

**СБРАСЫВАНИЕ ТОЛСТОГО СЛОЯ ГЛИКОКАЛИКСА  
У ЦИСТАКАНТОВ СКРЕБНЯ *Acanthocephalus tenuirostris*  
(ACHMEROV ET DOMBROWSKAJA – ACHMEROVA, 1941)**

© 2023 г. Т. В. Давыденко\*, @, В. П. Никишин\*

\* Институт биологических проблем Севера Дальневосточного отделения Российской академии наук,  
Портовая улица, 18, Магадан, 685000 Россия

@E-mail: sasha17@mail.ru

Поступила в редакцию 14.02.2023 г.

После доработки 27.04.2023 г.

Принята к публикации 27.04.2023 г.

Проведено электронно-микроскопическое исследование покровов поздней акантеллы и цистаканта скребня *Acanthocephalus tenuirostris*, полученных в эксперименте. Для поздней акантеллы характерны двуслойная циста и признаки интенсивной секреции в поверхностной части тегумента. Для цистаканта характерны циста и толстый слой гликокаликса на поверхности тегумента, которые на всем своем протяжении вплотную прилегают друг к другу. В процессе препарирования некоторых цистакантов циста получила механическое повреждение; у этих цистакантов наблюдалось сбрасывание толстого слоя гликокаликса и связанной с ним цисты.

*Ключевые слова:* тегумент, гликокаликс, циста, скребень *Acanthocephalus tenuirostris*

**DOI:** 10.31857/S1026347023600103, **EDN:** EUUVQS

Акантоцефалы характеризуются ди- или трик-сенным циклом развития с включением обязательных промежуточного, окончательного и, у многих видов, необязательных одного или нескольких паратенических (резервуарных) хозяев. В организме промежуточного хозяина из проглоченного яйца выходит личинка-акантор, которая через несколько последовательных стадий акантеллы развивается в цистаканта — стадию, инвазионную для окончательного хозяина (Шульц, Гвоздев, 1970; Schmidt, 1985; и др.). В процессе развития акантелла претерпевает метаморфоз и окружается не клеточной цистой, формируемой паразитом (Nikishin, 1992); наличие цисты послужило основанием для введения термина “цистакант” (Шульц, Гвоздев, 1970). На поверхности поздней акантеллы в подавляющем большинстве случаев откладывается более или менее толстый слой гликокаликса, после чего паразит считается сформированным цистакантом (Никишин, 2018). Такой цистакант характеризуется полностью развитым хоботком, мышечной системой, другими внутренними органами, включая половые и, в частности, представляет собой юную особь паразита.

Предполагается, что циста и гликокаликс обеспечивают защиту от негативной клеточной реакции хозяина (Никишин, 2018). Столь же мощный слой гликокаликса, также предположительно выполняющий защитную функцию, отме-

чен на поверхности некоторых скребней, инвазирующих паратенических хозяев (Skorobrekhova, Nikishin, 2011; Никишин, 2018). На примере скребней, паразитирующих в паратенических хозяевах, получены данные, свидетельствующие о сбрасывании гликокаликса, предположительно, по мере накопления антигенов, и его возможном последующем новообразовании (Скоробрехова, Никишин, 2023).

Проводя экспериментальные исследования органогенеза скребня *Acanthocephalus tenuirostris*, мы обнаружили явление сбрасывания гликокаликса у цистакантов. Ниже приводится описание этого феномена.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Скребень *Acanthocephalus tenuirostris* — широко распространенный паразит хариусов и многих других пресноводных рыб Дальнего Востока и Северо-Востока России, промежуточным хозяином которого является водяной ослик *Asellus hilgendorphi* (Атрашкевич и др., 2005). Осенью 2019 г. были проведены два эксперимента по моделированию жизненного цикла этого скребня. В каждом эксперименте подопытными были 40 водяных осликов, отловленных в р. Амутты (бассейн р. Буюнда правый приток р. Колыма). Самки скребня были извлечены из хариуса, отловленного

в р. Эльген (левом притоке р. Колыма). Заражение происходило путем бесконтрольного скармливания водяным осликам фрагментов самок скребня (по одной в каждом эксперименте) со зрелыми яйцами в течение суток. Через сутки водяные ослики были помещены в небольшие емкости с пресной водой и мхом рода *Calliergon*, которые содержались в термокамерах.

