

ИЗМЕНЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ МИОФИБРИЛЛ ЯЗЫКА ОВЦЫ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ *SARCOCYSTIS OVIFELIS* (SPOROZOA, APICOMPLEXA)

© А. И. Радченко, Т. В. Бейер

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;
электронный адрес: sarcocystis@mail.ru

В мышечных клетках (миофибриллах) языка овцы, содержащих саркоцисты *Sarcocystis ovifelis* (syn. *S. gigantea*), наблюдаются заметные изменения структуры филаментов. В таких миофибриллах исчезают соединения между тонкими актиновыми филаментами и Z-дисками, толстыми миозиновыми филаментами и M-линиями. Разрушаются также состоящие из белковых структур мостики, которые связывают актиновые и миозиновые филаменты в единую сеть. В результате в зараженной мышечной клетке появляются обособленные Z-диски и отдельные филаменты. Впервые в зараженных саркоспоридиями мышцах между выростами поверхностного аппарата саркоцисты были обнаружены лептомерные фибриллы, состоящие из тонких и коротких филаментов диаметром 5 нм и длиной от 120 до 200 нм. Эти филаменты «заякорены» на плотных темных полосках, которые равномерно распределены по всей длине фибриллы, с периодичностью около 100 нм. Вопрос о происхождении лептомерных фибрилл до сих пор остается открытым. Предполагается, что их образование может быть связано с повреждениями, вызванными развивающимися в мышечной ткани саркоцистами. Это подтверждается наблюдаемым повышением активности эндоцитоза в эндотелиальных клетках кровеносных капилляров, что может быть связано с процессом выведения токсинов из организма хозяина.

Ключевые слова: лептомерные фибриллы, миофиламенты, саркоспоридии, ультраструктура зараженной мышечной клетки, *Sarcocystis ovifelis*.

Принятые сокращения: ОВ — основное вещество саркоцисты, ПАС — поверхностный аппарат саркоцисты.

Саркоспоридии — паразитические простейшие, цистообразующие кокцидии рода *Sarcocystis* Lankester, 1882, обладающие облигатно-гетероксенными жизненными циклами, включающими в себя двух хозяев — промежуточного и окончательного. В первом хозяине паразит развивается преимущественно в мышцах, во втором — только в кишечнике. В промежуточном хозяине (травоядном животном) формируется самая продолжительная фаза развития — тканевая (мышечная) циста, или саркоциста. При этом экстенсивность заражения крупного рогатого скота и овец может достигать 70—75 %. Интенсивность саркоцистозной инвазии выше у ослабленных животных (Dubey, 1976; Herbert, 1986; Буртикашвили, Буртикашвили, 1987; Бейер, 1988).

Способность разных видов *Sarcocystis* к длительному существованию в мышцах хозяина определяется структурными особенностями их саркоцист. Снаружи тело саркоцисты ограничено поверхностным аппаратом (ПАС), образующим видоспецифичные выросты. Тело и выросты саркоцисты заполнены основным веществом (ОВ). В выростах ПАС прослеживаются многочисленные фибриллярные структуры, которые не только поддерживают форму саркоцисты, но и прежде всего участвуют в транспорте веществ из клетки хозяина в саркоцисту и в обратном направлении — из саркоцисты во внешнюю среду (Радченко, Гаибова, 1993). В ОВ тела саркоцисты, разделенном перегородками на отдельные ячейки, происходит развитие цистных клеток.

При изучении развития саркоцист *S. ovifelis* в мышечных клетках языка овцы впервые для саркоспоридий нами были выявлены необычные фибриллы (обозначаемые в литературе как лептомерные), расположенные между выростами ПАС. Настоящее сообщение посвящено описанию таких фибрилл, а также осмыслению деструктивных изменений в мышечных клетках при развитии в них саркоцист *S. ovifelis*.

Материал и методика

Материалом для исследования служили мышечные цисты (саркоцисты) *Sarcocystis ovifelis* (syn. *S. gigantea*), полученные от спонтанно зараженных овец на мясокомбинате г. Ставрополя. Саркоцисты извлекали из мышц корня языка и помещали в физиологический раствор на 0.1 М фосфатном буфере. Материал фиксировали 2.5%-ным раствором глутаральдегида на 0.1 М каодилатном буфере, несколько раз отмывали в том же буфере и вторично фиксировали в 1%-ном растворе OsO₄ на 0.1 М каодилатном буфере. Осмированный материал обезживали в спиртах возрастающей концентрации, пропитывали эпоксидными смолами и заключали в смесь Аралдита и Эпона. Ультратонкие срезы, отконтрастированные в растворе уранил-ацетата и нитрата свинца, исследовали с помощью микроскопа JEM-7A при 50 кВ.

