

УДК 576.895.122.21 : 591.341.1

© 1993

ИЗУЧЕНИЕ ПОВЕРХНОСТИ ЦИСТ И ЭКЦИСТИРОВАННЫХ МЕТАЦЕРКАРИЙ *OPISTHORCHIS FELINEUS* МЕТОДОМ СКАНИРУЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ

В. И. Иванских

Приводится описание наружной поверхности цист и эксцистированных метацеркарий описторхисов. Обсуждаются строение и функции присосок, тегумента, вооруженного шипиками, сенсорных образований.

В литературе последних лет все чаще появляются сведения о результатах изучения с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) различных стадий жизненного цикла трематод, в первую очередь шистосом и фасциол (Fried e. a., 1986; Ngendahayo e. a., 1987; Zhuang, Nie, 1986, и др.). Из описторхид изучен лишь *Opisthorchis viverrini*, причем как интактные особи, так и черви, подвергшиеся воздействию антигельминтиков (Sobhon e. a., 1986). У *O. felineus* методом сканирующей электронной микроскопии исследованы основные особенности строения поверхности тегумента метацеркарий и их цист (Иванских, 1989—1991). Других данных, полученных этим методом, о тонком строении тегумента описторхисов в доступной литературе нам обнаружить не удалось.

Целью нашей работы явилось изучение наружной поверхности цист и тегумента эксцистированных метацеркарий *O. felineus* при помощи СЭМ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Цисты с метацеркариями выделяли из карповых рыб (язей) методом переваривания тканей хозяина в искусственном желудочном соке. Рыбу отлавливали в реках Иртыш, Обь в Ханты-Мансийском р-не Тюменской обл. Эксцистирование личинок описторхисов осуществлялось с помощью желчи. Цисты и эксцистированных паразитов тщательно отмывали 0.9%-ным стерильным раствором хлорида натрия (рН 7.2). Материал фиксировали в 2.5%-ном растворе глутаральдегида на 0.1 М фосфатном буфере и дофиксировали в 1%-ном растворе четырехоксида осмия. После промывания в фосфатном буфере обезживали в спиртах восходящей концентрации, затем помещали в ацетон и высушивали при критической точке в установке НСР-2 фирмы «Хитачи». Объекты напыляли золотом и изучали на сканирующем электронном микроскопе JEOL JSM T-300.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что цисты метацеркарий имеют округлую форму. На поверхности цист выявлены углубления; ребристые складки опоясывают цисты в самых разных направлениях (рис. 1, а, б; см. вкл.). Форма цисты и выраженность складок непостоянны и зависят от положения личинки и ее активного давле-

ния на стенки оболочки в момент фиксации. На складках обнаружены участки, несущие шаровидные образования диаметром 4—7 мкм, расположенные одиночно или гроздьями до 10 штук (рис. 1, *a*). На поверхности цист встречаются и поры (1—6 мкм) округлой или полулунной форм. Иногда на цистах удается обнаружить треугольной формы «лоскут», ограниченный глубокими бороздами (длина стороны до 32 мкм). По-видимому, это наиболее вероятное место выхода личинки при эксцистировании. В некоторых случаях на цистах удается видеть округлые отверстия диаметром до 15 мкм (рис. 1, *b*), через которые также может происходить освобождение паразитов.

У эксцистированных метацеркарий тело несколько приплюснуто с дорсальной и вентральной поверхностей (рис. 1, *в*). На переднем конце тела вентрально расположена ротовая присоска, которая состоит из обширной верхней «губы» и меньших размеров — нижней (рис. 1, *в*, *г*). Шипики, характерные для окружающих участков покровов, на присоске отсутствуют, что делает ее поверхность относительно гладкой и позволяет глубоко внедряться в эпителий желчных ходов.

Брюшная присоска находится в средней части тела. Она окружена кольцевой складкой (рис. 1, *в*, *д*) и может телескопически выдвигаться. Вокруг присоски находится обширная зона (14—25 мкм), свободная от шипиков. Отсутствие шипиков на присоске и вокруг нее обуславливает плотный контакт этого участка тела с субстратом, растяжение кольцевой складки, вероятно, создает вакуум, а сокращение мышц присоски обеспечивает окончательное прикрепление паразита.

Вентральная поверхность заднего (генеративного) отдела тела несет обширное, но не очень глубокое впячивание. Самый задний участок тела личинки утолщен и закруглен. Он несет небольшой выступ с расположенной на нем экскреторной порой (рис. 1, *в*, *e*).

