

УДК 576.893.1 : 597.585.1

ОСОБЕННОСТИ ПАРАЗИТО-ХОЗЯИНЫХ ВЗАИМОТНОШЕНИЙ ПРИ ВНУТРИКЛЕТОЧНОМ ПАРАЗИТИРОВАНИИ НЕКОТОРЫХ МИКСОСПОРИДИЙ

А. В. Успенская

Методами электронной и световой микроскопии и цитохимии были изучены взаимоотношения клетки хозяина и плазмодиев миксоспоридий *Henneguya oviperda* — паразита яйцеклетки щуки *Esox lucius* и *Kudoa quadratum* — паразита мышечного волокна бычка *Myoxocephalus scorpius*. Установлено отсутствие паразитофорной вакуоли и капсул как производных клетки хозяина, так и паразита, отграничивающих плазмодий от цитоплазмы ооцита или саркоплазмы мышечного волокна. Приводятся доказательства ускорения накопления желтка в зараженной икринке по сравнению со здоровой. Обсуждаются сведения об обмене веществ у изученных миксоспоридий.

Известно небольшое количество видов миксоспоридий, являющихся типичными внутриклеточными паразитами, цикл развития которых протекает внутри одной клетки хозяина вплоть до завершения спорогенеза. К таким видам относится паразит икринки щуки (*Esox lucius*) — *Henneguya oviperda* и паразит мышечного волокна бычка (*Myoxocephalus scorpius*) — *Kudoa quadratum*.

Проблеме паразито-хозяйинных отношений при внутриклеточном паразитизме в последние годы уделяется большое внимание (Райкова, 1963; Ball, 1969; Громов, 1976; Полянский, 1978, 1985; Бейер и др., 1978, и др.). Различается несколько форм внутриклеточного паразитизма: паразитирование одноклеточного эукариотного организма в эукариотной клетке, одноклеточного организма в клетке одноклеточного же, одноклеточного организма в клетке многоклеточного, многоклеточного организма в клетке многоклеточного, прокариотного организма в эукариотной клетке, вирусов и фагов в эукариотной и прокариотной клетке. Как отмечает Полянский (1978), при паразитировании одноклеточного организма внутри клетки эукариотного хозяина возникает ряд адаптаций, обеспечивающих их проникновение в клетку хозяина и дальнейшее сосуществование клетки хозяина и паразита. Само проникновение паразита внутрь клетки представляет собой сложный процесс. В большинстве случаев он связан с инвагинацией наружной мембраны клетки хозяина. В результате между паразитом и клеткой хозяина возникает пространство — паразитофорная вакуоль, через которую осуществляется все взаимодействие паразита с клеткой хозяина. Обычно лизосомы клетки хозяина не сливаются с паразитофорной вакуолью. Существуют какие-то барьеры, препятствующие этому процессу. Если же лизосомы проникают в паразитофорную вакуоль, то она превращается в фагосому, и это приводит к гибели и перевариванию паразита.

В других случаях (при паразитировании аделейных кокцидий) вокруг внутриклеточного паразита возникает капсула, в формировании которой принимают участие вещества, образующиеся в результате синтетической деятельности клетки хозяина, в данном случае эритроцита (Bayer, 1977). Капсула

возникает и в случае паразитирования многоклеточного паразита *Polypodium hydriforme* (кишечнополостное) в клетке многоклеточного хозяина (ооцит осетровых рыб). Капсула отграничивает столон полиподиума от цитоплазмы ооцита (Райкова, 1963), но в данном случае это производное не клетки хозяина, а развивается она, по данным Райковой, из направительного тельца — продукта второго деления созревания ооцита полиподиума и несет трофическую функцию. Обозначается она как трофамнион (Райкова, 1980).

