

УДК 577.24

## МИТОХОНДРИИ С ХАРАКТЕРНОЙ ДЛЯ ЭНЕРГОЕМКИХ ПРОЦЕССОВ КЛЕТКИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИЕЙ В КОСО-ИСЧЕРЧЕННОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ *Gordionus alpestris* (Nematomorpha, Gordioidea)

© 2019 В.Б. Вайс<sup>1</sup>, И.М. Вангели<sup>1</sup>, Ч.М. Эльдаров<sup>1</sup>,  
Б.Д. Ефейкин<sup>2</sup>, Л.Е. Бакеева<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского,  
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,  
119992 Москва, Россия; электронная почта: bakееva@belozersky.msu.ru

<sup>2</sup> Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН,  
119071 Москва, Россия

Поступила в редакцию 11.07.18

После доработки 05.09.18

Принята к публикации 05.09.18

Исследована ультраструктура митохондриального аппарата косо-исчерченной мышечной ткани (тип flattened circomyarian) представителя круглых червей (Nemathelminthes) – волосатика (*Gordionus alpestris*). Показано, что митохондрии косо-исчерченной мышечной ткани волосатика – это протяженные гигантские органеллы, плотно заполняющие центральное цитоплазматическое пространство лентообразных мышечных волокон. Принципиальных различий в ультраструктуре митохондриального аппарата мышечной ткани у исследованных активно двигающихся свободноживущих и паразитарных форм обнаружено не было. Возможное функциональное значение выявленной ультраструктурной организации митохондриального аппарата мышечной ткани волосатика обсуждается в связи с представлениями о функциональной необходимости протяженной митохондриальной мембранной системы для равномерного обеспечения энергией активно работающей мышечной ткани.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** митохондрии, косо-исчерченная мышечная ткань, ультраструктура.

**DOI:** 10.1134/S0320972519010123

Митохондриальный аппарат мышечной ткани – это специализированная мембранная система, ответственная за энергообеспечение чрезвычайно энергоемкого и одновременно синхронного процесса – сокращения мышечных клеток.

Основываясь на структуре сократительного аппарата, различают гладкую мышечную ткань, поперечно-исчерченную скелетную мышечную ткань, поперечно-исчерченную сердечную мышечную ткань и косо-исчерченную мышечную ткань. Косо-исчерченная мышечная ткань встречается у аннелид, приапид и нематод и составляет основную часть туловищной мускулатуры. Для каждой из первых трех видов мышечной ткани установлен и общепринят характерный тип организации митохондриального аппарата.

Структурная организация хондриома скелетной и сердечной мышц существенно различается. Так, митохондриальный аппарат скелетной мышцы представляет собой сложно органи-

зованную систему, образованную правильно чередующимися и соединенными между собой слоями сильно разветвленных гигантских митохондрий, расположенных у каждой Z-линии, т.е. основная масса митохондрий ориентирована главным образом поперек мышечного волокна [1, 2]. Хондриом сердечной мышцы состоит из многочисленных, равномерно распределенных по клетке митохондрий (за исключением скоплений на полюсах ядра), имеющих неразветвленную форму, но объединенных в единые митохондриальные слои или пласты, идущие параллельно миофибриллам и образующие как бы футляр или митохондриальную оболочку вокруг пучков миофибрилл [3, 4]. Очевидно, что значительные различия в строении митохондриального аппарата скелетной и сердечной мышц обусловлены особенностями функционирования этих тканей.

Для гладкой мышечной ткани детальные исследования особенностей ультраструктурной организации митохондриального аппарата отсутствуют. Согласно существующим представле-

\* Адресат для корреспонденции.

