

УДК 595.121.11 — 14.012.4

**ЦИТОАРХИТЕКТОНИКА ЖЕЛТОЧНИКОВ ДВУХ ВИДОВ
МОНОГЕНЕЙ ИЗ ЦЕЛЬНОГОЛОВЫХ РЫБ CHIMAERA
MONSTROSA L.: АНАЛИЗ СТРОЕНИЯ ЖЕЛТОЧНИКОВ
НЕОДЕРМАТНОЙ ГРУППЫ ПЛАТГЕЛЬМИНТОВ**

© Л. Г. Поддубная,¹ W. Hemmingsen²

¹ Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН
Ярославская обл., пос. Борок, 152742
E-mail: 1poddubny@ibiw.yaroslavl.ru

² Department of Arctic and Marine Biology
Faculty of Biosciences, Fisheries and Economics, University of Tromsø
9037 Tromsø, Norway
Поступила 20.06.2014

Изучена ультраструктура желточных фолликулов эктопаразитических моногеней *Chimaericola leptogaster* Leuckart, 1830 (Polyopisthocotyliidea, Chimaericolidae) и эндопаразитических *Calicotyle affinis* Scott, 1911 (Monopisthocotyliidea, Monocotyliidae), паразитов жабр и клоаки реликтовых цельноголовых рыб *Chimaera monstrosa* L. Желточные фолликулы данных видов моногеней содержат желточные клетки различной стадии дифференцировки. У *C. leptogaster* отсутствует пограничная пластинка вокруг фолликулов, и пограничные желточные клетки сближены с окружающими фолликулы кишечными клетками многочисленных дивертикулов двух латеральных кишечных стволов. У *C. affinis* желточные фолликулы окружены пограничной пластинкой. Выявлены различия в составе желточного материала в зрелых желточных клетках *C. leptogaster* и *C. affinis*, в цитоплазме которых помимо кластеров с различным количеством желточных глобул (до 30 у *C. leptogaster* и до 50 у *C. affinis*) имеются различные по морфологии липидные капли, гомогенные у *C. affinis* и гетерогенные у *C. leptogaster*. Показано, что в цитоплазме зрелых желточных клеток фолликулов и таковых из желточных протоков у *C. leptogaster* присутствуют кластеры, заполненные гранулярными тельцами, идентичными по размерным характеристикам желточным глобулам. В созревающих желточных клетках *C. affinis* присутствуют крупные гликановые везикулы (до 3.5 мкм), деструкция которых наблюдается в зрелых желточных клетках с высвобождением гликогеновых розеток и остаточных плотных агломератов. Выполнен анализ цитоархитектоники желточников неодерматной группы платгельминтов.

Ключевые слова: Monogenea, *Chimaericola leptogaster*, *Calicotyle affinis*, желточники, ультраструктура.

Химеровые рыбы являются одной из древнейших и реликтовых групп цельноголовых рыб (Holocerphali), дивергировавших от акул более 400 миллионов лет назад и остающихся до настоящего времени изолированной группой глубоководных рыб (Inoue et al., 2010). По мнению ряда авторов, эктопаразитические паразиты жабр химеровых рыб, химероколитидные моногенеи ко-эволюционировали с их хозяевами с момента становления последних (Быховский, 1957; Boeger, Kritsky, 1997). Представители полиопистхотилидных моногеней отряда Chimaericolidea сем. Chimaericolidae Brinkmann, 1952 занимают наиболее базальную позицию в подклассе Polyopisthocotylea класса Monogenea (Быховский, 1957; Boeger, Kritsky, 2001) и это, по мнению Б. Е. Быховского (1957), наиболее специализированная и одновременно имеющая ряд примитивных черт группа моногеней. Эндопаразитические монопистхотилидные моногенеи *Calicotyle affinis* из отряда Monocotylidea и сем. Monocotylidae Taschenberg, 1879 в основном встречаются у Holocerphali. По мнению Б. Е. Быховского (1957), *C. affinis* — вторично перешедшие на Holocerphali паразиты, которые имеют относительно недавние эволюционные связи с цельноголовыми рыбами, а их первоначальными хозяевами были акулы и скаты.

Ультраструктурные данные по морфологии желточников моногеней лимитированы несколькими работами по исследованию как полиопистхотилидных, так и монопистхотилидных моногеней (Halton et al., 1974; Cable, Tinsley, 1991; Baptista-Farias, Kohn, 1998; Poddubnaya et al., 2013a). В настоящей работе изучено строение желточников эктопаразитических *Chimaericola leptogaster*, представителя подкласса Polyopisthocotylea, и эндопаразитических *Calicotyle affinis*, представителя подкласса Monopisthocotylea, и проведен сравнительно-морфологический анализ цитоархитектоники желточников представителей различных групп Neodermata с привлечением собственных ультраструктурных данных и обобщением литературного материала.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектами исследования послужили два вида моногеней, эктопаразитические полиопистхотилидные паразиты жабр, *Chimaericola leptogaster* и эндопаразитические монопистхотилидные паразиты клоаки, *Calicotyle affinis*. Взрослых червей добывали из естественно зараженных рыб, химеры европейской, *Chimaera monstrosa* из Норвежского моря в районе г. Тромсо (Норвегия). Рыб вылавливали с помощью глубоководного трала судна «Joan Ruud», принадлежащего университету г. Тромсо, с глубины 570 м. Для электронно-микроскопического исследования червей фиксировали 4%-ным глутаровым альдегидом, разведенным на фосфатном буфере pH 7.4, дофиксировали 1%-ным OsO₄, дегидратировали в спиртах и ацетоне и заливали в смесь Эпона и Аралдита. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца по Рейнольдсу. Исследования проводились с использованием трансмиссионного JEOL-JEM-1011 электронного микроскопа.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Структура желточных фолликулов *Chimaericola leptogaster* (Polyopisthocotyloidea, Chimaericolidea)

Многочисленные кортикальные желточные фолликулы *C. leptogaster* тянутся двумя латеральными полями (правой и левой) вдоль тела червей (рис. 1, А, см. вкл.) от уровня глотки до длинного стебелька, терминальная часть которого снабжена прикрепительным органом. Каждый желточный фолликул состоит из одного типа клеточных элементов, желточных клеток различной степени зрелости, плотно прилегающих друг к другу (рис. 2, А, см. вкл.). Желточные фолликулы не изолированы от окружающих их паренхимных клеточных элементов пограничной фиброзной пластинкой (рис. 1, Е). Фолликулярные пограничные желточные клетки каждой из двух боковых (правой и левой) ветвей желточных фолликулов, обращенные в сторону покровов, соседствуют с отростками тегументальных и мышечных клеток (рис. 1, А, Е), а таковые, обращенные внутрь тела червей, граничат с кишечными клетками многочисленных дивертикулов правого и левого кишечных стволов соответственно (рис. 1, А, В—Д). Цитоплазма кишечных клеток *C. leptogaster* заполнена многочисленными пигментными гранулами, в составе которых можно наблюдать скопления рыхлого материала различной электронной плотности (рис. 1, В—Г). Часто базальная мембрана кишечных клеток примыкает плотно к плазматической мембране пограничных желточных клеток фолликулов, особенно в местах локализации незрелых и созревающих желточных клеток (рис. 1, В—Г).

Компактные желточные фолликулы *C. leptogaster* содержат желточные клетки различной стадии зрелости: 1) малодифференцированные клетки; 2) клетки начальных этапов секреторной активности, продуцирующие изолированные белковые желточные гранулы и первые кластеры; 3) активно секретирующие клетки, в цитоплазме которых помимо кластеров с желточными гранулами появляются липидные капли различной плотности; 4) зрелые желточные клетки, гликогенезис у которых сопряжен с частичной деформацией гранулярного эндоплазматического ретикулума и появлением гранулярных телец (рис. 2, А—В).

