

**СКОРОБРЕХОВА**  
**Екатерина Михайловна**

**МОРФОЛОГИЯ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ СКРЕБНЯ**  
***CORYNOSOMA STRUMOSUM* (ACANTHOCERHALES: POLYMORPHIDAE)**  
**И ПАРАТЕНИЧЕСКИХ ХОЗЯЕВ В ПРИРОДЕ И ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

03.02.11 – паразитология

Автореферат диссертации  
на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург – 2014

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт биологических проблем Севера Дальневосточного отделения Российской академии наук

**Научный руководитель:**

Никишин Владимир Павлович, доктор биологических наук

**Официальные оппоненты:**

Корнева Жанетта Вячеславовна, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук, главный научный сотрудник лаборатории экологической паразитологии

Атаев Геннадий Леонидович, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, заведующий кафедрой зоологии

**Ведущая организация:**

Центр паразитологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, г. Москва

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2014 года в \_\_\_\_\_ часов на заседании Диссертационного совета Д 002.223.01 при Зоологическом институте РАН по адресу: 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 1. Факс: (812)328-29-41, электронный адрес: brach@zin.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Зоологического института РАН и на официальном сайте ЗИН – <http://www.zin.ru>

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2014 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор биологических наук

Овчинникова Ольга Георгиевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Паратенический (резервуарный) паразитизм относится к числу распространенных явлений и свойственен многим группам паразитических животных (Шарпило, 2005). Сущность данного явления заключается в том, что инвазионные стадии многих паразитов, оказавшись в несвойственных им хозяевах, могут сохранять жизнеспособность и инвазионность достаточно длительный период времени, до попадания в окончательного хозяина (Шарпило, 2005). Открытие этого явления, его понимание связано с работами выдающихся ученых-гельминтологов XX столетия – Л. Сера, Ш. Жуайе, Ж. Бэра, Г. Витенберга, К.И. Скрябина, Р.С. Шульца, К.М. Рыжикова, В.А. Савинова и многих других. Многие исследователи отмечают, что паратенические хозяева, хотя и не являются обязательными для завершения онтогенетического развития того или иного паразита, тем не менее, играют серьезную роль в его сохранении, накоплении и распространении.

Представители типа Acanthocephales (Rudolphi, 1808) Skrjabin et Schulz, 1931 относятся к числу таких животных, для которых паратенический паразитизм характерен едва ли не в наибольшей степени (Петроченко, 1958; Schmidt, 1985). В разных группах скребней он представлен с разной степенью встречаемости, в целом же, по некоторым данным, он отмечен в большинстве отрядов, более чем в половине семейств и почти у трети родов (Шарпило, 1996).

Несмотря на столь широкое распространение, изучению паратенического паразитизма исследователи уделяли неоправданно мало внимания. Возможно, это объясняется тем, что, по утвердившемуся ранее мнению, паразиты в паратенических хозяевах не претерпевают никакого развития, и паратенические хозяева, таким образом, служат лишь экологическим звеном, оптимизирующим заражение окончательного хозяина. Однако ряд паразитологов, например, К.М. Рыжиков, Б. Чаплинский, А.А. Мозговой с соавторами, К. Оденинг и другие не исключали возможности определенного развития паразитов в организме паратенического хозяина (по Шарпило, 2005). В то же время, изученность как в целом явления паратенического паразитизма, так и частных его аспектов, например, взаимоотношений паразитов и паратенических хозяев на организменном уровне,

остаётся крайне низкой (Никишин, 2004; Taraschewski, 2000). Один из ведущих мировых специалистов в области морфологии скребней Н. Taraschewski (Taraschewski, 2000) подчеркивает этот аспект, приводя в пример именно представителей рода *Corynosoma*.

Таким образом, актуальность наших исследований обусловлена, с одной стороны, особой ролью паратенического паразитизма в жизненных циклах некоторых скребней, с другой стороны, слабой изученностью взаимоотношений скребней с паратеническими хозяевами на организменном уровне.

**Цели и задачи работы.** Цель работы заключалась в изучении морфологических особенностей взаимоотношений скребня *Corynosoma strumosum* (Rudolphi, 1802) Lühe, 1904 с паратеническими хозяевами разных видов на организменном уровне в естественных и экспериментальных условиях.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

- Изучить микро- и ультраструктуру покровных тканей скребня *C. strumosum*, паразитирующего в организме естественных паратенических хозяев – морских рыб семи видов.
- Изучить микро- и ультраструктуру капсулы, окружающей скребня *C. strumosum* в естественных паратенических хозяевах – морских рыбах семи видов.
- Экспериментально изучить особенности процесса инкапсуляции скребня *C. strumosum* в естественном паратеническом хозяине – толстошке Миддендорфа.
- Экспериментально изучить особенности процесса инкапсуляции скребня *C. strumosum* в неестественных паратенических хозяевах – хромисе-красавце и прыткой ящерице.

**Научная новизна.** Впервые показано, что взаимоотношения скребней и естественных паратенических хозяев морфологически выражаются не только в инкапсуляции паразита клетками хозяина, но и в образовании на его поверхности толстого слоя гликокаликса, сходного с имеющимся у цистакантов многих видов скребней в промежуточном хозяине.

Впервые изучена микро- и ультраструктура капсулы, окружающей скребня *C. strumosum* в организме естественных паратенических хозяев – морских рыб семи видов: тихоокеанской зубастой корюшки *Osmerus mordax dentex*, обыкновенной

малоротой корюшки *Hypomesus olidus*, тихоокеанской наваги *Eleginus gracilis*, желтоперой камбалы *Limanda aspera*, пятнистого терпуга *Hexagrammos stelleri*, мраморного керчака *Myoxocephalus stelleri*, толстощека Миддендорфа *Hadropareia middendorffii*.

Впервые выделены три модификации капсул, окружающих скребня *C. strumosum* в паратенических хозяевах разных видов: «фибробластическая» (в тихоокеанской зубастой и обыкновенной малоротой корюшках, тихоокеанской наваге), «лейкоцитарная» (в желтоперой камбале, толстощеке Миддендорфа, керчаке Стеллера) и «промежуточная» (в пятнистом терпуге). Выделенные модификации капсул различаются соотношением клеток фибробластического ряда и лейкоцитов, входящих в их состав.

