

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. Ломоносова
Биологический факультет

На правах рукописи

Мустафина Альфия Радмировна

Микроскопическая анатомия паразита трески
Pyramicocephalus phocarum (Cestoda: Diphyllbothriidea)

Специальность 1.5.12 – зоология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель
д.б.н., старший научный сотрудник,
Бисерова Наталья Михайловна

Москва

2022

Оглавление

Глава 1. Введение	4
1.1 Актуальность избранной темы и степень ее разработанности.....	6
1.2 Цели и задачи	7
1.3 Объект и предмет исследования	7
1.4 Научная новизна исследования	7
1.5 Теоретическая и практическая значимость работы	9
1.6 Методология диссертационного исследования.....	10
1.7 Положения, выносимые на защиту.....	10
1.8 Степень достоверности	11
1.9 Личный вклад	11
1.10 Апробация результатов	12
1.11 Публикации.....	12
Глава 2. Литературный обзор.....	14
2.1 Систематическое положение отряда Diphyllbothriidea и <i>Pyramicocephalus phocarum</i>	14
2.2 Биология представителей семейства Diphyllbothriidae	17
2.3 Строение систем органов ленточных червей	18
2.3.1 Строение тегумента, базального матрикса и мышечной системы	18
2.3.2 Строение нервной системы	21
2.3.3 Строение фронтальных желез	22
2.3.4 Строение протонефридиальной системы	23
Глава 3. Материалы и методы	29
3.1. Материал	29
3.2. Методы прижизненного наблюдения.....	29
3.3. Молекулярно-биологические методы.....	30
3.4. Микроскопия	34
3.4.1. Световая микроскопия	34
3.4.2. Конфокальная микроскопия.....	34
3.4.3. Трансмиссионная микроскопия	35

3.4.4. Сканирующая микроскопия.....	36
Глава 4. Результаты.....	37
Глава 4.1. Генетическое исследование плероцеркоида из трески	37
Глава 4.2. Двигательная активность плероцеркоида <i>Pyramicocephalus phocarum</i> <i>in vitro</i>	39
Глава 4.3 Микроскопическая анатомия и ультраструктурная организация систем органов плероцеркоида <i>Pyramicocephalus phocarum</i>	41
Глава 4.3.1 Строение тегумента, базального матрикса и мышечной системы <i>P. phocarum</i>	41
Глава 4.3.2. Строение нервной системы <i>Pyramicocephalus phocarum</i>	45
Глава 4.3.3 Строение фронтальных желез <i>Pyramicocephalus phocarum</i>	56
Глава 4.3.5. Протонефридиальная система плероцеркоида <i>Pyramicocephalus</i> <i>phocarum</i>	58
Глава 4.3.6. Сравнительный анализ тонкого строения выделительной системы заднего конца тела других цестод	66
Глава 5. Обсуждение результатов	78
5.1 Филогенетическое положение, особенности жизненного цикла и биология <i>Pyramicocephalus phocarum</i>	78
5.2 Анализ строения <i>Pyramicocephalus phocarum</i>	83
5.2.1 Строение тегумента, базального матрикса, мускулатуры и фронтальных желез	83
5.2.2 Строение нервной системы	89
5.2.3 Анализ строения протонефридиальной системы	99
Заключение	118
Выводы.....	121
Благодарности	123
Список литературы.....	124
Приложение	148

Глава 1. Введение

Ленточные черви (Cestoda) относятся к типу плоских червей Platyhelminthes, группе Neodermata. Представители Neodermata являются облигатными экто- и эндопаразитами. В ходе жизненного цикла цестоды меняют нескольких хозяев, в конечном итоге оказываясь в кишечнике различных позвоночных, в том числе человека. В морфологии многих систем органов ленточных червей отражаются черты адаптации к разнообразным средам обитания – к внешней среде на начальных стадиях развития и к внутренней среде хозяина на паразитических личиночных и взрослых стадиях развития. В результате цестоды имеют очень специфичное строение, значительно меняющееся в ходе онтогенеза особи.

Плероцеркоид – одна из личиночных стадий жизненного цикла цестод. Плероцеркоиды паразитируют в полости тела и тканях рыб и других животных. Поскольку плероцеркоиды являются инвазивной стадией для окончательных хозяев, – позвоночных и человека – их исследование представляется важным с точки зрения хозяйственной деятельности, ветеринарии и медицины.

Отряд Diphyllbothriidea включает ленточных червей со сложным жизненным циклом, в который последовательно входят стадии корацидия (свободноплавающей личинки), процеркоидов (личинки, паразиты водных ракообразных), плероцеркоидов (личинки, паразиты рыб и других водных холоднокровных) и половозрелых червей, паразитирующих в кишечнике позвоночных и человека.

Жизненный цикл дифиллоботриид известен для многих представителей отряда, однако для рода *Pyramicosephalus* (Monticelli, 1890) с единственным описанным видом *Pyramicosephalus phocarum* (Fabricius, 1780) он исследован не до конца. Известно, что плероцеркоиды паразитируют в таких рыбах, как навага *Eleginus navaga* (Walbaum, 1792), атлантический палтус *Hippoglossus hippoglossus* (L., 1758), камбала *Pleuronectes stallatus* (Pallas, 1787), дальневосточная навага *Eleginus gracilis* (Tilesius, 1810), плоскоголовый бычок *Megalocottus platycephalus* (Pallas, 1814) и треска *Gadus morhua* (L., 1758) (Rausch, 1967; Hemmingsen et al., 1992). Окончательными хозяевами *P. phocarum* являются рыбацкие млекопитающие, например, тюлени или морские выдры (*Phoca barbata* (Erxleben, 1777), *Ph. hispida* (Schreber, 1775), *Cystophora cristata* (Erxleben, 1777), *Eumetopias jubatus* (Schreber, 1776), *Enhydra lutris* (Linnaeus, 1758)) (Delyamure, 1961; Rausch, 1967; Делямуре и

др., 1985; Lauckner, 1985; Schmidt, 1986; Hemmingsen et al., 1992; Margolis et al., 1997, Волков и др., 1999). Известны случаи заражения взрослой стадией человека (Grabda, 1977). Данных о первом промежуточном хозяине процеркоида *P. phocarum* нет.

Несмотря на широкую распространенность дифиллоботриид в природе, экономическое, ветеринарное и медицинское значение, данные о строении плероцеркоидов дифиллоботриид, крайне неполные. Данных о микроскопической анатомии плероцеркоида *P. phocarum*, если не считать публикации автора на эту тему, в литературе практически нет.

1.1 Актуальность избранной темы и степень ее разработанности

Дифиллоботрииды имеют большое значение в жизни и деятельности человека. Личинки дифиллоботриид обитают во многих промысловых рыбах и заражают человека и животных через пищу. Взрослые стадии дифиллоботриид паразитируют в рыбоядных млекопитающих и человеке и вызывают такие заболевания как дифиллоботриозы, диплогонопорозы, спарганозы. Имеются сведения о нахождении *Pyramicocephalus phocarum* на взрослой стадии в кишечнике человека (Grabda, 1997). Учитывая значение инвазионных личинок, новые сведения о тонком строении плероцеркоидов дифиллоботриид представляются важными и актуальными.