Поверхность тела метацеркарий неровная. Она несет складки, разделенные бороздами. На складках тегумента и между ними в большом количестве располагаются шипики, количество которых достигает 180 на 0.1 мм². В разных участках поверхности тела расстояние между ними колеблется от 0.6 до 20 мкм. Залегают они, как правило, в шахматном порядке и направлены назад (рис. 2, *a*, *в—д*; см. вкл.).

Шипики окружены воротничком — небольшим утолщением тегумента. Иногда шипики приподняты и располагаются на бугорках (рис. 2, *д*, *ж*; 3, *в*, *ж*). На некоторых шипиках имеется поперечный нитевидный поясок.

Характер расположения шипиков и детали их тонкого строения на разных участках поверхности тела неодинаковы. Между ротовой и брюшной присосками шипики расположены довольно правильными параллельными рядами и имеют вид пластин, состоящих из 3—8 приплюснутых пальцевидных выростов. При этом у одних особей в состав каждого шипика входит по 3—5 таких выростов, а у других — 5—6. Высота выростов 0.85—1 мкм. Каждая такая пластина покоится на общем основании шириной 1—1.3 мкм, а с тыльной стороны ее подпирает небольшой выступ тегумента. Пальцевидные выросты по всей длине могут нести продольное углубление — желобок (рис. 2, *г*). Свободные концы шипиков могут быть загнутыми, заостренными или, наоборот, закругленными.

У некоторых метацеркарий пальцевидные выросты, образующие шипики, плотно прилегают друг к другу. Выросты округлены в поперечном сечении, постепенно суживаются к апикальному концу. Иногда на них удается увидеть отверстия (? — углубления), в которых располагается нитевидная структура. Желобки на шипиках выражены слабо или отсутствуют. Высота шипиков составляет 2.3—2.6, ширина у основания 1.4—1.8 мкм.

На латеральных полях около брюшной присоски шипики расположены наиболее близко друг к другу и имеют высокое нерасчлененное основание (рис. 2, *в*).

Непосредственно за брюшной присоской, как и на латеральных полях около нее, шипики наиболее длинные (1.5—4 мкм) (рис. 2, *д—ж*; 3, *б*; см. вкл.). По направлению к экскреторной поре размеры шипиков и количество пальцевидных выростов в каждом из них постепенно уменьшаются, а на самом заднем конце и непосредственно вокруг экскреторной поры, как и на присосках, они отсутствуют (рис. 1, *в—е*; 4, *а, ж*; см. вкл.).

В расположении шипиков у разных особей наряду с общими закономерностями проявляется и значительная вариабельность. У одних паразитов за брюшной присоской первые ряды представлены шипиками, имеющими вид «столбиков». Их концы закруглены и загнуты крючком и могут даже в верхней части иметь отросток, расположенный перпендикулярно продольной оси шипика. На самом шипике отчетливо выделяется продольное углубление. В последующих рядах концы шипиков сильно заострены, причем они сужаются очень постепенно от овального основания к вершине (рис. 2, *ж*). Иногда шипики такого типа сгруппированы по 3. Центральный из них самый высокий.

Отдельные шипики могут быть ориентированы в сторону, противоположную общему направлению (рис. 3, *а*). Их кончики часто несут нитевидные придатки в виде тонкого стерженька. Здесь же находятся шипики, загнутые крючком. Такая направленность элементов вооружения тегумента в разные стороны, по-видимому, позволяет паразиту более эффективно использовать неровности поверхности при движении в протоках печени.

Располагаясь на общем основании, пальцевидные выросты могут расходиться под углом относительно друг друга. Такого рода шипики занимают у некоторых особей значительную часть пространства между брюшной присоской и экскреторной порой. У некоторых личинок в этой же зоне располагаются шипики, пальцевидные выросты которых плотно прижаты друг к другу, как это имеет место на латеральных полях (рис. 2, *в*). Разъединены только их концы. На кончиках таких шипиков также могут располагаться 1—2 нитевидных стерженька (рис. 3, *б*).

На дорсальной поверхности тела метацеркарий расположенные в шахматном порядке шипики окружены концентрическими складками тегумента (рис. 3, *в*).

