

Онтогенетическое развитие нервной системы цестод и амфилинид

Н.М. Бисерова^{1,2}, Ж.В. Корнева²

¹Кафедра зоологии беспозвоночных, биологический факультет Московского государственного университета им. Ломоносова, Ленинские горы, Москва 119992, Россия.

e-mail: nbiserova@yandex.ru

²Институт биологии внутренних вод РАН, п/о Борок, Некоузский район, Ярославская область 152742, Россия.

e-mail: janetta@ibiw.yaroslavl.ru

РЕЗЮМЕ: Развитие нервной системы ранних личиночных стадий *Triaenophorus nodulosus* (Pallas, 1781) (Cestoda: Pseudophyllidea), ювенильных и половозрелых *Amphilina foliacea* Rud., 1819 (Amphilinida) детально изучено на ультраструктурном уровне. Получены первые экспериментальные данные о взаимоотношении личиночных и дефинитивной нервной системы у цестод. Выявлены значительные отличия в развитии ЦНС цестод и амфилинид. Показано, что онкосфера цестод не имеет интегрированной нервной системы, нейропиле и синапсы между нейронами или их отростками не обнаружены. Парные нейроны (2–4) образуют только нейромышечные контакты, стимулирующие работу мышц крючьев и стенки тела онкосферы. Основные процессы дифференцировки и интеграции нервной системы цестод, закладка церебральных ганглиев и парных стволов происходит на первой паразитической стадии процеркоида с участием транзиторных нейронов онкосферы. Недифференцированные клетки располагаются по пути следования зрелых отростков пионерных и транзиторных нейронов, сохранившихся со стадии онкосферы и маркирующих пути формирования ЦНС процеркоида. Цитодифференцировка уни- и биполярных нейронов существенно отличается от таковой мультиполярных. На стадии плероцеркоида происходит формирование периферической нервной системы и наращивание объема ЦНС; окончательная дифференциация центральной и периферической системы. Нервная система половозрелых цестод продолжает расти на протяжении всей жизни особи. Рост и формирование ЦНС, дополнительных малых стволов и отделов, иннервирующих половые органы, происходит за счет стволовых клеток области шейки.

Свободноплавающая ликофора амфилинид имеет хорошо развитый нейропиле и разнообразные сенсорные структуры в ресничном эпителии (Rohde, 1994; Xylander, 2000). Показано, что ювенильные особи из печени осетровых имеют симметричное расположение парных церебральных ганглиев, которые связаны медианной церебральной комиссурой, проходящей между фронтальным органом и вентрально расположенным конечным отделом матки. ЦНС половозрелых амфилинид отличается асимметрией церебральных ганглиев и диагональным положением церебральной комиссуры. В отличие от взрослых цестод, в нервной системе ювенильных и половозрелых *A. foliacea* недифференцированных элементов не обнаружено, что является существенным отличием развития ЦНС. По сравнению с цестодами, ЦНС амфилинид более концентрирована и обладает элементами метамерии. В нервной системе амфилинид имеется несколько типов глиальных клеток, которые формируют миелино-подобные оболочки ганглиев и главных стволов.

В отличие от амфилинид, в ЦНС взрослых *T. nodulosus* клетки экскреторной системы берут на себя функцию глии и формируют оболочки ганглиев и стволов на ранних стадиях онтогенеза. Мы показали, что формирование нервной системы опережает формирование вторичной выделительной системы процеркоида, что связано с отсутствием дегенерации первичных нейронов онкосферы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Cestoda, Amphilinida, нервная система, онтогенез, ультраструктура, дифференциация нейронов, синапсы, экскреторная система, иммуноцитохимия.

The nervous system ontogeny in cestodes and amphilinids

N.M. Biserova¹, J.V. Korneva²

¹Department of Invertebrate Zoology, Faculty of Biology, Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow 119992, Russia

e-mail: nbiserova@yandex.ru

²Institute for Biology of Inland Waters RAS, Borok, Nekouz, Yaroslavl distr. 152742, Russia.

e-mail: janetta@ibiw.yaroslavl.ru

ABSTRACT: The nervous system (NS) development in all stages of *Triaenophorus nodulosus* (Pallas, 1781) (Cestoda: Pseudophyllidea), and also juvenile and adult *Amphiliinafoliacea* Rud., 1819 (Amphilinida) were studied. The first experimental data concerning the relationship between larval and adult nervous systems in Cestoda have been obtained. Significant differences in the ontogeny of the CNS in amphilinids and cestodes have been observed. We have shown that the oncosphere stage of Cestodes lacked an integrated nervous system because a neuropile and synapses between neurons were absent. Paired neurons (2–4) form contact only with myofibrills of the larval hooks and the body-wall muscle cells. The main processes of development, differentiation and integration in the CNS take place during the first parasitic proceroid stage when the cerebral ganglion, median commissure and main cords are usually formed. The pioneer neurons transit from oncosphere and indicate a way for developing nerves. Undifferentiated cells and developing neurites gather (congregate) around growth axons of the pioneer neurons. Cytodifferentiation of the uni- and bipolar neurons differs from that of the multipolar neurons. The PNS is formed at the next plerocercoid stage, in which also the CNS and sensory organs expand. The nervous system never stops growing in adult cestodes. Growth and formation of main cords and compartments innervating the reproductive organs occur from the stem cells from the neck region.

According to the data by Rohde (1994) and Xylander (2000), lycophora larva of amphilinids has well developed neuropile and many different sensory structures. We showed that young worm has two symmetrical cerebral ganglia of equal size and the connecting median commissure running between the frontal organ and uterus. Adult CNS has an asymmetrical position of the cerebral ganglion, many ganglionar knots in MCs and several well-developed caudal ganglia. In contrast to adult cestodes, the nervous system of adult amphilinids lacks undifferentiated nerve cells. The CNS of amphilinids is more concentrat-

ed and has metamerism features. The amphilinids' CNS has several types of glial cells which produce myeline-like envelopes of the cerebral ganglia and main cords.

In contrast to amphilinids, the cells of the excretory system in adult *T. nodulosus* can exert glial function and form unique envelopes of the cerebral ganglia and main cords in early stages of ontogeny. We have shown that in the procercoïd stage, CNS develops ahead of the development of the excretory system.

KEYWORDS: Cestoda, Amphilinida, nervous system, ontogeny, ultrastructure, neurons differentiation, synapse, excretory system, immunocytochemistry.

Введение

Цестоды и амфилиниды принадлежат к группе церкмероморфных неодезмат, утрачивающих в процессе онтогенеза первичные покровы ресничных личинок и формирующих новые личиночные покровы в виде тегумента (Ehlers, 1984). Цестоды и амфилиниды обладают сложным жизненным циклом (Быховский, 1937) со сменой промежуточных хозяев, в каждом из которых происходят серьезные преобразования всех систем органов, свойственные данной стадии развития паразита. К сожалению, сведений о строении развивающейся нервной системы на разных стадиях цестод и амфилинид совершенно недостаточно. Отсутствуют экспериментальные данные о взаимоотношении личиночных и дефинитивной нервных систем у паразитических платод.

Жизненный цикл амфилинид впервые в общих чертах был изучен Яницким (1928), доказавшим, что промежуточными хозяевами *Amphilina foliacea* Rud., 1819 являются бокоплавы (Amphipoda). Последовательное морфологическое развитие личинок описано в работах Rasin (1931) и Дубининой (1974). Известно, что бокоплавы инфицируются непосредственно яйцами, свободноплавающая ликофора у этого вида отсутствует. Ликофора *Austramphilina elongata* плавает в воде некоторое время, а затем самостоятельно проникает через покровы ювенильных ракообразных *Cherax destructor* и *Paratay australinensis*, *Atya* sp., теряя при этом ресничную оболочку (Rohde, Georgi, 1983;

Rohde, Watson, 1989). У ликофор *A. elongata* описаны много-численные сенсорные образования в ресничной оболочке (Rohde, Garlick, 1985a,b,c; Rohde et al., 1986; Rohde, Watson, 1990). Развитие нервной системы *A. foliacea* исследовалось на световом уровне у личинок, обитающих в гаммарусах (Дубинина, 1982).

Ресничные личинки низших цестод, корацидии, после вылупления из яйца, пассивно плавают до момента поедания первым промежуточным хозяином – ракообразным. У циклофиллидных цестод в первого промежуточного хозяина попадают непосредственно яйца, свободноплавающая стадия в цикле отсутствует. Под ресничной оболочкой корацидия находится онкосфера, которая при попадании во второго промежуточного хозяина превращается в процеркоид. Процеркоиды развиваются в полости тела беспозвоночных, откуда попадают во второго промежуточного хозяина. Во втором промежуточном хозяине развивается личинка плероцеркоид, которая часто инцистирована в печени или на поверхности внутренних органов. И, наконец, в кишечнике окончательного хозяина (позвоночные) развиваются ленточные черви, достигающие половой зрелости.

Данные о формировании нервной системы цестод на ранних стадиях развития очень отрывочны и разноречивы, наиболее изучены цестоды отр. Pseudophyllidea (Котикова, Куперман, 1978a; Wikgren, 1986; Куперман, 1988; Бисерова, Корнева, 1999). Онкосферы высших циклофиллидных цестод имеют некоторые отличия в составе и строении клеточных элементов, в том числе нервных

(Fairweather, Threadgold, 1981; Swiderski, Tkach, 1997, 2002; Hartenstein, Jones, 2003). Вопрос о наличии сенсорных органов в ресничной оболочке первых личинок цестод является дискуссионным. Сведения о нахождении у двух видов цестод одиночных ресничных рецепторов в составе ресничной оболочки на переднем конце тела корацидия (Куперман, 1988) требуют дополнительных исследований и проверки на других объектах.

Материал и методы

Яйца получали из половозрелых особей *Triaenophorus nodulosus* (Pallas, 1781) (Pseudophyllidea) из кишечника щук (*Esox lucius*), пойманных в низовьях р. Сутки и Рыбинском водохранилище. Корацидиев получали из яиц в лабораторных условиях (Куперман, 1973). Для выращивания процеркоидов в лабораторных аквариумах содержали неинфицированных копепоид *Cyclops strenuus*, первых промежуточных хозяев, которые и использовали для заражения. Поедание корацидиев наблюдали визуально. Вскрытие инвазированных циклопов проводили на 1, 2, 3, 5, 7, 9, 15, 17-е сутки. Процеркоидов на разных стадиях развития извлекали из полости тела циклопов и фиксировали для электронной микроскопии и иммуноцитохимии. Плероцеркоиды были извлечены из печени окуня (*Perca fluviatilis*), в том же районе лова.

Amphilina foliacea извлекали из полости тела каспийских осетров (*Acipenser gueldenstaedti*) в районе г. Волгограда, а также из полости тела взрослых особей стерляди (*Acipenser ruthenus*) Верхне-Окской популяции. Молодые подвижные черви размером от 4 мм до 10 мм были добыты из печени сеголеток стерляди вблизи г. Астрахани, на базе Каспийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства.

Электронная микроскопия

Материал фиксировали в 2%-ном глутаровом альдегиде на какодилатном буфере, pH-7,2 (SERVA); затем в 1%-ном OsO₄ (Мос-

ковский хим. завод) на том же буфере, дегидратировали в спиртах и ацетоне, пропитывали и заключали в аралдит (MERK). Тонкие срезы контрастировали солями тяжелых металлов и просматривали на электронном микроскопе JEM-100C.

Иммуноцитохимия

Выращенных в лабораторных условиях процеркоидов *T. nodulosus* фиксировали в 4%-ном параформе на 0,1 М фосфатном буфере (PBS, pH-7,4), промывали, помещали в 10%-ный раствор сахарозы на 0,1 М PBS и инкубировали в растворе антител к серотонину (5-HT) нейропептидам группы RF. Иммуноцитохимические реакции проводили на тотальных препаратах, сначала в кюветке первичных антител: anti 5-HT rabbit 1:500 + anti GYIRFamide guinea pig 1:500 в PBS-T, 1 сут.; затем последовательно препараты инкубировали во вторичных антителах: TRITC swine anti rabbit 1:30 в PBS-T, 1 час при 4°C во влажной камере в темноте; FITC goat anti guinea pig 1:30 в PBS-T, 1 час при тех же условиях; затем помещали в 50%-ный глицерин на 0,1 М PBS.

Препараты просматривали на люминесцентных микроскопах Leitz Orthoplan и Axioscop.

