

Структура и дифференцировка тканей цистицеркоидов.

1. Тонкая морфология диплоцисты *Aploparaksis bulbocirrus* (Cestoda: Hymenolepididae) на ранних стадиях постэмбриогенеза

В.П. Никишин

*Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, ул. Портовая, 18, 685000 Магадан
Россия. e-mail: nikishin@ibpn.ru*

РЕЗЮМЕ: Изучена ультраструктура типичной диплоцисты *Aploparaksis bulbocirrus* Deblock et Rausch, 1968 и определены основные особенности клеточной организации на ранних стадиях ее развития. На стадии первичной полости клеточный состав представлен цитонами тегумента, мускульными клетками и двумя разновидностями недифференцированных клеток; на стадии удлинения начинают дифференцироваться клетки, ограничивающие первичную полость. Все клетки, за исключением цитонов тегумента, дифференцируются из недифференцированных элементов; популяция цитонов тегумента формируется, возможно, из двуядерного цитона онкосферы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: цистицеркоид, диплоциста, ультраструктура, ранние стадии развития.

Structure and differentiation of tissues of cysticercoids

1. Fine morphology of the diplocyst of *Aploparaksis bulbocirrus* (Cestoda: Hymenolepididae) at the early stages of postembryogenesis

V.P. Nikishin

Institute of the Biological Problems of the North, Portovaya Str. 18, 685000 Magadan Russia. e-mail: nikishin@ibpn.ru

ABSTRACT: The ultrastructure of the typical diplocyst of *Aploparaksis bulbocirrus* Deblock et Rausch, 1968 is studied and the main peculiarities of the cellular organization at the early stages of its development are determined. At the stage of the primary lacuna the cellular composition is represented by the cytons of tegument, by muscular cells, and by two types of undifferentiated ones; at the stage of elongation the cells, bounding primary lacuna, begin differentiate. All the cells, except cytons of tegument, are differentiated out from the undifferentiated elements; the population of the cytons of tegument is possibly formed from the binuclear cyton of the oncosphere.

KEYWORDS: cysticercoid, diplocyst, ultrastructure, early stages of development.

Введение

Цистицеркоиды рода *Aploparaksis* характеризуются разнообразием форм, различающихся, главным образом, организацией церкомера (Bondarenko, Kontrimavichus, 1976). У типичных диплоцист церкомер в процессе развития преобразуется в дополнительную наружную цисту (экзоцисту — Гуляев, 1978), полностью окружающую внутреннюю цисту (эндоцисту) с заключенными в ней сколексом и шейкой. Процесс развития типичной диплоцисты состоит из стадий мигрирующей онкосферы, первичной полости, удлинения, первой инвагинации (на которой и происходит образование экзоцисты), дифференцировки, сколексогенеза, второй инвагинации (втягивание сколекса в «полость» эндоцисты) и цистицеркоида (Bondarenko, 1978).

Изучение ультраструктуры зрелых диплоцист показало, что как клеточный состав, так и характеристики функционально сходных клеток существенно различаются в разных отделах цистицеркоидов (Краснощеков, Никишин, 1979а, б; Никишин, Краснощеков, 1979). В связи с этим представляют интерес пути и механизмы дифференцировки герминативных клеток личинки, приводящие к становлению фактически разных органов, в составе каждого из которых выделяется целый комплекс тканей (Richards, Arme, 1984).

Большинство ранее проведенных исследований ультратонкого строения развивающихся цистицеркоидов рассматривали личинок на завершающих стадиях ларвогенеза, после инвагинации сколекса в «полость» цисты (например, Ubelaker et al., 1970; Allison et al., 1972; Cooper et al., 1975; и др.). Ранние стадии ларвогенеза цистицеркоидов гименолепидид были изучены лишь на примере двух видов рода *Hymenolepis* (Collin, 1970; Richards, Arme, 1984). В настоящей работе приводятся результаты исследования личинок *Aploparaksis bulbocirrus* на ранних стадиях ларвогенеза, то есть первичной полости и удлинения.

Материалы и методика

Личинок цестод выращивали в олигохетах р. *Lumbriculus* экспериментальным путем по методике, описанной С.К. Бондаренко (1978). На пятый и затем через каждые два–три дня личинок извлекали из промежуточных хозяев, фиксировали в 1–2%-ном растворе глутарового альдегида на фосфатном буфере (рН 7,4) в течение 2–48 ч при температуре +4°C, постфиксировали в 1%-ном растворе тетраоксида осмия на таком же буфере в течение 0,5–2,0 ч в зависимости от размера личинки, обезвоживали в спиртах и заключали в смесь эпон-аралдит. Контрастирование осуществляли раствором уранилацетата при обезвоживании в 70°-и спирте в течение суток и цитратом свинца на срезах в течение 10–30 с.