В области шипиков часто наблюдается скопление секреторного материала, преимущественно в виде гранул, выделяемого тегументом (рис. 3, *г, д*). Они часто скапливаются на верхушечной части шипиков. Секреторные продукты в виде клубочков встречаются и у основания шипиков, имеющих вид желобков. Иногда они выглядят как зернисто-нитчатые структуры, длина которых почти в три раза превышает длину самих шипиков (рис. 3, *е*). Такая тесная топографическая связь у зрелых метацеркарий секреторных продуктов с шипиками заставляет предположить, что последние являются полифункциональными образованиями. Будучи, с одной стороны, типичными опорно-прикрепительными структурами, они, вероятно, активно участвуют и в выполнении секреторной функции тегумента. Травмируя эпителиальную выстилку желчных протоков печени, они, по-видимому, обеспечивают инокуляцию секреторных продуктов в подстилающие эпителий ткани. Судя по строению, наиболее специализированы в этом направлении шипики, располагающиеся за брюшной присоской (рис. 2, *д, е*). Учитывая различия в строении шипиков у разных особей, можно полагать, что степень поражения эпителия протоков, вызываемая ими, различна. Случайный подбор личинок, попадающих в желчные ходы, может влиять на течение острой фазы описторхоза и наряду с другими факторами определять ее тяжесть.

Кроме типичных шипиков на поверхности тегумента метацеркарий обнаружены также и крючья (длина 1—2 мкм) с неровной поверхностью и заостренным концом, ориентированные по направлению к заднему концу тела (рис. 2, *а*). Они играют роль дополнительных прикрепительных структур. Между шипиками иногда встречаются и короткие нитевидные выросты тегумента с расширенным

апикальным концом, а также крупные глобулы или скопления мелких гранул секрета, выделяемого тегументом (рис. 3, *г, ж*). Мелкие шаровидные папиллы (0.2 мкм), как было показано ранее (Иванских, 1991), служат для выведения окруженных мембраной везикул. На поверхности тегумента встречаются структуры с бугристой поверхностью. Длина их составляет 1.5—1.7, толщина — 0.4—0.6 мкм. Иногда они располагаются поодиночке, иногда могут объединяться в группы по 3 (рис. 3, *б*).

Кроме перечисленных выше образований, на поверхности тегумента личинок обнаруживаются ямковидные углубления. Особенно много их бывает на верхней губе ротовой присоски. Латерально на этой же губе встречаются куполовидные выросты, по-видимому, выполняющие чувствительную функцию (рис. 4, *а*).

Весьма многочисленны и разнообразны сенсорные папиллы метацеркарий. Они могут располагаться поодиночке или, наоборот, собраны в группы. Их основание может быть конусовидной или куполовидной формы или имеет вид валика, окружающего основание реснички. В сенсиллах разных типов реснички имеют разную длину и форму: длинные, короткие, с утолщением на конце и т. д. Длина ресничек колеблется от 0.3 до 1.5, толщина 0.2—0.4 мкм. Иногда на одном крупном основании (диаметр до 4 мкм) располагается до 6 ресничек. Обнаружены нами сенсиллы и с редуцированным ресничным элементом.

В расположении сенсилл на поверхности тела метацеркарии наблюдается известная закономерность. Наибольшее количество их находится на ротовой присоске и вокруг нее (рис. 1, *в*; 4, *а, б*). На верхней и нижней губах имеются мелкие папиллы куполовидной формы с ресничкой (рис. 1, *г*; 4, *а, б*). По бокам верхней губы они могут располагаться парами. У сенсилл, локализующихся в ротовой полости, конец реснички бывает заострен и направлен в глубь полости.

Вокруг ротовой присоски цепочкой расположены у одних особей папиллы с крупным конусовидным основанием, у других — с куполовидным (рис. 4, *а, б*). В последнем случае основания папилл иногда соединяются друг с другом (рис. 4, *а, в*). На одном крупном основании располагается до 3 сенсилл. Последние, вероятно, различаются по своей структуре и функциям, так как их реснички имеют разное строение. Сенсиллы могут нести либо короткую, либо длинную ресничку, либо сильно модифицированную цилиарную структуру с утолщенным свободным концом (рис. 4, *г, д*). Такие же папиллы встречаются и в других участках тела, располагаясь по одной или группами.

В ряде случаев длина видимой части реснички, вероятно, определяется функциональным состоянием сенсиллы. Складывается впечатление, что при каком-то локальном сокращении покровов соответствующее нервное окончание с ресничкой может «втягиваться», и при этом кольцевая складка тегумента, окружающая ресничку, полностью закрывает последнюю и даже смыкается над ней (рис. 4, *г*).