Результаты и обсуждение

Формирование нервной системы цестод

Нервная система гексантов

При изучении ультраструктуры свободно плавающих личинок *T. nodulosus* установлено, что нервная система корацидия представлена, по меньшей мере, двумя парами дифференцированных нейронов (Рис. 1). Одна пара связана с формирующейся мускулатурой стенки тела и продуцирует крупные нейросекреторные везикулы диаметром 100 нм (Рис. 2А). Отростки этих клеток (тип 2) редки и встречаются в субтегументе. Вторая пара нейронов лежит в центральной области

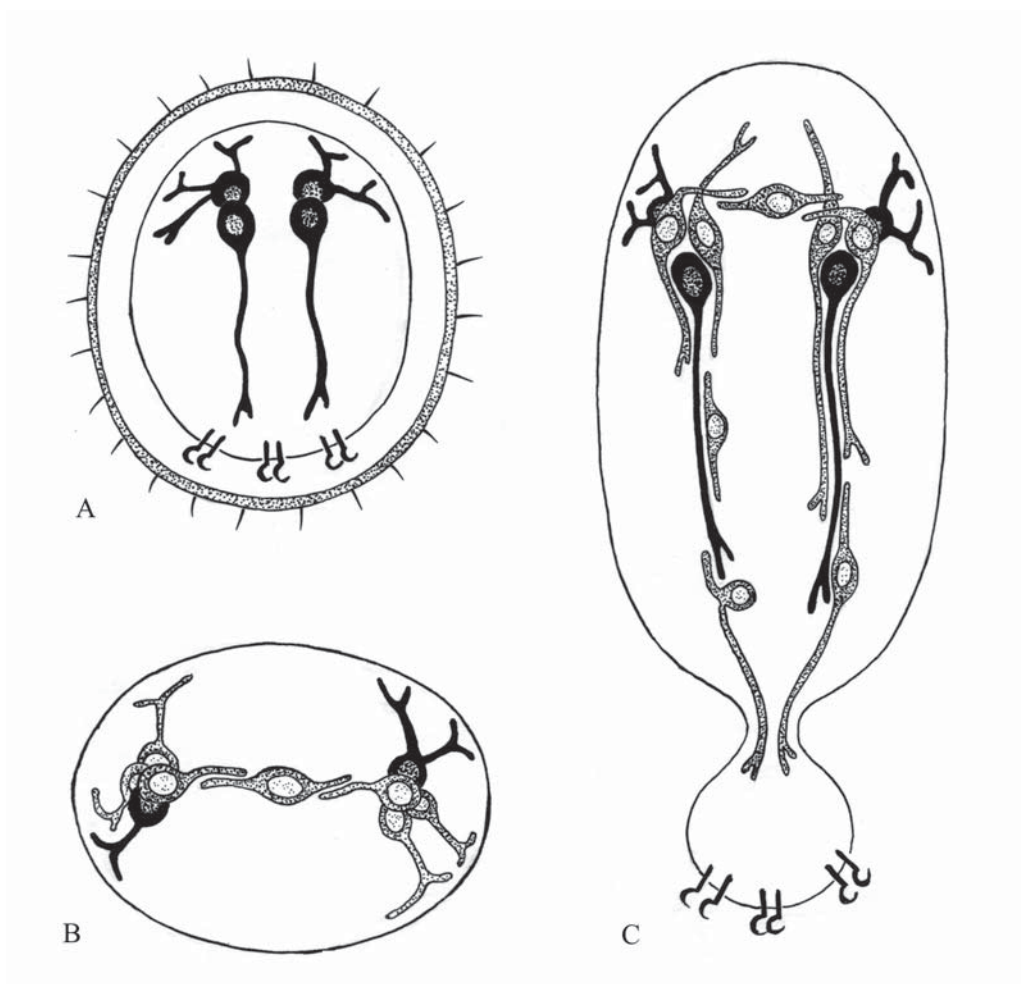


Рис. 1. Схема развития нервной системы корацидия и процеркоида *Triaenophorus nodulosus* (Pallas, 1781). Пионерские нейроны, переходящие со стадии онкосферы, обозначены черным цветом.

A — положение нейронов в корацидии; B — процеркоид, поперечный срез в области, формирующейся церебральной комиссуры; C — процеркоид, продольный срез тела.

Fig. 1. Nervous system development in coracidium and procercoid of *Triaenophorus nodulosus* (Pallas, 1781) scheme (pioneer transition neurons are marked of black color).

A — location of the neurons in coracidium; B — procercoid; cross section made in cerebral commissure's area; C — procercoid; longitudinal section.

онкосферы и связана с клетками этой области и мышцами крючьев онкосферы. Эти нейроны (тип 1) образуют нейромышечные контакты с участием мелких электронно-плотных везикул диаметром 50–70 нм (Рис. 2B). Их нейриты располагаются вблизи мышечных отростков, формируя контакты с параллельными уплотненными мембранами, щель заполнена темным матриксом, постсинап-

тическая мембрана значительно утолщена. Многочисленные нейриты с такими же везикулами иннервируют мускулатуру крючьев на заднем конце онкосферы. Они проходят параллельно мышечным пучкам, соединенным гемидесмосомами с мембраной онкобластов, или окружают несколько мышечных волокон, прикрепленных к основанию крючка (Бисерова, Корнева, 1999). В нейронах и

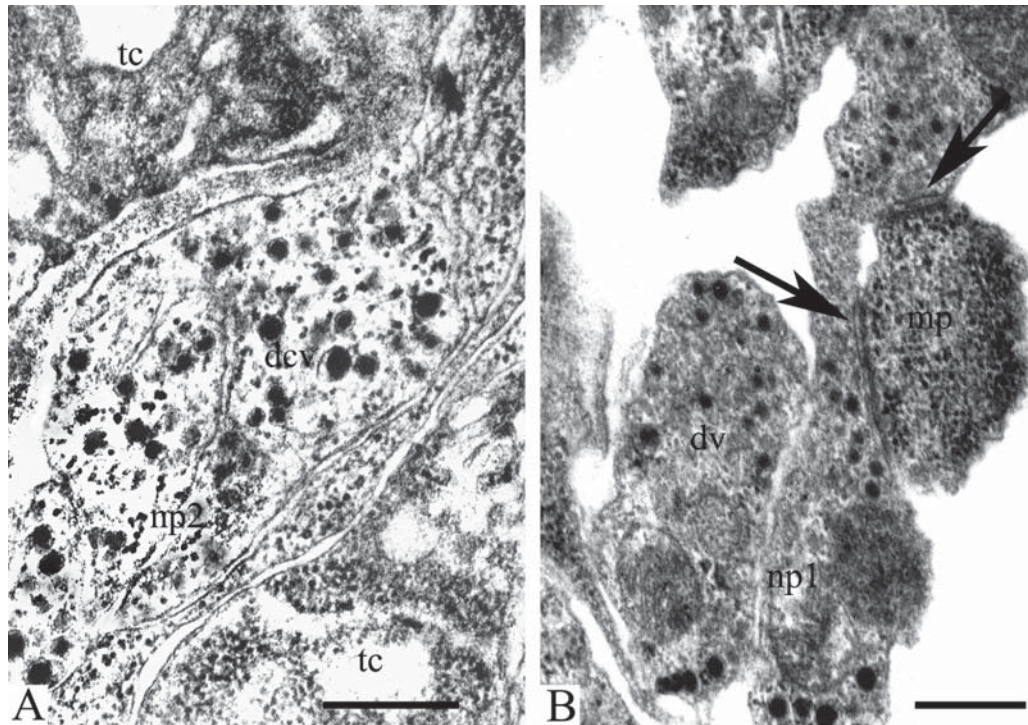


Рис. 2. Детали ультраструктурной организации элементов нервной системы корацидия (онкосферы) *T. nodulosus*.

А — отросток нейросекреторных нейронов 2-го типа (np2), содержащий везикулы с электронноплотным центром (dcv, 100 нм) проходит в кортикальной зоне онкосферы между выростами тегументальных клеток (tc); В — отростки нейронов 1-го типа (np1), образующие нейромышечные контакты (стрелки) с участием мелких плотных везикул (dv, 50–70 нм). Масштаб 0,5 мкм.

Fig. 2. Ultrastructural peculiarities of nervous components in coracidium (oncosphere) *T. nodulosus*.

А — the neurosecretory process of the second type neuron (np2) with dense core vesicles (dcv, 100 nm) is located in cortical area between tegumental cells (tc); В — the neuromuscular junction (arrows): processes of the first type neuron (np1) with dense vesicles (dv, 50–70 nm) form numerous junctions with myocytes (mp). Scale bar 0.5 μm.

их отростках не выявлено светлых синаптических везикул и типичных синаптических контактов между нейритами. В то же время, нейромышечные соединения с участием двух типов гранулярных везикул довольно многочисленны и имеют типичное строение (Рис. 2).

Элементы билатеральной симметрии онкосферы *T. nodulosus* были отмечены для пары клеток желез проникновения и цироточитов (Корнева, 1994), одновременно с этим в расположении малодифференцированных клеток симметричные пары не были обнару-

жены, как это было показано для онкосфер некоторых циклофиллид (Swiderski, 1983).

В ресничной оболочке корацидиев *T. nodulosus* сенсорные структуры не были найдены. В то же время, на переднем конце *Diphyllbothrium latum* (Pseudophyllidea) и *Grillotia erinaceus* Poche, 1926 (Trypanorhyncha) выявлены ресничные образования, по мнению авторов соответствующие ресничному рецептору (Куперман, 1988).

У корацидия *D. dendriticum* (Wikgren, 1986) были так же найдены несколько (3–4) нейронов, содержащих небольшие электрон-

но-плотные везикулы, и дающих отростки по всему телу личинки. Наиболее часто такие нейриты встречались вблизи мускулатуры крючьев. Изредка, в субтегументе и между герминативными клетками, встречались отростки с крупными плотными везикулами нейросекреторного типа; их тела не обнаружены. Наличие нейросекреторных нейронов, образующих нейромышечные контакты, отмечено в онкосфере циклофиллидной цестоды *Hymenolepis nana* (Fairweather, Threadgold, 1981): в средней части тела онкосферы, рядом с мышечными клетками и основаниями крючьев, располагается группа клеток, имеющих вид нейросекреторных нейронов и образующих контакты с мышечными отростками. Общая организация онкосферы циклофиллидной цестоды *H. nana* во многом отличается от корацидиев псевдофиллидных цестод, например, по расположению желез проникновения на переднем конце онкосферы, тогда как у *T. nodulosus* они располагаются на заднем конце, вблизи крючьев (Корнева, 1994). Отличия в организации нервных элементов состоят в следующем: у *H. nana* перикарион нейросекреторного нейрона, продуцирующей везикулы диаметром 100 нм, расположен в непосредственной близости с онкобластом. Отростки нейрона, формирующие нейромышечные контакты, содержат в пресинаптической зоне мелкие светлые везикулы (Fairweather, Threadgold, 1981), не обнаруженные нами у *T. nodulosus*. Возможно, это свидетельствует об участии разных медиаторов в иннервации мышц крючьев онкосфер циклофиллид и псевдофиллид. Всего два нейрона обнаружено в раннем эмбрионе близкого вида *H. diminuta* с помощью тонкого метода иммуноцитохимического окрашивания на тубулин (acTub) (Hartenstein, Jones, 2003). Тела униполярных нейронов расположены в центре онкосферы. Их аксоны направлены назад к крючьям, где они иннервируют связанную с крючьями мускулатуру. Кроме двух нейронов, иммунореактивными к тубулину оказались еще 2 железистые клетки. При реконструкции ультраструктурной организации

онкосферы *Inermicapsifer madagascariensis* (Cyclophyllidea) также обнаружено всего 2 нервных клетки; их отростки содержали мелкие электронно-плотные везикулы (Swiderski, Tkach, 2002). Аналогично, при реконструкции онкосферы *Nematotaenia dispar* были обнаружены две нервные клетки нейросекреторного типа. Они расположены в центральной части онкосферы, перед мускулатурой крючьев. Клетки имеют отростки, заполненные плотными везикулами (dcv) диаметром 97 нм, и контактируют с мышцами крючьев (Swiderski, Tkach, 1997). Число герминативных клеток в онкосфере этих цестод колеблется от 10 до 12, общее количество клеток у разных видов высших цестод значительно варьирует от 160 до 5, в среднем 50–60 клеток.

Таким образом, у всех изученных на сегодняшний день видов цестод на стадии корацидия и онкосферы нервные элементы представлены 2 или 4 нейронами. Важная черта ультраструктурной организации онкосфер — отсутствие зоны нейропилия и синапсов между нейритами. Это свидетельствует о том, что на этой стадии нет взаимодействия между нервными элементами, т.е. нет интегрированной нервной системы.

Нервная система процеркоидов

Изучение процессов дифференцировки основных систем органов процеркоида *T. nodulosus* показали (Корнева, 1998), что в развитии наблюдается два комплекса процессов, последовательно охватывающих клеточные системы и распространяющиеся от передней части к заднему концу процеркоида. Первую группу составляют аутофагические и деструктивные процессы, в результате которых происходит полный автолиз первичных специализированных систем корацидия. Автолиз сменяется активным морфогенезом на основе второй группы процессов: митотического деления малодифференцированных клеток и их последующей цитодифференцировки.

Выявленные процессы, как нам удалось показать, не затрагивают нервной системы.

В отличие от деструктивных изменений в эпителиальных клетках, образующих покровы, в первые сутки развития *T. nodulosus* под базальной пластиной тегумента выявлены многочисленные нервные отростки, содержащие электронноплотные везикулы диаметром 50–60 нм (Бисерова, Корнева, 1999). Они предшествуют появлению de novo кольцевых субтегументальных мышц, отмеченному у процеркоида на 4–5-е сутки развития, тогда как соматические мышечные клетки корацидия постепенно увеличиваясь в размерах, формируют продольную мускулатуру процеркоида.

Процесс формирования нервной системы *T. nodulosus*, с точки зрения анатомии, проходит несколько этапов, условно выделенных нами при отборе материала для фиксации. В первые сутки инвазии ресничная оболочка утрачивается в желудке циклопа; голая онкосфера прободает стенку желудка, оказываясь в полости тела первого промежуточного хозяина. Нейроны онкосферы, продолжают активно функционировать, они продуцируют везикулы и постоянно растут, увеличивая длину отростков, направленных к крючьям. Расположение этих отростков является направляющим для формирования будущих нервных стволов (Рис. 1В, С; 3А–С).

На стадии 3–5 суток (Рис. 3В, С) вдоль относительно крупных направляющих от-

ростков (по два в каждом скоплении) выявлено по несколько очень тонких, диаметром 200–300 нм, параллельных отростков. Они расположены рыхло и не имеют специализированных контактов, не содержат везикул. Вблизи аксонного холмика направляющего пионерного нейрона располагается тело вновь дифференцирующейся нервной клетки. Её отростки обычно расположены под прямым углом: один проходит вдоль направляющего аксона (к заднему концу тела), другой контралатерально, по направлению к симметрично расположенному второму направляющему нейрону, давая начало поперечной комиссуре (Рис. 1; 3).