ниям, митохондрии гладких мышечных клеток как позвоночных, так и беспозвоночных животных представляют собой мелкие одиночные органеллы, расположенные главным образом у полюсов ядра [5]. Основной функцией гладких мышечных клеток является поддержание тонуса и регулирование величины просвета трубчатых структур. В то же время хорошо известно, что у позвоночных животных существуют два типа мышечных клеток, в зависимости от принадлежности к стенкам определенных внутренних органов или кровеносных сосудов, различающиеся по интенсивности сокращения. Сведений об особенностях ультраструктуры митохондриального аппарата этих гладкомышечных тканей нет. У беспозвоночных животных посредством гладких мышечных клеток могут осуществляться различные виды двигательной активности. Так, ранее нами было показано, что у *Lymnaea stagnalis* клетки горизонтальной мышечной системы подошвы, обеспечивающие слитное движение при ползании моллюска, отличаются необычной для гладкомышечной ткани организацией митохондриального аппарата. Митохондриальный аппарат этой гладкой мышцы состоит из неразветвленных гигантских митохондрий, состыкованных последовательно «конец в конец» в единую митохондриальную цепь, единый митохондриальный кабель [6]. Очевидно, что такой принцип структурной организации гладкомышечных клеток определяется необходимостью интенсивного быстрого сокращения. Эти данные свидетельствуют в пользу того, что особенности строения митохондриального аппарата в мышечных тканях неразрывно связаны с уровнем энергозатрат и, следовательно, функциональных нагрузок.

Для косо-исчерченных мышц детальных данных о структуре митохондриального аппарата нет. В связи с этим представляет большой интерес исследование особенностей ультраструктуры митохондрий косо-исчерченной мышечной ткани представителя круглых червей (*Nemathelminthes*) – волосатика (*Gordionus alpestris*). Волосатики паразитируют в полости тела различных членистоногих (в основном насекомых), достигнув определенных размеров, выходят из хозяев и живут свободно в воде. После достижения половой зрелости они копулируют, откладывают яйца и умирают [7]. Движения волосатиков довольно ограничены – они могут только изгибать свое тело в dorso-ventральном направлении, совершая червеобразные движения, однако мышцы волосатика отличаются значительной энергией сокращения. Это характерно для косо-исчерченных мышечных клеток, которые способны генерировать мощное напряжение

благодаря особенностям организации сократительного аппарата [8]. Ультраструктура сократительного аппарата этой мышечной ткани подробно исследована, в то же время детальных данных об особенностях строения митохондриального аппарата косо-исчерченной мышечной ткани нет.

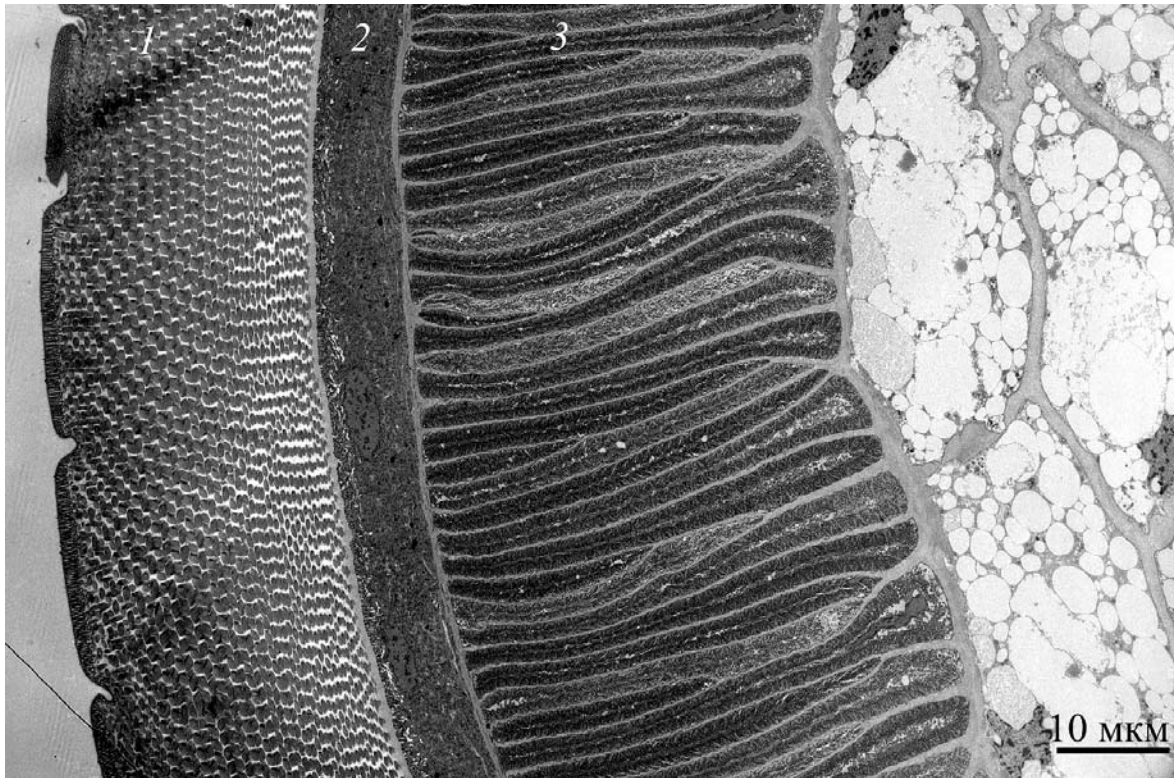
## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на особях *Gordionus alpestris* (Villot, 1885), которые были собраны в Республике Адыгея, пос. Никель (44°10'40.1N, 40°09'28.2E), хозяин – двупарноногая многоножка *Pachyiulus krivolutskyi*. Исследованы одна самка и один самец паразитарной формы, которых добывали путем вскрытия многоножек, и две самки и два самца свободноживущей формы. Размеры паразитирующих особей соответствовали размерам взрослых особей.