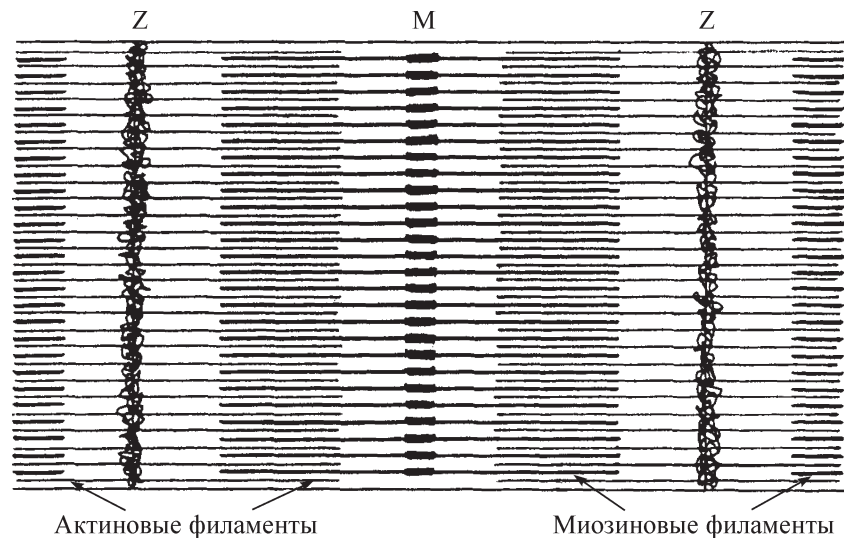


Рис. 1. Схематическое изображение миофибриллы в норме.

Fig. 1. Schematic representation of a myofibril in norm.

Результаты и обсуждение

Незараженные миофибриллы поперечнополосатой мышцы содержат связанные в единую сеть актиновые и миозиновые филаменты (рис. 1). Ультраструктура актиновых филаментов напоминает однородные нити толщиной около 8 нм. В норме плюс-концы актиновых филаментов присоединены к Z-дискам посредством белков, связывающих актин, наиболее изученным из которых является α -актинин. Благодаря связующим белкам группы филаментов могут удерживаться в рамках правильно организованной решетки (Хэм, Кормах, 1983; Альбертс и др., 1994; Alberts et al., 2002). В свою очередь толстые миозиновые филаменты сшиваются в области М-линии белками, связывающими миозин (Альбертс и др., 1994; Alberts et al., 2002). При этом от миозиновых филаментов отходят многочисленные боковые отростки или поперечные мостики, соприкасающиеся с актиновыми филаментами (рис. 2, а, з).

При заражении миофибрилл саркоцистами *S. ovifelis* происходит разрушение белковых компонентов, связывающих актиновые и миозиновые филаменты в единую сеть. Наблюдается также изменение ультраструктуры во всем объеме мышечной клетки, включая исчезновение соединений между тонкими актиновыми филаментами и Z-дисками. В конечном итоге это приводит к обособлению Z-дисков и разъединению филаментов (рис. 2, б—г).

Кроме разрушающихся миофиламентов в зараженных мышечных клетках между выростами ПАС нами впервые были обнаружены фибриллы, представленные на электронограммах в виде тонких и коротких филаментов диаметром 5 нм и длиной от 120 до 200 нм (рис. 2, д). Эти филаменты способны образовывать достаточно плотную спираль, поэтому их длина зависит от степени уплотненности спирали. Филаменты расположены только в светлых полосках фибриллы, но связаны своими концами с темными полосками, которые с периодичностью в 100 нм распределены по всей длине фибриллы. В литературе эти поперечно исчерченные фибриллы обозначаются как лептофибриллы, или лептомерные фибриллы (Muklebus, Jensen, 1978; Мартынова, Борисов, 1987).

Лептомерные фибриллы были обнаружены в клетках различных новообразований у человека, в том числе в рабдомиомах, и реже — в рабдомиосаркомах. В опухолях респираторного тракта наблюдалась связь лептомерных фибрилл с сократительными белками. Подобные фибриллы были найдены у детей с признаками миокардита, а также выявлены в мышечных клетках человека в культуре (Askanas et al., 1978; Carstens, Martin, 1986; Mirejovsky, 1990; Gelb et al., 1993).

