УДК 576. 893. 195

О ПАРАЗИТОФОРНОЙ ВАКУОЛИ МИКРОСПОРИДИЙ

© И. В. Исси, Ю. Я. Соколова, В. Н. Воронин

Проведен сравнительный анализ собственных и литературных данных по тонкой морфологии паразитофорной вакуоли (ПВ), индуцируемой инвазией микроспоридий, и по ее распространению у животных разных уровней организации. Рассмотрены особенности ответных (а) клеток разных тканей специфичного хозяина на инвазию своего паразита и (б) клеток одной ткани на заражение «своими» и «чужими» паразитами. Показано, что образование вакуоли обусловлено не только ответной реакцией хозяина на заражение определенным видом паразита, но и принадлежностью инвазированных клеток к определенной ткани. При микроскоридиозах выявлено большее, чем при других протозоонозах, разнообразие ультратонкой организации ПВ, предположительно связанное с широким распространением микроспоридий у животных всех систематических групп. Выделены 3 основных типа вакуолей, свойственных теплокровным позвоночным, рыбам, беспозвоночным и одноклеточным животным. Высказано предположение, что образование ПВ характерно для становления паразито-хозяинных отношений микроспоридий с животными-хозяевами. По мнению авторов, наличие ПВ — свидетельство более примитивного характера взаимоотношений, чем развитие паразитов в прямом контакте с цитоплазмой клетки хозяина.

Микроспоридии — тип облигатных паразитических протистов, развивающихся внутриклеточно в животных всех уровней организации. Большинство физиологических отправлений микроспоридий, характеризующих паразито-хозяинные отношения с зараженным ими животным, обусловлено процессами, протекающими на границе взаимодействия клеток паразита и хозяина. В зависимости от видовой принадлежности микроспоридии развиваются либо в непосредственном контакте с цитоплазмой клетки хозяина, либо будучи изолированными от нее оболочками разнообразного строения и разного происхождения: сформированными либо клеткой паразита («спорофорные пузырьки»), либо преимущественно клеткой хозяина («паразитофорные вакуоли»). Оба типа структур обычно ограничены мембранами, крайне редко — аморфным секреторным материалом.

Общепринято (Cali, Takvorian, 1999) отнесение микроспоридий к одному из 4 типов, различающихся по характеру их взаимоотношений с клеткой хозяина. 1. Формы, развивающиеся в прямом контакте с цитоплазмой клетки хозяина: плазмалемма паразита — единственная оболочка, разделяющая клетки двух организмов (*Nosema, Perezia, Unikaryon* и многие другие роды). 2. Формы, клетка которых при развитии продуцирует дополнительные оболочки (спорофорный пузырек), при этом большинство видов паразитов в начале развития находится в прямом контакте с клеткой хозяина и лишь при переходе к спорогонии окружается оболочкой — производной материнского спорогонального плазмодия (*Thelohania, Vairimorha, Octosporea* и многие другие роды); в редких случаях оболочка образуется на самых ранних этапах жизненного цикла, превращаясь в спорофорный пузырек при переходе паразитов к спорогонии (*Pleistophora, Vavraia*). 3. Формы, развивающиеся внутри дополнительной оболочки, ограничивающей участок цитоплазмы с клетками парази-

тов и образованной клеткой хозяина (т. е. в паразитофорной вакуоли), клетки хозяина при этом не гипертрофируются или гипертрофированы слабо (*Tetramicra*). 4. Формы, изолированные от цитоплазмы клетки хозяина мембранами и спорофорного пузырька, и паразитофорной вакуоли (*Striatospora*).

В данной работе внимание акцентировано на такой ответной реакции клетки хозяина, как возникновение в ней паразитофорной вакуоли (ПВ) (типы 3 и 4), наличие которой у микроспоридий в современной систематике признается важным таксономическим признаком родового уровня (Sprague e. a., 1992). На основании обзора литературных данных и результатов собственных экспериментов (интересы авторов направлены на взаимоотношения микроспоридий с беспозвоночными и рыбами) рассмотрены: морфология паразитофорных вакуолей и наличие такой ответной реакции у животных разных уровней организации, в клетках разных тканей, у специфичных и неспецифичных хозяев, показан формальный подход к оценке данного явления.

НАЛИЧИЕ И СТРОЕНИЕ ПАРАЗИТОФОРНОЙ ВАКУОЛИ МИКРОСПОРИДИЙ У РАЗНЫХ ЖИВОТНЫХ

Впервые термин «паразитофорная вакуоль» предложен для вакуоли, в которой проходит развитие эимероидных кокцидий, затем использован при описании содержащих паразитов внутриклеточных компартментов, характерных и для других простейших. При этом и авторы, предложившие термин, и их последователи подразумевали, что «классическая» ПВ представляет собой аналог фагоцитарной вакуоли, видоизмененной паразитами для своих нужд: ПВ образуется в результате рецепторопосредованного (обычного или индуцированного паразитом) фагоцитоза, ее мембраны являются производными плазмалеммы. В процессе развития паразита под влиянием его секреции аффинные к лизосомам мембраны ПВ модифицируются, что предотвращает их слияние с этими органеллами (Бейер, 1989). Современные исследования показали, что у разных внутриклеточных паразитов механизмы индуцирования ПВ существенно различаются, однако у микроспоридий эти механизмы еще не изучены.

«Классическую» ПВ, согласно анализу современных публикаций, характеризуют два основных момента: 1) в ее формировании участвует плазматическая мембрана клетки хозяина как в качестве источника мембран ПВ, так и в качестве зоны первичного взаимодействия и/или специализированного сайта передачи сигнала; 2) паразит использует, модифицирует или активирует функциональные предсуществующие возможности клетки хозяина.

Позднее был описан еще один тип вакуолей, названных вторичными, в образовании которых основное участие принимает эндоплазматическая сеть (ЭР) клетки хозяина (Enzeroth e. a., 1986).

Основной причиной нашего интереса к такой достаточно редкой ответной реакции клеток животного-хозяина на микроспоридиоз, как возникновение ПВ (абсолютное большинство видов микроспоридий развивается в прямом контакте с цитоплазмой клетки хозяина), является уникальный для паразитических внутриклеточных эукариот способ проникновения паразитов в клетку хозяина. Молекулярные основы этого процесса не изучены, однако суть его состоит в перфорации полярной трубкой плазмалеммы клетки хозяина и введении по ее каналу спороплазмы (зародыша) внутрь клетки. При этом контакт паразита с плазмалеммой клетки хозяина сведен к минимуму в пространственном и временном выражении; возможно, что этот контакт регулируется процессами, принципиально отличными от известных. Во всяком случае, у многих видов микроспоридий, образующих ПВ, спороплазма в первые минуты внутриклеточного существования окружена двумя мембранами, представляющими дериваты мембраны полярной трубки: внутренней и ее корой. Наружная вскоре исчезает. Изоляция клетки паразита от цитоплазмы клетки хозяина формируется

Таблица 1

Микроспоридии, индуцирующие типичную паразитофорную вакуоль

Table 1. Microsporidians inducing typical parasitophorous vacuoles

Вид микроспоридий (автор описания вакуоли)	Вид животного-хозяина (тип, класс, отряд)	Инвазируемая ткань	Особенность формирования вакуоли
Metchnikovella spionis	*Polyrhabdina brasili* (Apicomplexa, Gregarinida)	Эндоплазма	Стенка ПВ образована двумя мембранами, на внешней рибосомы
M. wohlfarthi (Hildebrand, 1974)		»	Та же
Pseudopleistophora szollosi (Sprague, 1977)	*Armandia brevis* (Polychaeta, Diplopoda)	Яйца	» »
Chytridioides schizophylli (Sprague e. a., 1992)	*Schizophyllum mediterraneum* (Polychaeta, Diplopoda)	Эпителий кишечника	» »
Glugoides intestinalis (Larsson e. a., 1996)	*Daphnia pulex* (Arthropoda, Crustacea, Cladocera)	Та же	Стенка ПВ образована одной мембраной с рибосомами
Baculea daphniae (Loubes, Akbarieh, 1977)	*Daphnia pulex* (Arthropoda, Crustacea, Cladocera)	» »	Оболочка вакуоли однослойная, без рибосом
Buxtehudea scaniae (Larsson, 1980)	*Petrobius brevistylis* (Arthropoda, Insecta, Thysanura)	» »	
Chytridiopsis socius (Manier, Ormieres, 1968)	*Blaps mortisaga* (Arthropoda, Insecta, Coleoptera)	» »	
Ch. typographi (Purrini, Weiser, 1985)	*Ips typographus* (Arthropoda, Insecta, Coleoptera)	» »	ПВ образуется только в бокаловидных клетках вокруг толстостенных спор, мембрана ПВ снаружи несет пузырьки ГЭР
Endoreticulatus fidelis	*Leptinotarsa unedecimlineata* (Arthropoda, Insecta, Coleoptera)	» »	Две мембраны, на внешней рибосомы, полость вакуоли образуется при спорогонии
Microsporidium itiiti (Malone, 1987)	*Listronotus bonariensis* (Arthropoda, Insecta, Coleoptera)	Кишечник, затем другие органы	Та же
Nolleria pulicis (Beard e. a., 1990)	*Ctenocephalides felis* (Arthropoda, Insecta, Siphonaptera)	Та же	» »
Nosema wistmansi (Canning e. a., 1983)	*Operophtera brumata* (Arthropoda, Insecta, Lepidoptera)	Эпителий кишечника	» »
Striatospora chironomi	*Chironomus plumosus* (Arthropoda, Insecta, Diptera)	Жировое тело	Группа спорофорных вакуолей окружена одной мембраной ПВ с рибосомами
Cylindrospora chironomi	*Chironomus plumosus* (Arthropoda, Insecta, Diptera)	» »	Та же
Tetramicra brevifilum (Matthews, Matthews, 1980)	*Scophthalmus maximus* (Vertebrate, Osteichthyes)	Соединительная ткань	Оболочка вакуоли образована одной мембраной без рибосом