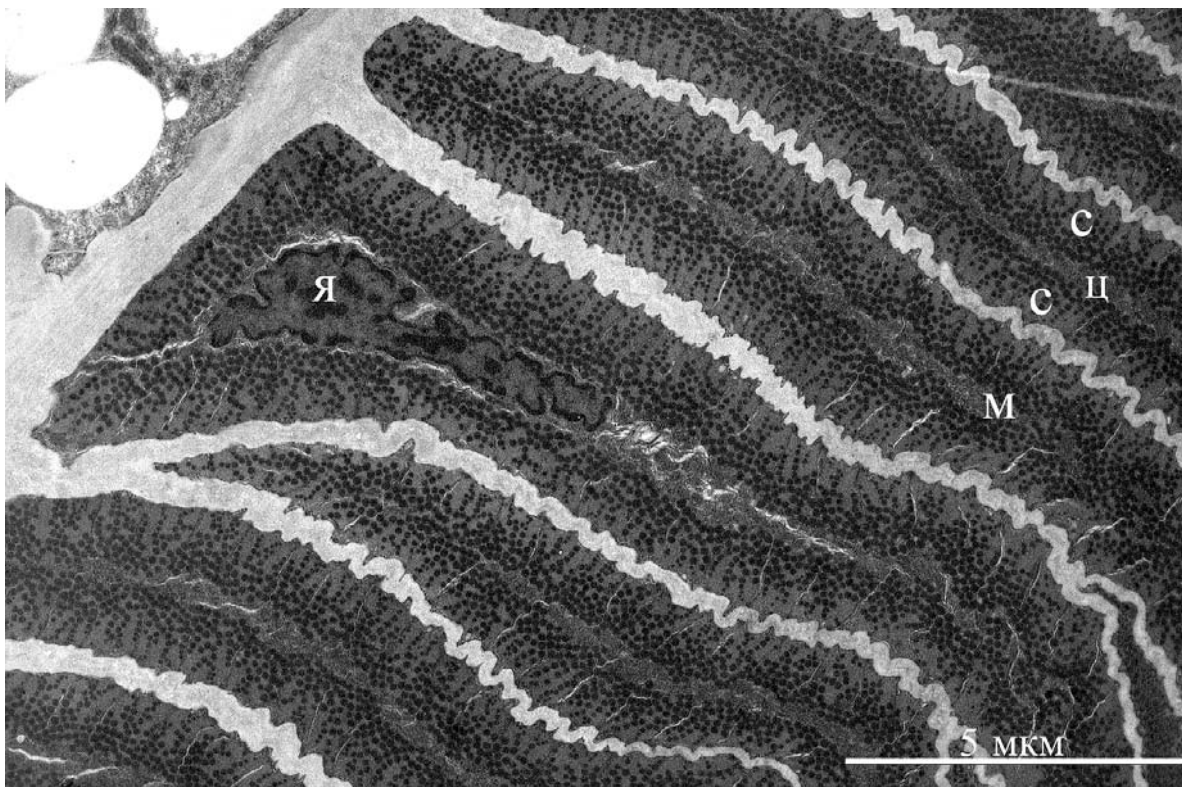
Мышечную ткань забирали в срединной части тела особей. Материал фиксировали 3%-ным раствором глутарового альдегида, рН 7,4 («Sigma-Aldrich», США), в 0,1 М фосфатном буфере в течение 2 ч при 4 °С, а затем 1%-ным раствором четырехоксида осмия в течение 1,5 ч. Образцы последовательно обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации 50, 60, 70, 80 и 96% (70%-ный спирт с 1,4%-ным уранилацетатом («Serva», Германия). Материал заключали в эпоксидную смолу Эпон-812. Серийные ультратонкие срезы делали на ультрамикротоме («Leica», Австрия), окрашивали свинцом. Полученные препараты просматривали и фотографировали в электронном микроскопе JEM-1400 («JEOL», Япония), работающем при ускоряющем напряжении 100 кВ, пучок тока 65 мкА. Фотографии получали с помощью камеры Quemesa («Olympus», США) и программного обеспечения электронного микроскопа («EMSI GmbH», Германия).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Косо-исчерченная мышечная ткань волосатика (тип flattened circomyarian) расположена под эпидермисом и представлена слоем уплощенных лентообразных продольных мышечных волокон [9, 10] (рис. 1). На поперечном сечении мышечные волокна имеют эллиптическую форму, с диаметрами порядка 3 и 50 мкм, что соответствует литературным данным [10]. Узкая цитоплазматическая область окружена сплошным периферическим слоем сократительного материала, образующего как бы футляр вокруг центральной цитоплазматической области (рис. 2).



