

УЛЬТРАТОНКОЕ СТРОЕНИЕ *NUTTALLIA MUSCULI*
MURATOV, 1966 (PIROPLASMIDA)

М. В. Крылов, Л. А. Костенко и Е. С. Снигиревская

Всесоюзный научно-исследовательский институт по болезням птиц
и Институт цитологии АН СССР, Ленинград

С помощью электронного микроскопа изучена на эритроцитарной стадии развития ультраструктура *Nuttallia musculi* Muratov — кровепаразита домашней мыши (*Mus musculus*). Обнаружены и исследованы два типа паразитических клеток — трофозоиты и мерозоиты.

Изучение ультратонкого строения паразитических простейших представляет большой интерес для понимания их функционального состояния на разных стадиях развития, а также взаимоотношений между паразитом и хозяином. В последнее время много внимания уделяется ультраструктуре паразитов с неясным систематическим положением, объединяемых в группу пироплазмид. Опубликован ряд работ по строению кровепаразитов, относящихся к родам: *Babesia* (Simpson a. oth., 1967; Büttner, 1968; Friedhoff u. Scholtyssek, 1968, 1969; Dennig a. Hebel, 1969; Friedhoff, 1969, 1970), *Theileria* (Büttner, 1966, 1967a; Jarrett a. Brocklesby, 1966), *Anthemiosoma* (Vivier, Petitprez, 1969, 1972), *Nuttallia* (Rudzinska a. Trager, 1957, 1962; McMillan a. Brocklesby, 1971). Несмотря на проведенные исследования, многое еще остается неясным в ультратонкой организации пироплазмид. В значительной мере это относится к представителям рода *Nuttallia*.

В настоящей статье приведены результаты исследования некоторых особенностей ультратонкого строения *N. musculi* — кровепаразита домашних мышей (*Mus musculus*), впервые выделенного и описанного в Таджикистане Муратовым (1966). Штамм поддерживался путем пассирования на мышках (*Mus musculus* var. *alpinus* и линейных СС57ВВ). Кровь от зараженных мышей брали из сонной артерии. Материал фиксировали 1% раствором OsO₄ по Колфилду (Caulfield, 1957) и заливали в аралдит. Срезы контрастировали цитратом свинца по Рейнольдсу (Reynolds, 1963) и уранил-ацетатом по Ватсону (Watson, 1961). Препараты изучали в электронных микроскопах JEM-5g и УЭМВ-100 к.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

С помощью световой микроскопии в мазках крови от зараженных мышей удается рассмотреть самые различные эритроцитарные формы паразитов: круглые, овальные, амебидные, грушевидные и т. д. Такой полиморфизм свидетельствует о сложном цикле развития *N. musculi*, происходящем в позвоночном хозяине. Из всего разнообразия эритроцитарных форм наиболее характерной для рода *Nuttallia* считается форма «мальтийского креста», когда паразиты расположены в эритроците в виде розетки (França, 1910). Подобное расположение паразитов — своеобразный процесс шизогонии, в результате которого формируется небольшое количество дочерних особей.

В настоящей работе с помощью электронной микроскопии в эритроцитах мышей были обнаружены два типа паразитических клеток, отличающихся друг от друга некоторыми деталями структуры. Это овальной и амeboидной формы трофозоиты — питающаяся стадия и стадия расселения — округлые мерозоиты. Клетки обоих типов располагаются в цитоплазме эритроцитов, плотно прилегающей к паразиту. Цитоплазма эритроцитов тесно граничит с плазматической мембраной паразитической клетки; паразитофорной вакуоли, известной у многих других внутриклеточных паразитов (Aikawa, 1966; Aikawa a. oth., 1966; Aikawa, Huff a. Sprinz, 1966, 1967; Ladda a. oth., 1969; Scholtyseck, 1969), нами не установлено. Плотность цитоплазмы эритроцита очень высокая, благодаря чему в некоторых случаях плазматическая мембрана паразита маскируется и на срезах может быть не выявлена.

