

УДК 576.895.121.5 : 576.31

© 1994

**УЛЬТРАСТРУКТУРА ПАРЕНХИМЫ
И ЭКСТРАКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА
PASSERILEPIS CRENATA (CESTODA: CYCLOPHYLLIDEA)**

Е. Е. Корнакова

Паренхима *Passerilepis crenata* состоит из двух типов клеток. Один из них, названных паренхимными, состоит из ядродержащего отдела и многочисленных крупных или уплощенных отростков, содержащих капли липидов и небольшое количество гликогена. Второй тип представлен мышечными клетками, сходными с описанными у ранее изученных цестод. Возможно, что паренхимные клетки представляют собой второй тип мышечных клеток, для которых их связь с сократительным волокном не была выявлена. Основными различиями в ультраструктуре этих клеток являются разная форма гранулярного эндоплазматического ретикулума, форма гликогена и способность паренхимных клеток образовывать специализированные клеточные контакты с другими типами клеток. Экстраклеточный матрикс развит слабо. В кортикальной паренхиме обнаружены многочисленные полости, имеющие клеточную стенку, не описанные ранее у других исследованных цестод.

Строение паренхимы цестод отличается от паренхимы других плоских паразитических червей. В то время как паренхима моногеней и трематод образована специализированными паренхимными клетками (Threadgold, Gallagher, 1966; Bennet, 1977; Rohde, 1986, и др.), паренхима цестод представлена мышечными клетками (Bonsdorff e. a., 1971; Lumsden, Hildreth, 1983; Conn, Rocco, 1989), исключая тетратиридий *Mesocestoides corti* (Hess, 1980) и, возможно, область шейки *Hymenolepis nana* (Henderson, 1982). Среди исследованных к настоящему времени цестод различия в структуре паренхимы касаются главным образом формы отростков миоцитонов, количества гликогена и липидов, соотношения между экстраклеточным матриксом и клеточным компонентом паренхимы и степенью развития фибрилл матрикса по отношению к нефибриллярному компоненту экстраклеточного матрикса (ground substance). К настоящему времени строение паренхимы цестод исследовано на электронно-микроскопическом уровне среди представителей отрядов Proteocephalidea, Pseudophyllidea, Трупанорхупча и Cyclophyllidea. Среди последних цестоды птиц остаются неисследованными. Эта обширная группа циклофиллидных цестод может оказаться важной для понимания вариабельности структуры паренхимы цестод.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экземпляры *Passerilepis crenata* (Goeze, 1782) были получены из кишечника скворца *Sturnus vulgaris* и черного дрозда *Turdus merula*. Черви были отмыты в растворе Рингера для беспозвоночных при 38°. Стробилы были поперечно разрезаны на фрагменты, содержащие 4—6 члеников. Для электронной микроскопии фрагменты были зафиксированы в 5 %-м глютаральдегиде на какодилатном буфере (рН 7.2) при 4° в течение 5—7 ч,

