

УДК 576.895.121+599.323.43

**УЛЬТРАСТРУКТУРА ТЕГУМЕНТА И МОРФОЛОГИЯ КАПСУЛЫ,
ОКРУЖАЮЩЕЙ ТЕТРАТИРИДИИ
РОДА *MESOCESTOIDES* VAILLANT, 1863
В ПЕЧЕНИ ПОЛЁВКИ-ЭКОНОМКИ**

© 2022 г. Н. А. Поспехова^а, *, К. В. Кусенко^а

^аИнститут биологических проблем Севера ДВО РАН,
ул. Портовая, 18, Магадан, 685000 Россия
*e-mail: posna@ibpn.ru

Поступила в редакцию 29.06.2022 г.

После доработки 08.07.2022 г.

Принята к публикации 08.07.2022 г.

Впервые исследованы ультраструктура тегумента инкапсулированных тетратиридиев рода *Mesocestoides* Vaillant, 1863 (Cestoda, Cyclophyllidea, Mesocestoididae) из печени полёвок-экономок *Microtus oeconomus* (Pallas, 1776) и строение окружающей их трёхслойной капсулы. На поверхности тегумента тетратиридиев отмечено несколько типов экстраклеточных структур: везикулы, мелкогранулярный материал и вакуоли. Обнаружено также явление сбрасывания микротрихий, имеющих расширенные участки. Клетки хозяина, контактирующие с экстраклеточным материалом, имеют признаки деструкции. Характерной особенностью капсул, окружающих тетратиридии, является сетчатая структура фиброзного слоя, содержащего как нативные, так и дегенерирующие клетки воспалительного ряда.

Ключевые слова: *Mesocestoides*, тетратиридий, ультраструктура, экстраклеточные везикулы, сброшенные микротрихии, капсула, взаимодействие паразит–хозяин

DOI: 10.31857/S0031184722040056, **EDN:** FGRCDD

Цестоды рода *Mesocestoides* в качестве дефинитивных хозяев используют хищных млекопитающих (лисы, песцы, волки, собаки), промежуточные хозяева более разнообразны – от амфибий до приматов (Черткова, Косупко, 1978; McAllister, Conn, 1990; Tokiwa et al., 2014; Skirnisson et al., 2016; Berrilli, Simbula, 2020; Chelladurai, Brewer, 2021). На Северо-Востоке России в качестве промежуточных хозяев *Mesocestoides* выступают грызуны и насекомоядные (Губанов, Фёдоров, 1970; Докучаев, Гуляев, 2004).

Тетратридии (метацестодная стадия этого паразита) имеют характерный облик, но отсутствие хоботка затрудняет их видовую идентификацию (Докучаев, Гуляев, 2004; Коняев и др., 2011; Zaleśny, Hildebrand, 2012; Tokiwa et al., 2014). Система классификации метацестод, используемая в настоящее время, определяет тетратридий как «алакунарную форму с ввёрнутым сколексом» (Cherwy, 2002). И если у большинства метацестод циклофиллидей имеются защитные оболочки, различные по количеству, строению и происхождению (Краснощеков, 1980), то у представителей рода *Mesocestoides* такие оболочки отсутствуют, сколекс и шейка инвагинированы внутрь тетратридия, и с тканями хозяина контактирует тегумент задней части тела метацестоды, или «hindbody» в англоязычной литературе (Conn, 1988).

Особенности морфологии покровов и паразито-хозяинных взаимодействий метацестод циклофиллидей (в том числе тетратридиев *Mesocestoides*) являются предметом многочисленных исследований (Specht, Widmer, 1972; Voge et al., 1979; Willms, Merchant, 1980; White et al., 1982; Березанцев и др., 1983; Chernin, McLaren, 1983; Engelkirk, Williams, 1983; Barton et al., 1984; Laclette et al., 1987; Conn, 1988; Moudgil et al., 2016; Оноја et al., 2017). Однако большинство таких исследований проведено на лабораторных культурах цестод и животных-хозяев, тогда как наша работа посвящена изучению морфологии зоны контакта тетратридиев рода *Mesocestoides* с тканями печени естественно заражённого хозяина – полёвки-экономки *Microtus oeconomus* (Pallas, 1776) из тундровой экосистемы Чукотки. Жизненный цикл представителей рода *Mesocestoides* до сих пор не установлен (Черткова, Косупко, 1978; Loose-Frank, 1991), поэтому указать источник заражения полёвок не представляется возможным.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Полёвки-экономки были отловлены в окрестностях Чаунского стационара ИБПС ДВО РАН (Северо-Западная Чукотка, Россия). При обнаружении белёсых пятен в ткани печени одной из полёвок было произведено препарирование с извлечением капсул и последующим вскрытием некоторых из них. В полости вскрытых капсул были найдены тетратридии, размер капсул в среднем составлял 2.5–3.0 мм.

Не вскрытые капсулы были иссечены из печени хозяина вместе с окружающей тканью и фиксированы в 2% растворе глутарового альдегида на 0.1 М фосфатном буфере (pH 7.2) при температуре около 4°C для электронно-микроскопического изучения. После фиксации в глутаре материал дофиксировали в 2% растворе OsO₄ в 0.2 М фосфатном буфере (pH 7.2) в течение 12 ч, обезвоживали и заливали в смесь ЭПОН–аралдит. В процессе дегидратации образцы окрашивали насыщенным раствором уранилацетата в 70% этаноле в течение ночи. Полутонкие срезы, полученные на микротоме LKB Bromma 2088 и LKB Nova (Sweden), были окрашены метиленовым голубым по Моргенштерну (Morgenstern, 1969) и просмотрены в микроскопе Olympus CX41 (Olympus Corporation, Japan) с цифровой камерой Olympus E-420. Ультратонкие срезы (90 нм), полученные на ультратоме LKB (Швеция), просматривали в просвечивающих электронных микроскопах JEM-1011 и JEM-1400Plus (JEOL, Япония) при 80 кВ.