По имеющимся данным, внутриклеточный паразитизм одноклеточного паразита в клетке многоклеточного хозяина завершается либо бесполом размножением паразита, либо образованием гамет, что приводит к гибели клетки хозяина (Полянский, 1978). Однако, как пишет Полянский, этому завершающему акту предшествует более или менее длительный период активного сопротивления клетки хозяина паразиту, в процессе которого весь ее метаболизм перестраивается. Сплошь и рядом эта перестройка сопровождается усилением метаболизма, что способствует развитию паразита. Например, при паразитировании токсоплазм в клетке хозяина повышается окислительно-восстановительная активность (Бейер и др., 1978), увеличивается число митохондрий. В ооците осетровых третьей стадии зрелости, пораженном полиподиумом, отмечается большее количество гликогена по сравнению со здоровой икринкой (Райкова, 1963).

В одних случаях ядро клетки хозяина остается незатронутым в течение какого-то срока, и в нем протекают те же процессы, что и в здоровой клетке. В других случаях в ядре индуцируется дополнительный синтез ДНК (Райкова, 1963; Бейер, Шибалова, 1974).

В свете этих данных интересно также изучение паразито-хозяинных взаимоотношений при внутриклеточном паразитировании микроспоридий — организмов, хотя и относимых многими авторами (Шульман, 1966; Иванов, 1968; Успенская, 1984) из-за низкой интеграции их клеток, примитивного полового процесса и гетерофазного жизненного цикла к простейшим, но достигших уже многоклеточности.

В настоящей статье рассмотрены взаимоотношения между плазмодиями *Henneguya oviperda* и *Kudoa quadratum* с клетками хозяев — ооцитом и мышечным волокном.

МАТЕРИАЛ И МЕТОД

Материал по *Henneguya oviperda* был получен с живорыбной базы. Ленинградская живорыбная база получает шук дважды в год: в декабре—январе и в апреле—мае, когда шука идет на нерест. В икринках рыб, полученных в эти сроки, были обнаружены плазмодии *H. oviperda*.

В декабрьских и январских пробах паразиты находились уже на достаточно продвинутой стадии спорогенеза. В центральной части плазмодия можно было видеть сформированные споры, в периферической зоне располагались начальные стадии спорогенеза — панспоробласты и стадии деления спорогенных клеток. В наших широтах шука приступает к нересту в апреле—мае. К моменту икротетания приурочено и созревание спор внутри паразита. Икринки, набитые спорами, выводятся во внешнюю среду. Заражение шуки происходит в районе нерестилищ; ранние стадии развития плазмодиев надо искать в летнее время. В нашем зимнем и весеннем материале они не попадались.

Материал по *Kudoa quadratum* собирали на Белом море на Беломорской биологической станции АН СССР в разные годы: в июне—августе и в сентябре. В этих пробах не было обнаружено ранних стадий заражения, которые, видимо, надо искать еще в период ледостава. В плазмодиях можно было наблюдать различные стадии спорогенеза.

Собранных плазмодиев фиксировали для электронно-микроскопических и цитохимических исследований. В них выявляли гликоген, нейтральный жир,

общий белок, ДНК, РНК, сукцинатдегидрогеназную и лактатдегидрогеназную активность. Контролем служили незараженные икринки и мышечные волокна.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Электронно-микроскопические исследования показали, что вокруг плазмодия *Henneguya oviperda* не образуется паразитофорной вакуоли. Не возникает вокруг него и капсулы, подобной той, которая существует вокруг кровяных кокцидий (производное клетки хозяина) или вокруг *Polypodium hydriforme* (производное паразита) (Baer, 1977; Райкова, 1980). Наружная мембрана плазмодия *H. oviperda* примыкает к глыбкам желтка икринки хозяина (см. рисунок, 1; см. вкл.) либо на той стадии заражения, когда желток уже весь израсходован паразитом, либо прямо к внутренней стороне оболочек икринки.

Отсутствие паразитофорной вакуоли и каких бы то ни было капсул отмечено нами и при заражении мышечного волокна бычка *Kudoa quadratum* (см. рисунок, 2). В этом случае наружная мембрана плазмодия соприкасается либо с мембраной мышечного волокна, либо с пучками протофибрилл и саркоплазмой. Пучки протофибрилл лизируются ферментами, выделяемыми плазмодием; кроме того, фрагменты их могут фагоцитироваться (Успенская, 1984; 1985).