Таблица 1 (*продолжение*)

Вид микроспоридий (автор описания вакуоли)	Вид животного-хозяина (тип, класс, отряд)	Инвазируемая ткань	Особенность формирования вакуоли
Encephalitozoon cuniculi (Nelson, 1962)	(Vertebrata, Mammalia, многие отряды)	Мозг, почки, эндотелий	Оболочка вакуоли однослойная, полость заполнена разными стадиями
E. hellem	*Homo sapiens*		Та же
Vittaforma cornea	» »	Роговица глаз, эпителий мочеполовых путей	Оболочка ПВ из двух мембран, прилегающих к каждой стадии

через 2—3 ч, у разных видов микроспоридий она выражена в разной степени и достигается разными способами. Формы и особенности этой изоляции, а также ультратонкая организация ПВ у животных-хозяев разного уровня организации рассмотрены нами ниже, а также представлены в табл. 1, 2.

Паразитофорные вакуоли микроспоридий, паразитирующих у млекопитающих и человека. Первой микроспоридией, у которой подробно описана эта вакуоль, был широко распространенный среди теплокровных позвоночных (птиц, млекопитающих и человека) *Encephalitozoon cuniculi* (Nelson, 1962; Petri, Schiodt, 1966; Akao, 1969; Sprague, Vernick, 1971; Vavra e. a., 1972; Trager, 1974; Barker, 1975; Pakes e. a., 1975; Weidner, 1975). Основные факты, приведенные в этих описаниях, таковы: 1 — плазмалемма споропласмы вскоре после внедрения в клетку окружена одинарной замкнутой мембраной клетки; 2 — по мере размножения паразитов объем вакуоли и площадь мембраны ПВ увеличиваются за счет поступления цитоплазмы клетки хозяина внутрь ПВ путем процесса, сходного с пиноцитозом; 3 —

Таблица 2

Микроспоридии с нетипичными паразитофорными вакуолями

Table 2. Microsporidians with atypical parasitophorous vacuoles

Вид микроспоридии (автор описания вакуоли)	Вид животного-хозяина (тип, класс, отряд)	Инвазируемая ткань	Особенность формирования вакуоли
Ameson michaelis (Weidner, 1970)	*Callinectes sapidus* (Arthropoda, Crustacea, Decapoda)	Мускулатура	Мембранами ШЭР ограничены только меронты
Nosema cuneatum (Streett, Henry, 1987)	*Melanoplus sanquinipes* (Arthropoda, Insecta, Orthoptera)	Все органы	Меронты и ранние споронты ограничены прерывистым слоем с рибосомами
Cystosporogenes operophtera (Canning e. a., 1985)	*Operophtera brumata* (Arthropoda, Insecta, Lepidoptera)	Та же	Две мембраны, но на внешней нет рибосом (?)
Cylindrospora fasciculata (Larsson, 1986)	*Macropelopia* sp. (Arthropoda, Insecta, Diptera)	Жировое тело	Вакуоль только вокруг меронтов
Heterosporis finki (Schubert, 1969)	*Pterophyllum scalare* (Vertebrata, Osteichthyes)	Соединительная ткань, мышцы	Вакуоль ограничена толстой, плотной оболочкой
Loma fontinalis (Morrison, Sprague, 1983)	*Salvelinus fontinalis* (Vertebrata)	Жабры	Вакуоль образуется при делении споробластов, заполнена трубчатыми структурами
L. acerinae (Lom, Pekkarinen, 1999)	*Gymnocaphalus cernuus*	»	Та же
Enterocytozoon bieneusi (Desportes e. a., 1985)	*Homo sapiens* (Vertebrata, Mammalia, Primat)	Эпителий кишечника	Споры окружены слоем везикул ЭР

ПВ содержит разные стадии развития паразита, меронты сохраняют связь с мембраной ПВ, стадии спорогонии и споры эту связь теряют и скапливаются в центре ПВ; 4 — ПВ окружена цистернами ЭР и митохондриями клетки хозяина подобно паразитам, лежащим в прямом контакте с цитоплазмой; 5 — в фагоцитах, имеющих хорошо развитую лизосомную систему, слияния ее элементов с ПВ не происходит. Данных о связи ПВ с каналами ШЭР нет ни в одном описании. Наибольшего размера вакуоли достигают в макрофагах мышей и в клетках хороидного сплетения крыс (Nelson, 1962; Vavra e. a., 1972) (рис. 1, *а*).

Механизмы специфического воздействия микроспоридий на мембрану клетки теплокровного животного-хозяина, индуцирующие ее преобразование в оболочку ПВ, неизвестны. Микроспоридии беспозвоночных, имеющие длинные полярные трубки, заражают клетку путем механического прокола ее оболочки. *Encephalitozoon cuniculi* имеет короткую по сравнению с другими видами микроспоридий полярную трубку. Поэтому предполагалось, что такая полярная трубка не способна проколоть плазмалемму клетки хозяина: паразит попадает в нее при фагоцитировании полярных трубок и спороплазм аналогично кокцидиям (Pakes e. a., 1975; Weidner, 1975). Позднее попадание микроспоридий в клетку способом, родственным индуцированному фагоцитозу, подверглось сомнению, во-первых, потому что было зафиксировано заражение почечного эпителия путем прокола плазмалеммы клеток полярными трубками (Hamilton, Cox, 1981), а во-вторых, потому что он не характерен для всех других видов микроспоридий. Заслуживают внимания факты, говорящие о возможности «комбинированного» пути проникновения микроспоридий в клетку. Так, еще Вайднер (Weidner, 1972) отметил, что заражение различных клеток микроспоридиями *Ameson michaelis* проходит успешно, если после прокола плазмалемма натекает на полярную трубку. Через 20 лет (Canning e. a., 1992) при изучении микроспоридии *Encephalitozoon* sp. получены картины «вдавливания» участка плазмалеммы внутрь клетки хозяина вершиной полярной трубки. Оба факта показывают, что в ответ на Х-факторы выброшенной из споры полярной трубки поверхность цитоплазматической мембраны клетки хозяина изменяет свойства, становясь чрезвычайно лабильной. Возможно, что развитие выстреливаемой из споры спороплазмы начинается именно в углублении плазмалеммы, возникшем под воздействием факторов полярной трубки.

У другого представителя этого рода — *E.* (*Septata*) *intestinalis*, паразитирующего в клетках кишечника больных СПИДом, меронты заключены в тесно прилегающую к их плазмалемме мембрану ПВ. В конце спорогонии отдельные вакуоли сливаются в общую ПВ, имеющую вид морулы, так как каждая спора в ней окружена септой из гранулярного материала, отстоящего от ее поверхности на всем протяжении на равном расстоянии. Сперва этот экстрацеллюлярный материал откладывается на плазмалемме споронтов, поэтому предполагается его паразитарное происхождение.

В такую же вакуоль, как у *E. cuniculi*, заключен *E. hellem*, паразитирующий в эпителиальных клетках человека. При изучении свойств мембраны ПВ, содержащей этого паразита, Лейтч и др. (Leitch e. a., 1995) показали, что она проницаема для ионов Ca^{++}, водорода и крупных анионов типа кальцеина (концентрации этих анионов и катионов, измеренные по обе стороны оболочки ПВ, быстро выравниваются), что говорит о возможности свободного проникновения через нее крупных молекул питательных веществ. То обстоятельство, что в клетках млекопитающих мембрана ПВ микроспоридий рода *Encephalitozoon* способна формировать пиноцитозные вакуоли, говорит о возможности участия в ее образовании плазмалеммы клетки хозяина, особенно в тех случаях, когда паразит проходит развитие в защитных клетках крови (макрофаги). Значительно труднее объяснить такое же строение вакуоли в клетках, которым не свойственны ни фагоцитоз, ни пиноцитоз.