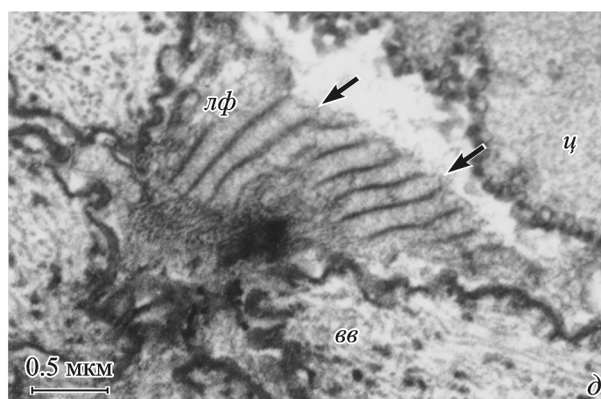
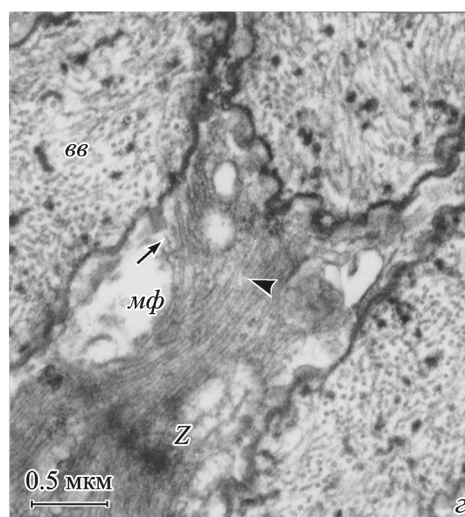
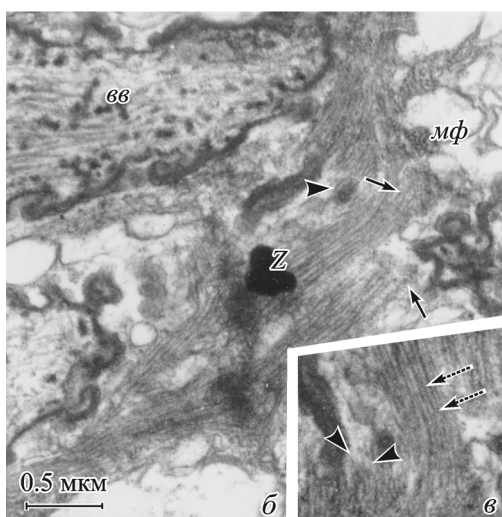
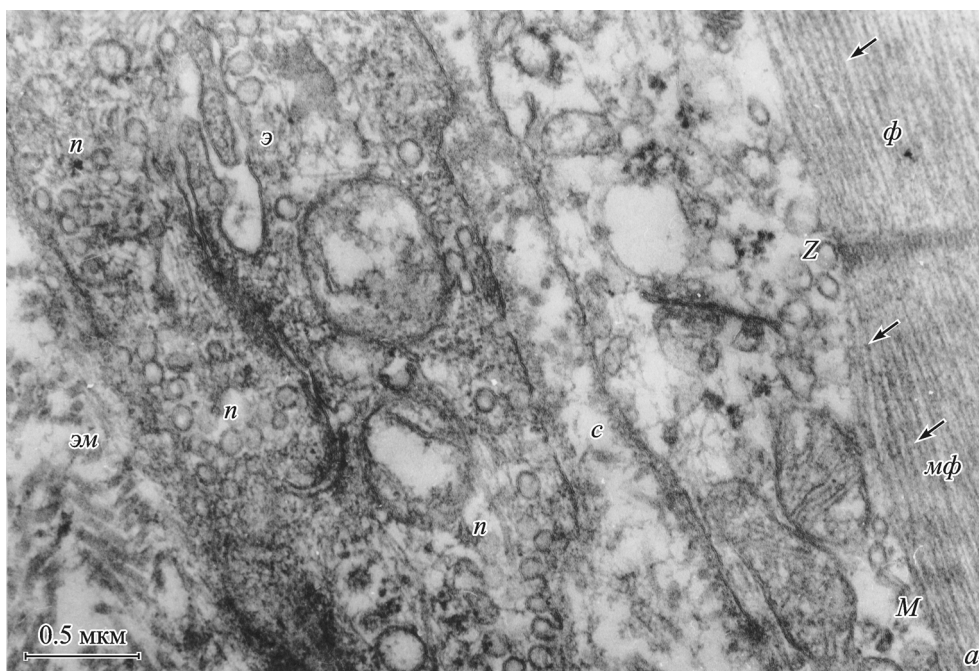
Наличие этих «загадочных» фибрилл в клетках связано с патологическими проявлениями не только в организме человека, но и у внешне здоровых животных — в миоцитах скелетных и сердечных мышц птиц, кошки,

Рис. 2. Ультраструктура мышечных клеток языка овцы, содержащих саркоцисты *Sarcocystis ovifelis*.