В нашем материале и на ультратонких, и на парафиновых срезах уже за 4—5 мес до нереста щуки не удается обнаружить ядро в зараженном *H. oviperda* ооците. Повреждение его происходит на более ранних стадиях заражения. Однако уже к этому моменту в зараженной икринке оказывается большое количество желтка, что говорит об убыстрении его накопления по сравнению со здоровой икринкой, в которой к этому времени лишь начинается его формирование. Ядро в здоровом ооците этого времени занимает центр клетки и содержит ядрышки, расположенные по периферии (см. рисунок, 3).

Поскольку в вопросе о вителлогенезе у рыб нет еще окончательной ясности (Айзенштадт, 1984) и некоторые авторы считают, что у них образуется не только экзогенный, но и эндогенный желток (Айзенштадт, 1984; Beams, Kessel, 1973; Hessen, Engels, 1973), то трудно говорить о том, каким образом убыстрится накопление желтка в зараженной микроспоридиями икринке, за счет ли усиления пиноцитозной активности у ооцита или усиления образования эндогенного желтка под влиянием паразита. Этот момент требует специальных исследований. Икринка щуки, зараженная *H. oviperda*, так же как это характерно при заражении икры осетровых *Polypodium hydriforme*, во много раз крупнее незараженных икринок (см. рисунок, 4).

В отличие от *Polypodium*, столон которого располагается по периферии икринки, плазмодий *Henneguya oviperda*, имеющий округлую форму, по мере роста занимает центральную часть икринки, поэтому ядро ооцита рано смещается к периферии и дегенерирует; но благодаря убыстрению накопления желтка в зараженном ооците паразит все же оказывается снабженным питательными веществами. Под электронным микроскопом можно наблюдать чрезвычайно высокую пиноцитозную активность у плазмодия *H. oviperda*; его эктоплазма пронизана огромным количеством пиноцитозных каналов, заканчивающихся пиноцитозными пузырьками (см. рисунок, 1).

Питательных веществ паразиту хватает для благополучного завершения спорогенеза к моменту выметывания икры. В плазмодии, набитом спорами, почти не остается свободной периферической цитоплазмы. Часто в преднерестовый период плазмодий в зараженной икринке дегенерирует; икринка представляет собой мешок, набитый спорами, который, будучи выметан с остатальной икрой в воду, служит источником массового заражения других особей щуки.

Что касается цитохимических особенностей самого плазмодия *H. oviperda*, то гликоген в его цитоплазме почти отсутствует. Сильную положительную реак-

цию PAS можно наблюдать лишь в иодофильной вакуоли амебоидных зародышей сформированных спор, лежащих обычно в средней части плазмодия, еще не завершившего спорогенез (см. рисунок, 5). Считается, что по количеству гликогена и жира у эндопаразитов можно составить представление о типе их обмена (Brand, 1950, 1952; Марков, 1958; Гинецинская, 1968; Успенская, 1984).

По распределению и количеству гликогена плазмодий *H. oviperda* сходен с плазмодиями миксоспоридий, паразитирующих в жаберных тканях и имеющих аэробный тип обмена веществ (Успенская, 1984). Яичник — орган, хорошо снабжаемый кровью. На срезах часто можно видеть кровеносные сосуды в непосредственной близости от зараженной икринки (см. рисунок, 6). У плазмодия *H. oviperda* выявлена сукцинатдегидрогеназная активность. В этом отношении он резко отличается от другого, изученного нами, внутриклеточного паразита *Kudoa quadratum*, обитающего в мышечном волокне, который, видимо, имеет анаэробный обмен веществ. Плазмодии *K. quadratum* очень богаты гликогеном; у них цитохимически не выявлена сукцинатдегидрогеназная активность, но выявляется лактатдегидрогеназа (Успенская, 1985).