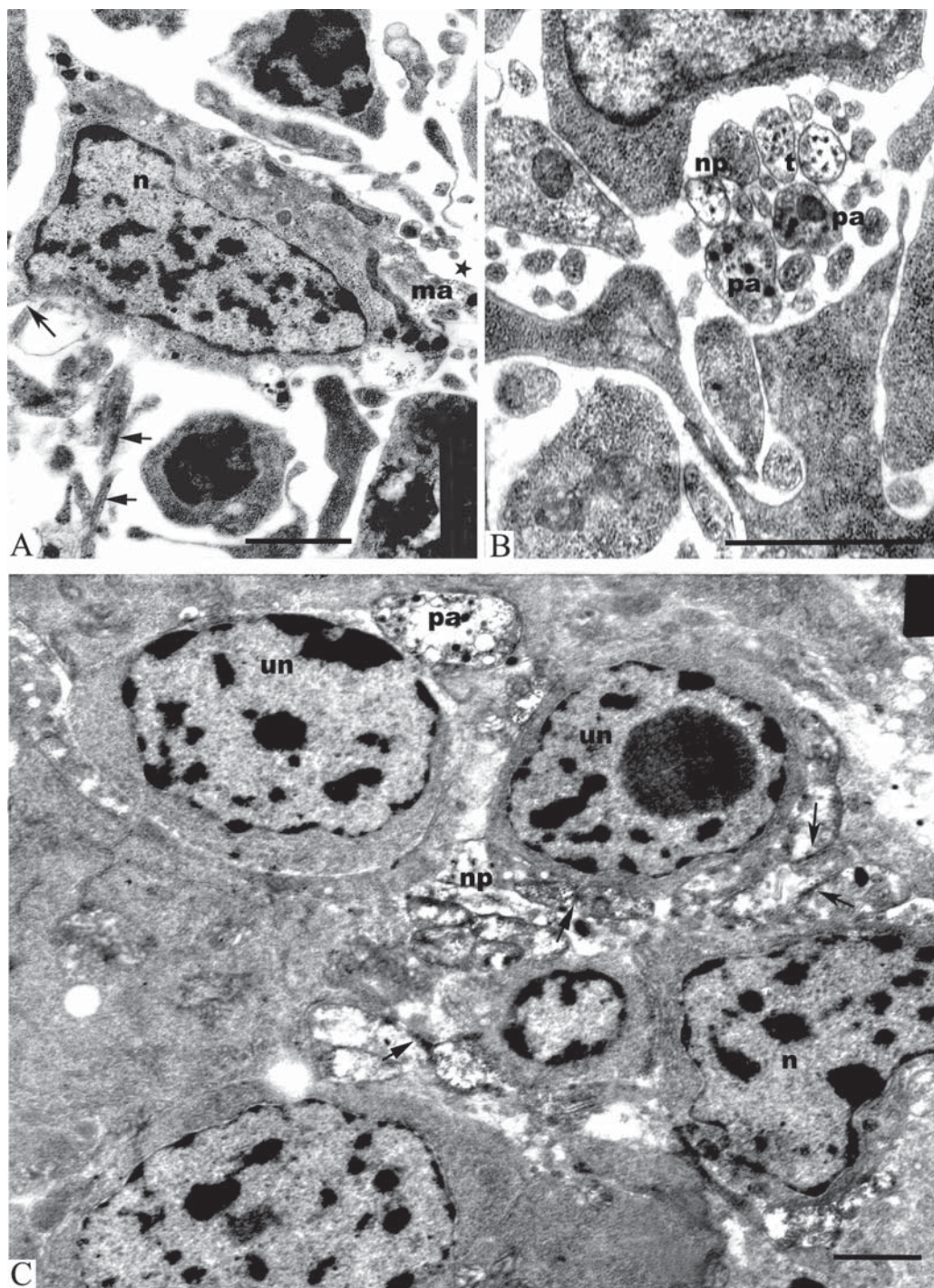
На стадии 4–6 суток число отростков в пучке увеличивается, в передней части процеркоида они располагаются более компактно, в средней и задней части тела — все еще очень рыхло. Между отростками появляются отчетливые плотные контакты, возможно, соответствующие электрическим синапсам. Тела первых встроившихся нейронов дифференцируются, цитоплазма приобретает нормальный вид, содержит электронноплотные редкие везикулы, многочисленные микротрубочки, рибосомы. Отчетливо прослеживается аксонный холмик и главный крупный отросток — аксон, который начинает дихотомически ветвиться (Рис. 4). Часто в месте дихотомического ветвления встраивается следующий дифференцирующийся

Рис. 3. Формирование нервной системы на стадии процеркоида *T. nodulosus*.

А — пионерский нейрон (n), сохранившийся со стадии корацидия; обозначены главный аксон (ma) и группирующиеся тонкие нейриты (звездочка); стрелками обозначены контралатеральные нейриты, процеркоид 3–5 сут.; В — процеркоид, 4–6 сут.; на поперечном срезе задней части тела показано скопление нервных отростков (np), среди которых более крупные с плотными везикулами (dv, 70 нм) являются направляющими (pa), формирующиеся нейриты содержат микротрубочки (t); С — процеркоид, 3–5 сут.; формирование ствола: малодифференцированные клетки (un) группируются вокруг маркирующего аксона (pa) с плотными везикулами (dv, 70 нм). Тонкие нейриты образуют синаптические контакты (обозначено стрелками) с дифференцирующимися нейронами. Масштаб: 1 мкм.

Fig. 3. Development of the nervous system on procercoid stage *T. nodulosus*.

A — procercoid aged 3–5 days; the pioneer neuron (n) has passed from oncosphere and indicating (marked) a way for developmental nerves. The figure displays the main axon (ma) of the pioneer neuron and new developing neurites around of the pioneer axon (it is asterisked) and also neurites going to contra lateral (arrows): B — procercoid 4–6 days, cross section of the posterior body part. Thin small neurites (np) gathered around growth axons (pa) of the pioneer neurons. Younger neurite contains many microtubules (t), the branch of the pioneer neuron contains dense vesicles (dv, 70 nm); C — procercoid 3–5 days, development of the nerve cord. Undifferentiated cells (un) congregate around the marked axon (pa) with dense vesicles (dv, 70 nm). There are synaptic contacts between thin nerves processes and differentiating neurons (arrows). Scale bar 1 µm.



нейрон. Он дает очень тонкий отросток вдоль пучка к заднему концу тела и контралатеральный отросток в будущую комиссуру (Рис. 4А). В возрасте 5–6 суток впервые в отростках нейронов обнаружены светлые везикулы диаметром 50 нм; они встречаются в нейритах вместе с электронноплотными гранулами.

7–8 суток (Рис. 4В, С). Отростки в пучках в передней части тела расположены компактно, примерно одного диаметра. Некоторые отростки, входящие в состав формирующегося ствола, содержат электронно-плотные гранулы диаметром 60–80 нм; другие, более дифференцированные отростки, включают наряду с плотными, светлые везикулы. Часть нейрита на этой стадии формирует между собой синаптические контакты. На 8-е сутки основные системы процеркоиды *T. nodulosus* уже сформированы. На поперечном срезе нервный ствол выглядит вполне компактно, располагаясь рядом с выделительным сосудом (Рис. 5, 6). Имеют место типичные синаптические контакты, в которых пресинаптическое окончание содержит светлые везикулы и электронноплотные гранулы, параллельные мембраны в области контакта зачернены, к мембране примыкает электрон-

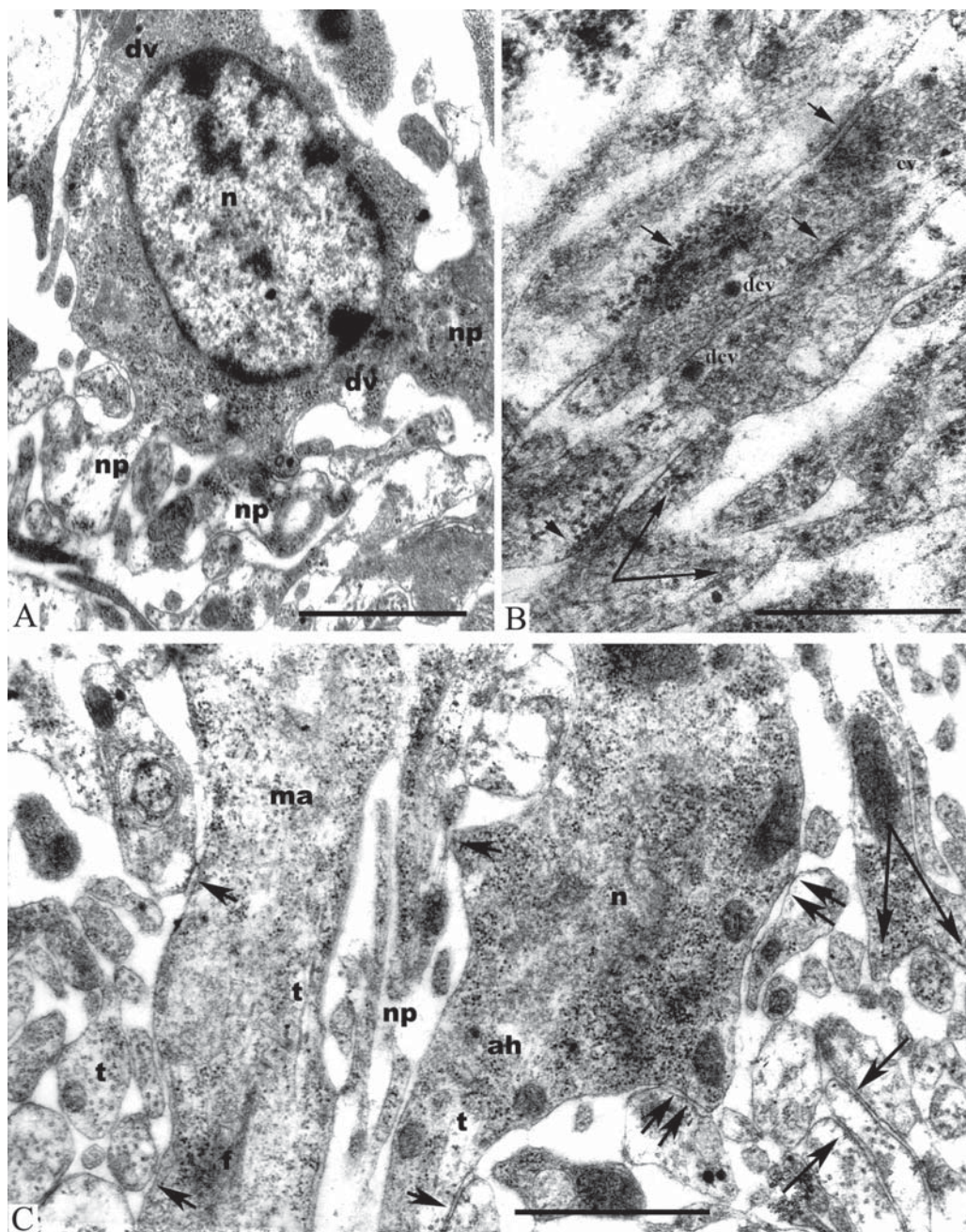
ноплотный материал (Рис. 4В, 5В). В стволе между нервными отростками встречаются плотные контакты. Отдельные дендриты формируют шипики. Конечные отделы некоторых нейритов формируют синаптические бутоны, охватывающие шипики дендритов и образующие протяженный синапс. Крупные терминали образуют синапсы “на проходе”, формируя несколько активных зон с концентрацией светлых везикул в пресинаптической области. Одновременно, эта же терминаль может выступать в качестве постсинаптического отростка, вступая в контакт с другой проходящей терминалью (Рис. 4В). Выявленные типы синаптических контактов соответствуют обнаруженным ранее в ЦНС взрослых *T. nodulosus* (Бисерова, 1997а, 2004; Бисерова, Сальникова, 2002), но отличаются меньшим размером отростков и протяженностью активных зон.

Необходимо отметить, что в процессе дифференцировки нервных клеток *T. nodulosus* чаще всего сначала происходит вытягивание очень тонкого единственного отростка, который затем значительно расширяется и превращается в главный аксон, ширина которого почти равна перикариону (Рис. 4С). Далее отросток начинает дихотомичес-

Рис. 4. Особенности ультраструктурной организации нейронов процеркоиды на стадии 7–8 суток. А — процеркоид 3–5 сут.; мультиполярный нейрон (n) с мелкими плотными везикулами в цитоплазме и тремя эквивалентными отростками (np), среди которых нельзя выделить главный; В — процеркоид, 7 сут.; участок сформированного нервного ствола (см. Рис. 5В); синаптический контакт (the en-passant synapse) со скоплением светлых везикул (cv) и электронноплотного материала в активной зоне (короткие стрелки); пресинаптическое окончание содержит светлые и электронноплотные везикулы (dcv); длинной двойной стрелкой обозначено дихотомическое ветвление главного аксона; С — процеркоид, 7 сут.; формирование аксонного холмика (ah) и контактов в стволе; указаны синапсы между соседними нейритами (одинарные стрелки) и формирующиеся аксо-соматические контакты (двойные стрелки) на соме нейрона (n); сформированные би- и униполяры имеют отчетливо выраженный главный аксон (ma) и зону аксонного холмика; на поверхности главного аксона и в местах дихотомического ветвления (двойная стрелка) формирующиеся мелкие нейриты (np) образуют контакты (короткие стрелки). Масштаб (мкм): А, С — 1; В — 0,5.

Fig. 4. Peculiarities of neuron ultrastructure on proceroid stage aged 7–8 days.