Результаты

Стадия первичной полости

Личинка имеет вид пустотелого шара (рис. 1А), стенка которого образована четырьмя–пятью (на переднем полюсе) или одним–двумя (на заднем полюсе, будущем церкомере) слоями клеток. Снаружи она покрыта цитоплазматическим слоем (эктоцитоплазмой тегумента) толщиной 0,2–0,3 мкм с многочисленными микроворсинками на его внешней поверхности (рис. 3А). Длина микроворсинок достигает 3–5 мкм и более, диаметр — около 0,15 мкм. На большем своем протяжении они имеют цилиндрическую форму и лишь вблизи вершин несколько истончаются и заканчиваются небольшими апикальными расширениями. Эктоцитоплазма тегумента имеет умеренную электронную плотность и включает мелкие плотные гранулы и редкие светлые везикулы. Оформленная базальная пластинка, подстилающая эктоцитоплазму на последующих стадиях развития, равно как и межклеточный филаментный материал, отсутствуют.

В составе клеточного пласта (рис. 2) можно выделить клетки четырех типов: цитоны тегумента и мускульные клетки, располага-

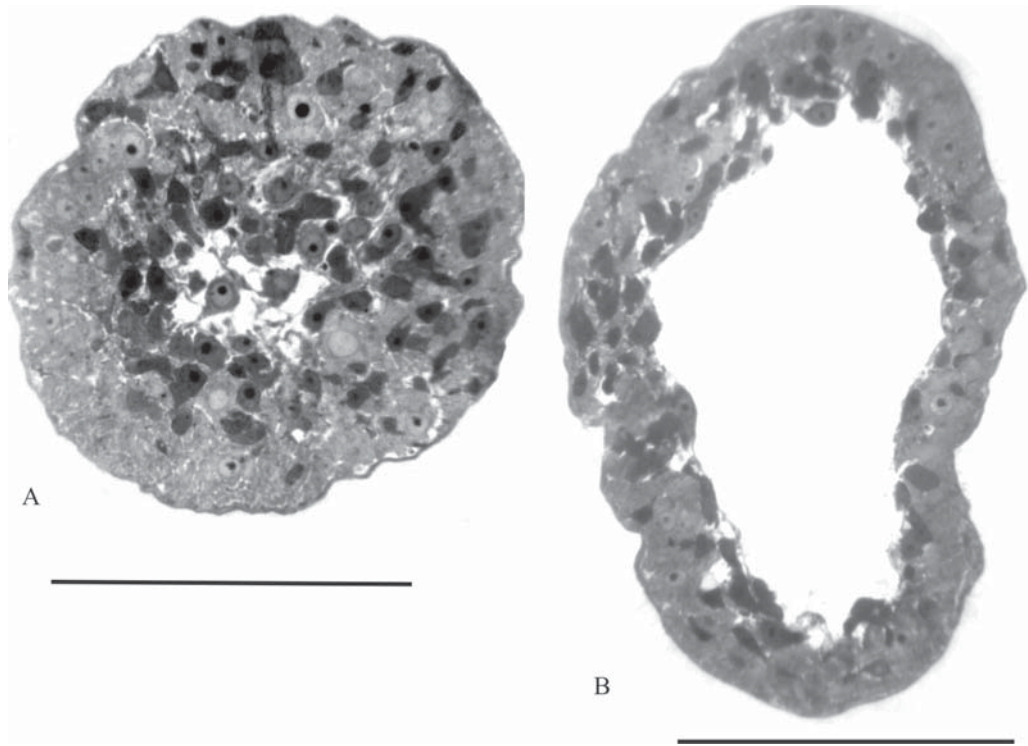


Рис. 1. Полутокие срезы личинки *Aploparaksis bulbocirrus* Deblock et Rausch, 1968 на ранних стадиях развития.

А — стадия первичной полости (срез через передний, утолщенный, полюс личинки); В — стадия удлинения (косой срез через среднюю часть личинки). Масштаб: А — 100 мкм, В — 200 мкм.

Fig. 1. Semithin sections of *Aploparaksis bulbocirrus* Deblock et Rausch, 1968 larva at the early stages of development.

А — the stage of primary lacuna (section through the front incrassate pole of larva), В — the stage of elongation (diagonal cut through the medial part of larva). Scale bars: А — 100 μm , В — 200 μm .