отмыты в том же буфере и постфиксированы в 1 %-м растворе четырехокси осмия в течение 2 ч при комнатной температуре. После дегидратации в спиртах возрастающей концентрации фрагменты были залиты в аралдит. Ультратонкие срезы были приготовлены на ультратоме LKB-Y. Для получения лучшего контраста срезы контрастировались в уранилацетате при 60° 3 ч и в свежеприготовленном цитрате свинца 1 ч. При такой методике окрашивания в некоторых липидных каплях появились темноокрашенные пятна. Наблюдения велись на электронном микроскопе JEM 1200 CX при 100 KV. Для светоптической микроскопии черви были зафиксированы в фиксаторах Буэна и Ценкера. Срезы толщиной 5 мкм были окрашены азокармином по Гейденгайну. Фотографии светоптических срезов были сделаны на микроскопе JENAVAL.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследовано строение паренхимы маточных и зрелых члеников. Кортикальная и медуллярная паренхима разделена слоем продольных мышечных волокон. Кортикальная область содержит цитоны тегумента, миоцитоны и особые клетки, которые названы нами паренхимными. В медуллярной области лежат миоцитоны, паренхимные клетки, компоненты экскреторной системы, нервные элементы и органы половой системы, претерпевающие в зрелых члениках дегенерацию. Несмотря на завершение в этих члениках процессов дифференцировки органов, были обнаружены также и немногочисленные клетки, явно сходные по морфологии с необластическими. Паренхимные клетки чрезвычайно разнообразны по форме. Как правило, от ядродержащей области отходят тонкие или довольно широкие отростки или крупные резервуароподобные выросты (рис. 1, 1, 2; см. вкл.). Объем таких цитоплазматических резервуаров может быть весьма значительным. Ядра содержат гранулярный или диспергированный хроматин, часто конденсированный под ядерной мембраной. Перинуклеарная цитоплазма электронноплотная, в ней многочисленны свободные рибосомы. Плотность цитоплазмы в отростках непостоянна. Некоторые отростки содержат электронно-прозрачную цитоплазму с митохондриями и липидными каплями. Такие электронно-прозрачные участки могут чередоваться с зонами цитоплазмы, структурно сходной с перинуклеарной. Крупные цитоплазматические резервуары содержат гранулярный цитоплазматический матрикс с многочисленными свободными рибосомами с включениями электронно-светлых участков. Характерной чертой цитоплазматических резервуаров является накопление в них необычайно крупных и многочисленных липидных капель. Липиды присутствуют также и в более мелких выростах паренхимных клеток, но там они не столь крупны и многочисленны. Нечасто, однако регулярно, мы находили в зрелых члениках ядра, окруженные цитоплазмой, структурно сходной с цитоплазмой резервуароподобных выростов (рис. 2, 6; см. вкл.). Эти ядра не имеют отличий от ядер в обычных паренхимных клетках. Липидные капли могут лежать в непосредственной близости от таких ядер. Как в перинуклеарной цитоплазме, так и в выростах паренхимных клеток многочисленны митохондрии с плотным матриксом и немногочисленными кристами. Типичный аппарат Гольджи не был обнаружен. Возможно, таковым являются скопления одетых мембранами пузырьков в перинуклеарной цитоплазме (рис. 1, 3). Гранулярный эндоплазматический ретикулум представлен единичными или группами параллельных цистерн, а также мелкими расширенными цистернами. Последние содержат гранулярный или фибриллярный материал. Гладкий эндоплазматический ретикулум имеет форму немногочисленных параллельных цистерн (рис. 2, 1).

Компоненты эндомембранной системы наблюдались как в перинуклеарной цитоплазме, так и в отростках. Гликоген в паренхимных клетках *P. crenata* представлен α -формой. Его количество невелико, он сконцентрирован главным образом в крупных отростках, содержащих также и липиды. Отростки паренхимных клеток образуют клеточные контакты типа gap junction с прилежащими отростками, а также с необластами, секреторными клетками и стенками экскреторных сосудов (рис. 2, 2—5). Мышечные клетки состоят из сократимой части, содержащей миофибриллы, ядерной области (миоцитона) и многочисленных мелких и крупных саркоплазматических отростков (рис. 3, 1; см. вкл.). Митохондрии многочисленны во всех областях мышечных клеток. Ядра мышечных клеток вытянутые или многолопастные. Большинство органелл находится в перинуклеарной цитоплазме. Многочисленны свободные рибосомы, гранулярный экдоплазматический ретикулум присутствует в основном в форме крупных расширенных цистерн, содержащих тонкогранулярный или фибриллярный материал. Аппарат Гольджи в мышечных клетках обнаружен не был. Саркоплазматические выросты отходят как от перинуклеарной части мышечных клеток, так и от сократимых отростков. Эти выросты никогда не бывают столь крупными, как цитоплазматические резервуары паренхимных клеток. Электронно-светлая цитоплазма отростков мышечных клеток содержит, помимо митохондрий, липидные капли и небольшое количество гликогена преимущественно в β -форме. α -гликоген в мышечных клетках *P. crenata* не обнаружен. В отличие от отростков паренхимных клеток, в саркоплазматических отростках отсутствуют компоненты эндомембранной системы. В сократимых клетках плотные тельца и плотные полоски, обнаруженные у *Dendrocoelum lacteum* (Czubaј, Males, 1988), и разветвленные плотные связки, описанные у *Phyllobothrium* (Lumsden, 1965), нами не наблюдались. В крупных продольных мышечных волокнах к сарколемме прилегают небольшие цистерны гладкой эндоплазматической сети (рис. 3, 2), сходные с описанными у *D. lacteum*. В поперечных и кольцевых мышечных волокнах такие цистерны обнаружены не были. Специализированные клеточные контакты между саркоплазматическими отростками и другими клеточными элементами не наблюдались.

