## ПАРАЗИТОЛОГИЯ

УДК 619:576+894:895.122

# ОСОБЕННОСТИ ИНВАЗИВНОСТИ МИРАЦИДИЯ FASCIOLA HEPATICA L., 1758 В ТЕЛО МОЛЛЮСКА LYMNAEA TRUNCATULA M., 1774

Ф.М. Соколина, В.В. Горохов

#### Аннотация

В статье впервые показано групповое проникновение мирацидиев фасциолы через растворенное межклеточное вещество между двумя эпителиальными клетками покрова моллюска с помощью гистологических исследований тканей *Lymnaea truncatula* Muller, 1774 – промежуточного хозяина *Fasciola hepatica* Linneus, 1758.

Мирацидии, проникающие через дорзальный участок латеральной поверхности ноги, выживают и достигают гепатопанкреаса, видимо, только при проникновении в протоки лакун между пучками мышечных волокон, подходящих близко к печени.

**Ключевые слова:** мирацидий, групповое проникновение, гистология тканей моллюска.

## Введение

По литературным данным инвазивность мирацидиев зависит от возраста и условий среды. Эксперименты показали, что они достигают пика инвазивности в возрасте 1.5–2 ч, а затем активность снижается. Мирацидии печеночной двуустки пытаются проникнуть в тело малого прудовика по всей свободной от раковины поверхности тела. Исследователи считают перспективным проникновение мирацидиев фасциолы через щупальце моллюска [1], мантию [2], ресничный эпителий дыхальца [3–5], дорзальную зону латеральной поверхности ноги [6–8].

Учитывая разноречивость данных, а также недостаточную изученность процесса, целью работы явилось исследование особенностей проникновения мирацидиев печеночной двуустки через покровы промежуточного хозяина — *Lymnaea truncatula* Muller, 1774.

## Материал и методы

Опыты велись с моллюсками *Lymnaea truncatula*, выращенными в лабораторных условиях из кладок, полученных от моллюсков, собранных в водоемах средней полосы России.

Инкубаторные мирацидии были выращены из яиц печеночных двуусток, найденных в печени крупного рогатого скота, доставленных на Казанский мясокомбинат [9–11].

В экспериментах среди факторов, обеспечивающих проникновение мирацидия, учитывали возрастной ценз моллюсков и мирацидиев, температурный фактор, рН среды, освещенность.

Чтобы оперировать большим количеством мирацидиев и моллюсков необходимой возрастной группы, были отработаны методики единовременного получения молоди моллюсков, выращивание их до возраста заражения и единовременного выведения из яиц мирацидиев фасциолы к этому моменту [10].

Перед заражением малых прудовиков некоторое время содержали в дистиллированной воде, ополаскивали в новой порции дистиллированной воды и переносили в пробирку диаметром 2 см с профильтрованной водой (L=5 см, T=20 °C) из аквариума, в котором они выращивались. Моллюски, имея положительный фототаксис, стремились в верхние слои воды. Мирацидии в результате взаимодействия фото-, хемо-, геотаксисов концентрировались в зоне пребывания моллюсков, а затем начинали проникать в них [12, 9].

Зараженные моллюски фиксировались в растворе Буэна (Bouin), в котором хранились 2 месяца для того, чтобы декальцинировать раковину. Это дает возможность делать гистологические срезы, не разрушая их топографию. Затем моллюски отмывались в нескольких порциях чистого 70-градусного спирта (до исчезновения желтого оттенка), проводили через спиртовый ряд с повышающейся концентрацией и переносили в ряд промежуточных сред по общепринятой методике.

Гистологические срезы окрашивались гемотоксилином по методам Бемера, Эрлиха, Гейденгайна и комбинировались с протоплазменной окраской – эозином.

Известно, что успех заражения моллюсков зависит от 5 факторов [8], которых мы тщательно придерживались.

## Результаты и обсуждение

По результатам тотального анализа гистологических срезов малых прудовиков, зараженных мирацидиями, мы убедились в том, что выживали мирацидии, проникшие в тело моллюска между клетками эпителия под раковиной рядом с гепатопанкреасом или через эпителий дорзального участка латеральной поверхности ноги моллюска вблизи межтканевых лакун.