Плазмодий *H. oviperda* оказывает влияние лишь на ту яйцеклетку, в которой он паразитирует. Соседние с зараженной икринки остаются интактными. Общей реакции организма рыбы на заражение *H. oviperda* не обнаружено, но, разрушая икринку, они снижают плодовитость щуки и при ее искусственном разведении могут принести значительный ущерб рыбоводству.

Развитие *K. quadratum* тоже завершается в пределах одного мышечного волокна и к концу спорогенеза волокно превращается в мешок со спорами. Как это видно под электронным микроскопом, соседние с зараженным мышечные волокна остаются совершенно нормальными. Мы выдерживали мясо сильно зараженного *K. quadratum* бычка длительный срок при комнатной температуре и в холодильнике; никакого лизиса мышечной ткани, как отмечено при паразитировании в мышцах некоторых других представителей *Multivalvulea*, она не вызывает (Успенская, 1984).

По мнению некоторых ученых (Pauly, 1974; Halliday, 1974), при заражении рыб тканевыми миксоспоридиями имеет место феномен антигенной мимикрии, при которой плазмодий адсорбирует на своей поверхности антигены хозяина, чем достигается предотвращение или смягчение иммунного ответа на паразита. При паразитировании внутриклеточных миксоспоридий, видимо, вырабатываются какие-то приспособительные реакции, позволяющие им без защиты паразитофорной вакуоли или капсулы жить внутри клетки хозяина, не подвергаясь воздействию лизосомных ферментов последнего, и преодолевать сопротивление его.

Из приведенных данных видно, насколько разнообразна реакция клетки хозяина на внутриклеточного паразита и как по-разному ведут себя сами внутриклеточные паразиты, принадлежащие к разным систематическим группам животного царства. В процессе эволюции паразито-хозяинной системы вырабатываются различные адаптивные свойства, направленные на урегулирование взаимоотношений между ее компонентами и на создание равновесия в этой системе.

Л и т е р а т у р а

- Айзенштадт Т. Б. Цитология оогенеза. М., 1984. 247 с.
(Бейер Т. В.) Вауер Т. Electron microscopic study of Kariolysus sp. (Sporozoa, Adeleidae, Haemogregarinidae) and changes induced in the infected host cell. — Parasitologica, 1977, fasc 1, p. 57—66.
Бейер Т. В., Сиим И. Х., Хатчинсон У. М. Цитохимические исследования разных стадий жизненного цикла *Toxoplasma gondii*. X. Фосфатаза в паразитах на стадии развития из кишечника кошек. — Цитология, 1978, т. 20, № 1, с. 20—25.