Экстраклеточный матрикс состоит из электронно-прозрачного вещества (ground substance) и лежащих в нем внеклеточных фибрилл. Фибриллы длиннее и более многочисленны в базальной пластинке тегумента, экскреторных каналов и органов половой системы, особенно матки. Вокруг мышечных волокон фибриллярный компонент экстраклеточного матрикса также развит довольно сильно. Межклеточные пространства в кортикальной и медуллярной паренхиме *P. crenata* развиты слабо. Фибриллы экстраклеточного матрикса в этих узких пространствах немногочисленны, и часто они заполнены только ground substance.

Отличительной особенностью паренхимы *P. crenata* является присутствие в кортикальной паренхиме особых полостей. Такие полости не описаны у других цестод, исследованных к настоящему времени. Размер полостей варьирует от 2—3 до нескольких десятков микрон. Они легко различимы также и на светооптических срезах (рис. 3, 3). Стенки таких полостей состоят из тонких отростков паренхимных клеток (рис. 3, 4). Эти отростки лишены каких-либо органоидов и образуют корзиноподобное сплетение вокруг полости. В нескольких случаях стенки полости были образованы довольно толстыми отростками, содержащими свободные рибосомы и немногочисленные митохондрии. Внутренний слой стенки полости образован тонким плотным слоем экстраклеточных филаментов. Иногда кнутри от него лежит дополнительный более рыхлый слой фибрилл. Внутри полости также содержатся немногочисленные свободные фибриллы.

ОБСУЖДЕНИЕ

В большинстве работ, посвященных строению паренхимы цестод, в качестве последней описываются мышечные клетки и экстраклеточный матрикс. У *P. crenata* мы обнаружили два типа клеток. Один из них представлен типичными мышечными клетками, тогда как другой, названный нами паренхимными, имеет ряд отличий от мышечных клеток. К настоящему времени паренхимные клетки описаны у тетратеридия *Mesocestoides corti* (Hess, 1980) и в шейке *Hymenolepis nana* (Henderson, 1982), однако эти данные нуждаются в уточнении. Клетки, названные нами паренхимными у *P. crenata*, имеют черты, сближающие их с мышечными: они также образуют цитоплазматические отростки, содержащие гликоген и липиды. Не исключена возможность того, что паренхимные клетки представляют собой второй тип мышечных клеток, для которых их связь с сократимыми волокнами не была установлена. Морфологические различия между двумя типами клеток довольно значительны. Так, изменение плотности цитоплазмы не наблюдалось в саркоплазматических отростках. Гранулярный эндоплазматический ретикулум паренхимных клеток не образует крупных расширенных цистерн, характерных для миоцитов. Считается, что расширенные цистерны гранулярной эндоплазматической сети являются характерной чертой миоцитов цестод, изученных к настоящему времени (Lumsden, 1965; Caley, 1974; Conn, Rocco, 1989). В паренхимных клетках *P. crenata* обнаружены только мелкие немногочисленные расширенные цистерны гранулярной эндоплазматической сети. α -гликоген содержится в основном в паренхимных отростках, тогда как в саркоплазматических отростках накапливается гликоген в β -форме. Специализированные контакты типа gap junction образуют только отростки паренхимных клеток. Однако, эти отличия не означают, что паренхимные клетки не могут быть вторым типом мышечных. Так, обилие и размеры расширенных цистерн гранулярной эндоплазматической сети варьирует в мышечных клетках цестод, а также в процессе гистогенеза мышечной ткани (Conn, Rocco, 1989). Гликоген в α -форме — обычная черта отростков миоцитов (Lumsden, 1965; Lumsden, Hildreth, 1983; Conn, Rocco, 1989), так же как и гликоген в β -форме (Lumsden, 1965; Hess, 1980). Образование специализированных клеточных контактов (типа gap и tight) отмечено для мышечных клеток *Mesocestoides corti* (Hess, 1980) и *Hymenolepis diminuta* (Lumsden, Specian, 1980). Поэтому проблема присутствия у цестод истинных паренхимных клеток к настоящему времени остается открытой и требует дальнейшего изучения. Наиболее странной чертой паренхимных клеток *P. crenata* является обнаружение ядер внутри крупных цитоплазматических образований, сходных с крупными резервуароподобными выростами. Возможно, что накопление липидов в этих клетках происходит столь интенсивно, что они заполняют не только отростки, но и перинуклеарную цитоплазму, приводя к увеличению объема этой части клетки. Экстраклеточный матрикс у *P. crenata* развит слабо. Отношение объема матрикса к клеточному компоненту в паренхиме цестод может сильно варьировать. Очень небольшое количество матрикса было обнаружено в зрелых члениках *Oochoristica anolis* (Conn, Etges, 1984), тогда как у *Ophiotaenia loennbergii* (Conn, Rocco, 1989) он развит очень значительно. Обнаруженные у *P. crenata* полости не имеют аналогов у других исследованных цестод. Поскольку строение паренхимы цестод детально исследовано на небольшом количестве представителей разных групп, решить, является ли эта структура исключительной особенностью *P. crenata*, пока не представляется возможным.