Процесс заражения малого прудовика мирацидиями печеночной двуустки состоит из взаимосвязанных моментов: мирацидии в результате взаимодействия положительного фототаксиса и отрицательного геотаксиса попадают в верхние слои водоема в зону более частого обитания моллюсков. Беспорядочное движение приводит их в зону влияния его специфичных мираксонов, входящих в состав слизи, поэтому можно считать, что мирацидии подчиняются в своих «поисках» положительному хемотаксису. Место внедрения может зависеть от положительного реотаксиса моллюсков, что подтверждается скоплением и проникновением мирацидиев через ресничный эпителий дыхальца.

В возрасте 1.5–2 ч мирацидий достигает максимума инвазивности. Теребраториумом он закрепляется на теле моллюска. Это телескопическая апикальная папилла размером в диаметре у основания около 32.7 мкм и 29.7 мкм высотой. Он покрыт синцитиальной гиподермой толщиной до 3214 Å. Плотная плазматическая мембрана, покрывающая гиподерму, образует заостренные,

чуть изогнутые назад выросты высотой в среднем 467 Å. Они расположены над первыми пятью кольцевыми волоконцами теребраториума на расстоянии в среднем друг от друга 1402 Å. Эти образования мы назвали «шипиками».

При закреплении на теле моллюска теребраториум образует воронку, срабатывает «баночный эффект» [8]. «Шипики» внутри воронки к телу моллюска не прикасаются. В нее стекают секреты четырехъядерной апикальной железы и 4-х одноклеточных акцессорных желез [9]. В состав секрета этих желез входит фермент гиалуронидаза [13].

Межклеточное вещество моллюсков содержит мукополисахариды, в составе которых есть протеазы и гиалуроновая кислота. Гиалуронидаза мирацидиев, взаимодействуя с гиалуроновой кислотой мукополисахаридов, разрушает межклеточное вещество. Верхушка теребраториума выворачивается, мирацидий закрепляется «шипиками» между стенками эпителиальных клеток моллюска и проникает в его тело. Этот процесс длится 20–30 мин.

При проникновении мирацидий теряет ресничный эпителий, часть органов мирацидия уже «рассасывается». Такую стадию мы назвали «мирацидиемспороцистой», так как все признаки, характерные для спороцисты, еще не сформировались. Личинка оказывается покрытой только тонким слоем базальной пластинки, которой предстоит формирование покровной ткани спороцисты для обеспечения ее жизнедеятельности.

Постепенно уменьшаются в размерах 6 латеральных желез, секрет которых обволакивает обнажающуюся базальную пластинку мирацидия и, видимо, залечивает раны. Проникнув в гепатопанкреас, у «мирацидия-спороцисты» исчезают апикальная и 4 акцессорные железы, органы чувств, глаза начинают выбрасывать пигмент. Сохраняются зародышевые шары и протонефридиальная система [7]. Маттес [5] считает, что все преобразования в теле личинки фасциолы происходят в течение 2–12 ч.

На гистологических срезах моллюсков (фото 1) мы обнаружили 5 личинок, проникших через одно растворенное межклеточное пространство. «Мирацидииспороцисты» плотно расположились вокруг места проникновения. Они находятся в состоянии стресса, лишившись эпителиального слоя с ресничным покровом при проникновении в моллюска. Реорганизация покрова и внутренних органов личинки незавершенна. Одна из личинок, видимо, проникшая первой, уже начала свой путь к гепатопанкреасу по протоку рядом расположенной лакуны под покровным эпителием моллюска, вторая начала перемещаться в лакуну. Остальные 3 личинки пока находились в состояние покоя после проникновения.

Изучение инвазивности мирацидия фасциолы в экспериментальных условиях позволило впервые выявить их групповое проникновение через один проход в межклеточном веществе. По нашим расчетам через 4–5 мин эта «пятерка» поочередно с интервалом 1–1.5 мин устремилась бы к месту своей локализации – в гепатопанкреас. Наблюдаемое нами групповое (по 5 экземпляров) проникновение мирацидиев печеночной двуустки через одно разрушенное межклеточное пространство эпителия – явление, видимо, встречающееся в природе, так как нами оно неоднократно наблюдалось на гистологических срезах моллюсков.

При проникновении мирацидиев через дорзальную зону латеральной поверхности ноги путь к гепатопанкреасу увеличивается и осложняется (фото 2).