Первый эксперимент проходил при температуре 14–15°C. На 60-й день эксперимента при вскрытии четырех водяных осликов было получено 2 цистаканта и 18 акантелл разных размеров. Второй эксперимент проводился при температуре 20–22°C. На 60-й день эксперимента при вскрытии пяти водяных осликов было найдено 3 цистаканта и 15 акантелл разных размеров. На 65-й день было вскрыто 3 водяных ослика и найдены 1 цистакант и 9 акантелл разных размеров.

Полученные скребни были зафиксированы в 2% растворе глутарового альдегида на 0.1 М фосфатном буфере, постфиксированы в 2% растворе тетраоксида осмия на 0.2 М фосфатном буфере, обезвожены в спиртах возрастающей концентрации (в процессе обезвоживания образцы контрастировали в 1% растворе уранилацетата на 70% спирте в течение 12 ч) и заключены в смесь Эпона и Аралдита.

Полутонкие и ультратонкие срезы были получены с помощью микротомов LKB-V (Швеция) и РТ-РС (США), соответственно. Полутонкие срезы окрашивали смесью метиленового синего и кристаллического фиолетового в соотношении 1 : 1 на 2.5% растворе бикарбоната натрия и исследовали с помощью светового микроскопа Olympus CX41 с использованием фотокамеры Olympus E-420. Ультратонкие срезы дополнительно контрастировали в 1% растворе уранилацетата на 70% спирте в течение 2 ч и исследовали с использованием трансмиссионного электронного микроскопа JEM1400PLUS и фотокамеры SIS Veleta. Полученные фотографии обрабатывали с помощью пакета программ CorelDRAW 18. Всего были исследованы 5 поздних акантелл и 6 цистакантов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Поздние акантеллы окружены двуслойной цистой, толщиной 0.7 мкм (рис. 1а). Наружный слой цисты, толщиной 0.57 мкм, образован рыхло организованным материалом умеренной электронной плотности. В составе этого материала определяются аморфные скопления, везикулы, диаметром 33 нм, неясные структуры, напоминающие фрагменты микроворсинок, длиной 0.2 мкм и диаметром до 22 нм, и электронно-плотные гранулы. Внутренний слой цисты, толщиной 0.12 мкм, образован аморфным материалом высокой электронной

плотности, визуальным образом более плотно, чем наружный слой.

Поверхностная часть тегумента акантелл образована покровным комплексом без заметного слоя гликокаликса на его поверхности (рис. 1а). Покровный комплекс пронизан многочисленными инвагинатами наружной плазматической мембраны, открывающимися на его поверхности порами, диаметром 0.12 мкм. Инвагинаты расширены и их терминальные участки образуют везикулярный слой тегумента. Некоторые инвагинаты содержат небольшие скопления аморфного материала, сходного с материалом, образующим внутренний слой цисты, а также везикулы, по морфологии сходные с везикулами, обнаруженными в наружном слое цисты.

В толще тегумента наблюдаются светлые полости, достигающие в диаметре 2.2 мкм, с электронно-плотным содержимым неясной природы (рис. 1а). Похожие полости, но без плотного содержимого отмечаются вблизи слоя инвагинатов; в некоторых случаях полости и терминальные участки инвагинатов сливаются.

