

УДК 592 + 57.04 + 591.48 + 591.14 + 576.8

НОВЫЙ ТИП ЖЕЛЕЗ ОБНАРУЖЕН У ЦЕСТОД: НЕЙРОСЕКРЕТОРНЫЕ НЕЙРОНЫ ВЫДЕЛЯЮТ СЕКРЕТ В ОРГАНИЗМ ХОЗЯИНА-РЫБЫ

© 2024 г. Н. М. Бисерова^{1, *}, И. А. Кутырев², академик РАН В. В. Малахов¹

Поступило 05.08.2023 г.

После доработки 02.10.2023 г.

Принято к публикации 04.10.2023 г.

При исследовании ультраструктуры нервной системы у плероцеркоидов пяти видов цестод, паразитов рыб, в тегументе обнаружены свободные окончания периферических нейросекреторных нейронов, выделяющих медиаторы в хозяина. Экспериментально показано усиление секреции под воздействием сыворотки крови хозяина-рыбы. В организме цестод нейросекреторные нейроны (НН) образуют контакты паракринового типа вблизи мембран клеток фронтальных желез, тегумента и мышц, выполняя функцию эндокринных желез. Одновременно НН функционируют как экзокринные железы и выделяют наружу так называемые манипуляционные факторы, которые влияют на физиологию хозяина.

Ключевые слова: ленточные черви, нервная система, манипуляционные факторы, секретом, железы, экзокринная секреция, нейросекреция, паразито-хозяинные взаимодействия

DOI: 10.31857/S2686738924010039, EDN: LAGDLV

Цестоды (ленточные черви) – глубоко специализированные паразиты животных и человека. Питание паразитов происходит через синцитиальную покровную ткань – тегумент. Известно, что через тегумент паразиты выделяют сложную смесь экскреторно-секреторных продуктов, обобщенно называемых «секретомом» [1, 2, 3]. Тегумент пронизан терминальными отростками фронтальных желез и свободными нервными окончаниями, отделенными от мембраны тегумента системой специализированных контактов. Фронтальные железы описаны в сколке у представителей разных отрядов цестод, кроме циклофиллид [4–7]. Установлено, что фронтальные железы цестод осуществляют секрецию эккринным способом под контролем нейронов мозга [8]. Сенсорные нервные окончания, пронизывающие тегумент, характеризуются наличием рудиментарной реснички, базального тельца, корешка и других структур в расширенной части дендрита [9]. У ряда видов цестод обнаружены свободные окончания, не имеющие следов реснички, кинетосомы и корешка, но отделенных

системой специализированных контактов от мембраны тегумента [10–13]. Строение и функция таких окончаний остаются неизвестными.

Задача настоящей работы – изучить ультраструктуру свободных терминалей в тегументе у плероцеркоидов цестод с целью установления их происхождения и функционального значения.

Материалом для работы послужили плероцеркоиды пяти видов цестод, представителей отрядов *Diphyllobothriidea* и *Bothriocephallidea* (табл. 1).

Для ультраструктурных исследований использовали методы трансмиссионной электронной микроскопии, модифицированные для изучения цестод [8, 12, 13]. Для изучения изменения секреторной активности с поверхности свободных терминалей у *D. dendriticus* и *L. interrupta* были проведены эксперименты по разработанной ранее методике [3].

1. Ультраструктура свободных терминалей в тегументе.

В тегументе пяти видов плероцеркоидов мы обнаружили тонкие трубчатые свободные окончания, имеющие небольшое чашевидное дистальное расширение, содержащее везикулы (рис. 1). Везикулы выходят через поверхностную мембрану в полость поры в тегументе и затем во внешнюю среду – ткань хозяина. Мембрана чашевидных окончаний отделена от тегументальной мембраны узким кольцом септированного контакта, подостланного одним

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

² Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения Российской Академии наук, Улан-Удэ, Россия

*E-mail: nbiserova@yandex.ru

слабо выраженным электронно-плотным опорным кольцом со стороны окончания. У всех изученных видов в окончаниях не было найдено ресничек, кинетосом и корешков; митохондрии отсутствовали как в чашевидном расширении, так и в базальной части отростка, связанного с перикарионом. Кроме того, чашевидные окончания у всех видов имели вдвое меньший диаметр апикального расширения (450–600 нм), по сравнению с типичными сенсорными окончаниями или с терминалями фронтальных желез.