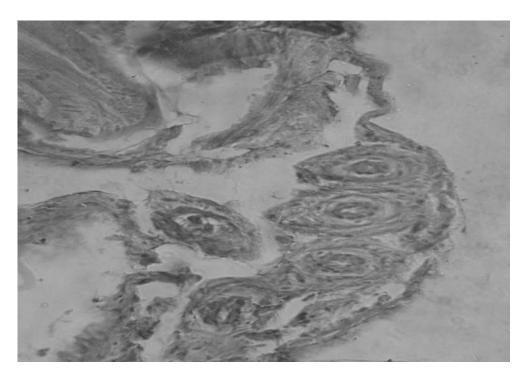


Фото 1. «Мирацидии-спороцисты» фасциолы проникшие под эпителий моллюска  $(\times 1350)$ 

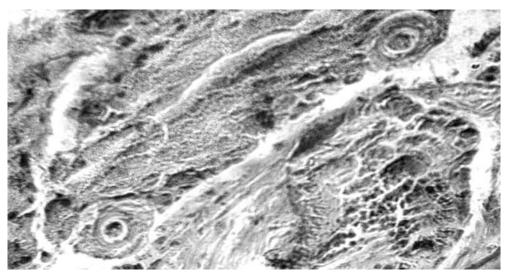


Фото 2. Две личинки в протоке лакун (×1350)

Изученные гистологические срезы этой зоны тела позволяют утверждать, что проникновение личинок к месту локализации в гепатопанкреасе происходило по межтканевым протокам лакун, которые на участке перехода ноги моллюска в тело с внутренними органами тянутся вдоль крупных мышц, обеспечивающих вращение тела с раковиной относительно закрепившейся на субстрате ноги. Личинки по протоку движутся на небольшом расстоянии друг от друга.

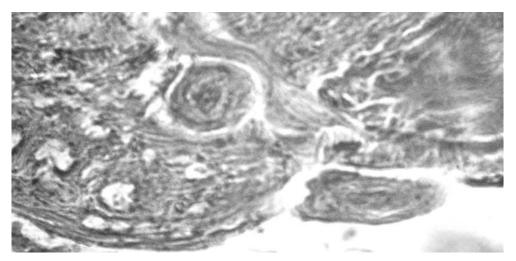


Фото 3. «Мирацидий-спороциста», проникающий в гепатопанкреас (×1350)



Фото 4. Вегетативное деление спороцисты Fasciola hepatica L., 1758

Проникающие мирацидии претерпевают регрессивный метаморфоз: исчезают 6 субэпителиальных желез, как завершившие свои функциональные обязанности, обеспечивающие пусковой момент при сбрасывании эпителиального слоя. Эти железы впервые были обнаружены и описаны нами в 1970 г. [10].

Обнаружены «мирацидии-спороцисты» один из которых только что проник в гепатопанкреас моллюска, а вторая личинка готовится к проникновению по этому же пути (фото 3).

На начальных стадиях движения после стрессового состояния при проникновении в моллюск через эпителиальный слой теребраториум личинки не дегенерирован, апикальная и 4 акцессорные железы уменьшились в размерах, но их секрет будет необходим при проникновении через оболочку гепатопанкреаса. Достигнув гепатопанкреаса и проникнув в его соединительную ткань, «мирацидий-спороциста» превращается в спороцисту. Исчезают апикальная и акцессорные железы.

Материнская спороциста фасциолы размножается партеногенетическим (половым) путем. Еще на стадии мирацидия при электронно-микроскопических исследованиях можно видеть группу клеток в количестве 6–9 связанных цитоплазматическими тяжами со слоем тканей, который образует ложе для герминальных клеток [14]. Дробление этих клеток формирует бластулу по типу

морулы. Гаструляция по типу морульной деламинации приводит к формированию в теле спорощисты зародышевых шаров – эмбрионов материнских редий. На 10-12-й день спороциста снижает активность и начинает отрождать редий, в которых уже развиваются дочерние редии.

Для материнской спороцисты отмечается и вегетативное размножение (фото 4). Оно интересно тем, что деление материнской спороцисты неравномерное, соотношение частей делящегося тела всегда равно 1 к 4-5. Это явление наблюдается очень редко. Если размножение путем поперечного деления материнской спороцисты и встречается, то только как исключение. В отделившейся меньшей части тела спороцисты обычно находится 1 зародышевый шар с развивающимся эмбрионом материнской редии.

