

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ



УДК 595.121

Структурные механизмы защиты паразитических личинок от иммунных факторов хозяина в системе *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda)—окунь

И.А. Колесников^{*} , Н.М. Бисерова

Кафедра зоологии беспозвоночных, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

^{*}e-mail: kolesivan96@gmail.com

Изучен структурный аспект отношений «паразит-хозяин» в системе *Triaenophorus nodulosus*—окунь речной; выявлен ряд структурных механизмов, вовлеченных в защитную реакцию паразита против иммунного ответа хозяина. Плероцеркоиды локализуются в печени промежуточного хозяина—рыбы. В ответ на инвазию формируется паразитарная гранулема из тканей хозяина, образующих замкнутую капсулу вокруг паразита. Показано, что стенка капсулы многослойна и состоит из нескольких типов клеток. Внешний слой (фиброзный) представлен фибробластами и соединительнотканными волокнами. Внутренний слой формируется несколькими рядами уплощенных эпителиоидных клеток, плотно прилегающих друг к другу и соединенных между собой десмосомами. На внутренней поверхности стенки капсулы обнаружены индивидуальные макрофаги, проявляющие фагоцитарную активность. Структурное разнообразие клеточных элементов стенки гранулемы зависит от времени, прошедшего с момента заражения, и физиологического состояния хозяина. Впервые описан фагоцитоз апикальных частей микротрихий и тумулусов макрофагами гранулемы. Также в полости капсулы впервые обнаружены кристаллоподобные структуры неизвестной природы. Плероцеркоид находится в полости капсулы свободно, имеет сформированные крючья, которые, в отличие от кишечной стадии, покрыты цитоплазмой тегумента. Тегумент выделяет на поверхность мощный слой филаментозного матрикса, внеклеточные везикулы и вакуолизированные микротрихии. Терминалы специализированных клеток выделяют секреторные продукты трех типов: секрет фронтальных желез; секрет тумулусов; нейросекрет чашевидных окончаний. Выявлены универсальные структурные адаптации, свойственные всем стадиям развития паразита, и специализированные, свойственные тканевым плероцеркоидам. К специализированным структурам, возникающим в ответ на воздействие хозяина, относятся вакуолизированные микротрихии.

Ключевые слова: *Bothriocerphalidea*, железы, секреторно-эксекреторные продукты, тегумент, паразитарная капсула, интерфейс «паразит-хозяин»

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-79-2-3

Введение

Ленточные черви (Cestoda) — глубоко специализированные паразиты человека и животных. Рыбы служат окончательными и промежуточными хозяевами для представителей многих отрядов цестод. Плероцеркоиды цестод (личинки 2-й стадии) обитают в тканях различных органов и полости тела хозяев — рыб, через которых происходит заражение окончательных хозяев — хищных рыб, у которых паразит живет в кишечнике. Жизнь плероцеркоида в тканях промежуточного

хозяина связана с адаптациями к паразитизму и формированию механизмов защиты от иммунного ответа хозяина.

К молекулярным механизмам избегания иммунного ответа хозяина относятся молекулярная мимикрия; способность избегать гуморальный иммунитет хозяина; подавление пролиферации иммунных клеток и индуцирование апоптоза; иммуномодулирование за счет изменения секреции иммунных факторов хозяина — таких как цитокины и интерлейкины [1, 2].

Пространство между тканями паразита и хозяина — паразито-хозяинный интерфейс — место, куда попадают клеточные и гуморальные компоненты иммунитета хозяина, а также иммуномодулирующие и иммуноподавляющие вещества паразита [3]. Структура и физиология пограничных тканей опосредуют характер и динамику паразито-хозяинных взаимодействий, изучение которых является важным фактором разработки медицинских и ветеринарных средств защиты от паразитов. Лишь немногие работы рассматривают структуру паразито-хозяинного контакта комплексно, уделяя внимание пограничным тканям обеих сторон паразито-хозяинных взаимодействий [4–6].

Известно, что вещества, или паразитарные факторы, выделяемые цестодами во внешнюю среду (т.е. в хозяина), обладают биологической активностью, направленной на снижение и изменение иммунного ответа хозяина [2, 7]. Секреторно-экскреторные продукты (СЭП) плероцеркоидов могут обладать иммуномодулирующими свойствами [8, 9] и противовоспалительным эффектом [10]. Выделение паразитарных факторов может осуществляться разными способами. СЭП могут выделяться тегументом [11], фронтальными железами [12, 13], свободными нервными окончаниями нейросекреторных нейронов [14] или выделительной системой. Комплекс веществ, выделяемых ленточными червями в хозяина, представляет собой сложную смесь разнообразных молекул, включающих множество белков, нейромодуляторов и иммуномодуляторов, которые воздействуют на нервную и эндокринную системы хозяина [15].

Иммунный ответ хозяина (окуня *Perca fluviatilis*) на воздействие патогена — паразита *Triaenophorus nodulosus* (Bothriocephalidea) — проявляется формированием гранулемы в виде капсулы вокруг плероцеркоида с участием клеток иммунной системы окуня [16]. Целью настоящего исследования было изучение ультраструктуры инкапсулированных в печени окуня личинок цестоды *T. nodulosus* и комплексное описание пограничных тканей паразита и хозяина, а также интерфейса между ними, в фиксированных интактных паразитарных капсулах.

Материалы и методы

Материал собирали в феврале 2021 г. на Рыбинском водохранилище. Выловлены 15 особей речного окуня. Перед вскрытием окуней анестезировали во льду при 0°C. Гранулемы, вызванные паразитарной инфекцией *T. nodulosus*, извлекали из печени с небольшим количеством интактной ткани и фиксировали в 2,5%-ном растворе глутаральдегида на 0,1 М фосфатном буфере, постфиксировали в 1%-ном растворе OsO₄ на том же буфере, дегидратировали в серии растворов этилового спирта восходящей концентрации и чистом ацетоне, после чего пропитывали и заливали в эпоксид-

ную смолу (Fluka, Германия) и полимеризовали при 37°C и 60°C в соответствии с протоколом для цестод [17]. Строение капсул изучали на полутонких (2 мкм) срезах, окрашенных 1%-ным раствором метиленовой сини, на световом микроскопе Leica DM5000 B (Leica, Германия).