Впервые экспериментально изучены особенности процесса инкапсуляции скребня *C. strumosum* в естественном (толстошек Миддендорфа, однократный пассаж) и неестественных (прыткая ящерица *Lacerta agilis*, аквариумная рыба хромис-красавец *Hemichromis bimaculatus*) паратенических хозяевах. Показано, что в первом случае процесс инкапсуляции происходит в два этапа: вначале к паразиту мигрируют лейкоциты, а затем – фибробласты. В неестественных хозяевах характер инкапсуляции скребней различается, но в любом случае по истечении некоторого срока эксперимента паразиты погибают.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Результаты исследования вносят вклад в понимание сущности паратенического паразитизма и в целом паразитизма как биологического явления. Полученные результаты могут быть использованы в курсах лекций по паразитологии, гельминтологии, цитологии и гистологии.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- В естественных паратенических хозяевах инкапсулированный скребень *C. strumosum* формирует на своей поверхности толстый слой гликокаликса. В неестественных паратенических хозяевах такой слой не образуется.
- Клеточный состав капсулы, окружающей скребня *C. strumosum* в естественных паратенических хозяевах разных видов, варьирует.

- Возможен, как минимум, однократный пассаж скребня *C. strumosum* от одного паратенического хозяина в другого. В этом случае процесс инкапсуляции в естественном паратеническом хозяине – толстошке Миддендорфа – состоит из двух этапов, на первом из которых в состав капсулы включаются лейкоциты, на втором – фибробласты.

**Апробация работы.** Материалы по теме диссертации были доложены на Международных научных конференциях «Фауна, биология, морфология и систематика паразитов» (Москва, 2006) и «Биоразнообразие и экология паразитов наземных и водных ценозов» (Москва, 2008), Дальневосточных региональных конференциях, посвященных памяти А.П. Васьковского «Геология, география и биологическое разнообразие Северо-Востока России» (Магадан, 2006) и «Геология, география, биологическое разнообразие и ресурсы Северо-Востока России» (Магадан, 2011), Чтениях памяти академика К.В. Симакова (Магадан, 2007, 2009), Международной молодежной школе-конференции по актуальным проблемам химии и биологии (Владивосток, 2007), IV и V Всероссийских съездах Паразитологического общества при РАН «Паразитология в XXI веке – проблемы, методы, решения» (Санкт-Петербург, 2008) и «Паразитология в изменяющемся мире» (Новосибирск, 2013), XIV Конференции Украинского научного общества паразитологов (Ужгород, 2009), Международном симпозиуме «Паразиты Голарктики» (Петрозаводск, 2010), Первых Международных Беккеровских чтениях (Волгоград, 2010).

**Публикации.** По теме диссертации опубликована 21 работа, из них 6 – в журналах, входящих в список ВАК России.

**Личный вклад.** Автор в период с 2006 по 2012 гг. самостоятельно провел все этапы исследования: вскрытие рыб и взятие материала, подготовку свето- и электронно-микроскопических препаратов, микроскопирование и фотографирование, последующую обработку и анализ полученных результатов. Эксперименты по заражению животных скребнями и исследование образцов, полученных в результате экспериментов, также проведены автором лично.

**Структура и объем диссертации.** Рукопись изложена на 305 страницах и состоит из введения, пяти глав и выводов, содержит 10 таблиц, список литературы

из 188 работ, в том числе 131 – на иностранных языках, и приложение на 135 страницах, включающее 228 свето- и электронно-микроскопических фотографий.

**Благодарности.** Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю д.б.н. В.П. Никишину за помощь в постановке проблемы и внимательное отношение на всех этапах подготовки и написания работы; к.б.н. Г.И. Атрашкевичу (ИБПС ДВО РАН) за консультации по систематике и экологии скребней; к.б.н. Н.А. Поспеховой (ИБПС ДВО РАН) за помощь при получении электронно-микроскопических фотографий; к.б.н. О.И. Лисицыной (Институт Зоологии им. И.И. Шмальгаузена НАН Украины) за ценные идеи и помощь в проведении экспериментов; д.б.н. М.П. Грушко и Н.С. Алтуфьевой (Астраханский государственный технический университет) за предоставленную возможность освоения гистологических методов исследования; чл.-корр. РАН В.В. Юшину и Д.В. Фомину (Дальневосточный центр электронной микроскопии, Институт биологии моря ДВО РАН) и С.И. Метелеву (Центр электронной микроскопии, Институт биологии внутренних вод РАН) за предоставленную возможность использования электронной микроскопии, а также всем сотрудникам лаборатории экологии гельминтов ИБПС ДВО РАН за ценные советы и замечания при обсуждении результатов работы.

Работа поддержана грантами РФФИ (проект 12-04-00043), РФФИ-ДВО РАН (проект 09-04-98523-р\_восток\_a), ДВО РАН (проекты 09-III-B-06-276, 10-III-B-06-139, 11-III-B-06-024, 13-III-B-06-096, 12-III-A-06-102, 12-III-Д-06-020) и Губернатора Магаданской области (2008).

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### 1 Материалы и методика

В исследовании использованы естественные паратенические хозяева – морские рыбы семи видов: тихоокеанская зубастая корюшка *Osmerus mordax dentex* Steindachner et Kner, 1870 и обыкновенная малоротая корюшка *Hypomesus olidus* (Pallas, [1814]) (отр. Лососеобразные), тихоокеанская навага *Eleginus gracilis* (Tilesius, 1810) (отр. Трескообразные), керчак Стеллера *Myoxocephalus stelleri*

Tilesius, 1811 и пятнистый терпуг *Hexagrammos stelleri* Tilesius, 1810 (отр. Скорпенообразные), толстошек Миддендорфа *Hadropareia middendorffii* Schmidt, 1904 (отр. Окунеобразные) и желтоперая камбала *Limanda aspera* (Pallas, [1814]) (отр. Камбалообразные), отловленные в Тауйской губе Охотского моря в окрестностях г. Магадана. Рыб подвергали неполному гельминтологическому вскрытию согласно общепринятым методикам (Скрябин, 1928; Быховская-Павловская, 1985). Видовую принадлежность скребней определяли с учетом консультаций к.б.н. Г.И. Атрашкевича (ИБПС ДВО РАН).

