

АКАДЕМИЯ НАУК КАЗАХСКОЙ ССР  
ИНСТИТУТ ЗООЛОГИИ

На правах рукописи

УДК 576.895.122

*НЕСТЕРЕНКО Людмила Тимофеевна*

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ НАРУЖНЫХ  
ПОКРОВОВ ПАРТЕНИТ, ЛИЧИНОК И  
МАРИТ ТРЕМАТОДЫ EURYTREMA  
PANCREATICUM (JANSON, 1889)

03.00.20-гельминтология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание учёной степени  
кандидата биологических наук

Алма—Ата 1984

Работа выполнена в лаборатории функциональной морфологии беспозвоночных животных Института зоологии АН КазССР.

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ

- доктор биологических наук В.Я.Панин

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ:

- член корреспондент АН КиргССР М.М.Токобаев

- кандидат биологических наук Б.Ш.Шайкенов

Ведущее учреждение - Кемеровский медицинский институт.

Защита состоится "21" декабря 1984 г. на заседании Специализированного Совета К.008.17.01 при Институте зоологии АН КазССР.

Адрес: 480032, Алма-Ата-32, Академгородок, Институт зоологии АН КазССР.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института зоологии Академии Наук Казахской ССР.

Автореферат разослан "14" ноября 1984 г.

Ученый секретарь  
Специализированного Совета  
доктор биологических наук

Э.И.ПРЯДКО

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Изучение морфофункциональных особенностей тегумента плоских червей имеет большое теоретическое значение, так как позволяет полнее раскрыть связь формы и функции его и, следовательно, глубже понять взаимоотношения трематод со средой обитания на всех фазах онтогенеза.

Данные по функциональной морфологии наружных покровов трематод представляют значительный интерес при решении таких общих вопросов паразитизма, как обеспечение трофики, устойчивость к ферментам и иммунологическим реакциям хозяина, специфичность конкретных хозяинно-паразитарных систем. Материалы теоретических разработок по указанным направлениям могут быть использованы в практических целях, в частности при выборе новых методов борьбы с возбудителями трематодозов, в том числе и зуритрематозов. Бесспорно значение работ подобного рода для разработки систематики крупных таксонов трематод.

Выбор объекта для исследования обусловлен тем, что марита зуритремы паразитирует в поджелудочной железе представителей целого ряда отрядов млекопитающих, в том числе у копытных и приматов. В литературе имеются данные о патогенном значении зуритремы поджелудочной для домашних жвачных животных (Клейнбок, 1949; Гагарин и др., 1957).

Цель и задачи исследования. Учитывая актуальность проблемы, мы поставили своей целью изучить морфофункциональные особенности тегумента зуритремы поджелудочной на разных фазах ее онтогенеза. Для этого необходимо было решить следующие задачи:

1). Изучить тонкую структуру покровных тканей дочерней спороцисты, церкария, метацеркария и мариты зуритремы подже-

лудочной.

2). Изучить гистохимию покровных тканей партенит и личинок.

3). Установить структурные и функциональные особенности наружных покровов эуритремы поджелудочной на разных фазах ее онтогенеза в связи с приспособлением ее к развитию в наземных условиях.

Данная работа является частью комплексных исследований, которые с 1976 г. проводятся лабораторией функциональной морфологии беспозвоночных животных Института зоологии АН КазССР и лабораторией гистологии и патологии Паразитологического института Чехословацкой Академии наук на основе договора о двустороннем научном сотрудничестве.

Научная новизна. Впервые описана ультраструктура покровных тканей дочерней спороцисты, церкария, метацеркария и мариты трематоды *Bayulghema pancreaticum* - паразита поджелудочной железы копытных животных.

Впервые описаны морфо-физиологические адаптации дочерних спороцист (мембранозный мешок, эндоциста), благодаря которым церкарии эуритремы приспособились к развитию в наземных условиях.

Впервые описаны дополнительные структуры - бородавчатые образования - стержни тела дочерней спороцисты эуритремы, не известные ни для одного из исследованных ранее видов трематод.

Установлено, что свободная поверхность мариты эуритремы несет, помимо складчатости, вторичные эвагинации типа микро-авершинок.

Литература. См. перечень. Материалы диссертации использованы

в монографии "Трематоды дикроцелииды мировой фауны" (В.Я.Панин, Алма-Ата, "Наука", 1984). Они могут быть использованы также в научно-исследовательских организациях, занимающихся изучением плоских червей и в частности трематод, а также учреждениями, занятыми разработкой мер профилактики и борьбы с паразитическими животными. Результаты исследования, представленные в диссертации, могут быть использованы в ВУЗах при изучении курсов "Гельминтология" и "Зоология беспозвоночных", а также для разработки систематики трематод.

Публикация и апробация результатов. По теме диссертации из печати вышли десять работ. Материалы диссертации докладывались на Межреспубликанском заседании-симпозиуме с лабораторией гельминтологии Института биологии АН КиргССР (Алма-Ата, март 1980), и заседании Общества паразитологов Казахстана (Алма-Ата, май 1983 г.).