Часто паразиты поражают молодые формы эритроцитов. Ультраструктура молодых эритроцитов несколько отличается от ультраструктуры зрелых. Для них характерна меньшая плотность цитоплазмы, а также наличие дегенерирующих митохондрий (рис. 1). Кроме того, в молодых эритроцитах описан так называемый процесс рофеоцитоза, представляющий частный случай пиноцитоза (Policard et Bessis, 1958). Довольно часто можно наблюдать рофеоцитозные пузырьки в молодых эритроцитах, пораженных паразитами (рис. 1). Прослеживается связь этих пузырьков с плазматической мембраной молодого эритроцита. Наблюдаются разные стадии их отшнуровывания от поверхности и миграция в цитоплазму.

Т р о ф о з о и т ы. Растущие трофозоиты — клетки овальной или амeboидной формы. Для паразитов на этой стадии развития характерно наличие одной плазматической мембраны, ограничивающей клетку паразита. Она плотно прилегает к цитоплазме эритроцита (рис. 1—5). Ядро трофозоита окружено двумя мембранами с выраженным перинуклеарным пространством. Нуклеоплазма равномерно гранулирована, ядрышко не выявлено (рис. 2—5). Наблюдались картины бинарного деления ядра с синхронным расхождением ядерного вещества и цитоплазмы (рис. 5). Наряду с этим способом деления ядер встречаются паразиты, содержащие 3—5 ядер, объединенных одной цитоплазмой. Отпочковывание юных паразитов от многоядерного плазмодия осуществляется асинхронно (рис. 4). В цитоплазме растущего трофозоита встречаются немногочисленные каналы и цистерны шероховатой эндоплазматической сети и довольно большое количество свободных рибосом (рис. 1—5).

Во всех клетках *N. musculi* обнаруживаются своеобразные структуры, часто неправильной или вытянутой формы, иногда с волнистым контуром. Это полости различной электронной плотности, ограниченные двумя, в некоторых местах тремя концентрическими мембранами, плотно прилегающими друг к другу. Просвет этих структур может достигать 0.2—1.0 мк. Внутри цистерн по их периферии наблюдаются редкие скопления рыхлого электронноплотного материала, а также небольшие фрагменты мембран (рис. 1, 2, 8, 10). Аналогичные образования, обнаруженные у паразитов из рода *Plasmodium*, паразитирующих в эритроцитах млекопитающих (Rudzinska, 1970), и паразитов из рода *Nuttallia* (Rudzinska, Trager, 1962; McMillan, Brocklesby, 1974), интерпретируются как примитивные митохондрии. Эта трактовка нам кажется наиболее правдоподобной. Помимо этих структур в цитоплазме трофозоита встречаются небольшие образования округлой или овальной формы с электронноплотным содержимым, ограниченные одной мембраной. Возможно, что эти структуры аналогичны лизосомам (рис. 3). Кроме того, в цитоплазме трофозоита видны небольшие пузырьки, окруженные мембраной с электроннопрозрачным содержимым. Размер, форма и электроннопрозрачное содержимое этих пузырьков подобны таковым рофеоцитозных пузырьков цитоплазмы молодых эритроцитов. В некоторых случаях удается наблюдать тесный контакт рофеоцитозных пузырьков молодого эритроцита с плазматической мембраной паразита (рис. 1). Все это дает нам основание

предполагать транспорт рофеоцитозных пузырьков молодых эритроцитов в цитоплазму паразитической клетки.

Часто можно видеть трофозоиты амебоидной формы (рис. 2). В цитоплазме паразита образуются глубокие впячивания, заполненные цитоплазмой эритроцита. Довольно подробно этот способ питания был изучен у фораминифер *Allogromia laticollaris* (Wohlfarth-Bottermann und Lengsfeld, 1969), а затем у *A. garnhami* на серийных срезах (Vivier et Petitprez, 1972). Предполагается, что пищеварение в этих случаях осуществляется в лакунах, т. е. вне клетки. Для других кровепаразитов эти картины трактуются как процесс фагоцитоза (Aikawa, 1966; Aikawa a. oth., 1966; Büttner, 1966, 1967, 1967a, 1968; Vivier et Petitprez, 1969; McMillan a. Brocklesby, 1971). У *N. musculi* не удалось обнаружить каких-либо специализированных структур, ответственных за процессы транспорта питательных веществ.

