

УЛЬТРАСТРУКТУРА СТЕНКИ ЦИСТЫ  
МЕТАЦЕСТОД *APLOPARAKSIS POLYSTICTAE*  
И *A. FURCIGERA* (CESTODA, CYCLOPHYLLIDAE)

Г. П. Краснощеков, В. П. Никишин

Институт биологических проблем Севера ДВНЦ АН СССР, Магадан

Описана электронно-микроскопическая структура стенки цисты двух видов метацестод рода *Aploparaksis*, относящихся к диплоцистам.

В настоящее время изучена ультраструктура личинок лишь немногих высших цестод (Ubelaker e. a., 1970; Baron, 1971; Allison e. a., 1972; Rees, 1973; Crowe, Burt, 1974; Caley, 1974, 1975, 1976; Gabrion, Gabrion, 1976). Имеющиеся данные указывают на значительную изменчивость элементов цисты и церкомера, обеспечивающую адаптацию к промежуточному хозяину, и сохранение сколекса в процессе инвазии дефинитивного хозяина. Для цестод семейства *Hymenolepididae* характерно образование личинок нескольких типов, различающихся взаимоотношением цисты и хвостового придатка. Крайними вариантами являются церкоциста с простым хвостовым придатком и диплоциста, у которой хвостовой придаток трансформируется в дополнительную наружную оболочку — экзоцисту. Сущность этого явления неясна, но можно предполагать структурную и функциональную дивергенцию цисты у диплоцист в связи с формированием дополнительной оболочки из церкомера. Строение защитных оболочек церкоцисты описано на примере *Hymenolepis diminuta* (Ubelaker e. a., 1970; Allison e. a., 1972). Другие модификации цистицеркоидов практически не исследованы. В связи с этим нами было проведено изучение ультраструктуры стенки цисты метацестод *Aploparaksis polystictae* Schiller, 1955 и *A. furcigera* (Rudolphi, 1819), относящихся к диплоцистам.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Зрелых цистицеркоид *A. furcigera* и *A. polystictae* из спонтанно зараженных олигохет (опыты и определения С. К. Бондаренко) фиксировали в течение 2 ч в 1—2%-ном глутаральдегиде на фосфатном буфере (рН 7.4), обрабатывали 1%-ным тетраоксидом осмия на вероналацетатном буфере (рН 7.4), окрашивали 2%-ным раствором уранилацетата в 70%-ном спирте и после обезвоживания заключали в эпон-аралдит. Срезы контрастировали цитратом свинца и исследовали с помощью электронного микроскопа УЭМВ-100К.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Стенка цисты исследованных личинок состоит из следующих слоев: гликокаликса, тегумента, фиброзного слоя, содержащего клеточные элементы, и слоя, ограничивающего полость цисты. Гликокаликс, толщиной около 2 мкм (рис. 1, в; см. вкл.), покрывает тегумент цисты на всем ее

протяжении, истончаясь в месте перехода с цисты на хвостовой придаток. Он состоит из мелких электронноплотных гранул и фибрилл, образующих мелкоячеистую сеть. Прилежащий к тегументу слой гликокаликса, толщиной 50—200 нм, отличается большей дисперсностью и плотностью материала (рис. 1, б). В наружных отделах гликокаликс более рыхлый, содержит фрагменты микроворсинок 70—120 нм в диаметре с расширенными до 500 нм апикальными участками (рис. 1, в).

Тегумент цисты — 0.5—2 мкм, на наружной поверхности его имеются узелковидные образования, шириной 100—300 нм и высотой 50—250 нм (рис. 1, б; 3, а). От их вершин отходят ундулирующие трубочки (Вагон, 1971) диаметром 20—30 нм (рис. 1, б). Поверхность тегумента ограничена цитоплазматической мембраной, переходящей в стенку ундулирующих трубочек. Внутренний контур тегумента неровный; прослойки подлежащей волокнистой ткани вдаются в тегумент, доходя до его верхней 1/3—1/4 и разделяя поверхностный синцитий на отдельные «блоки». Матрикс тегумента гомогенный, плотный (рис. 1, в; 3, а). Под наружной цитоплазматической мембраной отмечается узкая зона повышенной электронной плотности (рис. 3, а).

Цитоплазматические мостики между тегументом и цитонами немногочисленные, диаметром от 40 до 300 нм, содержат микротрубочки (рис. 1, а; 3, б). Вблизи тегумента мостики ампулообразно расширены, в них погружены отростки матрикса тегумента. Ограничивающая мостики цитоплазматическая мембрана переходит во внутреннюю мембрану поверхностного синцития. Последняя непостоянно отделена от плотного матрикса тегумента электронносветлым пространством, более широким вблизи цитоплазматических мостиков. В нем и в устьях мостиков выявляются сферические, ограниченные мембраной везикулы, диаметром 35—50 нм (рис. 1, а). Везикулы встречаются также в полостях, выявляющихся в цитоплазматических мостиках (рис. 1, а; 3, б) и в тегументе (рис. 1, б). Эти полости отделены от матрикса цитоплазматическими мембранами и нередко открываются на поверхность тегумента непосредственно или через каналы. В тегументе отмечаются также полости, содержащие тонкофибриллярный материал и представляющие, очевидно, поперечное сечение инвагинатов внутренней цитоплазматической мембраны с включением элементов подлежащего фиброзного слоя.