Объем работы. Диссертация изложена на III страницах машинописного текста, включая литературу и 52 электроннограммы. Она состоит из введения, трех глав, выводов и списка литературы, включающего 132 источника, из которых 110 на иностранном языке.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Введение

Трематода *Eurytrema pancreaticum* (Janson, 1889) относится к отряду Plagiorchiida семейства Dicrocoeliidae - одной из наиболее крупных групп трематод. В процессе эволюции они приспособились к обитанию в условиях суши на личиночных стадиях развития. Свободноживущие личиночные стадии дикроце-

лиид (мирацидий, церкария) неактивны во внешней среде, в связи с чем возникает вопрос о способах питания и защиты их от неблагоприятных воздействий внешней среды, о специфических структурах, обеспечивающих эти процессы.

### Глава I. Материалы и методы

Спороцист и церкарий зуритрем мы получали при вскрытии спонтанно зараженных наземных моллюсков *Stadubaena lantzii* смм, собранных в окрестностях г. Алма-Аты. Метацеркарии извлекались из спонтанно зараженных кузнечиков, собранных в Алма-Атинской области. Марит зуритремы брали из поджелудочных желез крупного рогатого скота на Алма-Атинском мясокомбинате.

Материал для гистологических исследований фиксировали в формалин-кальциевой смеси Бейкера при комнатной температуре, а для гистохимических исследований в том же фиксаторе при 4°C в течение 16-27 часов. После обезвоживания в спиртах или ацетоне кусочки ткани заливались обычным способом в парафин или желатину (для выявления липидов). Срезы делали на обычном или замораживающем микротоме толщиной 5-7 мкм и окрашивали гематоксилин-эозином, по Маллори, кислым гематоксилином Мейера, гематоксилином Вейгерта.

Фиксация личинок трематод для выявления ферментов осуществлялась в смеси Бейкера при 4°C в течение 2 часов, затем материал промывали 5% сахарозой при той же температуре, проводили через охлажденный ацетон и заливали в парафин.

Были использованы следующие гистохимические реакции: на липиды - судан черный В, для выявления нейтральных мукополисахаридов - кармин Беста в комбинации с амилазой слюны, ШИК-ре

актив в комбинации с ацетилизацией и деацетилизацией. Для выявления кислых мукополисахаридов - альциановый синий при pH 2,6 в комбинации с метилированием и деметилированием по Фишеру и Лилли.

Все перечисленные выше гистологические и гистохимические методы имеются в руководстве Пирса (1962), поэтому подробно мы их не описываем.

Материал для электронной микроскопии фиксировали в 3% глутаральдегиде на 0,1 М каодиловом буфере (pH 7,2-7,4) при 4°C в течение 2 часов, а затем дофиксировали 1-2% четырехокисью осмия на том же буфере и при той же температуре, обезвоживали в этиловом спирте и заливали в эпон или вралдит. Срезы получали стеклянным ножом на микротоме Райхерта и ЛКВ. Окраску уранилацетатом проводили в процессе дегидратации в 70° спирте с последующим контрастированием на сетках в цитрате свинца. Изучение и фотографирование срезов проводили на электронных микроскопах УЭМВ-100 К и ЛЭМ 100 В.

Из методов электронной гистохимии применяли реакцию йодная кислота - протеинат серебра по Тьеру и реакцию с фосфорновольфрамовой кислотой по Раймбуру для определения полисахаридов и гликопротеидов (Гайер, 1974).

Всего было изготовлено около 600 гистологических препаратов и получено около 500 электронограмм.

## Глава II. Морфо-функциональные особенности наружных покровов эуритремы поджелудочной на ранних фазах онтогенеза

### Микроморфология и гистохимия дочерней спороцисты

Зрелые дочерние спороцисты эуритремы достигают 6,0-7,9 мм длины при ширине 0,7-1,0 мм. Один или оба полярные участки

тела спороцисты снабжены хоботковидными отростками, а центральная часть расширена за счет полости, содержащей церкарии. На гистосрезах видно, что стенка тела в области хоботковидного отростка значительно толще, чем в расширенной части. На границе перехода хоботковидного отростка в расширенную часть наблюдаются бородавчатые образования, которые представлены группой неравномерно расположенных бугорков 15-18 мкм в диаметре, выступающих над поверхностью тела спороцисты.

Снаружи спороциста окружена однослойной или многослойной клеточной оболочкой - "мантией", которая, вероятно, формируется за счет тканей хозяина и по мере созревания спороцисты разрушается.

"Мантия" представляет собой рыхлый пласт клеток, которые тесно прилегают к поверхности стенки тела спороцисты.

Свободная поверхность спороцисты образует неглубокую складчатость с округлыми вершинами складок. Двойная плазматическая мембрана, окружающая спороцисту снаружи, образует густую сеть длинных разветвленных микроворсинок.