A — proceroid 3–5 days; multipolar neuron (n) doesn't have main axon and axon hill; this type of neurons expands a cytoplasm at the beginning of differentiation and after that forms several equivalent processes (np); their cytoplasm contains dense core vesicles; B — proceroid, 7 days; the en-passant synapse in the nerve cord (see boxed area in Fig. 5B); presynaptic area contains small clear vesicles (cv) and rare dense core vesicles (dcv) and also there is the presynaptic electron-dense specialization of membrane in active zones (arrows). Long double arrow shows the dichotomous branching of a main axon; C — proceroid 7 days; ripe uni- or bipolar neurons have a good developed axon hill (ah) and a large main axon (ma); main axons have dichotomous branches and in the place of dichotomy (double arrow) small neurites (np) are concentrated and formed junctions; there are synapses in the nerves cord between neurites (arrows) and also the axo-somatic junction (double short arrows) on the 7th day; head arrows show contacts on the surface of the main axon formed by new developing neurites. Scale bar (μm): A, C — 1; B — 0.5.



ки ветвиться, образуя все более тонкие терминали (Рис. 4В, С). Одновременно формируется зона аксонного холмика со специфически дифференцированной нейроплазмой, содержащей большое количество нейротрубочек. К поверхности аксонного холмика начинают подходить мелкие нейриты других дифференцирующихся нейронов и формировать контакты. Такой тип дифференцировки характерен для уни- и биполярных нейронов. Мультиполярные нейроны, по-видимому, изначально не имеют зоны аксонного холмика и постепенно наращивают нейроплазму в перикарионе (Рис. 4А). Достигая большого объема цитоплазмы перикариона, они начинают одновременно формировать несколько (3–4) крупных отростков. На наш взгляд, такие отличия в процессе дифференцировки нейронов могут свидетельствовать об изначально разных функциях этих клеток в ЦНС. Скорее всего, биполяры, обладающие наиболее протяженными отростками, несут основную функцию быстрого проведения сигналов внутри ЦНС. Мультиполяры, обладая большим объемом нейроплазмы и разветвленными короткими отростками, имеют, вероятно, принципиально иное назначение.

К сожалению, данных о строении нервной системы процеркоидов для сравнительного анализа совершенно недостаточно. Известно, что у процеркоида *D. dendriticum* на переднем конце тела, совместно с отростками фронтальных желез и мышечными клетками, расположена группа крупных нейронов размером 10–15 мкм (Wikgren, 1986). Форма нейронов неправильная, ядра лопастные, цитоплазма содержит электронноплотные везикулы диаметром 50–70 нм. Кроме того, на заднем конце тела обнаружены нейроны второго типа, они имеют меньшие размеры перикариона (6–8 мкм) и содержат более крупные (150–200 нм) электронноплотные везикулы. Такие нейроны, по мнению автора, являются нейросекреторными (Wikgren, 1986). Это соответствует данным, полученным нами для *T. nodulosus*, у которого так же отмечено два типа нейронов

с электронноплотными гранулами разного диаметра.

Иммуноцитохимические исследования развития нервной системы процеркоида *T. nodulosus*

На тотальных препаратах ранних процеркоидов *T. nodulosus* были проведены иммуноцитохимические реакции для выявления некоторых нейроактивных субстанций в развивающейся нервной системе.

Серотонинергические компоненты ЦНС отчетливо выражены в возрасте 19 дней и представлены в формирующихся стволах и центральной комиссуре. Иммунореактивность к серотонину (5-HT-IR) обнаружена на переднем конце тела: свечение наблюдали в виде двух симметрично расположенных сетчатых тяжей, каждый из которых состоял из трех более тонких нитей. Центральные тяжи были протянуты до заднего конца тела и начала церкомера. По крайней мере, один крупный биполярный серотонинергический нейрон выявлен в верхней части одного из тяжей; отростки нейрона расположены горизонтально и входят в состав соединяющей центральной комиссуры. От нее к апикальному органу также протянуты тонкие отростки, иммунореактивные к 5-HT.

Иммунореактивность к GYRFamide обнаружена как на переднем, так и на заднем конце процеркоида на очень ранней стадии, без сформированного церкомера. Свечение наблюдали в центральных тяжях, соответствующих будущим ганглиям и главным стволам. В результате применения метода двойного окрашивания, было установлено, что светящиеся GYRFamide иммунореактивные компоненты не совпадают по своему расположению с выше описанными 5-HT-IR компонентами. Нельзя с уверенностью говорить о количестве пептидергических клеток, т.к. их маленький размер и большое количество варикоз не позволяют достоверно идентифицировать ядерный участок. Пептидергические варикозы занимали центральную область тяжей, образуя сгущения ниже центральной комиссуры.

У зрелых процеркоидов *D. dendriticum* (Wikgren, 1986) на переднем конце тела, под фронтальным углублением выявлены 4 крупных серотонинергических нейрона. Нервные клетки лежат горизонтально и посылают свои отростки в два латеральных ствола. При этом 3 нейрона всегда лежат вместе, под фронтальным углублением, а четвертый расположен несколько каудальнее, но также связывает своими отростками оба латеральных ствола. Главные стволы достигают заднего конца тела и посылают пару нервов вперед, вдоль фронтального органа. Вокруг фронтального углубления имеется густая сеть волокон, содержащих серотонин. Пептидергические нейроны располагаются как на переднем, так и на заднем конце тела зрелого процеркоиды *D. dendriticum* (Wikgren, 1986). Их число варьирует от 6 до 10 у личинок разного возраста. Два нейрона всегда лежат на переднем конце вблизи серотониновых клеток. На заднем конце, ближе к церкомору, выявлены еще две группы пептидергических нейронов по 3–4 клетки в каждой. Отростки этих нейронов входят в состав ГЛС, а также образуют пару периферических нервных трактов (Wikgren, 1986). Методом выявления холинэстераз у процеркоиды *E. salvelini* были обнаружены 3 пары продольных нервных стволов, одинаковых по мощности и соединенных кольцевой комиссурой на переднем конце процеркоиды (Котикова, Куперман, 1978а). Следует отметить, что поперечные срезы процеркоидов не были исследованы авторами, поэтому судить о равноценности продольных стволов и наличии именно кольцевой комиссуры преждевременно. Для процеркоиды *T. nodulosus*, на той стадии, когда сколекс еще не развит, так

же отмечено присутствие 3 пар продольных стволов (Котикова, Куперман, 1977). Из них латеральные стволы наиболее выражены, соединены несколькими поперечными комиссурами и замыкаются на заднем конце тела, а дорзальные и вентральные стволы прослежены только на переднем конце тела.

Данные гистохимии и иммуноцитохимии свидетельствуют том, что основные компоненты ЦНС, такие как церебральная комиссура и главные стволы, а так же вентральные и дорзальные корешки ганглиев формируются на стадии раннего процеркоиды. Эти компоненты анатомически выглядят в виде тяжей и тел нейронов и представлены физиологически различными составляющими: в нервной системе процеркоидов присутствуют основные медиаторы — серотонин, FMRFamide и GIYRFamide, а так же, по видимому, ацетилхолин. Степень централизации серотонинергической системы *D. dendriticum* ограничивается формированием церебральной комиссуры между двумя ГЛС (Wikgren, 1986). Соответствующие нейроны найдены в комиссуре взрослых червей. Это же можно утверждать для процеркоиды *T. nodulosus*, у которого 1 серотонинергический нейрон расположен в верхней части сколекса, а его отростки формируют церебральную комиссуру. Этот нейрон сохраняет свою позицию на стадии плероцеркоиды и у взрослого животного (Бисерова, 1997а; Biserova et al., 1996).

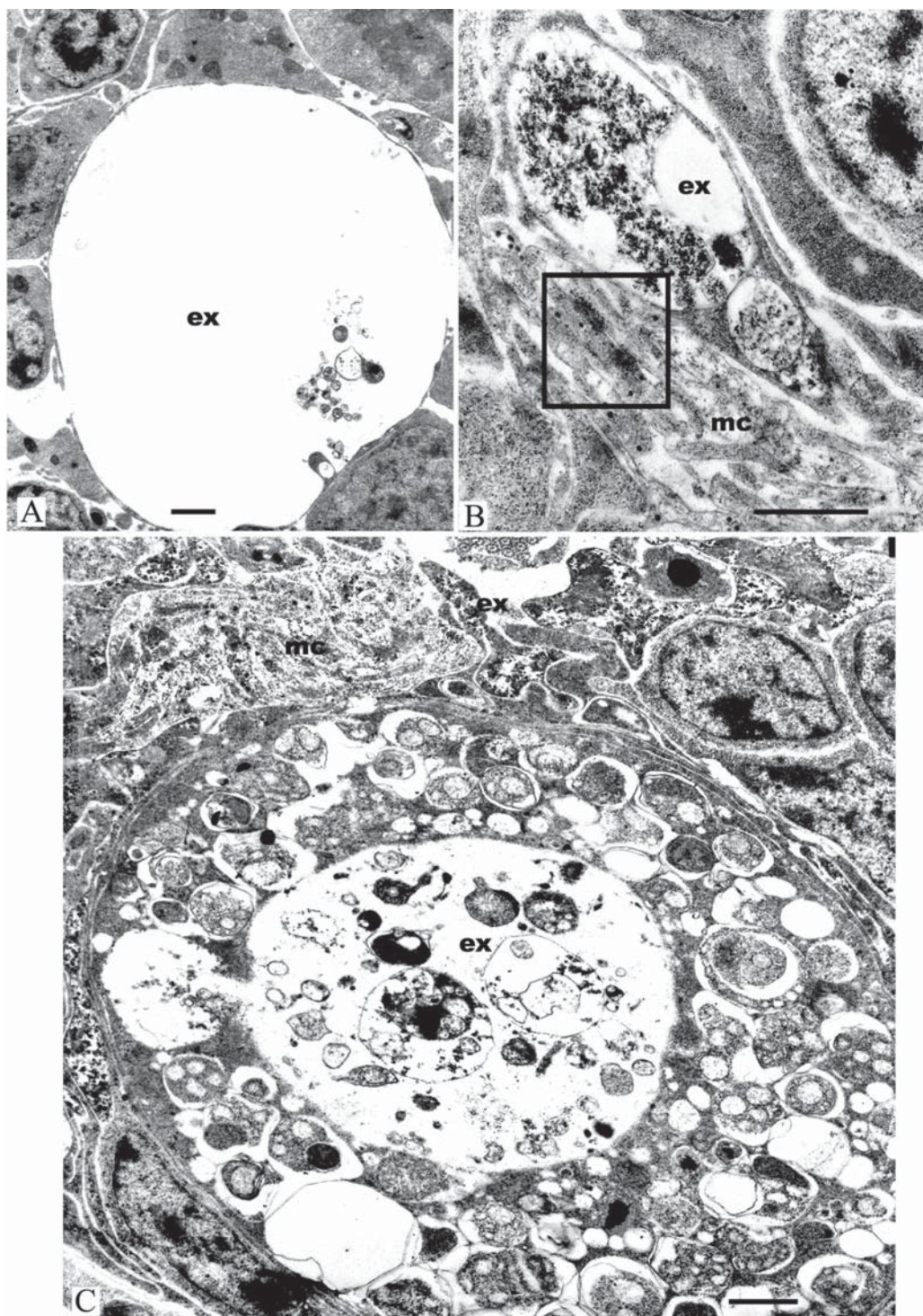
Ультраструктура нервной системы процеркоиды *T. nodulosus* довольно проста. Степень ее дифференциации существенно зависит от возраста: две группы малодифференцированных клеток раннего процеркоиды дают начало церебральным ганглиям (ЦГ),

Рис. 5. Параллельное развитие нервной и экскреторной систем у процеркоиды *T. nodulosus*.

А — формирование выделительной системы (ex) процеркоиды на стадии 4–6 сут.; В — участок нервного ствола (nc) с синаптическими контактами и прилегающим выделительным сосудом (ex), процеркоид 7 сут.; С — компактный нервный ствол (mc) прилегает к поверхности формирующейся выделительной полости (ex); процеркоид, 8 сут. Масштаб 1 мкм.

Fig. 5. Parallel development of the nervous and the excretory systems in *T. nodulosus*.

A — procercoid, 4–6 days; the development of excretory system (ex); B — procercoid, 7 days; part of the main nerves cord (mc) with synaptic junctions (box area) is adjacent to the excretory vessel (ex); C — procercoid, 8 days; the main nerves cord (mc) is adjacent to the surface of the forming excretory vessel (ex); the posterior body part. Scale bar 1 μ m.



которые на 21-й день развития имеют признаки ЦГ плероцеркоидов. Периферическая нервная система (ПНС) развита слабо, так как органы прикрепления не дифференцированы. Скорее всего, ПНС ранних процеркоидов представлена сетью отростков 2-й пары онкосферных нейронов, иннервирующих мускулатуру стенки тела и терминального органа. Сенсорный аппарат процеркоидов представлен ресничными и двумя типами безресничных чувствительных окончаний (Бисерова, Корнева, 1999).

ЦНС зрелых процеркоидов характеризуется следующими признаками: **1)** наличие синаптических контактов между нейритами в стволах и комиссуре с участием двух типов везикул: гранулярных, dv, и агранулярных, cv; **2)** наличие двух типов нейронов, биполяров и мультиполярных, способ дифференцировки которых различен; **3)** малое число тел нейронов в церебральных ганглиях и небольшой объем нейропилей, соответствующих незначительному числу составляющих нейритов; **4)** в процессе дифференцировки нервная система развивается последовательно от центральной области к заднему концу тела, вдоль направляющих аксонов двух онкосферных транзиторных нейронов, и к переднему концу тела, вдоль терминального органа; при этом нейриты группируются в компактные тяжи, а тела нейронов располагаются на их поверхности; **5)** развитие главных стволов проходит параллельно и колокализовано с формированием выделительных сосудов.

В развивающейся нервной системе процеркоида *T. nodulosus* продемонстрировано наличие транзиторных и пионерных нейронов и волокон, которые маркируют пути для формирования дефинитивной нервной системы.