У плероцеркоидов *T. nodulosus* каждое окончание соединено с поверхностью тела индивидуальной порой; они содержат светлые везикулы 100–120 нм и отдельные микротрубочки. У инкапсулированных в печени окуня личинок эти терминали заполнены везикулами, выделяющимися на поверхность тегумента. В плероцеркоидах, извлеченных из капсулы хозяина, свободные чашевидные окончания обнаруживали пустыми, без пузырьков.

У плероцеркоидов *P. phocarum* чашевидные окончания встречаются как поодиночке, так и группами. В тегументе ботрии *P. phocarum* наблюдали от 5 до 6 тонких терминалей с плотными везикулами диаметром 90 нм, ответвляющихся от одного дендритного отростка и оканчивающихся в одну общую пору. Важно отметить, что чаша окончания может содержать или не содержать везикулы.

У плероцеркоида *D. ditremus* чашевидные окончания располагаются парами, содержат светлые округлые везикулы диаметром 100 нм и иногда элек-

тронноплотные везикулы 84 нм. Везикулы выделяются на поверхность тегумента через узкую пору.

У плероцеркоидов *D. dendriticus* по 2–3 чашевидных окончания с плотными везикулами диаметром 123 нм открываются в общую пору, связанную с внешней средой. Строение поры отличается от вышеописанных отсутствием микротрихий, уплотнением наружной мембраны тегумента и большим диаметром, достигающим 3 мкм. Как и у остальных изученных видов, терминали на апикальной поверхности имеют тонкое опорное кольцо и кольцевой септированный контакт, связывающий их с мембраной тегумента; содержат отдельные микротрубочки и везикулы.

У *L. alternans* чашевидные терминали обнаружены в тегументе сколекса и теле плероцеркоида. В одну пору в тегументе открывается по 4 терминали, содержат короткие микротрубочки и круглые плотные везикулы диаметром 90–94 нм, которые выделяются в полость поры (рис. 1в–д). В субтегументе широкие одиночные дендриты с круглыми электронноплотными везикулами при подходе к базальной мембране тегумента разветвляются на несколько свободных окончаний, открывающихся в общую пору в дистальной цитоплазме.

Таким образом, у всех изученных видов чашевидные окончания имеют сходное строение и выделяют в ткани хозяина секреторные везикулы размером 100–120 нм по типу экзокринных желез. В отличие от сенсорных окончаний в тегументе изученных цестод, чашевидные окончания отличает малый диа-

Таблица 1. Список исследованных видов

№	Вид паразита	Вид хозяина	Место вылова	Локализация в хозяине
1	<i>Triaenophorus nodulosus</i> (Pallas, 1781)	<i>Perca fluviatilis</i> Linnaeus, 1758	Рыбинское водохранилище	В печени в капсулах
2	<i>Pyromicocephalus phocarum</i> (Fabricius, 1780) Monticelli, 1890	<i>Gadus morhua marisalbi</i> Derjugin, 1920	Белое море, район ББС МГУ	В печени в капсулах
3	<i>Dibothriocephalus ditremus</i> (Creplin, 1825) Lühe, 1899	<i>Oncorhynchus nerka</i> (Walbaum, 1792)	оз. Кроноцкое, Камчатка	В капсулах на пищеводе, желудке, пилорических придатках
4	<i>Dibothriocephalus dendriticus</i> (Nitzsch, 1824) Lühe, 1899	<i>Coregonus migratorius</i> (Georgi, 1775)	Оз. Байкал, Кабанский район, Республика Бурятия	В капсулах на пищеводе, желудке, пилорических придатках
5	<i>Ligula alternans</i> (Rudolphi, 1810)	<i>Carassius gibelio</i> (Bloch, 1782) Linnaeus, 1758	Оз. Никиткино, Еравнинский район, Республика Бурятия	В брюшной полости

метр, одно слабо развитое опорное кольцо, выделение секреторных везикул на поверхность тегумента. От протоков фронтальных желез их отличает ультраструктура терминалей без периферических микротрубочек, а так же секреторный материал в виде маленьких везикул.