ющиеся в наиболее наружном клеточном слое, и малодифференцированные и недифференцированные элементы, составляющие остальную часть клеточного пласта. Цитоны тегумента — наиболее крупные, нередко многоядерные клеточные тела с многочисленными отростками (рис. 3В, С). Неправильной формы ядра достигают в диаметре 5–7 мкм и включают умеренно-плотную кариоплазму, по плотности почти не отличающуюся от цитоплазмы, округлое ядрышко диаметром 2–3 мкм и довольно многочисленными скоплениями хроматина, локализующиеся преимущественно на внутренней поверхности ядерной оболочки. Для массивного цитоплазматического тела характерны

хорошо развитый комплекс Гольджи, элементы которого заполнены электронно-плотным содержимым, митохондрии с темным матриксом и множество коротких канальцев гранулярной эндоплазматической сети (ГЭС). Кроме того, выявляются мелкие ламеллярные тельца, микротрубочки и мелкие плотные гранулы, сходные с наблюдаемыми в поверхностной цитоплазме. Короткими и относительно широкими цитоплазматическими мостиками цитоны связаны с эктоцитоплазмой тегумента (рис. 3А, С). Цитоны тегумента, располагающиеся в переднем отделе личинки (рис. 3В), по сравнению с цитонами заднего отдела (рис. 3С) в целом выглядят несколько более плотными и визу-

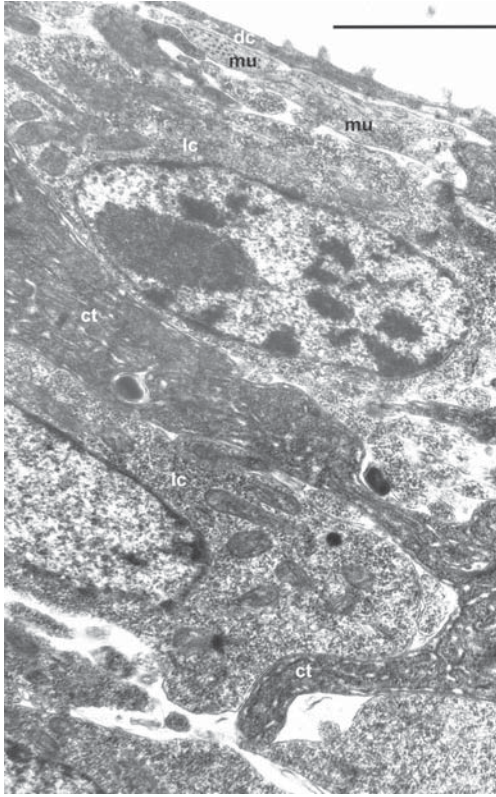


Рис. 2. Общий вид стенки тела переднего полюса личинки *Aploparaksis bulbocirrus* Deblock et Rausch, 1968 на стадии удлинения.

Обозначения: ct — цитон тегумента, dc — дистальная цитоплазма тегумента, lc — малодифференцированные клетки, mu — отростки мускульных клеток. Масштаб: 2 мкм.

Fig. 2. General view of the body wall of the front pole of *Aploparaksis bulbocirrus* Deblock et Rausch, 1968 larva at the stage of elongation.

Abbreviations: ct — cyton of tegument, dc — distal cytoplasm of tegument, lc — ivvature cells, mu — muscular cell processes. Scale bar: 2 μ m.

ально имеют относительно меньшее цитоплазматическое тело; среди них чаще наблюдаются многоядерные формы.

Мускульные клетки, в отличие от цитонов тегумента, компактные, овальной формы и в диаметре достигают 5–7 мкм (рис. 4А). Они содержат относительно крупные ядра диаметром 3–5 мкм с умеренно плотной кариоплазмой, небольшим нечетким ядрышком и немногочисленными скопле-

ниями хроматина. Цитоплазма более плотная, чем кариоплазма, характеризуется несколькими расширенными цистернами ГЭС и митохондриями с плотным матриксом. Имеются также одно–два скопления мелких светлых везикул, по-видимому, представляющих собой зоны Гольджи. Отростки мышечных клеток направлены к эктоцитоплазме тегумента и включают единичные и рыхло организованные на этой стадии развития миофиламенты, ориентированные в кольцевом направлении.

Недифференцированные клетки наблюдаются только в переднем отделе личинки (рис. 4D). Они характеризуются неправильно-овальной формой и очень компактны, их диаметр не превышает 3–4 мкм. Большая часть тела занята овальным ядром с относительно светлой кариоплазмой, нечетким ядрышком и крупными скоплениями хроматина. Цитоплазма заполнена свободными рибосомами, среди которых выявляются мелкие единичные митохондрии. Малодифференцированные клетки, преобладающие также в переднем отделе личинки, отличаются от них большими размерами и, соответственно, более крупными ядрами, диаметром до 5 мкм и более, с небольшим количеством хроматина и крупными овальными ядрышками. Цитоплазма этих клеток включает митохондрии, нередко образующие небольшие скопления, и единичные каналцы ГЭС. Некоторые из этих клеток встречаются в наружном участке клеточного пласта среди цитонов тегумента. От других малодифференцированных элементов они отличаются несколько более развитой ГЭС в виде расширенных цистерн, и на основании этого признака, а также их локализации предположительно могут рассматриваться как дифференцирующиеся мускульные клетки (рис. 4В) (Lumsden, Hildreth, 1983). Малодифференцированные клетки, располагающиеся по границе клеточного пласта и первичной полости, нередко характеризуются признаками цитолиза: просветленной цитоплазмой и кариоплазмой, набухшими органоидами, нарушенными мембранами (рис. 5А, В).