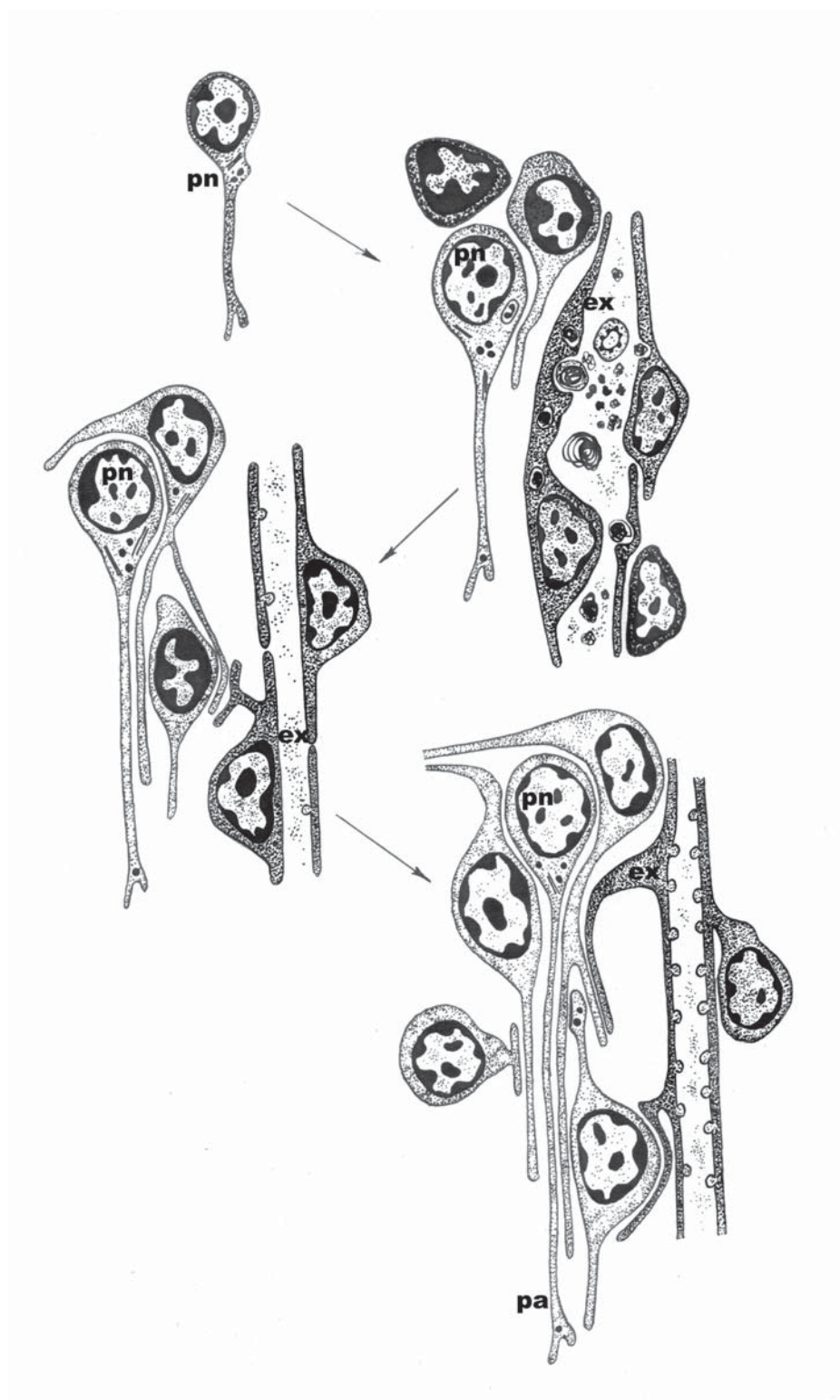
Нервная система плероцеркоидов

По данным гистохимических исследований (Котикова, Куперман, 1978а), сколекс молодых плероцеркоидов псевдофиллидных цестод иннервируется 5 парами продольных стволов, из которых латеральные развиты сильнее и залегают глубже, чем дорзальные

и вентральные. Две пары сопровождающих стволов и кольцевые комиссуры развиты слабо. Для плероцеркоидов дифиллоботриид характерно увеличение числа стволов от переднего конца к заднему концу и в зависимости от размеров хозяина, в котором плероцеркоид обитает. Все стволы связаны поперечными нитями грубого плексуса, причем показана регулярная связь ГЛС с другими продольными стволами, осуществляемая волокнами внутреннего плексуса. В процессе развития плероцеркоидов амфикиотилид и дифиллоботриид отмечено отчетливое выделение ГЛС, постепенное увеличение числа малых продольных стволов и развитие плексуса.

Более детально анатомия нервной системы плероцеркоидов изучена иммуноцитохимическими методами.

ЦНС *D. dendriticum* представлена парой вытянутых ганглиев, в верхней части сколекса соединенных широкой короткой центральной комиссурой. Ганглии плавно продолжают в базальную часть сколекса в виде главных стволов, расположенных глубоко в медуллярной паренхиме. Тела нейронов имеются во всех отделах ЦНС, включая комиссуру. 5HT-IR нейроны *D. dendriticum* выявлены в церебральной комиссуре и главных стволах, причем их отростки обычно проходят латерально (Gustafsson et al., 1985) в зону субтегумента. Многочисленные гистамин-позитивные клетки описаны в церебральных ганглиях и ГЛС (Wikgren et al., 1990); они отличаются короткими отростками и не связаны с периферической системой. Кроме ЦНС, гистамин-позитивные клетки выявлены в стенках экскреторных сосудов. Глиоксидовым методом в ЦНС плероцеркоида выявлены катехоламинергические волокна и нейроны в составе ГЛС и церебральных ганглиев (Gustafsson, Eriksson, 1991). Пептидергический компонент ЦНС представлен крупными нейронами (10 x 15 мкм) в кортикальной зоне ГЛС и мощными скоплениями иммунореактивных к FMRFamide волокон в церебральных ганглиях (Gustafsson et al., 1985).



ПНС плероцеркоида *D. dendriticum* представлена мощно развитой пептидергической компонентой. Продольная мускулатура сколекса и тела покрыта густой сетью FMRamide-IR волокон, тела нейронов дают длинные отростки, образующие тонкие кольцевые комиссуры. Часть отростков направлена в субтегумент, образуя терминали под базальной пластинкой. Серотонинергическая компонента ПНС плероцеркоида представлена отдельными тонкими волокнами и редкими нейронами, расположенными снаружи слоя продольных мышц. Катехоламинергические волокна связаны с поперечной (трансверсальной) мускулатурой и малыми продольными стволами, проходящими в кортикальной паренхиме (Gustafsson, Eriksson, 1991).

Плероцеркоиды тетрафиллид и трипаноринх имеют более сложно организованную нервную систему, соответствующую сложному прикрепительному аппарату. У плероцеркоида *Trilocularia acanthiaevulgaris* (Tetraphyllidea) ЦНС сколекса представлена парой латерально расположенных церебральных ганглиев (ЦГ), объединенных поперечными комиссурами и центральным кольцом и содержащих тела нейронов. ЦГ дают начало 5 парам продольных стволов: 3 пары латеральных и 2 пары медианных (Fairweather et al., 1990). Из 3 латеральных стволов, один, центральный, является более мощным и соответствует главному; два других тоньше, проходят латеро-дорзально и латеро-вентрально и соответствуют вентральному и дорзальному корешкам псевдофиллид (Бисерова, 2004). ГЛС проходят вдоль всего тела и объединены поперечными комиссурами. Вперед от ЦГ и кольца к ботридиям выходят передние ботридиальные нервы. В ЦНС выявлено до 50 мелких

холинергических клеток, связанных с центральным нервным кольцом и ЦГ. Нейроны расположены группами, в местах выхода дополнительных латеральных и ботридиальных нервов. В ганглиях и комиссурах были обнаружены более 10 мультиполярных серотонинергических нейронов, а также многочисленных нейронов в ГЛС, которые связывают своими отростками дополнительные латеральные стволы. По данным авторов (Fairweather et al., 1990) нервная система плероцеркоида *T. acanthiaevulgaris* полностью соответствует таковой взрослого животного. ПНС хорошо развита и представлена густым нервным плексусом ботридий и продольными малыми стволами. Плексус содержит многочисленные тела нейронов. Все 10 продольных стволов отмечены так же и в зрелых проглоттидах, причем ГЛС наиболее развиты, по сравнению с остальными.

Особенности ультраструктуры нервной системы плероцеркоидов

Плероцеркоиды *T. nodulosus* были изучены нами от стадии формирующихся крючьев до более поздней стадии с полностью сформированным сколексом и передним отделом тела. ГЛС можно проследить с первых этапов развития личинки. У раннего плероцеркоида (стадия формирования крючьев) ГЛС состоят из плотных пучков мелких отростков, проходящих латеральнее парных выделительных сосудов (Бисерова, Сальникова, 2002).

При дальнейшем развитии *T. nodulosus* происходит значительный рост нервных трактов (Рис. 7): ГЛС становятся более компактными и включают до 30 нейритов; вперед от ганглиев к крючьям выходят передние нервы. Нейроны в стволах встречаются редко, в то же время синапсы встречаются

Рис. 6. Этапы сопряженного развития нервной и экскреторной систем на стадии процеркоида. рп — пионерный нейрон, переходящий из онкосферы в процеркоид; ех — формирующийся экскреторный канал процеркоида; ра — пионерный аксон, маркирующий путь формирования нервного ствола процеркоида.
Fig. 6. Schematic drawing shows the associate development of the nervous and the excretory systems on the procercooid stage.
rp — pioneer neuron transit from oncosphere and indicate a way for developing nerves in procercooid; pa — pioneer axon; ex — excretory system.

регулярно. В ЦНС выявлены 3 типа контактов: 1) синапсы со светлыми мелкими везикулами в пресинаптическом окончании и уплотнением постсинаптической мембраны (Рис. 7В, длинная стрелка); 2) долевого синапсы, которые встречаются в нейропиле значительно реже, чем у половозрелых червей (Рис. 7В, двойная стрелка); 3) паракриновые контакты, содержащие в пресинапсе плотные и светлые везикулы; мембраны в зоне контакта не имеют значительных уплотнений и образуют омегаобразные профили (Рис. 7В, короткая стрелка). Сходные морфологические типы синаптических контактов имеются в ЦНС взрослых половозрелых червей (Бисерова, 1997а; Бисерова, Сальникова, 2002; Biserova et al., 1996), однако, число контактов и протяженность активных зон у плероцеркоида примерно на порядок ниже.

ПНС развивается весьма интенсивно, число отростков и нейромышечных контактов на периферии достигает максимума (Рис. 7С–Е). На этой стадии происходит окончательная дифференциация прикрепительного аппарата сколекса, развитие тегументальной и специализированной мускулатуры. В

теменной области сколекса буквально каждому мышечному волокну соответствует собственная нервная терминаль, чаще всего содержащая электронноплотные везикулы (Рис. 7Е). Терминали со светлыми везикулами так же встречаются регулярно. Позже, в окончательном хозяине, происходит значительное увеличение объема мышц сколекса, но далеко не каждой миофибрилле соответствует своя нервная терминаль. По-видимому, гипериннервация мускулатуры теменной области плероцеркоида необходима для упорядоченного роста формирующегося прикрепительного аппарата, который несет в себе потенциальные возможности для координированной работы мускулатуры крючьев и ботрий уже на стадии плероцеркоида, когда сколекс мало подвижен, т.к. личинка инкапсулирована.

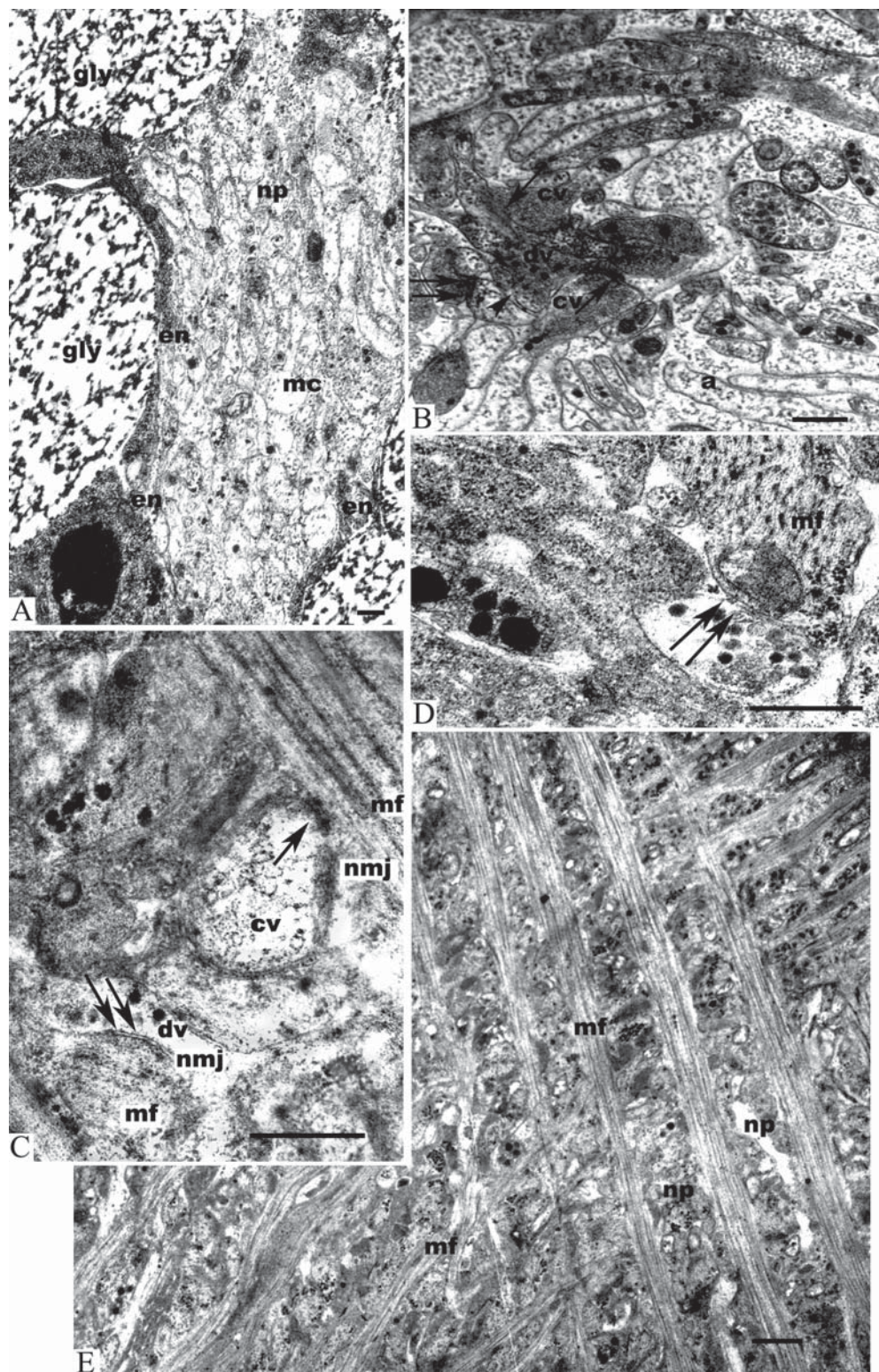
Нейромышечные контакты плероцеркоида *T. nodulosus* различаются по составу синаптических везикул и специализации контактирующих мембран (Рис. 7С, D): тип 1) содержат светлые мелкие везикулы, имеется постсинаптическая специализация сарколеммы; тип 2) содержат электронноплотные везикулы, дополнительные специализации кон-

Рис. 7. Особенности ультраструктуры нервной системы плероцеркоида *T. nodulosus*.