а — эндотелиальная клетка кровеносного капилляра и фрагмент зараженной мышечной клетки; б—г — разрушенные миофибриллы, расположенные между вторичными выростами саркоцисты в мышцах языка овцы; д — строение лептомерной фибриллы. вв — вторичные выросты, лф — лептомерная фибрилла, М — М-линия, мф — миофибрилла, n — пузырьки, с — сарколемма, ф — филаменты, входящие в состав миофибриллы, ц — саркоциста, э — эндотелиальная клетка, эм — эндомизий, Z — Z-линия. Головками стрелок обозначены однитчатые филаменты, итриховыми стрелками — разъединение двунитчатых филаментов до однитчатых, стрелками — поперечные мостики, расположенные между двумя соседними филаментами, двойными стрелками указаны филаменты, составляющие лептомерные фибриллы.

Fig. 2. Fine structure of sheep tongue myofibrils containing *Sarcocystis ovifelis* sarcocyst.

а — endothelial cell in a blood vessel, and a fragment of infected myofibril; б—г — destroyed myofibrils between secondary protrusions of the sarcocyst wall; д — leptomeric fibril. вв — secondary protrusions, лф — leptomeric fibril, М — M-line, мф — myofibril, n — vesicles, с — sarcolemma, ф — filaments within a myofibril, ц — sarcocyst, э — endothelial cell, эм — endomysium, Z — Z-line. Arrow heads — 1-thread filaments, dotted arrows — disintegration of 2-thread filaments into 1-thread filaments, arrows — cross bridges spanning two neighbouring filaments, double arrows — filaments making leptomeric fibrils.



овцы, обезьяны и других животных (Corvaja et al., 1969; Walker et al., 1975; Gelb et al., 1993). Лептомерные фибриллы были обнаружены также в мышечных клетках поврежденного зоба таракана (Taylor, 1967).

Несмотря на многочисленные исследования, вопрос о происхождении лептомерных фибрилл до сих пор остается невыясненным. По одним данным, образование и последующее умножение числа этих фибрилл может быть связано с механическим повреждением или патологическими изменениями тканей в случае возникновения различных новообразований и при кардиологических заболеваниях (Mirejovsky, 1990; Gelb et al., 1993).

Другие исследователи предполагают участие лептомерных фибрилл в миофибриллогенезе. Однако трудно найти основание для предположения прямого участия лептомерных фибрилл в миофибриллогенезе, поскольку эти структуры отсутствуют в миоцитах на ранних стадиях их дифференцировки, когда отмечается беспорядочное расположение в саркоплазме Z-дисков и пучков филаментов (Tomapes, Cooper, 1981). Мартынова и Борисов (1987) на основании собственных исследований пришли к выводу о том, что формирование лептофибрилл происходит только при наличии полностью сформированных саркомеров. Таким образом, вопрос об участии лептомерных фибрилл в миофибриллогенезе все еще остается открытым.

Отсутствие сведений о наличии лептомерных фибрилл в мышцах саркоцистозных животных, вероятно, можно объяснить тем, что паразит на стадии саркоцисты полностью разрушает зараженную клетку и соединительнотканые элементы эндомиция вместе со всеми фибриллами (Радченко, Бейер, 1996; Радченко и др., 1996). В то же время значительный интерес представляют сведения о наличии сходных по структуре поперечно исчерченных фибрилл у некоторых свободноживущих одноклеточных организмов. Чтобы определить возможное функциональное назначение лептомерных фибрилл у саркоспоридий, мы решили представить известные литературные и наши данные о функции исчерченных фибрилл у некоторых одноклеточных организмов. Так, у жгутиконосцев *Peranema trichophorum* (отр. Euglenida) поперечно исчерченная фибрилла с характерным периодичным чередованием темных и светлых полос связана с органоидом пищеварительной системы — палочковидным органом (Nisbet, 1974; Радченко, 1983). Соприкосновение основного жгутика с пищевыми частицами приводит исчерченную фибриллярную структуру к сократительным движениям, что заставляет палочковидный орган продвинуться в жгутиковый канал и тем самым закрыть его. В результате пищевые частицы проникают только в цитостомальный мешок, но не в жгутиковый резервуар. Таким образом, это один из возможных случаев, связанный с двигательной функцией исчерченной фибриллы.