Трофозоиты *N. musculi* часто лежат в молодых эритроцитах в количестве 2—3. В некоторых случаях наблюдается очень тесный контакт между ними. Плазматические мембраны двух соседних паразитических клеток плотно прилегают друг к другу. На рис. 6 видна инвагинация цитоплазмы одного паразита в цитоплазму другого. В одном случае удалось наблюдать образование цитоплазматического выроста, идущего от одного трофозоида к другому (рис. 7). Интересные картины, напоминающие переход бактериоподобного тела из одной клетки в другую через цитоплазматический мостик, были обнаружены у паразитов из разных серий срезов (рис. 9).

Мерозоиты. В нашем материале обнаружены лишь поперечные срезы, удаленные от апикальной части мерозоитов *N. musculi*. В связи с этим нам осталась неизвестной структура их переднего полюса, которая специфична для паразитов, находящихся на этой стадии развития. В отличие от трофозоитов, ограниченных одной плазматической мембраной, клетки мерозоитов ограничены тремя мембранами. Под первой плазматической мембраной, на расстоянии 200—250 Å от нее находится утолщенный внутренний пелликулярный слой, который в виде замкнутых уплощенных мешочков, ограниченных двумя мембранами, с перерывами, иногда довольно значительными, опоясывает клетку мерозоида (рис. 10).

Ядро мерозоида округлой формы и ограничено двумя мембранами. В нуклеоплазме равномерно рассеяны осмиофильные гранулы. Ядрышко не обнаружено. В цитоплазме мерозоида видны овальные структуры, ограниченные несколькими концентрическими мембранами, имеющие сходство с аналогичными образованиями у трофозоитов, которые мы склонны считать митохондриями (рис. 8, 10). Имеется незначительное количество рибосом. Пищеварительные вакуоли и пиноцитозные пузырьки в цитоплазме мерозоитов не наблюдались. В цитоплазме трофозоитов и мерозоитов обнаружены тела, по своей структуре очень похожие на бактерий (рис. 3, 4, 8, 9).

Л и т е р а т у р а

- М у р а т о в Е. А. 1966. Кровепаразит рода *Nuttallia* França от домашней мыши (*Mus musculus* L.). ДАН ТаджССР, 9 (5) : 34—37.
- А и к а в а М. 1966. The fine structure of the erythrocytic stages of three avian malarial parasites, *Plasmodium fallax*, *P. lophurae* and *P. cathemerium*. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 15 : 449—471.
- А и к а в а М., Н е п л е р С., Н у ф ф С. Г. and С p r i n z Н. 1966. The feeding mechanisms of avian malaria parasites. J. Cell. Biol., 28 (2) : 355—373.
- А и к а в а М., Н у ф ф С. Г. and С p r i n z Н. 1966. Comparative feeding mechanisms of avian and primate malarial parasites. Military Medicine, 131 (9), suppl. : 969—983.
- А и к а в а М., Н у ф ф С. Г. and С p r i n z Н. 1967. The fine structure of the asexual stages of *Plasmodium elongatum*. J. Cell. Biol., 34 (2) : 229—249.
- В ü t t n e r D. W. 1966. Über die Feinstruktur der Erythrocyten Formen von *Theileria mutans*. Z. tropenmed. Parasit., 17 : 397—406.
- В ü t t n e r D. W. 1967. Die Feinstruktur der Merozoiten von *Theileria parva*. Z. tropenmed. Parasit., 18 : 224—244.