**Рис. 1.** Обзорная электронно-микроскопическая фотография поперечного сечения срединной зоны тела волосатика: 1 – кутикула, 2 – эпидермис, 3 – мышечная ткань



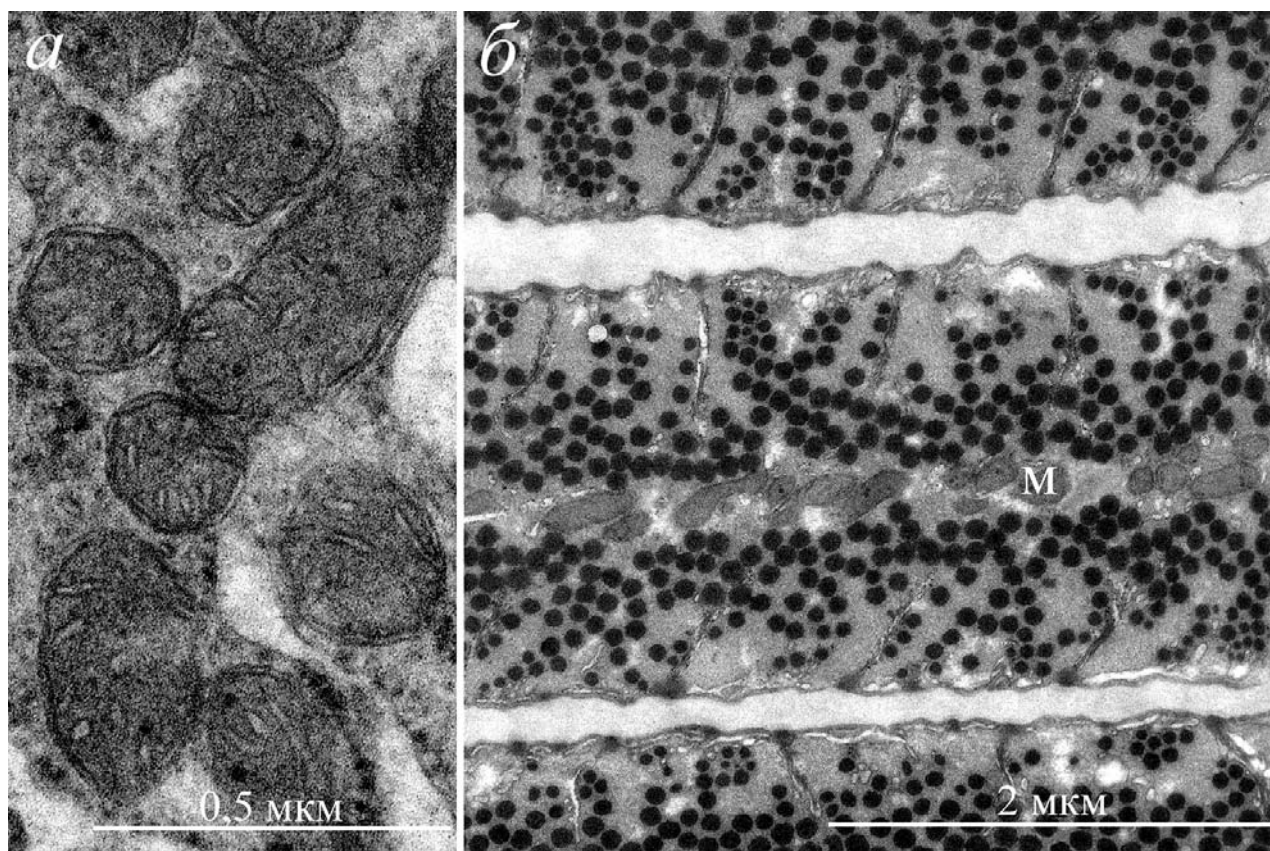
**Рис. 2.** Поперечное сечение слоя лентообразных мышечных волокон, составляющих мышечную ткань волосатика. Каждое волокно окружено слоем сократительного материала (с), в середине волокна находится центральная цитоплазматическая область (ц); я – ядро, м – митохондрии

