

УДК 579:58:616.995.122

ББК 28.03:28.06:28.4

Н 365

## ***ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КОМБИНАТИВНОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ У ТРЕМАТОД***

***Начева Л.В.***

*доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биологии с  
основами генетики и паразитологии*

*ФГБОУ ВО Кемеровский государственный медицинский университет*

*Минздрава России,*

*Россия, г. Кемерово.*

***Додонов М.В.***

*кандидат биологических наук, доцент кафедры морфологии и судебной  
медицины*

*ФГБОУ ВО Кемеровский государственный медицинский университет*

*Минздрава России,*

*Россия, г. Кемерово.*

***Гребеничиков В.М.***

*кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии с основами генетики  
и паразитологии*

*ФГБОУ ВО Кемеровский государственный медицинский университет*

*Минздрава России,*

*Россия, г. Кемерово.*

**Аннотация:** в статье описаны результаты цитогенетических исследований комбинативной изменчивости у трематод – возбудителей паразитарных заболеваний человека и животных; особенности гистологической цитоархитектоники процессов гаметогенеза, обеспечивающие рекомбинацию

наследственного материала трематод из поколения в поколение; исследования проведены с помощью гистологических методов; материалом для изучения служили трематоды разных видов: *Fasciola hepatica*, *Fasciola gigantica*, *Opisthorchis felinus*, *Clonorchis sinensis*, *Paragonimus westermani*;

**Ключевые слова:** рекомбинация, мейоз, трематоды, сперматогенез, овогенез, оплодотворение, комбинативная изменчивость.

### ***CYTOGENETIC STUDIES OF COMBINATIVE VARIABILITY IN TREMATODES***

***Natcheva L. V.***

*doctor of biological Sciences, Professor, head of the Department of biology with the basics of genetics and Parasitology,*

*Kemerovo state medical University of the Ministry of health of Russia,*

*Kemerovo, Russia.*

***Dodonov M. V.***

*candidate of biological Sciences, associate Professor of the Department of morphology and forensic medicine,*

*Kemerovo state medical University, Ministry of health of Russia,*

*Kemerovo, Russia.*

***Grebenshchikov V. M.***

*candidate of biological Sciences, associate Professor of the Department of biology with the basics of genetics and Parasitology,*

*Kemerovo state medical University of the Ministry of health of Russia,*

*Kemerovo, Russia.*

**Abstract:** the article describes the results of cytogenetic studies of combinative variability in Trematodes – pathogens of parasitic diseases of humans and animals; features of histological cytoarchitectonics of gametogenesis processes that ensure recombination of hereditary material of Trematodes from generation to generation;

studies were carried out using histological methods; the material for study was Trematodes of different species: *Fasciola hepatica*, *Fasciola gigantica*, *Opisthorchis felineus*, *Clonorchis sinensis*, *Paragonimus westermani*;

**Key words:** recombination, meiosis, trematodes, spermatogenesis, ovogenesis, fertilization, combinative variability.

**Введение.** В типе *Plathelminthes* существует большое число видов, но, несмотря на это, микроморфологические, гистохимические и цитогенетические исследования органов и тканей проводились только на некоторых из двух паразитических классов – *Trematoda* и *Cestoidea* [6]. В научной литературе встречаются работы в основном по строению половой системы, гаметогенезу и половым клеткам у трематод, цестод и нематод, паразитирующих у разных классов теплокровных животных, включая и холоднокровных животных – рыб. В целом вопросы сперматогенеза и овогенеза изучали у беспозвоночных и позвоночных животных [1], и в этом плане были оригинальные исследования, касающиеся некоторых структур половых желез, например, клеток Сертоли [6]. Наибольший научно-практический интерес, представляют трематоды – возбудители паразитарных заболеваний человека, но вопросы механизмов сперматогенеза и овогенеза у разных трематод в сравнительном аспекте, с учётом их биологического значения для паразитических представителей, а также основы комбинативной изменчивости, не рассматривались.

Но именно в процессе изучения микроморфологии и гистохимии органов и тканей половой системы трематод, было выявлено, что у этих паразитов гаметогенезы имеют специфические особенности [5], которые следует учитывать при установлении эффективности действия антигельминтиков, их влияния на развитие половых клеток и генетический аппарат [2].

Изучение комбинативной изменчивости у трематод является актуальным вопросом, потому что может раскрыть механизмы клеточных реакций при трематодозах и гельминтозах в целом [4], понять их молекулярно-генетическую

основу. Знания о механизмах генетического обновления возбудителей трематодозов человека могут способствовать в поиске новых более эффективных схем лечения, с использованием новых форм антигельминтных препаратов [2], что имеет большое значение для здравоохранения. Изменчивость трематод так же интересна для понимания генетической восприимчивости к гельминтозам у человека [3].