Малодифференцированные клетки имеют крупное ядро с ядрышком и островками гетерохроматина; небольшой объем их цитоплазмы заполнен рибосомами и митохондриями (рис. 2, Б). В цитоплазме желточных клеток начальных этапов секреторной активности можно наблюдать цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума (ГЭР) и везикулярные элементы комплексов Гольджи, в которых формируются зарождающиеся электронно-плотные желточные глобулы шаровидной формы диаметром 0.04 мкм (рис. 2, Б, Г). Одновременно в цитоплазме этих клеток прослеживается процесс слияния мелких глобул в более крупные гранулы размером от 0.1 до 0.2 мкм в диаметре, с последующим объединением двух—трех разноразмерных гранул в формирующиеся кластеры (рис. 2, Г). По мере созревания желточных клеток в их цитоплазме увеличивается количество комплексов Гольджи и цистерн ГЭР, а также желточных кластеров, в которых наблюдается от 3 до 7 плотноупакованных желточных глобул разного размера (рис. 2, В). Впоследствии в созревающих клетках увеличивается

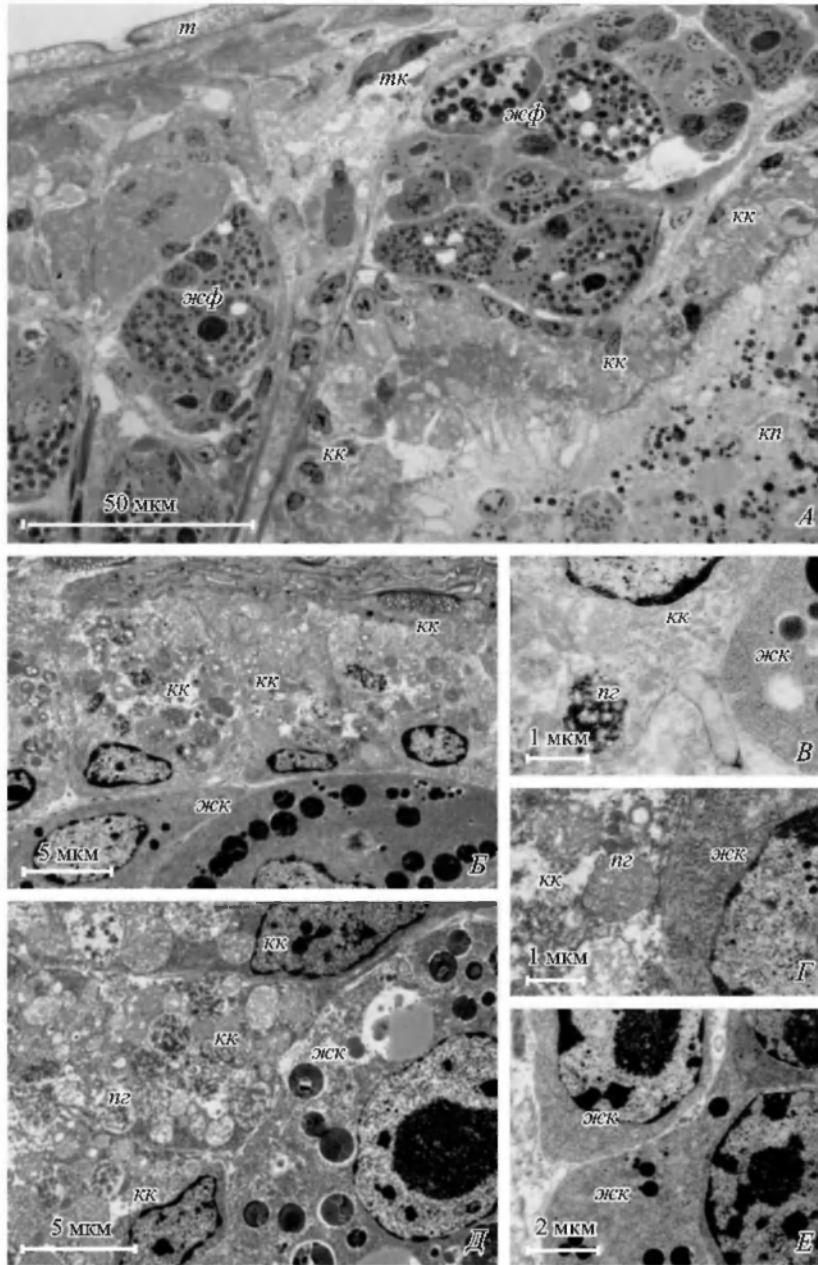


Рис. 1. Желточные фолликулы, сближение желточных и кишечных клеток у *Chimaericola leptogaster*.

A — кортикальные фолликулы, граничащие с кишечными клетками; *B* — пограничные желточные клетки фолликула, окруженные кишечными клетками; *B—D* — сближение плазматических мембран пограничных желточных и кишечных клеток; *E* — пограничные желточные клетки, обращенные в сторону покрова. *жс* — желточная клетка, *жсф* — желточный фолликул, *кк* — кишечная клетка, *пг* — пигментная гранула в цитоплазме кишечной клетки, *т* — тегумент, *тк* — тегументальная клетка.

Fig. 1. Vitelline follicles of *Chimaericola leptogaster*, relationship between vitelline and intestinal cells.