- Бейер Т. В., Шибалова Т. А. Увеличение количества ДНК в ядрах клеток слепых отростков кишечника цыпленка при развитии в них шизонтов второй генерации *Eimeria tenella*. — *Паразитология*, 1974, т. 8, вып. 5, с. 449—455.
- Гинецинская Т. А. Трематоды, их жизненный цикл, биология и эволюция. Л., 1968. 411 с.
- Громов Б. В. Микроорганизмы — паразиты водорослей. Л., 1976. 158 с.
- Иванов А. В. Происхождение многоклеточных животных (филогенетический очерк). Л., 1968. 287 с.
- Марков Г. С. Физиология паразитов рыб. — В кн.: Основные проблемы паразитологии рыб. Л., 1958, с. 122—144.
- Полянский Ю. И. Экологические аспекты паразито-хозяйинных отношений при внутриклеточном паразитизме. — В кн.: Итоги и перспективы исследований по паразитологии в СССР (Матер. 1-го Всесоюз. съезда паразитологов). М., 1978, с. 122—132.
- Полянский Ю. И. Внутриклеточный паразитизм — особая форма хозяино-паразитных отношений. — В кн.: Паразитология (теоретические и прикладные проблемы). Киев. 1985, с. 48—56.
- Райкова Е. В. Морфологические и цитохимические изменения в ооцитах стерляди и осетра под влиянием паразитирования *Polypodium hydriforme* Usov (Coelenterata). — *ДАН СССР*, 1963, т. 152, № 4, с. 985—988.
- (Райкова Е. В.) Raikova E. V. Morphology, ultrastructure and development of the parasitic larva and its surrounding trophamnion of *Polypodium hydriforme* Usov (Coelenterata). — *Cell Tissue Res.*, 1980, vol. 206, p. 487—500.
- Успенская А. В. Цитология микоспоридий. Л., Наука, 1984. 112 с.
- (Успенская А. В.) Uspenskaya A. V. Investigations of the ultrastructure and cytochemical peculiarities of *Kudoa quadratum* (Thelohan, 1895), (Myxosporidia, Multivalvulea). — In: Parasitology and pathology of marine organisms of the World Ocean. (Hargis ed.) NOAA Tech. rep. NMPS, N 25, 1985, p. 61—62.
- Шульман С. С. Микоспоридии фауны СССР. М.—Л., Наука, 1966. 506 с.
- Wall G. Organisms living on and in Protozoa. — *Res. Protozool.*, 1969, vol. 3, p. 567—718.
- Wams H. W., Kessel R. G. Oocyte structure and early vitellogenesis in trout, *Salmo gairdneri*. — *Amer. J. Anat.*, 1973, vol. 136, p. 105—120.
- Grand Th. von. The carbohydrate metabolism of parasites. — *J. Parasitol.*, 1950, vol. 36, N 3, p. 178—192.
- Grand Th. von. Chemical physiology of endoparasitic animals. N. Y. Acad. Press, 1952. 333 p.
- Halliday M. M. Studies on *Myxosoma cerebralis* in Denmark, Ireland and Scotland. IV. A preliminary immunofluorescent investigation of the spores of *Myxosoma cerebralis*. — *Nord veterinar-med.*, 1974, Bd 26, S. 165—179.
- Heesen D., Engels W. Electrophoretischen Untersuchungen zur Vitellogenese von *Brachydanio rerio* (Gyprinida, Teleostei). — *W. Roux' Arch. Entwicklungmech. Organism*, 1973, Bd 173, S. 46—59.
- Pauley G. B. Fish sporozoa extraction of antigens from *Myxosoma cerebralis* spores which mimic antigens of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). — *J. Fish Res. Board Can.*, 1974, vol. 31, p. 1481—1484.