На брюшной присоске папиллы расположены в основном поодиночке. На заднем конце тела обнаружены мелкие куполовидные папиллы, внешне сходные с папиллами, расположенными на ротовой присоске (рис. 1, *г, е*; 4, *б*). В области экскреторной поры встречаются одиночные сенсиллы с длинной ресничкой. В других участках они могут располагаться на общем основании и соединяются между собой нитевидными образованиями, которые обвивают реснички (рис. 4, *е*). На латеральных полях папиллы располагаются симметричными рядами (рис. 4, *ж*).

Обнаруженный нами полиморфизм в строении поверхностных структур цист и экскстированных метацеркарий может определяться разным возрастом личинок, извлекаемых из рыбы. Не исключено, однако, что существует и несколько разных форм описторхисов, циркулирующих в Обь-Иртышском бассейне. Вопрос об их таксономическом статусе требует специального изучения.

Список литературы

- Иванских В. И. Сканирующая электронная микроскопия поверхности цист метацеркарий и эксцистированных *O. felineus* // Тюменская обл. научн.-практ. конф. по проблеме «Компенсаторно-приспособительные механизмы внутренних органов и головного мозга в норме, патологии и эксперименте». Тез. докл. Тюмень, 1989. С. 23—25.
- Иванских В. И. Исследование цист метацеркарий и эксцистированных *O. felineus* методом электронной микроскопии // Тез. докл. юбилейной конф. по проблеме «Описторхоз, современное состояние, проблемы, перспективы развития». Тюмень, 1990. С. 71—74.
- Иванских В. И. Влияние метацеркарий, ювенильных, половозрелых описторхисов и яиц на проявление герпетической инфекции в эксперименте и оценка их роли в механизме возникновения патологии в печени методом электронной микроскопии // Тез. докл. VI Всесоюз. съезда МЭП. Т. 1. Нижний Новгород, 1991. С. 226—227.
- Fried B., Vater T. S., Wisniewski N., Stromberg B. E. Scanning electron microscopy and chemical excystation of *Fascioloides magna* (Trematoda) metacercariae // Z. Parasitenk. 1986. Vol. 72, N 5. P. 631—634.
- Ngendahayo L. D., Bayssade-Dufour Ch., Albaret J. L. e. a. Morphologie des teguments de *Schistosoma haematobium*; comparison avec *S. curassoni*, *S. bovis* et *S. intercalatum* // Ann. Parasitol. hum. comp. 1987. T. 62. P. 516—529.
- Sobhon P., Wanichanon Ch., Saitongdee P., e. a. Scanning electron microscope study of *Opisthorchis viverrini* tegument and its alterations induced by amoscanate // Int. J. Parasitol. 1986. Vol. 18, N 1. P. 19—26.
- Zhuang Y. Z., Nie J. R. Studies on scanning electron microscope of tegumental surface of the mainland strain *Schistosomulum japonicum* // J. Electron. Microsc. 1986. Vol. 35, N 4. P. 3327—3328.

Тюменский медицинский институт

Поступила 16.04.1990

STUDY OF THE SURFACE OF CYSTS AND EXCYSTED METACERCARIAE OF OPISTHORCHIS FELINEUS BY SCANNING ELECTRON MICROSCOPY

V. I. Ivanskikh

Key words: *Opisthorchis felineus*, metacercaria, tegument, cyst, scanning electron microscopy

SUMMARY

The structure of cysts of metacercariae of *O. felineus* has been analyzed. The cyst structure appears to have folds, pores and spherical formations providing for larval homeostasis. On the tegument of metacercariae thorns are arranged in staggered order. They represent 3 to 6 finger-shaped structures. The thorns and tegument excreta are secreted. On the surface of the parasite there are single and group sensory cupola-shaped and conoid papillae which make a chain around the mouth sucker. Polymorphism is revealed in the opisthorchis metacercariae structure.

