На 3—4-е сутки происходит полный распад фолликулов церкомера. Причина его неясна, но деструкция церкомера не связана с непосредственным воздействием на них клеток хозяина. Хотя в этот срок в местах клеточных скоплений выявляется локальное разрушение оболочки экзоцисты и частичный фагоцитоз гемоцитами ее содержимого, проникновения гемоцитов в полость экзоцисты, как и нарушения ее целостности, не происходит из-за явления местной инкапсуляции в области дефектов оболочки. Одной из причин деструкции церкомера может быть нарушение репаративных процессов в результате гиперфункции его тегумента. Нельзя исключить также нарушение обменных процессов в ткани церкомера в результате изменения свойств наружной оболочки при переживании личинок во внутренней среде чуждого данному виду промежуточного хозяина. Трансплантация личинок на стадии позднего сколексогенеза не нарушала их развития, но оказывала абортивный эффект на формирование церкомера. Это подтверждает достаточно избирательное действие трансплантации на церкомер моноцерков.

Оболочка экзоцисты и продукты секреции церкомера не предотвращают полностью адгезию и лизис клеток хозяина на поверхности личинки. Но наличие последних не влечет за собой инкапсуляции личинок, что свидетельствует об активном воздействии личинок на процесс капсулообразования. Усиление клеточной реакции на поверхности экзоцисты на более поздних сроках наблю-

дения совпадает с редукцией фолликулов церкомера. Можно полагать, что протекторные функции экзоцисты на этом исчерпаны и в дальнейшем ее «защитное» значение определяется сроками резорбции некротических масс.

Таким образом, экзоциста моноцерков обладает определенными защитными свойствами по отношению к клеточной реакции хозяина, реализующимися фолликулами церкомера. Увеличение количества последних после инвагинации сколекса и шейки следует расценивать как компенсаторную реакцию на уменьшение площади лярвального тегумента в результате его дифференцировки в области цисты и дефинитивных отделов личинки в специализированные формы. Однако нет оснований считать, что появление в эволюции личинок бесклеточной оболочки экзоцисты способствует сохранению у моноцерков церкомера при пересадке их неспецифическому хозяину (Краснощеков, 1987). Вероятно, оболочка экзоцисты предназначена в основном для защиты личинок на ранних стадиях постэмбрионального развития, когда происходит дифференцировка лярвального тегумента и клеточная реакция на инвазию наиболее выражена (Richards, Arme, 1985).

Л и т е р а т у р а

- Краснощеков Г. П. Ультраструктура церкомера цистицеркоидов *T. megaloccephala* // Паразитология. 1978. Т. 12, вып. 2. С. 108—115.
- Krasnoschekov G. Evolutional factors of Cyclophyllid's metacestodes // 4-я Национ. конф. по паразитологии. Варна, 1983. С. 8—10.
- Краснощеков Г. П. Функциональное значение церкомера гименолепидат — 5-я Национ. конф. по паразитологии. Варна, 1987. С. 23.
- Краснощеков Г. П., Никишин В. П., Плужников Л. Т. Ультраструктура стенки цисты личинок цестод типа моноцерк // Паразитология. 1983. Т. 17, вып. 5. С. 391—394.
- Краснощеков Г. П., Томиловская Н. С. Морфология и развитие цистицеркоидов *Paricterotaenia porosa* (Cestoda, Dilepididae) // Паразитология. 1978. Т. 12, вып. 2. С. 108—115.
- Engelkirk P., Jeffrey W. *Taenia taeniaeformis* (Cestoda) in the rat: Ultrastructure of the host-parasite interface on days 1 to 7 postinfection // J. parasitol. 1982. Vol. 68, N 4. P. 620—633.
- Lumsden R. D. Surface ultrastructure and cytochemistry of parasitic helminths // Exp. parasitol. 1975. Vol. 37, N 2. P. 267—339.
- Richards K. S., Arme C. Phagocytosis of microvilli of the metacestode of *Hymenolepis diminuta* by *Tenebrio molitor* haemocytes // Parasitology. 1985. Vol. 90, N 2. P. 365—374.

Институт биологических проблем
Севера, АН СССР, г. Магадан

Поступила 17.10.1987

CHANGES OF THE CERCOMERE OF MONOCERCI IN THE CAVITY OF CYSTICERCOID AND HAEMOCOEL OF NONSPECIFIC HOST

G. P. Krasnoschekov, L. T. Pluzhnikov, N. S. Tomilovskaya

SUMMARY

In order to elucidate the functional role of cercomere in larvae of the monocercus type their transplantation from the specific host *Chironomus obtusidens* to *Gammarus lacustris* was conducted. At early stages after the transplantation proceeds an increase in the functional activity of the tegument of follicles of the cercomere followed by their complete destruction in 3 or 4 days. On the surface of the exocyst membrane an adhesion of the host's haemocytes occurs, which becomes more distinct in 3—4 days when the process acquires a character of local encapsulation. Within the same period, in the places of haemocytes aggregation, a local resorption of the exocyst external membrane takes place. Later intensification of the host response to transplant is associated with the destruction of follicles of the cercomere.