В центральной цитоплазматической области располагается сплющенное лентовидное ядро и митохондрии, равномерно заполняющие центральное пространство (рис. 2), имеющие вид мелких одиночных органелл округлой или удлиненной формы, линейные размеры которых укладываются в пределы 0,1–0,5 мкм (рис. 3, а и б). Наши наблюдения ультраструктуры митохондрий на поперечных сечениях мышечного волокна полностью согласуются с имеющимися в литературе данными об ультраструктуре митохондрий мышечной ткани представителей семейства Gordiidae как о мелких одиночных органеллах [10, 11]. При большем увеличении можно видеть, что митохондрии имеют хорошо выраженный матрикс и незначительное количество хаотично расположенных крист, в матриксе присутствуют электронно-плотные гранулы (рис. 3, а). Как у свободноживущих особей, так и у паразитарных форм ультраструктура митохондрий на поперечных срезах была идентичной.

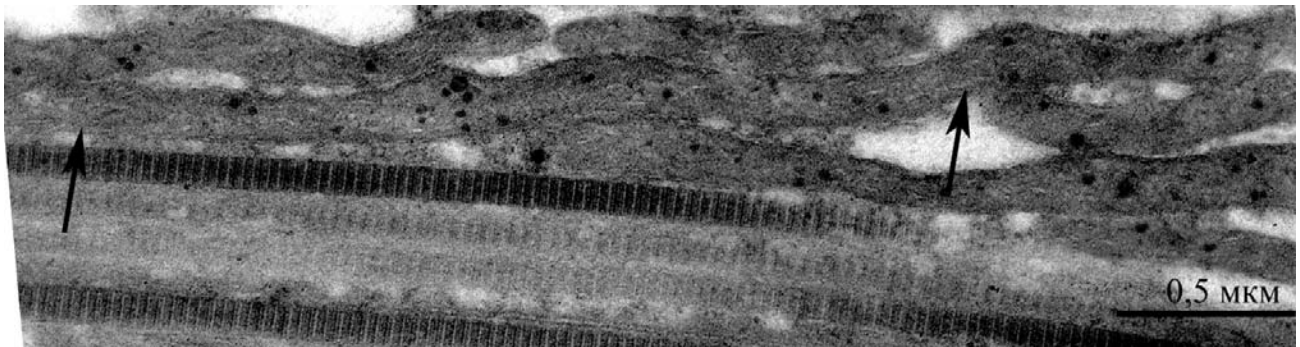
На продольных сечениях мышечных волокон волосатика мы обнаружили иную картину ультраструктуры митохондриального аппарата. По короткой оси мышечного волокна можно

