

УДК 591.4+592

СТРОЕНИЕ ВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ПЛЕРОЦЕРКОИДА *PYRAMICOCEPHALUS PHOCARUM* (CESTODA: DIPHYLLOBOTHRIDEA): ДОКАЗАТЕЛЬСТВО СУЩЕСТВОВАНИЯ САМОСТОЯТЕЛЬНЫХ ТЕРМИНАЛЬНЫХ КЛЕТОК

© 2021 г. Н. М. Бисерова^{1,*}, А. Р. Мустафина¹, академик РАН В. В. Малахов¹

Поступило 25.08.2020 г.

После доработки 24.09.2020 г.

Принято к публикации 25.09.2020 г.

Выделительная система плероцеркоида *Pyramicocephalus phocarum* исследована на ультраструктурном уровне и с применением цитохимических методов. Показано, что у *P. phocarum* имеются самостоятельные терминальные клетки – циртоциты. Вся канальная система представляет собой единый синцитий, частью которого являются воронка терминального канальца, периферические и центральные каналы. Нефридиальная воронка и циртоцит образуют фильтрационный комплекс протонефридиального типа. В каудальном отделе несколько периферических каналов открываются в глубокую складку тегумента – мочевой пузырь. Экскреторные поры отделены от тегумента кольцевыми септированными десмосомами. Внутри экскреторной системы клеточные контакты отсутствуют. Иммуноцитохимически в циртоцитах установлено наличие F-актинового кольца и экспрессия несинаптического серотонина в зоне воротничка.

Ключевые слова: цестоды, протонефридий, циртоцит, ресничные клетки, синцитий, клеточные контакты, несинаптический серотонин

DOI: 10.31857/S2686738921010066

Цестоды – глубоко специализированная группа паразитических плоских червей, в состав которой входят возбудители опасных заболеваний человека и животных. Гистологическая организация цестод сильно модифицирована; основные ткани имеют синцитиальное строение [1–3]. Выделительная система цестод представлена протонефридиями, но в связи с большими размерами тела взрослых червей она сильно усложнена: значительная ее часть представлена синцитием [4–6]. Одним из наиболее интересных вопросов морфологии цестод на данный момент остается вопрос о том, имеются ли у цестод самостоятельные терминальные клетки (циртоциты), характерные для других плоских червей. По одним данным, у цестод нет отдельных циртоцитов [7, 6], и вся выделительная система представляет собой синцитий, а по другим – проксимальные части канальцев выделительной системы заканчиваются самостоятельными терминальными клетками [5, 8, 9]. Хауэлл [8] указывает на наличие пор между циртоцитом и нефридиальной воронкой и отвергает идею суще-

ствования у цестод протонефридиев. Для выяснения этого и других вопросов мы предприняли собственные исследования выделительной системы плероцеркоидов *Pyramicocephalus phocarum* (Fabricius, 1780) Monticelli, 1890 (Diphyllbothriidea: Diphyllbothriidae).

Плероцеркоиды *P. phocarum* получены из трески в Кандалакшском заливе Белого моря, зафиксированы для ультраструктурных и иммуноцитохимических исследований по методикам, разработанным для цестод [10]. Ультратонкие срезы получали на микротоме Leica EM UC7, просматривали под трансмиссионным электронным микроскопом JEM-1011. Замороженные срезы (5 мкм) окрашивали антителами к серотонину (5-HT) и α -тубулину (α -TUB) и фаллоидином с флуоресцентной меткой. Препараты исследовали на конфокальном микроскопе Nikon.

Экскреторная система *P. phocarum* представлена системой каналов разного диаметра, открывающихся наружу порой на заднем конце тела, и циртоцитами, замыкающими терминальные каналы в паренхиме (рис. 1а). В субтегументе и кортикальной паренхиме имеется развитая сеть периферических каналов. В сколексе и передней части тела имеется два центральных продольных канала, которые на заднем конце дихотомически

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*e-mail: nbiserova@yandex.ru

ветвятся. На заднем конце тела канальная система плероцеркоида открывается *многочисленными порами в мочевой пузырь*, имеющий форму вытянутой трубки со складчатой поверхностью. Стенки мочевого пузыря образованы впячиванием тегумента. В месте соединения эпителия впадающих каналов и тегумента мочевого пузыря нами обнаружены *кольцевые септированные десмосомы*. У разных видов цестод на более ранней стадии развития – процеркоид, описаны парные экскреторные поры, расположенные перед церкомером [11, 12].