Электронная микроскопия. Ультратонкие срезы толщиной 60–80 нм получали на ультратоме Leica EM UC7 (Leica, Германия) с использованием алмазного ножа, монтировали на бленды с подложкой, контрастировали 4%-ным раствором уранилацетата при 37°C и 0,4%-ным цитратом свинца. Ультраструктуру изучали, используя трансмиссионные электронные микроскопы JEM-1011 и JEM-1400 Flash (JEOL, Япония). Для сканирующей электронной микроскопии фиксированные и дегидратированные в ацетоне образцы помещали в установку для высушивания в критической точке в сжиженном CO₂, затем монтировали на столики и напыляли смесью Pt–Pd в камере ионного напыления. Изображения получали на JSM-6380LA (JEOL, Япония).

Результаты

Строение стенки паразитарной капсулы. Плероцеркоиды *T. nodulosus* в печени окуня окружены видоизмененными тканями хозяина, формирующими замкнутую многослойную капсулу — гранулему (рис. 1). Внешний слой гранулемы граничит с паренхимой печени, рыхлый, составлен уплотненными фибробластами с многочисленными отростками, образующими сеть на поверхности капсулы (рис. 1А). Их ядра имеют нерегулярную форму и содержат гетерохроматин. Фибробласты выделяют в межклеточное пространство материал коллагеновых волокон. Кроме того, во внешнем рыхлом слое обнаружены гранулоциты, подобные тучным клеткам, содержащие многочисленные электронно-плотные круглые гранулы в цитоплазме. Эти клетки встречаются регулярно, но не образуют сплошного слоя (рис. 1В).

Глубже располагаются несколько рядов уплотненных клеток с овальными светлыми ядрами, содержащими небольшое количество плотного гетерохроматина на внутренней стороне ядерной мембраны, получивших название «эпителиоидные клетки» [18]. Они соединены между собой многочисленными десмосомами (рис. 1Д,Е). Под плазмалеммой этих клеток имеется усиленный цитоскелет из коротких фибрилл (рис. 1В,Г). Ряды эпителиоидных клеток со временем уплотняются, так что более глубокий слой состоит из плоских электронно-плотных клеток с вытянутыми уплотненными ядрами (рис. 1Г).

Самый внутренний слой стенки капсулы контактирует с тегументом плероцеркоида или с электронно-светлым содержимым полости паразитарной капсулы. На внутренней поверхности стенки капсулы обнаружены индивидуальные макрофаги

(рис. 1Б,Д и рис. 2А,Б). Они не образуют десмосом и неплотно связаны с эпителиоидными клетками. Ядро макрофагов неправильной формы, маленькое по сравнению с объемом цитоплазмы. Цитоплазма электронно-плотная, заполнена крупными светлыми вакуолями с волокнистым содержимым, имеющим сходную плотность с содержимым полости капсулы. Фагосомы в цитоплазме макрофагов имеют разный размер и содержимое, включая апикальные части микротрихий. Макрофаг может захватывать участок тегумента или оторвавшийся тумулус, формируя вокруг него фагоцитарную вакуоль (рис. 2А). При этом содержимое светлых вакуолей макрофага изливается в крупную фагоцитарную вакуоль, внутри которой происходит утилизация секреторных продуктов *T. nodulosus*. Регулярно наблюдали разрушающиеся макрофаги, заполняющие полость деградирующими органоидами (рис. 2Б).

Ультраструктура интерфейса. Пространство между покровами личинки и внутренним слоем гранулемы заполнено электронно-светлым гелем с многочисленными включениями (рис. 2В,Г): филаментами разной длины и разного диаметра, обломками микротрихий, кристаллоподобными структурами, сетью гликокаликса плероцеркоида, обрывками мембран, внеклеточными везикулами, а также электронно-плотными гранулами. Шарообразные скопления кристаллоподобного не клеточного материала размером более 2 мкм состоят из игольчатых структур, ориентированных радиально от гомогенного центра (рис. 2Г). В полости капсулы регулярно наблюдали вакуолизированные микротрихии. Важным компонентом интерфейса являются оторвавшиеся от поверхности личинки тумулусы в виде конгломератов плотных гранул и светлых везикул — производных железистых клеток.