#### Выводы

На основании изложенных данных можно определить 2 основных вывода:

- 1) впервые на гистологических препаратах обнаружено групповое (по 5 экземпляров) проникновение мирацидиев через одну пору эпителиального слоя тела моллюска в области гепатопанкреаса;
- 2) при проникновении мирацидиев через дорзальную зону латеральной поверхности ноги моллюска, видимо, выживают те экземпляры, которые после проникновения попадают в протоки лакун между мускульными пучками, соединяющими ногу моллюска с телом.

### **Summary**

F.M. Sokolina, V.V. Gorochov. Specifics of Invasion of Miracidium Fasciola hepatica L., 1758 in Body of Mollusks Lymnaea truncatula M., 1774.

The article shows for the first time that the group of miracidii of Fasciola hepatica Linneus, 1758 can pass through a single pore of intercellular substance of epithelial cells of the mollusk Lymnaea truncatula Muller, 1774. The results were received by histological investigation of tissues of the small pond snail which is the Fasciola intermediate host.

**Key words:** miracidium, group invasion through a single pore, histology of mollusk.

### Литература

- 1. Faust E.C., Hoffman W.A. Studies on schistosomiasis mansoni in Puerto Rico. III. Biological studies. I. The extra-mamalian phases of the life cycle // Puerto Rico. Journ. Public. Health Trop. Med. – 1934. – V. 10. – P. 1–47.
- Ulmer M.J., Sommer Ch. Development of sporociste of the turtle fluke, Heronimus chelydrae McCalum (Trematoda) // Proc. Jova Acad. Sci. – 1957. – V. 64. – P. 601–613.
- Соколина Ф.М. Зависимость развития партенит от строения соединительной ткани моллюсков // Проблемы паразитологии. - Киев: Наукова думка, 1972. - Т. 2. -C. 31-36.
- 4. Соколина Ф.М. Изменение эпителия моллюсков в онтогенезе // Материалы 7 Всесоюз. совещания по изучению моллюсков. – Л.: Наука, 1983. – С. 43–44.
- Mattes O. Wirtsfindung und Virtssperifitat beim Fasciola miracidium // Zeitschrift Parasitenrunde. –1949. – Bd. 14, H. 4, – S. 6–10.

- 6. *Горохов В.В.* Методические рекомендации по изучению патологии моллюсков. М.: Изд-во АН СССР, 1980. 224 с.
- 7. *Соколина Ф.М.* К вопросу о промежуточном хозяине *F. hepatiola* // Сб. тр. Северо-Осетинского ун-та. Орджоникидзе, 1983. С. 16–24.
- 8. *Соколина Ф.М.* Формирование, ультраморфология, биология и экология мирацидия *Fasciola hepatica* L., 1758. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2003. 182 с.
- 9. *Соколина Ф.М.* Эксперименты по заражению лимнеид мирацидиями печеночной двуустки // Вопр. малокологии Сибири. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1969. С. 52–56.
- 10. *Соколина Ф.М.* К методике выращивания мирацидиев трематод // Вопр. эволюционной морфологии и биогеографии. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 1970. С. 41–42.
- 11. Соколина Ф.М., Вагин В.Л. Некоторые адаптации мирацидия фасциолы к проникновению в оранизм промежуточного хозяина // Материалы 11 Всесоюз. симпозиума по болезням и паразитам водных беспозвоночных. Л.: Наука, 1976. С. 39–40.
- 12. *Горохов В.В.* Общие проблемы эпизоотологии гельминтозов // Материалы докл. науч. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». М., 2003. Вып. 4. С. 18–22.
- 13. *Сазанов А.М., Полякова О.Я.* Гиалуронидаза как средство проникновения мирапидиев *F. hepatica* в промежуточного хозяина // Материалы к науч. конф. ВОГ. 1965. Ч. 1. С. 62–64.
- 14. *Соколина Ф.М.* Морфология, биология и экология мирацидия *Fasciola hepatica* L., 1758: Дис. ... канд. биол. наук. Казань, 1970 128 с.

Поступила в редакцию 16.03.09

**Соколина Флюра Мухаметгалеевна** – доктор биологических наук, профессор кафедры зоологии беспозвоночных Казанского государственного университета.

E-mail: Flura.Sokolina@ksu.ru

**Горохов Владимир Васильевич** – доктор биологических наук, заведующий лабораторией Всероссийского института гельминтологии имени К.И. Скрябина РАСХН, г. Москва.