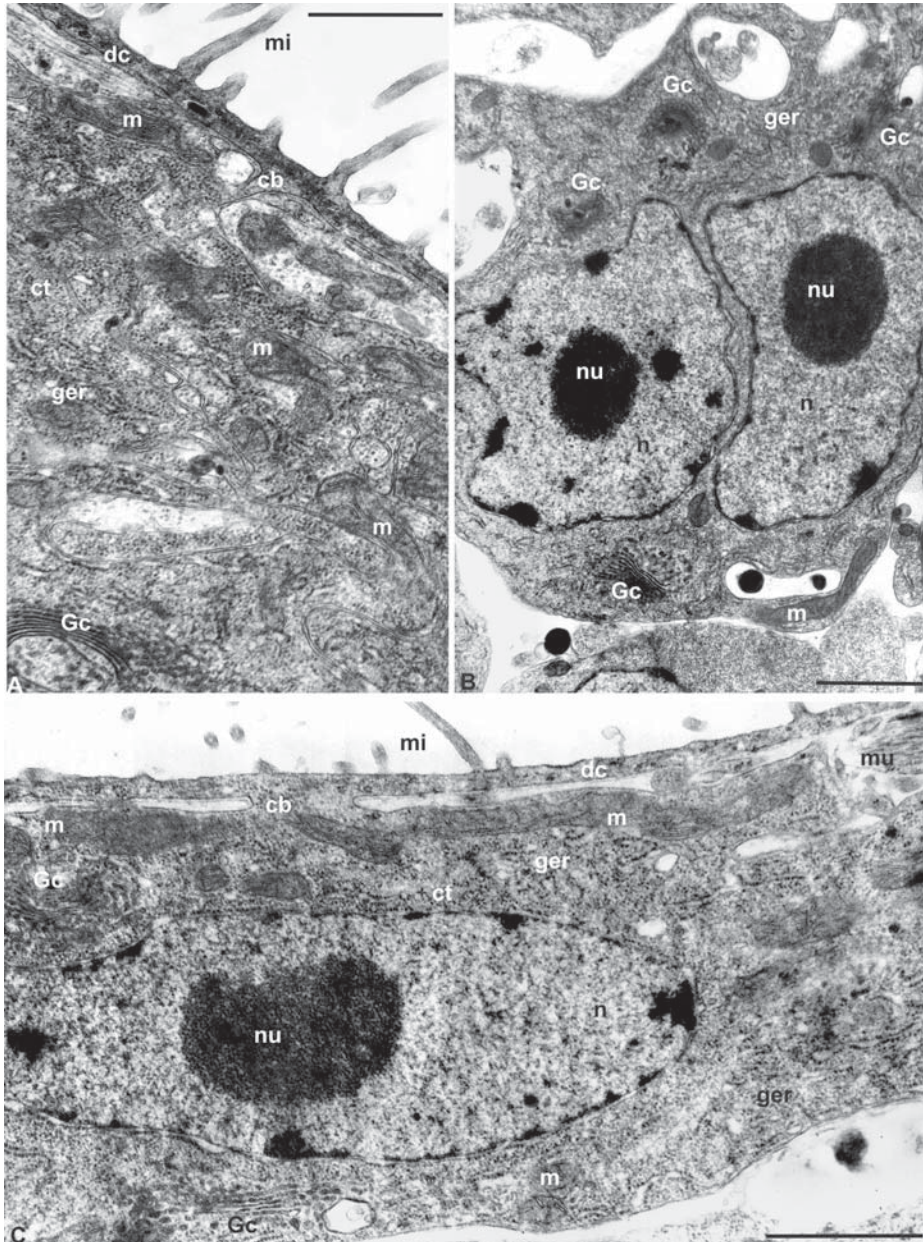


Рис. 3. Тегумент личинки *Aploparaksis bulbocirrus* Deblock et Rausch, 1968 в ее переднем (А, В) и заднем (С) полюсах на стадии первичной полости.

Обозначения: cb — цитоплазматические мостики, ct — цитоны тегумента, dc — дистальный отдел тегумента, Gc — комплекс Гольджи, ger — гранулярный эндоплазматический ретикулум, mi — микроворсинки, m — митохондрии, n — ядра, nu — ядрышки. Масштаб: А — 1 мкм, В, С — 1,5 мкм.

Fig. 3. Tegument of *Aploparaksis bulbocirrus* Deblock et Rausch, 1968 larva in its front (A, B) and back (C) poles at the stage of primary lacuna.