Список литературы

- Bennet C. E. *Fasciola hepatica*: development of excretory and parenchymal systems during migration in the mouse. // *Exp. Parasitol.* 1977. Vol. 41. P. 43—53.
- Caley J. The functional significance of scolex retraction and subsequent cyst formation in the cysticercoid larva of *Hymanolepis microstoma*. // *Parasitology.* 1974. Vol. 68. P. 207—227.
- Conn D. B., Etges F. J. Fine structure and histochemistry of the parenchyma and uterine egg capsules of *Oochoristica anolis* (Cestoda: Linstowiidae). // *Zeitschrift fur Parasitenkunde.* 1984. Vol. 70. P. 769—779.
- Conn D. B., Rocco L. J. Fine structure of the cellular parenchyma and extracellular matrix of *Ophiotanea loennbergii* (Cestoda: Proteocephalidea). // *Acta Zoologica* (Stockholm). 1989. Vol. 70. P. 105—110.
- Czubaj A., Malec I. Ultrastructure of muscle cells in *Dendrocoelum lacteum* (O. F. Muller). // *Fortschritte der Zoologie.* 1988. Vol. 36. P. 441—446.
- Henderson D. J. The morphology of the neck region of *Hymenolepis nana* (Cestoda: Cyclophyllidea). // *Parasitology.* 1982. Vol. 84: proceedings: xlii.
- Hess E. Ultrastructural study of the tetrathyridium of *Mesocestoides corti* Hoespli, 1925: tegument and parenchyma. // *Zeitschrift fur Parasitenkunde.* 1980. Vol. 61. P. 135—159.
- Lumsden R. D. Macromolecular structure of glycogen in some cyclophyllidean and trypanorhynch cestodes. // *J. Parasitol.* 1965. Vol. 51. P. 501—515.
- Lumsden R. D., Hildreth M. B. The fine structure of adult tapeworms. // *Biology of the Eucestoda.* London. Academic Press. 1983. P. 177—233.
- Lumsden R. D., Specian R. The morphology, histology and fine structure of the adult stage of the cyclophyllidean tapeworm *Hymenolepis diminuta*. // *Biology of the tapeworm Hymenolepis diminuta.* New York. Academic Press. 1980. P. 157—280.
- Rohde K. Ultrastructure of the pharynx and some parenchymal cells of *Zeuxapta seriolae* and *Paramicrocotyloides reticularis* (Monogenea: Polyopisthocotylea: Microcotylidae). // *Australian Journal of Zoology.* 1986. Vol. 34. P. 473—485.
- Threadgold L. T., Gallagher S. S. E. Electron microscope studies of *Fasciola hepatica*. 1. The ultrastructure and interrelationship of the parenchymal cells. // *Parasitology.* 1966. Vol. 56. P. 299—304.
- von Bonsdorff C.-H., Forssten T., Gustafsson M. K. S., Wikgren B.-J. Cellular composition of plerocercoids of *Diphylobothrium dendriticum* (Cestoda). // *Acta zoologica fennica.* 1971. Vol. 132. P. 1—25.