**Материалы и методы.** Материалом для цитогенетического изучения служили трематоды: а) трематоды, паразитирующие в желчных протоках печени и животных: *Fasciola hepatica*, *Fasciola gigantica*, *Opisthorchis felineus*, *Clonorchis sinensis*; б) трематоды, паразитирующие в легких человека и животных - *Paragonimus westermani*. Трематоды были получены при вскрытии спонтанно зараженных животных. Половозрелые особи трематод фиксировали в 10% нейтральном формалине, спирт-формалине по Шафферу 9:1, в жидкости Карнуа. Обработка проводилась по гистологической методике. Материал заливали в парафин с добавлением 1/9 воска. Срезы, толщиной 5-6 мкм, помещали на обезжиренные предметные стекла и проводили окрашивание с использованием гистологических методов окраски: гематоксилином Караци-эозином, азур-эозином по Романовскому-Гимза, галлоцианином, по Маллори и методу Селье. Было изготовлено 1000 гистологических микропрепаратов (по 200 на каждый вид трематод), из них отобрано по 100 препаратов; изучали в световом микроскопе и делали микрофотосъемку.

**Результаты и обсуждение.** Цитогенетические исследования показали, что для трематод характерен симультанный гермафродитизм. Но важно учитывать ведущая роль для бесчисленного множества рекомбинаций происходит за счет процессов созревания сперматозоидов, так как именно этими клетками происходит обмен между паразитами. В организме definitivoного хозяина трематоды достигают половозрелой зрелости, то есть у каждой особи формируется и женская, и мужская половая система.

В оплодотворении участвуют две мариты трематод – особи, которые, спариваясь, оплодотворяют друг друга перекрёстным способом. При этом сперматозоиды из одной особи перетекают к другой, собираясь в семяприемнике. В результате этого генетический материал каждой трематоды обновляется только за счёт мужских половых клеток. Но перед спариванием происходят в каждой особи главные процессы, которые составляют базу комбинативной изменчивости. В хорошо развитых половых железах трематод протекает гаметогенез: двух типов: сперматогенез и овогенез соответственно. Мы изучали цитоархитектонику этих процессов на гистологической серии половых желёз и описали подробно сперматогенез и овогенез у трематод.

Цитогенетическую основу сперматогенеза и овогенеза составляют два вида деления: митоз и мейоз. Первый вид из них – митоз, обеспечивает увеличение количества генерации незрелых половых клеток в семенниках – сперматогониев или в яичниках – овогониев с сохранением наследственных данных и диплоидности. Первые примордиальные клетки контактируют с фиброзной стенкой гонад, далее следуют первичные, вторичные и третичные сперматогонии (или овогонии), образующиеся в результате трех митотических деления. Эти клетки имеют ДНК (2с), одинаковую округлую форму с четким базофильным ядром, отличаются между собой незначительно размерами, начиная с 4-5мкм до 6-7мкм. Исходя из изучения гистологических препаратов по цитоархитектонике половых желез трематод, в соответствующей гонаде сперматогонии и овогонии располагаются пристеночно, образуя в результате пролиферации зону размножения, которая соответствует периоду размножения процесса гаметогенеза. Второй вид деления – мейоз, протекающий в каждой половой железе (мужской и женской) самостоятельно. Он начинается с момента перехода третичных сперматогоний (или овогоний) в зону роста, превращаясь в сперматоцит 1 порядка (или овоцит 1 порядка). В процессе роста эти клетки увеличиваются в размерах, что соответствует периоду интерфазы 1 первого мейотического редукционного деления (мейоз 1). Увеличение

Дневник науки | [www.dnevniknauki.ru](http://www.dnevniknauki.ru) | СМН Эл № ФС 77-68405 ISSN 2541-8327

размеров наблюдается за счет удвоение количества ДНК (4с), что четко видно при окраске галлоцианином. Далее цитогенетические преобразования происходят в стадиях самого мейоза (мейоза 1 и мейоза 2), что уже соответствуют зоне созревания. Это наблюдается и в мужских и женских половых железах одной и той же особи трематоды. Итак, после подготовки к мейозу 1, мы наблюдаем цитоархитектонику зоны созревания. Мейоз 1 начинается с профазы 1. Сперматоциты 1 порядка, которые приобрели более крупные размеры, перемещаются в эту зону, и начинается процесс профазных преобразований. Первоначально ядро сперматоцита 1 в профазе мейоза 1 имеет вид «пуфа» (раздутости). Профаза является своего рода кульминацией комбинаций генетического материала, в ней выделяется пять стадий: лептотена, зиготена, пахитена, диплотена и диакинез. В этих стадиях мы наблюдали самые важные процессы: сближение гомологичных хромосом – синапсис, сплетение - конъюгация хромосом и перекрест некоторых локусов между этими гомологичными хромосомами – кроссинговер. Конъюгирующие хромосомы представляют собой биваленты, в каждом из них мы наблюдали образование двух сестринских хроматид, и за счёт этого два бивалента из 2-х хроматид называют тетрадой, которые не расходятся. На этой стадии их называют сперматоциты 2-го порядка.