Abbreviations: cb — cytoplasm bridges, ct — cyton of tegument, dc — distal cytoplasm of tegument, Gc — Golgi complex, ger — granular endoplasmic reticulum, mi — microvillus, m — mitochondrion, n — nuclei, nu — nucleolus. Scale bars: A — 1 μ m, B, C — 1.5 μ m.

Стадия удлинения

На стадии удлинения личинка принимает овальную форму (рис. 1B). В строении цитонов тегумента (рис. 4C) и миоцитов заметных качественных изменений не наблюдается, однако отростки последних выглядят более развитыми и включают набор легко определяемых миофиламентов (рис. 2). Заметно увеличивается и количество недифференцированных и малодифференцированных клеток в глубинном участке клеточного пласта в переднем отделе, вторые, кроме того, нередко обнаруживаются вблизи поверхностного цитоплазматического слоя. На этой же стадии дифференцируются клетки пятого типа — очень крупные уплощенные клетки с длинными отростками, образующие внутреннюю границу клеточного пласта (рис. 5C, D). Ядра их крупные, уплощенно-овальные с четким ядрышком и немногочисленными скоплениями гетерохроматина. Плотность кардио- и цитоплазмы умеренная. Из органоидов имеются крупные митохондрии с матриксом высокой электронной плотности, каналцы ГЭС и мелкие скопления пузырьков Гольджи. Для этих клеток характерно наличие в их цитоплазме ламеллярных телец, нередко отшнуровывающихся в межклеточное пространство, и липидных капель. Располагаются эти клетки в средней части личинки (будущей эндоцисте).

Обсуждение

В первой работе, посвященной тонкой морфологии ранних стадий постэмбриогенеза гименолепидид, Collin (1970) у личинки *Hymenolepis citelli* описал клетки четырех типов (недифференцированные, промежуточные, мускульные и ограничивающие центральную полость), не упомянув о принадлежности каких-либо из них к тегументу. В составе исследованных нами личинок на ранних стадиях их развития отчетливо определяются три основных типа клеток: цитоны тегумента, мускульные и недифференцированные. Это в целом соответствует результатам исследования личинки *Hymenolepis*

diminuta (Richards, Arme, 1984), однако, в отличие от последних, у представителей рода *Aploparaksis* мы не смогли выявить элементы, находящиеся в процессе дифференцировки в цитоны тегумента. Кроме того, многие цитоны тегумента у исследованных нами личинок содержали по несколько ядер — факт, не отмеченный этими авторами, хотя они и указали на наличие цитоплазматических связей между телами соседних клеток. Указанная особенность свидетельствует о возможности эндомиоза в цитонах тегумента (Краснощеков, 1979). Первоначальным источником перикарионов тегумента в этом случае может быть двуядерная клетка, связанная с поверхностной цитоплазмой онкосферы (Rybicka, 1973) и по сути являющаяся цитоном эмбрионального тегумента.

Collin (1970) отметил, что у 3-дневных личинок *H. citelli* мускульная система представлена продольными миофибриллами, а кольцевые обнаруживаются только у 5-дневной стадии. Последующие исследования (Richards, Arme, 1984) и наши результаты показали, что у развивающихся цистицеркоидов других видов на стадии первичной полости имеются элементы более внешнего слоя мускулатуры с формирующимися кольцевыми миофиламентами; продольные же мускулы дифференцируются, вероятно, в конце стадии удлинения.

Полученные результаты позволяют определить некоторые особенности в организации стенки первичной полости у исследованных личинок. Во-первых, относительно дифференцированные элементы (цитоны тегумента и мускульные клетки) располагаются в наружной части клеточного пласта, тогда как недифференцированные и малодифференцированные локализуются преимущественно в его центральной и внутренней частях и преимущественно в переднем отделе личинки, стенка которого утолщена. Во-вторых, цитоны тегумента, располагающиеся в заднем отделе личинки, в отличие от цитонов переднего отдела, выглядят более дифференцированными, о чем свидетельствуют в целом меньшая электронная плот-