Тегумент в области выходной щели и в участках перехода с цисты на хвостовой придаток значительно отличается от описанного. Он намного тоньше — 0.15—0.5 мкм, покрыт микроворсинками, матрикс его светлый. Электронноплотный материал выявляется в узелковидных расширениях оснований микроворсинок (рис. 1, в); в матриксе тегумента он встречается в виде неправильной формы глыбок. В поверхностном синцитии имеются немногочисленные мелкие везикулы, длинные инвагинаты внутренней цитоплазматической мембраны (рис. 3, в) и относительно крупные полости, заполненные сферическими везикулами. Последние нередко выявляются и на поверхности тегумента.

Под тегументом располагается массивный фиброзный слой (рис. 1, а; 3, а), состоящий из трех частей. Наиболее наружная, толщиной 70—200 нм, непосредственно примыкает к тегументу, образована войлокоподобным скоплением тонких фибрилл, обычно описывается как базальная пластинка. Средняя часть фиброзного слоя состоит из преимущественно циркулярных пучков волокон диаметром 9—14 нм (у *A. furcigera* — до 25 нм). Наружные отделы этого слоя содержат циркулярные мышечные волокна и цитоплазматические отростки (рис. 3, а).

Внутренняя часть фиброзного слоя состоит из фибрилл, ориентированных вдоль передне-задней оси цистицеркоида, пучков продольных мышечных волокон и значительного количества клеточных элементов. Среди последних можно выделить цитоны тегумента клетки с расширенными каналцами гранулированной эндоплазматической сети (ГЭС) и «секреторные» клетки. Цитоны тегумента (рис. 2, б; 3, в; см. вкл.) — небольших размеров, неправильно звездчатой формы, с развитыми цитоплаз-

матическими отростками, часть которых достигает поверхностного синцития. Вследствие небольшого диаметра и извитости отростков редко удается проследить их на всем протяжении. Ядра клеток с неровными контурами, кариоплазма темнее цитоплазмы, содержит 1—2 ядрышка