В то же время, как показывает анализ современного состояния мировой научной литературы, строение плероцеркоидов дифиллоботриид изучено слабо, фрагментарно, особенно у представителей редких родов. На сегодняшний день имеются литературные сведения о строении видов рода *Dibothriocephalus* (Waeschenbach et al., 2017) [*Diphyllobothrium* (Cobbold, 1858)] (Bondsдорф et al., 1971; Котикова, Куперман, 1978; Gustafsson, Wikgren, 1981; 1989; Kuperman, Davydov, 1982; Gustafsson, 1984, 1985, 1990, 1991; Gustafsson et al., 1985; 1986; 1993; 1994; Wikgren, 1986; Wikgren et al., 1990; Gustafsson, Eriksson, 1991; 1992; Okino, Hatsushika, 1994; Бисерова, Кемаева, 2012; Biserova et al., 2014), *Ligula* (Bloch, 1782) (Charles и Orr, 1968; Dougherty et al., 1975; Бисерова и др., 2007; Бисерова, Гордеев, 2010), *Schistocephalus* (Creplin, 1829) (Charles и Orr, 1968; Morris, Finnegan, 1969; Malmberg, 1972), *Spirometra* (Faust, Campbell, Kellogg, 1929) (Okino, Hatsushika, 1994). Сведения о тонком строении рода *Pyramicocephalus* представлены в литературе только работами автора диссертации.

Исследования тонкого строения тегумента, нервной, протонефридиальной системы и железистого аппарата весьма актуальны для понимания паразито-хозяйинных отношений и структурных адаптаций к паразитизму. Кроме того, отрывочные и фрагментарные сведения о строении плероцеркоидов дифиллоботриид не позволяют понять степень морфологических отличий между представителями разных семейств и отрядов цестод.

Наименее изучена роль фронтальных желез плероцеркоидов в проникновении в хозяина в разных таксонах цестод, включая дифиллоботриид. Изучение строения и поведения плероцеркоидов имеет принципиальное значение для разработки

лекарственных препаратов при лечении цестодозов. Известно, что плероцеркоиды *P. phocarum*, обитая в печени тресковых рыб, ухудшают их товарные качества и являются одним из источников инвазии водных млекопитающих, и иногда человека, кишечными формами дифиллоботриоза. Несмотря на значимость, на сегодняшний день нет публикаций (кроме публикаций автора), касающихся ультраструктурной организации плероцеркоидов *P. phocarum*. Наиболее актуальной темой для цестод в целом, является предложенная в работе функциональная оценка ультраструктурных особенностей железистой, протонефридиальной и нервной систем органов дифиллоботриид.

1.2 Цели и задачи

Целью данной работы было изучить микроскопическую анатомию и ультраструктурную организацию плероцеркоида *Pyramicoseraus phocarum*, паразита беломорской трески *Gadus morhua* (L., 1758).

В работе были поставлены следующие задачи:

1. Методами молекулярной генетики установить систематическую принадлежность личинок цестод, собранных из трески на стадии плероцеркоида.
2. Изучить тонкое строение систем органов плероцеркоида *P. phocarum*, включая тегумент, фронтальные железы, мышечную, нервную и выделительную системы.
3. Провести сравнительный анализ тонкого строения плероцеркоида с другими видами цестод для выявления как специфических, так и общих черт организации *P. phocarum*.

1.3 Объект и предмет исследования

Объектом диссертационного исследования является представитель ленточных червей *Pyramicoseraus phocarum* – паразит беломорской трески. Предмет исследования – микроскопическая анатомия плероцеркоида, выявление особенностей строения, характерных как для данного вида дифиллоботриид, так и цестод в целом.

1.4 Научная новизна исследования

Тонкая морфология, ультраструктура и иммуноцитохимия *P. phocarum* ранее не изучались, поэтому полученные в работе результаты являются новыми для науки. Молекулярно-генетическими методами впервые подтверждена систематическая

принадлежность личинок, извлеченных из беломорской трески *G. morhua* к виду *P. phocarum*. Впервые для этого вида описаны такие особенности биологии как наличие соединительно-тканной капсулы и двигательные характеристики плероцеркоида, извлеченного из рыбы.

На основе анализа жизненного цикла *P. phocarum* и жизненных циклов родственных видов впервые предложена гипотеза о роли беломорской трески в качестве резервуарного хозяина в жизненном цикле *P. phocarum*.

Впервые описано и проанализировано строение систем органов плероцеркоида *P. phocarum* (в т.ч. тегумент, базальный матрикс, мышечная система, система фронтальных желез, нервная и выделительная системы) методами световой, электронной и конфокальной микроскопии.

Подробно изучена ультраструктура тегумента и подстилающего базального матрикса. Впервые для отряда Diphyllbothriidea описаны радиальные закоривающие филаменты в базальном матриксе тегумента.

Впервые для вида изучена цитохимическая и ультраструктурная организация нервной системы плероцеркоида. В центральной и периферической нервной системе выявлены многочисленные нейроны различной эргичности, иммунореактивные к α -tubuline, 5-HT, GABA, FMRFamide. Показано, что нервная система *P. phocarum* отличается относительно низкой концентрацией нервных элементов; медианная комиссура, соединяющая латеральные доли мозга имеет рыхлое строение.

На основе сравнительного анализа нервной и железистой систем плероцеркоида *P. phocarum* с другими представителями дифиллоботриид впервые выдвинута концепция нейро-железистого мозга, характеризующаяся архитектурной, ультраструктурной и функциональной ко-локализацией двух систем.

Впервые изучена архитектура, ультратонкое строение и цитохимия протонефридиальной системы плероцеркоида *P. phocarum*; проведена ревизия терминов выделительной системы цестод. Подтверждена гипотеза самостоятельности циртоцитов, которая оспаривалась некоторыми авторами.

Впервые для цестод показано участие серотонина в работе ресничных терминальных клеток; наличие фибриллярного актина в стенках протонефридия

дает основание к поддержке гипотезы ультрафильтрации межклеточной жидкости через молекулярное сито на поверхности микроворсинок верши протонефридия.

Впервые выявлена вертикальная стратификация цитоплазмы выделительных каналов и описан характер ее изменения в каналах различного порядка, что подтверждает возможность осуществления ряда функций, последовательно сменяющих друг друга вместе с изменением характера стратификации.

Впервые для класса цестод на ультраструктурном уровне доказано наличие множественных нефропоров, открывающихся в терминальный экскреторный канал каудального отдела выделительной системы плероцеркоида *P. phocarium*.

1.5 Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты настоящей работы вносят существенный вклад в современные представления о строении и биологии цестод, и важны как с теоретической, так и с практической точки зрения.

Полученная информация о тонком строении пограничных тканей, нервной системы, протонефридиальной системы, железистого аппарата и особенностях биологии ленточных червей из отряда Diphyllbothriidea имеет теоретическое значение для сравнительной морфологии неодермат.

Полученные данные будут полезны для изучения степени пластичности тканей цестод на различных уровнях и в связи с адаптацией к сменяющимся условиям среды обитания, что важно для изучения паразито-хозяйинных отношений.

В связи с высокой патогенностью дифиллоботриид для человека и млекопитающих, нанесения вреда промысловым видам рыб, имеющих экономическое значение, полученные в результате имеют практическое значение. В диссертации получены новые данные о строении инвазионных личинок цестод, которые являются основой для разработки эффективных мер по предотвращению и лечению дифиллоботриозов, для изучения патогенеза и оценки экономического, медицинского и ветеринарного влияния дифиллоботриид.

Новые данные о строении нервной, мышечной, протонефридиальной, железистой систем органов будут использованы для курсов сравнительной анатомии беспозвоночных и включены в учебные курсы по зоологии, гельминтологии и паразитологии.