Световая микроскопия

Полутонкий срез капсулы с тетратиридием в ткани печени хозяина представлен на рис. 1А. Миграционный путь тетратиридия к месту локализации заполнен клетками хозяина, среди которых различимы гранулярные лейкоциты. Капсула состоит из трёх слоёв. Первый, наружный слой граничит с гепатоцитами хозяина и состоит из клеток умеренной электронной плотности, среди которых преобладают лейкоциты. Этот слой имеет наибольшую толщину вблизи миграционного хода и становится более тонким по мере удаления от него. Второй, средний, фиброзный слой инфильтрирован лейкоцитами, причём его наиболее удалённый от миграционного пути участок имеет наибольшую плотность расположения волокон и наименьшее количество лейкоцитов в своём составе. Толщина фиброзного слоя составляет от 120 до 280 мкм. Пространство между фиброзным слоем и поверхностью тетратиридия заполнено различными по морфологии клетками хозяина, которые можно рассматривать в качестве третьего, внутреннего слоя капсулы.

Зона контакта тетратиридия и внутреннего слоя капсулы различается по морфологии на разных участках, что хорошо заметно при рассмотрении серии тангенциальных срезов капсулы, содержащей тетратиридий. На срезах, отсекающих небольшой сектор метацестоды (рис. 1А), её поверхность отделена от клеток хозяина светлой зоной, имеющей вид «солнечной короны» (рис. 1А, врезка). Толщина этой зоны варьирует от 15 до 50 мкм. На участках непосредственного контакта микротрихий паразита с клетками хозяина светлая зона исчезает и наблюдается механическая деформация микротрихимального бордюра. Плотная дистальная цитоплазма тегумента и крупные (до 15 мкм в диаметре) известковые тельца в субтегументе тетратиридия являются наиболее заметными деталями строения паразита на светооптическом уровне.

Электронная микроскопия

Тегумент задней части тела тетратиридия *Mesocestoides*

Покровы исследуемых тетратиридиев состоят из дистальной цитоплазмы тегумента, покрытой микротрихиями, базальной пластинки, субтегументальной мускулатуры и подлежащих цитонов тегумента (рис. 1В). Толщина дистальной цитоплазмы составляет от 3 до 10 мкм, базальной пластинки – около 300 нм. Цитоны тегумента с округлыми ядрами и светлой цитоплазмой располагаются в 1–2 слоя под субтегументальной мускулатурой. Последняя представлена поверхностными кольцевыми и более глубокими продольными пучками.

Дистальная цитоплазма тегумента метацестоды (рис. 1С–1Е) содержит многочисленные плотные палочковидные и дисковидные тельца диаметром около 250 нм. Регулярно встречаются палочковидные и дисковидные тельца с отслоившейся наружной мембраной. В таких тельцах между содержимым и ограничивающей мембраной наблюдается узкая светлая зона, а содержимое выглядит неоднородным по плотности.

Многочисленные овальные везикулы, достигающие длины 400 нм, обычно содержат гранулярный материал умеренной электронной плотности либо выглядят «пустыми». Характерно расположение «пустых» везикул вблизи наружной мембраны; в редких случаях они открыты на поверхность тегумента (рис. 1С).

Наружная мембрана дистальной цитоплазмы тегумента тетратиридия на некоторых участках имеет небольшие (до 500 нм в диаметре) выпячивания, содержащие матрикс дистальной цитоплазмы (рис. 1D). Иногда такие выпячивания достигают значительного размера (до 4 мкм в диаметре).

В толще дистальной цитоплазмы отмечены безресничковые чувствительные окончания (рис. 1E). Микротрихии тегумента однотипные, с короткой (около 500 нм) базальной частью и плотной бичевидной апикальной частью, достигающей длины 15 мкм.

У наружной поверхности дистальной цитоплазмы тегумента пузыря, между микротрихиями, отмечены различные виды экстраклеточных мембранных структур и гранулярного материала.

Мелкогранулярный материал у поверхности тегумента представлен отдельными скоплениями диаметром 300–400 нм; нередко они прилегают к микротрихиям (рис. 1С–1E). По мере продвижения кнаружи мелкие порции гранулярного материала сливаются и разделяют микротрихиальный бордюр на отдельные пучки, что создаёт эффект «солнечной короны». За пределами микротрихиального бордюра гранулярный материал образует крупные скопления, контактирующие с клетками хозяина либо их фрагментами (рис. 1B).

Мембранные структуры представлены мелкими (30–60 нм) экстраклеточными везикулами и экстраклеточными вакуолями размерами 150–500 нм (рис. 1F, 1G). Везикулы часто расположены цепочками, ориентированными перпендикулярно поверхности тегумента (рис. 1G). Диаметр экстраклеточных вакуолей увеличивается по мере удаления от поверхности дистальной цитоплазмы (рис. 1F). За пределами микротрихиального бордюра отмечены вакуоли более 20 мкм в диаметре (рис. 1B).

Помимо трёх описанных видов материала, который регистрируется у поверхности дистальной цитоплазмы, мы обнаружили большое количество сброшенных микротрихий, которые встречаются регулярно, но без выраженной зависимости от морфологии зоны контакта. В толще микротрихиального бордюра, выше оснований микротрихий, рассеяны округлые вакуолеподобные структуры с плотной оболочкой диаметром 200–250 нм, изредка – до 500 нм. Эти структуры представляют собой отделившиеся микротрихии с расширенными (вздутыми) участками, которые, в зависимости от плоскости среза, могут выглядеть округлыми, овальными или могут продолжаться в плотную бичевидную структуру, аналогичную апикальной части микротрихий тегумента задней части тетратиридия (рис. 1F, 1G). Кроме того, мы наблюдали фрагменты оснований микротрихий, находящиеся на расстоянии до 5 мкм от поверхности дис-

тальной цитоплазмы. В зонах массовой «секреции» микротрихий отмечены небольшие участки поверхности, свободные от микротрихий, однако никаких признаков нарушения ограничивающей мембраны мы не обнаружили (рис. 1*F*, стрелки).

Зона контакта

Зона контакта тетратиридия с организмом хозяина включает: внутренний слой капсулы, тегумент паразита вместе с его выростами (микротрихиями) и экстраклеточным материалом, а также пространство между ними, заполненное обычно клеточным детритом. Ширина этой зоны меняется в зависимости от положения тетратиридия в полости капсулы. В том случае, когда поверхность дистальной цитоплазмы тетратиридия находится на значительном расстоянии от внутреннего слоя капсулы, микротрихии вместе с мелкогранулярным материалом образуют «солнечную корону», упомянутую выше область, которая переходит в скопления того же материала с крупными эстраклеточными вакуолями (рис. 1*B*). Клетки хозяина, контактирующие с гранулярным материалом, имеют признаки повреждений: цитоплазма их вакуолизирована, отмечены нарушения целостности цитоплазматической мембраны и выход в окружающее пространство гранул и липидных капель. Отмечены клетки, имеющие признаки апоптоза: конденсированный хроматин в ядрах, фрагментация ядра и клетки (рис. 2*A*). Большинство клеток в зоне контакта, судя по характерной структуре гранул, можно отнести к эозинофилам, хотя отмечено также значительное количество макрофагов.