Цитогенетические исследования позволяют нам констатировать, что у трематод, как при овогенезе, так и при сперматогенезе происходит рекомбинация генетического материала именно в профазе 1 редукционного мейотического деления, в результате которого образуются биваленты (тетрады) – сперматоциты 2-го порядка. Второе эквационное деление (мейоз 2) начинается без интерфазы и предназначено для расхождения бивалентов с образованием гаплоидных клеток. При сперматогенезе 2-а бивалента мейоза 1 – сперматоцита 2-го порядка, которые остаются соединёнными цитоплазматическими мостиками, дают по две новых клетки после мейоза 2, и в итоге образуется 4-е гаплоидных клетки с ДНК (1с) с комбинированной

Дневник науки | [www.dnevniknauki.ru](http://www.dnevniknauki.ru) | СМИ Эл № ФС 77-68405 ISSN 2541-8327

генетической информацией. При сперматогенезе – эти клетки называются сперматиды, но они ещё не считаются зрелыми клетками, так как не прошли стадию формирования, в результате которой они приобретают нужные формы сперматозоидов, включая жгутик для активного движения. Эти клетки мы наблюдали в центральной зоне гонады. В овогенезе образуется одна генетически обновлённая клетка за счет рекомбинации в мейозе, и три направительных тельца, об их роли следует писать отдельно, они не влияют на комбинативную изменчивость напрямую. Следует отметить, что в сперматогенезе и овогенезе каждой особи трематод, происходит рекомбинация генетического материала между двумя гомологичными хромосомами, и каждая образующаяся гамета получает новый набор генов, что делает половые клетки уникальными по геному.

При спаривании 2-х трематод, в каждую из мариты трематод проникают сперматозоиды от противоположной особи, которые накапливаются в семяприемнике. Таким образом, трематоды меняются только сперматозоидами и тем самым обновляют свой генетический состав. После этого внутри каждой особи начинается второй важный этап – оплодотворение, которое состоит в том, чтобы сперматозоиды партнера оплодотворили ооцит 1 порядка. В результате в оотипе, начальном отделе матки гельминта, за счёт стимуляции сперматозоидом происходит **мейоз 1 и 2 в овогенезе** и образуется яйцеклетка, затем только происходит слияние их ядер с образованием синкариона. В этом процессе так же происходит обновление генетической информации, но новые гены поступают от партнера со сперматозоидами противоположной особи и сливаются с генетически рекомбинированной «своей» яйцеклеткой, хромосомы клеток от двух особей взаимодействуют друг с другом, за счет чего комбинативная изменчивость усиливается, образуются особи с изменённым набором генов.

**Вывод.** Цитогенетические исследования показали, что основу комбинативной изменчивости у трематод составляют процессы гаметогенеза и Дневник науки | [www.dnevniknauki.ru](http://www.dnevniknauki.ru) | СМИ Эл № ФС 77-68405 ISSN 2541-8327

перекрестного оплодотворения паразитов, в результате чего происходит многократное обновление их генов и образование уникальных геномов, обеспечивающих процветание паразитических видов – возбудителей трематодозов человека.

### **Библиографический список**

1. Бурнашева, С.А. Современные проблемы сперматогенеза / С.А. Бурнашева, Н. С. Габаева, Л.В.Данилова и др. - М: Наука, 1982. 250с.
2. Бибик О. И. Антигельминтики, эффективность их действия на органы и ткани *Opisthorchis felineus* (гистологические и гистохимические исследования) / Л.В. Начева, О.И. Бибик, В. М. Гребенщиков. - Кемерово, 2000. 93 с.
3. Кутихин, А.Г. Генетика восприимчивости к гельминтозам у человека // Л.В. Начева, А.Г. Кутихин // Российский паразитологический журнал. -2016. Т. 37. Вып. 3. С. 296-303.
4. Литягина, А.В. Клеточные реакции при гельминтозах / Л.В. Начева, А.В. Литягина // Российский паразитологический журнал. 2012. №3. С.80-84.
5. Гребенщиков, В.М. Микроморфология и гистохимия половой системы трематод и гаметогенеза трематод в норме и при действии антигельминтиков / В.М. Гребенщиков, Л.В. Начева. - Изд-во: КемГМА – РАЕ. Кемерово, 2008. 118с.
6. Рузен-Ранге, Э. Сперматогенез у животных. - М., 1980. 225с.

*Оригинальность 77%*