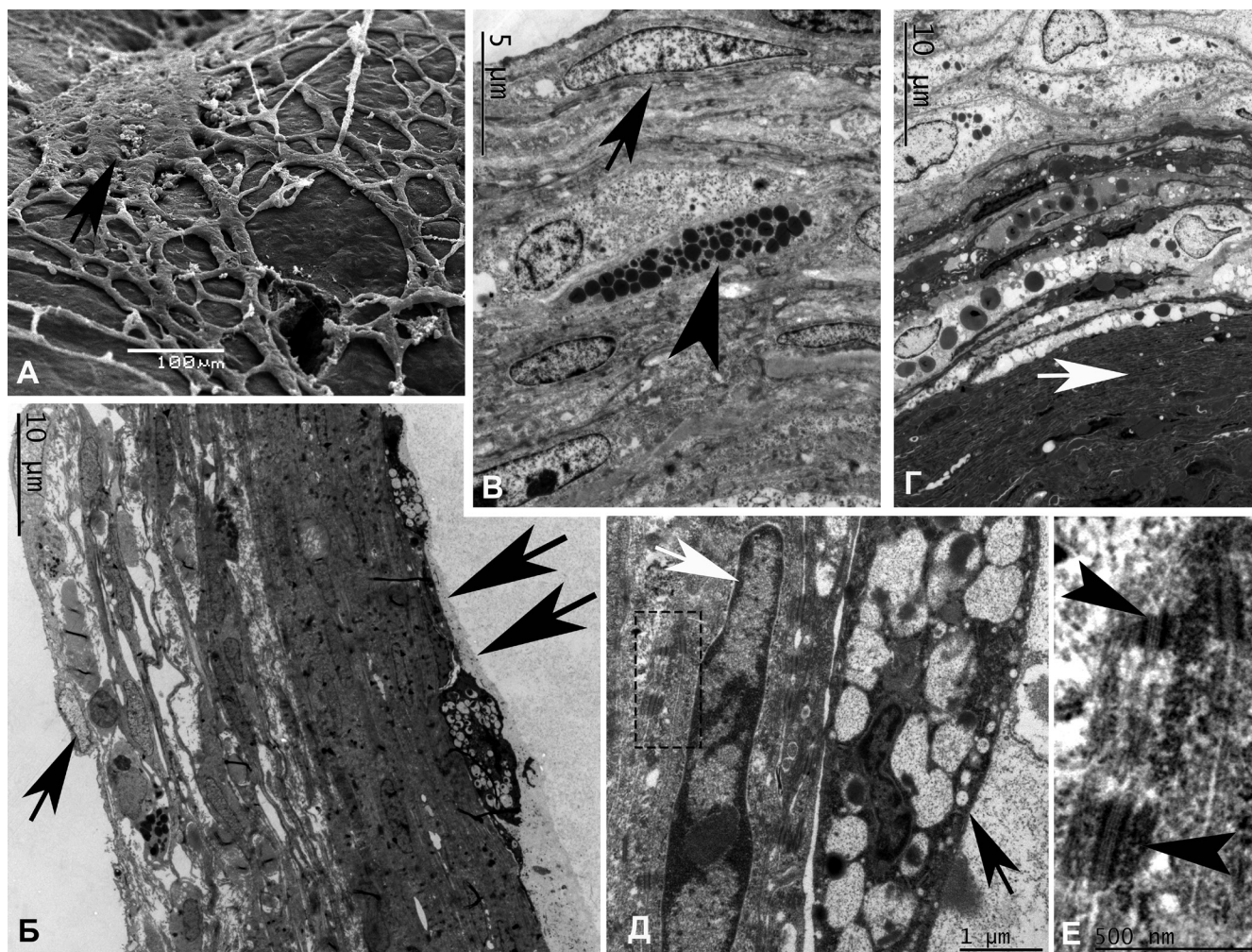


Рис. 1. Ультраструктура стенки паразитарной гранулемы в печени окуня. А — фибробласт на внешней поверхности паразитарной гранулемы в печени окуня (стрелка), Б — стенка гранулемы в разрезе; показаны макрофаги (двойная стрелка), плотный средний и рыхлый внешний слой с фибробластами (одиночная стрелка), В — эпителиоидная клетка (стрелка) и гранулоцит (наконечник) в составе стенки паразитарной гранулемы, Г — внутренний слой эпителиоидных клеток (белая стрелка) с характерной электронно-плотной цитоплазмой, Д — ультраструктура эпителиоидных клеток (белая стрелка) и макрофагов (черная стрелка), Е — увеличенная часть рис. 1Д (прямоугольник); наконечниками показаны замыкающие десмосомы между эпителиоидными клетками.

Строение цитоплазмы и СЭП тегумента. Плероцеркоид внутри капсулы имеет сформированный сколекс, вооруженный двумя парами крючьев. В отличие от половозрелых червей в кишечнике щуки, у плероцеркоида внутри капсулы крючья еще покрыты тегументом с микротрихиями (рис. 3А, Б). В зоне контакта со стенкой капсулы дистальная часть тегумента вакуолизирована и может отслаиваться от базальной пластинки.

Микротрихии покрывают всю поверхность плероцеркоида. Морфологическая дифференциация микротрихий плероцеркоида соответствует таковой у взрослых червей. Поверхностная мембрана микротрихий и тегумента покрыта гликокаликсом. С поверхностной мембраной контактируют вакуоли дистальной цитоплазмы, хлопьевидное содержимое которых изливается

наружу мерокриновым способом и составляет филаментозную основу геля между микротрихиями. Светлые вакуоли поступают в дистальную часть тегумента из погруженных под слой мускулатуры тегументальных цитонов по цитоплазматическим отросткам (рис. 3Е). Нити гликокаликса образуют трехмерную сетчатую структуру, в узлах которой отмечены электронно-плотные глобулярные структуры (рис. 2Д, Е).

Кроме хлопьевидного секрета, в капсулу выделяются мембранограниченные внеклеточные везикулы. Часть везикул выходит в составе мультивезикулярных телец, обнаруженных в цитоплазме тегумента; часть пузырьков отшнуровывается непосредственно от мембраны микротрихий. Между микротрихиями обнаружены округлые везикулы 45–65 нм в диаметре, что соответствует размеру экзосом (рис. 2Ж). Кроме того, светлые