2. Ультраструктура нейросекреторных нейронов (рис. 1, б, е-з).

В области субтегумента и кортикальной паренхимы у всех изученных видов встречаются периферические нейросекреторные нейроны (НН). Тела НН имеют вытянутую неправильную форму с несколькими нейритами, заполненными круглыми электронноплотными нейросекреторными везикулами/гранулами (НСГ). Диаметр НСГ варьирует от 90 до 140 нм. Отростки НН не содержат митохондрий и периферических микротрубочек, в отличие от протоков фронтальных желез. В отличие от дендритов и аксонов нейронов ЦНС, цитоплазма

нейросекреторных отростков (НСО) плотная, гранулированная, содержит рибосомы. У *D. dendriticus* число НСО в зоне субтегумента составляет 9–10 шт. на 500 мкм².

Отростки НН часто проходят вдоль миофибрилл кольцевой и продольной мускулатуры покровов, иногда образуя зоны тесного сближения. В зоне контакта образуются небольшие варикозы, в которых, наряду с НСГ, встречаются скопления круглых светлых везикул. Выделение секреторного материала происходит паракриновым способом в межклеточное пространство рядом с миофибриллой. Пресинаптическое уплотнение и Т-образная складка мембраны, маркирующая синаптический контакт, отсутствуют.

Нами впервые обнаружено, что у всех изученных видов цестод отростки НН вступают в контакт с отростками клеток фронтальных желез, укрепленных периферическими микротрубочками. Диаметр НСГ