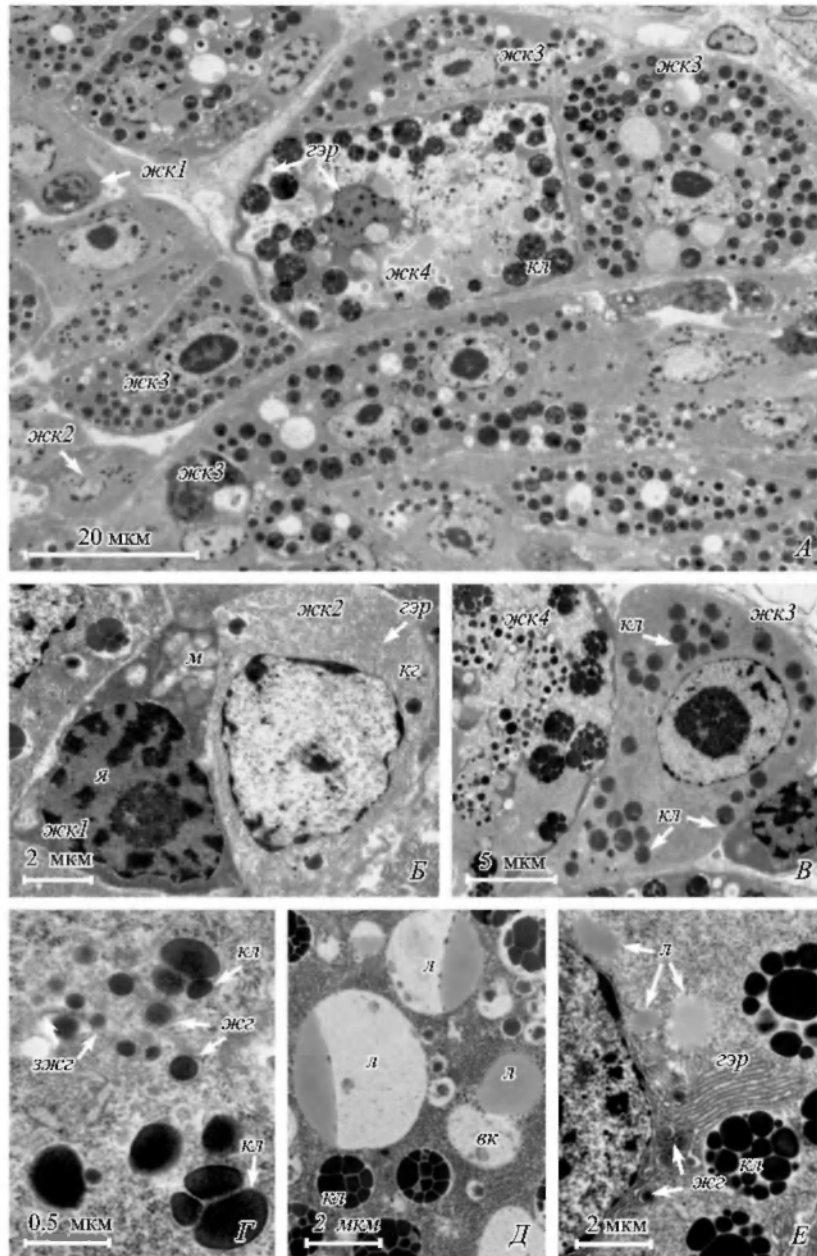


Рис. 2. Дифференцирующиеся желточные клетки *Chimaericola leptogaster*.

А — желточные клетки различной стадии зрелости в желточных фолликулах; Б — начальные этапы секреторной активности желточных клеток, клетки 1-й и 2-й стадии зрелости; Б' — желточная клетка 3-й стадии зрелости; Г — формирование желточных глобул и первых кластеров в цитоплазме желточной клетки; Д — гетерогенные липидные капли, содержащие средней плотности и электронно-светлый материал; Е — цитоплазма желточной клетки с формирующимися липидными каплями, желточными глобулами и кластеры, состоящие из многочисленных глобул. вк — вакуоль; жжг — гранулярный эндоплазматический ретикулум; жск1, жск2, жск3, жск4 — стадии развития желточных клеток в фолликулах; жжг — зарождающиеся желточные глобулы в везикулах комплекса Гольджи; кз — комплекс Гольджи; кл — кластеры с желточными глобулами; л — липидная капля; м — митохондрия; я — ядро.

Fig. 2. Developing vitelline cells of *Chimaericola leptogaster*.

как количество кластеров, так и число желточных гранул в каждом кластере до 25—30. Округлой формы кластеры могут достигать 2.8 мкм в диаметре, а размер желточных гранул в каждом кластере от 0.4 до 1.2 мкм в диаметре. Значительное количество липидных капель размером от 2 до 6 мкм присутствует в цитоплазме созревающих клеток (рис. 2, А, Д, Е). Большинство липидных капель гетерогенны по своему составу, они содержат гомогенный, средней электронной плотности и электронно-светлый материал (рис. 2, Д, Е). При этом в цитоплазме желточных клеток можно видеть слияние средней плотности липидной капли с электронно-светлой вакуолью (рис. 2, Д). В цитоплазме зрелых желточных клеток цистерны ГЭР локализируются под клеточной плазматической мембраной и вокруг ядра (рис. 2, А). Желточные кластеры локализованы преимущественно по периферии клеток (рис. 2, А). Центральные участки клеточной цитоплазмы заполнены: а) липидными каплями, у которых содержимое средней плотности может быть инкрустировано мелким электронно-плотным материалом и округлыми светлыми включениями, окаймленными мелким плотным материалом (рис. 3, А, Е, см. вкл.); б) гранулярными тельцами, которые могут быть как в составе кластеров, так и находиться непосредственно в цитоплазме (рис. 3, А, В, Д); в) гликогеном, розетковидные скопления которого отмечаются в клеточной цитоплазме (рис. 3, Б—Г). Гранулярные тельца имеют электронно-плотное содержимое, с лентовидными включениями меньшей электронной плотности. Размер телец колеблется от 0.4 до 0.7 мкм. Следует отметить, что просветы желточных протоков *C. leptogaster* заполнены зрелыми желточными клетками, морфологически сходными с таковыми из желточных фолликулов (рис. 3, Б).

Структура желточных фолликулов *Calicotyle affinis* (Monopisthocotylea, Monocotylidea)

Многочисленные компактные желточные фолликулы *C. affinis* изолированы от окружающих их тканей тонкой электронно-плотной пограничной пластинкой и подстилающим ее фибриллярным слоем с редкими мышечными волокнами внутри этого слоя (рис. 4, А—В, Д, см. вкл.). Каждый фолликул содержит один тип клеточных элементов, желточные клетки различной стадии зрелости, которые плотно упакованы внутри фолликула, при этом между плазматическими мембранами соседних клеток имеется очень узкое межклеточное пространство (рис. 4, А, Б, Д).

В цитоплазме малодифференцированных желточных клеток *C. affinis* помимо рибосом имеются митохондрии и редкие цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулаума (рис. 4, Б). В цитоплазме клеток начальных этапов дифференцировки можно наблюдать желточные гранулы в везикулах комплексов Гольджи, одиночные кластеры с желточными гранулами, в которых могут присутствовать до 12 разноразмерных гранул, а также отдельные липидные капли и единичные, так называемые «гликановые везикулы» (рис. 4, Г). Формирующиеся в везикулах комплекса Гольджи одиночные округлые желточные гранулы имеют электронно-плотный гомогенный состав и достигают в диаметре 0.1—0.2 мкм (рис. 4, Е). Диаметр липидных капель средней электронной плотности может варьировать