Косвенным свидетельством в пользу возможности «фагоцитарного пути» внедрения микроспоридий рода *Encephalitozoon* в клетку, имеющего результатом образования ПВ в классическом понимании термина, может послужить следующее соображение. Этот род по сути единственный, чье становление в качестве паразитов связано с теплокровными животными — птицами и млекопитающими. Природная очаговость

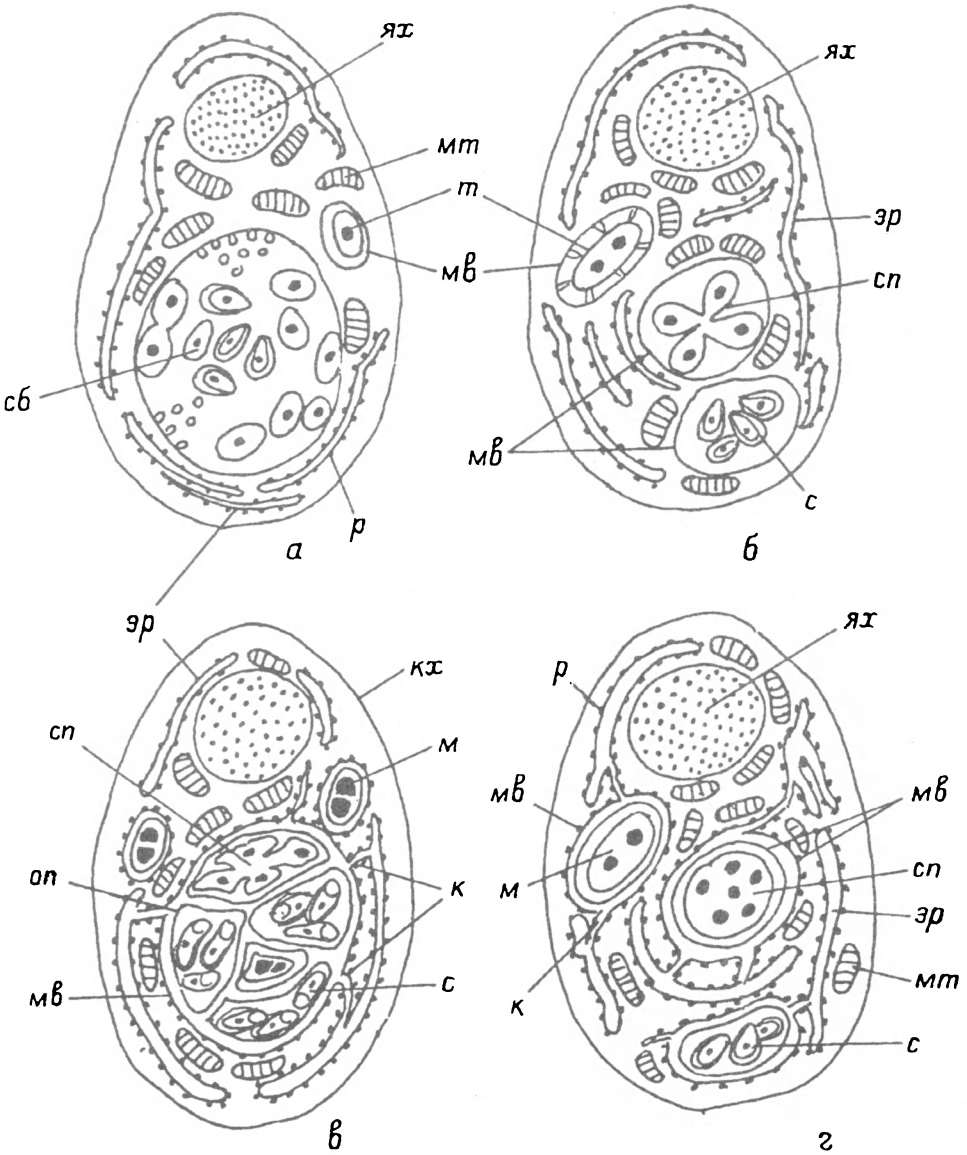

Рис. 1. Типы паразитофорных вакуолей (ПВ) микроспоридий (схема).

а — ПВ у теплокровных животных; *б* — ПВ у рыб; *в* — ПВ у членистоногих; *г* — ПВ у простейших и других хозяев; *к* — канал ШЭР, соединяющий вакуоль с ЭР клетки хозяина; *кх* — клетка хозяина; *м* — меронт; *мв* — мембрана вакуоли; *мт* — митохондрии клетки хозяина; *оп* — оболочка спорофорного пузырька; *р* — рибосомы; *с* — спора; *сб* — споробласт; *сп* — споронт; *эр* — эндоплазматическая сеть; *ях* — ядро клетки хозяина.

Fig. 1. The types of the microsporidian parasitophorous vacuoles (scheme).

видов этого рода также связана исключительно с этими животными в отличие от всех других видов микроспоридий, известных из млекопитающих, включая человека. Возможно, переход к паразитизму с холоднокровных животных (с менее развитой иммунной системой) на теплокровных произошел вследствие отбора форм микроспоридий, способных предотвращать эндоцитоз при захвате макрофагами или другими

гими фагоцитирующими клетками; на более поздних этапах эволюции паразито-хозяинной системы микроспоридии рода *Encephalitozoon* выработали механизмы индукции фагоцитоза (или сходного с ним процесса), что помогло им освоить нишу менее агрессивных в иммунологическом аспекте эпителиальных клеток. Возможно, что наличие ПВ отражает недавнее, с позиций эволюции, становление данной паразито-хозяинной системы.

Совершенно иная оболочка ограничивает ПВ микроспоридий *Vittaforma* (=*Nosema*) *cornea*, заражающих роговицу глаз и эпителий мочеполовых путей человека (Silveira, Canning, 1995). Начиная с ранней мерогонии, все стадии паразитов окружены тремя параллельными тесно расположенными мембранами: внутренней — самого паразита, средней и внешней — ЭР хозяина, внешняя мембрана орнаментирована рибосомами. Обе мембраны ПВ тесно прилегают к клеткам микроспоридий и «делятся» вместе с ними, что свидетельствует об их трансформации паразитом в отличие от мембран у беспозвоночных хозяев.

Таким образом, основной материал по ПВ у теплокровных позвоночных животных и человека получен в отношении одного вида — *E. cuniculi*. Остальные микроспоридии, индуцирующие образование ПВ, выявлены у человека при иммунодефиците.

Другие известные у человека микроспоридии — паразиты мышц *Trachipleistophora hominis, T. anthropophthera* и *Brachiola vesicularum*, а также паразит эпителиев *Enterocytozoon bieneusi* — развиваются в прямом контакте с цитоплазмой клетки хозяина. Характерный для многих видов микроспоридий млекопитающих, не образующих ПВ (Didier, Bessinger, 1999), уход от иммунной атаки организма путем изменения тканевой избирательности и перехода к паразитированию в нефагоцитирующих клетках делает невозможным презентацию паразитарных антигенов (функция макрофагов) для последующей активизации специфического иммунитета.

Паразитофорные вакуоли микроспоридий, паразитирующих у рыб, в большинстве случаев ограничены одной мембраной, не орнаментированной рибосомами, в чем они похожи на вакуоль *E. cuniculi* (рис. 1, *б*). Однако, по мнению большинства авторов, оболочка этих ПВ образована мембранами эндоплазматического ретикулума (ЭР), которые окружают паразитов либо на протяжении всего жизненного цикла, причем стадии мерогонии сохраняют связь с мембраной ПВ, либо только на определенном его отрезке. Так, у микроспоридии *Tetramicra brevifilum*, развивающейся в соединительной ткани мышц, все стадии развития заключены в ПВ, ограниченную мембраной (Matthews, Matthews, 1980), а вокруг стадий другого вида *Heterosporis finki* в той же ткани формируется толстая плотная оболочка ПВ (Schubert, 1969). Последняя имеет сходство с уплотненными оболочками спорофорных пузырьков микроспоридий из мышц беспозвоночных. Вероятно, эти оболочки играют одинаковую роль, защищая паразитов от механического воздействия сокращающейся ткани.

У микроспоридий *Loma branchialis* (= *L. morhua*) из лососевых (Morrison, Sprague, 1981), у *L. fontinalis* из американской палии *Salvelinus fontinalis* (Morrison, Sprague, 1983) и у *L. acerinae* из ерша *Gymnocephalus* (= *Acerina*) *cernuus* (Lom, Pekkarinen, 1999) меронты и ранние споронты развиваются в прямом контакте с цитоплазмой клетки хозяина. У *L. acerinae* они окружены плоскими цистернами ЭР. ПВ образуется вокруг спорогонального плазмодия паразита необычным для этой структуры образом: из цитоплазмы клетки хозяина к клетке паразита движутся мелкие пузырьки с электронно-плотным материалом, из мембран формируется оболочка ПВ, а материал изливается в полость вакуоли. Он частично превращается в трубчатую сеть и разделяет собой споробласты и споры так, что для одной-двух спор создается отдельный компартмент. Транспорт материала через мембрану ПВ позволяет предположить его активную метаболическую роль. Наличие трубчатых структур неизвестно для ПВ других, кроме рыб, животных и придает этим ПВ сходство со спорофорными пузырьками.