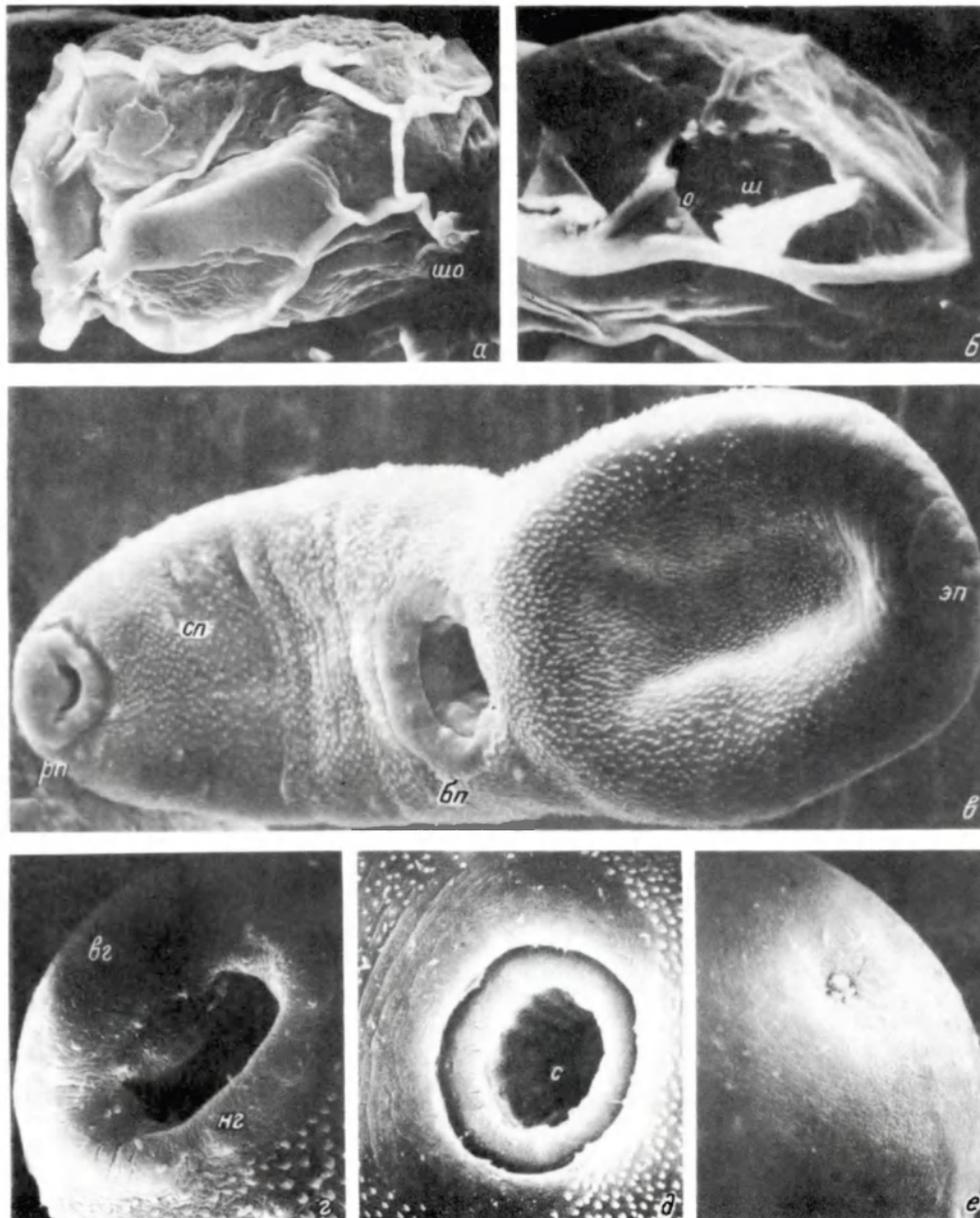


Рис. 1. Строение поверхности цист и эксцистированных метацеркарий.

а, б — циста; ув. 390 \times ; *в* — метацеркария, вид с вентральной поверхности, ув. 500 \times ; *г* — ротовая присоска, ув. 1200 \times ; *д* — брюшная присоска, ув. 1000 \times ; *е* — экскреторная пора, ув. 800 \times ; *бп* — брюшная складки; *вг* — верхняя, *нг* — нижняя губа; *о* — отверстие в стенке цисты; *рп* — ротовая присоска; *с* — складки; *сп* — сенсорная папилла; *ш* — шипики; *шо* — шаровидное образование; *эп* — экскреторная пора.

Fig. 1. Structure of the surface of cysts and excysted metacercariae.