1.6 Методология диссертационного исследования

Методологической основой диссертационного исследования является сравнительный анализ комплекса данных, полученных различными современными методами и подходами. Для изучения особенностей биологии проводили паразитологические вскрытия и прижизненные наблюдения за поведением плероцеркоидов *in vitro* в физиологическом растворе по крови трески. Для изучения микроскопической анатомии объекта в работе применен комплексный подход с использованием 4-х разных методов микрокопирования. Светооптические методы применяли для исследования полутонких срезов и описания гистологического строения систем органов. Для изучения внешней морфологии личинок использовали метод сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Для изучения ультраструктуры клеток и тканей были применены методы трансмиссионной (ТЭМ) и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Конфокальную лазерную сканирующую микроскопию использовали для изучения иммуноцитохимической организации систем органов и клеток; для этого изготавливали замороженные срезы, которые окрашивали гистохимическими и иммуноцитохимическими флуоресцентными красителями. Объекты были зафиксированы и подготовлены для каждого метода исследования согласно оригинальным протоколам, разработанным диссертантом в процессе выполнения работы.

1.7 Положения, выносимые на защиту

- 1) Тонкое строение плероцеркоида *Pyramicocephalus phocarum* имеет ряд уникальных черт, но в целом соответствуют другим представителям отряда Diphyllbothriidea.
- 2) Центральная нервная система *P. phocarum* отличается относительно низкой концентрацией нервных элементов; медианная комиссура, соединяющая латеральные доли мозга, имеет рыхлое строение. В сколексе нервная система плероцеркоида ко-локализована с системой фронтальных желез и формирует нейро-железистый мозг.
- 3) Мощно развитый аппарат фронтальных желез *P. phocarum* функционирует под контролем нервной системы, получая синапсы от нейронов мозга при участии FMRFamide-IR нейропептидов.

4) Выделительная система плероцеркоида *P. phocarum* образована самостоятельными циртоцитами и системой каналов различного порядка, образованной синцитиальным экскреторным эпителием. Вертикальная стратификация цитоплазмы выделительных каналов и характер ее изменения в каналах различного порядка свидетельствует о многофункциональности экскреторного эпителия. Мочевой пузырь является производным экскреторного эпителия, а терминальная пора - производной неодермиса (тегументальный канал). Плероцеркоид *P. phocarum* обладает множественными нефропорами, самостоятельно открывающимися в терминальный канал.

1.8 Степень достоверности

Достоверность результатов, полученных в диссертационной работе, обеспечивается корректным использованием современных методов исследования.

При сборе ленточных червей для ультраструктурных и иммуноцитохимических исследований использовали свежельвовленную рыбу, вскрытие проводили в холодной лаборатории в течение 1 часа после вылова. При проведении прижизненных наблюдений плероцеркоиды содержались в оптимальных условиях тоничности раствора. При проведении гистологических и ультраструктурных исследований были использованы корректные протоколы, разработанные на основании предварительных исследований, для фиксации использовали свежеприготовленные растворы реактивов известных фирм-производителей (Sigma; Alexa; Merk; & etc). Достаточная выборка червей была использована для приготовления серий полутонких срезов, от 3 и более (5-11) экземпляров. Корректировка яркости и контрастности фотоматериалов, полученных в ходе исследований на световых и электронных микроскопах, затрагивала все пиксели изображений, не меняя физической сущности объекта.

1.9 Личный вклад

План исследования разработан автором диссертации совместно с научным руководителем. Для постановки целей, автором выполнен анализ литературы. Сбор материала на ББС МГУ и Рыбинском водохранилище произведен самостоятельно автором диссертации с 2016 по 2018 гг. Фиксация, проводка, заливка, изготовление полутонких, ультратонких и замороженных срезов проводились самостоятельно автором работы. Наблюдение за поведением червей и их видео-регистрация выполнены автором исследования. Проведение выделения

ДНК, амплификации и секвенирования генетических последовательностей проведены соискателем. Изучение образцов методами световой, сканирующей электронной, трансмиссионной электронной и конфокальной микроскопии выполнено автором. Анализ полученных видеозаписей, генетических последовательностей и микрофотографий выполнен автором. Подготовка публикаций выполнена автором совместно с соавторами. Автор принимала активное участие в постановке научных задач, анализе полученных результатов и представлении их в печати.

1.10 Апробация результатов

Результаты исследований, описанные в работе, были доложены и обсуждены на симпозиумах, российских и международных конференциях: Международный конгресс по морфологии беспозвоночных ICIM4 (18-23 августа 2017 года, Москва), Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2017» (20 апреля 2017 года, Москва), «Ломоносов – 2021» (12-23 апреля 2021 года, Москва), VI Всероссийская конференция с международным участием «Школа по теоретической и морской паразитологии» (5-9 сентября 2016 года, Севастополь), Международная конференция «Фауна и экология паразитов» (25 ноября 2016 года, Москва), V научно-практическая конференция молодых ученых с международным участием «Современные проблемы и перспективы развития рыбохозяйственного комплекса» (17-18 апреля 2017 года, Москва), VI Съезда Паразитологического сообщества: современная паразитология - основные тренды и вызовы (15-19 октября 2018 года, Санкт-Петербург).

1.11 Публикации

Полный список работ автора включает 16 научных публикаций.

По материалам диссертации опубликовано 4 статьи в рецензируемых журналах на английском языке. В работах, опубликованных в соавторстве, основополагающий вклад принадлежит соискателю.

1. **Mustafina A.**, Biserova N. 2017. *Pyramicocephalus phocarum* (Cestoda: Diphyllbothriidea): the ultrastructure of the tegument, glands, and sensory organs // *Invertebr. Zool.* Vol.14. P.154-161. DOI 10.15298/invertzool.14.2.09
2. Biserova N., **Mustafina A.**, Malakhov V.V. 2021. Structure of the Excretory System of the plerocercoid *Pyramicocephalus phocarum* (Cestoda: Diphyllbothriidea):

Proof for the Existence of Independent Terminal Cells // Doklady Biological Sciences. Vol.496. P.17-20. DOI 10.1134/S0012496621010026

Бисерова Н.М., **Мустафина А.Р.**, Малахов В.В. 2021. Строение выделительной системы плероцеркоида *Pyramicocephalus phocarum* (Cestoda: Diphylobothriidea): доказательство существования самостоятельных терминальных клеток // Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. Vol.496. No.12. P.4-27. [перевод] DOI 10.31857/S2686738921010066

3. Biserova N., **Mustafina A.**, Raikova O. 2022 The neuro-glandular brain of the *Pyramicocephalus phocarum* plerocercoid (Cestoda, Diphylobothriidea): immunocytochemical and ultrastructural study // Zoology. DOI 10.1016/j.zool.2022.126012

4. **Mustafina A.**, Biserova N. 2022 Excretory system ultrastructure of diphylobothriidean tapeworm *Pyramicocephalus phocarum* with cytochemical and functional implication // Invertebr. Zool. Vol.19. No.2. P.159–184 DOI 10.15298/invertzool.19.2.05

Личный вклад автора в научных трудах составляет 2/3 в публикациях “*Pyramicocephalus phocarum* (Cestoda: Diphylobothriidea): the ultrastructure of the tegument, glands, and sensory organs” (Mustafina, Biserova, 2017), “Excretory system ultrastructure of diphylobothriidean tapeworm *Pyramicocephalus phocarum* with cytochemical and functional implication” (Mustafina, Biserova, 2022), ½ в работе “Structure of the Excretory System of the plerocercoid *Pyramicocephalus phocarum* (Cestoda: Diphylobothriidea): Proof for the Existence of Independent Terminal Cells” (Biserova, Mustafina, Malakhov) и 1/3 в работе “The neuro-glandular brain of the *Pyramicocephalus phocarum* plerocercoid (Cestoda, Diphylobothriidea): immunocytochemical and ultrastructural study” (Biserova, Mustafina, Raikova).