видеть тяж из протяженных гигантских митохондрий, достигающих в длину на одиночных срезах >4 мкм при ширине 0,1–0,2 мкм (рис. 4). По длинной оси мышечного волокна выявляется обширная цитоплазматическая область, плотно заполненная длинными митохондриями неправильной формы (рис. 5, а и б). Поэтому на поперечных сечениях мышечного волокна в узкой цитоплазматической области можно видеть не только округлые сечения митохондрий, но и сечения удлиненной формы (рис. 3, а и б). Принципиальных различий в ультраструктуре митохондриального аппарата мышечной ткани у исследованных нами представителей свободноживущих и паразитарных форм волосатика мы не обнаружили, возможно, в связи с тем, что все исследованные нами особи были активно двигающимися и, очевидно, уже достигли взрослой стадии развития. Эти результаты соответствуют литературным данным [12, 13].

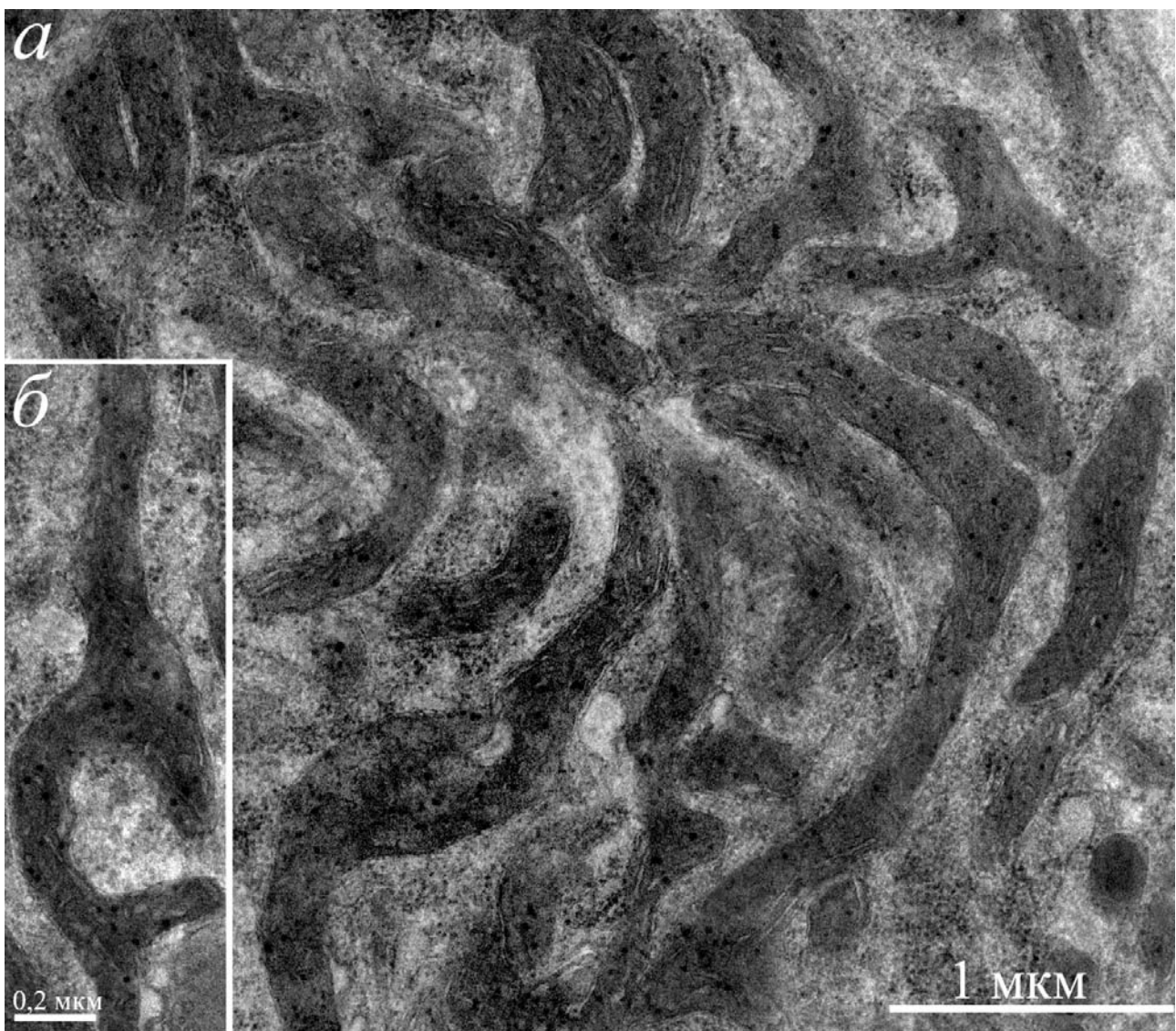
Таким образом, наши исследования показали, что митохондриальный аппарат мышечной ткани волосатика – мощно развитая митохондриальная мембранная система, составляющие ее митохондрии – это протяженные гигантские