В зоне непосредственного контакта клеток хозяина и поверхности тетратиридия происходит механическая деформация микротрихимального бордюра (рис. 2*B*, 2*C*, 2*E*). При этом расстояние между поверхностью дистальной цитоплазмы и клетками внутреннего слоя капсулы уменьшается до 1.5–2.0 мкм. Скопления мелкогранулярного материала и единичные сброшенные микротрихии (рис. 2*C* – 2*E*) постоянно присутствуют среди микротрихий. Клетки хозяина в таких зонах могут не иметь видимых повреждений (рис. 2*B*), причём в этом случае прилегающий к клетке микротрихимальный бордюр не содержит мелкогранулярного материала. Частично или полностью дегенерированные клетки, как правило, соседствуют с микротрихиями, среди которых присутствуют скопления мелкогранулярного материала (рис. 2*C* – 2*E*).

Мелкогранулярный материал иногда образует локальные скопления у поверхности клеток хозяина (рис. 2*D*), причём он располагается снаружy от гранулярного материала большей электронной плотности, который прилежит к цитоплазматической мембране клеток хозяина.

На границе внутреннего и среднего (фиброзного) слоёв капсулы мы регулярно обнаруживали фибробласты с длинными узкими выростами, которые простирались в зону контакта, ближе к повреждённым клеткам (рис. 2*E*, звёздочка).

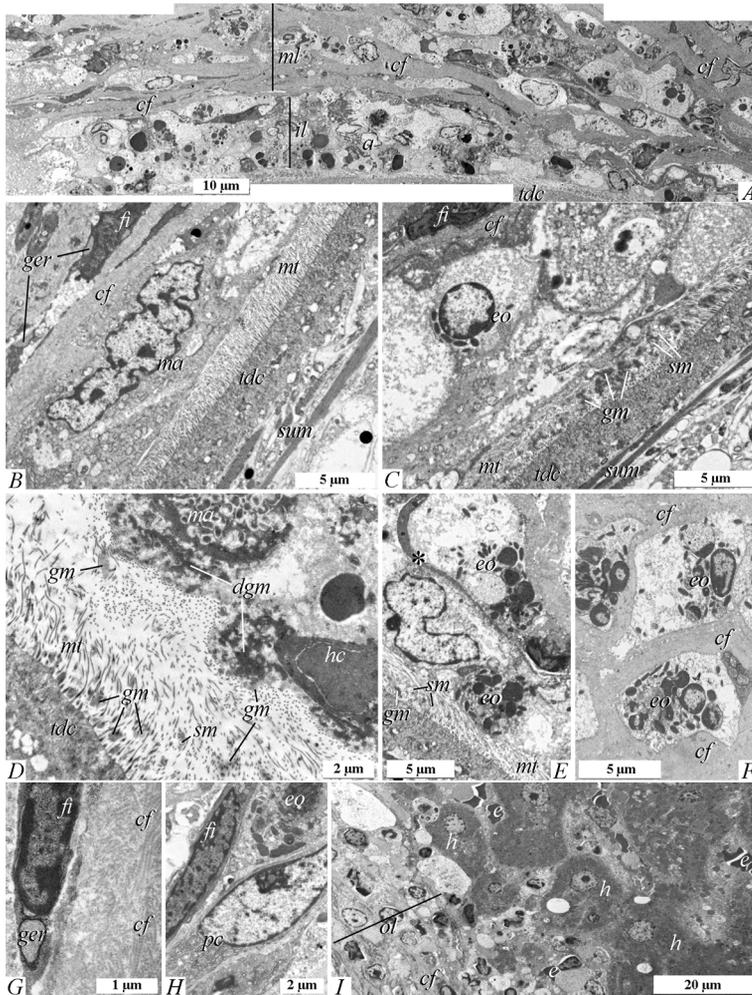


Рисунок 2. Ультраструктура капсулы вокруг тетратиридия *Mesocostoides* sp.:

A – фрагмент капсулы хозяина: внутренний и часть среднего слоя; *B* – макрофаг у поверхности тегумента тетратиридия; *C* – деградирующий эозиноphil в зоне контакта; *D* – два вида гранулярного материала у поверхности клеток хозяина; *E* – отросток фибробласта (*) во внутреннем слое капсулы; *F* – фрагмент фиброзного слоя с деградирующими клетками; *G* – фибробласт и коллагеновые волокна; *H* – клетки в фиброзном слое; *I* – наружный слой капсулы и ткань печени (*a* – клетки с признаками апоптоза; *cf* – коллагеновые волокна, *dgm* – плотный гранулярный материал, *e* – эритроцит, *eo* – эозиноphil, *fi* – фибробласт, *ger* – гранулярный эндоплазматический ретикулум, *gm* – мелкогранулярный материал, *h* – гепатоцит, *hc* – клетка хозяина, *il* – внутренний слой капсулы, *ma* – макрофаг; *ml* – средний слой капсулы, *mt* – микстрихии, *ol* – наружный слой капсулы, *pc* – плазматическая клетка, *sum* – субтегументальные мышцы, *tc* – цитон тегумента, *tdc* – дистальная цитоплазма тегумента).

Figure 2. Ultrastructure of the capsule around *Mesocostoides* tetrathyridium:

A – capsule fragment: inner and part of the middle layer; *B* – macrophage at the surface of the tetrathyridium tegument; *C* – degrading eosinophil in the contact zone; *D* – two types of granular material at the surface of host cells; *E* – fibroblast process (*) in the inner layer of the capsule; *F* – fragment of the fibrous layer with degrading cells; *G* – fibroblast and collagen fibers; *H* – cells in the fibrous layer; *I* – outer layer of the capsule and liver tissue (*a* – cells with signs of apoptosis, *cf* – collagen fibers, *dgm* – dense granular material, *e* – erythrocyte, *eo* – eosinophil, *fi* – fibroblast, *ger* – granular endoplasmic reticulum, *gm* – fine-granular material, *h* – hepatocyte, *hc* – host cell, *il* – inner layer of capsule, *ma* – macrophage; *ml* – middle layer of capsule, *mt* – microtrichia, *ol* – outer layer of capsule, *pc* – plasma cell, *sum* – subtegumental muscle; *tc* – tegumental cyton; *tdc* – distal cytoplasm of tegument).