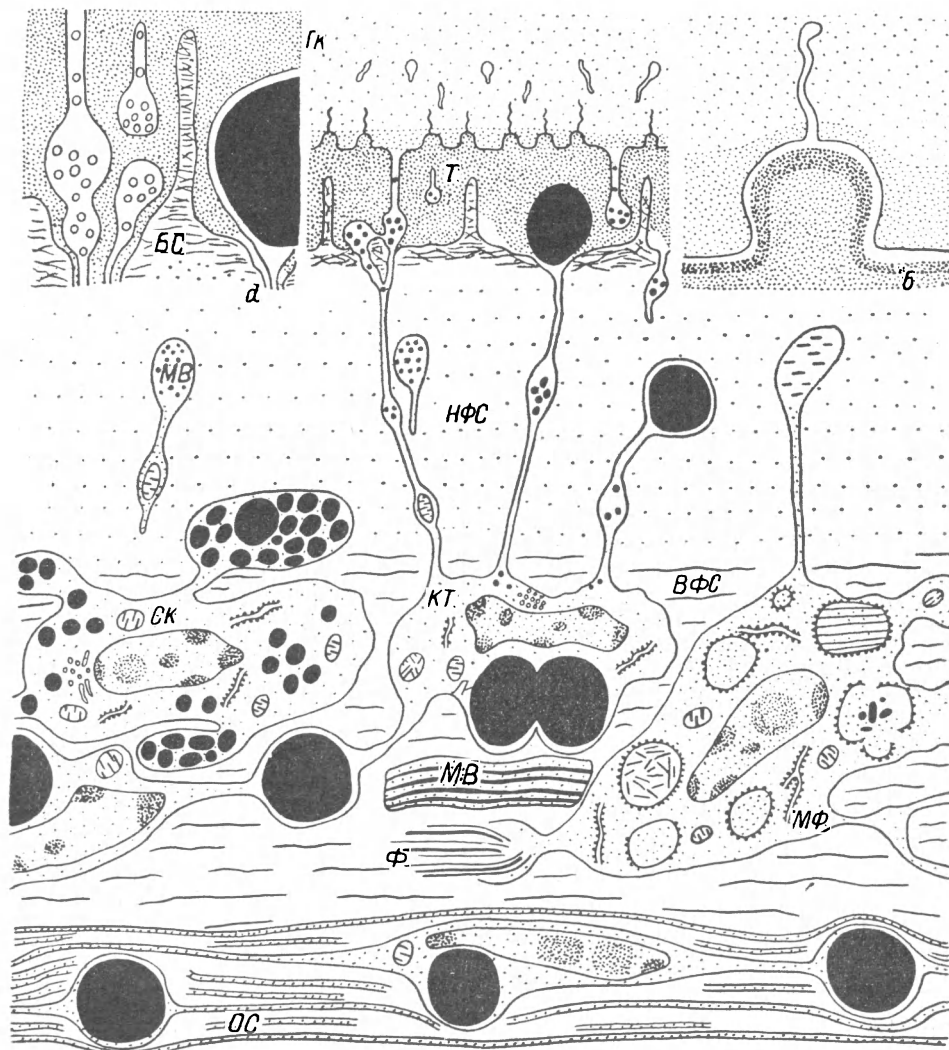


Рис. 4. Схема строения стенки цисты личинки *A. polystictae*.

*a* — «поры-каналы» тегумента; *b* — узелковидное образование с ундулирующей трубкой. Условные обозначения к рис. 1—4. БС — базальный слой; ВФС — внутренний фиброзный слой; Гк — гликокаликс; КГ — комплекс Гольджи; КТ — клетка тегумента; МФ — миофибробластическая клетка; Л — липиды; МВ — мышечные волокна; Мс — микроворсинки; Мт — митохондрии; НФС — наружный фиброзный слой; ОС — слой, ограничивающий полость цисты; СК — «секреторные» клетки; Т — тегумент; ЦМ — цитоплазматический мостик; Я — ядро.

и глыбки хроматина по периферии ядра. В цитоплазме имеются немногочисленные овальные митохондрии с большим количеством светлых крист, редкие каналцы ГЭС, значительное количество рибосом и полисом, одна или несколько зон Гольджи. Для цитонов тегумента характерны включения мелких везикул, аналогичных описанным в цитоплазматических мостиках.

Клетки с расширенными каналцами ГЭС (рис. 2, *в*) крупнее цитонов тегумента, отличаются относительно небольшим ядром с ядрышком и значительным количеством сконцентрированного вблизи кариолеммы хроматина. Цитоплазма плотнее кариоплазмы, содержит немногочисленные

митохондрии. Для этих клеток типична хорошо развитая ГЭС, кистовидно расширенные цистерны которой занимают большую часть цитоплазмы. Содержимое цистерн мелкогранулярное, средней плотности; изредка — фибриллярное с признаками его секреции в прилежащую фиброзную ткань (рис. 2, з). По толщине и внешнему виду фибриллы сходны с волокнами фиброзного слоя. Упорядоченные скопления фибрилл наблюдаются и в цитоплазме вне цистерн. Эти клетки цитоплазматическими отростками связаны с мышечными волокнами стенки цисты.

«Секреторные» клетки имеют овальную форму и многочисленные цитоплазматические отростки (рис. 2, а). Ядра светлые, с 1—3 ядрышками и глыбками хроматина у кариолеммы; в цитоплазме выявляются редкие митохондрии, слабо развитая ГЭС, многочисленные свободные рибосомы, зоны Гольджи, образованные цистернами и везикулами, и множественные электронноплотные сферические гранулы, окруженные мембраной. Диаметр их 250—650 нм, у *A. furcigera* — до 900 нм. Гранулы концентрируются в цитоплазматических отростках, где они нередко заполняют все пространство, приобретая угловатую форму. Отростки при этом увеличиваются и в ряде случаев величина их становится сравнимой с величиной тела клетки. Они нередко встречаются в глубине фиброзного слоя, но не вблизи тегумента. Отростки секреторных клеток часто тесно контактируют с клетками других типов, так что не всегда удается с уверенностью дифференцировать границу между ними.

Слой, ограничивающий полость цисты, состоит из многочисленных, компактно расположенных цитоплазматических мембран, сходных с миелиновыми (рис. 3, з). Его строение не отличается от описанного другими авторами (Allison e. a., 1972; Caley, 1974).

Структура разных участков цисты несколько варьирует. В переднем полюсе вокруг выходной щели фиброзная и мышечная ткань более развиты, клеточные элементы в основном представлены клетками с расширенной ГЭС, число их меньше, чем в других участках цисты. В заднем полюсе личинки слой, ограничивающий полость цисты, значительно утолщен, более рыхлый, клетки более многочисленны. В глубине фиброзного слоя выявляются протонефридии и экскреторные каналы с образующими их клетками.