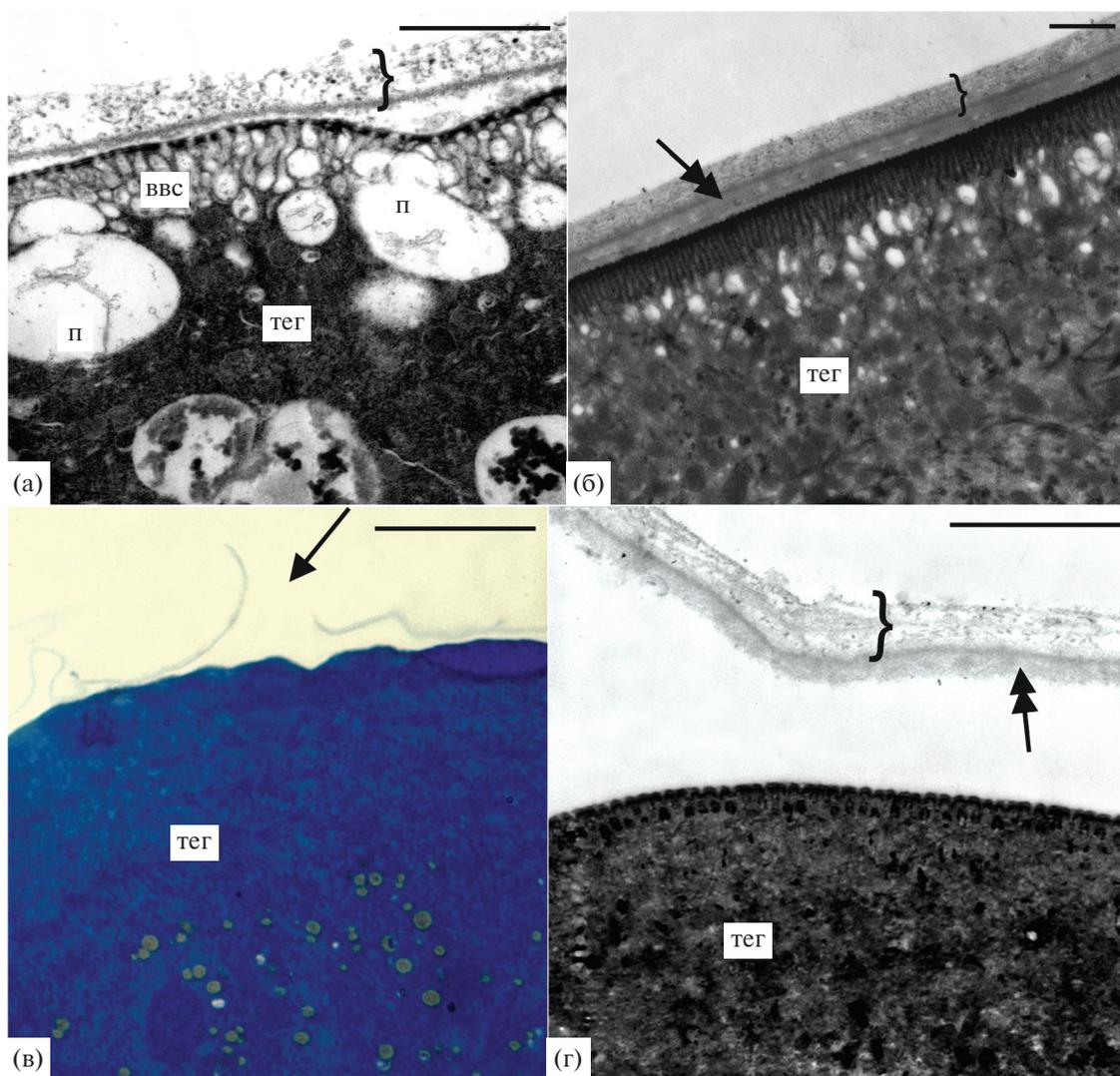
Поверхность трех исследованных цистакантов покрыта слоем гликокаликса, толщиной 0.3 мкм, образованным аморфным материалом умеренной электронной плотности, в котором наблюдаются мелкие светлые участки (рис. 1б). Вплотную к наружной поверхности гликокаликса примыкает двуслойная циста. В отличие от цисты, окружающей поздних акантелл, толщина цисты цистакантов не превышает 0.5 мкм, и составляющий ее материал организован заметно плотнее.