Спороциста зуритремы обладает характерными бородавчатыми образованиями, под каждым из которых расположена группа железистых клеток. Проксимальные части их проходят через мышечный слой стенки спороцисты. В этом месте пучок железистых клеток сужается, но в тегументе он снова расширяется и заполняет бугорок. Везикулярное ядро железистых клеток расположено в расширенной дистальной части и содержит немного плотного хроматина, распределенного по периферии ядра. Ядро имеет одно крупное ядрышко. Цитоплазма железистых клеток, кроме больших секреторных телец различной величины, содержит большие протеиновые тела, множество цистерн эндоплазматической

сети, рибосомы и частицы бета-гликогена.

Цитоплазматический слой тегумента спороцисты эуритреми характеризуется обилием включений, среди которых количественно преобладают вакуоли двух типов: одни - круглые, крупные, светлые; другие - значительно мельче и округлая форма их деформирована тесным соприкосновением друг с другом. Они плотно заполняют пространство между вакуолями первого типа, оставляя лишь небольшие участки свободного матрикса, в котором располагаются мелкие митохондрии с плохо различимой структурой и рибосомы. В области хоботковидного отростка преобладают крупные вакуоли первого типа, тогда как в расширенной части доминируют вакуоли второго типа. Кроме вышеописанных включений, цитоплазматический слой содержит также сравнительно небольшое количество сферических электронноплотных гранул, окруженных мембранами.

Изнутри цитоплазматический слой тегумента окружает двойная плазматическая мембрана, которую подстилает базальная пластинка волокнистой структуры. Непрерывность базальной мембраны нарушают лишь протоки субтегументальных клеток.

С проксимальной стороны к базальной мембране примыкают пучки кольцевых и продольных мышц.

Субтегументальные клетки четырех типов, различаются между собой структурой ядер и цитоплазматическими включениями.

К первому типу относятся клетки с крупным округло-овальным ядром с одним крупным ядрышком и диспергированными зернами хромаина. Матрикс цитоплазмы умеренной электронной плотности, содержит небольшие митохондрии, рибосомы и округлые секреторные тельца, содержимое которых по плотности лишь не-

много уступает матриксу цитоплазмы.

Второй тип клеток в основной своей массе приурочен к зоне локализации бородавчатых образований.

Третий, наиболее многочисленный тип клеточных тел субтегументальной области спороцисты зуритремы, имеет небольшие фестончатые ядра, содержащие одно маленькое плотное ядрышко и крупные глыбки хроматина. Цитоплазма клеток насыщена крупными светлыми липидными вакуолями, аналогичными таковым поверхностного синицития тегумента.

Четвертый тип клеток характеризуется ядрами по размеру почти одинаковыми с ядрами клеток третьего типа, но с менее выраженной фестончатостью контура. Цитоплазма клеток заполнена массой мелких деформирующих друг друга вакуолей. Клеточные органеллы смещены к ядру и периферии клетки и сдавлены массой секреторных телец.

По-видимому, существует еще один тип клеток, которые секретируют сферические электронноплотные тельца, наблюдаемые в наружном цитоплазматическом слое тегумента. На изученных срезах не удалось наблюдать такие клетки целиком, однако отростки их со сферическими электронноплотными тельцами встречаются среди других клеток стенки тела спороцисты.

Идеальная система стенки тела спороцисты зуритремы представлена мерцательными или пламенивидными клетками и клетками, образующими экскреторные каналы. Ультраструктура мерцательных клеток спороцисты зуритремы в общих чертах напоминает такую у спороцист других видов трематод.

Тонкая стенка тела спороцисты ограничена особой структурой - "внутриклеточным желком". Он состоит из уплощенных кле-

тон с многочисленными цитоплазматическими отростками. Ядра таких клеток также имеют уплощенную форму и содержат хорошо выраженное ядрышко и глыбки хроматина, сосредоточенные преимущественно под ядерной мембраной. Небольшие участки перинуклеарной цитоплазмы и отростки клеток содержат митохондрии, гранулы гликогена и гидрофобных липидов.

Под слоем плоских отростчатых клеток располагается эндочиста. У незрелых спорцист границы между мембранозным мешком и эндочистой выражены нечетко. Мембранозный мешок и эндочиста формируются за счет внутреннего паренхимного слоя стенки тела спорцисты.

У зрелых дочерних спорцист, вышедших из организма промежуточного хозяина во внешнюю среду, клеточная структура мембранозного мешка утрачивается. Ядра клеток дегенерируют, превращаясь в небольшие плоские пузырьки с отдельными зернами хроматина. Сформированный мембранозный мешок представляет собой образование, состоящее из нескольких слоев тонких параллельно расположенных цитоплазматических тяжей. У зрелых дочерних спорцист сильно изменяется также и структура эндочисты, тонкое строение которой подробно описала Дзярска (1979).