Экспериментальным путем выполнен пассаж скребней *Corynosoma strumosum* из одного естественного паратенического хозяина в другого (толстошека Миддендорфа) и прослежены этапы образования капсулы вокруг скребней в новом хозяине. Подопытных рыб отлавливали во время отливов под камнями или в литоральных «ваннах» бухты Нагаево Тауйской губы Охотского моря, в которой отмечена крайне низкая зараженность этих рыб исследованным скребнем. Эксперименты проведены в лабораторных условиях в июне и в сентябре-ноябре 2012 г. Рыб заражали перорально инкапсулированными скребнями, взятыми из толстошеков и бельдюг, пойманных в приливно-отливной зоне бухты Гертнера Тауйской губы, в которой отмечена высокая зараженность рыб скребнем *S. strumosum*. Вскрытия подопытных рыб осуществляли через 3, 14, 30, 50 суток после заражения.

Экспериментальные исследования процесса образования капсулы у неестественных паратенических хозяев были выполнены с аквариумными рыбами (хромисы-красавцы *Hemichromis bimaculatus*), приобретенными в зоомагазине, и прыткими ящерицами *Lacerta agilis*, отловленными в пригороде г. Киева (Украина). Заражение тех и других проведено для того, чтобы проследить этапы инкапсуляции кориносом в организме животных, которые в силу территориальной разобщенности не могут контактировать друг с другом даже теоретически. Кроме того, заражение аквариумных рыб преследовало цель изучения процесса инкапсуляции скребня *S. strumosum* в организме хозяев, принадлежащих к тому же классу животных, что и естественные паратенические хозяева этого гельминта.

Для заражения использовали кориносом, извлеченных из естественных паратенических хозяев: тихоокеанской зубастой и обыкновенной малоротой корюшек, толстощека Миддендорфа, керчака Стеллера и пятнистого терпуга, пойманных в бухте Гертнера Охотского моря в окрестностях г. Магадана. Вскрытия аквариумных рыб осуществляли через 3, 10, 12, 19 и 30 суток после заражения, ящериц – через 1,5, 2, 4, 5, 6, 10, 25, 30, 34, 90, 105 и 572 суток после заражения.

Скребней, полученных в результате экспериментов, а также извлеченных из рыб, инвазированных естественным образом, препарировали для гистологических и электронно-микроскопических исследований. Гистологические (окраски по Маллори, азур II-эозином) исследования проводили по общепринятым методикам (Основы гистологии..., 1967; Волкова, 1982; Коржевский, 2010). Кроме того, гистологическую информацию получали при просматривании в световом микроскопе полутонких срезов препаратов, подготовленных для электронной микроскопии и окрашенных смесью метиленового синего и кристаллического фиолетового. Соотношение клеток в составе исследуемых капсул определяли визуально и только в тех случаях, когда их принадлежность к тому или иному клеточному типу не вызывала сомнений. Всего свето-микроскопическими методами было исследовано 253 скребня: 47 из тихоокеанской зубастой корюшки, 11 из обыкновенной малоротой корюшки, 20 из тихоокеанской наваги, 27 из желтоперой камбалы, 35 из толстощека Миддендорфа, 24 из керчака Стеллера, 14 из пятнистого терпуга, 58 из экспериментально зараженных толстощеков Миддендорфа, 11 из хромисов-красавцев и 16 из прытких ящериц.

Подготовку материала для электронно-микроскопических исследований проводили по стандартной методике (заливка в смесь эпона и аралдита) в интерпретации, используемой в лаборатории экологии гельминтов ИБПС ДВО РАН. При этом период между вскрытием животного и фиксацией обнаруженных в нем скребней был минимальным, что в большинстве случаев позволяло сохранить живыми клетки, входящие в состав капсулы. Электронно-микроскопически всего изучено 27 инкапсулированных скребня: 4 из тихоокеанской зубастой корюшки, по 3 из тихоокеанской наваги и толстощека Миддендорфа, по 2 из керчака Стеллера и

терпуга пятнистого, 6 из желтоперой камбалы, 2 из экспериментально зараженного толстощека Миддендорфа, 1 из хромиса-красавца и 4 из прыткой ящерицы.

## 2 Результаты и обсуждение

### 2.1 Морфология покровных тканей скребня *Corynosoma strumosum* в естественных паратенических хозяевах

Согласно современным представлениям, покровы скребней образованы пограничной (тегументом) и мышечной (кольцевая и продольная мускулатура) тканями и их производными (Никишин, 2004). К производным тегумента относятся шипики и внутренние выросты тегумента – лемниси, в число производных мышечной ткани входит базальная пластинка, подстилающая тегумент, межклеточный материал, а также центральные части хоботковых крючьев. В составе тегумента определяются покровный комплекс, включающий наружную цитоплазматическую мембрану, пять слоев и внутренняя цитоплазматическая мембрана. Организация покровов исследованных скребней полностью соответствует этой схеме.

Электронно-микроскопически, на поверхности тегумента большинства исследованных нами скребней выявляется слой гликокаликса, по строению сходный с гликокаликсом цистакантов других видов скребней (Никишин, 2004). Гликокаликс образован густо расположенными переплетающимися тонкими филаментами и мелкими гранулами и организован в два слоя. Внутренний слой – прерывистый, вследствие более плотной организации образующего его материала имеет несколько более высокую электронную плотность, чем наружный слой. Наружный слой многократно толще внутреннего, характеризуется неровными очертаниями наружной границы. У скребней из тихоокеанской наваги толщина гликокаликса составляет 0,7-0,8 мкм, из тихоокеанской зубастой корюшки – 1,1-1,9 мкм, из толстощека Миддендорфа – 0,6-2,4 мкм, из керчака Стеллера – 1,0-2,5 мкм и желтоперой камбалы – 1,7-2,4 мкм. На поверхности некоторых скребней из камбалы гликокаликс не образует сплошного слоя, а выявляется в виде отдельных, толщиной не более 0,1 мкм, скоплений тонких фибрилл.

По нашему мнению, в паратеническом хозяине слой гликокаликса на поверхности скребня образуется заново. Этот вывод основан на следующих фактах. Во-первых, гликокаликс цистакантов при попадании в следующего хозяина неизбежно должен разрушаться под действием ферментов пищеварительного тракта, так как состоит преимущественно из мукополисахаридов (Ito, 1969; Lumsden, 1975). Новообразование же гликокаликса происходит в считанные дни после попадания скребня в паратенического хозяина: у экспериментально зараженных толстощексов Миддендорфа мы наблюдали его уже через трое суток после начала эксперимента. Во-вторых, наши эксперименты по заражению неестественных паратенических хозяев показали, что гликокаликс в таких хозяевах заново не формируется.