Средний слой капсулы

Средний (фиброзный) слой капсулы представляет собой сетчатую структуру, которая сформирована разнонаправленными пучками коллагеновых волокон и в ячейках которой располагаются гранулоциты (преимущественно эозинофилы), макрофаги и плазматические клетки (рис. 2А, 2F – 2H). Как правило, эти клетки демонстрируют разную степень деградаци, но встречаются и клетки без видимых повреждений. Фибробласты, сопровождающие коллагеновые волокна, имеют признаки синтетической активности, в частности расширенные каналцы гранулярного эндоплазматического ретикулума (рис. 2B, 2C, 2G). Нами отмечено различие в плотности укладки пучков коллагеновых волокон в фиброзном слое капсулы: плотность увеличивается по мере удаления от миграционного пути тетратиридия вместе с уменьшением числа клеток (или их фрагментов) в составе слоя.

Наружный слой капсулы

Наружный слой капсулы образован, в основном, клетками воспалительного ряда, однако между слоями этих клеток регулярно встречаются фибробласты и коллагеновые волокна небольшого сечения (рис. 2I). Гепатоциты, контактирующие с наружным слоем капсулы, содержат в своей цитоплазме вакуоли с хлопьевидным материалом. Крупные полости, содержащие везикулы, вакуоли, хлопьевидный материал и фрагменты мембран, соседствуют с гепатоцитами. Многочисленные капилляры с эритроцитами располагаются среди гепатоцитов у наружного слоя капсулы, но не отмечены в составе стенки капсулы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Капсулообразование в организме промежуточного хозяина считается характерной особенностью, сопровождающей развитие цепней на стадии метацестод (Березанцев, 1963; Specht, Widmer, 1972; Ansari, Williams, 1976; Willms, Merchant, 1980; Березанцев и др., 1983; Engelkirk, Williams, 1983; Blazek et al., 1985; Widmer, Specht, 1991 и другие). Более того, по мнению ряда авторов (Березанцев, 1963; Березанцев и др., 1983; Оксов, 1991), вокруг ларвоцист высших цестод (отряд Cyclophyllidea) капсулы формируются всегда. При этом капсулы, вне зависимости от типа ткани, в которой они располагаются (мышечная, соединительная), имеют двуслойное строение: внутренний слой образован фиброзными структурами, наружный слой богат клеточными элементами.

Капсулы, окружающие тетратиридиев в печени полёвок-экономок, выглядят, скорее, трёхслойными, причём даже средний, фиброзный слой, насыщен клеточными элементами – как интактными, так и находящимися на разных стадиях деградаци. Интересна сетчатая структура фиброзного слоя, которая хорошо видна при электронномикроскопическом изучении и плохо различима на светооптических препаратах. Формирование этой сетчатой структуры, вероятно, происходит в результате изоляции

распадающихся (и, возможно, интактных) иммунокомпетентных клеток продуктами деятельности фибробластов. Такое предположение поддерживается постоянным присутствием отростков фибробластов вблизи зоны контакта паразит-хозяин. А наличие фибробластов и коллагеновых волокон в наружном слое капсулы позволяет предположить, что фиброзный слой капсулы нарастает как с внутренней, так и с внешней стороны. Березанцев с соавторами (1983) описали в стенках капсулы вокруг метацестоды *Hydatigera taeniaeformis* (Batsch, 1786) «развитую гемициркуляторную сеть», состоящую из трёх слоёв. В нашем случае капилляры в стенке капсулы обнаружены не были, хотя мы не исключаем, что васкуляризация капсул вокруг тетратиридиев у полёвок-экономок наступает на более поздних стадиях развития паразито-хозяинных отношений.

Поскольку наш материал взят из печени полевок, зараженных естественным путем, мы можем судить о продолжительности инвазии лишь по косвенным признакам и литературным данным. Так, Березанцев с соавторами (1983) установил, что капсулы вокруг цистицерков тений достигают толщины 100–150 мкм через 50 дней после заражения. Капсулы вокруг тетратиридиев *Mesocestoides* в печени белых мышей оцениваются как «хорошо очерченные» (well-defined) только через год после экспериментального заражения промежуточного хозяина в отличие от ещё не сформированных через 44 дня после заражения (Specht, Widmer, 1972). В то же время, заметная инкапсуляция с депонированием коллагена наблюдалась уже на 35-й день после заражения белых мышей тетратиридиями *Mesocestoides*, а на 60-й день печень демонстрировала обширную регенерацию вокруг инкапсулированных тетратиридиев (White et al., 1982). По-видимому, с момента заражения полёвок-экономок прошло не менее месяца.

Строение капсул вокруг гельминтов в организмах промежуточных и паратенических хозяев имеет свои особенности. Так, личинки акантоцефалов в паратенических хозяевах образуют капсулы трёх типов: фибробластические, лейкоцитарные и промежуточные (Скоробрехова, 2014). По этой классификации капсулы вокруг тетратиридиев в полёвках-экономках можно отнести к промежуточным, поскольку в них присутствуют и фибробласты вместе с продуктами своей деятельности (коллагеновыми волокнами), и лейкоциты, которые чаще представлены гранулоцитами. Отмеченные нами клетки с признаками апоптоза в зоне контакта с хозяином регистрируются и другими авторами (Sikasunge et al., 2008), что трактуется как один из способов подавления паразитом клеточного иммунного ответа хозяина.

Гранулоциты (чаще всего эозинофилы) постоянно упоминались при описании реакции хозяина на присутствие личинок гельминтов, в частности метацестод тениид, причём разные авторы не только отмечали присутствие эозинофилов у поверхности тегумента паразита, но и описывали процессы дегрануляции, а также разрушения этих

клеток с выходом гранул в зону контакта (Ansari, Williams, 1976; Willms, Merchant, 1980; Engelkirk, Williams, 1983; Strote et al., 1991; Makepeace et al., 2012).