А — поперечный срез ГЛС (mc) в средней части тела; компактное скопление мелких нейритов (np) окружено отростками клеток оболочки (en) и резервуарами с гликогеном (gly); В — синапсы в нейропиле ГЛС плероцеркоида; тип 1 — синапсы со светлыми мелкими везикулами (cv) в пресинаптическом окончании и уплотнением постсинаптической мембраны (длинная стрелка); тип 2 — долевого синапс (двойная стрелка), встречаются значительно реже, чем у половозрелых червей; тип 3 — паракриновый контакт (короткая стрелка), содержит в пресинапсе плотные (dv) и светлые везикулы, мембраны в зоне контакта не имеют уплотнений и образуют омегаобразные профили, а — аксоны; С, D — особенности иннервации мускулатуры сколекса; два типа нейромышечных контактов (nmj) с участием светлых (cv) или плотных (dv) везикул; Е — общий вид расположения миофибрилл (mf) и нервных терминалей (np) в теменной области сколекса; каждая миофибрилла иннервируется двумя нервными терминалями с плотными или прозрачными везикулами. Масштаб (мкм): А, В, Е — 1; С, D — 0,5.

Fig. 7. Peculiarities of nervous system ultrastructure in plerocercoid *T. nodulosus*.

А — the main cord (mc) is located in the middle part of the body; the cross section; the compact location of thin neurites (np) is surrounded by cell processes of glia-like envelope (en) containing electron-dense cytoplasm and also cell glycogen reservoirs (gly); В — synapses in the main cord neuropile: type 1 — endings contain clear round vesicles (cv); there is the postsynaptic electron-dense specialization; the synaptic cleft contains a dense web-like material (long arrows); type 2 — shared synapse contains clear vesicles and two postsynaptic elements (double arrow); type 3 contains dense vesicles (dv) and presynaptic membrane has omega-like profiles; no electron-dense specialization is present on synaptic membranes (head arrow), а — axon; С, D — peripheral muscle innervation in scolex; each time muscular fiber (mf) has two types of synaptic endings on the surface (nmj): (I) terminals with small clear vesicles (cv) (arrow), and (II) terminals with dense vesicles (dv) (double arrow); Е — co-localization of myofibrils (mf) and nervous terminals (np) in plerocercoid' scolex; each myofibril is innervated by two types of nerves terminal. Scale bar (μm): А, В, Е — 1; С, D — 0.5.



тактирующих мембран отсутствуют; тип 3) одновременно присутствуют светлые мелкие и электронно-плотные везикулы, в пресинапсе в зоне контакта имеется субповерхностная цистерна.

Несмотря на незначительную подвижность инкапсулированной личинки, вся схема нейромышечных взаимодействий для осуществления движений прикрепительных органов уже сформирована, нейромышечные контакты полностью дифференцированы. Это важный адаптивный момент в развитии нервной системы, т.к. после попадания в кишечник окончательного хозяина — щуки — личинка оказывается в условиях сильной перистальтики и движущегося потока. Неспособность к быстрому прикреплению к стенке кишки ведет к элиминации. В этих условиях развитие нейромышечных соединений является ключевым фактором выживания и развития половозрелой стадии.

Таким образом, иннервация миофибрилл плероцеркоида осуществляется всегда двумя типами нервных терминалей, содержащих гранулярные или агранулярные везикулы. Такой же принцип иннервации мускулатуры характерен и для дефинитивной нервной системы *T. nodulosus*.

Сравнительное исследование ультраструктурной организации ЦНС двух видов личинок из отряда Trypanorhyncha *Grillotia erinaceus* Poche, 1926 и *Nybellinia surmenicola* Okada, 1929 подтверждает зависимость развития нервной системы плероцеркоидов от степени их подвижности. Личинки трипаноринх обитают в желчном пузыре рыб — вторых промежуточных хозяев, и весьма подвижны. После извлечения из хозяина, они способны активно ползать на поверхности одной из ботрий, активно выбрасывая хоботки и сокращая мускулатуру тела. Столь быстрое поступательное движение личинок трипаноринх является уникальным и пока не отмечено у других представителей класса цестод. Высокая двигательная активность согласуется с наличием хорошо развитой ЦНС и сенсорного аппарата (Бисерова, 1991). В состав ЦГ и комиссуры плероцеркоида *G.*

erinaceus входит до 15 пептидергических (Halton et al., 1994) и 30 серотонинергических нейронов. Размер аксонов и дендритов, входящих в состав ГЛС в базальном отделе сформированного сколекса трипаноринх не отличается от взрослых, тогда как у псевдофиллид нейриты плероцеркоидов значительно меньше в диаметре. В бульбарных нервах, иннервирующих мускулатуру хоботков *G. erinaceus*, обнаружены гигантские аксоны, окруженные оболочками (Бисерова, 2004; Корнева, Бисерова, 2005). Ультраструктура нейронов, входящих в состав ганглиев и стволов личинки, не отличается от таковой взрослых червей; на поверхности нейронов имеются опорные фибриллы, иногда заполняющие межклетники (Бисерова, 1991).

Ультраструктурная организация ЦНС личинок трипаноринх отлична от плероцеркоидов псевдофиллидных цестод. Как было показано выше, для плероцеркоидов *T. nodulosus* характерно малое количество нейронов, очень маленький диаметр отростков, составляющих ГЛС, рыхлое расположение нервных элементов, слабое развитие оболочек.

Анализ полученных данных говорит о том, что на стадии плероцеркоида происходит преимущественное развитие периферической нервной системы и формирование дополнительных нервов, иннервирующих прикрепительные органы цестод. В тех случаях, когда плероцеркоиды подвижны, центральная и периферическая НС сколексов полностью сформированы и не отличаются по своему строению от половозрелой стадии.

В окончательном хозяине происходит наращивание стробилы, поэтому основные процессы формирования нервной системы связаны с образованием многочисленных периферических нервов, иннервирующих органы репродуктивной системы. Главные стволы, как было показано для псевдофиллид, также постепенно наращиваются. У взрослых цестод рост и формирование ГЛС продолжается за счет пополнения недифференцированными нейробластами, которые

поступают из популяции недифференцированных мультипотентных стволовых клеток шейки (Бисерова, Сальникова, 2002).

Таким образом, на стадии плероцеркоида происходит окончательная дифференциация центральной и периферической системы. В отличие от процеркоида, характерной особенностью ЦНС плероцеркоида является наличие сформированных церебральных ганглиев, в которых перикарионы окружают нейропилы и сгруппированы в местах выхода дополнительных нервов (вентральных и дорзальных корешков). Церебральная комиссура плероцеркоидов содержит нейроны, как это отмечено для псевдофиллид, тетрафилид и трипаноринх (Fairweather et al., 1990; Бисерова, 1991, 1997а; Halton et al., 1994; Бисерова, Сальникова, 2002). Дифференциация главных стволов связана с формированием компактного нейропиля, а так же с образованием связей многочисленных нейронов ГЛС с малыми продольными и кольцевыми комиссурами, т.е. формированием периферической системы, иннервирующей мускулатуру.

Анализ формирования нервной системы амфилинид

Строение нервной системы на стадии ликофоры

У зрелой подвижной ликофоры *A. foliacea* внутри яйца, методом выявления холинэстераз, найден поперечный нервный тяж, расположенный ближе к переднему концу среди железистых клеток (Дубинина, 1982).

В отличие от корацидиев цестод, ликофоры амфилинид содержат многочисленные сенсорные органы в первичных ресничных покровах. У свободноживущей личинки *A. elongata* ресничные рецепторы большей частью сосредоточены на переднем конце тела (Rohde et al., 1986). Из 9 типов рецепторов, только один встречается на заднем конце у места выворачивания крючьев и два других — по всему телу. Кроме того, у ликофоры *A. elongata* обнаружены папиллы с четырьмя булабовидными ресничками длиной менее 1

мкм на переднем конце тела. Они образуют две вентрально расположенные группы по 3–5 папилл в каждой.

Ликофора гирокотилид *Gyrocotyle urna* имеет крупный мозг с отчетливым нейропилем в центральной части и несколькими перикарионами на периферии (Xylander, 1987). Отростки нейропиля плотно упакованы, содержат митохондрии и везикулы 5 различных типов и формируют многочисленные синаптические контакты. По два нервных ствола диаметром 1.8 мкм выходят из мозга к переднему и к заднему концу тела. В ресничных покровах описаны 8 типов сенсорных образований, из них 6 типов ресничных и 3 типа безресничных рецепторов. Расположение рецепторных окончаний у личинок гирокотилид сходно с таковым амфилинид: на заднем конце в районе каудальной полости — места расположения личиночных крючьев, имеются рецепторы, что необходимо для обнаружения контакта с потенциальным хозяином.

Строение нервной системы личинки из первого промежуточного хозяина

В первом промежуточном хозяине (некоторые виды бокоплавов) нервные стволы становятся слабо различимы после формирования выделительной системы, на 20-й день. В последующие 20 дней нервная система, по мнению Дубининой, развивается окончательно: на переднем конце у основания хоботка имеется кольцевая комиссура с боковыми утолщениями, от которых вперед отходят нервные веточки, а назад 2 четко очерченных нервных ствола. В стволах насчитывается до 50 узелковых утолщений. Сзади стволы объединяются кольцевой комиссурой вокруг полости крючьев и семяизвергательного канала (Дубинина, 1982).

Строение нервной системы амфилинид на стадии второго хозяина

Попадая во второго хозяина — осетровых рыб, личинки *A. foliacea* попадают из желудка в протоки печени, проводят там значительный период времени и, только до-

стигая крупных размеров, выходят в полость тела. По мнению некоторых авторов, личинки, обитающие в печени осетров, условно соответствуют стадии плероцеркоида цестод (Porova, Davydov, 1988; Davydov, Kuregan, 1993), а в полости тела достигают половозрелого состояния, поскольку окончательный хозяин вымер. Различия в строении нервной системы личинок из печени и половозрелых особей касались морфологии церебральных ганглиев (Рис. 8), а так же расположения и плотности распределения сенсорных органов (Дудичева, Бисерова, 2000; Dudicheva, Biserova, 2000). Показано, что распределение чувствительных ресничек существенно различается у особей разных размеров и возраста. У ювенильных особей ресничные рецепторы сосредоточены на латеральных поверхностях и на переднем и заднем концах тела, где их плотность достигает 20 шт. на 1 мкм^2 . У половозрелых рецепторы встречаются редко и располагаются на гребнях ячеек относительно равномерно по всей поверхности тела. Сенсорные органы амфилинид представлены 13 типами рецепторов, среди них мультицилиарные образования, до сих пор не выявленные у цестод. Сенсиллы распределены на поверхности тела зонально, определенные типы приурочены к определенным участкам поверхности. Чувствительные нейроны обнаружены в субегменте хоботка и каудальной полости.

Церебральные ганглии личинок *A. foliaceae* расположены симметрично (хотя количество нейронов в них разное), церебральная комиссура проходит горизонтально, что объясняется расположением маточного отверстия строго под хоботковым, вентрально (Рис. 8С). У половозрелых особей расположение церебральных ганглиев асимметрично: левый ганглий расположен значительно ниже правого, что связано с выходом маточного отверстия слева от хоботка у взрослых *A. foliaceae*. При этом церебральная комиссура имеет диагональное положение (Рис. 8 А, В, D, E).

Асимметричное положение ганглиев относительно горизонтальной плоскости при-

водит к изменению формы левого ганглия, что было показано как ультраструктурными, так и иммуоцитохимическими исследованиями (Biserova et al., 2000).

Интересно отметить, что у особей из второго хозяина, ни у личиночных, ни у половозрелых, не обнаружены недифференцированные клетки в ЦНС. Это, возможно, свидетельствует о том, что формирование нервной системы амфилинид полностью заканчивается в беспозвоночном хозяине. В отличие от цестод, амфилины, по-видимому, не обладают постоянным источником недифференцированных клеток; после формирования половой системы они просто увеличиваются в линейных размерах до определенного уровня, а затем рост прекращается.