Глава 2. Литературный обзор

2.1 Систематическое положение отряда *Diphyllobothriidea* и *Pyramicocephalus phocarum*

Отряд *Diphyllobothriidae* ранее имел статус семейства в отряде *Pseudophyllidea* (Carus, 1863). Первый известный ленточный червь, помещенный в этот отряд – *Dibothriocephalus latus* (ранее, *Diphyllobothrium latum* (Linnaeus, 1758). В тексте работы названия видов приводятся в том виде, в котором они использованы в литературных источниках (Waeschenbach et al., 2017)) – широко распространенный паразит рыб и человека. Позднее было предложено имя *Pseudophyllidea* в качестве названия для одного из 5 семейств, в которых были помещены пять известных на тот момент родов ленточных червей (van Beneden in Carus, 1863). В группу псевдофиллид попали такие роды как *Bothriocephalus* Rudolphi, 1808 (syn. *Dibothrium*), *Ligula* Bloch, 1782 (вместе со *Sparganum* (Diesing, 1854)), *Schistocephalus* Creplin, 1829 и *Triaenophorus* Rudolphi, 1793 (*Tricuspidaria* (Rudolphi, 1793)). Несколько позже, во второй половине XIX века, к этой группе присоединился род *Pyramicocephalus* Monticelli, 1890 (Kuchta, 2007; Bray et al., 1994).

Считалось, что *Pseudophyllidea* — базальная группа среди *Eucestoda*. Это подтверждалось на морфологическом уровне (Brooks et al., 1991; Hoberg et al., 1997). Разные авторы сближали *Pseudophyllidea* с *Harplbothriidae* (Dubinina, 1980) или *Spathbothriidae* (Hoberg et al. 1997; Olson et al., 2001), *Trypanorhyncha* (Euzet, 1981; Mariaux, 1998) или *Trienophoridae* (Freeman, 1973), однако об отделении *Diphyllobothriidae* от псевдофиллид в начале писал Фрезе (Freze, 1974): он считал, что отряд *Pseudophyllidea* нужно разделить на подотряд *Diphyllobothriata* и подотряд *Bothriocephalata*. Позже такую точку зрения поддержал Euzet (1982), предложивший в своей работе похожую классификацию: разделить *Pseudophyllidea* на два подотряда, *Bothriocephalinae* и *Diphyllobothriinae*. Юрахно (1992) добавлял к этому разбиению еще третий подотряд *Polygonoporiata*, описанный им же в том же году. В дальнейшем исследования морфологии, онтогенеза и последовательности рибосомальной ядерной ДНК показали парафилию группы *Pseudophyllidea* (Hoberg et al., 1997; Mariaux, 1998; Olson et al., 2001; Brabec et al., 2006). Согласно этим исследованиям, дифиллоботрииды имели более базальное положение по сравнению с остальными семействами отряда *Pseudophyllidea*. Brabec (Brabec et al., 2006), основываясь на результатах анализа ДНК большой и малой субъединиц

рибосомы, помещал *Diphyllobothriidea* как сестринскую к *Harplbothriidea*, а они в свою очередь являлись сестринской группой к *Scyphocephalidea*. *Bothriocephalidea* же, по его мнению, была более прогрессивной группой, сестринской по отношению к “тетрафоссатам”.

В ходе ревизии системы *Pseudophyllidea* был вновь поднят вопрос о разделении этого отряда на основе различий в морфологии и жизненном цикле ее представителей (Kuchta, 2007). И наконец, в 2008 году отряд *Diphyllobothriidea* обрел самостоятельность: исходный отряд *Pseudophyllidea* был разделен на более базальный отряд *Diphyllobothriidea* и более прогрессивный отряд *Bothriocephalidea* (Kuchta et al., 2008). Различия, на которых базируется это разделение, касаются строения половой системы, а также спектра дефинитивных хозяев. Синонимичными отряду *Diphyllobothriidea* признаются *Diphyllobothriata* (Freze, 1974), *Diphyllobothriinea* (Euzet 1982), *Polygonoporiata* (Yurakhno, 1992).

Таким образом, согласно работе Kuchta (Kuchta et al., 2008), к отряду *Diphyllobothriidea* относится 3 семейства:

- *Cephalochlamydidae* (Yamaguti, 1959). Типовой род — *Cephalochlamys* Blanchard, 1908.
- *Scyphocephalidae* (Freze, 1974). Типовой род — *Scyphocephalus* Riegenbach, 1898.
- *Diphyllobothriidae* (Luhe, 1910). Синонимы: *Baylisiidae* Yurakhno, 1992; *Baylisiellidae* Yurakhno, 1992; *Ligulidae* Claus, 1868; *Glandicephalidae* Yurakhno & Maslev, 1995; *Schistocephalidae* Yurakhno, 1992. Типовым видом семейства *Diphyllobothriidae* считается *Diphyllobothrium latum*, или *Лентец широкий* (ныне *Dibothriocephalus latus*). Впервые он кратко описан под именем *Taenia lata* (Linnaeus, C., 1758). Другие валидные роды: *Baylisia* (Markowski, 1952); *Baylisiella* (Markowski, 1952); *Diplogonoporus* (Lonnberg, 1892); *Flexobothrium* (Yurakhno, 1979); *Glandicephalus* (Fuhrmann, 1921); *Ligula* (Bloch, 1782); *Plicobothrium* (Rausch, Margolis, 1969); *Pyramicocephalus* (Monticelli, 1890); *Schistocephalus* (Creplin, 1829); *Spirometra* (Faust, Campbell, Kellogg, 1929); *Tetragonoporus* (Skriabin, 1961).

Исследуемый в настоящей работе вид *Pyramicocephalus phocarum* относится к семейству *Diphyllobothriidae* (Kuchta et al., 2008). Наиболее базальными родами в семействе являются представители рода *Spirometra* и *Schistocephalus*.

Pyramicocephalus (с единственным описанным видом *P. phocarum*) является сестринским родом к части *Diphyllobothrium* и к кладе, которая разделяется на ветвь *Ligula* и ветвь *Dibothriocephalus*, которые прежде считались принадлежащими к роду *Diphyllobothrium* (Waeschenbach et al., 2017).

2.2 Биология представителей семейства Diphyllbothriidae

Жизненный цикл представителей отряда дифиллоботриид как правило проходит как правило со сменой двух промежуточных хозяев и одного окончательного (исключение составляют представители семейства цефалохламидид, которые имеют лишь 2 хозяина в своем жизненном цикле (Thurston, 1967)). В качестве первого промежуточного хозяина выступают планктонные морские или пресноводные копеподы, вторым промежуточным хозяином являются морские и пресные костистые рыбы (кроме представителей *Spirometra*, которые в качестве вторых промежуточных хозяев используют тетрапод). Окончательным хозяином являются позвоночные животные, например, морские и сухопутные млекопитающие, птицы, пресмыкающиеся или земноводные (Kuchta et al., 2008; Waeschenbach et al., 2017).

