

УДК 595.122

УЛЬТРАСТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАЗВИТИЯ МЕТАЦЕРКАРИЙ *DIPLOSTOMUM PSEUDOSPATHACEUM*

И.М. Подвязная

Аннотация

В данной статье обобщены результаты многолетних электронно-микроскопических исследований развития основных систем органов у метацеркарий *Diplostomum pseudospathaceum*. Отмечены элементы метаморфоза в развитии соматической мускулатуры, органов прикрепления и кишечника.

В светооптических исследованиях начала и середины прошлого века [1–3 и др.] было отмечено, что развитие метацеркарий трематод, принадлежащих к надсем. *Diplostomoidea* (сем. *Cyathocotylidae*, сем. *Diplostomidae* и сем. *Strigeidae*), сопровождается массовой вакуолизацией клеток, потерей ими прозрачности, утратой четкости контуров большинства органов. На основании этих наблюдений сформировалось представление о том, что у данной группы трематод на стадии метацеркарии имеет место катастрофический метаморфоз, сравнимый с голометаболическим развитием у насекомых. Согласно широко распространенному мнению [4–7], в процессе этого метаморфоза большинство личиночных систем органов резорбируется, а на их месте *de novo* формируются дефинитивные структуры. В то же время некоторые авторы [8] более осторожно оценивают масштаб дегенерационных процессов в ходе метаморфоза у метацеркарий диплостомоидных трематод, отмечая в этом контексте лишь железы проникновения, отдельные группы соматических мышц и мышечные органы. С целью получить более подробную и достоверную информацию о метаморфозе у диплостомоидных трематод нами было изучено развитие основных систем органов (кроме нервной) у метацеркарий *Diplostomum pseudospathaceum* (syn: *D. chromatophorum*), а также строение их свободноплавающих личинок с применением электронной микроскопии. Метацеркарий разных возрастов получали от экспериментально зараженных сеголетков карпа. Для заражения использовали церкарий, выделенных природно инвазированными моллюсками *Lymnaea stagnalis*, любезно предоставленными нам А.А. Шигиным. Рыбок содержали при комнатной температуре и вскрывали на 1, 3, 5, 6, 7, 10, 12, 18, 20, 30, 34, 40, 49 суток после заражения. Церкарий и извлеченных из хрусталика глаза метацеркарий фиксировали и обрабатывали согласно стандартной методике. Ультратонкие срезы просматривали на электронном микроскопе JEM 1200 CX. Также были изучены живые объекты с использованием фазового контраста на микроскопе Amplival. В настоящей статье результаты наблюдений объединены

в одно описание, которое дополняет подробное светооптическое исследование развития метацеркарий данного вида, ранее выполненное Шигиным [6].

Первые 5–6 суток после заражения второго промежуточного хозяина молодые метацеркарии *D. pseudopathaceum* не питаются и не растут, этот отрезок их жизни характеризуется относительным морфогенетическим покоем. Основное содержание начального периода развития метацеркарий составляют 1) интенсивная резорбция железистого аппарата свободноплавающих личинок, в том числе, желез проникновения, субтегументальных железистых клеток переднего органа, секреторных цитонов покровного эпителия; 2) постепенная дегенерация большинства соматических мышц, а также отдельных групп мышц в переднем органе и брюшной присоске; 3) глубокие морфофункциональные преобразования кишечника с сохранением составляющих его клеточных элементов (полость кишечника полностью освобождается от секреторного материала, накопленного на стадии церкарии; толщина гастродермиса в несколько раз увеличивается; кишечные клетки активизируются; в них формируются ультраструктуры, связанные с адсорбцией и т. д.). Все это время тегумент сохраняет основные черты церкарной организации. Лишь заметное уплотнение гликокаликса свидетельствует об усилении защитной функции покровов. В течение первых 5–6 дней развития (д. р.) экскреторная система метацеркарий сохраняет план строения, свойственный церкариям, за исключением утраты ее каудального участка вместе с хвостовым придатком свободноплавающих личинок. Строение полового зачатка не меняется, как и в ходе всего последующего развития метацеркарий. Единственными структурами, формирование которых приурочено к начальному периоду развития метацеркарий, являются секреторные субтегументальные клетки нового поколения. Они образуются в результате специализации недифференцированных клеток периферического слоя паренхимы.

На светооптическом уровне у ранних метацеркарий *D. pseudopathaceum* выявляются крупные прозрачные клетки, расположенные в основном в области брюшной присоски, а также вблизи переднего органа. Похожие клетки были неоднократно описаны на соответствующей стадии развития у других видов диплостомоидных трематод. Электронная микроскопия показала, что эти образования представляют собой сильно видоизмененные перикарионы миоцитов, образующих внутренние соматические мышцы личинок, в частности, дорзo-вентральные мускульные волокна, мышцы, окружающие передний орган и брюшную присоску. В ходе последующего развития эти клетки уменьшаются в размерах и постепенно исчезают (к 10–12 д. р.).