ЦИН АН СССР, Ленинград

Поступила 12.02.1986

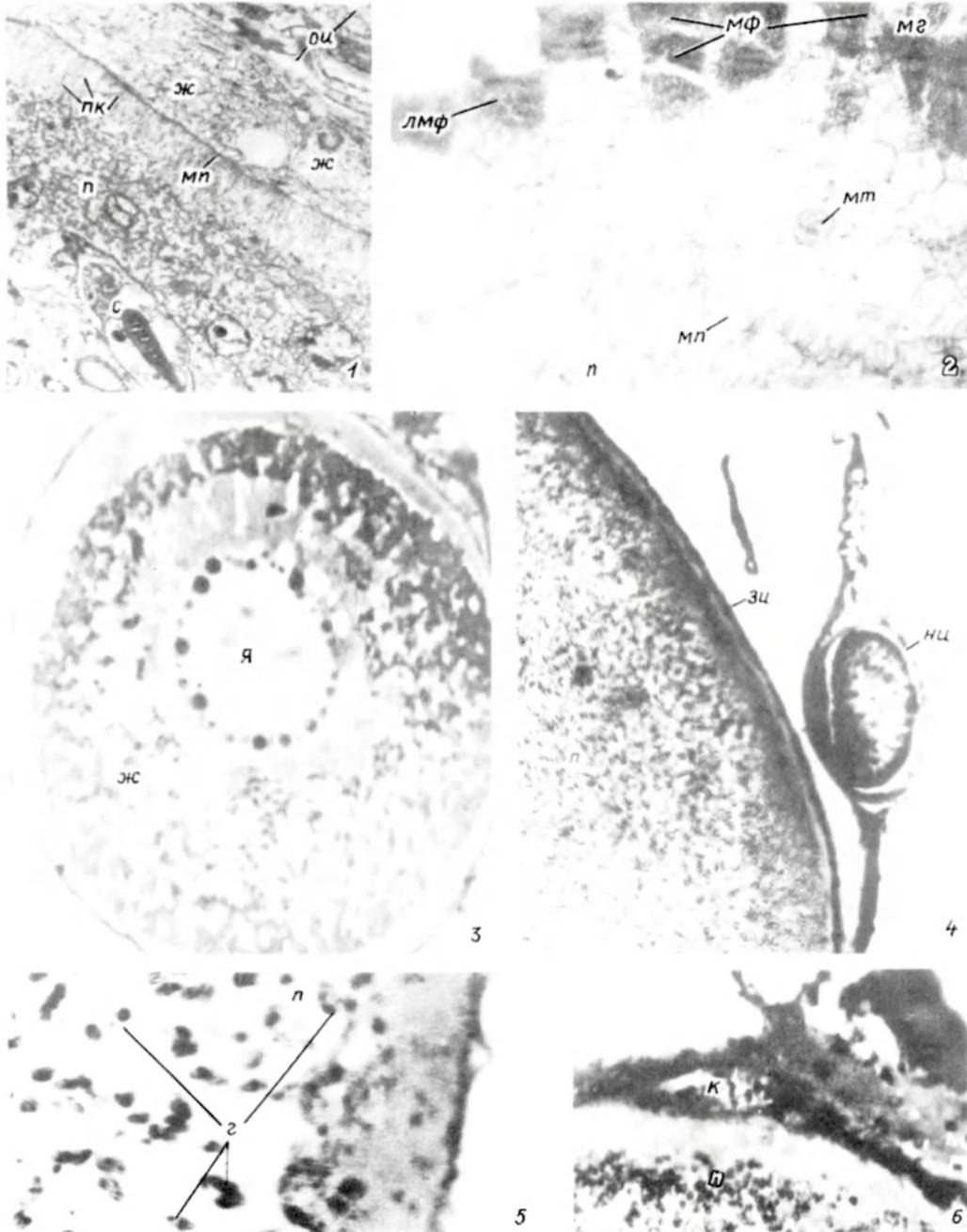
PECULIARITIES OF HOST-PARASITE RELATIONSHIP OF SOME
INTRACELLULAR MYXOSPORIDIA

A. V. Uspenskaya

SUMMARY

The relation between host cell (oocyte and muscular cell) and plasmodia of Myxosporidia *Henneguya oviperda* and *Kudoa quadratum* was studied by means of electron and light microscopy and cytochemistry. The absence of parasitiphorous vacuole and capsules of any kind around plasmodia has been established. The more rapid accumulation of yolk in infected oocyte has been demonstrated. The data on metabolism of Myxosporidia in question are discussed.

Вклейка к ст. А. В. Успенской



Взаимоотношения внутриклеточных микроспоридий с клеткой хозяина (ооцитом и мышечным волокном).

1 — плазмодий *Henneguya oviperda*. Мембрана плазмодия примыкает к глыбкам желтка, паразитофорная вакуоль и капсула вокруг плазмодия не образуются; 2 — плазмодий *Kudoa quadratum*. Паразитофорная вакуоль и капсула вокруг плазмодия не образуются. Плазмодий окружен саркоплазмой, видны миофибриллы и митохондрии мышечного волокна; 3 — незараженная икринка; 4 — зараженная икринка, рядом срез через незараженную икринку; 5 — гликоген в плазмодии *H. oviperda*, выявляемый лишь в нодофильных вакуолях амeboидного зародыша в споре; 6 — зараженная *H. oviperda* икринка, виден капилляр с эритроцитами. Г — гликоген; Ж — желток; ЗИ — зараженная икринка; К — капилляр с эритроцитами; ЛМФ — лизированные плазмодием миофибриллы; МП — мембрана плазмодия; МТ — митохондрии мышечного волокна; МФ — миофибриллы; НИ — незараженная икринка; ОИ — оболочки икринок; П — плазмодий; ПК — пинноцитозные каналы; С — спора; Я — ядро ооцита.