**Рис. 3.** Особенности ультраструктуры митохондрий на поперечном сечении мышечного волокна волосатика. а – Ультраструктура митохондрий при большом увеличении; б – мелкие одиночные митохондрии (м), расположенные в центральной цитоплазматической области



**Рис. 4.** Ультраструктура митохондрий на продольном сечении по короткой оси мышечного волокна волосатика. Стрелками показан участок протяженной митохондрии, проходящей через весь срез. Видна только часть протяженной митохондрии



**Рис. 5.** Ультраструктура митохондрий на продольном сечении по длинной оси мышечного волокна волосатика. *а* – Цитоплазматическая область плотно заполнена длинными митохондриями неправильной формы; *б* – морфологическая картина отдельной митохондрии

органеллы, плотно заполняющие центральное цитоплазматическое пространство лентообразных мышечных волокон. В литературе на основе использования метода фракционирования указывается, что относительный объем митохондрий мышечной ткани волосатика составляет 1–5% [10]. Полученные нами результаты по морфологии хондриома на продольном сечении наглядно показывают, что на центральную цитоплазматическую область приходится ~1/3 всего объема мышечного волокна; соответственно, относительный объем митохондрий к объему мышечного волокна не может составлять всего 1–5%, указанных в упомянутой выше работе.

Функциональный смысл такой ультраструктуры митохондриального аппарата мышечной ткани очевиден – мелкие одиночные митохондрии, редко расположенные в центральной цитоплазматической области, не смогут обеспечить координированную работу по осуществлению нужной скорости выработки энергии для энергообеспечения протяженных мышечных волокон, достигающих в длину до 800 мкм. Предположение о функциональной необходимости протяженной митохондриальной мембранной системы, ответственной за равномерное обеспечение энергией в масштабах клетки, неоднократно высказывалось В.П. Скулачевым еще в 60–70-х гг. прошлого столетия [14]. Открытие протяженных систем гигантских митохондрий в поперечно-исчерченной мышечной ткани [1, 2] и дальнейшие эксперименты по проверке гипотезы о возможности передачи энергии вдоль протяженных мембранных структур [15] экспериментально подтвердили гипотезу В.П. Скула-

чева о структурно-функциональной организации митохондриального аппарата клетки [16].

Обнаружение нами в косо-исчерченной мышечной ткани волосатика протяженных митохондриальных систем еще раз показывает очевидность того, что гигантские митохондрии не являются просто уникальной морфологической особенностью. Это функционально обусловленная организация митохондриального аппарата, которая выполняет определяющую роль для энергообеспечения активно работающей мышечной ткани.

### Финансирование

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 18-34-00413; получение препаратов для электронно-микроскопического исследования, анализ полученных образцов в электронном микроскопе) и РНФ (проект № 14-24-00107; препарирование животных, фиксация экспериментального материала).