- Büttner D. W. 1967a. Elektronenmikroskopische Studien der Vermehrung von *Theileria parva* im Rind. Z. tropenmed. Parasit., 18 : 248—268.
- Büttner D. W. 1968. Vergleichende Untersuchungen der Feinstruktur von *Babesia gibsoni* und *Babesia canis*. Z. tropenmed. Parasit., 19 (3) : 330—342.
- Caulfield J. B. 1957. Effects of varying the vehicle for OsO₄ in tissue fixation. J. Biophys. Biochem. Cytol., 3 : 827—830.
- Denning H. K. and Hebel R. 1969. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an zwei *Babesia*-Arten der Feliden. Z. Parasitenkund., 32 : 95—111.
- França C. 1910. Sur la classification des piroplasmes et description de deux formes de ces parasites. Arch. Real. Inst. Bacteriol Camara Pestana, 3 : 11—18.
- Friedhoff K. 1969. Lichtmikroskopische Untersuchungen über die Entwicklung von *Babesia ovis* (Piroplasmidea) in *Rhipicephalus bursa* (Ixodoidea): 1. Die Entwicklung in weiblichen Zecken nach der Repletion. Z. Parasitenk., 32 : 191—219.
- Friedhoff K. 1970. Studies on the fine structure of *Babesia bigemina*, *B. divergens* and *B. ovis*. J. Parasitol., 56 (4) : 110.
- Friedhoff K. und Scholtyssek E. 1968. Fine structure of *Babesia ovis* trophozoites in *Rhipicephalus bursa* ticks. J. Parasitol., 54 (6) : 1246—1250.
- Friedhoff K. und Scholtyssek E. 1969. Feinstrukturen der Merozoiten von *Babesia bigemina* im ovar von *Boophilus microplus* und *Boophilus decoloratus*. Z. Parasitenk., 32 : 266—283.
- Jarrett W. F. H. and Brocklesby D. W. 1966. A preliminary electron microscopic study of east coast fever (*Theileria parva* infectia). J. Protozool., 13 (2) : 301—310.
- Ladda R., Aikawa M. and Sprinz H. 1969. Penetration of erythrocytes by merozoites of Mammalian and Avian malarial parasites. J. Parasitol., 55 (3) : 633—644.
- McMillan W. G. and Brocklesby D. W. 1971. The fine structure of intraerythrocytic stages of *Nuttallia* (*Babesia*) *microti*. Res. vet. Sci., 12 (2) : 185—186.
- Policard A. et Bessis M. 1958. Sur une mode d'incorporation des macromolécules par la cellule visible au microscope électronique: La rhopheocytose. Compt. Rend. Acad. Sci., 246 : 3194.
- Reynolds E. S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. J. Cell. Biol., 17 (4) : 208—212.
- Rudzinska M. A. 1970. Fine structure of mitochondria in blood Protozoa. J. Parasitol., 56 (4) : 293.
- Rudzinska M. and Trager W. 1957. The fine structure of *Babesia rodhaini*. J. Protozool., 4, suppl. : 11.
- Rudzinska M. and Trager W. 1962. Intracellular phagotrophy in *Babesia rodhaini* as revealed by electron microscopy. J. Protozool., 9 (3) : 279—288.
- Scholtyssek E. 1969. Electron microscope studies of the effect upon the host cell of various developmental stages of *Eimeria tenella* in the natural chicken host and in tissue cultures. Acta vet. (Brno), 38 : 153—156.
- Simpson C. F., Kirkham W. W. and Kling F. M. 1967. Comparative morphologic features of *Babesia caballi* and *B. equi*. Am. J. Vet. Res., 28 (127) : 1693—1697.
- Vivier E. et Petitprez A. 1969. Observations ultrastructurales sur l'hématozoaire *Anthemiosoma garnhami* et examen de critères morphologiques utilisables pour la taxonomie chez les Sporozoaires. Protistologica, 5 (3) : 363—369.
- Vivier E. et Petitprez A. 1972. Etude du système vacuolaire de l'hématozoaire *Anthemiosoma garnhami* à l'aide des coupes sériées et de reconstitutions tridimensionnelles. J. Ultrastructure Res., 41 : 219—237.
- Watson M. L. 1961. Staining of tissue sections for electron microscope with heavy metals. J. Biophys., Biochem., Cytol., 4 : 475—478.
- Wohlfarth-Bottermann H. E. und Lengsfeld A. 1969. Nahrungsaufnahme und Verdauung bei Foraminiferen. Progress in Protozool. III-rd Int. Cong. Protozool., 50 : 179—180.