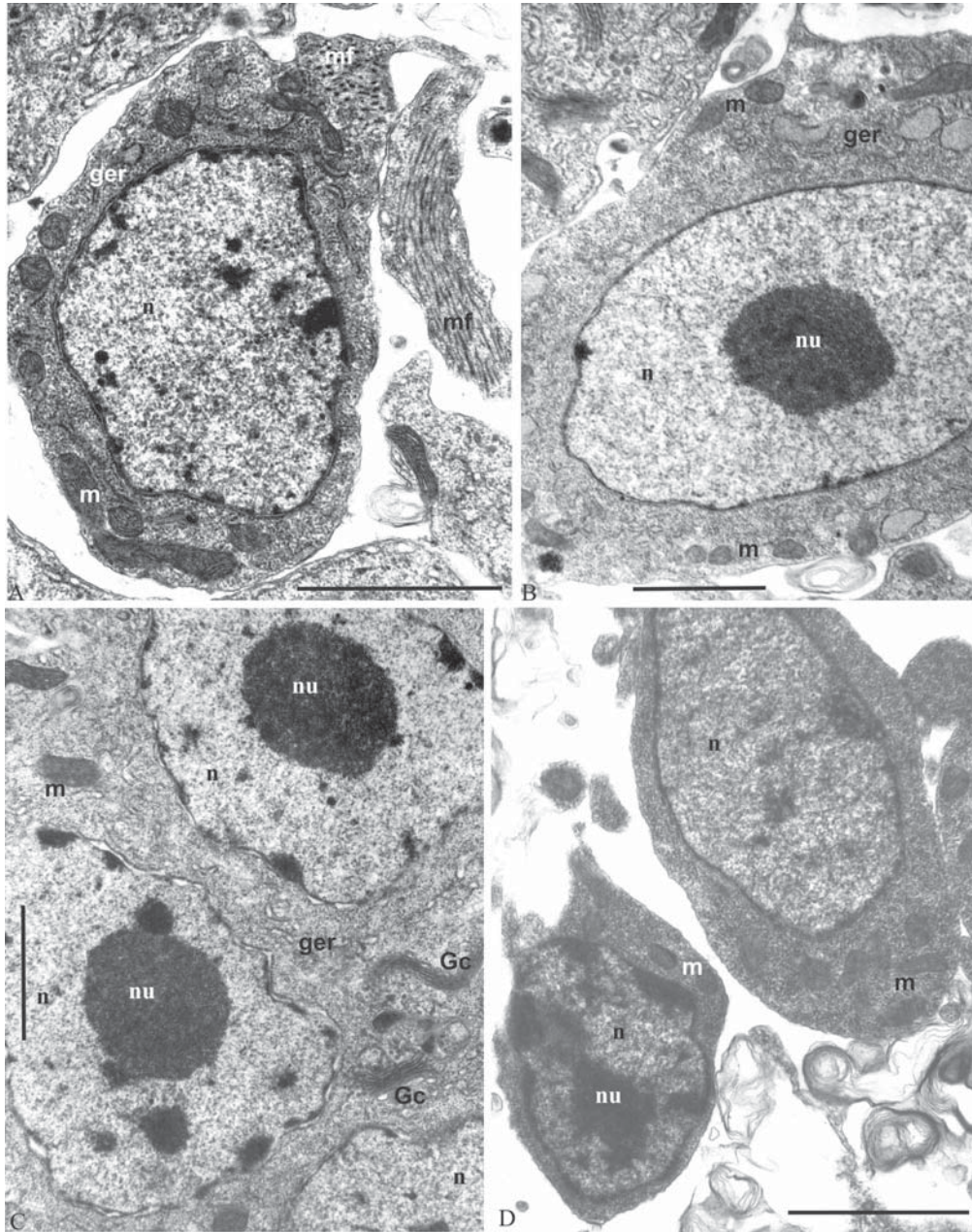


Рис. 4. Клетки личинки *Aploparaksis bulbocirrus* Deblock et Rausch, 1968 на стадии удлинения. А — мышечная клетка, В — дифференцирующаяся мышечная клетка, С — фрагмент многоядерного цитона тегумента, D — недифференцированная (слева внизу) и малодифференцированная клетки. Обозначения: Gc — комплекс Гольджи, ger — гранулярный эндоплазматический ретикулум, m — митохондрии, mf — миофиламенты, n — ядра, nu — ядрышки. Масштаб: 2 мкм.

Fig. 4. Cells of *Aploparaksis bulbocirrus* Deblock et Rausch, 1968 larva at the elongation stage. A — muscular cell, B — differentiating muscular cell, C — fragment of multinuclear cyton of tegument, D — undifferentiated (to the left and below) and immature cells. Abbreviations: Gc — Golgi complex, ger — granular endoplasmic reticulum, m — mitochondrion, mf — myofilaments, n — nuclei, nu — nucleolus. Scale bar: 2 μ m.