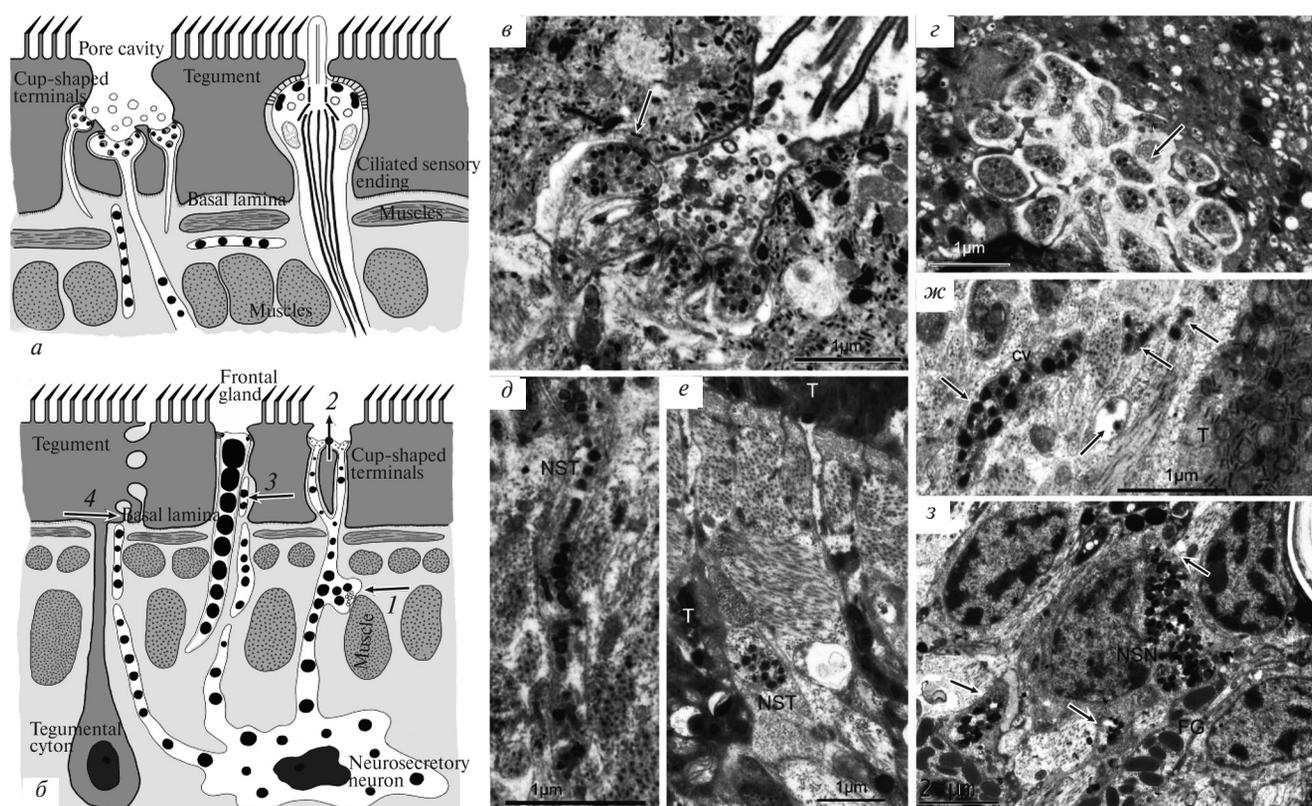


Рис. 1. Свободные терминали в тегументе и нейросекреторные нейроны (НН). а – схема строения ресничных и чашевидных окончаний нейронов в тегументе цестод. б – схема экзо- и эндокринной секреции периферическими НН: 1 – нейромышечный паракриновый контакт; 2 – экзокринная секреция на поверхность тегумента; 3 – контакт с фронтальными железами паракринового типа; 4 – выделение секрета в зоне базальной пластинки тегумента. в, з, д – *L. alternans*: группа чашевидных окончаний (стрелки) с секреторными везикулами в тегументе (в, з) и продольный срез (д) нейросекреторной терминали (NST), входящей в тегумент. е – *P. phocarum*: NST в контакте с тегументальным отростком (Т). ж – *D. dendriticus*: паракриновый контакт NST с мышцами под тегументом (стрелки); св, светлые везикулы. з – *P. phocarum*: нейросекреторный нейрон (NSN) в контакте с отростками фронтальных желез (FG) и мышцами (стрелки).

в зоне контакта составляет в среднем 140–160 нм. У плероцеркоидов *D. ditremus* контакты НСО с терминалями фронтальных желез выявлены непосредственно в терминальной поре секреторного протока в тегументе (рис. 1, б). В зоне контакта диаметр НСГ варьирует от 90 до 130 нм. Таким образом, отростки НН могут проникать в дистальную цитоплазму тегумента вместе с протоками фронтальных желез и высвобождать нейроактивные вещества в ткани хозяина. Вместе с тем у *P. phocarum*, *D. dendriticus*, *L. alternans* мы наблюдали НСО, которые пронизывают тегумент и содержат электронноплотные везикулы (90 нм), высвобождая секрет в полость поры. Чашевидные окончания в тегументе этих цестод являются отростками нейросекреторных нейронов. Таким образом, часть периферических НН выделяет секрет наружу в организм хозяина, выступая в роли экзокринных желез.

3. Эксперименты по изучению секреторной активности с использованием сыворотки крови хозяина.

Червей инкубировали в течение 3, 6, 12 и 24 ч. У *D. dendriticus* через 3 ч инкубации происходит истощение везикул в чашевидных окончаниях, уменьшение диаметра окончаний и увеличение диаметра гранул в НН. После 6 часов инкубации происходит увеличение секреции и числа окончаний в одной поре до 3–4 шт, после 12 ч инкубации наблюдаются признаки истощения и сужения чаши окончания, а после 24 ч инкубации наблюдаются деформации терминалей в тегументе. Таким образом, у *D. dendriticus* максимальную нейросекрецию наблюдали после 6 ч инкубации и истощение к 24 ч.