Процеркоиды цестод – паразиты беспозвоночных, и обитают в гемоцеле первого промежуточного хозяина, преимущественно ракообразных [1, 6, 7, 11, 12]. Следующая стадия, плероцеркоиды – паразиты позвоночных, обитают как в тканях, так и в полости тела хозяина. Причины формирования общего мочевого пузыря с одним отверстием у плероцеркоидов цестод, включая *P. phocarum*, не до конца понятны и требуют дальнейших исследований.

Циртоциты *P. phocarum* расположены в зоне субтегумента и кортикальной паренхимы (200 клеток/мм²). Клетки лежат ядром к тегументу, а ресничками к центру тела; изредка встречаются парные циртоциты. В циртоцитах впервые обнаружена IR к *серотонину* (5-НТ), которая охватывает приядерную зону с кинетосомами и корешками ресничек, и участок верши. Экспрессия 5-НТ циртоцитами выявлена впервые и свидетельствует об участии серотонина в моторике ресничного пламени. Кроме того, в перикарионе выявлен F-актин, кольцом охватывающий зону ресничного пучка в его основании (рис. 16).

В циртоцитах насчитывается до 100 ресничек длиной до 9 μm ; их корешки частично прилегают к ядерной мембране и образованы электронноплотными тяжами без регулярной исчерченности. Пучок ресничек окружен *воротничком* микроворсинок диаметром 150 нм в виде трубки и тонкими нерегулярными лептотрихиями. Пучок ресничек входит внутрь *воронки терминального канальца*, которая имеет иное строение, чем эпителий в других отделах выделительной системы. Край воронки образован венчиком длинных пальцевидных выростов, средняя расширенная часть – плотной цитоплазмой, содержащей филаменты; узкая часть воронки имеет стенки с микроворсинками и продолжается в узкий разветвленный канал. Нефридиальная воронка и циртоцит образуют *фильтрационный комплекс* протонефридиального типа, представленный двумя рядами пальцевидных микроворсинок (рис. 1в, г). Их наружная мембрана несет слой экстраклеточных филаментов (толщина слоя 22 нм), которые организованы в регулярные скопления, чередующиеся по принципу zip-соединения на двух разно-

именных мембранах. Участие актина в zip-соединении подтверждается цитохимически. Наличие открытых пор (нефростома) без zip-соединения филаментов нами не установлено.

Ультраструктура стенок каналов характеризуется отсутствием *межклеточных контактов* и имеет *синцитиальное строение с разной степенью погруженности ядер*. Терминальные канальцы проходят вблизи ядра, ядра цитонов *периферических каналов* также часто лежат вблизи просвета. Ядра *центральных каналов* погружены под слой мускулатуры и имеют длинные цитоплазматические мостики, связывающие их с апикальной цитоплазмой. Перикарионы образуют *базальные отростки* разного диаметра, формирующие *протяженные щелевые контакты с клетками паренхимы*. Стенки центральных каналов иннервируются нейронами главных нервных стволов, выявленных при окраске на α -тубулин, что доказывает участие нервной системы в их перистальтике.

Таким образом, вся канальная система *P. phocarum* представляет собой *единый синцитий*, включающий *воронки терминальных канальцев, периферические и центральные продольные каналы*. Клеточные контакты в экскреторном синцитии *P. phocarum* не обнаружены. Наши результаты подтверждают отсутствие десмосом в канальной части системы как аутопоморфию цестод [13]. В отличие от *P. phocarum*, у взрослых циклофиллид *Rauschitaenia ancora* (Mamaev, 1959) Bondarenko, Tomilovskaja, 1979 и *Diorchis stefanskii* Czaplinski, 1956 в стенках каналов отмечены контакты типа септированных десмосом [9]. Отличия имеются и в строении циртоцитов циклофиллид, для которых описаны исчерченные корешки ресничек и наличие септированных десмосом на концах микроворсинок терминальной воронки и циртоцита [9].

Наличие самостоятельных циртоцитов у плероцеркоида *P. phocarum* противоречит результатам исследований псевдофиллидных цестод [6], к которым ранее относили дифиллоботриид, и поддерживает выводы разных авторов для неоцермат в целом [5, 8, 13]. Самостоятельность циртоцитов косвенно подтверждается выявлением серотонина и актина только в терминальной клетке и их отсутствием в стенке канальца. Актин играет важную роль в межклеточной адгезии; серотонин является универсальным сигнальным веществом беспозвоночных, контролирующим разнообразные процессы, в том числе ресничную моторику. Ранее в циртоцитах плероцеркоидов близкого вида дифиллоботриид был обнаружен простагландин E₂ [14, 15], возможный иммуномодулятор и вазодилатор, что в сочетании с серотонином и актином указывает на активную роль терминальных клеток в циркуляции сигнальных молекул и метаболитов в теле паразитов.