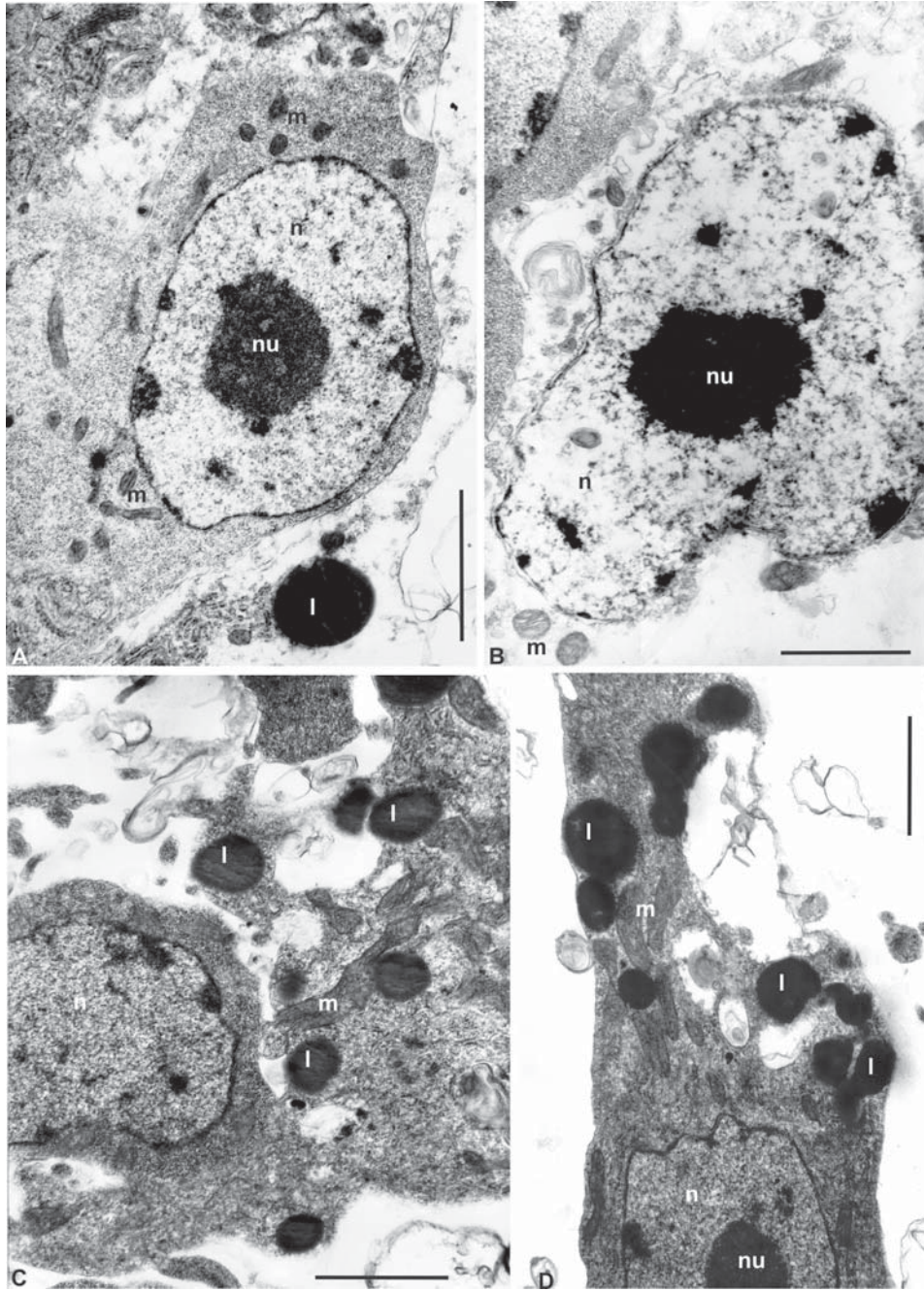


Рис. 5. Клетки на границе первичной полости личинки *Aploparaksis bulbocirrus* Deblock et Rausch, 1968. А, В — малодифференцированные клетки на разных этапах деструкции (стадия первичной полости), С, D — клетки, ограничивающие первичную полость (стадия удлинения). Обозначения: l — липидные капли, m — митохондрии, n — ядра, nu — ядрышки. Масштаб: 2 мкм.

Fig. 5. Cells at the border of primary lacuna of *Aploparaksis bulbocirrus* Deblock et Rausch, 1968 larva. A, B — immature cells at the different stages of destruction (stage of primary lacuna), C, D — cells, bounding primary lacuna (elongation stage). Abbreviations: l — lipid drops, m — mitochondrion, n — nuclei, nu — nucleolus. Scale bar: 2 μ m.

ность и визуально меньшее ядерно-плазменное отношение первых по сравнению со вторыми. Ускоренная по сравнению с другими отделами цистицеркоида дифференцировка хвостового участка имеет для диплоцист важное биологическое значение, поскольку предшествует преобразованию его в экзоцисту, происходящему на следующей стадии развития личинки. В-третьих, пополнение популяции мускульных клеток, по-видимому, происходит за счет миграции недифференцированных элементов из глубины клеточного пласта к его поверхности с последующей дифференцировкой. Вероятно, почти все клетки других типов в дальнейшем также формируются из недифференцированных элементов. Эта закономерность, а также явление миграции недифференцированных клеток к месту локализации будущих тканей или органов были отмечены у метацистоды *H. diminuta* (Richards, Arme, 1984). Подчеркнем, однако, еще раз, что мы не смогли найти аргументов в пользу мнения этих авторов о таком же механизме увеличения количества клеточных тел тегумента.