В гистохимическом отношении дочерняя спорциста внутри характеризуется рядом присущих ей свойств. Дистальная цитоплазма содержит нейтральные и кислые мукополисахариды, тирозин и триптофан, а также проявляет высокую активность неспецифической эстеразы.

Секреторные тела железистых клеток, лежащих под бороздчатыми образованиями, содержат большое количество протеинов

с тирозином, триптофаном и сульфгидрильными группами. В цитоплазме железистых клеток между цистернами эндоплазматического ретикулула имеются скопления гранул гликогена.

Мембранный мешок и эндоциста дают положительную реакцию на тирозин, триптофан и цистеин. Гликоген обнаруживается в мембранном мешке только молодых спорцист, у зрелых он отсутствует.

Эндоциста ШИК-позитивна у молодых и зрелых дочерних спорцист, однако у спорцист, вышедших из моллюсков во внешнюю среду, гликоген методом электронной гистохимии выявляется только в наружном слое эндоцисты. Кислые мукополисахариды в эндоцисте отсутствуют. В эндоцисте установлена высокая активность щелочной фосфатазы.

Таким образом, дочерняя спорциста эуритреми характеризуется наличием ряда морфологических структур с различным функциональным значением. Тегумент развивающихся спорцист, помимо защитной функции, участвует в абсорбции питательных веществ из окружающих тканей хозяина. Субтегументальный клеточный слой является основным резервуаром запасных питательных веществ (гликоген, липиды), а также в период миграции спорцист из организма промежуточного хозяина во внешнюю среду. Функции мембранного мешка и эндоцисты в онтогенезе дочерней спорцисты меняются. Сначала они выполняют функцию снабжения развивающихся церкарий питательными веществами, о чем свидетельствует наличие связей между этими структурами и клеточным слоем тегумента. У свободноживущих (зрелых) спорцист тегумент, мембранный мешок и эндоциста обеспечивают в основном защиту церкарий от быстрого высыхания во внешней среде.

### Тонкая структура и гистохимия церкарий

Синцитиальная часть тегумента зрелого церкария зуритремы имеет одинаковую структуру по всей поверхности тела, за исключением ротовой присоски. Наружная поверхность тегумента образует мелкую складчатость и только на ротовой присоске снабжена короткими толстыми микроворсинками. Снаружи и внутри она ограничена элементарной плазматической мембраной.

Матрикс цитоплазматического слоя мелкозернистый, средней электронной плотности, содержит единичные митохондрии, канальцевые структуры и включения в виде нелочновидных осмиофильных тел, окруженных плазматической мембраной. Под базальной пластинкой лежит волокнистый слой, ниже которого располагаются слои круглых и продольных мышц.

Тегумент тела вокруг ротовой присоски содержит многочисленные сенсорные рецепторы двух типов - с ресничкой и без нее. Ресниччатые сенсорные рецепторы имеют одну или две реснички каждый.

На ранних стадиях развития у церкарий имеются четыре типа желез: цистогенные, пенетральные (железы проникновения), вентральные и дорсальные. Последние два типа желез участвуют в формировании наружных покровов, развиты они слабо и у зрелых церкарий полностью редуцируются.

Тегумент церкарий зуритремы проявляет активность щелочной фосфатазы. Секрет цистогенных желез содержит нейтральные и кислые мукополисахариды, секрет желез проникновения - нейтральные мукополисахариды и белки.

Тонкая структура и гистохимия цисты и метацеркарии

Цисты метацеркарий эуритремы овальные, длиной 0,32-0,34 мкм и шириной 0,18-0,21 мкм. Толщина стенки цисты 1,78-1,87 мкм. Она состоит из трех слоев: наружным, средним и внутренним.

Наружный слой тонкий, электронкоплотный, мелкозернистой структуры, содержит кислые мукополисахариды и небольшое количество тирозина и цистина.

Средний слой имеет толщину 1,44-1,52 мкм. Он умеренной электронной плотности и состоит из рыхло расположенных гранулоподобных образований различной величины. В нем выявлены нейтральные мукополисахариды, тиразин и протеины.

Внутренний слой цисты 0,25-0,29 мкм толщины, тонкофибриллярный, по плотности превосходит предыдущие слои. Проксимальная поверхность его образует различной формы инвагинации в полость цисты. Во внутреннем слое имеются сульфатированные кислые мукополисахариды, тирозин и протеины с дисульфидными группами. Гликоген в стенке цисты не выявлен.

Тонкая структура метацеркарий дикроцели до ранее не изучалась. Наши исследования показали, что покровы метацеркарий эуритремы имеют много общих признаков с покровами церкарии и марит, поскольку являются промежуточным звеном между ними. Различия касаются в основном количественных характеристик.

Тонкая структура и гистохимия тегумента мариты

Покровы мариты эуритремы представляют собой типичный тегумент, состоящий из наружного цитоплазматического синцития

и субтегументального слоя. Свободная поверхность тегумента окружена плазматической мембраной и имеет неровный контур с множеством выпячиваний, на которых наблюдаются вторичные выросты, напоминающие микроворсинки.