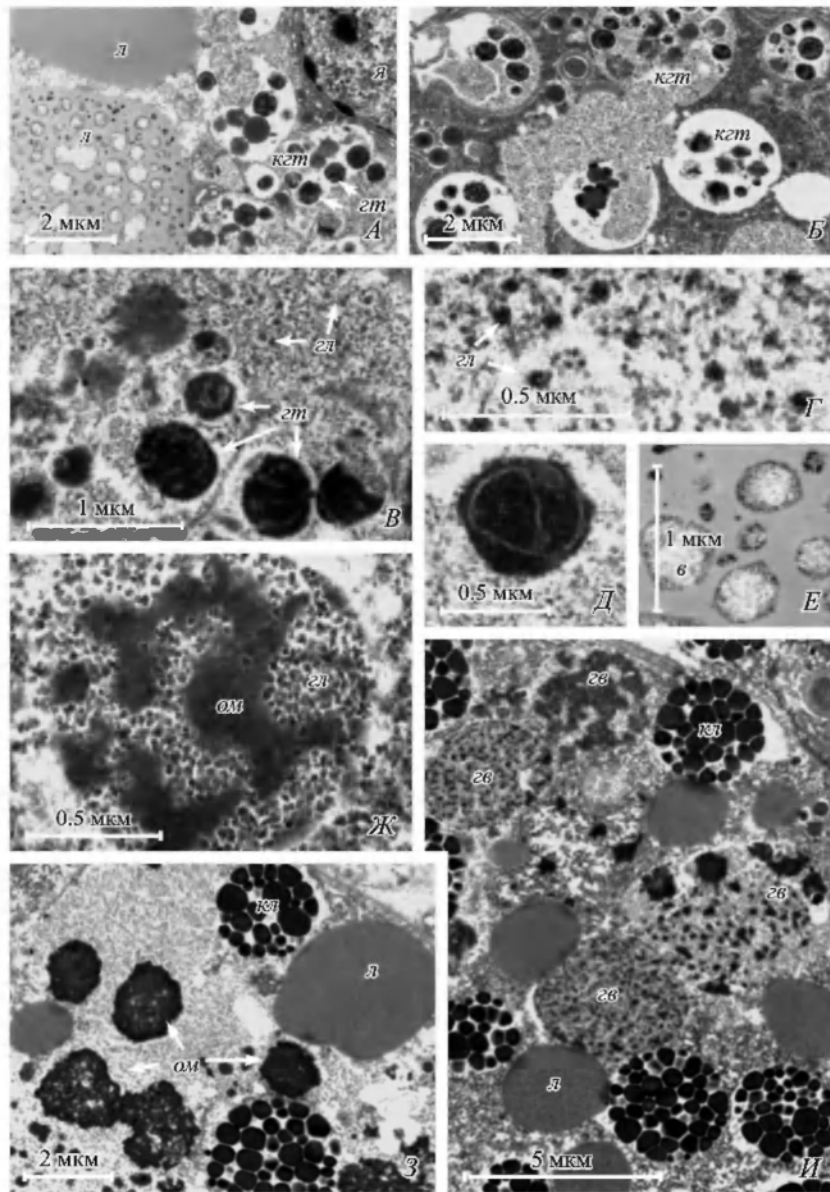


Рис. 3. Ультраструктура зрелых желточных клеток *Chimaericola leptogaster* (А—Е) и *Calicotyle affinis* (Ж—И).

А — липидные капли и кластеры с гранулярными тельцами в цитоплазме фолликулярных желточных клеток *C. leptogaster*; Б — кластеры с гранулярными тельцами в цитоплазме клеток из желточных протоков; В — гранулярные тельца и гликоген в фолликулярных клетках; Г — гликогеновые розетки в цитоплазме клеток *C. leptogaster*; Д — гранулярное тельце с лентовидными светлыми участками; Е — включения в составе липидной капли *C. leptogaster*; Ж — деструкция гликановой везикулы и высвобождение гликогена в цитоплазме зрелых фолликулярных клеток; З — финальная стадия разрушения гликановых везикул с появлением остаточного плотного материала в виде плотных агломератов; И — цитоплазматические включения в зрелых желточных клетках *C. affinis* в виде липидных капель, желточных кластеров и гликановых везикул, демонстрирующих промежуточную стадию их разрушения. в — включения в составе липидных капель; жв — гликановая везикула; гл — гликоген; гт — гранулярные тельца; кгт — кластеры гранулярных телец; кл — кластеры с желточными глобулами; л — липидная капля; ом — остаточный материал после деструкции гликановых везикул; я — ядро.

Fig. 3. Mature vitelline cells of *Chimaericola leptogaster* and *Calicotyle affinis*.

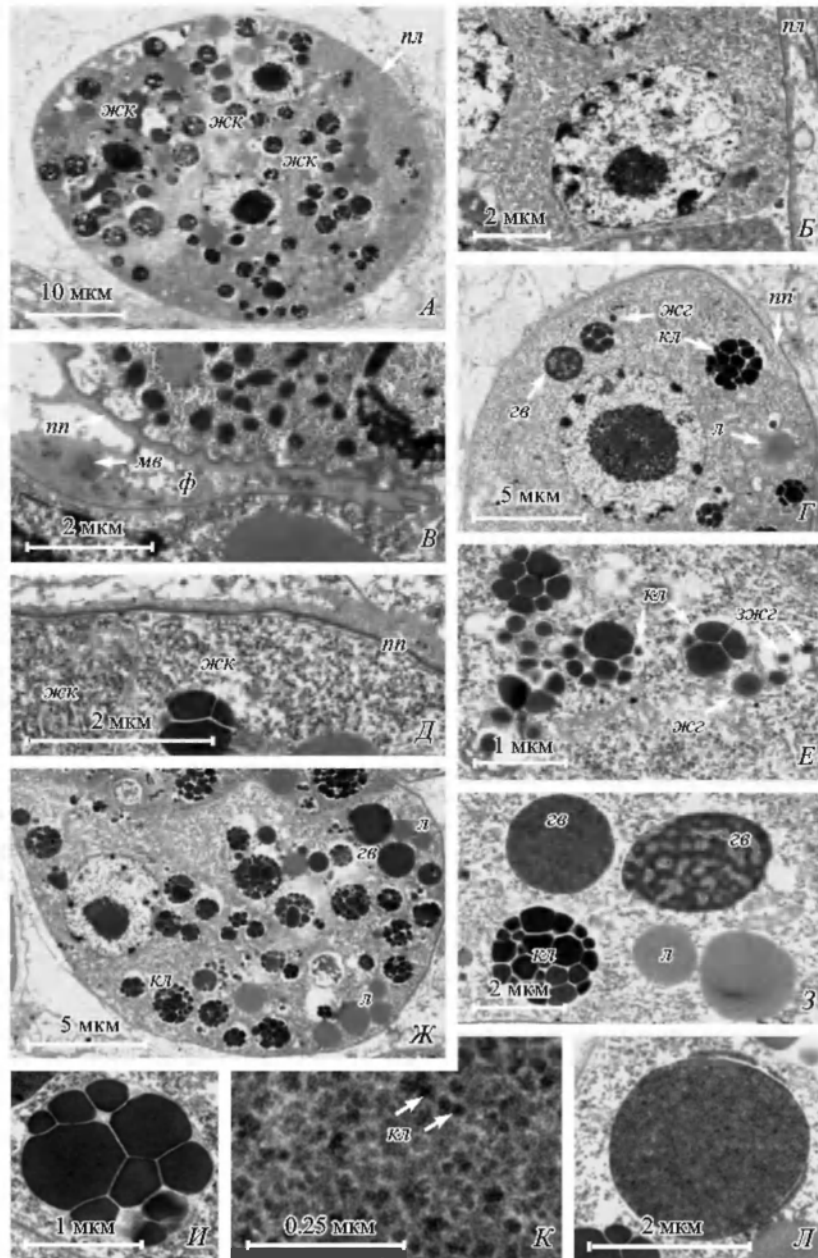


Рис. 4. Дифференцирующиеся желточные клетки *Calicotyle affinis*.

A — желточный фолликул с плотно упакованными желточными клетками, отграниченный тонкой пограничной пластинкой; *B* — малодифференцированная клетка; *В, Д* — пограничная пластинка желточного фолликула с подстилающим ее фибриллярным слоем и редкими мышечными волокнами; *Г* — желточная клетка начальных этапов дифференцировки; *Е* — формирование желточных глобул и кластеров; *Ж* — созревающая желточная клетка; *З* — цитоплазматические включения желточной клетки; *И* — кластер с желточными гранулами; *К, Л* — гликановая везикула с гликогеновыми розетками в ее содержимом. *жсг* — желточные глобулы; *кв* — мышечные волокна; *пл* — пограничная пластинка; *ф* — фибриллярный слой. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1—3.

Fig. 4. Developing vitelline cells of *Calicotyle affinis*.