В стенке цисты *A. polystictae* обнаруживается большое количество капель липидов до 2—3 мкм в диаметре. Они выявляются чаще в цитонах тегумента (рис. 3, в) и в клетках слоя, ограничивающего полость цисты (рис. 3, з). Количество их в одной клетке достигает 10, при этом ядро подвергается пикнозу, а цитоплазма обедняется органеллами. Капли липидов из цитонов тегумента по канальцам цитоплазматических мостиков могут транспортироваться вплоть до тегумента (рис. 3, а). При локализации в фиброзном слое и тегументе липидные капли окружены цитоплазматическими мембранами, что свидетельствует о их расположении в просвете канальцев цитоплазматических мостиков и тегумента. В тегументе выходной щели наблюдаются выпячивания цитоплазмы вместе с поверхностно расположенными каплями липидов. Последние нередко свободно располагаются в просвете выходной щели между микроворсинками (рис. 3, д, е). Общее строение цисты и взаимоотношение между отдельными ее элементами представлено на схеме (рис. 4).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют, что развитие дополнительной наружной оболочки из хвостового придатка не влечет за собой изменений структуры стенки цисты; архитектоника ее не отличается от описанной для других типов цистицеркоидов (Ubelaker e. a., 1970; Baron, 1971; Grove, Burt, 1974; Caley, 1976). Поверхность цисты покрыта тегументом, имеющим типичную для погруженного эпителия плоских червей организацию, но отличающимся рядом особенностей. Поверхностный синцитий лишен микротрихимального бордюра, не содержит клеточных орга-

нелл и включений, заполнен гомогенным веществом высокой электронной плотности. Анализ имеющихся описаний цистицеркоидов показывает, что именно морфология поверхностного синцития цисты наиболее переменчива. У *Himenolepis diminuta* и *H. microstoma* он имеет типичное для цестод строение (Ubelaker e. a., 1970; Caley, 1974), у *Anomotaenia constricta* заполнен плотными тельцами (Gabrion, Gabrion, 1976), у *Raillietina cestocillus* — крупными глобулами (Baron, 1971), у *Moniezia expansa* представляет однородную массу гранулярного вида (Caley, 1976). Эти вариации обусловлены видовыми особенностями и могут иметь адаптивное значение.

Узелковидные образования на поверхности тегумента цисты соответствуют ранее описанным у цистицеркоидов (Baron, 1971) и на протосколексе цистицерков (Morseth, 1967; Bortoletti, Ferretti, 1973; Crove, Burt, 1974). Судя по морфологии, их следует расценивать как проксимальную часть неразвитых микротрихий (Morseth, 1967). Наблюдения над тегументом в области выходной щели приводят к выводу, что они формируются в базальной части микроворсинок. Дистальные отделы последних при этом подвергаются редукции, их остатки сохраняются в толще гликокаликса в виде ундулирующих трубочек и вакуолизированных фрагментов апикальных частей.

Для диплоцист характерна локализация гликокаликса на поверхности тегумента цисты, отделенной от тканей хозяина экзоцистой. Это подтверждает его образование путем секреции личинкой, а не в результате защитных реакций хозяина на инвазию. Морфологическими проявлениями этого процесса является, по-видимому, выделение везикул, образующихся в цитонах, на поверхность тегумента. Функции, приписываемые гликокаликсу, весьма многообразны, но они не подтверждены фактическими данными. Наиболее вероятно, что у диплоцист гликокаликс способствует адгезии личинки к стенке желудочно-кишечного тракта в процессе инвазии (Baron, 1973; Gabrion, Gabrion, 1976).

Цитоплазматические мостики тегумента обеспечивают транспорт субстанций из цитонов в наружный цитоплазматический синцитий. Анализ структурных отношений матрикса тегумента, секретлируемых цитонами сферических везикул, липидных капель и микротрубочек, приводит к заключению, что в цитоплазматических мостиках существуют две достаточно автономные системы транспорта. Одна из них представлена микротрубочками. Они, как и цитоплазматические мостики в целом, обладают значительной способностью к расширению, вмещая при диаметре порядка 20—30 нм липидные капли 2—3 мкм в диаметре. Судя по концентрации везикул в ограниченных локусах расширений цитоплазматических мостиков, секреция их происходит отдельными порциями. Возможно, что это характерно только для зрелых личинок с развитым фиброзным слоем, несомненно ограничивающим возможность прохождения материала по микротрубочкам. В матриксе тегумента скопления сферических везикул заключены в полости, ограниченные мембранами и нередко открывающиеся на поверхность тегумента. Эти структуры напоминают секреторные образования в тегументе плероцеркоидов *Spirometra erinacei* (Kwa, 1972). Наиболее вероятно, что такие полости являются расширениями микротрубочек, пронизывающих тегумент. Это предполагает существование непосредственных связей цитоплазмы цитонов с окружающей средой.

Иной системой транспорта является матрикс цитоплазматических мостиков. По ним в поверхностный синцитий поступают субстанции, необходимые для образования его матрикса. К сожалению, мы исследовали только зрелые личинки и не наблюдали электронноплотного вещества, аналогичного заполняющему тегумент, в цитонах или в цитоплазматических мостиках. Однако оно отсутствует и в цитонах тегумента в области выходной щели, где последний представляется мало дифференцированным. Об этом свидетельствует наличие микроворсинок, отсутствие узелковидных образований, светлый матрикс, многочисленные инвагинаты внутренней цитоплазматической мембраны. Отложение электронноплотного матери-

ала в нем происходит отдельными локусами и не связано с какими-либо специализированными элементами в виде гранул, везикул и т. п. Не исключено, что электронноплотный материал тегумента цисты является продуктом конденсации матрикса цитоплазмы.