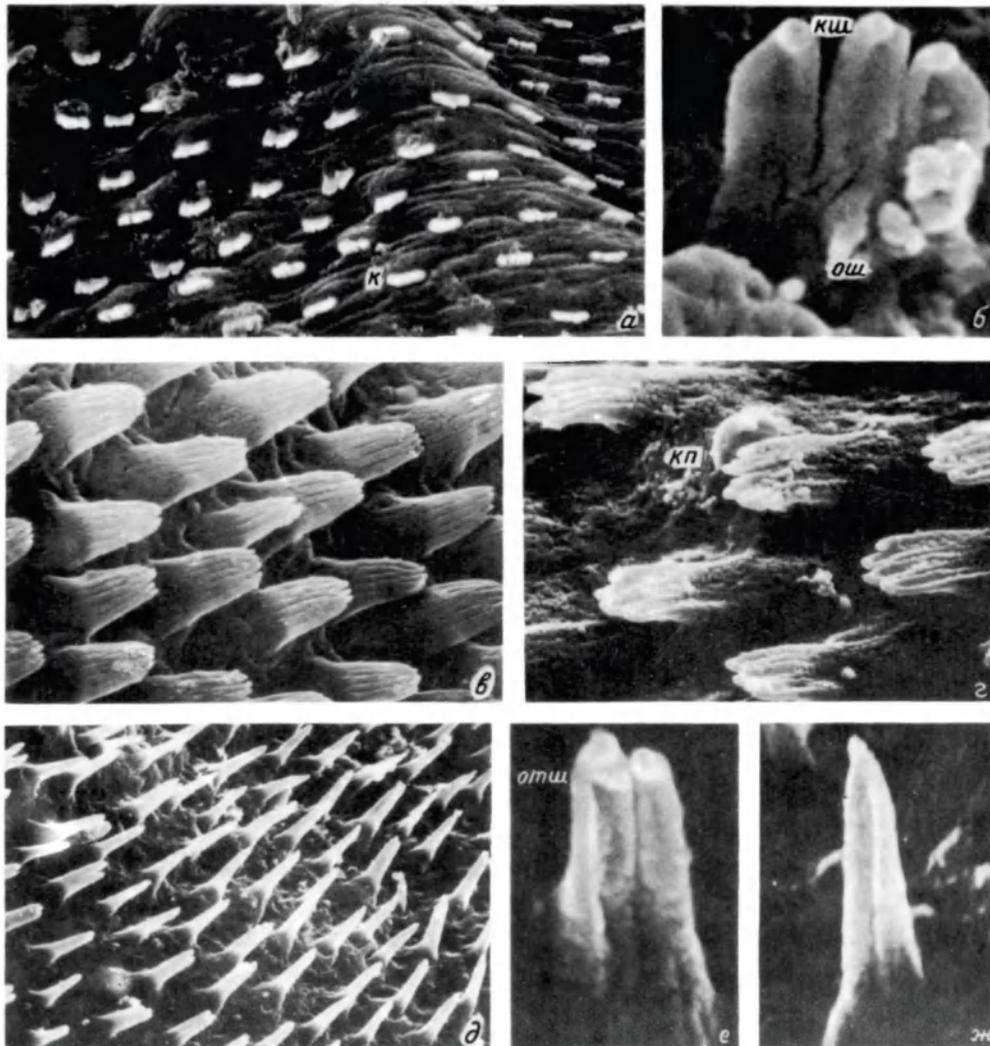


Рис. 2. Шипики на вентральной поверхности тела метацеркарии.

a — преацетабулярные шипики, ув. 3500 \times ; *b* — шипик, состоящий из трех пальцевидных выростов, ув. 38 000 \times ; *v* — шипики на латеральных полях около брюшной присоски с невыраженными продольными желобками, ув. 6000 \times ; *z* — шипики на латеральной поверхности около брюшной присоски с выраженными желобками, ув. 12 000 \times ; *d* — постацетабулярные шипики, ув. 5000 \times ; *e* — постацетабулярные шипики с загнутыми закругленными концами, с желобком и отростком на свободном конце, ув. 25 000 \times ; *ж* — постацетабулярный остроконечный шипик с желобком, ув. 25 000 \times ; *к* — крючья; *кп* — куполовидная сенсорная папилла с ресничкой; *кш* — свободный конец шипика; *отш* — отросток шипика; *ош* — основание шипика.

Fig. 2. Thorns on the ventral surface of the body of metacercaria.