от 1 до 2.5 мкм (рис. 4, Г). Цитоплазма созревающих желточных клеток заполнена желточными кластерами размером от 1 до 3 мкм, а размер гранул в кластерах составляет от 0.2 до 0.8 мкм (рис. 4, Ж, И). Гранулы в кластерах могут иметь форму многогранников за счет плотной их упаковки (рис. 4, И). В созревающих клетках увеличивается количество липидных капель, которые наряду с желточными кластерами являются доминирующими цитоплазматическими компонентами (рис. 4, Ж, З). Гликановые везикулы в созревающих клетках могут иметь однородное плотное содержимое, в котором при большом увеличении наблюдаются гликогеновые розетки (рис. 4, З, К, Л). Другие гликановые везикулы содержат бесформенные плотные и светлые области (рис. 4, З). Гликановые везикулы имеют овальную или округлую форму от 1.5 до 3.5 мкм в диаметре. В зрелых желточных клетках в составе желточных кластеров может быть более 50 желточных гранул, в большом количестве имеются липидные капли средней электронной плотности и наблюдаются деструктивные изменения в структуре гликановых везикул (рис. 3, И). Гликановые везикулы разрушаются, высвобождая гликогеновые частицы, которые концентрируются в цитоплазме желточных клеток (рис. 3, Ж, И). Остаточный плотный материал гликановых везикул концентрируется в крупные агломераты, локализованные в цитоплазме зрелых клеток (рис. 3, З).

ОБСУЖДЕНИЕ

Цитоархитектоника желточных фолликулов двух подклассов Monogenea

В составе желточных фолликулов исследованных монопистокотилид *Calicotyle affinis* и полиопистокотилид *Chimaericola leptogaster* присутствует один тип клеточных элементов, желточные клетки различной стадии зрелости по аналогии с таковыми у других изученных к настоящему времени видов моногеней (Halton et al., 1974; Cable, Tinslay, 1991; Baptista-Farias, Kohn, 1998; Poddubnaya et al., 2013a). Желточные фолликулы полиопистокотилидных *C. leptogaster* и ранее исследованных видов одноименного подкласса моногеней не отграничены от окружающих тканей пограничной пластинкой (Halton et al., 1974; Cable, Tinslay, 1991; Baptista-Farias, Kohn, 1998), тогда как фолликулы монопистокотилидных *C. affinis* и *C. kroeyri* (Halton et al., 1974) окружены тонкой пограничной пластинкой. У монопистокотилидного вида *Ancyrocephalus paradoxus* Creplin, 1839 такая пластинка вокруг желточных клеток отсутствует, и выявлено наличие плотных гетерогенных и гомогенных контактов между плазматическими мембранами желточных клеток и окружающих паренхимных клеток, а также между мембранами соседних желточных клеток внутри фолликулов (Poddubnaya et al., 2013a).

Интересно отметить, что у исследованного полиопистокотилидного вида химероколидных моногеней *C. leptogaster* пограничные желточные клетки окружены кишечными клетками, при этом плазматические мембраны разных типов клеток значительно сближены по отношению друг к другу. В статье Бринкмана (Brinkmann, 1942), посвященной световому описа-

нию строения *C. leptogaster*, автор упоминает о присутствии так называемого желточно-кишечного комплекса у данного химероколитидного вида моногеней, поскольку многочисленные ветвящиеся дивертикулы каждого из двух кишечных стволов окружают желточные фолликулы. Подобного, как у *C. leptogaster*, взаимоотношения желточных и кишечных клеток не зарегистрировано ранее для исследованных моногеней.

Цитоплазматические включения желточных клеток моногеней

Ультраструктурное исследование показало, что зрелые желточные клетки как монопистокотилидных (*C. affinis*), так и полипистокотилидных (*C. leptogaster*) представителей двух подклассов моногеней продуцируют желточные глобулы, липиды, крупные гликановые везикулы (*C. affinis*) или мелкие гранулярные тельца (*C. leptogaster*) и гликоген. Морфологические вариации, наблюдаемые в количестве, размерах и упаковке желточных гранул в кластерах у изученных моногеней, зависят как от композиции и размеров яиц у разных видов, так и от количества яиц, продуцируемых различными платгельминтами, поскольку желточные гранулы являются структурным материалом при формировании плотной яйцевой оболочки. Различие в количестве гликогена и липидов в желточных клетках, являющихся резервным питательным материалом для формирующегося в яйце эмбриона, обусловлено вариациями в степени развития яиц в матке материнского организма и последующего пути их миграции и развития эмбриона вне материнского организма. Различие в композиции и количестве желточного материала может проследиваться и у видов в пределах конкретной родовой группы. Так, в пределах монопистокотилидного рода *Calicotyle* ультраструктура желточных клеток исследована для видов *C. kroeyri* (Halton et al., 1974) и *C. affinis* (настоящее исследование). У данных видов моногеней отмечается различие в количестве желточных глобул в кластерах (до 100 глобул у *C. kroeyri* и до 50 — у *C. affinis*) и в размерах гликановых везикул, у *C. affinis* они до 3.5 мкм, а у *C. kroeyri* — до 1.5 мкм.

Гликановые везикулы *C. affinis* и гранулярные тельца *C. leptogaster*

Выполненное исследование выявило различия в составе желточного материала у двух видов моногеней. У *C. affinis* в цитоплазме созревающих и зрелых желточных клеток имеются крупные (до 3.5 мкм в диаметре) одиночные гликановые везикулы, а в цитоплазме зрелых желточных клеток *C. leptogaster* наблюдаются мелкие (до 0.7 мкм в диаметре), объединенные в кластеры, гранулярные тельца. Крупные округлые гликановые везикулы *C. affinis* ограничены мембраной, в плотном содержимом которых имеются гликогеновые скопления. Для электронно-плотных гранулярных телец *C. leptogaster* характерно присутствие лентовидных светлых участков в их содержимом. Следует отметить, что присутствие крупных гликановых везикул было зарегистрировано в цитоплазме зрелых желточных клеток свободноживущих плоских червей (Turbellaria) отрядов Triclada и Proseriata (Domenici, Gremigni, 1974; Gremigni, 1983; Sopot-Ehlers,

1991, 1992; Charni et al., 2010). Так, для триклад *Dugesia sicula* (Charni et al., 2010) и *D. lugubris* (Domenici, Gremigni, 1974) показано, что гликановые гранулы формируются путем слияния мелких везикул, содержащих гомогенный материал средней электронной плотности и продуцируемых гранулярным эндоплазматическим ретикулумом. Сформированные гликановые гранулы могут достигать 3 мкм в диаметре. У Proseriata (Sopott-Ehlers, 1991, 1992) происхождение гликановых везикул (до 2.5 мкм в диаметре) также ассоциировано с ГЭР, они могут иметь гетерогенную структуру, в которой присутствуют кристаллические компоненты и гликоген. В противоположность гликановым везикулам желточные глобулы у Triclada и Proseriata формируются с участием везикул комплексов Гольджи, и зрелые глобулы состоят из электронно-плотных и электронно-светлых концентрических структур (Domenici, Gremigni, 1974; Sopott-Ehlers, 1991, 1992; Charni et al., 2010). Шмидт (Schmidt, 1998) в статье о гликановых везикулах желточных клеток трематод *Echinostoma caproni* Richard, 1964 и *Fasciola hepatica* L. отмечает, что гликановые везикулы содержат у трематод нейтральные гликогенподобные полисахариды в виде гранул, аккумулированных в кластеры в гликановых везикулах. При этом количество полисахаридных гранул в гликановых везикулах увеличивается по мере созревания желточных клеток, а цитоплазматический гликоген в желточных клетках имеет аналогичную гликановым полисахаридным гранулам структуру. На иллюстрациях, приведенных в работе Шмидта (Schmidt, 1998), гликановые везикулы имеют структуру, сходную с таковой у исследованного нами монопистокотилидного вида *C. affinis* — однородное плотное содержимое с более темными вкраплениями. Однако Шмидт (Schmidt, 1998), Ирвин и Тредгольд (Irwin, Threadgold, 1970) интерпретируют морфологические характеристики гликановых везикул трематод *E. caproni* и *F. hepatica* как тельца со спиралевидной структурой. Вышеуказанные авторы единодушны во мнении, что процесс гликогенезиса в желточных клетках описанных видов платгельминтов обусловлен наличием гликановых (углеводных) везикул в их цитоплазме. Ранее гликановые везикулы были описаны также для другого монопистокотилидного вида рода *Calicotyle*, *C. kroeyri*, и выполненный гистохимический тест показал присутствие β-гликогена в их составе (Halton et al., 1974).