In one case the occurrence of follicles of the cercomere in the cavity of cysticercoide was observed that is caused by the microbe affection of the latter. In the zone of contact of the tegument of scolex and neck with follicles of the cercomere an increased secretion (the microapocrine type) of the tegument, disturbance of the microvillous tegument of the cercomere's follicles and their destruction are observed. Incompatibility of the tegument of definitive departments and cercomere, which arises during differentiation of larvae, is supposed to affect the formation of scolex invagination in the evolution of larvae of Hymenolepidats.

Вклейка к ст. Г. П. Краснощекова и др.

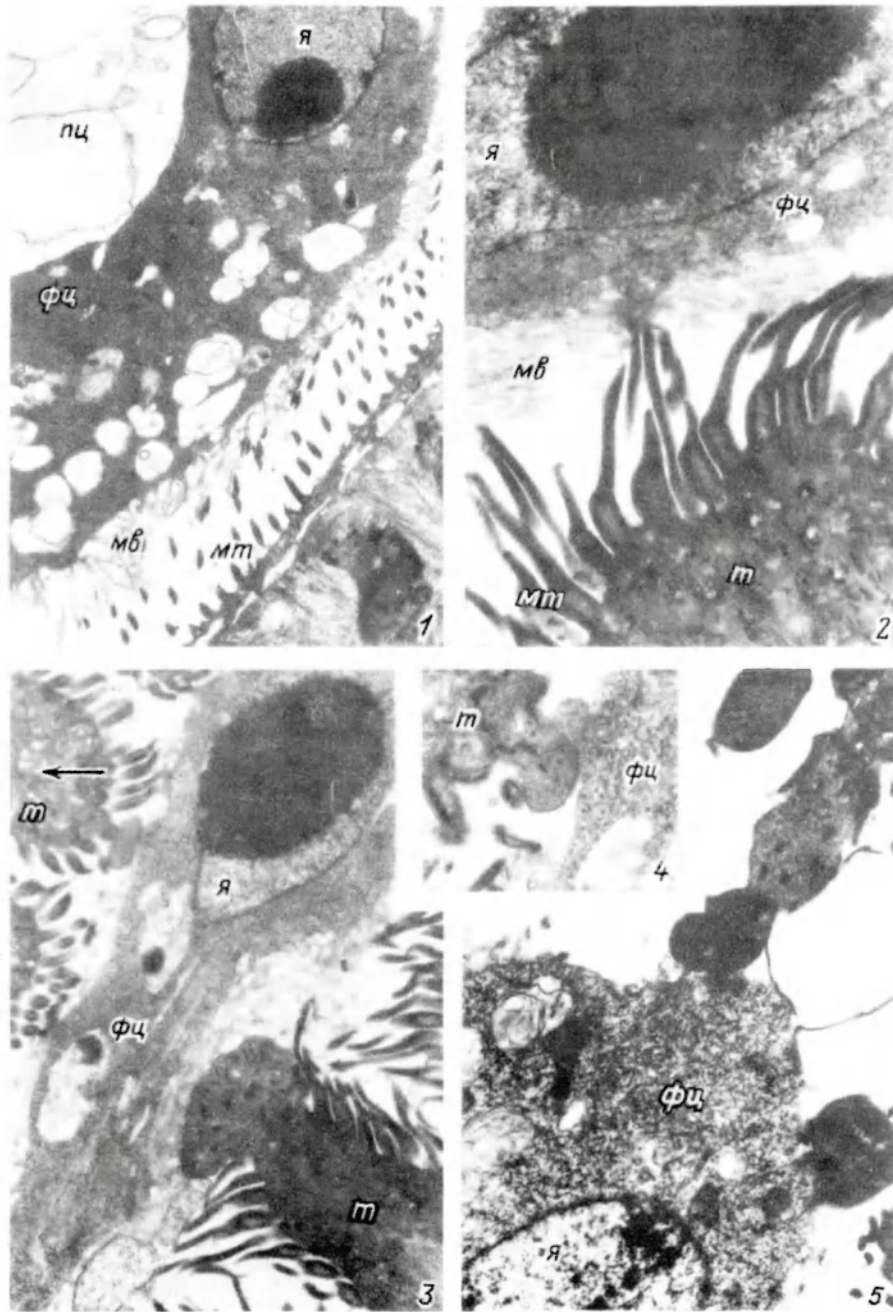


Рис. 1. Взаимодействие тегумента дефинитивных отделов с фолликулами церкомера.