У *L. alternans* после 3 ч инкубации происходит усиление секреции с поверхности чашевидных окончаний, увеличение числа плотных везикул до 20 шт. в каждом окончании и числа НСО в зоне базальной пластинки и мускулатуры тегумента, где происходит высвобождение секрета паракриновым способом. После 6 ч инкубации продолжается интенсивная секреция везикул; увеличено число (4–5 шт.) и диаметр окончаний в поре. НСО многочисленны вблизи базальной пластинки и мышц тегумента, а базальная мембрана тегумента формирует многочисленные вакуоли, заполненные фибриллярным матриксом, которые перемещаются к апикальной мембране и выделяют содержимое наружу. После 24 ч инкубации диаметр окончаний уменьшается, но число НСО в зоне субтегумента и их наполненность гранулами увеличивается, при этом часть отростков направлена к базальной мембране. Таким образом, у *L. alternans* усиление секреции и числа НСО происходит, начиная с 3 ч инкубации, а адаптация к нагрузке – к 24 ч.

Свободные терминали без признаков цилиарного и корешкового аппарата описаны у некоторых видов цестод [6, 10–13]. У всех изученных видов они характеризуются вогнутой формой апикальной чаши с одним опорным кольцом, при этом, как следует из результатов настоящей работы, диаметр чаши в два и более раз меньше, чем у ресничных и безресничных сенсорных окончаний. Возникает вопрос, служат ли чашевидные свободные окончания в качестве чувствительных дендритов или связаны с нейросекрецией манипуляционных молекул в ткани хозяина? В сколексе разных видов цестод обнаружены две популяции НН, одна из которых связана с ЦНС, а другая с ПНС [8, 14–18]. Наши данные показали, что у пяти видов цестод НН, связанные с ПНС, имеют отростки, выделяющие секрет паракриновым способом в межклеточное пространство вблизи мембран мышечных клеток, клеток фронтальных желез, тегумента и на поверхности тегумента в ткани хозяина. Вопрос о наличии у цестод эндокринных желез является предметом дискуссии [15, 16]. По результатам нашего исследования, нейросекреторные нейроны ПНС цестод могут выполнять как функцию эндокринных желез, выделяя секрет в межклеточное пространство, так и функцию экзокринных желез, выделяющих секрет на поверхность тегумента. Увеличение секреции под воздействием сыворотки крови хозяина свидетельствует о важной экзосекреторной функции НН, которые представляют новый тип желез у цестод. Нейросекрет из свободных терминалей цестод, попадая в организм рыбы, может быть манипуляционным фактором, воздействующим на эндокринную систему позвоночного хозяина.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследования проведены при поддержке Российского научного фонда, грант 23-24-00118.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информированное согласие было получено от всех участников исследования.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Berger C. S., Laroche J., Maaroufi H., et al. The parasite *Schistocephalus solidus* secretes proteins with putative host manipulation functions // Parasites Vectors. 2021. V. 14. P. 436.