Те же авторы отмечают, что клетки хозяина, находящиеся в контакте с поверхностью паразита, подвергаются деградации и разрушению, тогда как сам паразит в большинстве случаев остаётся неповреждённым. Причины такой устойчивости, вероятно, кроются в защитных свойствах покровных структур метацистод, в данном случае – тегумента задней части тела тетратиридия. Наиболее полно изучены морфология и ультраструктура тегумента тетратиридиев *Mesocestoides corti/vogae* (Etges, 1991), лабораторной культуры почкующихся метацистод (Hess, Guggenheim, 1977; Hess, 1980; Voge et al., 1979). Эти авторы делят тегумент тетратиридия на 3 участка в зависимости от преобладающих типов микротрихий, причём на заднем конце тела наблюдаются только нитевидные (filamentous) микротрихии (Hess, Guggenheim, 1977). Мы обозначили такие микротрихии как бичевидные, учитывая плотность и длину апикального конца. В соответствии с международной номенклатурой микротрихий, такой тип относится к филитрихам, а именно капиллярovidным филитрихам (capilliform filitriches) (Chervy, 2009). Между микротрихиями обнаружено несколько видов экстраклеточного материала, часть которого (либо все виды, как мы предполагаем) являются секреторными продуктами тегумента.

Секреторная активность тегумента цестод отмечается на всех стадиях жизненного цикла как в природе, так и в эксперименте (Threadgold, 1965; Краснощеков и др., 1983; Laclette et al., 1987; Hoole et al., 1994; Oaks, Holy, 1994; Поспехова, 2012; Pospekhova, Regel, 2015; Mazanec et al., 2021), причём характер тегументальной секреции может значительно различаться. Например, у *Hymenolepis diminuta* (Rudolphi, 1819) отмечено выделение двух различных подтипов мелких везикул, в том числе в виде цепочек (Mazanec et al., 2021). Авторы связывают появление везикул с выходом содержимого плотных телец за пределы дистальной цитоплазмы, а размещение их в виде цепочек – с продвижением среди микротрихий.

У развивающихся аскоцерков из личинок стрекоз микротрихии наружного тегумента экзоцисты погружены в поверхностный слой (surface layer), который состоит из мелкогранулярного материала, пузырьков и фибрилл, ориентированных параллельно поверхности дистальной цитоплазмы (Pospekhova, Regel, 2015). Авторы полагают, что компоненты поверхностного слоя синтезированы цитонами тегумента экзоцисты, а сам слой аналогичен гликокаликсу и выполняет защитные функции.

Мелкогранулярный материал в виде небольших скоплений диаметром до 400 нм, который часто присутствует между микротрихиями инкапсулированного тетратиридия, напоминает по структуре гранулярный матрикс дистальной цитоплазмы. Этот материал, скорее всего, выделяется на поверхность путём отшнуровки выпячиваний дистальной цитоплазмы с последующим разрушением ограничивающей их мембраны. Кроме того, были высказаны предположения, что содержимое плотных дисковидных

и палочковидных телец претерпевает морфологические изменения, после чего либо выделяется на поверхность тегумента мерокриновым путём, формируя гликокаликс, либо служит для пополнения матрикса дистальной цитоплазмы, который расходуется в процессе жизнедеятельности паразита (Oaks, Lumsden, 1971; Wilson, Barnes, 1974; Hess, 1980).

При этом морфологически близкий к мелкогранулярному материал в некоторых работах трактовался как продукт дегрануляции прилежащих к тегументу гранулоцитов (Willms, Merchant, 1980) либо как преципитат, образованный на поверхности микротрихий в результате воздействия иммунной сыворотки хозяина (Robinson et al., 1987; Hoole et al., 1994). Действию сыворотки приписывалось также появление сброшенных микротрихий (shedded microtriches), которые, как и в нашем случае, имели вид вакуолей с плотными стенками (Hoole et al., 1994), но располагались слоем поверх микротрихимального бордюра. Послойное расположение материала, выделяемого тегументом цестод, отмечено у нескольких видов (Hoole et al., 1994; Pospekhova, Regel, 2015; Kutuyev et al., 2021), но наиболее ярко оно представлено у цистных эхинококков в виде пластинчатого слоя (laminated layer), окружающего цисту (обзор Diaz et al., 2011). По-видимому, исходным шаблоном для слоистых защитных структур на поверхности паразитических червей на разных стадиях развития служит их гликокаликс, который в большинстве случаев является как минимум двуслойным (Никишин, 2016).

Несмотря на методическую сложность исследования, экскреторно-секреторные процессы у гельминтов привлекают особое внимание, учитывая возможность использования результатов таких исследований в практических целях (Lightowers, Rickard, 1988; Harnett, 2014; Torre-Escudero et al., 2016; Drurey, Maizels, 2021; Kutuyev et al., 2021; Mazanec et al., 2021). Авторы некоторых из перечисленных работ уделяют особое внимание экстраклеточным везикулам, выделяющимся с поверхности паразитов, и мы не исключаем, что отмеченные нами цепочки везикул несут вещества с иммуномодуляторными свойствами.

Морфологические особенности зоны контакта тетратиридиев с тканями хозяина (наличие или отсутствие мелкогранулярного материала, везикул и вакуолей, расстояние до клеток хозяина, степень деградации этих клеток) не были постоянными, возможно, по причине перемещения тетратиридия внутри капсулы и создания временных локальных сайтов близкого взаимодействия поверхностей паразита и хозяина. Асимметричность реакции вокруг паразитов отмечалась и ранее. Интактные и поврежденные воспалительные клетки, клеточный мусор, гранулы эозинофилов, части микроворсинок отмечались на одной стороне цистицерка *T. taeniaeformis* в печени крысы, тогда как на противоположном полюсе поверхность паразита контактировала с нормальными гепатоцитами (Engelkirk, Williams, 1983).