Семидневные метацеркарии *D. pseudopathaceum* начинают питаться лизированной тканью хрусталика, и одновременно наступает период их активного роста и морфогенеза, который продолжается до 33–34 д. р. Питание метацеркарий осуществляется двумя способами. Один из них – это поглощение питательных веществ покровами тела. На 6–7 д. р. тегумент метацеркарий претерпевает существенные ультраструктурные изменения. Плотный гликокаликс и волокнистый слой под апикальной мембраной эпителия исчезают. На поверхности тегумента развивается густая сеть микроворсинок, а базальная мембрана образует множество инвагинаций. Эти преобразования свидетельствуют о том,

что на данной стадии развития адсорбционная функция покровов становится приоритетной. Питательные вещества поступают в развивающиеся метацеркарии *D. pseudospathaceum* также через пищеварительную систему, что в целом не характерно для метацеркарий трематод. Ткань хрусталика заполняет полость кишечника на 7 д. р., к этому времени гастродермальные клетки уже имеют развитую сеть микроворсинок. С 7 по 34 д. р. пищеварительная система метацеркарий интенсивно развивается. В глотке увеличивается количество мышечных клеток и закладываются основные группы мускульных волокон. Ветви кишечника растут за счет недифференцированных клеток, которые встраиваются в эпителиальную пластинку и в последующем специализируются. У десятидневных метацеркарий полностью заканчивается резорбция желез проникновения, подкожной мускулатуры, некоторых внутренних соматических мышц и отдельных групп мышц в переднем органе и брюшной присоске. Одновременно наблюдается массовая дифференцировка миобластов, которые дают начало дефинитивной мускулатуре. К 20 д. р. передний орган преобразуется в ротовую присоску и закладываются зачатки псевдоприсосок. Орган Брандеса начинает формироваться с 12 д. р., при этом в первую очередь развиваются его мышечные элементы. С 7 по 34 д. р. постепенно усложняется строение первичной экскреторной системы: многократно увеличивается количество циртоцитов, система собирательных каналов становится все более разветвленной. Вторичная экскреторная система развивается как производное синцитиальной выстилки главных экскреторных протоков. С 20 д. р. в ее каналах появляются первые извествковые тельца.

Начало активного роста метацеркарий *D. pseudospathaceum* сопровождается появлением многочисленных электронно-прозрачных вакуолей в клетках различных тканей, включая наружную пластинку тегумента и его цитоны, гастродермис, выделительный эпителий, а также некоторые клетки, находящиеся в процессе клеточной дифференцировки. Это событие совпадает по времени с перестройкой тегумента и началом поступления пищи в полость кишечника. На светооптическом уровне вакуолизация клеток была описана у метацеркарий других представителей диплостомоидных трематод с однозначной трактовкой как массовый лизис тканей. Исследование ультратонких срезов развивающихся метацеркарий *D. pseudospathaceum* показало, что для большинства клеток процесс вакуолизации является обратимым. Это наглядно прослеживается на примере кишечного и экскреторного эпителиев. После 12 д. р. вакуоли в их клетках постепенно исчезают, при этом клетки продолжают нормально функционировать и развиваться. В то же время, дегенерирующие мышечные и железистые клетки оказываются неподверженными вакуолизации.

После 34 д. р. наступает короткий период созревания метацеркарий, который продолжается до 40 д. р. За этот срок тегумент претерпевает еще одну кардинальную перестройку, в результате которой он обретает черты дефинитивной организации. В наружной цитоплазматической пластинке формируется дефинитивное вооружение, которое заменяет собой остатки церкарных шипиков. Из цитонов в наружный синцитий поступают секреторные гранулы 4-х типов. С поверхности эпителия исчезают микроворсинки, и она вновь покрывается хорошо заметным гликокаликсом. На этом этапе развития дифференцируются

разного рода железистые образования: 1) железы псевдоприсосок, 2) субтегументальные секреторные клетки, 3) железы тегумента, имеющие собственные протоки, 4) субтегументальные железы органа Брандеса. Мышечные волокна, образующие дефинитивную подкожную мускулатуру, псевдоприсоски, ротовую и брюшную присоски, заметно увеличиваются в размерах. В то же время общие размеры тела несколько уменьшаются, видимо, за счет более плотной упаковки клеточной массы.