ULTRAFINE STRUCTURE OF *NUTTALLIA MUSCULI* MURATOV, 1966
(PIROPLASMIDA)

M. V. Krylov, L. A. Kostenko and E. S. Snigirevskaya

S U M M A R Y

Ultrastructure of *Nuttallia musculi* Muratov, 1966, a bloodparasite of *Mus musculus*, was studied by means of electron microscopy. Two types of parasitic cells were found in erythrocytes as follows: growing and actively feeding ones — trophozoites and young migrating ones — merozoites. Trophozoites of *N. musculi* are limited by one plasmatic membrane, the wall of merozoites consist of three plasmatic membranes. Both types of cells contain ribosome, mitochondria and rough endoplasmatic system. In the cytoplasm of trophozoites can occur lyzosomelike formations. The presence of conoid, roptria micronemae and ultracytostome in merozoites was not established. The feeding of trophozoites is apparently proceeds by means of pinocytosis. Bacteriallyke bodies are often found in the cytoplasm of *Nuttallia*.

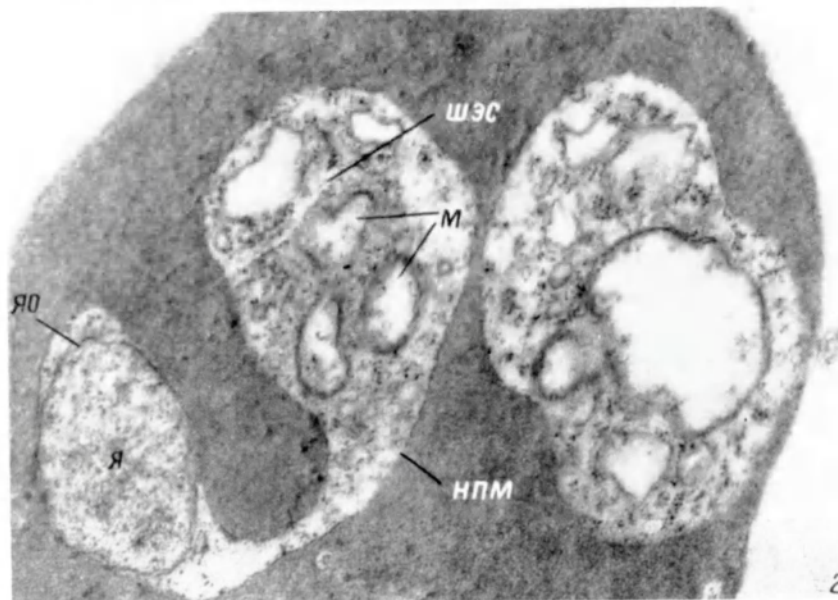
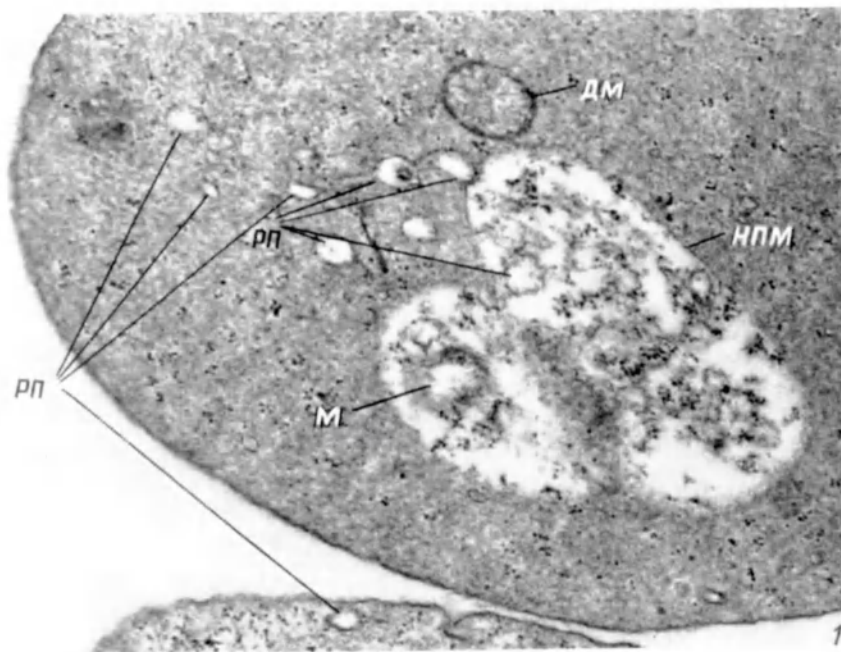


Рис. 1—2. Ув. 35 000.