Цитоплазматический слой тегумента содержит митохондрии, канальцевые структуры и секреторные тела трех типов.

Секреторные тела, условно отнесенные нами в первую группу, представляют собой палочковидные образования, окруженные элементарной плазматической мембраной.

Тельца второго типа - округлые электронноплотные гранулы, ограниченные плазматической мембраной.

Третий тип включений - это сильно вакуолизованные тела, окруженные мембранами.

Изнутри цитоплазматический слой окружает плазматическая мембрана с подстилающей ее фибриллярной пластинкой. С проксимальной стороны к базальной пластинке прикреплены пучки круглых мышц, ниже которых располагаются продольные мышцы.

Субтегументальный клеточный слой расположен непосредственно под мышечным слоем и представлен двумя типами клеток. Одни клетки характеризуются наличием в цитоплазме секреторных продуктов в виде электронноплотных палочковидных телец и округлых гранул, подобных описанным выше в наружном цитоплазматическом слое тегумента.

Секрет других субтегументальных клеток представлен округлыми вакуолизованными тельцами, аналогичными тем, что наблюдаются в наружном цитоплазматическом слое тегумента.

Цитоплазматический слой тегумента марины содержит большое количество кислых и нейтральных мукополисахаридов. В суб-

тегументальных клетках эти вещества представлены в меньших количествах. Цитоплазматический слой тегумента проявляет хорошо выраженную реакцию на тирозин. В наружном тегументе и цитонах наблюдается значительное количество протеинов с дисульфидными группами. Наружная и отчасти погруженная части тегумента содержат липиды. Гликоген в тегументе не выявлен.

#### Анализ полученных данных

Гистологические, гистохимические и электронномикроскопические исследования спороцисты зуритремы свидетельствуют о достаточно сложном строении ее стенки тела. В отличие от спороцист трематод, развивающихся в водной среде, например, плагиорхид, у которых церкарии покидают спороцисту и переходят в воду, спороциста зуритремы сама покидает моллюска, при этом на нее помимо задачи воспроизводства потомства возлагается функция выведения личинок во внешнюю среду и сохранения в условиях суши. Для осуществления этой задачи спороциста зуритремы обладает рядом особенностей строения. Мощное разгитие стенки тела в области хоботковидного отростка делает его активной метаболической зоной спороцисты. Бородавчатые образования, впервые описанные для спороцисты зуритремы, не имеют аналогов у спороцист других видов трематод. Тегумент спороцисты зуритремы в области бородавчатых образований тесно связан с тканью хозяина. Возможно, что секреторные тела железистых клеток бородавчатых образований спороцисты зуритремы содержат гистолитические ферменты. Принимая во внимание, что у зуритремы стадией расселения является спороциста, а не церкария, можно предположить, что функция бородавчатых образований с железистыми клетками связана с прикреплением споро

цисст к тканям хозяина и гистолизисом, необходимым для получения питательных веществ во время роста спороцист, а также во время продвижения их через ткани хозяина и выделения во внешнюю среду.

Другой особенностью строения спороцисты зуритремы является наличие своеобразной структуры - эндоцисты, которая непосредственно окружает церкарий, являясь дополнительной защитной структурой для последних.

Тонкая структура тегумента дочерней спороцисты зуритремы в общих чертах напоминает таковую других видов трематод и подразделяется на наружную и внутреннюю (погруженную) части, соединенные друг с другом цитоплазматическими тяжами. Главное объединяющее сходство спороцист разных видов трематод, обусловленное пристеночным способом пищеварения, заключается в образовании на свободной поверхности тегумента складок и ворсинок, увеличивающих его поверхность.

Строение наружных покровов дочерних спороцист зуритремы и близко родственных с ней видов дикроцелия и корригии обнаруживает, наряду со специфическими чертами, обусловленными экологическими особенностями, наличие целого ряда сходных черт. Наибольшим сходством обладают спороцисты зуритремы со спороцистами корригии (Павиа, 1982). Удобно зуритреме, спороцисты корригии обладают мембранозным мешком и эндоцистой, тогда как у спороцист дикроцелия эти структуры отсутствуют, поскольку адаптация к наземным условиям у дикроцелия шла несколько другим путем, при котором церкарии выделяются во внешнюю среду в слизистых шарах, а не в спороцистах, как у зуритремы и корригии. Дочерние спороцисты зуритремы и корри-

гии имеют много общих свойств в гистохимическом составе, в частности в содержании мукополисахаридов, протеинов и ферментов. Кислые мукополисахариды и щелочная фосфатаза у спороцист эуритремы и корригии локализуются в эндоцисте, а у дикроцелии - в стенке тела самой спороцисты. Эти особенности главным образом и определяют функциональную роль спороцист дикроцелиид. Поскольку у дочерних спороцист кишечник отсутствует, питание их и развивающихся в них личинок осуществляется через тегумент и дериваты клеток паренхимы, в частности эндоцисту.