У исследованного полипистокотилидного вида *C. leptogaster*, также как и у ранее изученных представителей этого подкласса моногеней, гликановые везикулы в желточных клетках выявлены не были (Halton et al., 1974; Cable, Tinslay, 1991; Baptista-Farias, Kohn, 1998). Нами показано присутствие в цитоплазме фолликулярных зрелых желточных клеток и в желточном материале внутриматочных яиц *C. leptogaster* мелких (до 0.7 мкм диаметром) гранулярных электронно-плотных телец, в содержимом которых имеются более светлые лентовидные области. Подобные по морфологии и размерам тельца выявлены в цитоплазме фолликулярных зрелых желточных клеток и желточных клетках внутриматочных яиц у гирокотилид (Поддубная, неопубликованные данные) и спатеботриидных ленточных червей (Bruňanská et al., 2005; Poddubnaya et al., 2006). При этом размер гранулярных телец у моногеней *C. leptogaster*, гирокотилид *Gyrocotyle urna* Grube et Wagener, 1852 и спатеботриидных цестод *Didymobothrium rudolphii* (Monticelli, 1890), *Cyathocephalus truncatus* (Pallas, 1781) и *Diplo-*

cotyle olrikii Krabbe, 1874 соответствует размеру их желточных глобул. Среди сиаботриидных цестод такие тельца были выявлены у *D. rudolphii* в желточном материале внутриматочных яиц, у *C. truncatus* и *D. olrikii* они присутствуют в фолликулярных зрелых клетках и в желточных клетках в составе внутриматочных яиц (Poddubnaya et al., 2006). Предполагается, что такого типа гранулярные тельца представляют одну из морфологических вариаций трансформации желточных глобул в процессе формирования яйца и что данные изменения взаимосвязаны от биологических особенностей развития яиц у конкретных паразитов. Следует отметить, что гликановые везикулы и гранулярные тельца в желточных клетках исследованных в данной работе двух видов моногеней имеют различную функциональную нагрузку, гликановые везикулы — место синтеза гликогена у монопистокотилидного *C. affinis*, а гранулярные тельца — модифицированная форма желточных глобул у полиопистокотилидного *C. leptogaster*. Интересно заметить, что первоначально *C. affinis* были паразитами хрящевых рыб подкласса Elasmobranchii (Быховский, 1957), а *C. leptogaster* является реликтовым эндемиком цельноголовых рыб (Holocephali).

Морфологические вариации цитоархитектоники желточников неодерматных групп платгельминтов (рис. 5)

Отличительными критериями в цитоархитектонике желточников неодерматных групп червей могут служить три их характеристики: а) наличие одного или двух типов клеток в желточнике; б) наличие или отсутствие межклеточных контактов как между одноименными, так и разноименными клетками желточника; в) наличие пограничной пластинки. На примере собственных исследований и литературного материала рассмотрим вышеуказанные черты строения желточников у представителей неодерматных платгельминтов Monogenea (Monopisthocotylidea и Polyopisthocotylidea), Trematoda (Aspidogastrea и Digenea) и Cestoda (Gyrocotylidea, Amphilinidea и Eucestoda).

Суммируя немногочисленные данные по строению желточников моногеней, констатируем наличие двух морфологических вариаций их цитоархитектоники (рис. 5).

1. У полиопистокотилидных моногеней желточные фолликулы не имеют пограничной пластинки и межклеточных контактов как между одноименными, так и разноименными клеточными элементами (Halton et al., 1974; Cable, Tinsley, 1991; Baptista-Farias, Kohn, 1998). Разновидность данной вариации строения желточников выявлена также у монопистокотилидного вида *Ancyrocephalus paradoxus*, у которого присутствуют плотные межклеточные контакты как между желточными и паренхимными клетками, так и между желточными клетками (Poddubnaya et al., 2013a).

2. Желточные фолликулы эндопаразитических монопистокотилидных моногеней *C. affinis* и *C. kroeyri* (Halton et al., 1974) изолированы от окружающих тканей тонкой пограничной пластинкой.

У исследованных к настоящему времени аспидогастридных червей (Trematoda, Aspidogastrea) было зарегистрировано две разновидности строения желточников (рис. 5).