В фиброзном слое цисты исследованных видов личинок, помимо цитонов, выявлены два типа клеток. Клетки с расширенными каналцами ГЭС описаны в цисте личинок других видов цестод (Bogitsh, 1969; Allison e. a., 1972; Caley, 1976). Наши результаты подтверждают данные о их связи с мышечными волокнами и секрецией фибриллярного материала фиброзного слоя (Caley, 1974, 1976). Нами получены дополнительные доказательства превращения зернистого материала цистерн эндоплазматической сети в фибриллярный и его секреции в прилежащую ткань. Однако этот процесс наблюдается весьма редко; по-видимому, преобладает секреция зернистого содержимого цистерн с полимеризацией его в фибриллы на поверхности клеток, как предполагает Калей (Caley, 1976). Таким образом, эти клетки с расширенной ГЭС следует рассматривать как миофибробластические элементы, типичные фибробласты у исследованных видов не обнаружены. «Секреторные» клетки характеризуются накоплением в цитоплазме электронноплотных гранул. Нам не удалось получить каких-либо доказательств связи этих клеток с другими, как и секреции гранул в тегумент. Создается впечатление, что эти гранулы депонируются в клетках и их отростках. Подобные клетки, насколько нам известно, не были отмечены в личинках других видов цестод. Функция их неясна, возможно, они имеют значение в процессе инвазии личинкой окончательного хозяина.

Видовые различия исследованных личинок незначительны. Они имеют количественный характер и могут быть обусловлены возрастными особенностями. Для *A. polystictae* характерны многочисленные капли липидов во всех отделах цисты, тогда как у *A. furcigera* единичные капли выявляются в цитонах тегумента. Наиболее вероятно, что липиды накапливаются в результате дистрофических изменений, хотя нельзя исключить образование их как продуктов анаэробного метаболизма (Brand, 1966). Обнаружение капель липидов в толще тегумента и в просвете выходной щели свидетельствует о возможности их экскреции по крайней мере через менее дифференцированный тегумент в области выходной щели.

#### Литература

- Allison V. F., Ubelaker J. E., Cooper N. B. 1972. The fine structure of the cysticercoid of *Hymenolepis diminuta*. The inner wall of the capsule. — *Z. Parasitenk.*, 39 (2) : 137—147.
- Baron P. J. 1971. On the histology, histochemistry and ultrastructure of the cysticercoid of *Raillietina cesticillus* (Molin, 1853) Fuhrmann, 1920 (Cestoda, Cyclophyllidae). — *Parasitol.*, 62 (2) : 233—245.
- Bogitsh B. J. 1969. Fine structural localization of acid phosphatase and aryl sulfatase activities in the intermediate layer of *Hymenolepis diminuta* cysticercoids. — *Trans. Amer. micr. Soc.*, 88 (3) : 411—419.
- Bortoletti G., Ferretti G. 1973. Investigation on larval forms of *Echinococcus granulosus* with electron microscope. — *Rev. parasitol.*, 34 (2) : 89—110.
- Brand T. 1966. *Biochemistry of parasites*. N. Y. Acad. press. : 1—429.
- Caley J. 1974. The functional significance of scolex retraction and subsequent cyst formation in the cysticercoid larva of *Hymenolepis microstoma*. — *Parasitol.* 68 (2) : 207—227.
- Caley J. 1975. A comparative study of the two alternative larval forms of *Hymenolepis nana*, the dwarf tapeworm, with special reference to the process of excystment. — *Z. Parasitenk.*, 47 (2) : 217—235.
- Caley J. 1976. Ultrastructural studies of the cysticercoid of *Moniezia expansa* (Anoplocephalidae) with special reference to the development of the cyst. — *Z. Parasitenk.*, 48 (3—4) : 251—262.
- Crowe D. Y., Burt M. D. 1974. On the ultrastructure of the polycercus larva of *Paricterotaenia paradoxa* (Cestoda, Cyclophyllidae). — *Can. J. Zool.*, 52 (11) : 1397—1406.
- Gabriel C., Gabriel J. 1976. Etude ultrastructurale de la larve de *Anomotaenia constricta* (Cestoda, Cyclophyllidae). — *Z. Parasitenk.*, 49, (2) : 161—177.
- Kwa B. H. 1972. Studies on the sparganum of *Spirometra erinacei*. The fine structure of the tegument in the scolex. — *Int. J. Parasitol.*, 2 (1) : 35—43.