На стадии первичной полости специализированные клеточные элементы, ограничивающие эту полость, не выявлены. Тем не менее, мы полагаем, что использование термина «полость» в данном случае вполне обоснованно, поскольку уже на следующей стадии — удлинении — начинают дифференцироваться ограничивающие ее клетки (Richards, Arme, 1984; наши данные). Однако ограничивается только часть полости, прилегающая к переднему полюсу личинки. На границе остальной части полости и клеточного пласта часто обнаруживаются разрушающиеся малодифференцированные клетки. Явление деструкции некоторых клеток во внутреннем участке клеточного пласта на ранних стадиях формирования цистицеркоидов ранее уже отмечалось (Бондаренко, Краснощекоев, 1978). Биологический смысл этого явления остается неясным, можно лишь предполагать, что таким образом осуществляется элиминация «излишнего» клеточного материала, обеспечивающая формирова-

ние полости, в которую на следующей стадии развития будет инвагинировать остальная часть тела личинки.

Благодарности

Автор приносит искреннюю благодарность д.б.н. С.К. Бондаренко за помощь при экспериментальном моделировании жизненных циклов исследованных цестод и при определении стадий развития. Работа поддержана Президиумом ДВО РАН (проект № 06-III-A-06-178) и программой РФФИ — ДВО РАН «Дальний Восток» (проект № 06-04-96027).

Литература

- Бондаренко С.К. 1978. Постэмбриональное развитие цестод рода *Aploparaksis* Clerc, 1903 (Hymenolepididae) с цистицеркоидом типа диплоцисты // Паразитология. Т.12. С.345–348.
- Бондаренко С.К., Краснощекоев Г.П. 1978. Постэмбриональное развитие цестоды *Aploparaksis birulai* (Hymenolepididae) // Зоологический журнал. Т.57. С.485–493.
- Гуляев В.Д. 1978. К изучению морфологии диплоцисты *Aploparaksis furcigera* (Rudolphi, 1819) Fuhrmann, 1926 // Проблемы гидропаразитологии. Киев: Наукова Думка. С.29–34.
- Краснощекоев Г.П. 1979. Морфология покровных тканей плоских червей // Экология и морфология гельминтов позвоночных Чукотки. М.: Наука. С.93–115.
- Краснощекоев Г.П., Никишин В.П. 1979а. Ультраструктура защитных оболочек цестод // В кн.: Экология и морфология гельминтов позвоночных Чукотки. М.: Наука. С.116–132.
- Краснощекоев Г.П., Никишин В.П. 1979б. Ультраструктура стенки цисты метацистод *Aploparaksis polystictae* и *A. furcigera* (Cestoda, Cyclophyllidae) // Паразитология. Т.13. С.250–256.
- Никишин В.П., Краснощекоев Г.П. 1979. Ультраструктурная организация церкомера диплоцист *Aploparaksis polystictae* Schiller, 1955 и *Aploparaksis furcigera* (Rudolphi, 1819) // Экология и морфология гельминтов позвоночных Чукотки. М.: Наука. С.133–138.
- Allison V.F., Ubelaker J.E., Cooper N.B. 1972. The fine structure of the cysticercoid of *Hymenolepis diminuta*. 2. The inner wall of the capsule // Zeitschrift für Parasitenkunde. Bd.39. S.137–147.
- Bondarenko S.K., Kontrimavichus V.L. 1976. Polymorphism of larvae of the genus *Aploparaksis* Clerc, 1903 (Hymenolepididae) // Folia parasitologica. Vol.23. P.39–44.

- Collin W.K. 1970. Electron microscopy of postembryonic stages of the tapeworm, *Hymenolepis citelli* // Journal of Parasitology. Vol.56. P.1159–1170.
- Cooper N.B., Allison V.F., Ubelaker J.E. 1975. The fine structure of the cysticeroid of *Hymenolepis diminuta*. 3. The scolex // Zeitschrift für Parasitenkunde. Bd.46. S.229–239.
- Lumsden R.D., Hildreth M.B. 1983. The fine structure of adult tapeworms // Arme C., Pappas P.W. (eds.). Biology of the Eucestoda. Vol.1. Academic Press: London. P.177–233.
- Richards K.S., Arme C. 1984. An ultrastructural analysis of cyst wall development in the metacestode of *Hymenolepis diminuta* (Cestoda) // Parasitology. Vol.89. P.537–566.
- Rybicka K. 1973. Ultrastructure of the embryonic syncytial epithelium in a cestode *Hymenolepis diminuta* // Parasitology. Vol.66. P.9–18.
- Ubelaker J.E., Cooper N.B., Allison V.F. 1970. The fine structure of the cysticeroid of *Hymenolepis diminuta*. 1. The outer wall of the capsule // Zeitschrift für Parasitenkunde. Bd.34. S.258–270.