Ультраструктурная организация центральной и периферической нервной системы подробно исследована у половозрелых *A. foliaceae*. ЦНС представлена парой церебральных ганглиев, имеющих асимметричное положение, церебральной комиссурой и парой главных стволов, выходящих из ЦГ. ГЛС замыкаются каудальной комиссурой, имеют на всем протяжении ганглионарные утолщения и каудальные ганглии на заднем конце тела. Нейроны сконцентрированы в ЦГ, в ганглионарных утолщениях и в каудальных ганглиях, в состав которых входят гигантские серотонинергические нейроны. Из каудальных ганглиев выходят радиальные нервы, в которых большая часть волокон иммунореактивна к нейропептидам (GIYRFamide) (Biserova et al., 2000; Бисерова, 2004).

В отличие от цестод, церебральная комиссура не содержит нейронов, тогда как в каудальной обнаружено несколько нервных клеток. Недифференцированные элементы в ЦНС взрослых амфилинид отсутствуют, что существенно отличает их от взрослых цестод. Ганглии содержат несколько интегративных центров в виде центральных и краевых нейропилей, в составе которых обнаружены многочисленные синапсы различной структурной организации (Рис. 8G). Краевые нейропилы включают нейромышеч-

ные контакты и выполняют функцию двигательных центров.

ЦНС амфилинид более концентрирована по сравнению с цестодами, и обладает признаками метамерии, что находит свое отражение в расположении нейронов, ганглионарных утолщений и поперечных комиссур (Рис. 8).

Взаимоотношение нервной и выделительной систем и формирование оболочек ЦНС

Тесное взаимодействие нервной и выделительной систем, описанное для взрослых *T. nodulosus* (Бисерова, 1997а,б; Бисерова, Сальникова, 2002), выявлено нами и у личинок. Первичная выделительная система корация представлена двумя протонефридиальными клетками, которые в процессе метаморфоза дегенерируют. У процеркоида развивается вторичная выделительная система (Korneva et al., 1998).

По мере увеличения в размерах, на 3–4-е сутки развития процеркоида, начинается формирование выделительных канальцев, которые образуются интрацеллюлярно из тяжелой недифференцированных клеток. Появление внутриклеточных полостей обусловлено процессами аутофагии. Клетки, в цитоплазме которых проходят канальцы, постепенно подвергаются полному автолизу, превращаясь в сеть лакун, выполняющих функции экскреторной системы (Рис. 5, 6).

Эпителиальные стенки экскреторных сосудов формируются к восьмым суткам развития процеркоида на основе другой, второй популяции малодифференцированных клеток, мигрирующих в полость лакун и соединяющихся специализированными контактами. Эти клетки и формируют эпителиальные стенки definitivoной протонефридиальной системы. На внутренней поверхности протонефридиальных протоков постепенно формируются микроворсинки, а наружная поверхность образует отростки, которые накапливают в цитоплазме запасные

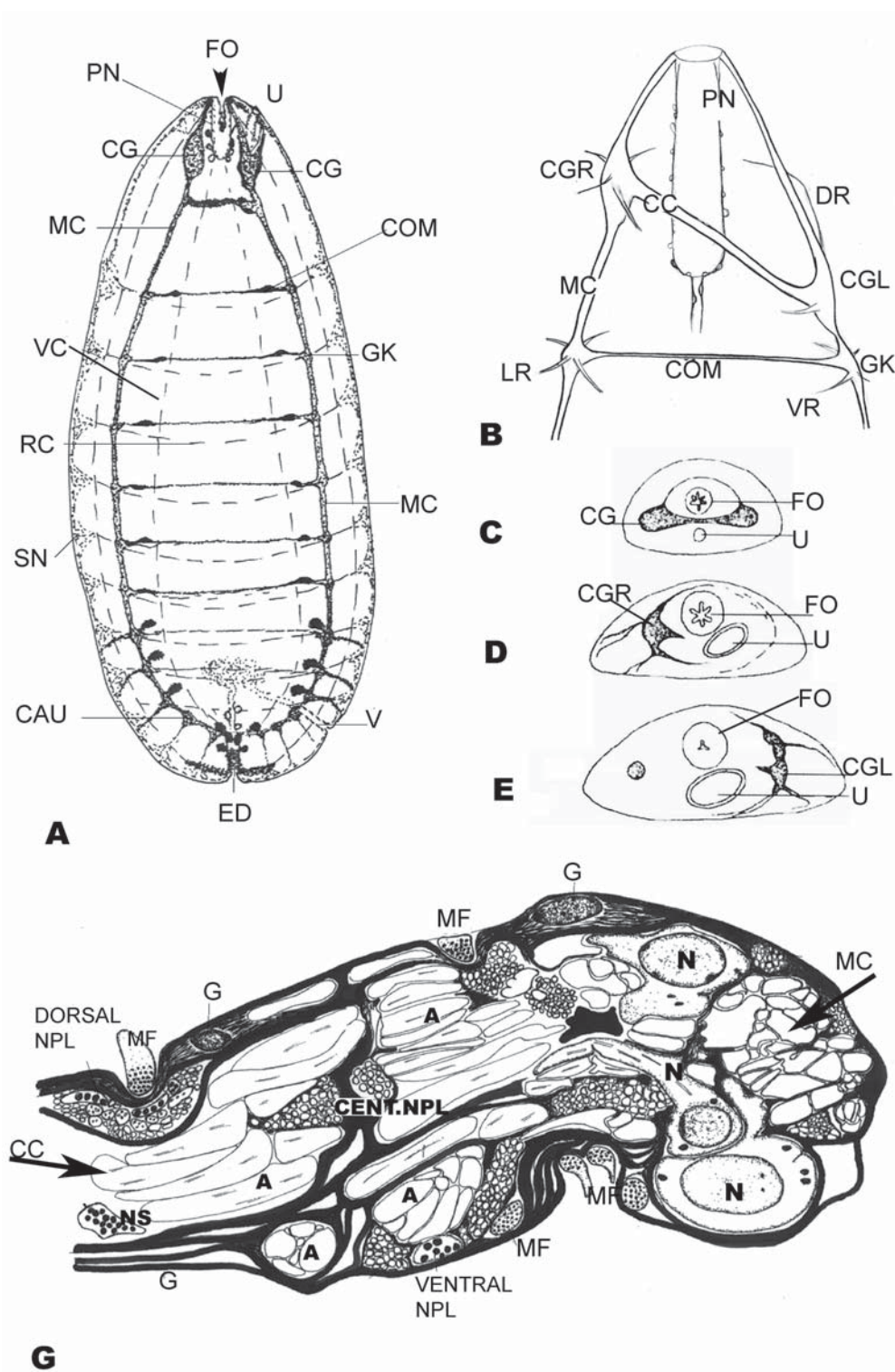
питательные вещества. Образование экскреторной системы начинается с переднего конца процеркоида и в различных участках тела протекает не одновременно.

Формирование нервной системы происходит с незначительным опережением, связанным с отсутствием дегенерации первичных нейронов онкосферы, но в целом параллельно с формированием вторичной выделительной системы.

К поверхности полости формирующегося экскреторного канала тесно прилегают компактные скопления нервных отростков, соответствующие главным стволам (Рис. 5С). Цитоплазматические отростки клеток, формирующих стенки экскреторных каналов, часто проникают в нервные пучки. У 8-дневного процеркоида нервный ствол расположен параллельно и в тесной связи с выделительным каналом. Однако на стадии процеркоида мы не наблюдали полноценной оболочки, окружающей нервные элементы формирующейся ЦНС.

На стадии раннего плероцеркоида отростки темных клеток стенок выделительных сосудов уже полностью окружают отдельные нервные пучки. Тонкие отростки повышенной электронной плотности, отходящие от стенок экскреторного сосуда, находятся в непосредственной близости с ГЛС; их связи с каналом легко прослеживаются. Отростки, формирующие оболочку, располагаются снаружи пучка нейритов, отделяя нервные элементы от других клеточных структур. Ядерные участки темных клеток располагаются снаружи тел нейронов. К поверхности отростков, формирующих оболочку, прилегают опорные фибриллы межклеточного матрикса. В сколексе и передней части тела плероцеркоида фибриллярный слой хорошо развит и образует второй слой оболочки церебрального ганглия и главных стволов, состоящий из опорных фибрилл межклеточного вещества.

Таким образом, у зрелого плероцеркоида *T. nodulosus* глиаподобная оболочка ЦНС полностью сформирована. Её функции выполняют клетки выделительных сосудов,



формирующие тонкие поверхностные выросты, которые ассоциированы с нервными элементами у процеркоида и полностью окружают нервные стволы и церебральные ганглии плероцеркоидов и взрослых червей.

Связь нервной системы с выделительной характерна для многих групп цестод (Webb, Davey, 1975; Давыдов, Бисерова, 1988; Поспехова и др., 1993), для амфилинид она также установлена (Бисерова, 1997б). У плероцеркоида *D. dendriticum* в тесной связи с выделительными каналами были обнаружены гистамин-позитивные клетки (Wikgren et al., 1990). Они расположены в наружном слое стенок каналов. Функция клеток неизвестна, возможно их воздействие на гладкую мускулатуру стенок сосудов или уча-

стие в процессах распределения и абсорбции питательных веществ.

Для цестод отмечен процесс субституции органов, примером которого является тегумент и экскреторная система (Куперман, 1988). Эпителий стенок экскреторных сосудов участвует в процессах вторичного всасывания питательных веществ (Webster, 1972; Виноградов и др., 1982; Lindroos, Gardberg, 1982). Таким образом, тесные взаимоотношения нервной и выделительной системы могут служить еще одним доказательством этого эволюционного процесса, в котором эпителий стенок выделительных сосудов, формируя оболочки ЦНС, выполняет опорные и трофические функции, свойственные глиям высших животных.

Рис. 8. Строение нервной системы ювенильных и взрослых *Amphilina foliacea*.

А — общий план строения нервной системы половозрелой амфилины по результатам иммуноцитохимических исследований (по: Бисерова et al., 2000): cau — иннервация каудальной полости; cg — церебральный ганглий; com — поперечная комиссура; ed — иннервация эякуляторного канала; fo — фронтальный орган; gk — ганглионарное утолщение; mc — главный нервный ствол; pn — хоботковый нерв; rc — кольцевая комиссура; sn — субтегументальный плексус; u — отверстие матки; v — нервы вагины; vc — вентральный ствол; В — расположение элементов ЦНС на переднем конце тела (по: Бисерова, 2004); показано асимметричное положение и форма правого (CGr) и левого церебральных ганглиев (CGl), церебральной комиссуры (cc), первая пара ганглионарных утолщений ГЛС (gk), соединенные медианной комиссурой (com), дорзальные (dr) и вентральные (vr) корешки, образующие кольцевую комиссуру, латеральные корешки (lr) и парный хоботковый нерв (pn); С–Е — расположение церебральных ганглиев и церебральной (центральной) комиссуры при поперечном сечении ювенильной особи (С) и половозрелой особи (D, E) (по: Бисерова et al., 2000); (обозначения те же, что на А, В); G — тонкая организация церебрального ганглия в поперечном сечении, прорисовка с серии ультратонких срезов; показано расположение нейронов (n), глиальных клеток (g), центральных нейропилей (cent.npl), вентральный и дорзальный двигательные нейропилы (npl); кластеры аксонов (A), идущих в церебральную комиссуру (cc) и ГЛС (mc); mf — миофибриллы в зоне двигательных нейропилей; ns — нейросекреторные отростки (по: Бисерова, 2004).

Fig. 8. Nerve system organization in juvenile and adult *Amphilina foliacea*.

A — a schematic drawing of the nervous system of adult *A. foliacea* based on the data of the 5-HT and GYIRFamide immunoreactivity: cau — caudal cavity innervation; cg — cerebral ganglion; com- transverse commissure; ed — ejaculatory duct' nerve; fo — frontal organ; gk — ganglionic knot; mc — main nerve cord; pn — proboscis' nerve; rc — ring commissure; sn — subtegumental nerve net; u — opening of uterus; v — vaginal nerve; vc — ventral cord (after: Biserova et al., 2000); B — a schematic drawing of the adult CNS in the anterior part of body showing left and right cerebral ganglion (CGl; CGr), cerebral commissure (cc), first pair of ganglionic knots (gk) of the main cords (mc) connected by the median commissure (com) and dorsal and ventral roots (dr; vr) formed ring commissures (rc) and lateral roots (lr), and also pair proboscis nerve(pn); (after: Biserova, 2004); C–E — the development of the brain in *A. foliacea*: C — cross section diagram showing the anterior end of a young worm with two cerebral ganglia of equal size and the connecting median commissure running between the frontal organ and uterus; D, E — diagrams of the asymmetrical CNS in adult worm; D — transverse section through the anterior part of the brain; the right CG is larger than the left; the median cerebral commissure is squeezed between the frontal organ and uterus; E — transverse section through the posterior part of the brain; the left CG is larger than the right (after: Biserova et al., 2000); (abbreviations are the same as in A, B); G — a schematic drawing of the cerebral ganglion ultrastructural organization in *A. foliacea* showing neurons (n), glial cells (g), central neuropiles (centr.npl) and also ventral and dorsal motor neuropiles (npl); axons clusters (A) going to the cerebral commissure (cc) and to the main cord (mc) (after: Biserova, 2004).

Заключение

Этапы формирования нервной системы цестод и амфилинид имеют определенные отличия, наиболее ярко выраженные на первой и последней стадиях развития.

Корацидии (или онкосферы) цестод не имеют интегрированной нервной системы, а представлены отдельными нервными элементами, синаптические контакты между которыми отсутствуют. На примере псевдофиллид прослежено, что нейроны онкосферы образуют только нейромышечные контакты, но не имеют аксосоматических или аксо-аксональных синапсов, что согласуется с данными других авторов по циклофиллидам. В противоположность корацидиям цестод, ликофоры амфилинид и гирокотилид имеют развитый сенсорный аппарат и основные элементы ЦНС: нейропиль, церебральный ганглий, главные стволы. Суть этих различий кроется в различной стратегии поведения свободноплавающих личинок цестод и амфилинид. Корацидии пассивны и являются пищевым объектом для циклопов, в то время как ликофоры активно ищут своих хозяев, самостоятельно проникая под кутикулу.