Основным источником энергии для спороцист и церкарий эуритремы, как и других видов трематод, является гликоген, который синтезируется из глюкозы ткани хозяина, абсорбируется тегументом, проходит через него в клетки паренхимы, а из них поступает к церкариям. Церкарии эуритремы и корригии получают гликоген из полости спороцисты через эндоцисту путем активного транспорта глюкозы через ее стенку, о чем свидетельствует высокое содержание щелочной фосфатазы в эндоцисте. Таким образом, эндоциста выполняет роль не только защитной структуры в период пребывания дочерней спороцисты во внешней среде, но и в обеспечении церкарий питанием в процессе их развития в организме хозяина.

Церкарии многих трематод инцистируются на субстрате или в организме промежуточного хозяина. Природа стенки цисты, как указывал Реев (1967) не является общей для всех видов трематод, ибо состав ее зависит от локализации цист и типа цистогенных желез. У метацеркарий эуритремы стенка цисты состоит из трех слоев, отличающихся по своей структуре и химическому

составу. Наружный слой цисты содержит карбоксильные кислые мукополисахариды, тирозин и цистин; средний слой - нейтральные мукополисахариды, тирозин и дисульфитные протеины. Во внутреннем слое преобладают сульфатированные кислые мукополисахариды. Цисты метацеркарий эуритремы формируются, вероятно, в основном из секрета цистогенных желез, в состав которых входят нейтральные и кислые мукополисахариды с карбоксильными и сульфгидрильными основаниями. Возможно, в формировании цист метацеркарий эуритремы принимает участие и секрет желез проникновения, содержащий тирозин и дисульфидные протеины. Это предположение основывается на том, что у метацеркарий эуритремы железы проникновения развиты сильнее, чем у церкарий.

Мариты эуритремы имеют типичную для представителей класса трематод организацию покровов. Это тегумент, четко разделенный на наружный и внутренний отделы, связанные друг с другом цитоплазматическими тяжами. Насыщенность наружного цитоплазматического слоя клеточными органоидами и секреторными телами субтегументальных клеток свидетельствует о высокой метаболической активности тегумента. Большинство исследованных видов марит трематод не имеет микроворсинок. Увеличение их свободной поверхности происходит за счет образования складок. Образования типа микроворсинок, обнаруженные нами на поверхности марит эуритремы, отмечены лишь у *Dicrocoelium lanceatum* (Полыкова-Крыстева, 1974) и *Corrigla vitta* (Robinson, Halton, 1983).

Сравнение тегумента мариты эуритремы с покрывами других плоских червей обнаруживает немало черт сходства, особенно у

близко родственных видов. Так, у эуритремы и дикроцелия наблюдается сходство структуры цитоплазматического слона, включения которого обладают не только морфологическим сходством но и характером расположения. Немало аналогий в строении тегумента можно проследить у эуритремы и других видов трематод.

Подводя итог, сделаем попытку проследить процесс появления адаптаций, позволивших дикроцелиидам, и в частности эуритреме, приспособиться к развитию в наземных условиях с резкими колебаниями различных физических факторов.

Чтобы нормально существовать, любой организм должен прежде всего питаться. У всех половозрелых форм трематод кишечных имеется, есть он и у таких партеногенетических стадий, как редия, а также у потомков всех форм партенит - церкарий. Спороцисты же трематод лишены кишечника. Естественный отбор "позаботился" о безкишечных спороцистах.

А в процессе эволюции их наружные покровы приобрели способности к выполнению трофической функции, освободив полость спороцисты для развивающихся церкарий. Структурной основой пищеварения явились микроворсинки, либо многочисленные складки на поверхности тела. Появились и соответствующие химические субстанции в виде гидролитических ферментов, с помощью которых гликоген тканей хозяина расщепляется до моносахаров, которые уже транспортируются в субтегументальные и паренхимные клетки стенки тела спороцисты. Здесь происходит ресинтез гликогена, который служит основным источником энергии.

Трофическая функция не является специфичной для спороцист дикроцелиид, однако наличие дополнительных структур (мембранозный мешок, эндоциста) вносит определенное своеоб-

разие в процессе пищеварения.

У спороцист дикроцелиид более выражена защитная функция наружных покровов, в связи с чем наблюдается постепенное утолщение морфо-физиологических адаптаций, которые проявляются в утолщении стенки тела и формировании эндоцисты, а также слоя из преобразованных соединительнотканых клеток. Дочерние спороцисты дикроцелия существуют только в период развития в организме моллюска, поэтому стенки тела у них тонкие. Защитные механизмы здесь работают для нейтрализации механического и химического воздействия хозяина на спороцист. Иная картина у спороцисты эуритремы и корритии, которые выделяют-ся во внешнюю среду и обеспечивают тем существование церкарий. В этих случаях защитные механизмы направлены на предотвращение быстрого высыхания спороцист и церкарий. У спороцисты эуритремы наблюдается интенсивный синтез липидов в субтегументальных клетках и секреция их в цитоплазматическую часть тегумента. За счет этих экскреторных липидов возникает дополнительный защитный экран, который препятствует высыханию спороцисты. Таковы морфологические адаптации партемит дикроцелиид, возникшие в процессе перехода предков дикроцелиид к развитию в условиях суши.