Рассмотрение морфологии паразито-хозяинного взаимодействия тетратиридиев рода *Mesocestoides* с полёвками-экономками позволило отметить несколько особен-

ностей. Среди них – трёхслойная капсула, состоящая из среднего фиброзного и двух (внутреннего и наружного) лейкоцитарных слоёв; сетчатая структура фиброзного слоя, который, по-видимому, нарастает как снаружи, так и изнутри; и, наконец, массовое отделение расширенных микротрихий, не приводящее к нарушению наружной мембраны тегумента. Последнее явление было ранее описано в эксперименте, при воздействии на тегумент иммунной сыворотки (Hoole et al., 1994), тогда как в нашем случае оно наблюдалось в хозяине, заражённом естественным путём.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования проведены в ходе выполнения государственного задания по теме «Гельминты в биоценозах Северо-Восточной Азии: биоразнообразие, морфология и молекулярная филогенетика», № регистрации 1021060307693-0.

Авторы выражают благодарность рецензентам за подробный анализ и конструктивные замечания, а также благодарят заведующую редакцией журнала за обстоятельный разбор рукописи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Березанцев Ю.А. 1963. Формирование капсул вокруг личинок паразитических червей. Вопросы патологической анатомии 83: 80–184. [Berezantsev Yu.A. 1963. Formirovanie kapsul vokrug lichinok paraziticheskikh chervei. Voprosy patologicheskoi anatomii 83: 80–184. (In Russian)].
- Березанцев Ю.А., Борисов А.В., Иванова В.Ф., Борщук Д.Б. 1983. Микрогемидциркуляторное русло капсулы, индуцированной финнами *Hydatigera taeniaeformis* в печени белых крыс. Доклады Академии Наук СССР 269 (1): 253–256. [Berezantsev Yu.A., Borisov A.V., Ivanova V.F., Borshchukov D.B. 1983. Mikrogemitsirkulyarnoe ruslo kapsuly, indutsirovannoi finnami *Hydatigera taeniaeformis* v pechni belykh kryk. Doklady Akedemii nauk SSSR 269 (1): 253–256. (In Russian)].
- Губанов Н.М., Фёдоров К.П. 1970. Фауна гельминтов мышевидных грызунов Якутии. Фауна Сибири. Новосибирск, Наука, 18–47. [Gubanov N.M., Fedorov K.P. 1970. Fauna gelmintov myshevidnykh gryzunov Yakutii. Fauna Sibiri. Novosibirsk, Nauka, 18–47. (In Russian)].
- Докучаев Н.Е., Гуляев В.Д. 2004. Землеройки-бурозубки (Sorex, Insectivora) как паратенические хозяева цестод рода *Mesocestoides*. Териологические исследования. 5: 135–138. [Dokuchaev N.E., Gulyaev V.D. 2004. Zemleroiki-burozubki (Sorex, Insectivora) kak paratenicheskie khozyaeva tsestod roda *Mesocestoides*. Teriologicheskie issledovaniya 5: 135–138. (In Russian)].
- Коняев С.В., Есаулова Н.В., Найденко С.В., Давыдова О.Е., Лукаревский В.С., Эрнандес-Бланко Х.А., Литвинов М.Н., Котляр А.К., Сидорчук Н.В., Рожнов В.В. 2011. Обнаружение *Mesocestoides paucitesticulus* Sawada et Kugi, 1973 у азиатского барсука (*Meles leucurus*) на территории России. Российский паразитологический журнал 4: 35–40. [Konyaev S.V., Esaulova N.V., Naidenko S.V., Davydova O.E., Lukarevsky V.S., Ermandes-Blanko Kh.A., Litvinov N.M., Kotlyar A. K, Sidorchuk N.V., Rozhnov V.V. 2011. *Mesocestoides paucitesticulus* Sawada et Kugi, 1973 discovery at the Asian badger (*Meles leucurus*) on the territory of the Far East in Russia. Rossiiskii parazitologicheskii zhurnal 4: 35–40. (In Russian)].
- Краснощечков Г.П. 1980. Церкомер – личиночный орган цестод. Журнал общей биологии 41 (4): 615–627. [Krasnoshchekov G.P. 1980. Cercomere, a larval organ in cestodes. Zhurnal obshchei biologii 41 (4): 615–627. (In Russian)].