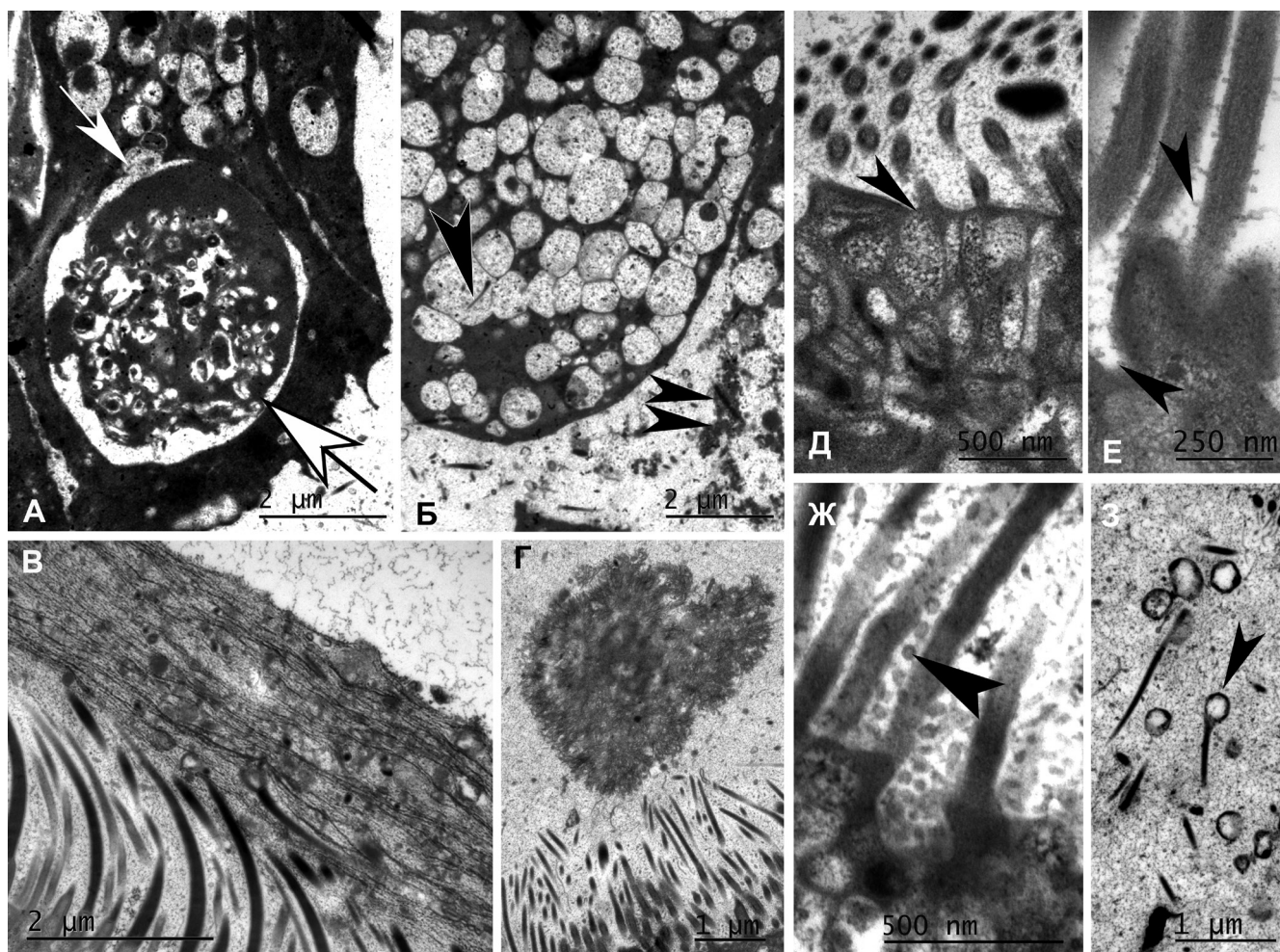


Рис. 2. Ультраструктуры в зоне интерфейса инкапсулированных личинок *T. nodulosus*. **А** – участок макрофага с фагоцитарной вакуолью (большая стрелка), содержащей органоиды тумулуса; содержимое светлых вакуолей макрофага изливается в крупную фагоцитарную вакуоль (малая стрелка), **Б** – разрушающийся макрофаг в полости капсулы (двойной наконечник) и вакуоль в цитоплазме макрофага с апикальной частью микротрихии (одиночный наконечник), **В** – уплотненный слой гликокаликса на поверхности микротрихий инкапсулированного плероцеркоида содержит филаментозный матрикс, плотные гранулы, светлые везикулы и вакуолизированные микротрихии, **Г** – шарообразное скопление игольчатых кристаллоподобных структур вблизи микротрихий, **Д** – секрция гликокаликса (наконечник) из вакуолей тегумента плероцеркоида, **Е** – структура гликокаликса на поверхностной мембране микротрихий (наконечники), **Ж** – выделение внеклеточных везикул (45–65 нм) с поверхности тегумента (наконечник), **З** – вакуолизированные микротрихии и филаментозный матрикс в составе интерфейсной гранулемы (наконечник).

вакуоли цитоплазмы тегумента (300 нм) встраиваются в базальную часть микротрихий и отрываются от поверхности, образуя вакуолизированные микротрихии (рис. 23). Вакуолизированные микротрихии являются составной частью интерфейса, их часто наблюдали на внутренней поверхности стенки капсулы.

СЭП специализированных желез плероцеркоида.

Три типа специализированных железистых клеток выделяют СЭП на поверхность тегумента в полость капсулы.

Первый тип клеток образует специализированные секреторные выросты — тумулусы — возвышающиеся над микротрихияльным бордюром (рис. 3Б,В). На сколексе тумулусы многочисленны, до 220 штук на 100 мкм^2 поверхности; на теле в среднем 26 выростов на 100 мкм^2 . В состав туму-

лусов входят электронно-плотные гранулы размером до 200 нм и светлые вакуоли (рис. 3Д). Секреторные гранулы поступают из секреторной клетки по цитоплазматическому отростку, впячивающемуся в дистальную цитоплазму тегумента вместе с базальной пластинкой (рис. 3Г,З). В терминальной зоне отросток окружен электронно-плотным слоем базального матрикса по всей длине, образующим структуру типа опорной воронки. Сами секреторные клетки обнаружены в глубокой паренхиме (рис. 3Ж). Их перикарионы характеризуются отростчатой формой и заполнены электронно-плотными гранулами размером 230 нм и светлыми вакуолями (130 нм). Расширенная часть отростка, заполненная секреторными гранулами, отрывается и попадает в полость капсулы, где подвергается деградации.