У церкарий названных видов дикроцелиид наблюдается иная картина. В отличие от церкарий большинства видов трематод, развивающихся в водной среде и ведущих свободный образ жизни, церкарии дикроцелиид никогда не находятся в свободном состоянии. У дикроцелия они заключены в слизистые шары, а у эуритремы и корритии постоянно находятся в дочерних спороцистах, поэтому отпадает необходимость в образовании собственных за-

щитных приспособлений.

Таким образом, переход партенит к развитию в наземных условиях сопровождался двумя противоположными тенденциями. С одной стороны, имела место регрессия некоторых личиночных органов, утративших свое значение в новых условиях существования, с другой – прогрессивное развитие морфофизиологических адаптаций самих партенит. Дочерние спороцисты дикроцелиид характеризуются наличием ряда морфологических структур с различным функциональным назначением. Тагумент их, помимо защитной функции, участвует в абсорбции питательных веществ из окружающих тканей хозяина. Субтагументальный клеточный слой образует мягкий скелет, является местом синтеза соответствующих химических субстанций, а также основным резервуаром запасных питательных веществ (гликоген, липиды). Функции соединительнотканного слоя стенки тела, в том случае, когда он имеется, в процессе онтогенеза партенит меняются. Сначала он выполняет функцию снабжения церкарий пищевым материалом, о чем свидетельствует наличие связей его с клеточным слоем тагумента. У свободноживущих спороцист он обеспечивает в основном защиту церкарий от высыхания. Эндоциста также выполняет двойную функцию: защитную и метаболическую.

## ВЫВОДЫ

1. Получены новые данные о тонком строении наружных покровов дочерней спороцисты и мариты, а также впервые изучены ультраструктура и гистохимия покровной ткани церкарий и метцеркарий *Eurytrema pancreaticum* – паразита поджелудочной железы домашних и диких животных.

2. Структура дочерней спороцисты эуритремы заметно отли-

чается от спороцист других изученных видов трематод-дикроце-  
лид. На одном или обоих полюсах тела она имеет хоботковид-  
ные отростки, в области которых отмечено обилие клеточных  
тел, что делает отростки метаболически активными зонами. Ха-  
рактерной особенностью дочерней спороцисты зуритремы являет-  
ся также наличие бородавчатых образований в области оботко-  
видных отростков, а также мембранозного мешка в стенке тела.

3. Стенка тела дочерней спороцисты состоит из тегумента,  
субтегументальных клеток, мембранозного мешка и эндоцисты, в  
которой находятся церкарии. Тегумент представлен безъядерным  
цитоплазматическим слоем и субтегументальными клетками, по-  
груженными под базальную мембрану. Наружная поверхность те-  
гумента снабжена многочисленными складками и образованиями  
типа микроворсинок, что связано, по-видимому, с полным отсут-  
ствием пищеварительной системы у дочерних спороцист зуритре-  
мы.

4. В нуклеарной зоне тегумента отмечено 4 типа клеток.  
Наиболее многочисленны клетки с крупными гранулами гидрофоб-  
ных липидов. Функция этих гранул заключается в обеспечении  
защиты спороцисты от быстрого высыхания в период пребывания  
их во внешней среде.

5. Мембранозный мешок и эндоциста формируются за счет  
клеток паренхиматозного слоя стенки тела спороцисты путем по-  
степенного уплощения их и образования многочисленных тонких  
отростков. Сформированная эндоциста утрачивает клеточную  
структуру, в ней сохраняются только остатки мембран и мито-  
хондрии, находящиеся в состоянии дегенерации.

6. Тегумент дочерней спороцисты зуритремы содержит лей-

тральные и кислые мукополисахариды, тирозин, триптофан, а также проявляет высокую активность неспецифической эстеразы. Секреторные тела желвистых клеток, лежащих под бородавчатыми образованиями, содержат большое количество протеинов с тирозином и триптофаном. Мембранозный мешок и эндоциста дают положительные реакции на тирозин, триптофан и цистеин. В хоботковидных отростках спороцисты в большом количестве содержатся гидрофобные липиды и гликоген. Субтегументальные клетки молодых спороцист также содержат много гликогена и протеинов. Гликоген в мембранозном мешке обнаруживается только в период паразитирования спороцист в моллюсках.

7. Дочерняя спороциста зуритремы характеризуется наличием ряда морфологических структур с различным функциональным назначением. Тегумент спороцист помимо защитной функции участвует в абсорбции питательных веществ из окружающих тканей хозяина. Субтегументальные клетки являются основным резервуаром запасных веществ (гликоген, липиды). Мембранозный мешок и эндоциста молодых спороцист выполняют функцию снабжения развивающихся церкарий питательными веществами, а у зрелых спороцист — функцию защиты церкарий от быстрого высыхания во внешней среде.