- M o r s e t h D. J. 1967. Fine structure of the hydatid cyst and protoscolex of *Echinococcus granulosus*. — J. Parasitol., 53 (2) : 312—325.
- R e e s F. G. 1973. The ultrastructure of the cysticeroid of *Tatria octacantha* Rees, 1973 (Cyclophyllidea, Amabillidae) from the damselfly nymphs *Pyrrhosoma nymphulla*, Sulz and *Enalligma cyathigerum*, Charp. — Parasitol., 67 (1) : 85—103.
- U b e l a k e r J. E., C o o p e r N. B., A l l i s o n V. F. 1970. The fine structure of *Hymenolepis diminuta*. The outer wall of the capsule. — Z. Parasitol., 34 (3) : 258—270.

---

ULTRASTRUCTURE OF THE WALL OF THE CYST  
OF APLOPARAKSIS POLYSTICTAE  
AND A. FURCIGERA (CESTODA, CYCLOPHYLLIDAEA)

G. P. Krasnoshchekov, V. P. Nikishin

S U M M A R Y

The development of the additional membrane (exocyst) from the caudal appendage in diplocysts does not change essentially the structure of the cyst's wall in metacestodes of the genus *Aploparaksis*. In cytoplasmic connections between cytons and the surface syncytium there are two autonomous enough systems of transport: microtubes opening to the surface of tegument and matrix of bridges which proceed to the matrix of external syncytium. In addition to cytons, in the cyst's wall there are cells with an enlarged granulated endoplasmic network, which are miofibroblasts, secretory cells performing an unclear function, protonephridia and cells limiting the cavity of the cyst of the layer. Differences in the larval morphology of both species are quite negligible and can be due to their age peculiarities.

---



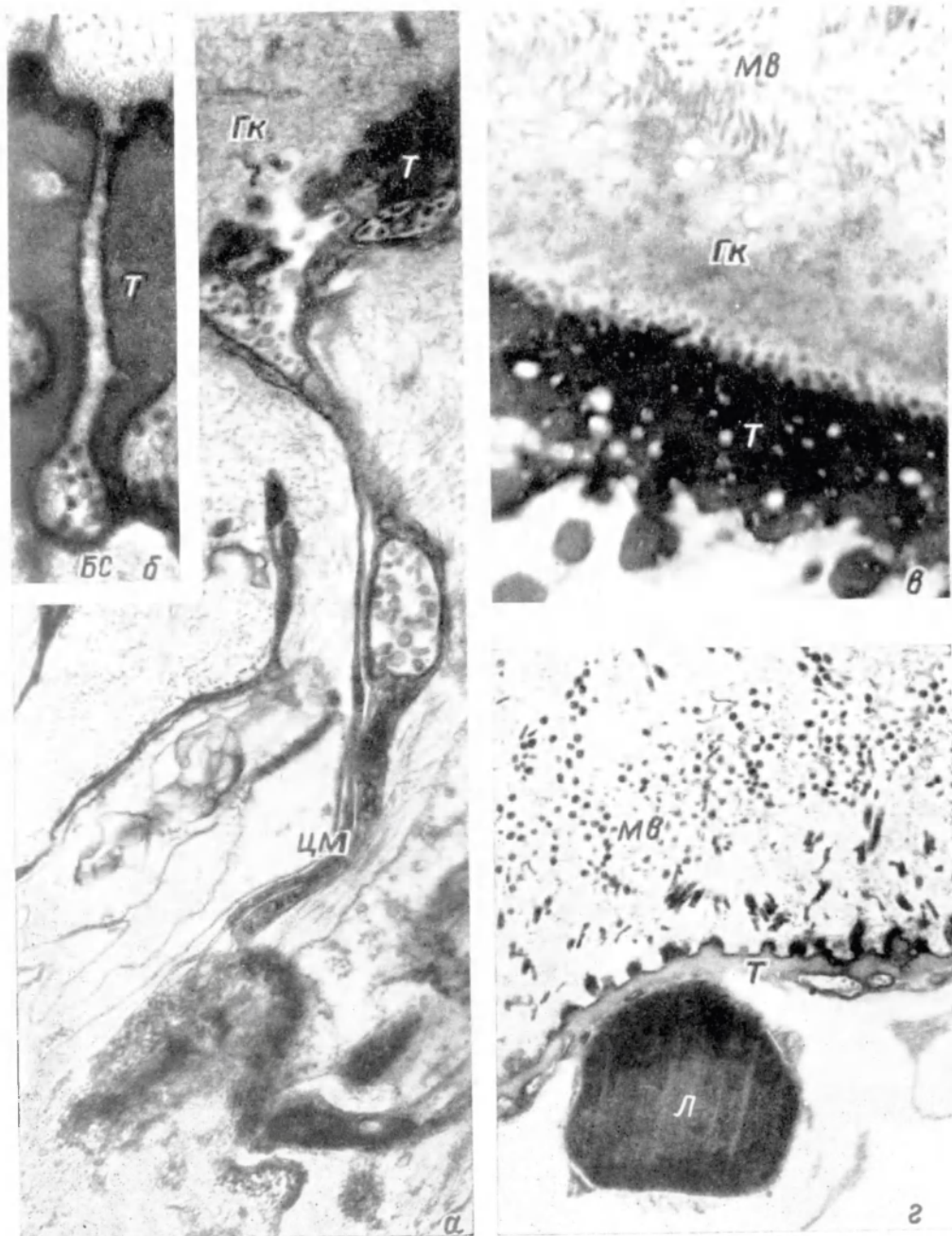


Рис. 1. Поверхностные отделы стенки цисты.