Инвагинаты наружной мембраны цистакантов приобретают форму ампул: на большем своем протяжении они сужены и придают радиальную исчерченность поперечно-полосатому слою тегумента, тогда как расширения их терминальных участков, образующих везикулярный слой тегумента, не превышают 0.32 мкм. Крупные светлые полости, содержащие электронно-плотный материал, описанные в тегументе поздних акантелл, в тегументе цистакантов не обнаружены.

У трех цистакантов целостность цисты была механически нарушена при препарировании гельминтов (рис. 1в, 1г). В этих случаях гликокаликс был отдален от тегумента на некоторое расстояние, но сохранял непрерывный контакт с цистой (рис. 1г). Другие изменения в строении тегумента этих цистакантов не обнаружены.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Согласно существующим представлениям, циста, окружающая цистаканта, и толстый слой гликокаликса на его поверхности в числе прочих функций обеспечивают защиту паразита от негативного ответа промежуточного хозяина на инва-



**Рис. 1.** Поверхность тегумента. (а) – поздняя акантелла, (б–г) – цистаканты. ввс – выраженный везикулярный слой тегумента, п – светлые полости, тег – тегумент. Фигурной скобкой показана циста. Стрелкой с одинарным наконечником показан разрыв цисты, с двойным – толстый слой гликокаликса. Масштаб: а, г – 2 мкм; б – 1 мкм; в – 20 мкм.

зию (Lumsden, 1968; Никишин, 2004 и др.). При этом формирование цисты происходит в течение почти всего периода развития паразита в промежуточном хозяине вплоть до стадии цистаканта (Nikishin, 1992), тогда как образование гликокаликса представляет собой кратковременный процесс, который может рассматриваться как завершающий этап этого развития (Никишин, 2004). Такая очередность, вероятно, обусловлена тем, что обе структуры (и циста, и гликокаликс) формируются в результате секреторной деятельности тегумента, точнее, инвагинатов наружной цитоплазматической мембраны, образующих поперечно-полосатый слой тегумента (Никишин, 2004). Полученные результаты подтверждают этот вывод, и расширение инвагинатов у поздних акантелл может быть связано с их секреторной функцией. У ци-

стантов, уже сформировавших цисту и толстый слой гликокаликса, инвагинаты сужены, и поперечно-полосатый слой принимает “обычный” вид, характерный для взрослых скребней, инвазирующих окончательных хозяев.

Интерпретация крупных светлых полостей с содержимым высокой электронной плотности, обнаруженных в тегументе поздних акантелл, затруднительна. В имеющейся литературе аналогов этой находки не обнаружено. Создается впечатление, что эти полости мигрируют из глубины тегумента к поперечно-полосатому слою, в процессе миграции утрачивают содержимое и сливаются с расширенными инвагинатами наружной цитоплазматической мембраны. Косвенным аргументом в пользу этой версии является отсутствие подобных полостей в тегументе цистакантов, у которых циста

и гликокаликс сформированы полностью и секреторная активность тегумента снижена.

Необычной оказалась тесная связь толстого слоя гликокаликса и цисты у цистакантов. Предположение, что эта связь возникает вследствие значительного роста паразита, происходящего после формирования цисты, может быть поддержано только фактом “малого жизненного пространства” в полости тела водяного ослика в случаях высокой интенсивности инвазии; именно такие случаи наблюдались в эксперименте. Не исключая “механического” фактора, более привлекательной выглядит гипотеза о химическом сходстве материала гликокаликса и цисты, впервые высказанная на основании гистохимического изучения этих структур у метацеркарий трематод (Lumsden, 1968; Lumsden, 1975). В пользу этой гипотезы косвенно свидетельствует факт сохранения тесного контакта цисты и гликокаликса даже в случае отделения гликокаликса от тегумента.