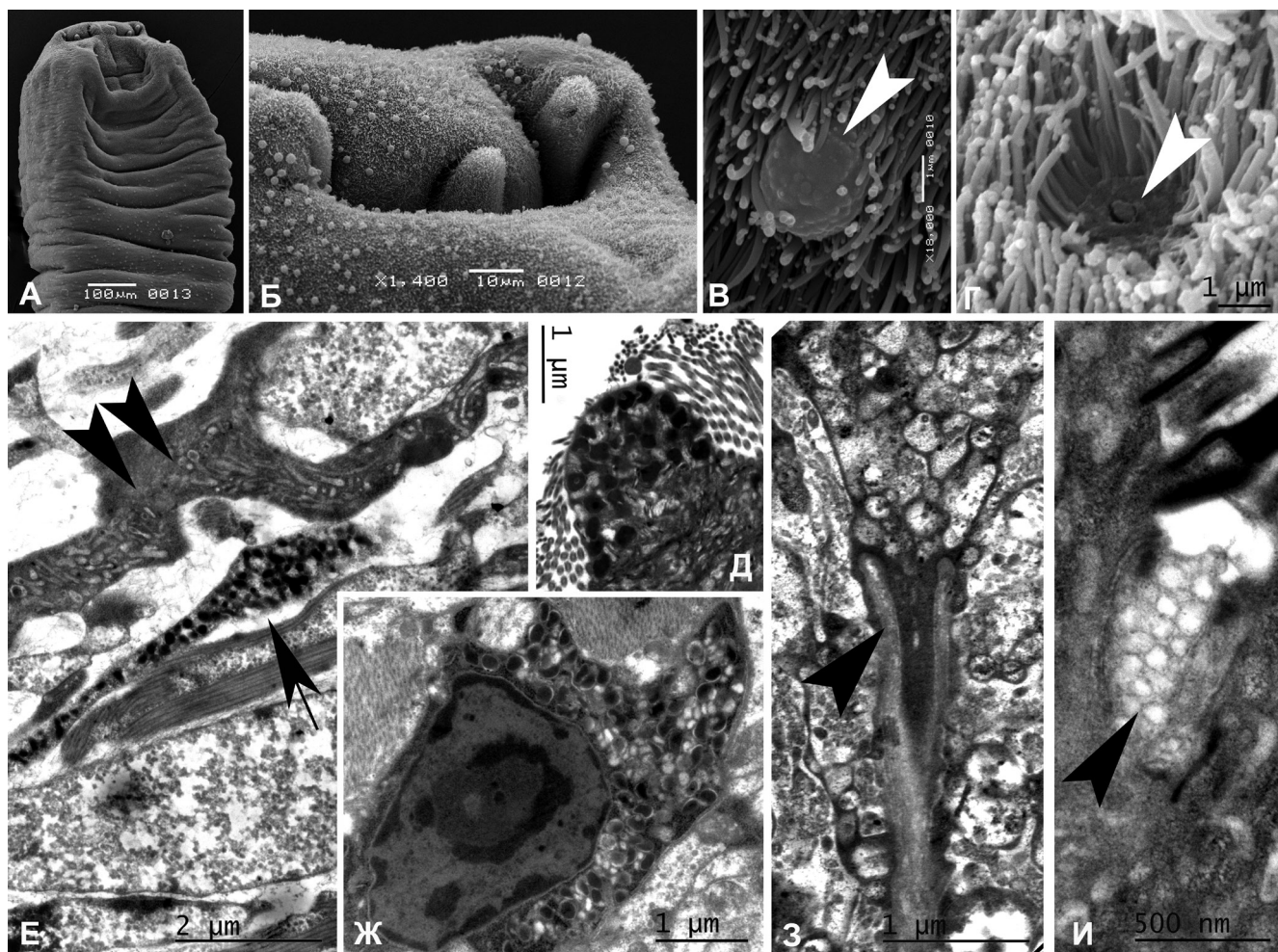


Рис. 3. Ультраструктуры тегумента *T. nodulosus*, участвующие в защите плероцеркоида от иммунных клеток окуня (А–Г — СЭМ; Д–И — ТЭМ). А, Б, В — внешний вид сколекса, извлеченного из капсулы плероцеркоида. Показаны крючья, покрытые тегументом (Б), и округлые железистые выросты — тумулусы (В), возвышающиеся над микротрихиями, Г — участок поверхности после отрыва тумулуса; наконечник указывает на оставшийся отросток железистой клетки, формировавшей секреторный вырост, Д — ультраструктура секреторного содержимого тумулуса, продольный срез; видны электронно-плотные гранулы и светлые везикулы, Е — два типа отростков в субтегументе сколекса: нейросекреторный отросток (стрелка) и отросток тегументальной клетки (двойной наконечник) с органоидами дистальной цитоплазмы, Ж — перикарион железистой клетки, формирующей тумулусы, с электронно-плотными и светлыми везикулами, З — терминальная зона отростка железистой клетки (наконечник), окруженная электронно-плотным слоем базального матрикса, образующим структуру типа опорной воронки, И — выделение светлых везикул с поверхности свободного нервного окончания в тегументе инкапсулированного плероцеркоида (наконечник).

Второй тип железистых клеток известен как фронтальные железы эккринного типа. Плероцеркоид в капсуле обладает развитыми фронтальными железами, расположенными в центральной части сколекса (Приложение). Клетки фронтальных желез посылают к дистальной цитоплазме тегумента отростки, укрепленные периферическими микротрубочками, по которым секрет выходит на поверхность тегумента. Терминали диаметром 600–1000 нм пронизывают дистальный слой цитоплазмы, их мембраны образуют кольцевой септированный контакт с плазмалеммой тегумента, который укреплен одним электронно-плотным кольцом. Размер секреторных гранул фронтальных желез достигает 500 нм в диаметре.

Третий тип клеток, выделяющих секрет на поверхность тегумента, вероятно, принадлежит периферическим нейросекреторным нейронам. Тонкие свободные терминали с чашевидным расширением в апикальной части диаметром 450–500 нм пронизывают тегумент. Мембраны терминального отростка и тегумента образуют кольцевой септированный контакт, подостланный одним опорным кольцом со стороны отростка. Эти терминали заполнены светлыми округлыми везикулами диаметром до 150 нм (рис. 3И), которые выделяются с их поверхности и выходят в полость капсулы. Тонкие отростки, заполненные такими везикулами, выявлены в субтегументе.