*a* — сферические везикулы в цитоплазматическом мостике, канал, открывающийся на поверхность тегмента. *A. polystictae*. Ув. 17 000. *б* — полость со сферическими тельцами и канал, открывающийся на поверхность тегмента. *A. polystictae*. Ув. 54 500. *в* — поверхностный синцитий и гликокаликс. *A. furcigera*. Ув. 5600. *г* — тегумент в области выходной щели. *A. polystictae*. Ув. 19 000.



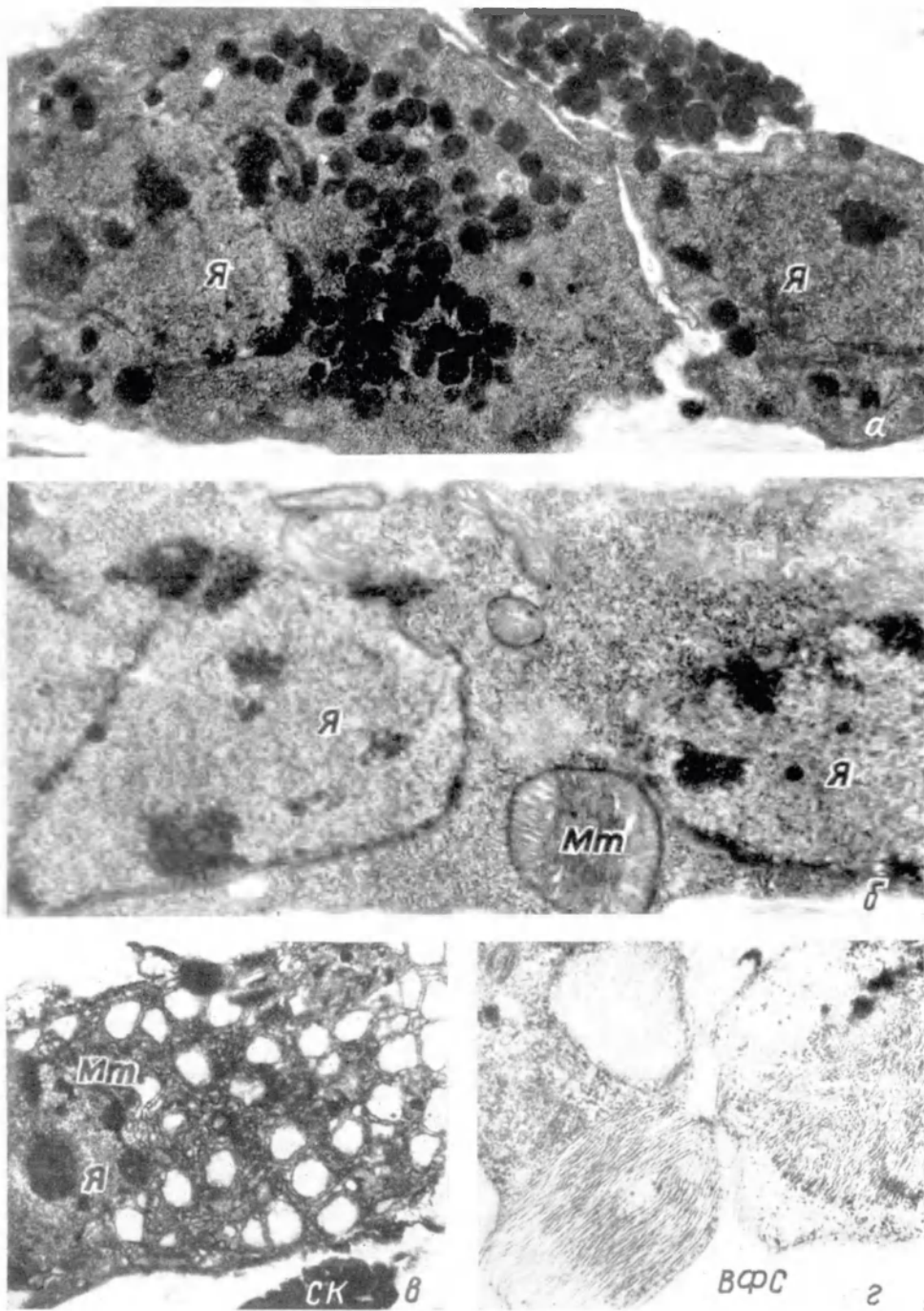


Рис. 2. Клетки стенки цисты.