Из-за образования некоторых ПВ у рыб в период спорогонии паразитов их трудно отличать от спорофорных пузырьков. Так, например, авторы, описавшие новый род

Loma, позднее сочли, что приняли за ПВ спорофорный пузырек (Morrison, Marryatt, 1986), и лишь работа Лома и Пеккаринен подтвердила правильность их первоописания.

Анализ современных данных показывает, что образование ПВ у рыб — достаточно редкое явление, известное для нескольких родов микроспоридий. Более широко у них распространена такая ответная реакция, как возникновение ксеном. В этом случае микроспоридии индуцируют превращение зараженной клетки в сильно гипертрофированную клетку с тысячами ядер, заключенную в коллагеновую капсулу и несколько слоев фибробластов (*Loma*, развивающаяся в ПВ, и *Glugea* в спорофорных пузырьках); в формировании капсулы участвуют зараженная и незараженные клетки хозяина. Этот тип взаимоотношений относится уже к надклеточному (тканевому или организменному) уровню и поэтому нами не рассматривается.

Паразитофорная вакуоль микроспоридий, паразитирующих у членистоногих и других беспозвоночных, имеет иное, чем у позвоночных, строение (рис. 1, *в*). В большинстве случаев несомненно ее происхождение от ШЭР клетки хозяина. Об этом говорят следующие признаки. 1. Наличие либо одной мембраны, густо усыпанной рибосомами, либо двух мембран, из которых лишь внешняя несет их в большом количестве, напоминая этим мембрану ядра. 2. Мембранный континуум внешней мембраны с ШЭР клетки хозяина. 3. Моментальное разрушение мембраны вакуоли при гибели клетки в отличие от мембраны спорофорного пузырька, часто длительно сохраняющейся вокруг спор при попадании во внешнюю среду.

Такой тип ПВ описан у *Endoreticulatus fidelis* из жука *Leptinotarsa undecimlineata* (Brooks e. a., 1988), *Nosema wistmanis* — из чешуекрылого *Operophtera brumata* (Canning e. a., 1983), *Microsporidium itiiti* — из жука *Listronotus bonariensis* (Malone, 1987), а также у *Pseudopleistophora szollosi* — из яиц многощетинкового червя *Armandia brevis* (Szollosi, 1971; Sprague, 1977).

Нами изучено строение ПВ у насекомых сем. Chironomidae, зараженных микроспоридиями отряда Cylindrosporida. Использованы стандартные методики электронной микроскопии (Воронин, 1999). При заражении жирового тела личинок *Chironomus plumosus* такими микроспоридиями, как *Cylindrospora chironomi* и *Striatospora chironomi*, в одной клетке обычно образуется несколько ПВ. Каждая вакуоль ограничена одной мембраной, густо орнаментированной рибосомами, и содержит множество спорофорных пузырьков паразита (рис. 2, *а*; см. вкл.). В каждом спорофорном пузырьке заключены микроспоридии, находящиеся на одной стадии развития. Полость ПВ сохраняет связь с цистернами ШЭР клеток хозяина (рис. 2, *б, в*). Сеть трубчатых структур (tubular network), окружающая микроспоридий, непосредственно контактирующих с цитоплазмой клетки хозяина или заключенных в спорофорном пузырьке, в ПВ насекомых отсутствует. В отличие от вакуоли *E. cuniculi* оболочка ПВ микроспоридий в клетках беспозвоночных прилегает к плазмалемме клеток паразита обычно на протяжении всего развития паразитов (рис. 2, *а, б*). Сходное строение имеет ПВ и у ракообразных — рачков рода *Daphnia*, зараженных *Glugoides intestinalis* (Larsson e. a., 1996). В последнем случае интересно то, что на некоторых срезах вакуоль ограничена двумя мембранами, но рибосомы расположены на внутренней, а не на внешней мембране (рис. 2, *г*). При завершении микроспоридиями спорогонии ПВ часто окружается многими мембранами ШЭР (Brooks e. a., 1988). Таким образом, строение ПВ микроспоридий у членистоногих сходно со строением вторичной ПВ кокцидий у позвоночных в том, что ее оболочка образована мембранами ШЭР и не теряет связь с эндоплазматической сетью клетки хозяина.

Необходимо отметить, что имеющиеся факты говорят о значительном разнообразии в строении и времени образования ПВ, заключающих микроспоридий у разных членистоногих. Так, например, у *Baculea daphniae* из рачков (Loubes, Akbarieh, 1977) оболочка вакуоли однослойная, не орнаментированная рибосомами, а у *Cystosporogenes operophterae* из чешуекрылых насекомых — двуслойная, но также не несущая

на наружной мембране рибосомы (Canning e. a., 1985). По нашим наблюдениям, по мере развития микроспоридий и заполнения паразитами значительного объема клетки хозяина рибосомы на мембранах, окружающих паразитов, постепенно исчезают, что, возможно, и объясняет их отсутствие в этих случаях.

Необычна ответная реакция клеток кишечника жука-типографа *Ips typographus* на инвазию микроспоридии *Chytridiopsis typographi*. Эта микроспоридия образует 2 типа спор, при этом тонкостенные развиваются в спорофорном пузырьке, псевдоцисте, а толстостенные — в ПВ, которая формируется только в бокаловидных клетках кишечника хозяина. Авторы (Purrini, Weiser, 1985) пишут, что ПВ образована клеткой хозяина, не упоминая, какие органеллы участвуют в ее формировании. На фотографиях видна одна мембрана с тесно прилегающими к ней с наружной стороны (в отличие от вакуоли *E. cuniculi*) многочисленными мелкими пузырьками гладкого ЭР. Этот случай интересен тем, что образование ПВ наблюдается только в одном типе клеток хозяина, к тому же в ответ на развитие стадий и спор паразита тоже одного типа.

У микроспоридии *Cylindrospora fasciculata* в жировом теле личинок хирономуса *Macropelopia* sp. (Larsson, 1986) и у *Ameson michaelis* в мускулатуре высших ракообразных (Weidner, 1970) мембраны ШЭР окружают только меронты, вокруг стадий спорогонии они отсутствуют.

Эти данные говорят о том, что самая многочисленная группа микроспоридий, эволюционировавшая параллельно с разными группами беспозвоночных хозяев, вызывала у них различные ответные реакции, что нашло выражение в образовании разнообразных по морфологии ПВ.

ПВ микроспоридий, паразитирующих у других протистов, образуется подобно ПВ многих членистоногих. Так, у развивающейся в грегаринах микроспоридии *Metchnikovella wohlfarthi* ПВ ограничена двумя мембранами, причем наружная мембрана с рибосомами образует единое целое с ШЭР клетки хозяина (Hildebrand, 1974). То же установлено и для другого вида — *M. spionis*. Микроспоридия *Amphiamblys laubieri* в грегарине окружается рядами плоских цистерн ШЭР, не смыкающихся друг с другом (Desportes, Theodorides, 1979).

Наличие ПВ при микроспоридиозе у разных животных представлено в табл. 1 и 2. Развитие в ПВ установлено для 20 (монотипичных или с немногими видами) родов микроспоридий из 157 известных паразитов животных разных уровней организации. ПВ «классического» типа, вероятно, свойственны только роду *Encephalitozoon*, вакуоли, образованные ЭР клетки хозяина (вторичные вакуоли), зарегистрированы у животных всех уровней организации: от простейших до млекопитающих.

Первое, что бросается в глаза при анализе таблиц, это особенности локализации микроспоридий, вызывающих в клетках хозяина разного систематического положения образование ПВ. Так, мы видим, что у большинства членистоногих эта ответная реакция характерна для клеток эпителия пищеварительного тракта или, как у ракообразных, панкреаса — производного того же эпителия. Именно эта особенность была отмечена Ворониным (1999) при анализе ответных реакций разных животных на заражение микроспоридиями. В тех же случаях, когда паразиты развиваются в других тканях, ПВ имеет либо нетипичное строение (например, в мышцах), либо ограничивает только определенные стадии развития паразита (например, в жабрах).

У рыб последний вариант встречается редко, возможно, вследствие локализации микроспоридий обычно в мышечной и соединительной тканях. В этом отношении интересен род *Loma*, у которого в ПВ заключены только стадии спорогонии. При наличии ПВ и последующем образовании ксеномы сильной гипертрофии пораженной клетки не происходит.

Теплокровным (птицам, млекопитающим) свойственны виды рода *Encephalitozoon* — единственные представители микроспоридий, которые развиваются в типичной ПВ в тканях кишечника, а также в почках, сердце, мозге, куда они переносятся током крови. В ПВ, аналогичной вторичной вакуоли кокцидий, развивается *Vittaforma*.

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ПАРАЗИТОФОРНЫХ ВАКУОЛЕЙ В КЛЕТКАХ РАЗНЫХ ТКАНЕЙ НАСЕКОМЫХ

При сравнительном анализе ответных реакций клеток разных тканей насекомого-хозяина на заражение микроспоридиями были использованы электронно-микроскопические данные по прямокрылым — двупятнистому сверчку *Gryllus bimaculatus*, зараженному *Nosema grylli*, азиатской саранче *Locusta migratoria*, зараженной *N. locustae*, и чешуекрылым — озимой *Agrothis segetum* и капустной *Mamestra brassicae* совкам, зараженным *Vairimorpha antheraeae*, и капустной белянке *Pieris brassicae*, зараженной *V. mesnili* (Sokolova e. a., 1996).