Поверхность тегумента исследованных скребней образована покровным комплексом, имеющим вид двух электронно-плотных пластинок, разделенных слоем умеренно-плотного материала. Внешняя электронно-плотная пластинка, в сущности, представляет собой наружную цитоплазматическую мембрану. Внутренняя пластинка образована тонким слоем электронно-плотного материала, расположенного на некотором расстоянии от наружной цитоплазматической мембраны.

Основными характеристиками поперечно-полосатого слоя тегумента являются относительно более плотная, чем в других участках тегумента, цитоплазма и многочисленные каналы, пересекающие его в радиальном направлении. Терминальные участки каналов расширены в виде мелких светлых везикул, образующих везикулярный слой тегумента. Диаметр везикул не превышает 0,2 мкм.

Войлочно-волокнистый слой тегумента образован многочисленными плотно расположенными волокнами, ориентированными как параллельно, так и перпендикулярно поверхности скребня. В дистальной части войлочно-волокнистого слоя отмечены обширные скопления митохондрий. Митохондрии овальной или удлинённой формы, имеют плотный матрикс и небольшое количество крист. Среди митохондрий наблюдаются многочисленные мелкие везикулы, диаметром не более 0,2 мкм, со светлым содержимым.

Радиально-волокнистый слой тегумента включает волокна, ориентированные перпендикулярно к поверхности паразита; одним концом они прикреплены к наружной, а другим – к внутренней цитоплазматическим мембранам тегумента. В этом слое выявляются лакуны, включающие тегументные ядра. Форма ядер лопастная, диаметр до 12 мкм. В кариоплазме наблюдаются 1-3 плотных округлых ядрышек и мелкие скопления хроматина. В промежутках между волокнами встречаются липидные капли диаметром до 1,6 мкм.

Трубочковый слой тегумента скребней выявляется только электронно-микроскопически. Он образован многочисленными инвагинатами внутренней цитоплазматической мембраны тегумента.

Базальная пластинка имеет умеренную электронную плотность, близкую к общей плотности трубочкового слоя. Она состоит из плотно расположенных переплетающихся фибрилл, ориентированных более или менее параллельно поверхности тела.

Кожная мускулатура скребней представлена мышечными клетками и их отростками. Мышечные отростки имеют форму многоугольников, миофиламенты располагаются по периферии мышечных отростков, центральные и базальные части которых заняты лакунами. Между миофиламентами наблюдаются скопления предполагаемых  $\beta$ -частиц гликогена. На некоторых срезах видны связи базальной части тегумента с отростками мышечных клеток, образованные сгущениями межклеточного материала. В лакунах миоцитов наблюдаются светлые пузырьки и мелкие митохондрии.

Таким образом, покровы исследованных скребней по своей ультраструктуре существенно не отличаются от покровов других скребней.

## **2.2 Морфология капсулы, окружающей скребня *Corynosoma strumosum* в паратенических хозяевах разных видов**

Большинство исследованных скребней были полностью окружены капсулами, клеточный состав которых у разных видов рыб различался. В зависимости от наличия или отсутствия лейкоцитарного компонента, а также исходя из соотношения лейкоцитов и фибробластов в составе капсул, нами условно выделено

три их структурные модификации: «фибробластическая», «лейкоцитарная» и «промежуточная».

*Капсулы из тихоокеанской наваги, тихоокеанской зубастой и обыкновенной малоротой корюшек.* Капсулы, обнаруженные в рыбах этих видов, состоят исключительно (в случае с корюшками) или преимущественно (в случае с навагой) из фибробластов, фиброцитов и коллагеновых волокон. Капсулы из тихоокеанской наваги и обыкновенной малоротой корюшки – двухслойные, из тихоокеанской зубастой корюшки – трехслойные. Во всех случаях внутренний слой капсулы относительно равномерно окружает всего скребня, окрашивается гистологическими красителями наиболее интенсивно и представляет собой зону некроза, состоящую из остатков разрушенных клеток. Наружный слой капсул из наваги и малоротой корюшки образован плотно прилегающими друг к другу крупными фибробластами. По своим ультратонким характеристикам они сходны с типичными фибробластами и отличаются от них лишь наличием хаотично организованных пучков филаментов, концентрирующихся обычно вблизи ядра. Между собой фибробласты связаны многочисленными десмосомами. В межклеточных пространствах среди фибробластов наблюдаются коллагеновые волокна, более многочисленные во внешней части наружного слоя. В этой же части капсул помимо фибробластов обнаружены фиброциты, обычно окруженные широкими тяжами из плотно расположенных коллагеновых волокон. В наружном слое капсул из наваги, помимо фибробластических компонентов, имеются немногочисленные гранулоциты и макрофаги.

Средний и наружный слои капсулы из зубастой корюшки образованы исключительно фибробластами, характер расположения которых меняется от плотного в среднем слое до рыхлого в наружном. По границе среднего и наружного слоев располагаются уплощенные фиброциты в окружении плотно организованных коллагеновых волокон. В отличие от фибробластов фиброциты характеризуются высоким ядерно-плазменным отношением и значительно меньшими размерами.

Таким образом, во всех исследованных экземплярах корюшек и наваги скребни были окружены «фибробластической» капсулой, состоящей исключительно

или преимущественно (при их полном преобладании) из фибробластов и их производных.

**Капсулы из желтоперой камбалы, толстощека Миддендорфа и керчака Стеллера.** У керчака и толстощека бóльшая часть скребней была заключена в капсулы, организованные в три слоя, внутренний из которых состоял из дегенерирующих клеток. Остальные два слоя различались по характеру расположения клеток: в среднем слое клетки были организованы более плотно, а в наружном – рыхло. У скребней из камбалы капсулы были чаще однослойными, образованными равномерно расположенными клетками, реже состояли из двух слоев, различающихся не только характером расположения клеток, но и разным их составом.