Сообщается о наличии фибриллярных структур корешковой системы кинетосом у зеленых водорослей *Spermatozopsis*. Их исчерченные фибриллы, состоящие из центриновых микрофиламентов (центрин — основной составляющий их белок), способны медленно сокращаться (Полянский и др., 2000). Кроме того, у некоторых *Hypertremastigida* (например, у *Placojoenia*) обнаружены парабазальные ламеллы, образованные плотно упакованными поперечно исчерченными фибриллами. У *Lophomonas* атрактофоры («носители» веретена) также представляют собой поперечно исчерченные фибриллы. Эти

структуры при митозе формируют и выносят веретено деления к ядру (Radek, Hausmann, 1994; Lingle, Salisbury, 1995).

Обращаясь к полученным данным по лептомерным фибриллам в зараженных саркоспоридиями мышечных клетках языка овцы, можно предположить, что в нашем случае лептомерная фибрилла также, вероятно, может функционировать как структура, способная к движению. Отличительным ультраструктурным признаком этой фибриллы является характерное периодичное расположение темных и светлых полос; светлые полосы составлены филаментами, имеющими сравнительно небольшую длину, зависящую от степени их спирализации. Важным признаком является также локализация лептомерной фибриллы на периферии мышечного волокна. Указанные выше признаки свидетельствуют о том, что лептомерные фибриллы способны сокращаться и расслабляться за счет филаментов светлых полос, которые «заякорены» на темных полосах и, вероятно, образованы какими-то сократительными белками. Скорее всего, из-за наличия коротких составляющих филаментов эти фибриллы осуществляют только импульсивные движения, способные, вероятно, отчасти выводить токсичные вещества из зараженной клетки хозяина в систему капилляров эндомиция (рис. 2, а). В противном случае нормальный процесс жизнедеятельности паразита может быть нарушен. Сейчас уже известно, что токсичные вещества удаляются из зараженной клетки в пузырьках (Радченко, Бейер, 2002, 2005). Кроме того, паразиту и самой клетке хозяина необходимы и питательные вещества, которые таким же способом могут поступать в зараженную клетку.

Таким образом, по нашему мнению, лептомерные фибриллы зараженных саркоцистами мышечных клеток, так же как и поперечнополосатые фибриллы других одноклеточных организмов, способны выполнять функции, связанные по крайней мере с двигательными реакциями.

Список литературы

- Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Роберте К., Уотсон Дж. 1994. Молекулярная биология клетки. М.: Мир. 2 : 540 с.
- Бейер Т. В. 1988. Современное представление о саркоспоридиях (*Sarcocystis*, Eimeriidae, Sporozoa, Apicomplexa): морфофункциональная организация, жизненный цикл, практическое значение. Паразитология. 22 (1) : 3—13.
- Буртикашвили П. С., Буртикашвили Л. П. 1987. Саркоцистозительство буйволов в Восточной Грузии. В кн.: Современные проблемы протозоологии. Л.: Наука. 122.
- Мартынова М. Г., Борисов А. Б. 1987. Лептофибриллы в желудочковых кардиомиоцитах крыс *in vitro*. Цитология. 29 (1) : 17—20.
- Полянский Ю. И., Суханова К. М., Карнов С. А. 2000. Общая характеристика протистов. В кн.: Протисты. СПб.: Наука. Ч. 1 : 145—190.
- Радченко А. И. 1983. Организация жгутиконосца *Peranema trichophorum* на световом и электронно-микроскопическом уровнях. Цитология. 25 (2) : 141—147.
- Радченко А. И., Бейер Т. В. 1996. Влияние кокцидий рода *Sarcocystis* на морфофункциональную организацию скелетной мускулатуры экспериментально зараженных мышей. II. Соединительнотканые элементы эндомиция. Цитология. 38 (6) : 656—660.
- Радченко А. И., Бейер Т. В. 2002. Структурная организация поверхностного аппарата саркоспоридий в процессе персистенции. Цитология. 44 (6) : 599—604.