ЗИН РАН, Санкт-Петербург, 199034

Поступила 23.09.1993

FINE STRUCTURE OF THE CELLULAR PARENCHYMA AND EXTRACELLULAR MATRIX OF *PASSERILEPIS CRENATA* (CESTODA: CYCLOPHYLLIDEA)

E. E. Kornakova

Key words: Cyclophyllidea, *Passerilepis crenata*, ultrastructure, parenchyma, muscle cell, cavities.

SUMMARY

The cellular parenchyma and extracellular matrix of *Passerilepis crenata* were studied by means of light and transmission electron microscopy. The parenchyma consists of two types of cells. One of them, named parenchymal cells, has nucleated compartment and numerous large and flattened extensions containing lipid droplets and small amount of glycogen. Second type is muscle cells similar to those described for other cestodes studied. It is possible that parenchymal cells represent another type of muscle cells for which relations with myofibriles were not ascertained. The main differences between these cell types are the structure of granular endoplasmic reticulum, form of glycogen and ability of parenchymal cells to form cell junctions. Extracellular matrix is not abundant. Numerous cavities not found in cestode species studied thus far were observed in cortical parenchyma of *P. crenata*.

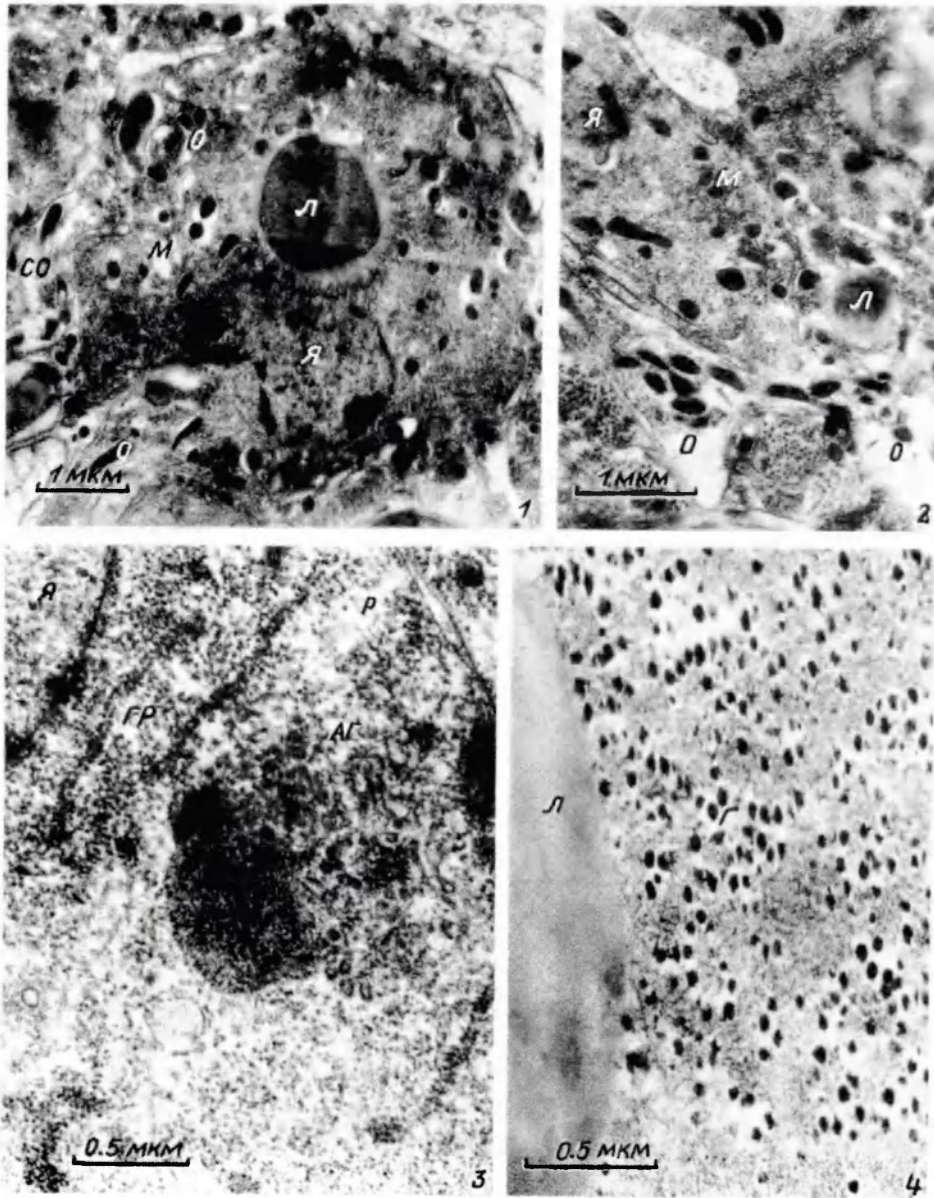


Рис. 1. Ультраструктура паренхимы *P. crenata*.

1, 2 — паренхимные клетки; 3 — перинуклеарная область паренхимной клетки; 4 — паренхимный отросток; АГ — аппарат Гольджи; Г — гликоген; ГР — гранулярный эндоплазматический ретикулум; Л — липиды; М — митохондрии; О — паренхимный отросток; Р — рибосомы; СО — саркоплазматический отросток; Я — ядро.

Fig. 1. Parenchymal ultrastructure of *P. crenata*.

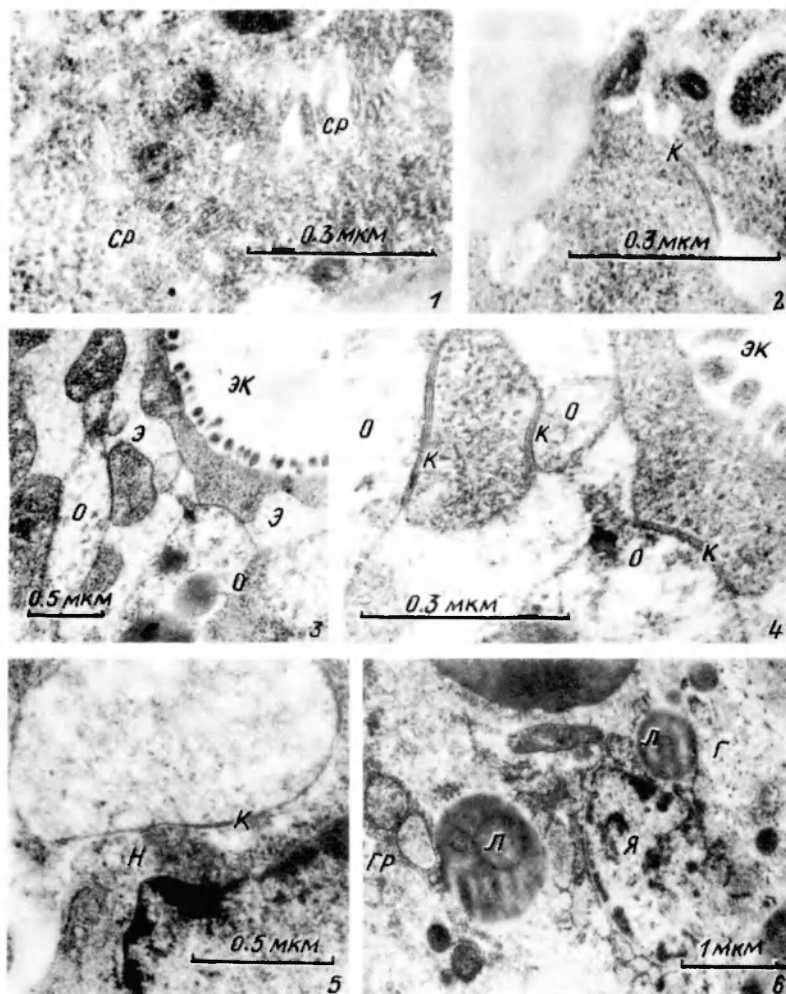


Рис. 2. Ультраструктура паренхимы *P. crenata*.