- Краснощеков Г.П., Никишин В.П., Плужников Л.Т. 1983. Ультраструктура стенки цисты личинок цестод типа моноцерка. *Паразитология* 17 (5): 391–396. [Krasnoshchekov G.P., Nikishin V.P., Pluzhnikov L.T. 1983. Ultrastructure of cyst's wall in larvae of cestodes of the monocercus type. *Parazitologiya* 17 (5): 391–396. (In Russian).].
- Никишин В.П. 2016. Морфофункциональное разнообразие гликокаликса у ленточных червей. *Успехи современной биологии* 136 (5): 506–526. [Nikishin V.P. 2016. Morphofunctional diversity of glycocalyx in tapeworms. *Uspekhi sovremennoi biologii* 136 (5): 506–526. (In Russian)].
- Оксов И.В. 1991. Тканевый уровень организации системы паразит–хозяин. *Паразитология* 25 (1): 3–12. [Oksov I.V. 1991. Tissue level of organization of the host–parasite system. *Parazitologiya* 25 (1): 3–12. (In Russian)].
- Поспехова Н.А. 2012. Специфическая и неспецифическая секреция покровов у гименолепидат (Cestoda: Cyclophyllidea). *Труды Центра Паразитологии* 47: 207–214. [Pospekhova N.A. 2012. Specific and non-specific covers secretion in Hymenolepidata (Cestoda: Cyclophyllidea). *Trudy Tsentra Parazitologii* 47: 207–214. (In Russian)].
- Скоробрехова Е.М. 2014. Морфология взаимоотношений скребня *Corynosoma strumosum* (Acanthocephales: Polymorphidae) и паратенических хозяев в природе и эксперименте. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 22 с. [Skorobrekhova E.M. 2014. Morphologiya vzaimootnoshenii skrebnya *Corynosoma strumosum* (Acanthocephales: Polymorphidae) i paratenicheskikh khozyaev v proroде I eksperimente. Diss. Kand. Nauk, SPb., 22 pp. (In Russian)].
- Черткова А.Н., Косупко Г.А. 1978. Подотряд Месоцестоидата Skrjabin, 1940. Тетработриаты и мезоцестоидаты – ленточные гельминты птиц и млекопитающих. *Основы цестодологии*, Т. IX. М., Наука, 118–229. [Chertkova A.N., Kosupko G.A. 1978. Podotryad Mesocestoidata Skrjabin, 1940. Tetrabotriaty i mezotsestoidaty – lентochnye gelminty ptits i mlekopotayushchikh. *Osnovy tsestodologii*. Vol. 9, Moscow, Nauka, 118–229. (In Russian)].
- Ansari A., Williams J.F. 1976. The eosinophilic response of the rat to infection with *Taenia taeniaeformis*. *The Journal of Parasitology* 62: 728–736.
- Barton A.M., Washington E.A., Stewart A.C., Nicholas W.L. 1984. *Mesocestoides corti* in the rat: comparisons of *Mesocestoides corti* infections in rats and mice. *International Journal for Parasitology* 14 (4): 391–394. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(84\)90094-8](https://doi.org/10.1016/0020-7519(84)90094-8)
- Berrilli E., Simbula G., 2020. First molecular identification of the tapeworm *Mesocestoides litteratus* from an Italian wall lizard (*Podarcis siculus*). *Infection, Genetics and Evolution* 81. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104233>
- Blazek K., Schramlová J., Hulínská D. 1985. Pathology of the migration phase of *Taenia hydatigena* (Pallas, 1766) larvae. *Folia Parasitologica* 32 (2): 127–37.
- Chelladurai J.R.J.J., Brewer M.T. 2021. Global prevalence of *Mesocestoides* infections in animals – A systematic review and meta-analysis. *Veterinary Parasitology* 298: 109537. DOI: 10.1016/j.vetpar.2021.109537
- Chernin J., McLaren D.J. 1983. The pathology induced in laboratory rats by metacestodes of *Taenia crassiceps* and *Mesocestoides corti* (Cestoda). *Parasitology* 87: 279–287. doi.org/10.1017/S003118200005263X
- Chervy L. 2002. The terminology of larval cestodes or metacestodes. *Systematic Parasitology* 52: 1–33. DOI: 10.1023/a:1015086301717.
- Chervy L. 2009. Unified terminology for cestode microtriches: a proposal from the International Workshops on Cestode Systematics in 2002–2008. *Folia Parasitologica* 56 (3): 199–230. DOI: 10.14411/fp.2009.025
- Conn D.B. 1988. Fine structure of the tegument of *Mesocestoides lineatus* tetrathyridia (Cestoda: Cyclophyllidea). *International Journal for Parasitology* 18: 133–135. DOI: 10.1016/0020-7519(88)90049-5

- Diaz A., Casaravilla C., Irigoien F., Lin G., Previato J.O., Ferreira F. 2011. Understanding the laminated layer of larval *Echinococcus* I: structure. *Trends in Parasitology* 27: 204–213. doi: 10.1016/j.pt.2010.12.012
- Drurey C., Maizels R.M. 2021. Helminth extracellular vesicles: Interactions with the host immune system. *Molecular Immunology* 137: 124–133. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2021.06.017>
- Engelkirk P.G., Williams J.F. 1983. *Taenia taeniaeformis* in the rat: ultrastructure of the host-parasite interface on days 8 to 22 postinfection. *Journal of Parasitology* 69 (5): 828–837.
- Etges F.R. 1991. The proliferative tetrathyridium of *Mesocestoides vogae* sp. n. (Cestoda). *Journal of the Helminthological Society of Washington* 58: 181–185.
- Harnett W. 2014. Secretory products of helminth parasites as immunomodulators. *Molecular and Biochemical Parasitology* 195: 130–136. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2014.03.007>
- Hess E. 1980. Ultrastructural study of the tetrathyridium of *Mesocestoides corti* Hoeppli, 1925: Tegument and parenchima. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 61: 135–159. DOI: 10.1007/BF00925460
- Hess E., Guggenheim R. 1977. A study of the microtriches and sensory processes of the tetrathyridium of *Mesocestoides corti* Hoeppli, 1925, by transmission and scanning electron microscopy. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 53: 189–199. <https://doi.org/10.1007/BF00380464>
- Hoole D., Andreassen J., Birklund D. 1994. Microscopical observations on immune precipitates formed in vitro on the surface of hymenolepid tapeworms. *Parasitology* 109: 243–248. <https://doi.org/10.1017/S0031182000076368>
- Kutyrev I.A., Biserova, N.M., Mazur O.E., Dugarov Z.N. 2021. Experimental study of ultrastructural mechanisms and kinetics of tegumental secretion in cestodes parasitizing fish (Cestoda: Diphylobothriidea). *Journal of Fish Diseases* 44 (8): 1237–1254. DOI: 10.1111/jfd.13386
- Laclette J.P., Merchant M.T., Willms K. 1987. Histological and ultrastructural localization of antigen B in the metacestode of *Taenia solium*. *Journal of Parasitology* 73 (1):121–129.
- Lightowers M.W., Rickard M.D. 1988. Excretory–secretory products of helminth parasites: effects on host immune responses. *Parasitology* 96: 123–166. <https://doi.org/10.1017/S0031182000086017>
- Loose-Frank B. 1991. One or two intermediate hosts in the life cycle of *Mesocestoides* (Cyclophyllidea: Mesocestoididae)? *Parasitology Research* 77 (8): 726–728. DOI: 10.1007/BF00928692
- Makepeace B.L., Martin C., Turner J.D., Spech S. 2012. Granulocytes in helminth infection – who is calling the shots? *Current medicinal chemistry* 19: 1567–1586. DOI: 10.2174/092986712799828337
- Mazanec H., Konik P., Gardian Z., Kuchta R. 2021. Extracellular vesicles secreted by model tapeworm *Hymenolepis diminuta*: biogenesis, ultrastructure and protein composition. *International Journal for Parasitology* 51: 327–332. doi:10.1016/j.ijpara.2020.09.010
- McAllister C.T., Conn D.B. 1990. Occurrence of Tetrathyridia of *Mesocestoides* sp. (Cestoidea: Cyclophyllidea) in North American Anurans (Amphibia). *Journal of Wildlife Diseases* 26 (4): 540–543.
- Morgenstern E. 1969. Vergleichende lichtoptische Untersuchungen im Rahmen elektronenmikroskopischer Arbeiten an ultradünnen Schnitten. II. Färbemethoden. *Mikroskopie* 25: 250–260. [In German].
- Moudgil A.D., Singla L.D., Gupta K., Daundkar P.S., Vemu B. 2016. Histopathological and morphological studies on natural *Cysticercus fasciolaris* infection in liver of Wistar rats. *Journal of Parasitic Diseases* 40 (2): 255–258. DOI 10.1007/s12639-014-0488-5
- Oaks J.A., Lumsden R.D. 1971. Cytological studies of the absorptive surface of cestodes. V. Incorporation of carbohydrate-containing macromolecules into tegument membranes. *Journal of Parasitology* 57 (6): 1256–1268.
- Oaks J.A., Holy J.M. 1994. *Hymenolepis diminuta*: Two morphologically distinct tegumental secretory mechanisms are present in the cestode. *Experimental Parasitology* 79 (3): 292–300. DOI: 10.1006/expr.1994.1092