Изучение тонких патологических изменений показало, что клетки разных тканей одного и того же хозяина по-разному реагируют на инвазию паразитами. Так, для *N. locustae* наиболее характерна локализация в клетках жирового тела, где стадии этого вида развиваются в прямом контакте с цитоплазмой клетки хозяина на протяжении всего жизненного цикла. В случаях же выявления микроспоридий в гемоцитах споронты, споробласты и споры окружаются дополнительной мембраной, сходной с мембраной ПВ (рис. 3, *а, б*; см. вкл.). *Vairimorpha antheraeae* развивается в жировом теле и кишечном эпителии совок обычно в прямом контакте с клеткой хозяина, однако в некоторых случаях, чаще в энтероцитах, стадии и споры паразита окружаются уплощенными цистернами ЭР, образующими замкнутые вокруг паразитов пространства (рис. 3, *в, г*). В клетках жирового тела гусениц совки стадии *V. antheraeae* также окружаются несколькими слоями мембран эндоплазматической сети. Такая функциональная ПВ заключает в себе как развивающиеся, так и завершающие развитие стадии паразита.

ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИЙ КЛЕТОК НАСЕКОМОГО-ХОЗЯИНА НА ЗАРАЖЕНИЕ «СВОИМИ» И «ЧУЖИМИ» ПАРАЗИТАМИ

В связи с поиском дополнительных параксенных хозяев, удобных для лабораторного разведения микроспоридий, были проведены эксперименты по заражению насекомых не свойственными им видами микроспоридий. Паразитам предлагали как систематически близкие, так и систематически далекие от естественного хозяина виды насекомых. Заражение считали успешным, если микроспоридия в новом хозяине развивалась до спор, и эти споры были инвазионны. Так как у дополнительных насекомых-хозяев были известны собственные виды микроспоридий, материал при успешном заражении фиксировали для изучения особенностей тонкого строения спор и идентификации вида паразита (Крылова, Исси, 1987; Крылова, Нуржанов, 1989). В качестве побочного эффекта мы получили материалы для сравнения ответных реакций клеток насекомых-хозяев на заражение «своими» и «чужими» паразитами, результаты которого представляют интерес для понимания роли такой ответной реакции клетки хозяина на заражение микроспоридиями, как образование ПВ.

В опытах использованы 3 вида микроспоридий: *Nosema maroccanus*, *Vairimorpha mesnili* и *Anncaliia meligethi* (Nosematidae) и 4 вида насекомых: марокканская саранча *Dociostaurus maroccanus*, итальянский прус *Calliptamus italicus* (Orthoptera), рапсовый цветоед *Meligethes aeneus* (Coleoptera) и капустная белянка *Pieris brassicae* (Lepidoptera). Один из изученных нами видов микроспоридий относится к роду *Nosema*, род *Anncaliia* недавно выделен из рода *Nosema* и близок ему по своей биологии (Исси и др., 1993). Род *Vairimorpha*, как показано последними молекулярно-биологическими исследованиями rRNK, также близок ноземам из чешуекрылых (Weiss, Vossbrink, 1999). Все эти виды относятся к формам, в норме развивающимся в прямом контакте с цитоплазмой клетки хозяина и вызывающим сходные изменения в ультраструктуре инвазированных клеток (Sokolova e. a., 1996).

В серии опытов, проведенных с микроспоридией *N. maroccanus*, сравнивалась ответная реакция клеток специфичного и двух не свойственных паразиту хозяев:

одного — систематически близкого, а другого — систематически далекого «своему» хозяину, см. схему опыта 1.

Паразит *N. maroccanus*

Dociostaurus maroccanus (Orthoptera) специфичный хозяин	*Calliptamus italicus* (Orthoptera) несвойственный хозяин, близкий систематически	*Pieris brassicae* (Lepidoptera) несвойственный хозяин, далекий систематически

В серии опытов с *A. meligethi* для «чужого» хозяина — капустной белянки сравнивалась реакция клеток на своего (*V. mesnili*) и чужого (*A. meligethi*) паразитов. Кроме того, можно было сравнить реакцию на одного и того же паразита как своего хозяина — жука, так и не свойственного далекого систематически хозяина — гусениц чешуекрылого, см схему опыта 2.

Паразит *V. mesnili*	Паразит *A. meligethi*	
Pieris	*brassicae*	*Meligethes aeneus*
специфичный хозяин	несвойственный хозяин	специфичный хозяин

После регистрации успешного заражения по электронограммам анализировали патологические изменения в энтероцитах разных хозяев. Для сравнения ответных реакций на заражение микроспоридиями *Nosema maroccanus* из марокканской саранчи у естественного и систематически близкого ему хозяина изучены особенности патологии клеток у итальянского пруса и марокканской саранчи. Сравнительный анализ электронограмм показал, что патология клеток итальянского пруса была выражена не намного сильнее, чем у марокканской саранчи: зона измененной цитоплазмы вокруг паразитов была несколько шире у несвойственного хозяина.

Различия в реакциях клеток отчетливее проявились при заражении микроспоридиями насекомого, систематически далекого от естественного хозяина. Гусеницы чешуекрылого — капустной белянки были успешно заражены микроспоридиями *A. meligethi* из жуков и *N. maroccanus* из марокканской саранчи. Интересно, что заражение этими «чужими» для чешуекрылых паразитами происходило только на фоне заражения гусениц своей микроспоридией *V. mesnili*. Уже при просмотре полутонких срезов было видно, что одни группы спор и стадий паразитов распределяются диффузно в цитоплазме энтероцитов, в то время как другие группы находятся в четко локализованных просветленных участках цитоплазмы тех же клеток (рис. 4, *а*; см. вкл.). Электронно-микроскопический анализ срезов показал, что прямой контакт с цитоплазмой клетки хозяина сохраняют стадии *V. mesnili* (рис. 4, *б*), в то время как стадии *A. meligethi* и *N. maroccanus* из прямокрылых заключены в вакуоли, ограниченные одной мембраной или многослойными оболочками (рис. 4, *в, г*).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщаемые в этой статье данные по паразитофорным вакуолями (ПВ) у микроспоридий базируются исключительно на морфологическом (свето- и электронно-микроскопическом) анализе литературных источников и результатов собственных исследований, поскольку сравнительных материалов по физиологии и биохимии

паразитарных систем с участием микроспоридий пока нет. Однако проведенный нам анализ позволяет сделать ряд обобщений.

ПВ, образующаяся в качестве ответной реакции клетки на заражение микроспоридиями у животных разных уровней организации, представляет собой скорее исключение, чем правило, так как охватывает в каждой группе паразитов незначительный процент форм.

ПВ микроспоридий (за исключением, возможно, *Encephalitozoon* spp.) не гомологична ПВ других простейших, что может быть следствием их уникального способа проникновения в клетку хозяина. Поэтому любая изоляция этих паразитов мембранами клетки хозяина от остального объема ее цитоплазмы с ядром, которая наблюдается на отдельных этапах или в течение всего жизненного цикла паразита, рассматривается в настоящее время как ПВ.

ПВ микроспоридий, за исключением *Encephalitozoon* spp., у всех остальных видов формируется как дериват ЭР. Формирование такой ответной реакции, наблюдаемой во всех группах хозяев от протистов до приматов, можно объяснить предсуществующим механизмом усиления синтетических процессов в зоне клетки, занятой паразитами, как это происходит в активно синтезирующих клетках.

Выделяются три основных типа ПВ, индуцируемых разными микроспоридиями: а) вакуоль, заключающая все стадии *Encephalitozoon* spp. в клетках млекопитающих с замкнутой мембранной оболочкой, предположительно происходящей от плазмалеммы клетки хозяина; б) вакуоль, образуемая в холоднокровных позвоночных (рыбах) с замкнутой мембранной оболочкой — дериватом ЭР, заключающая паразитов на всем протяжении развития или только во время спорогонии; в) вакуоль, ограниченная двухслойной мембраной, часто орнаментированной рибосомами — дериватом ЭР в клетках протистов, беспозвоночных и млекопитающих (в последнем случае при заражении видами, родственными паразитирующим в беспозвоночных и предположительно от них перешедшими к паразитированию в теплокровных). Кроме этих трех типов описаны ПВ с оболочками совершенно иного строения. Впоследствии, когда будет установлено, какие органеллы участвуют в их образовании, станет ясно, можно ли отнести их к одному из основных типов.

Морфологическое разнообразие ПВ (или их аналогов) у микроспоридий по сравнению с другими внутриклеточными паразитами, возможно, объясняется тем, что эволюция микроспоридий как паразитов протекала одновременно с эволюцией разных систематических групп животных-хозяев как примитивных, так и высокоорганизованных и, следовательно, имеющих самые разнообразные защитные реакции, в то время как другие внутриклеточные паразиты «освоили» хозяев, относящихся к одному или небольшому числу типов животных.