Жизненный цикл типичного представителя дифиллоботриид *Diphyllbothrium latum* Лентеца широкого (или *Dibothriocephalus latus*, согласно последней ревизии Waeschenbach et al., 2017) начинается с яйца, окруженного несколькими оболочками. Из яйца выходит корацидий, который содержит шестикрючный зародыш – онкосферу. Корацидий заглатывается веслоногим рачком, мигрирует в полость тела и преобразуется в процеркоид. При этом происходит метаморфоз тканей и покровов личинки. Процеркоид передается второму промежуточному хозяину по пищевой цепочке. Вторым промежуточным хозяином лентеца широкого могут быть различные рыбы, в том числе налим, щука, окунь, ерш и лососевые рыбы. Процеркоид заражает второго промежуточного хозяина и постепенно превращается в плероцеркоид. В половозрелого червя плероцеркоид превращается в кишечнике рыбоядного млекопитающего, которым может оказаться в том числе и человек (Rausch, Hilliard, 1970; Догель, 1981).

Многие виды дифиллоботриид имеют медицинское значение. Например, они могут вызывать такие заболевания, как дифиллоботриоз, диплогонопороз, спарганоз, иногда спиromетроз. Дифиоллоботриоз является наиболее распространенным цестодозом, передающимся человеку от рыб с пищей (Muller, 2002).

Жизненный цикл *P. phocarum* расшифрован не до конца. В литературе имеется описание первой личиночной свободноживущей стадии – корацидия, полученного из окончательного хозяина *E. barbatus* (Hilliard, 1960). Данных о первом промежуточном хозяине процеркоида *P. phocarum* нет. Широко известно обитание

плероцеркоида в брюшной полости и пилорических придатках некоторых видов рыб (*E. navaga*, *H. hippoglossus*, *P. stallatus*, *E. gracilis*, *M. platycephalus* и *G. morhua* (Rausch, 1967; Hemmingsen et al., 1992)). Взрослые стадии паразитируют в кишечнике ластоногих, морских выдр (*Ph. barbata*, *Ph. hispida*, *C. cristata*, *E. jubatus*, *E. lutris*) (Delyamure, 1961; Rausch, 1967; Делямуре и др., 1985; Lauckner, 1985; Schmidt, 1986; Margolis et al., 1997). Известны случаи заражения собак и человека (Grabda, 1997).

2.3 Строение систем органов ленточных червей

2.3.1 Строение тегумента, базального матрикса и мышечной системы

Тегумент цестод – это сложная структура, которая очень важна для метаболизма червя. Через тегумент происходит активное всасывание нутриентов, секреция (Davydov et al., 1995). Тегумент может выполнять осморегуляторную функцию (Виноградов и др., 1982) и иметь иммуномодуляторные свойства (Давыдов, Микряков, 1988; Kuttyrev et al., 2017). Тегумент является важнейшей структурой, осуществляющей взаимодействие паразита и его хозяина.

Тегумент – это синцитиальный эпителий на поверхности тела паразитических личинок и взрослых цестод. Ядра тегумента погружены под базальную пластинку, погруженная часть тегумента представляет собой так называемые цитоны. У дифиллоботриид формирование тегумента начинается в первом промежуточном хозяине на стадии процеркоида. Сразу после инвазии сбрасывается ресничный покров и образуется новый синцитиальный цитоплазматический слой, или дистальная цитоплазма; на его поверхности формируются микроворсинки, на основе которых, либо *de novo* образуются микротрихии (Куперман, 1988; Davydov et al., 1995; Korneva, 2004). Микротрихии увеличивают площадь поверхности в десятки раз (Бисерова, 1987; Куперман, 1988; Radha et al., 2006). Кроме того, они могут являться таксономически важным признаком (Richmond, Caira, 1991; Caira et al., 1999; Agustí et al., 2005; Gil de Perterra, 2005). Морфология микротрихий разнообразна - разнообразна и терминология для их описания: в ранних работах микротрихии были описаны как “fibrilles protoplasmiques” (Sommer, Landois, 1872), “cilien” (Steudener, 1877), “fibres” (Moniez, 1881), или как “fine rods or threads” (Leuckart, 1886). Нуман (1951) описывал микротрихии как кутикулу с расширениями в виде волосков и чешуек. Впервые термин «микротрихии» предложил Rothman (1959). С помощью методов трансмиссионной микроскопии была установлена

универсальная схема строения микротрихий вне зависимости от их формы: имеется электронно-светлая базальная часть и электронно-плотная апикальная часть (Holy, Oaks, 1986). Было произведено несколько попыток ревизии терминологии для описания составных частей микротрихий (Jha, Smyth, 1969; Mackiewicz, 1972; Holy, Oaks, 1986; Biserova, 1991). В данной работе используется терминология, предложенная Lenta Chervy (2009): дистальная электронноплотная часть микротрихии – *cap*, проксимальная светлая часть – *base*, их разделяет *baseplate*. Исчерченность апикальной части микротрихии обусловлена *cap tubules*, которые имеют неактивную природу. Микротрихия покрыта плазматической мембраной и несет на поверхности слой гликокаликса.

Для цестод отмечено большое разнообразие микротрихий и их неравномерное распределение по поверхности тела (Бисерова, Куперман, 1983; Бисерова, 1987; 1991; Куперман, 1988). Кроме того, разнообразие и неравномерность распределения микротрихий описана для разных стадий развития (Berger, Mettrick, 1971; Hayunga, 1991; Palm et al., 1998; Radha et al., 2006). Это предположительно связано с различными функциями, которые они выполняют. Предполагается, что микротрихии участвуют в примембранном пищеварении за счет своей удлинённой базальной части, а электронно-плотная апикальная часть участвует в проникновении, фиксации и противостоянии перистальтике (Jha, Smyth, 1969; Бисерова, 1987; Куперман, 1988; Hayunga, 1991; Radha et al., 2006). Однако, микротрихии обнаружены на стадии процеркоида и плероцеркоида, что означает, что их функции более универсальны и не приурочены лишь к паразитированию на взрослой стадии в кишечнике (Palm et al., 2000; Poddubnaya et al., 2007; Levron et al., 2008).

Параллельно с формированием микротрихий происходит образование дистальной цитоплазмы тегумента. Содержимое слоя представлено вакуолями, дисковидными и пластинчатыми телами, митохондриями. Толщина слоя может меняться в зависимости от стадии развития: например, для процеркоида *Diphyllobothrium dendriticum* (*Dibothriocephalus dendriticus*, Waeschenbach et al., 2017) она составляет около 1-3 мкм, тогда как у плероцеркоида того же вида – 7-8 мкм (Grammeltvedt, 1973). Дисковидные и пластинчатые тела в дистальной цитоплазме предположительно участвуют в формировании электронно-плотного материала микротрихий (Braten, 1968; Charles, Orr, 1968). Количество тел может различаться у разных видов, например, у *Ligula intestinalis* (Gmelin, 1790) они

многочисленны и равномерно распределены по цитоплазме, у *Schistocephalus solidus* (Steenstrup, 1857) их заметно меньше (Charles и Orr, 1968). Митохондрии располагаются преимущественно в базальной части дистальной цитоплазмы и связаны с дыханием (Куперман, 1988).

С дистальной цитоплазмой связаны погруженные цитоны тегумента с ядрами и другими органеллами, такими как аппарат Гольджи, шероховатый ЭПР, свободные рибосомы, митохондрии, вакуоли, дискообразные и пластинчатые тела. Органоиды и включения поступают в дистальную цитоплазму через длинные цитоплазматические отростки (Куперман, 1988).