1 — фрагмент фолликула в области присоски; многочисленные полости в тегументе, содержащие мембранные профили (ув. 16 000); 2 — зона контакта микротрихий с разрушенным микроворсинчатым покровом фолликула церкомера (ув. 22 000); 3 — складки и бульбовидные выпячивания тегумента в зоне контакта с дегенерирующим фолликулом церкомера; повышенное содержание светлых овоидных телец в тегументе (стрелка) (ув. 15 000); 4 — зона контакта фолликула церкомера с выпячиванием тегумента (ув. 18 000); 5 — многочисленные выпячивания тегумента в полости цистицеркоида; фрагмент разрушающегося фолликула церкомера, лишенный цитоплазматической мембраны (ув. 15 000). МВ — микроворсинки; МТ — микротрихии; ПЦ — полость цистицеркоида; Т — тегумент сколекса и шейки; ФЦ — фолликулы церкомера; Я — ядро.

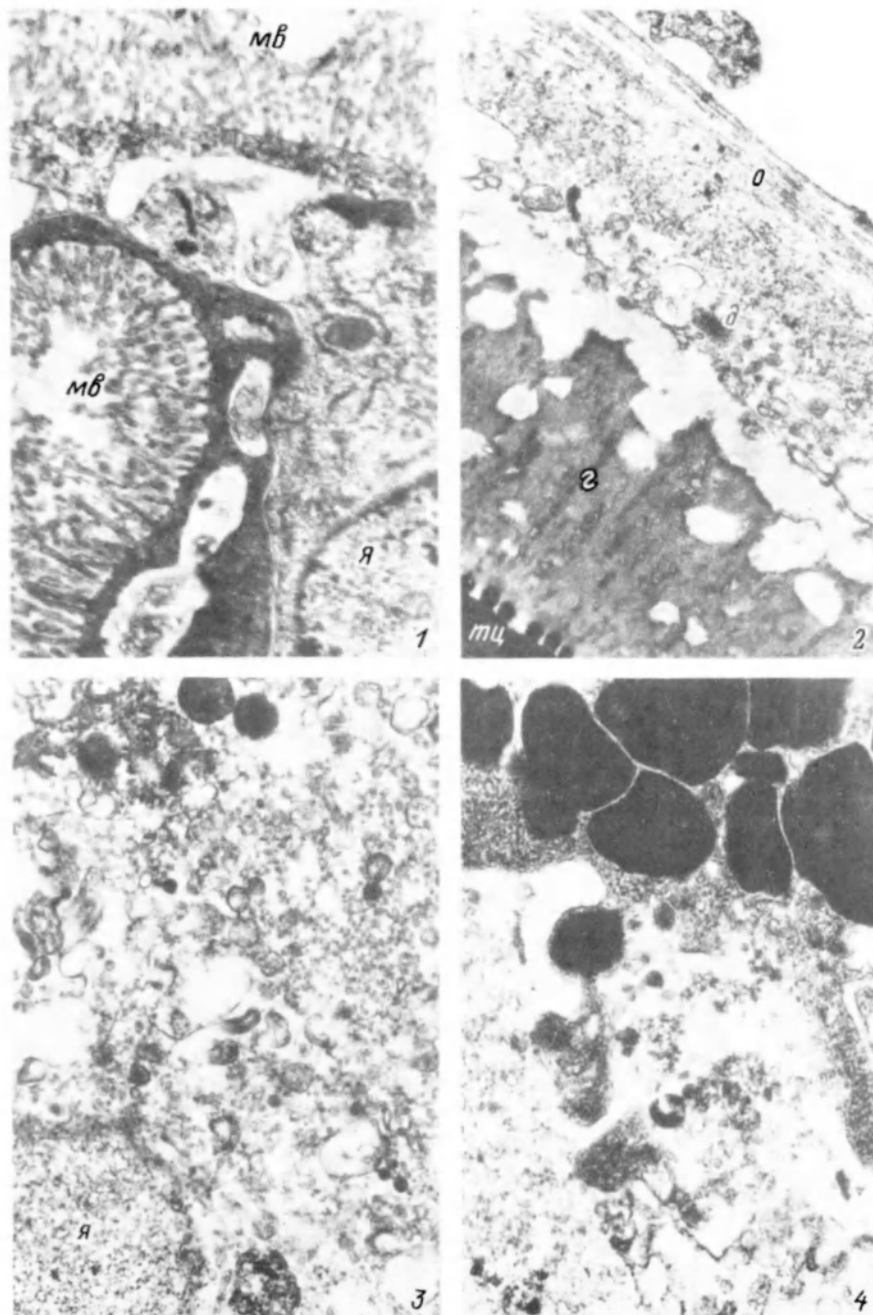


Рис. 2. Реакция церкомера моноцерков на трансплантацию.

1 — темные и светлые разновидности тегумента церкомера в составе филликул (ув. 18 000); 2 — сохранение типичной структуры оболочки экзоцисты; клеточный детрит между ней и цистой (ув. 15 000); 3 — клеточный детрит в полости экзоцисты (ув. 15 000); 4 — проникновение гранулоцита через разрушенную оболочку экзоцисты; содержимое экзоцисты между псевдоподиями гемоцита (ув. 22 000). Г — гликокаликс; Д — клеточный детрит; О — оболочка экзоцисты; ТЦ — тегумент цисты.
Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.