Обсуждение

В момент миграции из кишечника в брюшную полость и далее в печень плероцеркоид подвергается иммунному ответу хозяина. Цестоды выработали ряд адаптаций, позволяющих им избегать или минимизировать действие иммунитета — например, выделение СЭП тегументом и железами. Экспериментально показано изменение активности секреции тегумента плероцеркоидов под действием сыворотки крови хозяина (рыбы) [11, 19, 20]. В нашем исследовании у инкапсулированных плероцеркоидов *T. nodulosus* наблюдали выделение мощного слоя филаментозного матрикса, отделение внеклеточных везикул и вакуолизированных микротрихий, отделение тумулусов и выход секрета фронтальных желез. Мощный слой гликокаликса у плероцеркоида *T. nodulosus* отмечался ранее [19]. Мы полагаем, что филаментозный матрикс играет роль механической преграды для иммунных клеток окуня. Известно, что гликокаликс также способствует мембранному пищеварению с помощью абсорбированных на нем ферментов [21]. Источником для формирования гликокаликса на поверхности тегумента *T. nodulosus*, по-видимому, служит хлопьевидный секрет из светлых вакуолей тегумента. Высокая активность синтеза слоя гликокаликса, возможно, также связана с его участием в маскировке антиге-

нов, как это было показано для плероцеркоидов *Ligula intestinalis*, у которых полное обновление гликокаликса проходит за 12–24 ч [22].

Ранее на поверхности тегумента плероцеркоида *T. nodulosus* обнаруживали лимфоциты, покрытые обломками микротрихий, и наблюдали адгезию апикальных частей микротрихий на поверхности лейкоцитарных клеток [19]. Нами установлено, что в капсуле плероцеркоид частично сбрасывает микротрихии путем их вакуолизации, которые встречаются в полости капсулы и обнаруживаются на поверхности макрофагов или внутри фагоцитарных вакуолей. Вакуолизированные микротрихии ранее отмечены в составе защитного слоя у плероцеркоидов *L. intestinalis* из брюшной полости лещей [20]. Их число увеличивалось при инкубации плероцеркоидов с сывороткой крови хозяина. У *L. interrupta* вакуолизированные микротрихии принимают участие в формировании защитного слоя после 12 ч инкубации [11]. По-видимому, вакуолизированные микротрихии представляют особый механизм защиты для тканевой личиночной стадии цестод. Сброшенные микротрихии и внеклеточные везикулы предположительно могут принимать участие в секвестрации иммуноглобулинов хозяина в зоне, удаленной от покровов плероцеркоида. Вероятно, таким образом происходит деактивация иммуноглобулинов, и они не достигают покровов личинки. Возможность такого процесса была показана для плероцеркоидов *L. intestinalis* из плотвы, у которых в зоне микротрихий удалось визуализировать иммуноглобулины [23].

Известно, что внеклеточные везикулы могут переносить некодирующие РНК и белки, которые способны играть роль иммуномодуляторов [25]. Многочисленные мембраноограниченные везикулы диаметром до 65 нм были нами обнаружены у плероцеркоида *T. nodulosus* между микротрихиями, на их поверхности и в полости капсулы. Размер выявленных везикул соответствует таковому для экзосом [24].

Секреторные выросты-тумулусы [26], заполненные электронно-плотными секреторными гранулами определенного типа, являются уникальной чертой представителей отряда Bothriocerphalidea. Для *T. nodulosus* специализированные железистые клетки, формирующие выросты с секреторными гранулами, были описаны на стадиях процеркоида, плероцеркоида и взрослого червя [27]. Мы наблюдали оторвавшиеся тумулусы в полости капсулы и в фагоцитарных вакуолях макрофагов внутреннего слоя гранулемы. В зоне формирующегося тумулуса не обнаружены специализированные контакты, подобные таковым у терминалей фронтальных желез и нервных окончаний, что свидетельствует об особой специализации данных структур. Мы показали, что у извлеченного из капсулы плероцеркоида число

тумулусов на единицу площади на сколексе почти в 10 раз больше, чем на теле. Эти данные коррелируют с данными других авторов и сходны с распределением тумулусов у взрослых кишечных паразитов, представителей отряда Bothriocephalidea [19, 27]. Роль СЭП тумулусов интерпретируется как ответ на действие иммунитета хозяина. У *T. nodulosus* число наружных выростов и самих железистых клеток уменьшается по мере завершения образования капсулы. При повторной имплантации плероцеркоида из сформированной капсулы в полость тела окуня количество тегументальных выростов значительно увеличивалось [19]. Возможно, концентрация тумулусов на сколексе плероцеркоида в капсуле является структурной преадаптацией к взрослой стадии, когда сколекс внедряется в ткани кишечника и испытывает интенсивный иммунный ответ хозяина.

Свободные окончания чашевидной формы, выделяющие светлые везикулы, обнаруженные нами у инкапсулированных плероцеркоидов, были описаны ранее у более ранних личинок на стадии процеркоида, обитающих в циклопах, и у половозрелых *T. nodulosus* из кишечника щуки [28]. Подобные окончания известны у представителей разных отрядов цестод, например, Cyclophillidae [29], Diphyllbothriidae [30, 31], Trypanorhyncha [32]. Исследования последних лет [14] доказывают участие периферических нейросекреторных нейронов цестод в экзокринной секреции, в том числе — выделении в хозяина FMRamide-like IR-нейропептидов и простагландинов. При этом показано усиление секреции свободных окончаний нейросекреторных нейронов в ответ на действие сыворотки крови хозяина-рыбы, что подтверждает вовлеченность нервной системы в паразито-хозяинные взаимодействия [14]. Простагландины, обнаруженные в составе секреторных терминалей у плероцеркоидов *D. dendriticum* и *L. intestinalis*, могут играть роль модуляторов иммунитета [32, 34].

Полученные нами данные по строению паразитарной гранулемы в печени окуня, согласуются с более ранними результатами [16]. Плероцеркоиды располагаются в полости, которая окружена видоизмененными тканями хозяина, составляющими стенку капсулы. Клетки плотного слоя соединены многочисленными десмосомами и сравнимы с эпителиоидными клетками [18]. Образование тканями хозяина капсулы вокруг паразита признается как универсальный способ

изоляции паразита [1, 2] — при том, что стенка капсулы не препятствует поглощению паразитом питательных веществ из организма хозяина. Инфильтрация гранулоцитов к месту локализации паразита также представляется универсальным иммунным ответом позвоночных животных на присутствие патогена в тканях [34].