- Onoja R.I., Idika I.K., Ezeh I.O., Abiazute C.N. 2017. Histopathological detection of the larval stage of *Taenia taeniaeformis* (strobilocerci) and its associated lesions in liver of laboratory rats: case report. *Exploratory Animal and Medical Research* 7 (1): 97–99.
- Pospekhova N.F., Regel K.V. 2015. Morphology and ultrastructure of two schistosome cysticercoids (Cestoda: Cyclophyllidae) from the haemocoel of the dragonfly larvae. *Паразитология* 49 (5): 339–351.
- Robinson R.D., Andreassen J., Arme C. 1987. *Hymenolepis diminuta*: ultrastructural observations on complement-mediated tegumental lysis and destrobilation of 4-day-old worms in vitro. *International Journal for Parasitology* 17: 1225–1232.
- Sikasunge C.S., Phiri I.K., Johansen M.V., Willingham III A.L., Leifsson P.S. 2008. Host–cell apoptosis in *Taenia solium*-induced brain granulomas in naturally infected pigs. *Parasitology* 135 (10): 1237–1242. DOI: 10.1017/S0031182008004678
- Skirnisson K., Jouet D., Ferte H., Nielsen O.K. 2016. Occurrence of *Mesocestoides canislagopodis* (Rudolphi, 1810) (Krabbe, 1865) in mammals and birds in Iceland and its molecular discrimination within the *Mesocestoides* species complex. *Parasitology Research* 115 (7): 2597–2607. DOI 10.1007/s00436-016-5006-5
- Specht D., Widmer E. A. 1972. Response of mouse liver to infection with tetrathyridia of *Mesocestoides* (Cestoda). *Journal of Parasitology* 58: 431–437. doi.org/10.2307/3278183
- Strote G., Brattig N.W., Tischendorf F.W. 1991. Ultrastructural study of the interaction between eosinophilic granulocytes and third and fourth stage larvae of *Onchocerca volvulus*. *Acta Tropica* 48 (1): 1–8. DOI: 10.1016/0001-706x(90)90059-9
- Threadgold L. 1965. An electron microscope study of the tegument and associated structures of *Proteocephalus pollanicoli*. *Parasitology* 55: 467–472.
- Tokiwa T., Taira K., Yamazaki M., Kashimura A., Une Y. 2014. The first report of peritoneal tetrathyridiosis in squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Parasitology International* 63: 705–707. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2014.06.005>
- Torre-Escudero E. de la, Bennett A.P.S., Clarke A., Brennan G.P., Robinson M.W. 2016. Extracellular vesicle biogenesis in helminths: more than one route to the surface? *Trends in Parasitology* 32 (12): 921–929. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2016.09.001>
- Voge M., Sogandares-Bernal F., Martin J H. 1979. Fine structure of the tegument of *Mesocestoides* tetrathyridia by scanning and transmission electron microscopy. *Journal of Parasitology* 65 (4): 562–567. DOI: 10.2307/3280322
- White T.R., Thompson R.C.A., Penhale W.J., Pass D.A., Mills J.N. 1982. Pathophysiology of *Mesocestoides corti* infection in the mouse. *Journal of Helminthology* 56: 145–153. DOI: 10.1017/s0022149x00034374
- Widmer E.A., Specht H.D. 1991. Asynchronous capsule formation in the gastrointestinal tract of the prairie rattlesnake (*Crotalus viridis viridis*) Induced by *Mesocestoides* sp. tetrathyridia. *Journal of Wildlife Diseases* 27 (1): 161–163. DOI: 10.7589/0090-3558-27.1.161
- Willms K., Merchant M.T. 1980. The inflammatory reaction surrounding *Taenia solium* larvae in pig muscle: ultrastructural and light microscopic observations. *Parasite Immunology* 2: 261–275. DOI: 10.1111/j.1365-3024.1980.tb00058.x
- Wilson R.A., Barnes P.E. 1974. An in vitro investigation of dynamic processes occurring in the schistosome tegument, using compounds known to disrupt secretory processes. *Parasitology* 68 (2): 259–270. DOI: 10.1017/s0031182000045777
- Zalesny G., Hildebrand J. 2012. Molecular identification of *Mesocestoides* spp. from intermediate hosts (rodents) in central Europe (Poland). *Parasitology Research* 110 (2): 1055–1061. DOI: 10.1007/s00436-011-2598-7

TEGUMENT ULTRASTRUCTURE AND MORPHOLOGY OF THE CAPSULE
SURROUNDING THE TETRATHYRIDIA
OF THE GENUS *MESOCESTOIDES* VAILLANT, 1863
IN THE LIVER OF THE ROOT VOLE

N. A. Pospekhova, K. V. Kusenko

Keywords: *Mesocestoides*, tetrathyridium, ultrastructure, extracellular vesicles, shed microtrichia, capsule, host–parasite interaction

SUMMARY

The ultrastructure of the tegument of encapsulated tetrathyridia of the genus *Mesocestoides* Vaillant, 1863 (Cestoda, Cyclophyllidea, Mesocestoididae) from the liver of root voles *Microtus oeconomus* (Pallas, 1776) and the structure of the three-layered capsule surrounding them were studied for the first time. Several types of extracellular structures were noted on the surface of the tetrathyridia tegument: vesicles, fine granular material, and vacuoles. Besides, the phenomenon of microtrichia shedding, which have expanded parts, was found. Host cells being in contact with extracellular material show signs of destruction. A characteristic feature of the capsules surrounding the tetrathyridia is the mesh structure of the fibrous layer containing both native and degenerating inflammatory cells.