1 — растущий трофозонт *N. muscili* в молодом эритроците; 2 — питающийся трофозонт *N. muscili*. НПМ — наружная плазматическая мембрана трофозонта; М — митохондрия; рп — рофецитарные пузырьки молодого эритроцита; ДМ — дегенерирующая митохондрия молодого эритроцита; Я — ядро; ЯО — ядерная оболочка; ШЭС — шероховатая эндоплазматическая сеть.

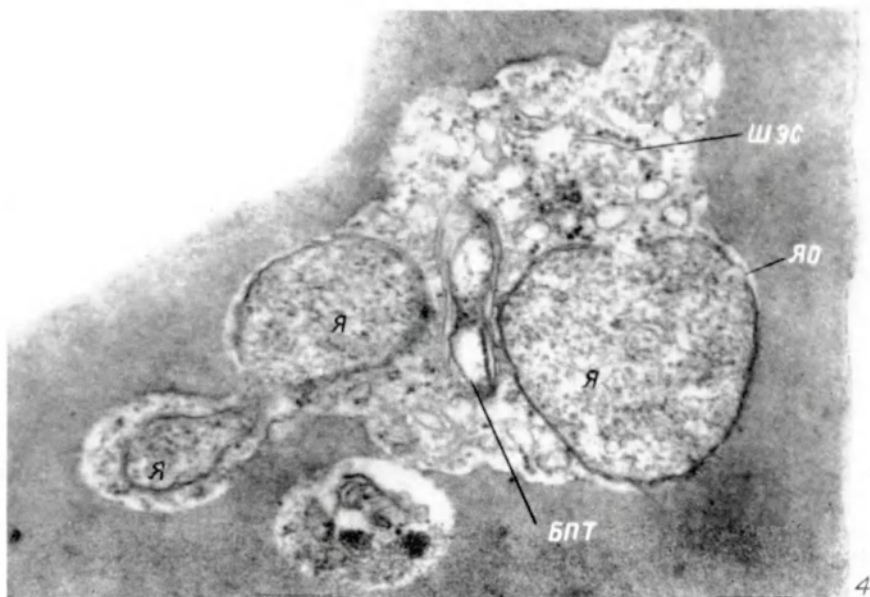
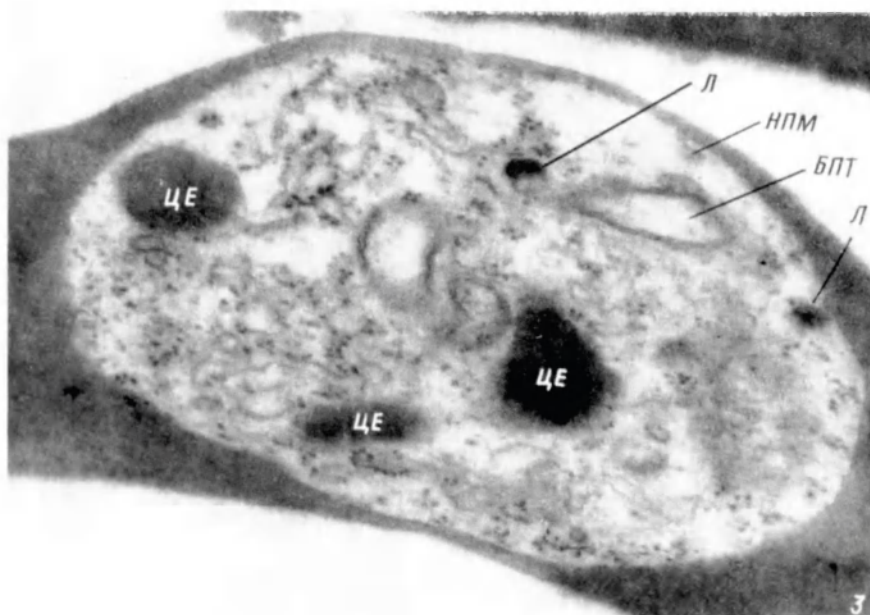


Рис. 3—4. Ув. 35 000.