Капсулы из этих рыб, помимо фибробластов и коллагеновых волокон, включают большое количество клеток других типов. В составе капсул из керчака Стеллера и толстощека Миддендорфа были обнаружены макрофаги, эозинофилы, нейтрофилы и лимфоциты. В капсулах из желтоперой камбалы были определены моноциты, макрофаги, гранулоциты (их точная принадлежность не определена) и лимфоциты. В некоторых капсулах макрофаги и нейтрофилы, находящиеся вблизи поверхности скребня, образуют многочисленные псевдоподии, направленные к паразиту, внедряющиеся в слой гликокаликса на его поверхности и нередко достигающие наружной мембраны тегумента, вступая с ней в контакт (Рисунок 1). При этом организация гликокаликса становится более рыхлой, гетерогенной, его толщина уменьшается и в ряде случаев он исчезает совсем.

Таким образом, капсулы, окружающие скребней *Corynosoma strumosum* в желтоперой камбале, толстощеке Миддендорфа и керчаке Стеллера, образованы в значительной степени лейкоцитами («лейкоцитарные» капсулы). При этом макрофаги и лейкоциты могут активно взаимодействовать с поверхностью скребня посредством образования псевдоподий. Погружение последних в гликокаликс и сопутствующее этому истончение его слоя вплоть до исчезновения свидетельствует о более напряженных (в сравнении с корюшками и навагой) взаимоотношениях организмов хозяина и паразита и косвенно подтверждает имеющееся предположение (Никишин, 2004) о защитной функции гликокаликса скребней.

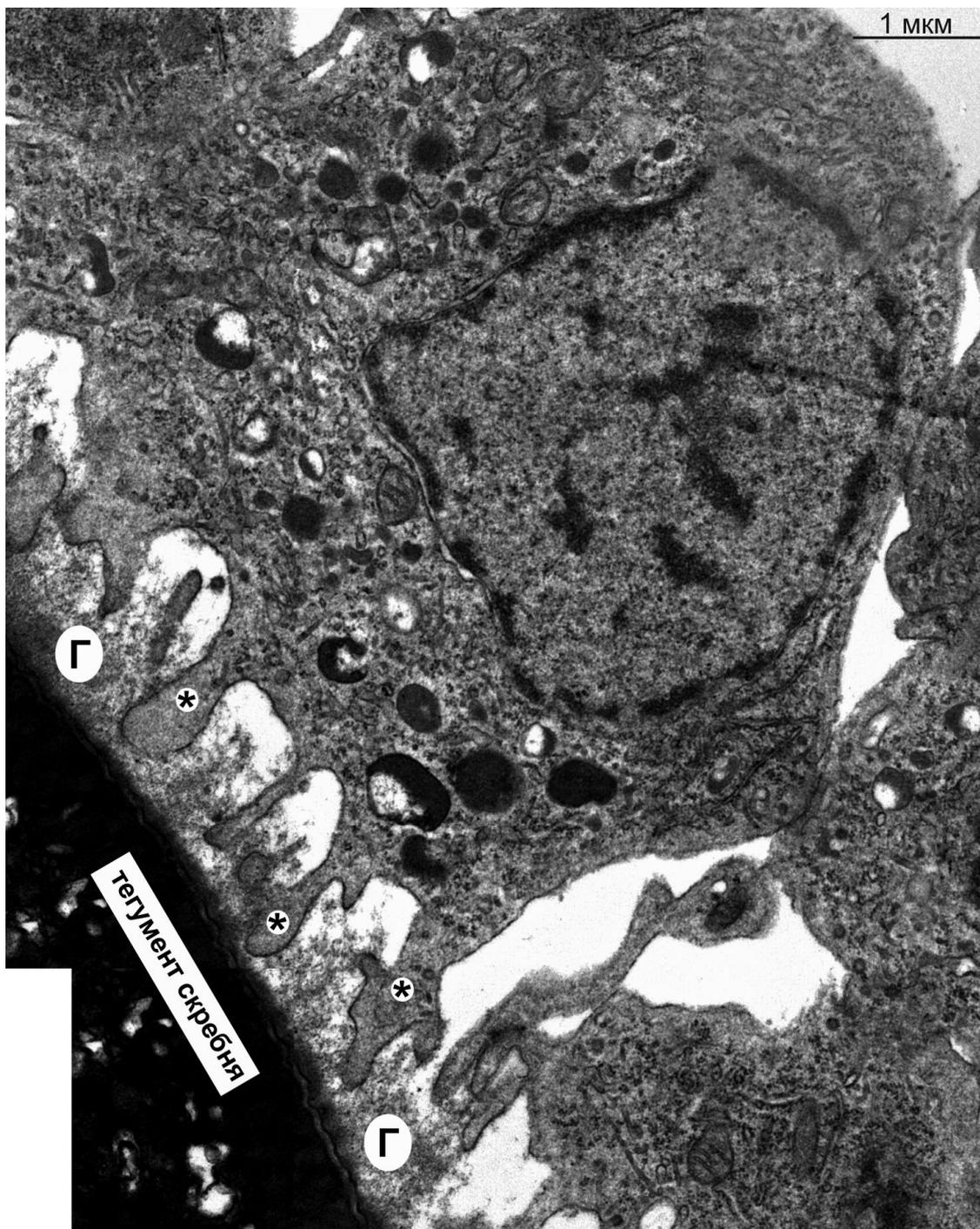


Рисунок 1. Скребень *Corynosoma strumosum* на брыжейке кишечника керчака Стеллера *Myoxocephalus stelleri*. Макрофаг вблизи поверхности скребня характеризуется крупными размерами и имеет многочисленные отростки (\*), направленные к скребню и погруженные в гликокаликс (Г) на поверхности его тегумента. Гликокаликс в этих участках выглядит разрезанным. Электронная микроскопия.

**Капсулы из пятнистого терпуга.** В пятнистом терпуге скребни были окружены сплошной трехслойной капсулой. Внутренний слой капсулы состоит из некротизированных клеток и на полутонких срезах отличается от других слоев

более интенсивной окраской. В составе среднего слоя капсулы выявляются удлинённые фибробласты с многочисленными отростками. Отличительной чертой этих клеток является наличие в их цитоплазме пучков филаментов, сходных с описанными в фибробластах капсулы из наваги. В составе наружного слоя помимо фибробластов обнаружены немногочисленные и небольшие пучки коллагеновых волокон, а также одиночные или образующие небольшие скопления эозинофилы и макрофаги. Количество этих клеток визуальное было бóльшим, чем в капсулах из наваги, но значительно меньшим, чем в капсулах из камбалы, керчака или толстощека.