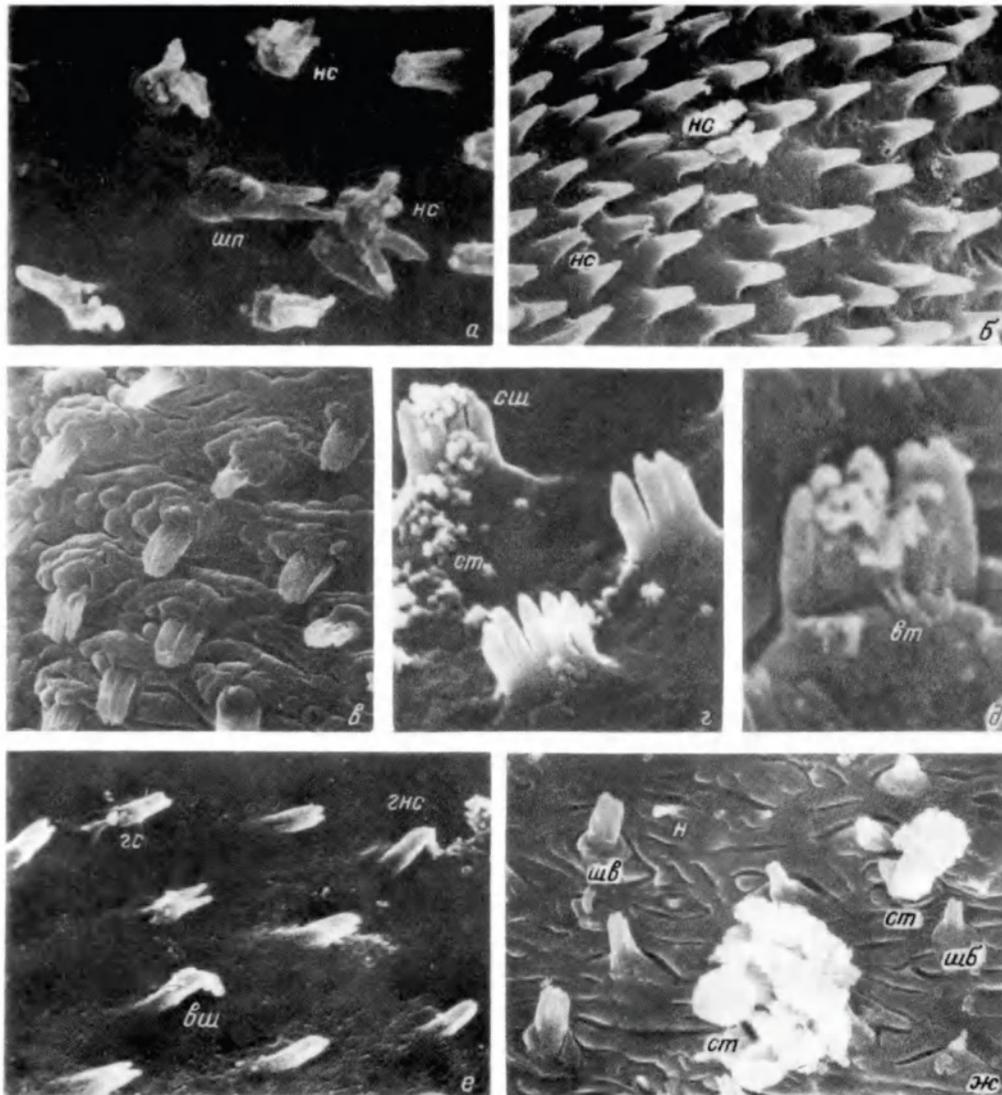


Рис. 3. Шипики на поверхности тела метацеркарий и выделение секрета.

а — постацетабулярные шипики, ориентированные вперед, ув. 10 000X; б — постацетабулярные шипики с нитевидной структурой, 3200X; в — шипики на дорсальной поверхности, окруженные складками тегумента, ув. 5000X; г — преацетабулярные шипики со скоплениями секрета, ув. 12 000X; д — вентральный шипик с секреторными гранулами, скапливающимися на нитевидных структурах, ув. 30 000X; е — секреторная активность тегумента в области постацетабулярных шипиков, ув. 10 000X; ж — участок дорсальной поверхности тела метацеркарии, ув. 5000X; вт — выступы тегумента; вш — начало выделения секрета в области шипика; гнс — гранулярно-нитевидный секрет; гс — скопление секрета у основания шипика; н — нить; нс — нитевидная структура; ст — скопление секрета на поверхности тегумента; сш — скопление секрета на шипиках; шб — шипик на бугорке тегумента; шв — воротничок, окружающий основание шипика, шп — шипики, направленные вперед.

Fig. 3. Thorns of the surface of the body of metacercaria and secretion of excreta.