Явление отделения гликокаликса от тегумента наблюдалось у ряда организмов, ведущих паразитический образ жизни. Биохимия этого процесса была описана у простейших (Zambrano-Vila *et al.*, 2002), шистосомул *Schistosoma mansoni* (Samuelson, Caulfield, 1982), в культуре эксцистированных церкарий *Fasciola hepatica* (Lammás, Duffus, 1983), церкарий *Trichobilharzia regenti* (Řimnáčová *et al.*, 2017) и в ряде других случаев. Биологический смысл этого явления заключается в уклонении от иммунного ответа хозяина (Zambrano-Vila *et al.*, 2002; Řimnáčová *et al.*, 2017 и др.) путем сбрасывания гликокаликса, подвергнувшегося или воздействию комплемента и антител (Samuelson, Caulfield, 1982; Da'dara, Krautz-Peterson, 2014 и др.) или инкубации при температуре 37°C (Lammás, Duffus, 1983). При этом в случаях трансформации церкарий в шистосомулы сбрасывание гликокаликса происходит вместе с наружной мембраной тегумента (Samuelson, Caulfield, 1982; Řimnáčová *et al.*, 2017). Однако морфология процесса утраты гликокаликса до недавнего времени не документировалась.

Электронно-микроскопически это явление впервые наблюдалось у скребня *Corynosoma strumosum*, инвазирующего обычных паратенических хозяев этого паразита: в экспериментальной инвазии толстошека Миддендорфа *Hadropareia middendorffii* на третьи сутки эксперимента и в естественной инвазии тихоокеанского белокорого палтуса *Hippoglossus stenolepis* (Скоробрехова, Никишин, 2023). В толстошеках на четырнадцатые сутки эксперимента все коринозомы были покрыты толстым слоем гликокаликса, что дало основания предположить его вторичное образование взамен утраченного, обогащенного результатами иммунного ответа хозяина. У коринозом в палтусе тегумент вместе с толстым слоем гликокаликса утрачивал и наружную мембрану, а на ее месте формирова-

лась новая мембрана (Скоробрехова, Никишин, 2023); подобный феномен ранее был продемонстрирован иммунологическими исследованиями трематод (Horak *et al.*, 1998).

В отличие от упомянутых случаев, касающихся скребней, паразитирующих в паратенических хозяевах, в настоящей работе впервые описаны случаи отделения гликокаликса от тегумента у цистакантов, паразитирующих в промежуточном хозяине. Второе отличие заключается в том, что у скребней в паратенических хозяевах отделение гликокаликса было вызвано, по всей видимости, естественными причинами, а в случаях с исследованными здесь цистакантами это явление могло быть спровоцировано нарушением целостности цисты.

Ранее мы предположили, что стратегия уклонения тканевых паразитов от иммунного ответа хозяина путем смены/обновления поверхностной части их организма носит общий характер (Скоробрехова, Никишин, 2023). Полученные здесь результаты не противоречат этому предположению, однако необходимы дальнейшие исследования распространения этого феномена среди других групп паразитических червей, например, цистицеркоидов цестод.

Исследования проведены в ходе выполнения государственного задания по теме: “Гельминты в биоценозах северо-восточной Азии: биоразнообразие, морфология и молекулярная филогенетика” (№ 1021060307693-0).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Атрашкевич Г.И., Орловская О.М., Регель К.В., Михайлова Е.И., Поспехов В.В. Паразитические черви животных Тауйской губы // Биологическое разнообразие Тауйской губы Охотского моря. Отв. ред. Черешнев И.А. Владивосток: Дальнаука. 2005. С. 175–251.
- Никишин В.П. Цитоморфология скребней. М: ГЕОС, 2004. 234 с.
- Никишин В.П. Модификации гликокаликса скребней // Изв. РАН. Сер. биол. 2018. № 1. С. 42. <https://doi.org/10.7868/S000233291801006X>
- Скоробрехова Е.М., Никишин В.П. Феномен сбрасывания слоя гликокаликса у скребня *Corynosoma strumosum* (Rudolphi, 1802) Lühe, 1904 (Acanthocephala: Polymorphidae) в паратенических хозяевах в природе и эксперименте // Биология моря. 2023. Т. 49. № 1. С. 8–16.
- Шульц Р.С., Гвоздев Е.В. Основы общей гельминтологии. Том I. Морфология, систематика, филогения гельминтов. М.: Наука, 1970. 492 с.
- Da'dara A.A., Krautz-Peterson G. New insights into the reaction of *Schistosoma mansoni* cercaria to the human complement system // Parasitology Research. 2014. V. 113. P. 3685–3696. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4033-3>
- Horak P., Kovar L., Kolarova L., Nebesarova J. Cercaria-schistosomulum surface transformation of *Trichobilharzia szidati* and its putative immunological impact //