### Благодарности

Авторы выражают глубокую благодарность В.В. Алешину за помощь при подготовке результатов исследований к публикации.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в финансовой и в какой-либо иной сфере.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бакеева Л.Е., Скулачев В.П., Ченцов Ю.С. (1977) Митохондриальный ретикулум: строение и возможные функции внутриклеточных структур нового типа в мышечной ткани, *Вестник Московского университета Сер. Биология*, **3**, 23–38.
2. Bakeeva, L.E., Chentsov, Yu.S., and Skulachev, V.P. (1978) Mitochondrial framework (reticulum mitochondriale) in rat diaphragm muscle, *Biochim. Biophys. Acta*, **501**, 349–369.
3. Бакеева Л.Е., Ченцов Ю.С., Скулачев В.П. (1982) Межмитохондриальные контакты кардиомиоцитов, *Цитология*, **24**, 161–166.
4. Bakeeva, L.E., Chentsov, Yu.S., and Skulachev, V.P. (1983) Intermitochondrial contacts in myocardiocytes, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **15**, 413–420.
5. Paniagua, R., Royuela, M., Garcia-Anchuelo, R.M., and Fraile, B. (1996) Ultrastructure of invertebrate muscle cell types, *Histol. Histopathol.*, **11**, 181–201.
6. Bakeeva, L.E., Pavlova, G.A., and Rodichev, E.B. (1992) Spatial-organization of mitochondria in the smooth muscles of *Lymnaea stagnalis*, *Biochemistry (Moscow)*, **57**, 791–797.
7. Догель В.А. (1975) *Зоология беспозвоночных*, Высшая школа, Москва, 214 с.
8. Заварзин А.А. (1985) *Основы сравнительной гистологии*, Изд-во Ленинградского университета, Ленинград, 321 с.
9. Lanzavecchia, G. (1977) Morphological modulations in helical muscles (Aschelminthes and Annelida), *Int. Rev. Cytol.*, **51**, 133–186.
10. Lanzavecchia, G., Valvassory, R., de Eguileor, M., and Lanzavecchia, P. (1979) Three-dimensional reconstruction of the contractile system of the Nematomorpha muscle fiber, *J. Ultrastruct. Res.*, **66**, 201–223.
11. Restelli, M.A., de Villalobos, L.C., and Fernanda, Z. (2002) Ultrastructural description of the musculature, the intraepidermal nervous system, and their interrelation in *Pseudochordodes bedriagae* (Nematomorpha), *Cell Tissue Res.*, **308**, 299–306.
12. Schmidt-Rhaesa, A. (2005) Morphogenesis of *Paragordius varius* (Nematomorpha) during the parasitic phase, *Zoology*, **124**, 33–46.
13. Schmidt-Rhaesa, A. (1996) Ultrastructure of the anterior end in three ontogenetic stages of *Nectonema munidae* (Nematomorpha), *Acta Zool.*, **77**, 267–278.
14. Скулачев В.П. (1969) *Аккумуляция энергии в клетке*, Наука, Москва, 71 с.
15. Skulachev, V.P. (1971) Energy transformation in the respiratory chain, *Curr. Top. Bioenerg.*, **4**, 127–190.
16. Skulachev, V.P. (1990) Power transmission along biological membranes, *J. Membr. Biol.*, **114**, 97–112.

**MITOCHONDRIA IN OBLIQUELY STRIATED  
MUSCLES OF THE HORSEHAIR WORM *Gordionus alpestris*  
(Nematomorpha, Gordioidea) WITH STRUCTURAL  
ORGANIZATION TYPICAL OF CELLS  
WITH ENERGY-INTENSIVE PROCESSES**

**V. B. Vays<sup>1</sup>, I. M. Vangeli<sup>1</sup>, C. M. Eldarov<sup>1</sup>, B. D. Efeykin<sup>2</sup>,  
and L. E. Bakeeva<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup> *Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov  
Moscow State University, 119992 Moscow, Russia,  
E-mail: bakeeva@belozersky.msu.ru*

<sup>2</sup> *Severtsov Institute of Ecology and Evolution,  
Russian Academy of Sciences, 119071 Moscow, Russia*

Received July 11, 2018

Revision received September 5, 2018

Accepted September 5, 2018

The ultrastructure of mitochondria in the flattened circomyarian fibers of the horsehair worm *Gordionus alpestris* (Nemathelminthes) was examined. In contrast to the previously published data, we showed these mitochondria to be giant elongated organelles that densely fill the central cytoplasmic space of the ribbon-like muscle fibers. No fundamental differences were found in the ultrastructure of the muscle tissue mitochondria in actively moving free-living and parasitic *G. alpestris* worms. The functional significance of the observed ultrastructural organization of mitochondria is discussed in connection with the necessity for an extended mitochondrial membrane system for a uniform supply of active muscle tissue with energy.

*Keywords:* mitochondria, obliquely striated muscle, ultrastructure