Цитоархитектура желточников Neodermata

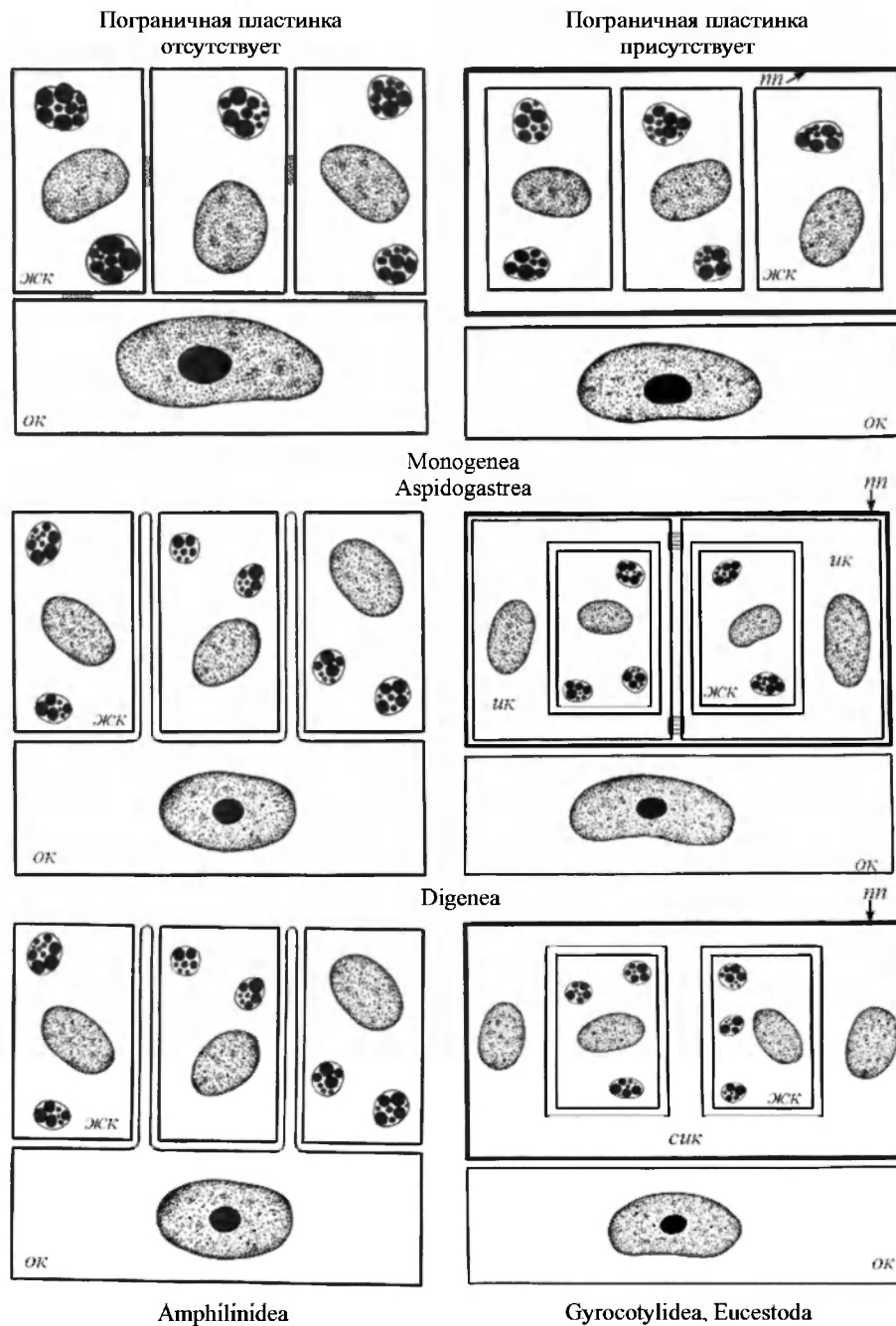


Рис. 5. Схема вариаций цитоархитектоники желточников у неодерматных червей.
 ик — интерстициальная клетка, ок — окружающие желточники клеточные элементы, сик — синцитиальная интерстициальная клетка. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1, 4.

Fig. 5. Scheme of the vitelline cytoarchitecture in the Neodermata.

1. У представителя сем. Aspidogastridae, *Aspidogaster limacoides*, желточные фолликулы не изолированы от окружающих тканей и имеются межклеточные контакты между желточными и мышечными клетками (Poddubnaya et al., 2013a).

2. У аспидогастрид сем. Rugogastridae, *Rugogaster hydrolagi*, отмечено наличие тонкой пограничной пластинки вокруг фолликул (Rohde, Watson, 1991).

Две разновидности цитоархитектоники желточников прослеживается у представителей Digenea (рис. 5).

1. Желточники горгодерид, фасциолид, шистосоматид, гирабасцид, парамфистомид и гаплорид изолированы от окружающих тканей, в их составе имеется два типа клеточных элементов (желточные клетки различной стадии дифференцировки и интерстициальные клетки), а также септированные и щелевидные контакты могут присутствовать между мембранами смежных интерстициальных клеток (Irwin, Threadgold, 1970; Erasmus, 1973; Hanna, 1976; Подвязная, 2003; Sharma, Swarnakar, 1992; Sampour, 2008; Poddubnaya et al., 2012).

2. Желточники дигеней, объединенных в надсем. Microphalloidea, характеризуются одним типом клеточных элементов в их составе, которые не изолированы от окружающих их тканей, а у некоторых видов (*Brandesia turgida*) выявлены плотные межклеточные контакты между мембранами пограничных желточных клеток и отростками мышечных клеток (Hendow, James, 1989; Подвязная, 1990; Świdorski et al., 2011; Poddubnaya et al., 2013b). Аналогичная цитоархитектура желточников отмечена для Diplostomatidae (Grant et al., 1977), Derogenidae (Holy, Wittrock, 1986), Lecithodendriidae (Podvyaznaya, 1990) и Dicrocoeliidae (Chaymardanov, Tanyuksel, 1995).

Ультраструктурные данные по строению желточников амфилинид, выполненные Ксиландером (Xylander, 1988), были расширены проведением дополнительного исследования их цитоархитектоники у *Amphilina foliacea* (Поддубная, 2013). Показано наличие одного типа клеточных элементов в фолликулах *A. foliacea* и отсутствие пограничной пластинки, отграничивающей фолликулярное содержимое от окружающих тканей (рис. 5). Нередко отростки мышечных клеток окружают фолликулярное содержимое, проникая вглубь между желточными клетками (Поддубная, 2013).

Желточники Gyrocotylidea и Eucestoda изолированы от окружающих тканей пограничной пластинкой и характеризуются присутствием двух типов клеточных элементов в их составе, это желточные клетки различной стадии зрелости, пространство между которыми заполнено синцитиальной цитоплазмой интерстициальных клеток (Świdorski, Xylander, 2000) (рис. 5).

Приведенный анализ морфологических вариаций цитоархитектоники желточников у исследованных к данному моменту представителей неодерматных червей свидетельствует о неоднородной их морфологии у разных представителей неодермат, что в последующем может быть использовано в решении дискуссионных вопросов их филогенетических взаимоотношений.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность сотрудникам Центра коллективного пользования электронной микроскопией Института биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН за техническую помощь при подготовке материала для работы на просвечивающем электронном микроскопе.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 12-04-00149).

Список литературы

- Быховский Б. Е. 1957. Моногенетические сосальщики: их система и филогения. М.: Л.: Изд-во АН СССР. 509 с.
- Подвязная И. М. 1990. Строение женской половой системы *Prosthodendrium ascidia* (Trematoda, Lecithodendriidae). Тр. ЗИН АН СССР. 221 : 61—78.
- Подвязная И. М. 2003. Ультраструктурное исследование женской половой системы паразита летучих мышей *Allassgonoporus amphoraeformis* (Digenea: Allassogonoporidae). Паразитология. 37 (5) : 387—393.
- Поддубная Л. Г. 2013. Ультраструктурные характеристики желточников, матки и вагины *Amphilina foliacea* Rudolphi, 1819 (Cestoda: Amphilinidae). Паразитология. 47 (5) : 361—371.
- Baptista-Farias M. F. D., Kohn A. 1998. Ultrastructural observations of the vitelline cells of *Metamicrocotyla macracantha* (Monogenea, Microcotylidae). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 93 (4) : 543—548.
- Boeger W. A., Kritsky D. C. 1997. Coevolution of the Monogeneoidea (Platyhelminthes) based on a revised hypothesis of parasite phylogeny. International Journ. for Parasitology. 27 : 1495—1511.
- Boeger W. A., Kritsky D. C. 2001. Phylogenetic relationships of the Platyhelminthes. In: Interrelationships of the Platyhelminthes. Taylor et Francis, London. 92—102.
- Brinkmann A., jr. 1942. On «*Octobothrium*» *leptogaster* F.S. Leuckart. In: Vetenskaps och Vitterhets Samhalles Handlingar, Göteborgs Kungl. Ser. B. 2 : 3—29.
- Brunanska M., Poddubnaya L. G., Dezfuli B. S. 2005. Vitellogenesis in two spathebothriidean cestodes. Parasitology Research. 96 : 390—397.
- Cable J., Tinslay R. C. 1991. Intra-uterine larval development of the polystomatid monogeneans *Pseudodiplorchis americanus* and *Neodiplorchis scaphiopodis*. Parasitology. 103 : 253—266.
- Charni M., Ammar A. B., Jaafoura M. H., Zghal F., Tekaya S. 2010. Ultrastructure of germaria and vitellaria in *Dugesia sicula* Lepori, 1948 (Platyhelminthes, Triclada, Paludicola). Belgian Journ. of Zool. 140 : 111—118.
- Chaymardanov J. K., Tanyuksel M. 1995. Morphological and histochemical observations on the vitelline cells of adult *Dicrocoelium dendriticum*. Turkish Journ. of Zool. 19 : 323—329.
- Doménici L., Gremigni V. 1974. Electron microscopical and cytochemical study of vitelline cells in the freshwater triclad *Dugesia lugubris* s. l. II. Origin and distribution of reserve materials. Cell Tissue Research. 152 : 219—228.
- Erasmus D. A. 1973. A comparative study of the reproductive system of mature, immature and «unisexual» female *Schistosoma mansoni*. Parasitology. 67 : 165—183.
- Grant W. C., Harkema R., Muse K. E. 1977. Ultrastructure of *Pharyngostomoides procyonis* Harkema 1942 (Diplostomatidae). II. The female reproductive system. Journ. of Parasitol. 63 : 1019—1030.
- Gremigni V. 1983. Platyhelminthes — Turbellaria. In: Reproductive Biology of Invertebrates. John Wiley & Sons Ltd. 1 : 67—107.
- Halton D. W., Stranock S. D., Hardcastle A. 1974. Vitelline cell development in monogenean parasites. Zeitschrift für Parasitenkunde. 45 : 45—61.