*a* — «секреторная» клетка, *A. polystictae*. Ув. 17 000, *б* — фрагмент цитона, *A. polystictae*. Ув. 22 000.  
*в* — клетки с расширенными канальцами ГЭС, *A. furcigera*. Ув. 7000, *г* — фибриллярный материал  
 в цитоплазме клетки с расширенной ГЭС и его секрция в окружающую ткань. *A. polystictae*,  
 Ув. 18 000.

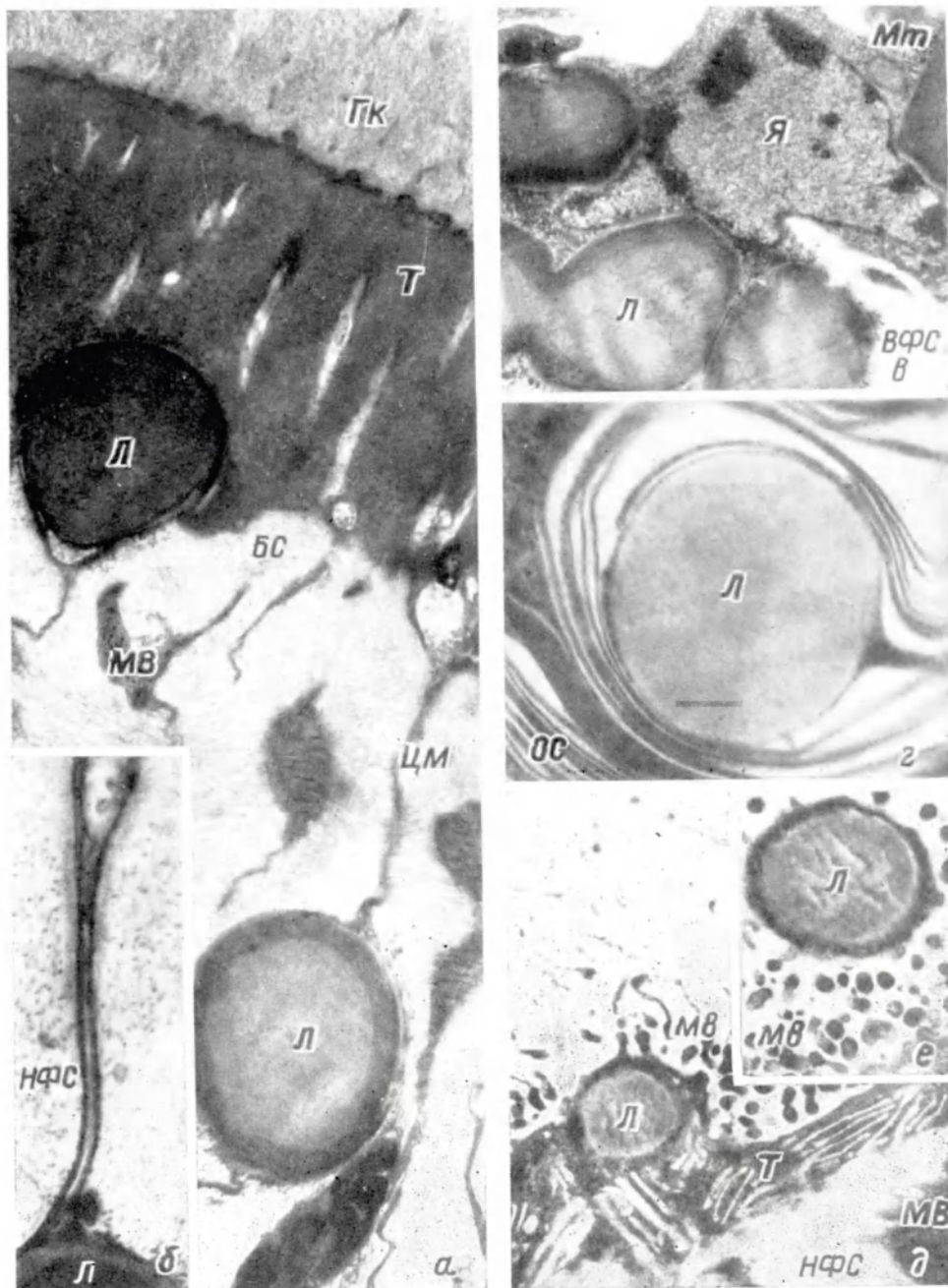


Рис. 3. Липиды в стенке цисты, *A. polystictae*.

*а* — в цитоплазматических мостиках тегумента. Ув. 18 000. *б* — в просвете расширенной микротрубочки цитоплазматического мостика. Ув. 29 000. *в* — в цитопле тегумента. Ув. 9000. *г* — в цитоплазматическом отростке клетки слоя, ограничивающего полость цисты. Ув. 43 500. *д* — в тегументе области выходной щели. Ув. 18 300. *е* — в просвете выходной щели. Ув. 27 500.