Радченко А. И., Бейер Т. В. 2005. Структурный анализ и функциональные особенности поверхностного аппарата саркоцист четырех видов саркоспоридий (*Sarcocystis*, Sporozoa). Цитология. 47 (9) : 766—773.

Радченко А. И., Бейер Т. В., Семенов В. М. 1996. Влияние кокцидий рода *Sarcocystis* на морфофункциональную организацию скелетной мускулатуры экспериментально зараженных мышей. I. Мышечное волокно. Цитология. 38 (6) : 650—655.

Радченко А. И., Гаубова Г. Д. 1993. Возможные пути транспорта веществ в мышечных цистах двух видов саркоспоридий (*Sarcocystis*, Apicomplexa, Sporozoa). Цитология. 35 (4) : 134—137.

Хэм А., Кормак Д. 1983. Гистология. М.: Мир. 3 : 291 с.

Alberts D., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P. 2002. Molecular biology of the cell. New York: Garland Sci. 1524 p.

Askanas V., Engel W. K., Bethlem J. 1978. Leptomeres in cultured human muscle. Acta neuropathol. 42 : 247—250.

Carstens H. B., Martin A. W. 1986. Soft tissue tumor with prominent leptomeric fibrils and complexes. Ultrastruct. Pathol. 10 : 137—144.

Corvaja N., Martinozzi V., Pomeiano O. 1969. Muscle spindles in the lumbrical muscle of the adult cat. Arch. Ital. Biol. 107 : 365—543.

Dubey J. P. 1976. A review of sarcocystosis of domestic animals and of other coccidian of cats and dogs. Amer. J. Vet. Med. Assoc. 169 : 1061—1078.

Gelb A. B., Van Meter S. H., Billingham M. E., Berry G. H., Rouse R. V. 1993. Infantile histiocytoid cardiomyopathy-myocardi-

al or conduction system hamartoma: what is the cell type involved? Hum. Pathol. 24 : 1226—1231.

Herbert I. V. 1986. Sarcocystosis and toxoplasmosis in goats. Goat. Vet. Soc. J. 7 : 26—31.

Lingle W. L., Salisbury J. L. 1995. Ultrastructure of the parasitoid Holomastigotoides. J. Euk. Microbiol. 42 : 490—509.

Mirejovsky P. 1990. The ultrastructure of respiratory tract tumours. Acta Univ. Carol. Med. Monogr. 139 : 1—125.

Myklebust R., Jensen H. 1978. Leptomeric fibrils and T-tubule desmosomes in the Z-band region of the mouse heart papillary muscle. Cell Tissue Res. 188 : 205—215.

Nisbet B. 1974. An ultrastructural study of the feeding apparatus of *Peranema trichophorum*. J. Protozool. 21 : 39—48.

Radek R., Hausmann K. 1994. *Placojoenia sinaica* n. g., n. sp., a symbiotic flagellate from the termite *Kaloterms sinaicus*. Eur. J. Protistol. 30 : 25—37.

Taylor R. L. 1967. A fibrous banded structure in a crop lesion of the cockroach, *Leucophaea maderae*. J. Ultrastruct. Res. 19 : 130—141.

Tomanec R. J., Cooper G. 1981. Morphological changes in the mechanically unloaded myocardial cell. Anat. Rec. 200 : 271—280.

Walker S. M., Schrodt G. R., Currier G. J. 1975. Evidence for a structural relationship between successive parallel tubules in the SR network and supernumerary striations of Z line material in Purkinje fibers in the chicken, sheep, dog and Rhesus monkey heart. J. Morphol. 147 : 459—474.

Поступила 20 III 2006

THE ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF *SARCOCYSTIS* *OVIFELIS* INFESTED SHEEP TONGUE MYOFIBRILS

A. I. Radchenko, T. V. Beyer

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg; e-mail: sarcocystis@mail.ru

Structural changes were observed in filaments of *Sarcocystis ovifelis* infected sheep tongue myofibrils. In sarcocysts containing myofibrils, actin filaments and Z-disks, myosin filaments and M-line were seen destroyed. Protein bridges, uniting actin and myosin filaments into a joint complex (net), eventually become not visible, and as a result separate Z-disks and free filaments appear. Fibrils, referred to as leptomeric, have been first revealed between protrusions of the sarcocyst surface apparatus. These are striated filaments with periodic 100 nm striation of dark and light bands, made of thin and short 120—200 nm long filaments 5 nm in diameter. The genesis of leptomeric fibrils still remains obscure. In sarcocysts infected myofibrils these may be involved in metabolite transportation to the intercellular space and back.