1 — цистерны гладкого эндоплазматического ретикулума в паренхимном отростке; 2 — gap junction между прилежащими паренхимными отростками; 3 — медуллярная область с экскреторными каналами и паренхимными отростками; 4 — gap junction между паренхимными отростками и стенками экскреторных каналов; 5 — то же, между паренхимным отростком и неопластом; 6 — ядерная область паренхимной клетки, сходная с резервуароподобным отростком; К — gap junction; Н — неопласт; СР — гладкий эндоплазматический ретикулум; Э — экстраклеточный матрикс; ЭК — экскреторный канал.

Остальные обозначения такие же, как на рис. 1.

Fig. 2. Parenchymal ultrastructure of *P. crenata*.

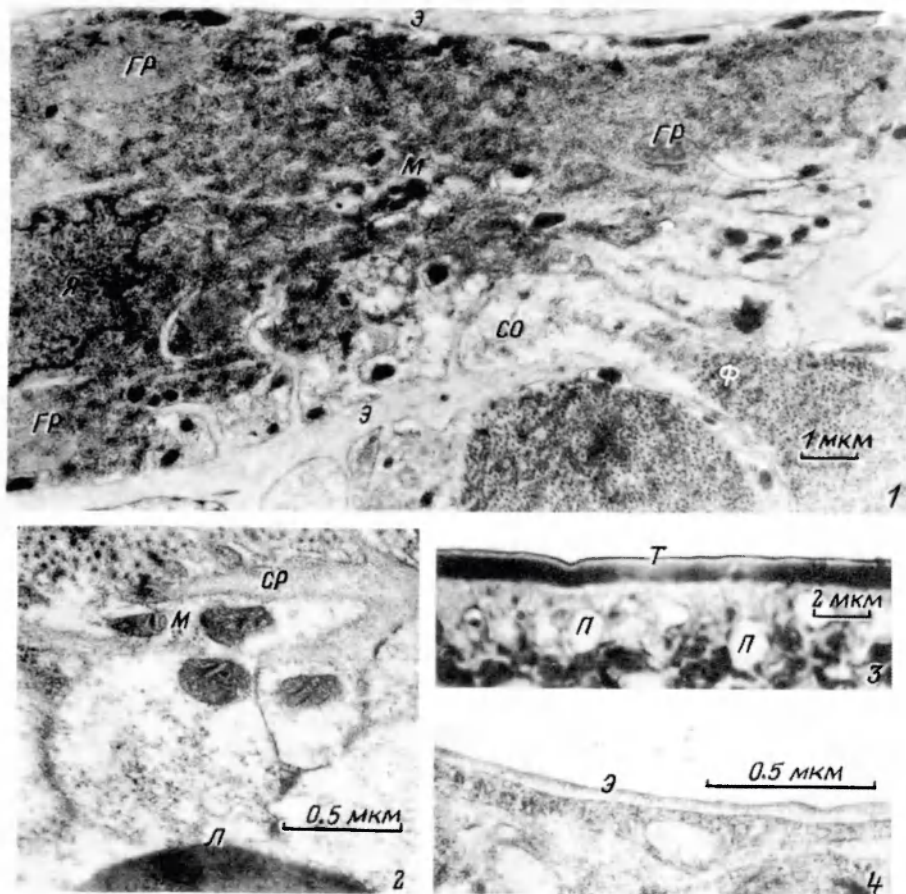


Рис. 3. Ультраструктура паренхимы *P. crenata*.
 1 — миоцитон; 2 — саркоплазматический отросток; 3 — полости в кортикальной паренхиме (светооптическая микрофотография); 4 — стенка полости; П — полость; Т — тегумент; Ф — миофибриллы.
 Остальные обозначения такие же, как на рис. 1 и 2.

Fig. 3. Parenchymal ultrastructure of *P. crenata*.