- Hanna R. E. B. 1976. *Fasciola hepatica*: a light and electron autoradiographic study of shell protein and glycogen synthesis by vitelline follicles in tissue slices. *Experimental Parasitology*. 39 : 18—28.
- Hendow H. T., James B. L. 1989. Ultrastructure of vitellarium, vitellogenesis and associated ducts in *Maritrema linguilla* (Digenea: Microphallidae). *International Journ. for Parasitol.* 19 : 489—497.
- Inoue J. G., Miya M., Lam K., Tay B. H., Danks J. A., Bell J., Walker T. I. 2010. Evolutionary origin and phylogeny of the modern holocephalans (Chondrichthyes: Chimaeriformes): a mitogenomic perspective. *Molecular Biology and Evolution*. 27 : 2576—2586.
- Irwin S. W. B., Threadgold L. T. 1970. Electron-microscope studies on *Fasciola hepatica* VIII. The development of the vitelline cells. *Experimental Parasitology*. 28 (3) : 399—411.
- Mlococki D., Świdorski Z., Mackiewicz J. S., Ibraheem H. 2011. Ultrastructural and cytochemical studies of GER-bodies in the intrauterine eggs of *Wenyonia virilis* Woodland, 1923 (Cestoda, Caryophyllidea). *Acta Parasitologica*. 57 (1) : 40—47.
- Poddubnaya L. G., Bruñanska M., Brazova T., Zhokhov A. E., Gibson D. I. 2013b. Ultrastructural characteristics of the vitellarium of *Brandesia turgida* (Brandes, 1888) (Digenea: Pleurogenidae) and an examination of the potential usefulness of such vitelline traits in digenean systematics. *Helminthologia*. 50 (2) : 119—126.
- Poddubnaya L. G., Bruñanska M., Świdorski Z., Gibson D. I. 2012. Ultrastructure of the vitellarium in the digeneans *Phyllostomum angulatum* (Plagiorchiida, Gorgoderidae) and *Azygia lucii* (Strigeida, Azygiidae). *Acta Parasitologica*. 57 (3) : 235—246.
- Poddubnaya L. G., Bruñanska M., Świdorski Z., Gibson D. I. 2013a. Ultrastructure of the vitellarium of *Ancyrocephalus paradoxus* (Monogenea: Monopisthocotylea), with comments on the nature of the vitellarium in the Monogenea and related platyhelminth groups. *Parasitology Research*. 112 (3) : 1169—1177.
- Poddubnaya L. G., Gibson D. I., Świdorski Z., Olson P. D. 2006. Vitellocyte ultrastructure in the cestode *Didymobothrium rudolphii* (Monticelli, 1890) : possible evidence for the recognition of divergent taxa within the Spathebothriidea. *Acta Parasitologica*. 51 (4) : 255—263.
- Rohde K., Watson N. A. 1991. Vitellogenesis of *Rugogaster hydrolagi* (Trematoda: Aspidogastrea). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*. 66 (6) : 273—280.
- Sainpour M. 2008. The study of vitelline gland of *Haploporus lateralis* (Digenea: Trematoda). *Pakistani Journ. of Biological Sciences*. 11:113—117.
- Schmidt J. 1998. Glycan vesicle formation in vitellocytes and hatching vacuoles in eggs of *Echinostoma caproni* and *Fasciola hepatica* (Digenea). *Tissue and Cells*. 30 (4) : 416—426.
- Sharma P. N., Swarnaker G. 1992. Ultrastructure and histochemistry of vitelline cells of *Orthocoelium colicoelium* (Trematoda: Digenea). *Indian Journ. of Parasitology*. 16 : 145—154.
- Sopott-Ehlers B. 1991. Electron microscopical observations on vitellocytes and germocytes in *Nematoplana coelognoporoides* (Platyhelminthes, Proseriata). *Zoomorphology*. 110 : 293—300.
- Sopott-Ehlers B. 1992. Ultrastructural studies on vitellocytes of Parotoplaninae (Platyhelminthes, Proseriata) with special reference to the structure of eggshell-forming granules. *Zoomorphology*. 112 : 125—131.
- Świdorski Z., Bakhom A. J. S., Montoliu I., Felui C., Miquel J. 2011. Ultrastructural study of vitellogenesis in *Maritrema feluii* (Digenea, Microphallidae). *Parasitology Research*. 109 : 1707—1714.
- Świdorski Z., Xylander W. E. R. 2000. Vitellocytes and vitellogenesis in cestodes in relation to embryonic development, egg production and life cycle. *International Journ. for Parasitology*. 30 : 805—817.
- Xylander W. E. R. 1988. Ultrastructural studies on the reproductive system of Gyrocotylidea and Amphilinidea (Cestoda) : I. Vitellarium, vitellocyte development and vitellocyte of *Amphilina foliacea*. *Parasitology Research*. 74 : 363—370.

CYTOARCHITECTURE OF THE VITELLARIA
OF TWO MONOGENEAN SPECIES, PARASITES
OF THE HOLOCEPHALAN FISH CHIMAERA MONSTROSA L.
WITH ANALYSIS OF VITELLINE STRUCTURE IN THE NEODERMATA

L. G. Poddubnaya, W. Hemmingsen

Key words: Monogenea, *Chimaericola leptogaster*, *Calicotyle affinis*, vitellaria, ultrastructure.

SUMMARY

The ultrastructural features of the vitelline follicles of ectoparasitic monogenean *Chimaericola leptogaster* Leuckart, 1830 (Polyopisthocotyliidea, Chimaericolidae) and endoparasitic *Calicotyle affinis* Scott, 1911 (Monopisthocotyliidea, Monocotyliidae), parasites of the gills and cloaca of a holocephalan fish, *Chimaera monstrosa* L., are described. The vitelline follicles of the studied monogenean species are composed of the cells of a single type, vitellocytes at various stages of development. Special isolation of the vitellarium from the surrounding tissue in *C. leptogaster* is absent. Instead, a close relationship between bordering vitelline cells and intestinal cells of numerous branches of the caecum diverticula is observed. However, vitelline follicles of *C. affinis* are enclosed in a thin fibrous sheath. Some differences in the composition of the vitelline material in mature vitellocytes of *C. leptogaster* and *C. affinis* are revealed, these include the presence of different number of vitelline globules within a cluster, up to 30 globules in *C. leptogaster* cluster and up to 50 globules in *C. affinis*, and the presence of moderately electron-dense homogeneous lipid droplets in *C. affinis* and heterogeneous droplets in *C. leptogaster*. The mature vitelline cells of *C. leptogaster* are recognised by the presence of clusters with granular bodies inside them, these bodies have the same size as vitelline globules. In developing vitellocytes of *C. affinis*, the glycan vesicles about 3.5 μm in diameter are present; in mature vitellocytes, these vesicles are destructed; this process is accompanied by liberation of glycogen rosettes and agglomerate of the dark material. Morphological variations of vitelline cytoarchitecture in the Neodermata are discussed.