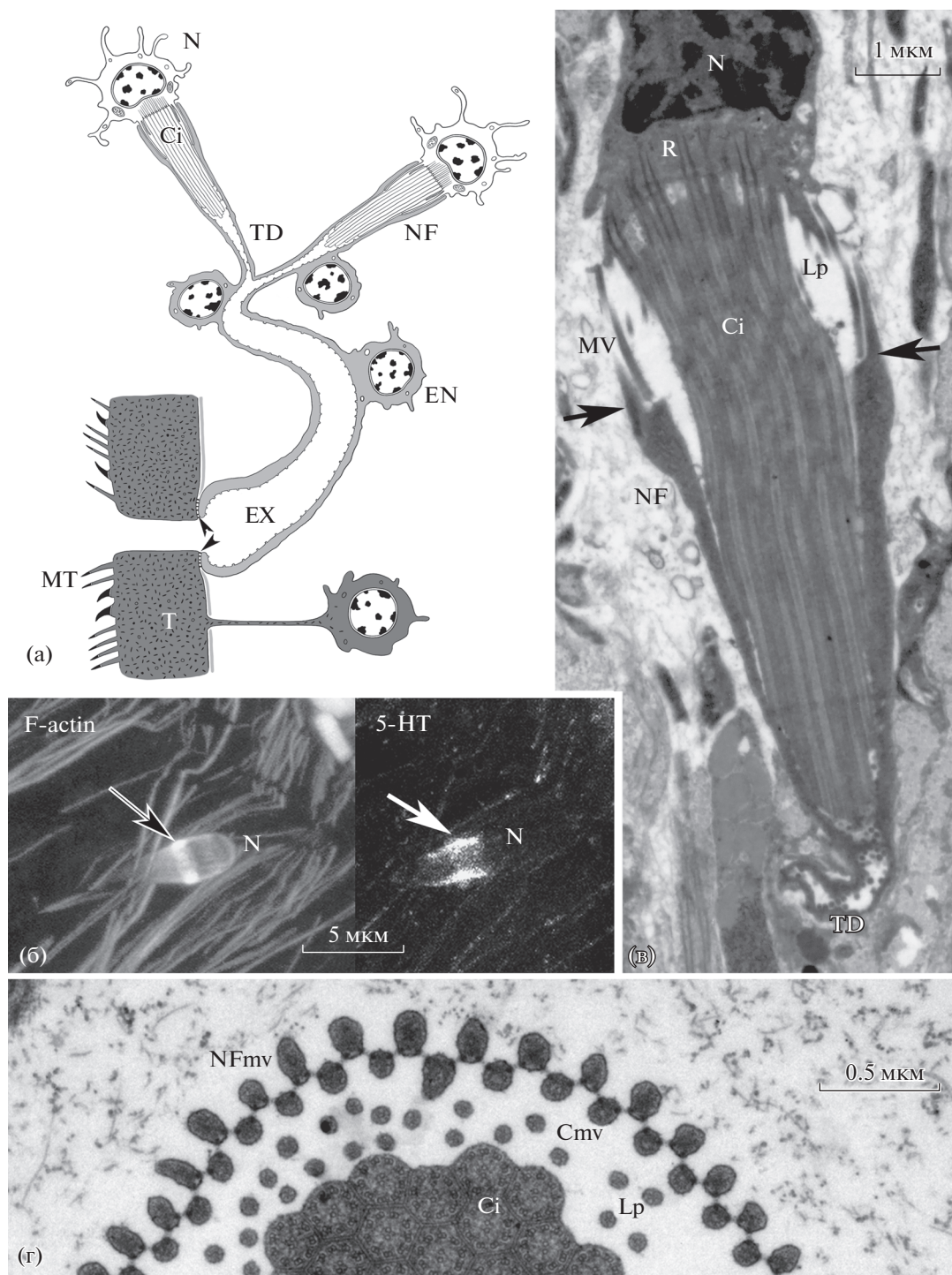


Рис. 1. Выделительная система *P. phocarium*. (а) – схема, межклеточные контакты обозначены короткими стрелками; (б) – иммуномечение F-актина и серотонина (5-НТ) в циртоцитах (стрелки); (в) – продольный срез циртоцита и нефридиальной воронки (стрелки); (г) – поперечный срез фильтрационного комплекса. (Ci – реснички, Cmv – микроворсинки циртоцита; EN – ядро цитона экскреторного синцития, EX – экскреторный канал, Lp – лептотрихии, MT – микротрихии, MV – микроворсинки, N – ядро циртоцита, NF – воронка канала, NFmv – микроворсинки нефридиальной воронки, R – корешки, T – тегумент, TD – терминальный каналец).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории электронной микроскопии и межкафедральному центру конфокальной микроскопии Биологического факультета МГУ.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-34-90047.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Coil W.* Platyhelminthes: Cestoidea // *Microscopic anatomy of Invertebrates*. 1991. V. 3. P. 211–283.
2. *Корнева Ж.В.* Тканевая пластичность и морфогенезы у цестод. М.: Наука; 2007.
3. *Korneva Zh. V.* Characterization of Cestoda Tissue Organization // *Biology Bulletin*. 2013. V. 40. P. 146–157.
4. *Lumsden R., Hildreth M.* The Fine Structure of Adult Tapeworms // *Biology of the Eucestoda*. 1983. V. 1. P. 177–233.
5. *Wilson R.A., Webster L.* Protonephridia // *Biological Reviews*. 1974. V. 49. P. 127–160.
6. *Куперман Б.И.* Функциональная морфология низших цестод. Наука; 1988.
7. *Rohde K.* Ultrastructural studies of *Austramphilina elongate* (Cestoda, Amphilinidea) // *Zoomorphology*. 1986. V. 106. P. 91–102.
8. *Howells R.E.* Observations on the nephridial system of the cestode *Moniezia expansa* (Rud., 1805) // *Parasitology*. 1969. V. 59. P. 449–459.
9. *Поспехова Н.А., Краснощеков Г.П., Поспехов В.В.* Протонефридиальная система сколекса циклофиллией // *Паразитология*. 1993. Т. 27. С. 48–53.
10. *Бисерова Н.М.* Методы визуализации биологических ультраструктур. Подготовка биологических объектов для изучения с помощью электронных и конфокальных лазерных микроскопов. Практическое руководство для биологов. М. Изд. КМК. 2013.
11. *Korneva J.V.* Fine structure and development of *Tri-aenophorus nodulosus* (Cestoda) during metamorphosis: a review // *Acta Zoologica*. 2004. V. 85. P. 59–68.