Дистальная цитоплазма лежит на базальной пластинке, состоящей из электронно-плотной lamina densa и толстого слоя волокон умеренной плотности (Threadgold, 1984). Эти волокна составляют слой lamina fibrosa, который у *D. dendriticum* формирует также и экстраклеточный матрикс, проникающий между слоями мускулатуры и клетками паренхимы. Таким образом, базальный матрикс рассматривается как разновидность и часть экстраклеточных матриксов (Pedersen, 1991). Методами иммуноцитохимии было установлено, что базальный матрикс и часть экстраклеточного матрикса иммунореактивны к фибронектину, ламинину и коллагену IV (Lindroos, Wikgren, 1987).

В базальном матриксе для *Hymenolepis diminuta* (Rudolphi, 1819) были описаны так называемые заякоривающие филаменты, которые осуществляют связь между базальной мембраной дистальной цитоплазмы тегумента и слоями субтегументальной мускулатуры (Holy, Oaks, 1987). Субтегументальная мускулатура представлена кольцевыми и продольными мышечными слоями. Кроме того, у цестод имеется паренхимная мускулатура, представленная продольными, поперечными, радиальными и дорсо-вентральными волокнами (Wahlberg, 1998). Миоциты имеют сократимую часть с волокнами актина и миозина и перикарион, или трофическую часть, с ядром, многочисленными митохондриями и шероховатой ЭПР (Куперман, 1988; Korneva, 2013). У миоцитов имеются отростки, заполненные гликогеном, при чем в одних случаях они могут располагаться на поверхности сократимой части, в других – на перикарионах (Lumsden, Byram, 1967; Korneva, 2001).

2.3.2 Строение нервной системы

Микроскопическая анатомия нервной системы дифиллоботриид мало изучена, однако имеется обширный материал по визуализации нервной системы плероцеркоида *D. dendriticum* (*Dibothriocephalus dendriticus*) на базе иммуноцитохимического выявления активных субстанций (Gustafsson, Wikgren, 1981; Wikgren, 1986; Gustafsson, 1990; Gustafsson, Eriksson, 1991; Gustafsson et al., 1993). Ультраструктурные данные касаются описания отдельных нейронов и синапсов, но без привязки к месту нахождения в центральной или периферической нервной системе (Gustafsson, 1984). Несмотря на большое количество публикаций, остается не описана архитектура мозга *D. dendriticum*, что необходимо для сравнительно-морфологического анализа с представителями других семейств и отрядов цестод. О существенных различиях в архитектуре мозга у представителей разных семейств дифиллоботриид свидетельствуют исследования тонкой морфологии мозга у *L. intestinalis* (Бисерова, Гордеев, 2010) и *D. latum* (Barčák et al., 2019). Мозг дифиллоботриидных цестод состоит из пары нейропилей латеральных долей, и медианной комиссуры. Тела нейронов располагаются группами вокруг нейропилей. Из нейропилей выходят парные дорсальные и вентральные нервы, которые иннервируют складки ботрий. Медианная комиссура соединяет нейропилы и состоит из нейронов и нервных волокон. Отличительной особенностью лигулид является непарная вентральная доля мозга, образованная нейронами медианной комиссуры и выходящими нервами. В ростральном направлении из нейропилей выходят передние нервы, иногда фронтальные доли, в каудальном - главные нервные стволы (Бисерова, Гордеев, 2010).

В тегументе многих видов цестод описаны ресничные и безресничные нервные окончания (Morseth 1967; Webb, Davey, 1974; Hess, Guggenheim, 1977; Richards, Arne, 1982; Jones, 1990; Biserova, 1991; Poddubnaya, 1998; Бисерова, Корнева, 1999). Свободные нервные окончания сконцентрированы на поверхности прикрепительных органов и рядом с ними (Biserova 1987, 1991). Часто терминали колокализированы с порами фронтальных желез в сколексе (Давыдов, Бисерова, 1985; Бисерова, Кемаева, 2012).

Функциональный аспект деятельности нервной системы цестод остаётся наименее изученным (Fairweather, Halton, 1991; Brennan et al., 1993; Halton, Gustafsson, 1996; Halton, Maule, 2004), несмотря на то, что понимание особенностей функционирования нервной системы цестод необходимо для выяснения

взаимодействия с хозяином на разных стадиях развития. Для дифиллоботриид, опасных паразитов человека и животных, особенно важно понимать роль нервной системы в манипулировании хозяином. Влияние паразита на хозяина осуществляется разными способами; в первую очередь это активные молекулы, выделяемые плероцеркоидом в ткани хозяина в качестве секрета эккринных желез, экскреции через выделительную систему, секреторных продуктов тегумента. Имеются сведения о выделении активных молекул с поверхности ресничных и безресничных свободных нервных терминалей (Бисерова, Корнева, 1999; Kuttyrev et al., 2017).

2.3.3 Строение фронтальных желез

Впервые железы были описаны в онкосферах циклофиллидных цестод *Raillietina cesticillus* (Reid, 1948). В той же работе впервые был предложен термин «penetration glands».

Железистые клетки у дифиллоботриид были отмечены у *D. latum*, *T. nodulosus* и *Bothriocephalus rarus* (Thomas, 1937) еще в начале 20 века (Vogel, 1930). Однако описаны на ультраструктурном уровне несколько позже (Braten, 1968; Kuperman, Davydov, 1982; Куперман, 1988; Бисерова, Кемаева, 2012). Двуклеточные железы имеются у онкосфер диффилоботриид, а железы проникновения формируются у процеркоида, но гораздо более развиты у плероцеркоида (Kuperman, Davydov, 1982). Секреторные гранулы у процеркоидов и плероцеркоидов сходны. В цитоплазме железистых клеток содержится большое количество электронно-плотных гранул округлой или вытянутой формы, шероховатая ЭПР, свободные рибосомы. Протоки желез проходят через субтегументальную мускулатуру и тегумент и открываются преимущественно на переднем конце тела. Протоки укреплены микротрубочками, способствующими продвижению секреторных гранул к поверхности тела и препятствующие сжатию протоков при сокращении мускулатуры (Ohman-James, 1973; Kuperman, Davydov, 1982). У *D. dendriticum* благодаря дифференциальной окраске гистологических препаратов было описано два типа фронтальных желез: зеленые и золотые железы (Gustafsson, Vaihela, 1981).

Фронтальные железы, или железы проникновения играют важную роль при проникновении в хозяина и во взаимодействии с ним. Кроме предполагаемых функций адгезии и лизиса тканей хозяина (Ohman-James 1973; Andersen 1975),

была обнаружена иммуномодуляторная функция секрета фронтальных желез плероцеркоидов *D. dendriticum*: показано, что терминальные части фронтальных желез могут продуцировать простогландино-подобные субстанции (Kutyrev et al., 2017).

На ультраструктурном уровне показаны электрические синапсы между клетками фронтальных желез с отростками нервных клеток, что дает основания полагать, что фронтальные железы иннервируются напрямую клетками центральной нервной системы (Бисерова, Кемаева, 2012).