В большинстве случаев ПВ окружает паразитов в течение всего пребывания в клетке. Однако описаны случаи ее образования только в определенный период развития паразитов: либо вокруг меронтов, либо вокруг стадий спорогонии, либо (при сложном цикле развития) вокруг стадий только одного из этапов развития. Последнее создает определенные трудности при идентификации принадлежности оболочек окружающих микроспоридий, так как морфологически оболочки ПВ и спороформных пузырьков трудно различимы, особенно если первые образуются в период спорогонии паразитов и не несут рибосом, а последние формируются уже на стадии меронтов.

Формирование ПВ (как установлено для членистоногих) обусловлено принадлежностью инвазированной клетки к определенному типу ткани: в описанных нами случаях развитие микроспоридий в клетках жирового тела или в мускулатуре насекомых проходит в прямом контакте с цитоплазмой клетки хозяина, а в эпителиальных клетках кишечника или в защитных клетках гемолимфы — в паразитофорной вакуоли. Таким образом, один и тот же вид микроспоридий может развиваться и прямом и опосредованном контакте с цитоплазмой клетки хозяина.

ПВ может возникать как реакция клетки неспецифичного хозяина на внедрение «чужой» микроспоридии. Можно предположить, что это один из защитных механизмов, направленных на ограничение круга хозяев данного паразита. В то же время это

факт можно трактовать в пользу того, что наличие ПВ у микроспоридий может быт свидетельством недавних и менее совершенных взаимоотношений с животным хозяином.

Экспериментальное заражение микроспоридиями неспецифичного хозяина, культуры клеток тканей или органов, не заражаемых ими в естественном хозяине, може давать искаженные представления об особенностях паразито-хозяинных взаимоотно шений естественной системы.

Исследования частично поддержаны грантами РФФИ 97-04-48383 и ФЦП «Интеграция» А0139.

Список литературы

Бейер Т. В. Клеточная биология споровиков, возбудителей протозойных болезней животных и человека. Л.: Наука, 1989. 184 с.

Воронин В. Н. Микроспоридии пресноводных беспозвоночных и рыб России: Автореф дис. ... докт. биол. наук. СПб., 1999. 45 с.

Исси И. В., Крылова С. В., Николаева В. М. Ультратонкое строение микроспоридии Nosema meligethi и обоснование нового рода Anncaliia n. g. // Паразитология. 1993. Т. 27 вып. 2. С. 127—133.

Крылова С. В., Исси И. В. Специфичность микроспоридий из прямокрылых СССР // Современные проблемы протозоологии. Тез. докл. 4-го съезда ВОПР. Л., 1987. С. 209.

Крылова С. В., Нуржанов А. А. Специфичность микроспоридии Nosema maroccanus из марокканской саранчи в отношении других насекомых // Бюл. ВИЗР. 1989. Вып. 74 С. 7—11.

(Соколова и др.) Sokolova Yu. J., Dolgikh V. V., Issi I. V. Ultrastructural alterations in host cells, caused by Nosema-like species of Microsporidia // Proc. Joint Meet. Am. Soc. Parasitol. and Soc. Protozool. Arizona. 1996. P. 173.

Akao S. Studies on the ultrastructure of Nosema cuniculi, a microsporidian parasite of rodents // Japan. J. Parasitol. 1969. Vol. 18. P. 8—20.

Barker R. J. Ultrastructural observation on Encephalitozoon cuniculi from mouse peritoneal macrophages // Folia Parasitol. 1975. Vol. 22, N 1. P. 1—9.

Beard B. B., Butler J. F., Becnel J. J. Nolleria pulicis n. gen., n. sp. (Microsporida: Chytridiopsidae), a microsporidian parasite of the cat flea Ctenocephalides felis (Siphonaptera: Pulicidae) // J. Protozool. 1990. Vol. 37. P. 90—99.

Brooks W. M, Becnel J. J., Kennedy G. G. Establishment of Endoreticulatus n. g. for Pleistophora fidelis (Hostounsky et Weise, 1975) (Microsporida: Pleistophoridae) based on the ultrastructure of a microsporidium in the colorado potato beetle Leptinotarsa decemlineata (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) // J. Protozool. 1988. Vol. 35, N 4. P. 481—488.

Cali A., Takvorian P. M. Developmental morphology and life cycles of the Microsporidia // The Microsporidia and Microsporidiosis. Ed. M. Wittner, L. M. Weiss. 1999. P. 85—128.

Canning E. U., Barker R. J., Nicholas J. P., Page A. M. The ultrastructure of three microsporidia from white moth Operophtera brumata (L.) and the establishment of a new genus Cystosporogenes n. g. for Pleistophora operophterae (Canning, 1961) // Syst. Parasitol. 1985. Vol. 7, N 3. P. 213—225.

Canning E. U., Curry A., Lacey Ch. J. N., Fenwick J. D. Ultrastructure of Encephalitozoon sp. infecting the conjunctival, corneal and nasal epithelia of a patient with AIDS // Europ. J. Protistol. 1992. T. 28. P. 226—237.

Canning E. U., Wigley P. J., Barker R. J. The taxonomy of three species of microsporidia (Protozoa: Microspora) from oakwood population of winter moths Operophtera brumata (L.) (Lepidoptera: Geometridae) // Syst. Parasitol. 1983. N 5. P. 147—159.

Desportes I., Charpentier Y. Le., Galian A., Bernard F., Cochand-Priollet B., Lavergne A., Ravisse P., Modigliani R. Occurrence of a new microsporidian: Enterocytozoon bieneusi n. g., n. sp., in the enterocytes of a human patient with AIDS // J. Protozool. 1985. Vol. 32, N 2. P. 250—254.

Desportes I., Theodorides J. Etude ultrastructurale d'Amphiamblys laubieri n. sp. (Microsporidia, Metchnikovellidae) parasite d'une gregarine (Lecudina sp.) d'un echiurien abyssal // Protistologica. 1979. T. 15, fasc. 4. P. 435—457.

Hamilton R., Cox J. C. The ultrastructure of Encephalitozoon cuniculi growing in renal tubules of rabbits // Z. Parasitenk. 1981. Bd 64. S. 271—278.
Enzeroth R., Dubremetz J. F., Hotick D., Ferreira E. Immunoelectron microscopic demonstration of the exocytosis of the granula contents into the secondary parasitophorous vacuole of Sarcocystis muris (Protozoa, Apicomplexa) // Europ. J. Cell Biology. 1986. Vol. 41. P. 182—188.
Didier E. S., Bessinger G. T. Host-parasite relationships in microsporidiosis: animal models and immunology // The Microsporidia and Microsporidiosis. Ed. M. Wittner, L. M. Weiss. 1999. P. 225—257.
Hildebrand H. F. Observations ultrastructurales sur le stade plasmodial de Metchnikovella wohlfarthi Hildebrand et Vivier, 1971, microsporidie hyperparasite de la gregarine Lecudina tuzetae // Protistologica. 1974. T. 10, fasc. 1. P. 5—15.
Larsson R. Insect pathological investigations on Swedish Thysanura II. A new microsporidian parasite of Petrobius brevistylis (Microcoryphia, Machilidae); description of the species and creation of two new genera and a new family // Protistologica. 1980. T. 18, fasc. 1. P. 85—101.
Larsson R. Ultrastructural investigation of two microsporidia with rod-shaped spores, with descriptions of Cylindrospora fasciculata sp. nov. and Resiomeria odonatae gen. et sp. nov. (Microspora, Thelohaniidae) // Protistologica. 1986. T. 22. P. 379—398.
Larsson J. I. R., Ebert D., Vavra J., Voronin V. N. Redescription of Pleistophora intestinalis Chatton, 1907, a microsporidian parasite of Daphnia magna and Daphnia pulex, with establishment of the new genus Glugoides (Microspora, Glugeidae) // Europ. J. Protistol. 1996. Vol. 32. P. 251—261.
Leitch G. J., Scanlon M., Visvesvara G. S., Wallace S. Calcium and hydrogen ion concentrations in the parasitophorous vacuoles of epithelial cells infected with microsporidian Encephalitozoon hellem // J. Euk. Microbiol. 1995. T. 42, N 5. P. 445—451.
Lom J., Pekkarinen M. Ultrastructural observations on Loma acerinae (Jirovec, 1930) comb. nov. (Phylum Microsporidia) // Acta Protozool. 1999. T. 38, N 1. P. 61—74.
Loubes C., Akbarieh M. Etude ultrastructurale de la Microsporidie Baculea daphniae n. g., n. sp., parasite de l'epithelium intestinal de la Daphnie pulex Leydig, 1860 // J. Protozool. 1977. Vol. 24, N 4. 75A.
Malone L. A. Longevity and fecundity of argentine stem weevils, Listronotus bonariensis (Coleoptera: Curculionidae), infected with Microsporidium itiiti (Protozoa: Microspora) // J. Invertebr. Pathol. 1987. Vol. 50, N 2. P. 113—117.
Manier J. F., Ormieres R. Ultrastructure de quelques stades de Chytridiopsis socius Schn., parasite de Blaps lethifera Marsh. (Coleoptera, Tenebrionidae) // Protistologica. 1968. T. 4. P. 181—185.
Matthews R. A., Matthews B. F. Cell and tissue reactions of turbot, Scoputhalmus maximus (L.) to Tetramicra brevifilum gen. n., sp. n. (Microspora) // J. Fish Diseases. 1980. Vol. 3, N 6. P. 495—515.
Morrison C. M., Marryatt V. Further observations on Loma morhua Morrison a. Sprague, 1981 // J. Fish Diseases. 1986. Vol. 9. P. 63—67.
Morrison C. M., Sprague V. Microsporidian parasites in the gills of salmonid fishes // J. Fish Diseases. 1981. Vol. 6. P. 371—386.
Morrison C. M., Sprague V. Loma salmonae (Putz, Hoffman et Dunbar, 1965) in the rainbow trout, Salmo gairdneri Richardson and L. fontinalis sp. n. (Microsporidia) in the brook trout, Salvenius fontinalis (Mitchill) // J. Fish Diseases. 1983. Vol. 6, N 4. P. 345—353.
Nelson J. B. An intracellular parasite resembling a microsporidian associated with ascites in Swiss mice // Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 1962. Vol. 109, N 3. P. 714—717.
Pakes S. P., Shadduck J. A., Cali A. Fine structure of Encephalitozoon cuniculi from rabbits, mice and hamsters // J. Protozool. 1975. Vol. 22, N 4. P. 481—488.
Petri M., Schiodt T. On the ultrastructure of Nosema cuniculi in the cells of the Yoshida rat ascites sarcoma // Acta pathol. et microbiol. Scandinav. 1966. Vol. 66. P. 437—446.
Purrini K., Weiser J. Ultrastructural study of the microsporidian Chytridiopsis typographi (Chytridiopsida: Microspora) infecting the bark beetle, Ips typographus (Scolytidae: Coleoptera), with new data on spore dimorphism // J. Invertebr. Pathol. 1985. Vol. 45, N 1. P. 66—74.
Schubert G. Elektronenmikroscopische Untersuchungen zur Sporonten und Sporen entwicklung der Mikrosporidienart Heterosporis finki // Z. Parasitenk. 1969. Bd 52. S. 80—92.
Silveira H., Canning E. U. Vittaforma cornea n. comb. for the human microsporidium Nosema corneum Shadduck, Meccoli, Davis and Fornt, 1990, based on its ultrastructure in the liver of experimentally infected athymic mice // J. Eukaryot. Microbiol. 1995. Vol. 42. P. 158—165.