Таким образом, капсулы из пятнистого терпуга по соотношению клеток, входящих в их состав, занимают промежуточное положение между «фибробластическими» и «лейкоцитарными», поэтому мы называем их «промежуточными».

### **2.3 Экспериментальное исследование процесса инкапсуляции скребня**

#### ***Corynosoma strumosum* в естественном паратеническом хозяине – толстощеке**

##### **Миддендорфа**

Результаты экспериментального заражения кориносомами толстощека Миддендорфа представлены в таблице 1. Мы полагаем, что в процессе экспериментов нами был осуществлён однократный пассаж скребней. В пользу этого предположения свидетельствует тот факт, что основу питания толстощеков и бельдюг, из которых мы извлекали скребней для заражения, составляют бокоплавцы, полихеты, двустворчатые моллюски и икра рыб (Соколовский, 2009; Черешнев, 2011). Это свидетельствует о том, что рыбы, из которых мы извлекали кориносом для заражения, могли быть заражены этими паразитами только от промежуточных хозяев, то есть бокоплавцов.

**Структура тегумента скребней.** Тегумент всех скребней, полученных в процессе эксперимента, характеризуется типичным строением и примерно равной толщиной (21-35 мкм). К большей части его поверхности вплотную прилегает толстый светлоокрашенный гомогенный слой гликокаликса, видимый даже в световом микроскопе. В некоторых участках слой гликокаликса отделен от

тегумента, при этом сохраняя свою непрерывность. В таких случаях, в промежутках между ним и поверхностью тегумента могут наблюдаться клетки хозяина. Электронно-микроскопические исследования показали, что гликокаликс образован тонко фибриллярным и мелко гранулярным материалом невысокой электронной плотности и имеет толщину 1,5-2,1 мкм. Следует подчеркнуть, что столь толстый слой гликокаликса появляется уже на третьей сутки инвазии. Наружная граница его неровная, и здесь часто наблюдаются псевдоподии клеток хозяина, которые, однако, не достигают тегумента. Узкая внутренняя часть гликокаликса отличается более плотной организацией образующего его материала и более высокой электронной плотностью. Здесь же в некоторых участках отмечены скопления мелких, предположительно окруженных мембраной везикул, диаметром 18-23 нм. Во многих случаях, во всей толще гликокаликса обнаружены трубчочкоподобные образования диаметром 21-26 нм, в большинстве своем ориентированные более или менее перпендикулярно поверхности паразита; характер границ этих образований также не определяется. Близкие размеры трубчочкоподобных образований и везикул предполагают их сходное происхождение; возможно и те и другие имеют отношение к процессу формирования гликокаликса.

Хоботки большинства скребней были инвагинированы за исключением тех гельминтов, которые с помощью эвагинированного хоботка были прикреплены к серозной оболочке брюшной полости рыб. Во всех случаях вокруг скребней наблюдались признаки инкапсуляции, которые выражались в наличии вблизи поверхности паразитов или отдельных клеток хозяина, или небольших их скоплений, или прерывистых клеточных слоев. В составе формирующихся капсул выявлено несколько типов клеток, среди которых преобладают макрофаги, нейтрофилы и эритроциты, менее многочисленными были эозинофилы и лимфоциты; фибробласты не обнаружены. Большинство клеток характеризуются признаками деструкции (просветление периферической цитоплазмы, набухание митохондрий), выраженными в различной степени. Клетки формирующейся капсулы по своей ультраструктуре в целом сходны с описанными в капсулах из толстощечков, инвазированных естественным образом. Клетки, контактирующие со скребнем, характеризуются многочисленными пальцевидными отростками

(псевдоподиями), направленными в сторону паразита и часто погруженными в слой гликокаликса на его поверхности. В непосредственной близости от скребня, расположенного на гонадах, и от одного из скребней, прикрепленных к брюшной стенке, наблюдался массивный клеточный инфильтрат, состоящий преимущественно из нескольких десятков (на одном срезе) эритроцитов.

Таблица 1

Результаты экспериментального заражения толстошека Миддендорфа скребнем *Corynosoma strumosum*

№	Длина (см) и пол рыбы	Введено скребней (экз.)	Время с момента введения инвазии (сут.)	Локализация и число обнаруженных скребней				
				Провет кишечника	Брыжейка кишечника	Брюшная стенка	Печень	Гонады/ селезенка
1	8,2 ♀	10	3		1	1		
2	9,2 ♀	всего 22	3			1	1	
3	9,4 ♀		3	2	1	1		1/
4	9,1 ♀		3	не обнаружены				
5	9,0 ♂		3	не обнаружены				
6	9,6 ♀		3	не обнаружены				
7	11,8 ♀		3	не обнаружены				
8	9,2 ♂		3	не обнаружены				
9	9,6 ♀		3		1	1		
10	10,0 ♂		3	не обнаружены				
11	10,7 ♂		3	не обнаружены				
12	9,2 ♀		3		3		1	
13	18,2 ♀		каждой от 5 до 11	14		6		
14	12,3 ♀	14			5			
15	18,0 ♀	30			11			
16	13,3 ♀	30			6			
17	9,9 ♂	50			3			
18	9,0 ♂	50			1			
19	6,9 ♀	50			1			/1
20	10,6 ♀	50			1			
21	10,0 ♀	50			1	2		
22	9,0 ♂	50			3		1	
23	6,3 ♀	50				3		

Спустя 14 суток после начала эксперимента обнаруженные скребни (11 экземпляров) располагались в полости тела только на брыжейке кишечника хозяев;

в просвете же кишечника скребни не обнаружены. Три паразита были почти полностью лишены капсулы, а вблизи их поверхности наблюдались редкие группы клеток, остальные гельминты были покрыты тонкой прерывистой капсулой. Основу капсул составляли макрофаги и нейтрофилы, в значительно меньшем количестве присутствовали эозинофилы, лимфоциты и эритроциты. Также в составе капсулы паразитов наблюдались немногочисленные фибробласты, в межклеточных пространствах между которыми определялись тонкие коллагеновые волокна.