2.3.4 Строение протонефридиальной системы

Выделительная система цестод протонефридиального типа. Значительная часть выделительной системы представлена синцитиальным эпителием (Lindroos, 1982; Куперман, 1988; Поспехова и др., 1993; Kabbany, 2009; Korneva, 2013). Выделительная система представлена циртоцитами, или терминальными клетками, и каналами, выводящими мочу наружу. Выделительная система изменяется в ходе онтогенеза и образуется у цестод дважды. Этот процесс детально изучен на примере ботриоцефаллидной цестоды *Triaenophorus nodulosus* (Pallas, 1781) (Korneva, 1998). Первичная система функционирует на стадии свободноживущей личинки, состоит из двух терминальных клеток и пары каналов. Каждый циртоцит соединен со своим экскреторным каналом, который в свою очередь контактирует с клеткой, которая формирует экскреторную пору личинки (Корнева, 1994; Korneva, 1998; Korneva, 2001, 2004; Swiderski, Mackiewicz, 2004). Вторичная система формируется *de novo* у процеркоидов, функционирует независимо от первичной и наследуется плероцеркоидами и взрослыми стадиями (Malmberg, 1971, 1972, 1974; Korneva, 1998; Korneva, 2004). Вторичная выделительная система имеет усложненное строение канальной системы: канальная система удлиняется, у многих цестод дифференцируются каналы разных порядков, у многих описан мочевого пузырь на заднем конце тела (Дубинина, 1982; Rohde, 1991; Rohde et al., 1992; Xylander, 1992; Korneva et al., 1998; Poddubnaya et al., 2020). У разных представителей низших цестод канальная часть экскреторной системы состоит из продольных главных каналов и периферической сети более мелких каналов (Malmberg, 1974; Lindroos, Gardberg, 1982; Lindroos, 1983; Куперман, 1988).

Неясным остается вопрос о том, имеются ли у цестод самостоятельные терминальные клетки (циртоциты), характерные для других плоских червей. По одним данным у цестод нет отдельных циртоцитов (Rohde, 1986; Куперман, 1988), и вся выделительная система представляет собой синцитий, по другим – проксимальные части канальцев выделительной системы заканчиваются самостоятельными терминальными клетками (Howells, 1969; Wison, Webster, 1974; Поспехова и др., 1993). Howells (1969) указывает на наличие пор (нефростом) между полостью, образованной циртоцитом, и окружающим медклеточным веществом и вовсе отвергает идею существования протонефридия у цестод.

Канальная часть выделительной системы плероцеркоидов дифиллоботриид (на примере *D. dendriticum*) состоит из периферической сети каналов, центральной системы, состоящей из двух продольных каналов, сообщающихся между собой поперечными каналами, капиллярного плексуса в сколексе, а также мочевого пузыря с порой на заднем конце тела плероцеркоида (Lindroos, 1982). Такое строение полностью соответствует ранее описанному строению протонефридиальной системы псевдофиллид (Нуман, 1951). Эпителий протоков состоит из синцитиального слоя на волокнистой базальной пластинке. Поверхностный слой эпителия почти гомогенен, в то время как гранулы гликогена и митохондрии находятся в базальной части. Цитоны почти всегда находятся под базальной пластинкой и соединены с эпителием выстилки отростками. В стенках канала наблюдаются мембрано-ограниченные электронно-плотные дисковидные тела. Внутренняя поверхность каналов несет округлые микроворсинки с электронно-плотным материалом (Dougherty et al., 1975; Edwards, Mueller 1978; Lindroos, 1983; Протасова с соавторами, 1990; Поддубная, 2003).

Наличие мышц, ассоциированных с каналами, было отмечено Wahlberg (1998) для *D. dendritum*, у которого главные выделительные каналы имеют мощную мышечную обкладку. Периферические каналы тоже окружены мышцами, но не такими мощными, как у главных каналов. Также было отмечено, что актиновые филаменты присутствуют и в терминальных отделах выделительной системы — вблизи пламенных клеток (Wahlberg, 1998).

Положение и наличие мочевого пузыря у личинок и взрослых цестод является предметом дискуссии. В литературе у цестод мочевым пузырем называют разные структуры: инвагинацию тегумента, показанную на примере дифиллоботриид (Malmberg, 1972) или мешковидное расширение каналов выделительной системы,

высланное экскреторным эпителием, показанное на примере ботриоцефаллид (Korneva et al., 1998). Также не установлено, соединяются ли главные каналы с мочевым пузырем у плероцеркоидов дифиллоботриид (Lindroos, Gardberg, 1982). Есть сведения, что экскреторные каналы могут выходить на поверхность тела, непосредственно контактируя с поверхностным тегументом (Malmberg, 1971).

У половозрелых ленточных червей во время стробилияции задний конец тела утрачивается вместе с gravidными члениками, причем в разных отрядах отделение половозрелых члеников проходит по разному сценарию. У монозоичных цестод из базальных отрядов, стробилияция отсутствует и каудальные отделы ювенилей наследуются и сохраняются у взрослых особей. Например, Кариофиллиды (Caryophyllidae) – базальная группа Eucestoda (Hoberg et al., 1997), близкая к дифиллоботриидам (Olson, Caira, 1999; Kodedova et al., 2000). Это монозоичные цестоды. Выделительная система кариофиллид – протонефридиального типа (Протасова и др., 1990). Она состоит из циртоцитов, капиллярных канальцев, собирательных каналов и экскреторного пузырька. Имеются восходящие дорсальные каналы, которые начинаются на заднем конце тела и тянутся вперед. В области шейки каналы углубляются в паренхиму, сливаются и в сколексе соединяются с вентральными нисходящими каналами (Протасова и др., 1990). На заднем конце тела имеется экскреторный пузырь, который соединяется с экскреторным отверстием, открывающимся терминально (Протасова и др., 1990).

Большинство работ, проведенных на взрослых особях кариофиллид, сфокусировано на описании их половой системы, сделанном на уровне световой микроскопии, и с целью описания или ревизии видов. К сожалению, во многих работах сведения о выделительной системе, или, как ее иногда описывают, осморегуляторной системе, упоминаются вскользь (Woodland, 1923; Hunter, 1927; Calentine, 1962; Mackiewicz, McCrae, 1962; Mackiewicz, 1963; Niyogi et al., 1982; Schaeffner et al., 2011; Xi et al., 2016; Barcak et al., 2017). В основном эти публикации содержат информацию о примерном количестве восходящих и нисходящих каналов или размерах мочевого пузыря. В целом количество каналов даже в пределах одного вида очень пластично (Hunter, 1927), тем более сильно варьирует в пределах группы кариофиллид (от двух пар у *Lucknowia indica* (Gupta, 1961) (Niyogi et al., 1982) до 30 пар у *Capingens singularis* (Hunter, 1927) (Hunter, 1927)). Вариабелен и размер мочевого пузыря (от 24 микрон у *Biacetabulum infrequens* (Hunter, 1927) (Hunter, 1927) до 500 мкм и более у *C. laticeps* (Xi et al., 2016).

Также известно, что у червей *Archigetes iowensis* (Calentine, 1962) 6 каналов выделительной системы соединяются с выстланной «кутикулой» полостью, окружающей проксимальный конец церкомера (Calentine, 1962). Автор полагает, что эта терминальная полость (после отсоединения церкомера) образует мочевой пузырь, в который впадают терминальные каналы (Calentine, 1962).

Каналы выделительной системы кариофиллид содержат рибосомы, ЭПР, митохондрии (Протасова и др., 1990). Базальная мембрана каналов образует глубокие инвагинации. Под базальной мембраной, лежащей на базальной пластинке, располагаются волокна продольной мускулатуры. Ультраструктура внутренней поверхности каналов изучена слабо. Мембрана канала, обращенная в его просвет, несет пластинчатые выросты (Поддубная, 2003), диаметр которых варьирует у разных видов (у *Caryophyllaeus laticeps* составляет 0.003 мкм); апикальная часть ламелл не содержит электронноплотных частиц, отмеченных у дифифиллоботриид (Поддубная, 2003). Перикарионы клеток каналов содержат крупное ядро, в цитоплазматических отростках имеются запасы гликогена (Протасова и др., 1990).