3 — питающиеся трофозонты *N. musculi*; 4 — асинхронно почкующийся много-ядерный трофозонт. БПТ — бактериоподобное тело; Л — лизосомы; ЦЕ — цитоплазма эритроцита. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1—2.

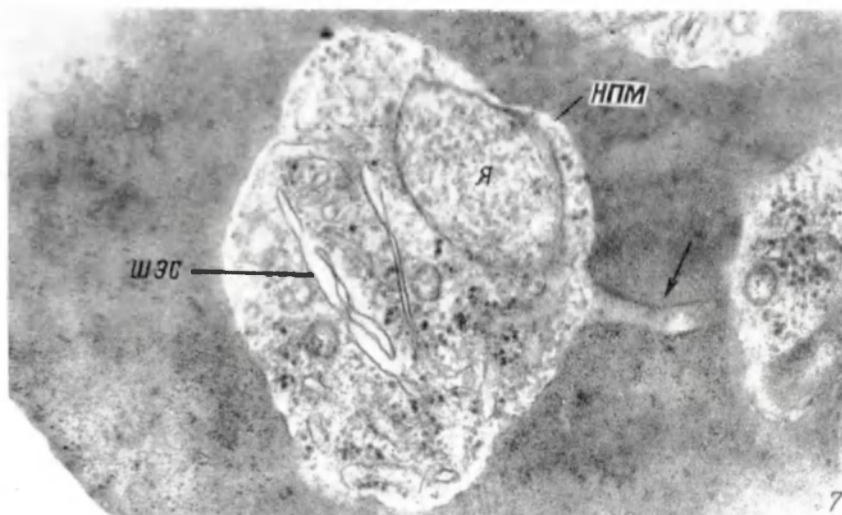
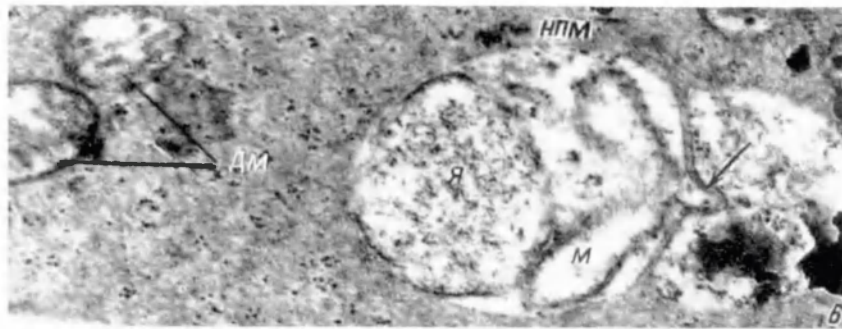
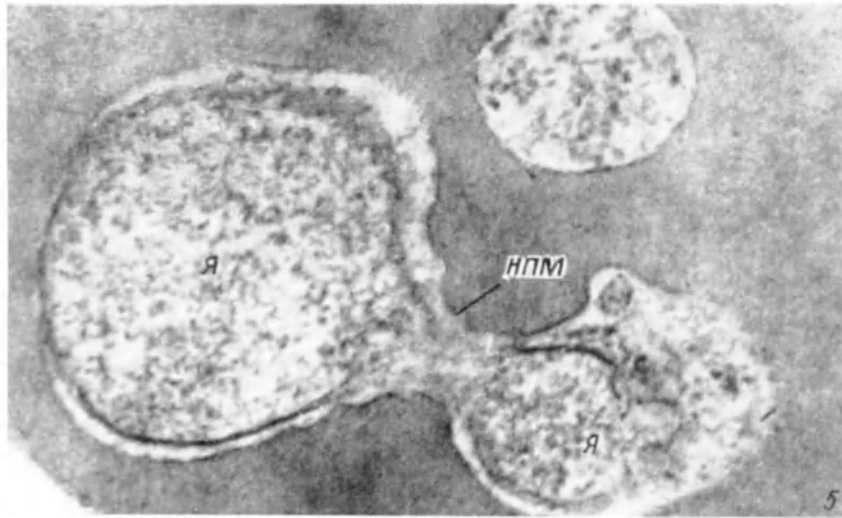
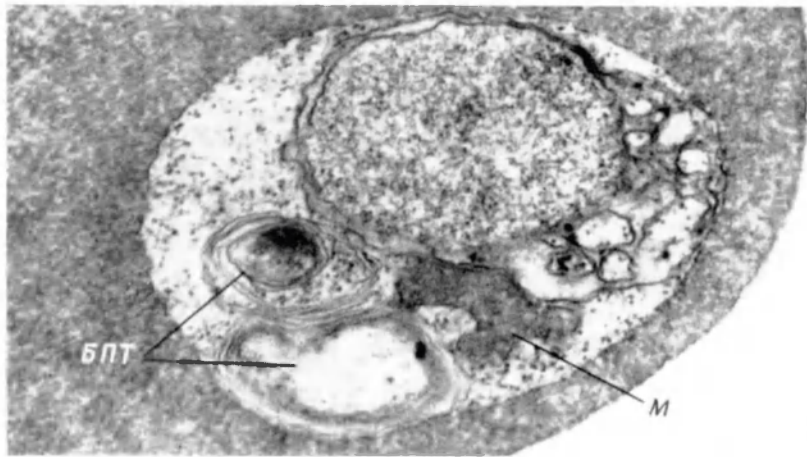
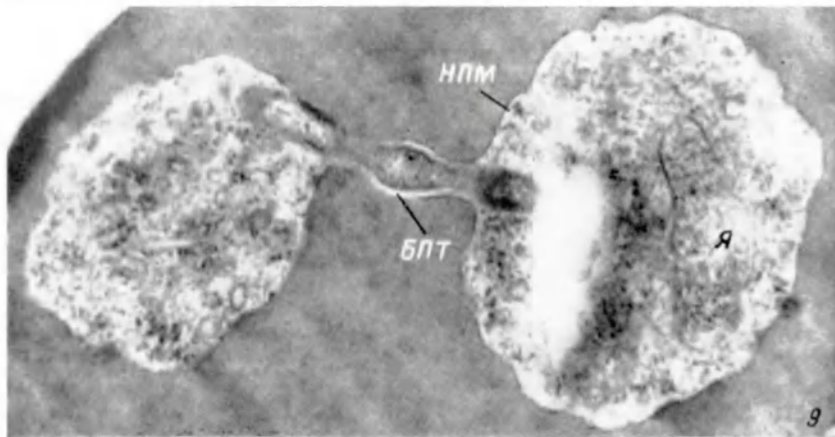