На 30 сутки инвазии все обнаруженные скребни (17 экземпляров) располагались также на брыжейке кишечника, но уже были окружены сплошной капсулой, образованной несколькими слоями клеток. Наибольшей толщины капсулы достигали в участках контакта скребней с брыжейкой кишечника. В составе капсулы обнаружены многочисленные макрофаги, нейтрофилы и фибробласты, в значительно меньшем количестве наблюдались эозинофилы, лимфоциты и эритроциты. Клетки либо располагались рыхло с обширными межклеточными пространствами, либо между ними были видны узкие светлые просветы. Межклеточный материал капсулы представлен коллагеновыми волокнами, которые формируют более толстые, чем у 14-дневных капсул, пучки, хорошо выявляемые на гистологических препаратах.

Спустя 50 суток после заражения из 17 скребней, обнаруженных в полости тела рыб, 10 располагались на брыжейке кишечника, по одному – на печени и селезенке и пять – на брюшной стенке. В последнем случае в одной общей капсуле помещались два скребня, в другой – три. Все скребни, которые были найдены на брюшной стенке, имели инвагинированный хоботок и были заключены в многослойную капсулу, которая своей наружной поверхностью была связана с серозной оболочкой. Клеточный состав всех пятидесятидневных капсул в целом соответствовал таковому тридцатидневных капсул.

Таким образом, процесс формирования капсулы вокруг скребня *C. strumosum* в естественном паратеническом хозяине – толстошке Миддендорфа – происходит следующим образом. На 3 сутки после начала эксперимента наблюдается миграция к паразиту лейкоцитов, при этом сплошная капсула отсутствует. На 14-й день капсула по-прежнему прерывистая, но в ее составе помимо лейкоцитов появляются

единичные фибробласты. Спустя 30 дней от начала инвазии вокруг скребня формируется сплошная капсула, в составе которой, помимо лейкоцитов, определяются многочисленные фибробласты и коллагеновые волокна. На 50 сутки после заражения капсулы по клеточному составу сходны с тридцатидневными капсулами.

#### 2.4 Экспериментальное исследование процесса инкапсуляции скребня *Corynosoma strumosum* в неестественном паратеническом хозяине – хромисе-красавце

Результаты экспериментального заражения представлены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты экспериментального заражения рыб *Hemichromis bimaculatus* скребнем *Corynosoma strumosum*

№	Длина (см) и пол рыбы	Введено скребней (экз.)	Период инвазии (сут.)	Локализация и число обнаруженных скребней			
				Слизистая кишечника	Брыжейка кишечника	Брюшная стенка	Печень
1	7,4 ♀	12	3	2			
2	8,2 ♂	10	3	5	1	1	
3	7,8 ♂	5	10	скребни не обнаружены			
4	8,2 ♂	15	10	скребни не обнаружены			
5	7,3 ♀	15	12		1		
6	7,0 ♀	15	19		1		1
7	7,5 ♀	15	19	скребни не обнаружены			
8	7,8 ♀	15	19		4		
9	7,2 ♀	15	30	скребни не обнаружены			
10	7,5 ♀	15	30		1		
11	8,1 ♀	15	30		1		

**Структура тегумента скребня.** На 3 сутки эксперимента паразиты внешне не отличались от скребней из естественных паратенических хозяев. На светомикроскопических препаратах их тегумент отличался от тегумента скребней из естественных хозяев отсутствием на его поверхности толстого слоя гликокаликса и значительным расширением элементов везикулярного слоя. На 12 и 19 сутки

эксперимента все скребни отличались от 3-дневных паразитов явными признаками дегенерации, которые выражались в истончении тегумента до 10-19 мкм, уплотнении его цитоплазмы, слабой дифференцировке на слои. На 30 сутки наблюдений скребни, как внешне, так и по строению их тегумента не отличались от исследованных паразитов на 3 сутки эксперимента.

Таким образом, инвазия аквариумных рыб скребнем *Corynosoma strumosum* не сопровождается выраженной воспалительной реакцией организма паратенического хозяина. В то же время покровы полученных в результате эксперимента скребней имели явные признаки патологии, включая отсутствие гликокаликса на их поверхности.

## **2.5 Экспериментальное исследование процесса инкапсуляции скребня *Corynosoma strumosum* в неестественном паратеническом хозяине – прыткой ящерице**

Результаты экспериментального заражения представлены в таблице 3.

**Структура тегумента скребня.** Тегумент скребней, полученных в период от 1,5 до 30 дней инвазии, в целом сходен с таковым скребней из естественных паратенических хозяев, однако имеет два заметных отличия. Первое заключается в значительном расширении элементов везикулярного слоя, второе – в отсутствии на их поверхности толстого слоя гликокаликса. На 90 и 105 сутки эксперимента найдены только погибшие скребни.

**Структура капсулы.** В период от 1,5 до 6 дней после начала эксперимента скребней находили одновременно и в просвете кишечника и в полости тела ящериц. Обычно они локализовались в передней части тонкого кишечника, идущей непосредственно за желудком. Независимо от количества скормленных паразитов, в полости тела ящериц или на их внутренних органах в большинстве случаев было найдено по одному скребню и только в двух случаях таких паразитов было два. Большая часть скребней находилась на наружной поверхности кишечника, но в двух случаях они располагались на поверхности печени и еще в одном – на поверхности жирового тела.

Результаты экспериментального заражения прыткой ящерицы *Lacerta agilis* скребнем *Corynosoma strumosum*

№	Длина (см) и пол ящериц	Введено скребней (экз.)	Период инвазии (сут.)	Локализация и число обнаруженных скребней				
				Провет кишечника	Внешняя поверхность кишечника	Внешняя поверхность желудка	Печень	
1	♀	10	1,5	3	1			
2	♀	21	2	6	1			
3	♂	20	2	не обнаружены				
4	♂	15	4	3	1			
5	♂	12	4	6				
6	♂	6	4	2	1			
7		8	4	3	1			
8	♂	10	5	5				
9	♀	13	5	5		1		1
10	♂	16	6	8	1			1
11	♂	8	10		1			
12	♂	20	10	не обнаружены				
13	8,0 ♂	15	25	6				
14	8,9 ♂	15	30		1			
15	8,7 ♂	15	30		2			
16	♂	14	34	не обнаружены				
17	7,6 ♂	15	90	не обнаружены				
18	8,7 ♂	15	90		1			
19	9,1 ♀	15	105		1			
20	8,5 ♀	15	105	не обнаружены				
21	9,6 ♀	20	105	не обнаружены				
22	8,5 ♀	15	105	не обнаружены				
23	6,8 ♀	15	105	не обнаружены				
24	♂	21	572	не обнаружены				