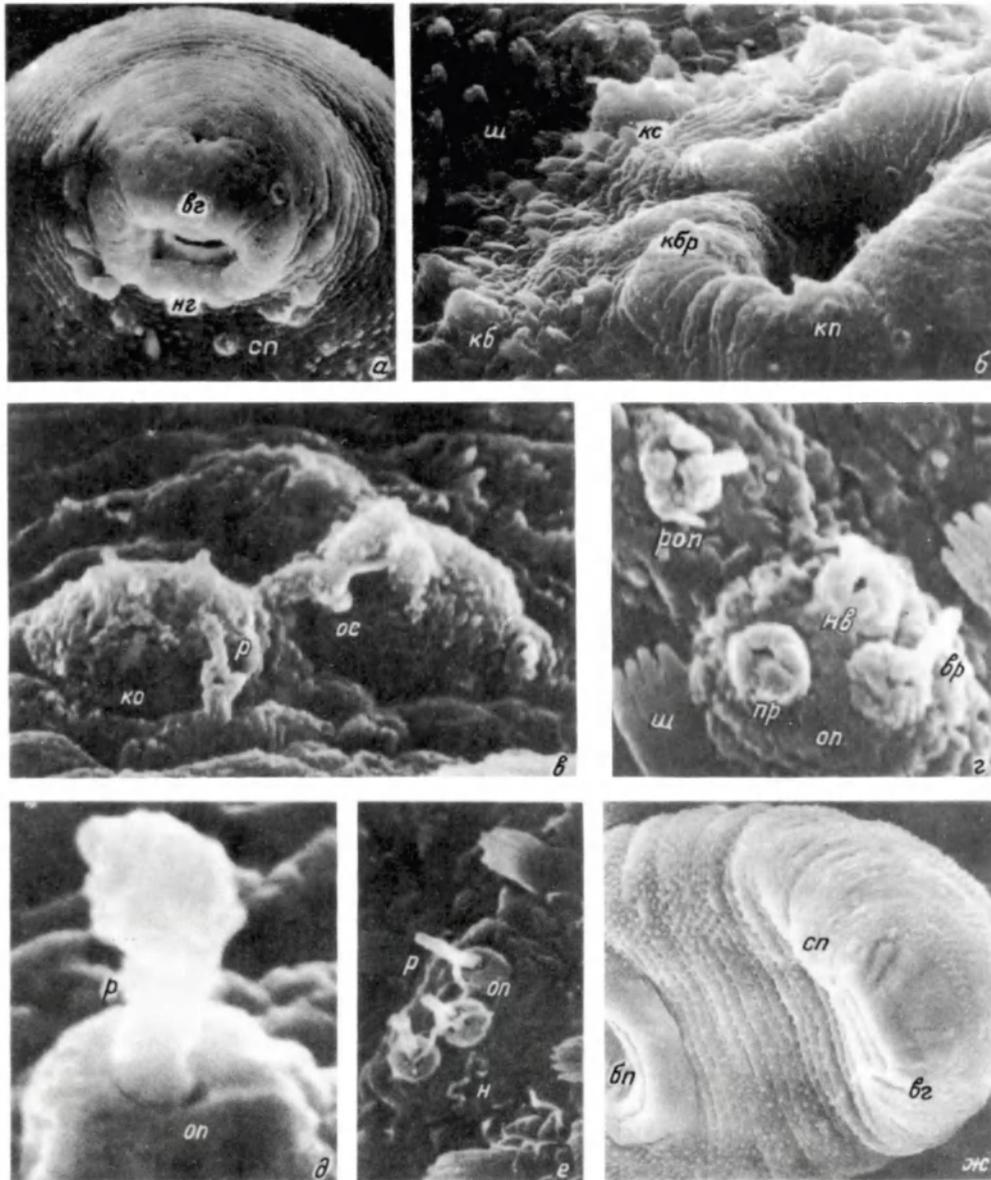


Рис. 4. Сенсорные папиллы.

а — ротовая присоска, ув. 1000; *б* — то же, ув. 5000×; *в* — папиллы около нижней губы ротовой присоски, ув. 10 000×; *г* — папиллы вокруг нижней губы ротовой присоски, ув. 10 000×; *д* — куполовидная папилла, несущая ресничку с утолщенным концом, ув. 55 000×; *е* — куполовидные папиллы с длинными ресничками, ув. 10 000×; *ж* — папиллы на латеральной и вентральной поверхностях тела метацеркарии, ув. 500×; *вр* — выдвинутая ресничка; *кб* — конусовидная папилла без реснички; *кбр* — куполовидная папилла без реснички; *ко* — куполовидное основание папиллы; *кс* — конусовидная папилла с ресничкой; *кп* — конусовидная папилла с ресничкой; *кбр* — куполовидная папилла без реснички; *нв* — полностью «выдвинутая» ресничка; *оп* — основание папиллы; *ос* — отростки, соединяющие основания папилл; *пр* — «погруженная» ресничка; *р* — ресничка; *роп* — «раскрывшаяся» одиночная папилла.

Остальные обозначения такие же, как на рис. 1—3.

Fig. 4. Sensory papillae.