Рис. 5—7. Ув. 35 000.

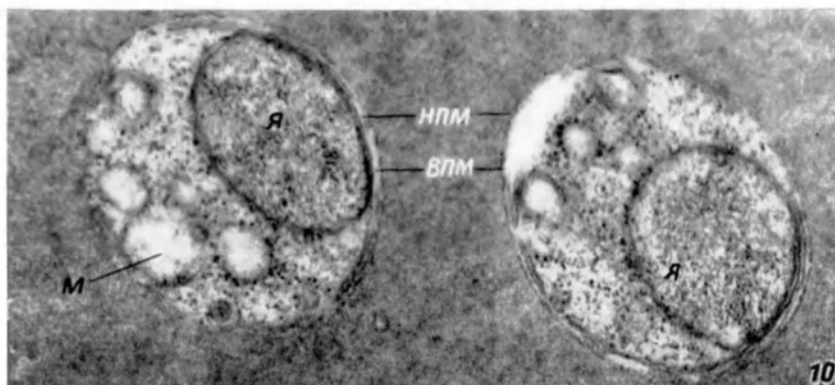
5 — бинарное деление паразита; 6 — инвагинация цитоплазмы одного паразита в цитоплазму другого; 7 — образование цитоплазматического выроста (стрелка). Обозначения те же, что и на рис. 1—2.



8



9



10

Рис. 8—10. Ув. 35 000.

8 — бактериоподобное тело в цитоплазме трофозонта; 9 — переход бактериоподобного тела через цитоплазматический мостик (стрелка); 10 — мерозонты *N. musciv.* ВПМ — внутренние пелликулярные мембраны. Остальные обозначения те же, что и на рис. 5—7.