2. Talarico M., Seifert F., Lange J., et al. Specific manipulation or systemic impairment? Behavioural changes of three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) infected with the tapeworm *Schistocephalus solidus* // Behav. Ecol. Sociobiol. 2017. V. 71. P. 1–10.
3. Kutyrev I.A., Biserova N.M., Mazur O.E., et al. Experimental study of ultrastructural mechanisms and kinetics of tegumental secretion in cestodes parasitizing fish (Cestoda: Diphylobothriidea) // J. Fish Dis. 2021. V. 44 (8). P. 1237–1254.
4. Kuperman B.I., Davydov V.G. The fine structure of frontal glands in adult Cestodes // Int. J. Parasitol. 1982. V. 12 (4). P. 285–293.
5. McCullough J.S., Fairweather I. The fine structure and possible functions of scolex gland cells in *Trilocularia acanthiaevulgaris* (Cestoda, Tetraphyllidea) // Parasitol. Res. 1989. V. 75. P. 575–582.
6. Brunanská M., Fagerholm H.P., Gustafsson M.K.S. Ultrastructure studies of *Proteocephalus longicollis* (Cestoda, Proteocephalidea): transmission electron microscopy of scolex glands // Parasitol. Res. 2000. V. 86. P. 717–723.
7. Mustafina A.R., Biserova N.M. *Pyramicocephalus phocarium* (Cestoda: Diphylobothriidea): the ultrastructure of the tegument, glands, and sensory organs // Invertebrate Zoology. 2017. V. 14 (2). P. 154–161.
8. Biserova N.M., Mustafina A.R., Raikova O.I. The neuroglandular brain of the *Pyramicocephalus phocarium* plerocercoid (Cestoda, Diphylobothriidea): immunocytochemical and ultrastructural study // Zoology (Jena). 2022. V. 152. P. 1–17.
9. Webb R.A., Davey K.G. Ciliated sensory receptors of the unactivated metacestode of *Hymenolepis microstoma* // Tissue and Cell. 1974. V. 6 (4). P. 587–598.
10. Fairweather I., Threadgold L.T. *Hymenolepis nana*: the fine structure of the adult nervous system // Parasitology. 1983. V. 86 (1). P. 89–103.
11. Okino T., Hatsushika R. Ultrastructure studies on the papillae and the nonciliated sensory receptors of adult *Spirometra erinacei* (Cestoda, Pseudophyllidea) // Parasitol. Res. 1994. V. 80. P. 454–458.
12. Biserova N.M., Gordeev I.I., Korneva J.V. Where are the sensory organs of *Nybelinia surmenicola* (Trypanorhyncha)? A comparative analysis with *Parachristianella* sp. and other trypanorhyncean cestodes // Parasitol. Res. 2016. V. 115. P. 131–141.
13. Kutyrev I.A., Biserova N.M., Olennikov D.N., et al. Prostaglandins E₂ and D₂-regulators of host immunity in the model parasite *Diphylobothrium dendriticum*: An immunocytochemical and biochemical study // Mol. Biochem. Parasitol. 2017. V. 212. P. 33–45.
14. Webb R.A. Evidence for neurosecretory cells in the cestode *Hymenolepis microstoma* // Can. J. Zool. 1977. V. 55 (10). P. 1726–1733.
15. Specian R.D., Lumsden R.D., Ubelaker J.E., et al. A unicellular endocrine gland in cestodes // J. Parasitol. 1979. V. 65 (4). P. 569–578.
16. Gustafsson M.K.S., Wikgren M.C. Release of neurosecretory material by protrusions of bounding membranes extending through the axolemma in *Diphylobothrium dendriticum* (Cestoda) // Cell Tissue Res. 1981. V. 220. P. 473–479.
17. Liu B., Wakuri H., Mutoh K., et al. Ultrastructural study of neurosecretory cells in the nervous system in the cestode (*Taenia hydatigena*) // Okajimas Folia Anat. Jpn. 1996. V. 73 (4). P. 195–204.
18. Terenina N.B., Poddubnaya L.G., Tolstenkov O.O., et al. An immunocytochemical, histochemical and ultrastructural study of the nervous system of the tapeworm *Cyathocephalus truncatus* (Cestoda, Spathebothriidea) // Parasitol. Res. 2009. V. 104. P. 267–275.

NEW TYPE OF GLAND DISCOVERED IN CESTODES: NEUROSECRETORY NEURONS RELEASE A SECRET INTO THE FISH HOST

N. M. Biserova^{a, *}, I. A. Kutyrev^b, Academician of the RAS V. V. Malakhov^a

^aLomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

^bInstitute of General and Experimental Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Ulan-Ude, Russian Federation

[#]E-mail: nbiserova@yandex.ru

In 5 species of cestode plerocercoids parasitizing fish, free endings of peripheral neurosecretory neurons were found in the tegument in the ultrastructural study. These free terminals secreted vesicles on the tegument surface and into the host body. An increase in secretion under the influence of the blood serum of a fish host has been experimentally shown. In the body of cestodes, neurosecretory neurons (NN) form paracrine-type contacts near the cell membranes of the frontal glands, tegument, and muscles, performing the function of endocrine glands. Simultaneously, NN function as exocrine glands and secrete so-called manipulative factors that influence the physiology of the host.

Keywords: tapeworms, nervous system, manipulation factors, secretome, glands, exocrine secretion, neurosecretion, parasite-host interactions