Таким образом, проведенное нами ультраструктурное исследование не выявило масштабного катастрофического метаморфоза в ходе развития метацеркарий *D. pseudospathaceum*. Вместе с тем, элементы метаморфоза были обнаружены в развитии отдельных систем органов, в частности, пищеварительной и мышечной систем. В случае мышечной системы имеет место резорбция многих групп соматических мышц церкарий, а также некоторых мускульных слоев в переднем органе и брюшной присоске; на их месте *de novo* формируется дефинитивная мускулатура. Кишечник, выполняющий у церкарий исключительно железистую функцию, преобразуется в пищеварительную систему метацеркарий путем глубоких ультраструктурных перестроек, не сопровождающихся дегенерацией клеточных элементов. Некоторые авторы связывают проявления метаморфоза в ходе развития метацеркарий у диплостомоидных трематод с большими структурными различиями между их высокоорганизованными мариатами и сильно ювенилизированными церкариями [7, 8]. Электронно-микроскопическое исследование церкарий *D. pseudospathaceum* показало, что наряду с недоразвитием многих зачатков (ювенилизацией) эти личинки демонстрируют черты высокой специализации. В частности, они обладают весьма совершенным пенетрационным комплексом, составной частью которого являются основные системы органов или их компоненты. Так, сложно дифференцированное вооружение покровов используется церкариями при внедрении во второго промежуточного хозяина и миграции в нем. Кишечник церкарий продуцирует большое количество слизистых веществ и протеолитических ферментов, которые, наряду с секретом желез проникновения, используются для химического воздействия на ткани хозяина. Чрезвычайно сложный характер движения церкарий в ходе внедрения и миграции обеспечивается согласованным действием хорошо развитых специализированных мышц, в том числе мускулатуры переднего органа и брюшной присоски. После заражения второго промежуточного хозяина, все перечисленные адаптации утрачивают свое значение. Вместе с тем, кишечник и мышечная система оказываются неспособными без предварительной перестройки поступательно развиваться и дать начало дефинитивным структурам. На наш взгляд, именно вторичная специализация зачатков основных систем органов у личинок диплостомоидных трематод и предопределяет необходимость метаморфоза на стадии метацеркарии. Как хорошо видно на примере *D. pseudospathaceum*, этот энергоемкий процесс становится возможен благодаря активному использованию метацеркариями энергетического потенциала второго промежуточного хозяина. Результаты электронно-микроскопического исследования также показали, что вакуолизация клеток, сопровождающая рост и развитие метацеркарий *D. pseudospathaceum*, не связана непосредственно с дегенерационными процессами, как это считалось ранее. В от-

ношении этого явления многое остается неясным. Внезапность появления вакуолей, их массовость, вовлеченность в этот процесс клеток, представляющих различные ткани, последующее исчезновение вакуолей – все эти наблюдения позволяют предположить, что данное явление отражает общую реакцию организма на не установленный пока фактор.

Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проекты № 06-04-48544 и № 07-04-01675).

Summary

I.M. Podvyaznaya. Ultrastructural studies of the metacercarial development in *Diplostomum pseudospathaceum*.

The results of long-term electron microscopic observations on the development of the main organ systems in the metacercariae of *Diplostomum pseudospathaceum* are summarized. The elements of metamorphosis were revealed in the developmental changes of somatic musculature, organs of attachment and alimentary canal.

Литература

1. Szidat L. Beitrage zur Entwicklungsgeschichte der Holostomiden. I. // Zool. Anz. – 1924. – Bd. 58. – S. 299–314.
2. Wisniewski L.V. The development cycle of *Posthodiplostomum brevicaudatum* (v. Nordmann, 1832) Kozicka, 1958 // Acta parasitol. pol. – 1958. – No 6. – P. 251–271.
3. Nasir P. Trematode parasites of snails from Edgbaston Pool: the life history of the strigeid *Cotylurus brevis* Dubois et Rausch, 1950 // Parasitology. – 1960. – V. 50. – P. 551–575.
4. Судариков В.Е. Некоторые особенности биологии и онтогенеза трематод отряда Strigeidida // Тр. Гельминтологической лаб. АН СССР. – 1964. – № 14. – С. 201–220.
5. Гинецинская Т.А. Трематоды: их жизненные циклы, биология и эволюция. – Л.: Наука, 1968. – 411 с.
6. Шугин А.А. Трематоды фауны СССР: Род *Diplostomum*. Метацеркарии. – М.: Наука, 1986. – 253 с.
7. Зазорнова О.П. Морфогенез метацеркарии *Cotylurus hebraicus* Dubois, 1934 (Trematoda, Strigeidae) // Новое в теории и практике борьбы с гельминтозами. Материалы научн. конф. ВОГ. – М., 1987. – С. 62–67.
8. Галактионов К.В., Добровольский А.А. Происхождение и эволюция жизненных циклов трематод. – СПб.: Наука, 1998. – 404 с.

Поступила в редакцию
19.07.07

Подвязная Ирина Михайловна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории паразитических червей Зоологического института РАН, г. Санкт-Петербург.

E-mail: podvyaznaya_vermes@zin.ru