Sprague V. Systematics of the Microsporidia // Comparative Pathology. Vol. 2. Ed. Bulla L. A., Cheng T. C. 1977. P. 1—510.
Sprague V., Becnel J. J., Hazard E. I. Taxonomy of Phylum Microspora // Critic. Rev. in Microbiology. 1992. Vol. 18, N 5/6. P. 285—395.
Sprague V., Vernick S. H. The ultrastructure of Encephalitozoon cuniculi (Microsporida, Nosematidae) and its taxonomic significance // J. Protozool. 1971. Vol. 18, N 4. P. 560—569.
Strett D. A., Henry J. E. Ultrastructural investigation of the microsporidium Nosema cuneatum (Microspora: Nosematidae) in the grasshopper Melanoplus sanguinipes (Orthoptera: Acrididae) with emphasis on mitosis // Europ. J. Protistol. 1987. Vol. 23, N 1. P. 18—27.
Szollosi D. Development of Pleistophora sp. (Microsporidian) in eggs of the polychaete Armandia brevis // J. Invertebr. Pathol. 1971. Vol. 18, N 1. P. 1—15.
Trager W. Some aspects of intracellular parasitism // Science, 1974. Vol. 183, N 4122. P. 269—2273.
Vavra J., Berdnik P., Cinatl L. Isolation and in vitro cultivation of the mammalian microsporidian Encephalitozoon cuniculi // Folia Parasitol. 1972. Vol. 19, N 4. P. 349—354.
Weidner E. Ultrastructural study of microsporidian development. 1. Nosema sp. Sprague 1965 in Callinectes sapidus Rathbun. // Z. Zellforsch. Microsk. Anat. 1970. Bd 105. S. 33—54.
Weidner E. Ultrastructural study of microsporidian invasion into cells // Z. Parasitenk. 1972. Bd 40. S. 227—242.
Weidner E. Interactions between Encephalitozoon cuniculi and macrophages. Parasitophorous vacuole growth and the absence of lysosomal fusion // Z. Parasitenk. 1975. Bd 47, H. 1. S. 1—9.
Weiss L. M., Vossbrinck Ch. R. Molecular biology, molecular phylogeny, and molecular diagnostic approaches to the Microsporidia // The Microsporidia and Microsporidiosis. Ed. M. Wittner, L. M. Weiss. 1999. P. 129—171.

ВИЗР РАСХН, СПб., г. Пушкин, 196608 Поступила 3.03.2000

ON THE PARASITOPHOROUS VACUOLE OF MICROSPORIDIANS

I. V. Issi, Yu. Ya. Sokolova, V. N. Voronin

Key words: Microsporidia, parasitophorous vacuole, ultrastructure.

SUMMARY

The comparative analysis of the ultrastructure of various types of parasitophorous vacuoles (PV) induced by microsporidians is given. The data on the occurrence of PV in the hosts belonging to different systematic phyla are summarised.

It is concluded, that the formation of PV around microsporidians might take place either in certain parasite species or in the special type of the invaded cells, or could be connected with the development in the unspecific host.

The variety of fine structure of PV might be explained by an extremely broad range of hosts (from protists to mammalians), with different level of development of their immune system (defence reactions).

Three basic types of PV are proposed according the organization of their envelopes (walls): (1) a single membrane originated from the host cell plasmalemma (hosts: Aves and Mammalia); (2) a single membrane derived from the host ER (hosts: Pisces); (3) a single- or double-membrane host ER (hosts: protists, invertebrates and animals of other systematic groups).

It was assumed that the formation of the PV around microsporidians reflects more primitive host-parasite interactions, than the development of the parasite in a direct contact with the host cell cytoplasm.

Рис. 2. Тонкое строение паразитофорной вакуоли микроспоридий у членистоногих.

а — адипоцит личинки *Chironomus plumosus*, зараженный *Striatospora chironomi*; *б* — молодые споры *S. chironomi* в спорофорном и паразитофорном пузырьках; *в* — место контакта оболочек двух спорофорных пузырьков и ПВ *S. chironomi*, *г* — фрагмент ПВ *Glugoides intestinalis* из дафнии. Масштабная линейка на: *а* — 1 мкм, *б* — 0.5, *в* — 0.2, *г* — 0.25 мкм.

Обозначения такие же, как на рис. 1.

Fig. 2. The ultrastructure of the microsporidian parasitophorous vacuoles in Arthropoda.

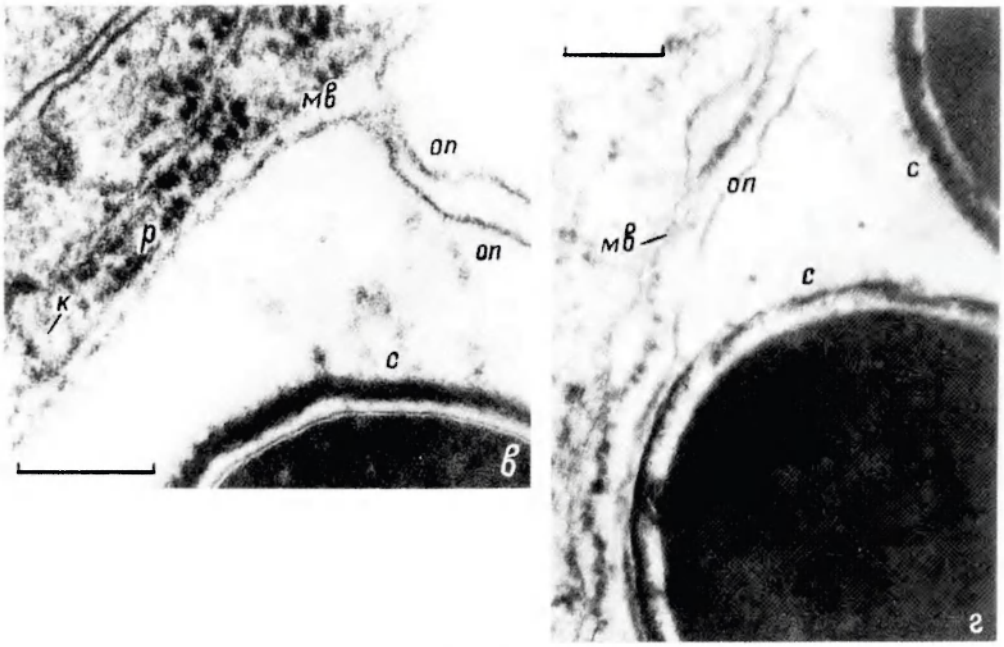

Рис. 2 (*продолжение*).