Уже в первые дни инвазии (через 1,5-2 суток) скребни, проникшие сквозь стенку кишечника ящериц, были заключены в довольно толстую капсулу, состоящую из нескольких рыхлых слоев клеток, главным образом макрофагов, в меньшем количестве – фибробластов и гранулярных лейкоцитов двух типов. Также в составе капсулы, чаще вблизи покровов скребней, обнаруживались отдельные многоядерные клетки (симпласты). На 25 сутки инвазии скребни были обнаружены только в кишечнике ящериц. На 30 сутки эксперимента скребни в кишечнике

ящериц отсутствовали и обнаруживались только в полости их тела. Они были окружены капсулами, клетки которых, в отличие от клеток капсул на предыдущих сроках инвазии, располагались плотно, и межклеточные пространства были минимальными. Кроме того, многоядерные клетки уже были организованы в небольшие группы, располагались в непосредственной близости от тегумента паразита и часто образовывали сплошной ряд. На 90 и 105 сутки после заражения было найдено по одному погибшему скребню. При свето-микроскопическом изучении вокруг этих скребней наблюдалось уплотнение капсулы и дифференцировка ее на два четких слоя: внутренний, образованный исключительно многоядерными клетками, и наружный, состоящий из плотно расположенных клеток разных типов. Отметим, что если на более ранних сроках многоядерные клетки в капсуле встречались поодиночке или группами, то на данном этапе эксперимента многоядерные клетки образовывали уже сплошной внутренний слой. На срезе одной такой многоядерной клетки насчитывалось до 25 ядер. В некоторых из них были видны структуры, напоминающие фагосомы; характер и окраска их содержимого совпадает с таковыми остатков паразита. От внутренней поверхности этих клеток по направлению к погибшему скребню отходят многочисленные короткие и узкие отростки.

Таким образом, в ящерице скребень *Corynosoma strumosum* окружается капсулой, в составе которой преобладают макрофаги и многоядерные клетки. Мы полагаем, что в ящерицах скребни могут выживать не менее месяца, после чего они дегенерируют в результате реакции организма хозяина, в которой клеточный ответ, возможно, играет первостепенную роль. По всей вероятности, успех ответной клеточной реакции хозяина в значительной степени обусловлен отсутствием на поверхности паразита толстого слоя гликокаликса, подобного имеющемуся у скребней из естественных паратенических хозяев.

## ВЫВОДЫ

1. На примере скребня *Corynosoma strumosum* впервые показано, что его взаимоотношения с естественными паратеническими хозяевами морфологически выражаются не только в окружении гельминта сплошной многослойной капсулой из клеток хозяина, но и в образовании им толстого слоя гликокаликса на своей поверхности.
2. Капсулы, окружающие кориносом в естественных паратенических хозяевах разных видов, различаются по соотношению фибробластов и лейкоцитов, входящих в их состав. По этому признаку выделены три модификации капсул: «фибробластическая» (в тихоокеанской зубастой и обыкновенной малоротой корюшках, тихоокеанской наваге), «лейкоцитарная» (в желтоперой камбале, толстошкеке Миддендорфа, керчаке Стеллера) и «промежуточная» (в пятнистом терпуге).
3. Экспериментально подтверждена способность скребней *C. strumosum* к однократному passage из одного естественного паратенического хозяина в другого.
4. В инкапсуляции скребней *C. strumosum* в естественном паратеническом хозяине – толстошкеке Миддендорфа, полученных в результате однократного passage, первоначально участвуют лейкоциты; позднее в процесс формирования капсулы вовлекаются фибробласты.
5. В неестественном паратеническом хозяине – аквариумной рыбе скребни *C. strumosum* не образуют слоя гликокаликса и находятся в состоянии дегенерации, а в составе окружающей их капсулы преобладают фибробласты.
6. В неестественном паратеническом хозяине – прыткой ящерице скребни *C. strumosum* не образуют толстого слоя гликокаликса, окружаются капсулой, в составе которой преобладают макрофаги и многоядерные клетки, и, в итоге, погибают.
7. Новообразование толстого слоя гликокаликса на поверхности тегумента, вероятно, является одним из механизмов защиты скребня *C. strumosum* от ответной клеточной реакции хозяина.

## ОСНОВНЫЕ РАБОТЫ, ОПУБЛИКОВАННЫЕ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Никишин, В.П. Инкапсуляция скребней *Corynosoma sp.* в резервуарных хозяевах двух видов / В.П. Никишин, **Е.М. Скоробрехова** // Доклады Академии Наук. – 2007. – Т. 417, № 4. – С. 566-569.

2. Скоробрехова, Е.М. Особенности инкапсуляции метацеркарий двух видов трематод в коже и мускулатуре бурого морского петушка *Alectrias alectrolophus* (Pallas, 1814) / **Е.М. Скоробрехова** // Биология моря. – 2009. – Т. 35, № 2. – С. 153-158.

3. Скоробрехова, Е.М. Инкапсуляция скребня *Corynosoma strumosum* в рыбе *Hemichromis bimaculatus*: предварительное экспериментальное изучение / **Е.М. Скоробрехова**, В.П. Никишин // Вестник СВНЦ ДВО РАН. – 2012. – № 3. – С. 52-58.

4. Скоробрехова, Е.М. Зависимость строения капсулы, окружающей скребня *Corynosoma strumosum*, от видовой принадлежности естественного паратенического хозяина / **Е.М. Скоробрехова**, В.П. Никишин // Известия РАН. Серия биологическая. – 2013. – № 6. – С. 696-712.

5. Skorobrechova, E.M. Structure of capsule surrounding acanthocephalans *Corynosoma strumosum* in paratenic hosts of three species / **Е.М. Skorobrechova**, V.P. Nikishin // Parasitology Research. – 2011. – Vol. 108. – Pp. 467-475.

6. Skorobrechova, E.M. Structure of capsule around acanthocephalan *Corynosoma strumosum* from uncommon paratenic hosts – lizards of two species / **Е.М. Skorobrechova**, V.P. Nikishin, O.I. Lisitsyna // Parasitology Research. – 2012. – Vol. 110, Issue 1. – Pp. 459-467.