12. *Malmberg G.* On the early development of the protonephridial systems in some species belonging to the genera *Diphyllobothrium*, *Tri-aenophorus* and *Schistocephalus* (Cestoda, Pseudophyllidea) // *Zoologica Scripta*. 1972. V. 1. № 4. P. 227–228.
13. *Xylander W.* The Gyrocotylidea, Amphilinidea and the early evolution of Cestoda // *Interrelationships of the Platyhelminthes*. 2001. P. 103–111.
14. *Biserova N.M., Kutyrev I.A., Malakhov V.V.* Tapeworm *Diphyllobothrium dendriticum* (Cestoda) produces prostaglandin E₂, a regulator of host immunity // *Doklady Biological Sciences*. 2011. V. 441. P. 363–365.
15. *Kutyrev I.A., Biserova N.M., Olennikov D.N., et al.* Prostaglandins E₂ and D₂ – regulators of host immunity in model parasite *Diphyllobothrium dendriticum*: immunocytochemical and biochemical study // *Molecular & Biochemical Parasitology*. 2017. V. 212. P. 33–45.

STRUCTURE OF THE EXCRETORY SYSTEM OF PLEROCERCIDS PYRAMICOCEPHALUS PHOCARUM (CESTODA: DIPHYLLOBOTHRIDEA): PROOF FOR THE EXISTENCE OF AN INDEPENDENT TERMINAL CELLS

N. M. Biserova^{a,#}, A. R. Mustafina^a, and academician of the RAS V. V. Malakhov^a

^a *Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation*

[#]*e-mail: nbiserova@yandex.ru*

The excretory system ultrastructure and immunocytochemistry was investigated in the plerocercoid *Pyramicocephalus phocarus*. It was shown that *P. phocarus* has independent terminal cells – cyrtocytes. The entire canal system is a single undivided syncytium, which includes nephridial funnels, terminal tubules, peripheral and central canals. The nephridial funnel and cyrtocyte form a filtration complex of the protonephridial type. In the caudal region, several peripheral canals open into a deep fold of the tegument – the urinary bladder. The excretory pores are separated from the tegument by annular septate desmosomes. There are no cell junctions inside the excretory system. The presence of the F-actin ring and the expression of non-synaptic serotonin in the collar area were detected in cyrtocytes using methods of immunocytochemistry.

Keywords: cestoda, excretory system, cyrtocyte, protonephridium, syncytium, cell junctions, non-synaptic serotonin