Заключение

По результатам ультраструктурных исследований инкапсулированных плероцеркоидов нам удалось обнаружить несколько структурных механизмов, вовлеченных в защитную реакцию паразита внутри гранулемы.

Тегумент выделяет на поверхность а) содержимое светлых вакуолей, формирующее мощный слой гликокаликса; б) экзосомы и в) вакуолизированные микротрихии, роль которых пока неизвестна. Специализированные секреторные клетки имеют свободные терминали в тегументе и выделяют СЭП трех типов: а) секрет фронтальных желез; б) секрет тумулусов; в) нейросекрет.

Кроме вакуолизированных микротрихий, все перечисленные выше структуры встречаются в тегументе у взрослых *T. nodulosus* из кишечника щуки, что свидетельствует об универсальности этих структурных адаптаций. Вакуолизированные микротрихии — новый обнаруженный механизм защиты тканевых плероцеркоидов от иммунитета хозяина. Фагоцитоз апикальных частей микротрихий и тумулусов макрофагами гранулемы отмечен нами впервые. Кроме того, мы впервые обнаружили кристаллоподобные радиально ориентированные игольчатые структуры в интерфейсе гранулемы. Природа данных образований неизвестна. Наблюдаемое в разных экземплярах структурное разнообразие клеточных элементов стенки гранулемы зависит от времени, прошедшего с момента заражения: стенка может быть представлена большим числом слоев капсулы, а при длительной инвазии — некрозом паразита.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-24-00118). Эксперименты проведены с соблюдением всех этических норм работы с животными. В соответствии с пунктом 3 главы 1 Директивы 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых в научных целях, требования биоэтики не распространяются на ленточных червей. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Оксов И.В. Тканевый уровень организации системы паразит—хозяин. *Паразитология*. 1991;25(1):3–11.
2. Sitjà-Bobadilla A. Living off a fish: a trade-off between parasites and the immune system. *Fish Shellfish Immun.* 2008;25(4):358–372.
3. Trager W. *Living Together*. Boston: Springer; 1986. 467 pp.
4. Engelkirk P.G., Williams J.F. *Taenia taeniaeformis* (Cestoda) in the rat: ultrastructure of the host-parasite interface on days 8 to 22 postinfection. *J. Parasitol.* 1983;69(5):828–837.