- Parasitology. 1998. V. 116. P. 139–147.  
<https://doi.org/10.1017/s0031182097002059>
- Lammas D.A., Duffus W.P.H. The shedding of the outer glycocalyx of juvenile *Fasciola hepatica* // Veterinary Parasitol. 1983. V. 12. № 2. P. 165–178.  
[https://doi.org/10.1016/0304-4017\(83\)90005-5](https://doi.org/10.1016/0304-4017(83)90005-5)
- Lumsden R.D. Ultrastructure of the metacercarial cyst of *Asocotyle chandleri* Lumsden, (1963) (Trematoda: Heterophyidae). Proceedings of the Helminthological Society of Washington. 1968. V. 35. P. 212–219
- Lumsden R.D. Surface ultrastructure and cytochemistry of parasitic helminths // Exp. Parasitol. 1975. V. 37. № 2. P. 267.  
[https://doi.org/10.1016/0014-4894\(75\)90078-8](https://doi.org/10.1016/0014-4894(75)90078-8)
- Nikishin V.P. Formation of the capsule around *Filicollis anatis* in its intermediate host // J. Parasitol. 1992. V. 78. № 1. P. 127.
- Řimnáčová J., Mikeš L., Turjanicová L., Bulantová J. Changes in surface glycosylation and glycocalyx shedding in *Trichobilharzia regenti* (Schistosomatidae) during the transformation of cercaria to schistosomulum // PLoS ONE 12 (3): e0173217. 2017.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173217>
- Samuelson J.C., Caulfield J.P. Loss of covalently labeled glycoproteins and glycolipids from the schistosomula of *Schistosoma mansoni* // J. Cell Biol. 1982. V. 94. № 2. P. 363–369.  
<https://doi.org/10.1083/jcb.94.2.363>
- Schmidt G.D. Development and life cycles. In: Biology of the Acanthocephala. Edited by D.W.T. Crompton, B.B. Nickol. Cambridge University Press. 1985. P. 273–305.
- Skorobrechova E.M., Nikishin V.P. Structure of capsule surrounding acanthocephalans *Corynosoma strumosum* in paratenic hosts of three species // Parasitology Research. 2011. V. 108. P. 467–475.  
<https://doi.org/10.1007/s00436-010-2088-3>
- Zambrano-Vila S., Rosales-Borjas D., Carrero J.C., Ortiz-Ortiz L. How protozoan parasites evade the immune response // Trends in Parasitol. V. 18. № 6. P. 272–278.  
[https://doi.org/10.1016/S1471-4922\(02\)02289-4](https://doi.org/10.1016/S1471-4922(02)02289-4)

## Shedding of a Thick Layer of Glycocalyx in Cystacanth of the Acanthocephalan *Acanthocephalus tenuirostris* (Achmerov et Dombrowskaja – Achmerova, 1941)

T. V. Davydenko<sup>1, #</sup> and V. P. Nikishin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Biological Problems of the North, Portovaya str., 18, Magadan, 685000 Russia

<sup>#</sup>e-mail: sasha17@mail.ru

An electron microscopic study of the teguments of the late acanthella and the cystacanth acanthocephalan *Acanthocephalus tenuirostris* obtained in the experiment was carried out. The late acanthella is characterized by a bilayer cyst and signs of intense secretion in the surface part of the tegument. A cystacanth is characterized by a cyst and a thick layer of glycocalyx on the surface of the tegument, which are closely adjacent to each other along their entire length. During the preparation of some cystacanths, the cyst received mechanical damage; in these cystacanths, shedding of a thick layer of glycocalyx and associated cyst was observed.

**Keywords:** tegument, glycocalyx, cyst, acanthocephalan *Acanthocephalus tenuirostris*