8. Тегумент зрелых церкарий зуритремы представлен наружным безъядерным цитоплазматическим слоем и субтегументальными клетками. Различия в структуре тегумента разных участков тела церкарий не выявлены, за исключением наличия сенсорных окончаний в области ротовой присоски. В тегументе церкарий отмечена высокая активность щелочной фосфатазы.

9. На ранних этапах развития церкарии зуритремы имеет

четыре типа желез: цистогенные, пенетральные, вентральные и дорзальные. Последние два типа желез участвуют в формировании наружных покровов церкарий. Секреты вентральных и дорзальных железистых клеток освобождаются в тегументе. В состав секрета вентральных желез входит кислые мукополисахариды с сульфогруппами, белки с тирозином, триптофаном и SS-группами. Рудиментарные дорзальные железы содержат кислые мукополисахариды.

10. Циста метацеркарий зуритремы состоит из трех слоев, отличающихся по своей структуре. Наружный слой содержит кислые мукополисахариды, тирозин и цистеин; средний слой - нейтральные мукополисахариды, тирозин и дисульфидные протеины; внутренний слой - сульфатированные кислые мукополисахариды, тирозин и дисульфидные протеины.

11. Тегумент метацеркарий зуритремы в структурном отношении имеет много общих черт с тегументом церкарий. Различия касаются в основном количественных характеристик: толщина безъядерного цитоплазматического слоя, количество и характер расположения в нем клеточных органелл и включений (митохондрий, гранул, везикул). У метацеркарий все эти показатели гораздо выше, чем у церкарий. Субтегументальные клетки, их отростки и наружный цитоплазматический слой тегумента содержат кислые мукополисахариды с сульфогруппами.

12. Тегумент мариты зуритремы представляет собой погруженный эпителий, типичный для представителей класса трематод. Он состоит из безъядерного наружного цитоплазматического слоя, соединенного с помощью цитоплазматических тяжей с цитонами, расположенными под базальной мембраной. Цитоплазма наружного

слоя, тяжелой и питательной содержит митохондрии, палочковидные тела, округлые электронноплотные гранулы и вакуоли.

13. Цитоплазматический наружный слой тегумента мариты эуритремы содержит большое количество кислых и нейтральных мукополисахаридов, тирозина и протеинов с дисульфидными группами.

14. Данные электронной микроскопии и гистохимии подтверждают существующее мнение о том, что наружный безъядерный слой тегумента формируется за счет цитоплазмы субтегументальных клеток.

#### СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ:

1. Нестеренко Л.Т. Ультраструктура стенки тела незрелой дочерней спороцисты *E. pancreaticum*. Сб. "Жизненные циклы, экология и морфология гельминтов животных Казахстана", Алма-Ата, 1978.

2. Zdzarska Z., Panin V.Ja., Nesterenko L.T. Morphology, histochemistry and altrahistochemistry of special verrucose formations in daughter sporocyst of *E. pancreaticum*. *Folia parasitol.*, 1978, 25, 41-47.

3. Nesterenko L.T., Panin V.Ja., Fedoseenko V.M. The structure of the endocyst in daughter sporocyst of *E. pancreaticum*. *Folia parasitol.*, 1980, 27, 2, 131-134.

4. Нестеренко Л.Т., Начева Л.В., Федосеенко В.М. Морфологические особенности дочерних спороцист трематоды *E. pancreaticum*. Изв. АН КазССР, сер.биол., 1980, I, 40-46.

5. Zdzarska Z., Panin V.Ja., Nesterenko L.T. Morphology and histochemistry of the metacercaria of *E. pancreaticum*. *Folia parasitol.*, 1980, 27, 2, 150-154.

6. Начева Л.В., Нестеренко Л.Т. Взаимоотношение в системе "паразит-хозяин" на примере ауристры поджелудочной. В кн. "Вопросы теоретич. и клинич. медицины". Тез. докл. обл. научн. конф. молодых специалистов, Кемерово, 1981.

7. Панин В.Я., Ждярска Ъ., Нестеренко Л.Т. Функциональная роль морфологических структур дочерней спороцисты трематоды *E.pancreaticum*. Изв. АН КавССР, сер. биол., 1981, 8, 40-43.

8. Zdarska Z., Panin V.Ja., Nesterenko L.T. Morphological adaptation of larval stages of *E.pancreaticum* to terrestrial conditions. IV Internat. Symposium Helmintol., Kosice, 1982, 58.

9. Нестеренко Л.Т., Гулинска Д., Федосеенко В.М. Тонкая структура тегумента трематоды *E.pancreaticum*. Изв. сер.биол., 1983, 3, 29-33.

10. Zdarska Z., Nesterenko L.T., Fedoseenko V.M. Ultrastructure of the tegument of *E.pancreaticum* cercarial. *Polia parasitol.*, 1983, 30, 3, 257-261.