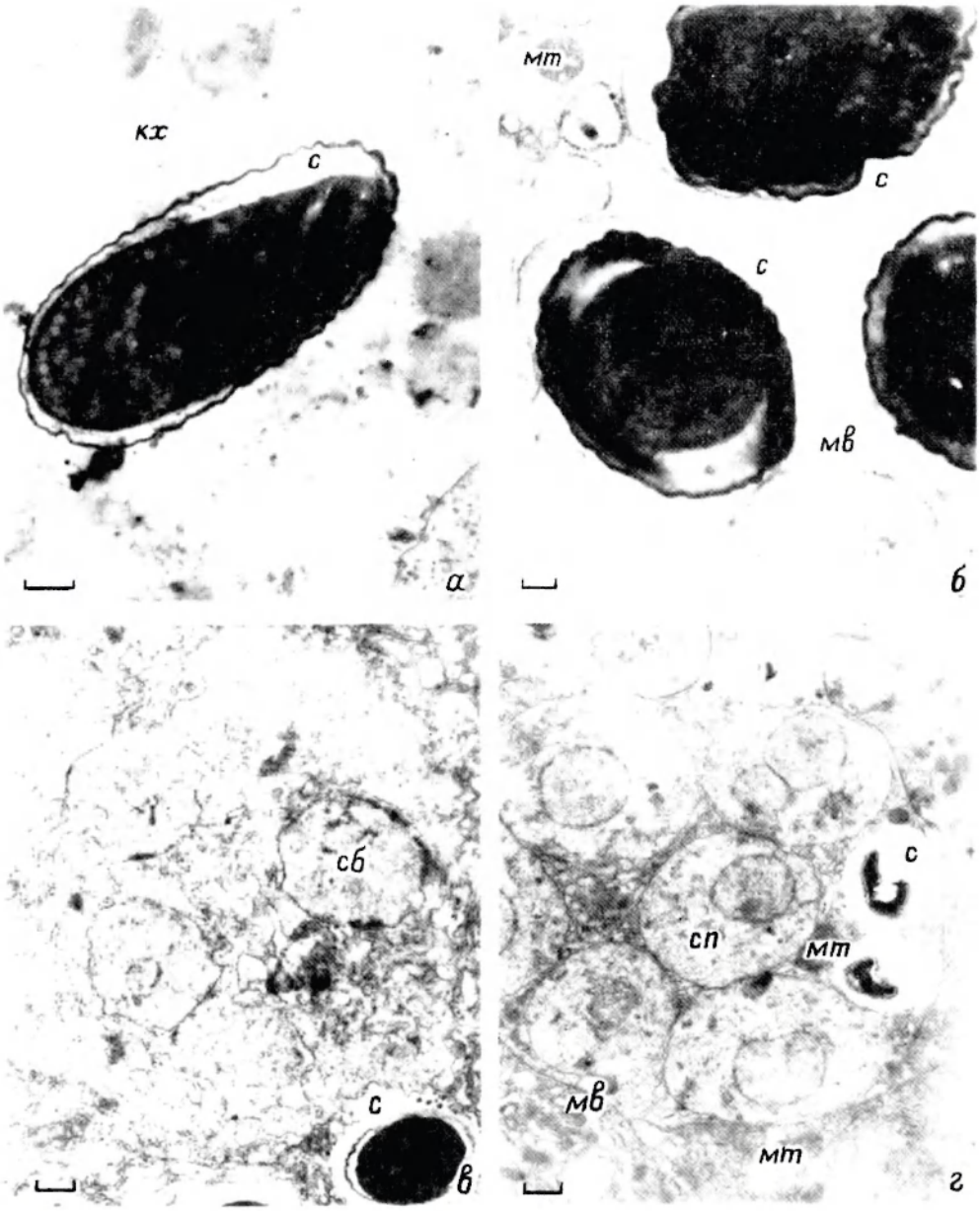

Рис. 3. Ответные реакции клеток разных типов на внедрение микроспоридий.

а — спора *Nosema locustae* в адипоците *Locusta migratoria*; *б* — споры *N. locustae* в гемоците *L. migratoria*, окружены мембраной без рибосом; *в* — группа меронтов и споробласты *Vairimorpha antheraeae* в энтероците гусеницы совки; *г* — группа меронтов и споробласты *V. antheraeae* в энтероците, изолированные от цитоплазмы клетки хозяина. Масштабная линейка равна на *а—г* — 0.5 мкм.

Обозначения такие же, как на рис. 1.

Fig. 3. The defence reactions of the various type of host cells on the microsporidian invasion.

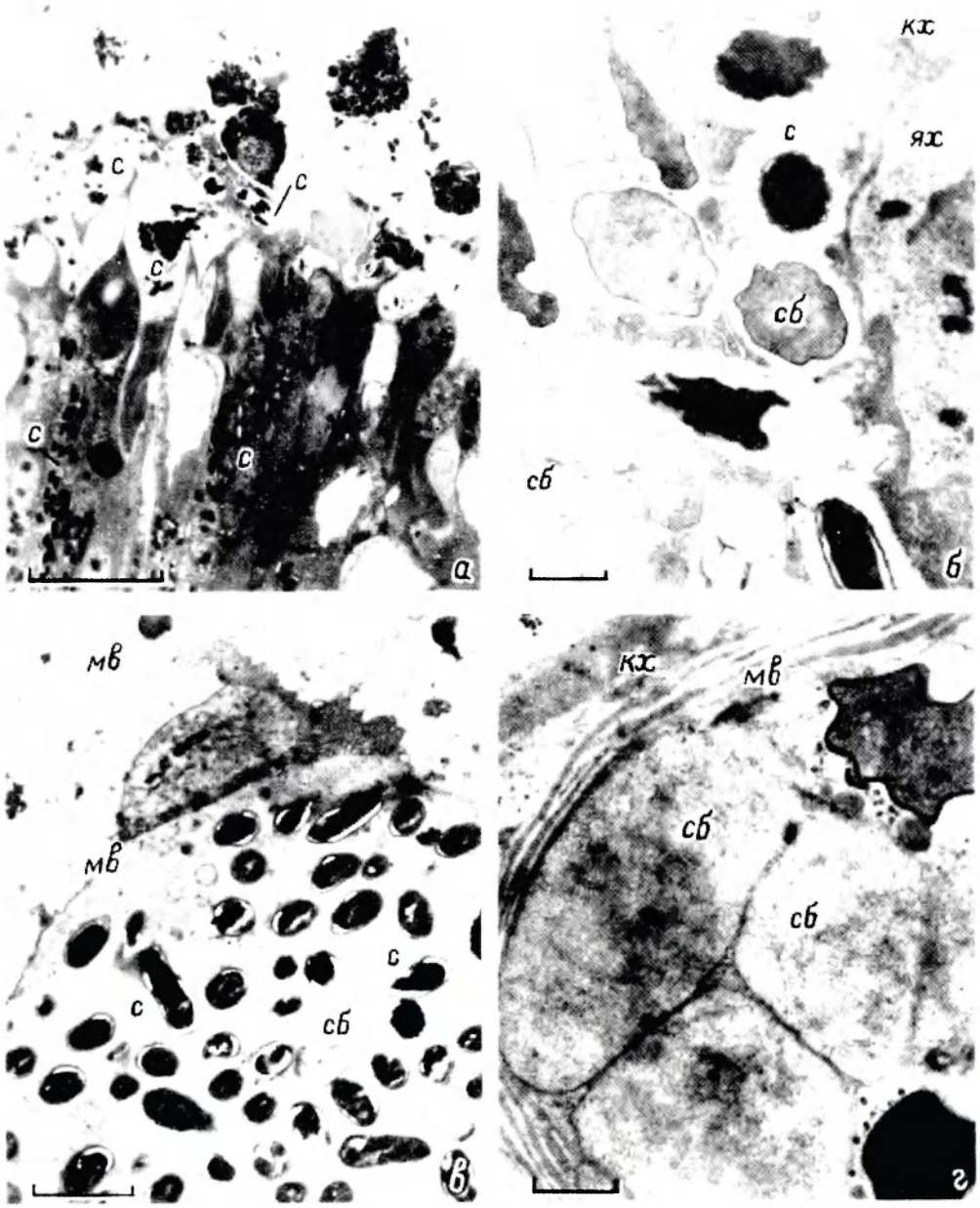

Рис. 4. Ответные реакции клеток одной ткани (энтероцитов) на внедрение «своих» и «чужих» микроспоридий.

а — эпителий средней кишки гусеницы капустной белянки, зараженной *Vairimorpha mesnili* и *Anncaliia meligethi*; *б* — энтероцит со стадиями «своей» микроспоридии; *в* — энтероцит со стадиями «чужой» микроспоридии; *г* — энтероцит капустной белянки со стадиями и спорами «чужой» *Nosema maroccanus*, окруженными многослойными мембранами клетки. Масштабная линейка равна на: *а* — 50 мкм, *б* — 2, *в* — 5, *г* — 1 мкм.

Обозначения такие же, как на рис. 1.

Fig. 4. The defence reactions of the enterocytes on the invasion of specific and nonspecific microsporidian species.