5. Morley N.J., Hoole D. Ultrastructural studies on the host-parasite interface between *Khavia siensis* (Cestoda: Caryophyllidae) and carp *Cyprinus carpio*. *Dis. Aquat. Organ.* 1995;23:93–99.
6. Pospekhova N.A., Kusenko K.V. Tegument ultrastructure and morphology of the capsule surrounding the tetrathyridia of the genus *Mesocostodes* Vaillant, 1863 in the liver of the root vole. *Dokl Biol Sci.* 2023;511(1):213–221.
7. Lightowlers M.W., Rickard M.D. Excretory–secretory products of helminth parasites: effects on host immune responses. *Parasitology.* 1988;Suppl. 96:S123–S166.
8. Biserova N.M., Kuttyrev I.A., Malakhov V.V. Tapeworm *Diphyllobothrium dendriticum* (Cestoda) produces prostaglandin E₂, a regulator of host immunity. *Dokl. Biol. Sci.* 2011;441:367–369.
9. Kuttyrev I.A., Franke F., Büscher J., Kurtz J., Scharsack J.P. In vitro effects of prostaglandin E₂ on leucocytes from sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) infected and not infected with the cestode *Schistocephalus solidus*. *Fish Shellfish Immun.* 2014;41(2):473–481.
10. Pavlyuchenkova A.N., Kuttyrev I.A., Fedorov A.V., Chelombitko M.A., Mazur O.E., Dugarov Z.N. Investigation into anti-inflammatory properties of excretory/secretory products from gull-tapeworm *Dibothriocephalus dendriticus* and ligula *Ligula interrupta* plerocercoids. *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2023;78(3):147–155.
11. Kuttyrev I.A., Biserova N.M., Mazur O.E., Dugarov Z.N. Experimental study of ultrastructural mechanisms and kinetics of tegumental secretion in cestodes parasitizing fish (Cestoda: Diphylobothriidae). *J. Fish Dis.* 2021;44(8):1237–1254.
12. Давыдов В.Г., Корнева Ж.В. Морфогенез желез проникновения у *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda: Pseudophyllidae). *Паразитология.* 1997;31(3):231–238.
13. Mustafina A.R., Biserova N.M. *Pyramicocephalus phocorum* (Cestoda: Diphylobothriidae): the ultrastructure of the tegument, glands, and sensory organs. *Invertebr. Zool.* 2017;14(2):154–161.
14. Biserova N.M., Kuttyrev I.A., Saitov V.R., Kolesnikov I.A. The neuro-exocrine secretion: A new type of gland in tapeworms? *Zoology.* 2023;160:126119.
15. Lafferty K.D., Shaw J.C. Comparing mechanisms of host manipulation across host and parasite taxa. *J. Exp. Biol.* 2013;216:56–66.
16. Dezfuli B.S., Manera M., Giari L. Ultrastructural assessment of granulomas in the liver of perch (*Perca fluviatilis*) infected by tapeworm. *J. Comp. Pathol.* 2015;152(2–3):97–102.
17. Бисерова Н.М. *Методы визуализации биологических структур*. М.: Т-во научн. изд. КМК; 2013. 128 с.
18. Noga E.J., Dykstra M.J., Wright J.F. Chronic inflammatory cells with epithelial cell characteristics in teleost fishes. *Vet. Pathol.* 1989;26(5):429–437.
19. Давыдов В.Г., Микряков В.Р. Адаптивные структуры покровов тела некоторых цестод, связанные с защитой паразитов от влияний организма хозяев. *Иммунологические и биохимические аспекты взаимоотношений гельминта и хозяина*. Под ред. М.Д. Сониной. М.: Наука; 1988:88–100.
20. Golovanova M.A., Mavrin A.S., Biserova N.M. Structural response of the cestode tegument to the host blood serum in incubation experiments. *Annals of parasitology*, vol. 65: *The XXV Congress of the Polish Parasitology Society (Warsaw, 9–12 Semp. 2019)*. Ed. R. Sałamatin. Warsaw; 2019:212–213.
21. Lumsden R.D. Surface ultrastructure and cytochemistry of parasitic helminths. *Exp. Pathol. Jena.* 1975;37(2):267–339.
22. Hoole D., Arme C. The *in vitro* culture and tegumental dynamics of the plerocercoid of *Ligula intestinalis* (Cestoda: Pseudophyllidae). *Int. J. Parasitol.* 1985;15(6):609–615.
23. Williams M.A., Hoole D. Immunolabelling of fish host molecules on the tegumental surface of *Ligula intestinalis* (Cestoda: Pseudophyllidae). *Int. J. Parasitol.* 1995;25(2):249–256.
24. Ancarola M.E., Marcilla A., Herz M., Macchiarelli N., Pétez M., Asurmendi S., Brehm K., Poncini C., Rosenzvit M., Cucher M. Cestode parasites release extracellular vesicles with microRNAs and immunodiagnostic protein cargo. *Int. J. Parasitol.* 2017;47(10–11):675–686.
25. Théry C. Exosomes: secreted vesicles and intercellular communications. *F1000 Biol. Rep.* 2011;3:15.
26. Boyce N.P. A new organ in cestode surface ultrastructure. *Can. J. Zool.* 1976;54(4):610–613.
27. Davydov V.G., Korneva J.V., Kuperman B.I. The development of the tegument in ontogenesis of *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda: Pseudophyllidae). *Folia Parasit.* 1995;42(4):269–279.
28. Бисерова Н.М., Корнева Ж.В. Сенсорный аппарат и особенности формирования нервной системы *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda) в онтогенезе. *Паразитология.* 1999;33(1):39–48.
29. Плужников Л.Т., Краснощеков Г.П., Поспехов В.В. Ультраструктура рецепторных окончаний циклофиллид (Cestoda, Cyclophyllidae). *Паразитология.* 1986;20(6):441–447.
30. Okino T., Hatsushika R. Ultrastructure studies on the papillae and the nonciliated sensory receptors of adult *Spirometra erinacei* (Cestoda, Pseudophyllidae). *Parasitol. Res.* 1994;80(6):454–458.
31. Kuttyrev I.A., Biserova N.M., Olennikov D.N., Korneva J.V., Mazur O.E. Prostaglandins E₂ and D₂—regulators of host immunity in the model parasite *Diphyllobothrium dendriticum*: An immunocytochemical and biochemical study. *Mol. Biochem. Parasit.* 2017;212:33–45.
32. Biserova N.M., Gordeev I.I., Korneva J.V. Where are the sensory organs of *Nybelinia surmenicola* (Trypanorhyncha)? A comparative analysis with *Parachristianella* sp. and other trypanorhynch cestodes. *Parasitol. Res.* 2016;115(1):131–141.
33. Biserova N.M., Kuttyrev I.A. Localization of prostaglandin E₂, γ -aminobutyric acid, and other potential immunomodulators in the plerocercoid *Diphyllobothrium dendriticum* (Cestoda). *Biol. Bull.* 2014;41:242–250.
34. Makepeace B.L., Martin C., Turner J.D., Specht S. Granulocytes in helminth infection — who is calling the shots? *Curr. Med. Chem.* 2012;19(10):1567–1586.

Поступила в редакцию 13.02.2024

После доработки 20.06.2024

Принята в печать 25.07.2024

RESEARCH ARTICLE

Structural defense mechanisms of parasitic larvae against host immune factors in *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda)—perch interaction

I.A. Kolesnikov* , N.M. Biserova 

Department of Invertebrate Zoology, School of Biology, Lomonosov Moscow State University,
Leninskie gory 1–12, Moscow, 119234, Russia

*e-mail: kolesivan96@gmail.com

Structural aspects of host-parasite interactions between *Triaenophorus nodulosus* – European perch have been studied. A number of structural mechanisms involved in defense reaction against host immunity were revealed. Plerocercoids were located inside the perch liver. As a response to the invasion, a parasitic granuloma develops around the parasite. The capsule wall was shown to consist of several layers of different tissue types. The outer fibrous layer contained fibroblasts and connective tissue fibres. The inner layer was composed of several rows of flattened epithelioid cells connected with each other by desmosomes. On the inner surface of the capsule wall, individual macrophages were found showing phagocytic activity. The observed structural differences of the capsule wall cells depend on invasion time and physiologic condition of the interactions. Phagocytosis of apical parts of microtriches by macrophages was first documented. Additionally, radial fibrous non-cellular structures of unknown origin were observed. The plerocercoid lying free in the capsule cavity possessed developed hooks covered by the tegument, in contrast to adult worms with uncovered hooks. The tegument releases a thick layer of filamentous matrix, extracellular vesicles, and vacuolized microtriches. Free terminals of different specialized cell types were found to release secretory products via three pathways: frontal glands, tumuli, neurosecretory cup-shaped terminals. Universal adaptations intrinsic to all developmental stages, and those characteristic of plerocercoids (e.g. vacuolized microtriches) were revealed.

Keywords: *Bothriocephalidea, glands, secretory-excretory products, tegument, granuloma, host-parasite interface*

Funding: The research was funded by Russian Science Foundation, project number 23-24-00118.

Сведения об авторах

Колесников Иван Андреевич – аспирант, мл. науч. сотр. кафедры зоологии беспозвоночных биологического ф-та МГУ. Тел.: 8-495-939-27-76; e-mail: kolesivan96@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4524-1476>

Бисерова Наталья Михайловна – докт. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры зоологии беспозвоночных биологического ф-та МГУ. Тел.: 8-495-939-27-76; e-mail: nbiserova@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5481-0207>