Основные процессы дифференцировки и интеграции нервной системы цестод, закладка церебральных ганглиев и парных стволов происходит на первой паразитической стадии процеркоида с участием транзиторных нейронов онкосферы. На этой стадии формируются основные элементы ЦНС сколекса: церебральная комиссура, парный церебральный ганглий и главные стволы. Недифференцированные клетки располагаются по пути следования зрелых отростков пионерных и транзиторных нейронов предыдущей стадии развития (онкосферы), которые маркируют пути для формирования ЦНС процеркоида. Цитодифференцировка уни- и биполярных нейронов существенно отличается от таковой мультиполярных. Формирование нервной системы опережает формирование вторичной выделительной системы, что связано с отсутствием дегенера-

ции первичных нейронов онкосферы.

На стадии плероцеркоида происходит формирование периферической нервной системы, наращивание объема ЦНС и окончательная дифференциация центральной и периферической системы. Степень развития ЦНС плероцеркоидов цестод прямо связана со степенью подвижности личинки и зрелости ее прикрепительного аппарата. Характерной особенностью ЦНС плероцеркоидов является наличие сформированных церебральных ганглиев.

У взрослых цестод рост главных стволов и формирование элементов, иннервирующих половые органы, продолжается за счет недифференцированных клеток из состава популяции стволовых клеток шейки.

В нервной системе ювенильных и половозрелых *A. foliaceae* недифференцированных элементов не обнаружено, что является существенным отличием в развитии ЦНС и связано с отсутствием стробилизации и постоянного роста у амфилинид.

Нервная система взрослых амфилинид более концентрирована, обладает элементами метамерии, отличается от цестод асимметричным расположением церебральных ганглиев.

Благодарности

Авторы выражают искреннюю благодарность коллегам из АБО-Академии (г. Турку, Финляндия) профессорам Марии Ройтер и Маргарете Густафссон, которые обеспечили возможность иммуно-цитохимических исследований нервной системы червей. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 06-04-48667 и частично поддержана Prof. Boris Kuperman Memorial Grant 2006.

Литература

- Бисерова Н.М. 1991. Распределение рецепторных образований и особенности ультратонкого строения нервной системы у представителей трех отрядов низших цестод // Журнал общей биологии. Т.52. No.4. С.551–563.

- Бисерова Н.М. 1997а. Строение нервной системы сколекса *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda, Pseudophyllidea) // Паразитология. Т.31. No.3. С.249–260.
- Бисерова Н.М. 1997б. Ультраструктурные аспекты взаимоотношений нервной, мышечной и выделительной систем у цестод и амфилинид // А.Ф. Алимов (ред.). Экологический мониторинг паразитов. СПб.: ЗИН РАН. С.138–140.
- Бисерова Н.М. 2004. Нервная система цестод и амфилинид. Автореф. дис. ... д. биол. наук. МГУ им. Ломоносова. 48 с.
- Бисерова Н.М., Корнева Ж.В. 1999. Сенсорный аппарат и особенности формирования нервной системы *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda) в онтогенезе // Паразитология. Т.33. No.1. С.39–48.
- Бисерова Н.М., Сальникова М.М. 2002. Ультратонкое строение главных латеральных нервных стволов и сопутствующих элементов *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda: Pseudophyllidea) // Цитология. Т.44. No.7. С.610–619.
- Быховский Б.Е. 1937. Онтогенез и филогенетические взаимоотношения плоских паразитических червей // Известия АН СССР. Т.4. С.1353–1383.
- Виноградов Г.А., Давыдов В.Г., Куперман Б.И. 1982. Морфо-физиологические особенности водно-солевого обмена у некоторых псевдофиллидных цестод // Паразитология. Т.16. No.3. С.188–193.
- Давыдов В.Г., Бисерова Н.М. 1988. Особенности ультраструктуры нервной системы *Gastrotaenia dogieli* (Cestoda, Hymenolipidae) // Д.А. Сахаров (ред.). Простые нервные системы. Л.: Наука. С.23–26.
- Дубинина М.Н. 1974. Развитие *Amphilina foliacea* (Rud.) на всех фазах жизненного цикла и положение *Amphilina* в системе плоских червей // Паразитологический сборник ЗИН АН СССР. Т.24. С.9–38.
- Дубинина М.Н. 1982. Паразитические черви класса *Amphilinida* (Plathelminthes). Л. 100 с.
- Дудичева В.А., Бисерова Н.М. 2000. Распределение сенсорных образований на поверхности тела взрослой *Amphilina foliacea* (Plathelminthes, Amphilinida) // Зоологический журнал. Т.79. No.10. С.1139–1146.
- Корнева Ж.В. 1994. Клеточный состав и ультраструктурная организация корацидия *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda, Pseudophyllidea) // Паразитология. Т. 28. No.4. С.276–282.
- Корнева Ж.В. 1998. Паренхимная организация процеркоида *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda: Pseudophyllidea) // А.К. Галкин, Е.В. Дубинина (ред.). Проблемы цестодологии. СПб. С.59–68.
- Корнева Ж.В., Бисерова Н.М. 2005. Морфофункциональные преобразования гладкой мускулатуры цестод в прикрепительных и копулятивных аппаратах // Успехи современной биологии. Т.125. No.3. С.318–327.
- Котикова Е.А., Куперман Б.И. 1977. Развитие нервного аппарата *Triaenophorus nodulosus* (Cestoidea, Pseudophyllidea) в онтогенезе // Паразитология. Т.11. No.3. С.252–259.
- Котикова Е.А., Куперман Б.И. 1978а. Анатомия нервного аппарата цестод семейства *Amphicotyliidae* и *Diphyllobothriidae* (Pseudophyllidea) // Паразитология. Т.12. No.3. С.210–217.
- Куперман Б.И. 1973. Ленточные черви рода *Triaenophorus* — паразиты рыб. Экспериментальная систематика, экология. Л. 208 с.
- Куперман Б.И. 1988. Функциональная морфология низших цестод. Л. 168 с.
- Поспехова Н.А., Краснощеков Г.П., Поспехов В.В. 1993. Протонефридальная система сколекса циклофиллидей // Паразитология. Т.27. No.1. С.48–53.
- Яницкий К.С. 1928. Цикл развития паразита стерляди *Amphilina foliacea* G.Wagen, по наблюдениям и экспериментам // Работы Волжской биологической станции. Т.10. С.97–134.
- Biserova N.M., Gustafsson M.K.S., Reuter M., Terenina N.B. 1996. The nervous system of the pike-tapeworm *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda: Pseudophyllidea) — ultrastructure and immunocytochemical mapping aminergic and peptidergic elements // Invertebrate Biology. Vol.115. No.4. P.273–285.
- Biserova N.M., Dudicheva V.A., Terenina N.B., Reuter M., Halton D.W., Maule A.G., Johnston R., Gustafsson M.K.S. 2000. The nervous system of *Amphilina foliacea* (Platyhelminthes, Amphilinidea). An immunocytochemical, ultrastructural and spectrofluorometric study // Parasitology. Vol.121. P.441–453.
- Davydov V.G., Kuperman B.I. 1993. The ultrastructure of the tegument and the peculiarities of the biology of *Amphilina foliacea* adult (Plathelminthes, Amphilinidea) // Folia Parasitologica. Vol.40. P.13–22.
- Dudicheva V.A., Biserova N. M. 2000. Sensory organs of adult *Amphilina foliacea* (Amphilinida) // Acta Biologica Hungarica. Vol.51. No.2–4. P.433–437.
- Ehlers U. 1984. Phylogenetisches System der Plathelminthes // Verhandlungen des Naturwissenschaftlichen Vereins Hamburg. Vol.27. S.291–294.
- Fairweather I., Mahendrasingam S., Johnston C.F., Halton D.W., McCullough J.S., Shaw C. 1990. An ontogenetic study of the cholinergic and serotonergic nervous systems in *Trilocularia acanthiaevulgaris* (Cestoda, Tetracyphillidea) // Parasitology Research. Vol.76. P. 487–496.
- Fairweather I., Threadgold L.T. 1981. *Hymenolepis nana*: the fine structure of the penetration gland and nerve cells within the oncosphere // Parasitology. Vol.82. No.3. P.445–458.
- Gustafsson M.K.S., Eriksson K. 1991. Localization and identification of catecholamines in the nervous system of *Diphyllobothrium dendriticum* (Cestoda) // Parasitology Research. Vol.77. P.498–502.
- Gustafsson M.K.S., Wikgren M.C., Karhi T.J., Schot L.P.C. 1985. Immunocytochemical demonstration of neuropeptides and serotonin in the tapeworm *Diphyllobothrium dendriticum* // Cell and Tissue Research. Vol.40. No.2. P.255–260.
- Halton D.W., Maule A.G., Brennan G.P., Shaw C., Stoitsova S.R., Johnston C.F. 1994. *Grillotia erinaceus* (Ces-

- toda, Trypanorhyncha): Localisation of Neuroactive Substances in the Plerocercoid, Using Confocal and Electron-Microscopic Immunocytochemistry // Experimental Parasitology. Vol.79. P.410–423.
- Hartenstein V, Jones M. 2003. The embryonic development of the bodywall and nervous system of the cestode flatworm *Hymenolepis diminuta* // Cell Tissue Research. Vol.311. No.3. P.427–435.
- Korneva J.V., Kuperman B.I., Davydov V.G. 1998. Ultrastructural investigation of the secondary excretory system in different stages of the proceroid of *Tri- aenophorus nodulosus* (Cestoda, Pseudophyllidea) // Parasitology. Vol.116. P.373–381.
- Lindroos P., Gardberg T. 1982. The excretory system of *Diphylobothrium dendriticum* (Nitzsch 1824) plerocercoids as revealed by an injection technique // Zeitschrift für Parasitenkunde. Bd.67. S.289–297.
- Popova L.B., Davydov V.G. 1988. Studies of localization of *Amphilina foliacea* (Amphilinidae Dubinina, 1974) in definitive hosts // Helminthologia. Vol.25. P.129–138.
- Rasin K. 1931. Beiträge zur postembryonalen Entwicklung der *Amphilina foliacea* (Rud.), nebst einer Bemerkung über die Laboratoriumskultur von *Gammarus pulex* (L.) // Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie. Bd.138. S.555–579.
- Rohde K., Georgi M. 1983. Structure and development of the larva of *Austramphilina elongata* Johnston, 1931 (Cestodaria, Amphilinidea) // International Journal for Parasitology. Vol.13. P.273–287.
- Rohde K., Garlick P.R. 1985a. Two ciliate sense in the larva of *Austramphilina elongata* Johnston, 1931 (Amphilinidea) // Zoomorphology. Vol.105. P.30–33.
- Rohde K., Garlick P.R. 1985b. Subsurface sense receptors in the larva of *Austramphilina elongata* Johnston, 1931 (Amphilinidea) // Zoomorphology. Vol.105. P.34–38.
- Rohde K., Garlick P.R. 1985c. Ultrastructure of the Posterior sense receptor of larval *Austramphilina elongata* (Amphilinidea) // International Journal for Parasitology. Vol.15. No.4. P.399–402.
- Rohde K., Watson N., Garlick P.R. 1986. Ultrastructure of three of sense receptors of larval *Austramphilina elongata* (Amphilinidea) // International Journal for Parasitology. Vol.16. No.3. P.245–251.
- Rohde K., Watson N. 1989. Ultrastructural studies of larval and juvenile *Austramphilina elongata* (Platyhelminthes, Amphilinidea); penetration into, and early development in the intermediate host, *Cherax destructor* // International Journal for Parasitology. Vol.19. No.5. P.529–538.
- Rohde K., Watson N. 1990. Ultrastructural studies of juvenile *Austramphilina elongata*: transmission electron microscopy of sensory receptors // Parasitology Research. Vol.76. No.4. P.336–342.
- Swiderski Z. 1983. *Echinococcus granulosus*: hook-muscle systems and cellular organization of infective oncospheres // International Journal for Parasitology. Vol.13. No.3. P.289–299.
- Swiderski Z., Tkach V. 1997. Ultrastructural studies on the cellular organization of the oncospheres of the nematode cestode, *Nematotenia dispar* (Goeze, 1782) // Acta Parasitologica. Vol.42. No.3. P.158–167.
- Swiderski Z., Tkach V. 2002. Ultrastructure of embryonic development of *Inermicapsifer madagascariensis* (Cestoda, Anoplocephalidae) with emphasis on the cellular organization of infective eggs // Acta Parasitologica. Vol.47. No.2. P.105–120.
- Webb R.A., Davey K.G. 1975. The gross anatomy and histology of the nervous system of the metacestode of *Hymenolepis microstoma* // Canadian Journal of Zoology. Vol.53. No.5. P.661–677.
- Webster L.A. 1972. Absorption of glucose, lactate and urea from the protonephridial canals of *Hymenolepis diminuta* // Comparative Biochemistry and Physiology. Vol.41. No.4. P.861–868.
- Wikgren M.C. 1986. The nervous system of early larval stages of the cestode *Diphylobothrium dendriticum* // Acta Zoologica. Vol.67. No.3. P.155–163.
- Wikgren M., Reuter M., Gustafsson M.K.S., Lindroos P. 1990. Immunocytochemical localization of histamine in flatworms // Cell Tissue Research. Vol.260. P.479–484.
- Xylander W.E.R. 1987. Ultrastructure of the lycophora larva of *Gyrocotyle urna* (Cestoda, Gyrocotylidae). II. Receptors and nervous system // Zoologischer Anzeiger. Vol.219. No.3–4. P.239–255.