Циртоциты кариофиллид могут быть одиночными или объединенными в группы (Протасова и др., 1990) с одним или несколькими ресничными пучками (Поддубная, 2003). Терминальные клетки лежат в кортикальной и медуллярной паренхиме вдоль всего тела червя. Иногда от одного циртоцита может отходить несколько пучков ресничек, как например у *K. armeniaca* (Cholodkovsky, 1915) (Поддубная, 2003). Циртоциты представляют собой терминальный, слепо оканчивающийся участок выделительной системы. Ядро центральное и крупное, цитоплазма с различными органоидами (митохондриями, рибосомами, везикулами) (Протасова и др., 1990). Число ресничек ресничного пламени варьирует у разных представителей отряда (50-100 штук) и, вероятно, связано с линейными размерами тела: у *A. sieboldi* (Leuckart, 1878) около 45 ресничек, у *C. fennica* (Schneider, 1902) и *C. laticeps* – до 70, у *K. armeniaca* – до 165 ресничек у клетки с одним пучком или 120 ресничек в пучке у клеток с несколькими пучками (Поддубная, 2003). Корешки имеют исчерченность лишь на периферии каждого корешка. Верша состоит из двух рядов микроворсинок: внешнего и внутреннего рядов (Протасова и др., 1990), между собой микроворсинки соединены цитоплазматическим материалом (Поддубная, 2003).

Трипаноринча – отряд цестод, более удаленный от базального предка по сравнению с кариофиллидами (Waeschenbach, Littlewood, 2017). Имеющихся данных о гистологическом строении выделительной системы трипаноринх не много.

Имеются данные о гистологическом строении и архитектуре выделительных каналов ряда видов трипаноринх (Rees, 1941; 1950; 1988), для которых, в отличие от дифиллоботриид, отмечены две пары продольных каналов: дорзальная пара и вентральная пара. У всех изученных видов в сколексе имеется два главных вентральных экскреторных сосуда, которые лежат снаружи от долей мозга, и пара более тонких дорсальных экскреторных сосудов, которая лежит внутри мозга, дорсальнее медианной комиссуры (Rees, 1941; 1950; 1988; Бисерова, Корнева, 2012; Biserova et al., 2020).

Выделительная система плероцеркоида *Callitetrarhynchus gracilis* (Rudolphi, 1819) состоит из парных дорсальных и вентральных сосудов, последние соединяются между собой поперечными анастомозами (Rees, 1988). Вентральные сосуды проходят в близком контакте с нервной системой между дорсальной и вентральной комиссурами. На заднем конце тела 4 продольных сосуда сливаются вместе с образованием единого экскреторного пузырька, открывающегося терминальной экскреторной порой. Tegument поры несет длинные отростки, которые смыкаются, когда пора закрыта. Вокруг поры имеется мощная мышца-сфинктер, осуществляющая закрытие поры. Открывание поры обеспечивается сокращением радиальных мышц.

О выделительной системе трипаноринх на ультраструктурном уровне известно очень мало. Есть исследования, в которых выделительная система лишь упоминается вскользь (для вида *Otobothrium insigne* (Linton, 1905), Hildreth, Lumsden, 1987). Также выделительная система на ультраструктурном уровне упоминается для вида *G. erinaceus* (Biserova, 2008) в контексте близких взаимоотношений с нервной системой. На опубликованных микрофотографиях видно апикальную поверхность эпителия с многочисленными микроворсинками.

Глоссарий терминов, имеющих отношение к выделительной системе

Экскреторная система цестод, как сточки зрения архитектуры и микроскопической анатомии, так и с точки зрения функционирования, изучена недостаточно; для большинства видов детальное описание строения выделительной системы

отсутствует вовсе. Однако, несмотря на малое число работ, терминология, используемая как в русскоязычных, так и в англоязычных литературных источниках, сильно варьирует, что затрудняет сравнительно-морфологический анализ. Ниже (табл. 1) приведена сводная таблица терминов, имеющих отношение к выделительной системе разных стадий жизненного цикла цестод. Кроме того, в таблице приведены термины, которые использованы в данной работе и их определения.

Глава 3. Материалы и методы

3.1. Материал

Червей извлекали из полости тела и кишечника рыб методом неполного паразитологического вскрытия (Быховская-Павловская, 1985). Рыбы были отловлены сетями, на удочку или с использованием донного трала.

Для получения плероцеркоидов *P. phocarum* отлавливали рыбу на удочку и сетями (*G. morhua*, *Cyclopterus lumpus* (Linnaeus, 1758)) в окрестностях Беломорской Биологической станции МГУ им. Н.А. Перцова, в Кандалакшском заливе в проливе Великая Салма. Плероцеркоидов извлекали из полости тела и между пилорическими выростами пищеварительной системы.

Плероцеркоиды *S. solidus* были извлечены из колюшки (*Gasterosteus aculeatus* (Linnaeus, 1758)), выловленной на удочку из Ершовских озер, в районе ББС МГУ им. Н.А. Перцова.

Плероцеркоиды *N. surmenicola* были любезно предоставлены И.И. Гордеевым. Личинки были извлечены из стенки желудка терпуга *Pleurogrammus azonus* (Jordan and Metz, 1913), выловленного в районе острова Симушир в марте 2017 года. Вылов осуществлялся с использованием разноглубинного донного трала на среднем рыболовном траулере «Анатолий Торчинов».

Взрослых особей *C. laticeps* извлекали из кишечника леща (*Abramis brama* (Linnaeus, 1758)) выловленного на удочку из Рыбинского водохранилища в июле 2016 года.

3.2. Методы прижизненного наблюдения

Свежевыделенных из трески плероцеркоидов *P. phocarum* помещали в физиологический раствор по крови трески (Бисерова, 2013; Абрамочкин, 2016). Наблюдения за двигательной активностью проводили в чашках Петри в течение разного времени (от 10 мин до 1 суток) при комнатной температуре. Видеозапись движений проводили с помощью стереомикроскопа Leica M165C на ББС МГУ им. Перцова.

3.3. Молекулярно-биологические методы

Для подтверждения филогенетического положения были использованы плероцеркоиды, извлеченные из трески и пинагора, и зафиксированные в 96° этаноле.

ДНК выделяли из небольших кусочков тела плероцеркоидов с помощью Diatom™ DNA Prep 100 kit фирмы Isogene согласно протоколу производителя. Выделенная ДНК использовалась как матрица для амплификации 18S рДНК малой субъединицы рибосомы. Для амплификации использовали стандартные праймеры 18S 3F – 18S bi и 18S 5R – 18S IF (табл. 2). Полимеразная цепная реакция проводилась в объеме 20 мкл, в которую входило 4 мкл 5x Screen Mix от лаборатории Eurogen (Москва), 0,5 мкл каждого праймера, 1 мкл геномной ДНК и 14 мкл стерильной воды. Амплификация происходила при первичной денатурации 94°C 5 мин с последующими 35 циклами денатурации (94°C по 30 секунд), отжига праймеров (49°C по 30 секунд) и амплификации (72°C по 60 секунд). Финальная амплификация при 72°C в течение 7 минут.

Секвенирование проходило с использованием Big Dye v3.1 sequencing kit от Applied Biosystems (USA). Секвенирование по Сенгеру производили на генетическом анализаторе ABI3500 Genetic Analyser (Applied Biosystems). Полученные хроматограммы анализировали с применением программы GeneiousPro 10.0.5 (Kearse et al., 2012).

Для подтверждения систематического положения плероцеркоидов *P. phocarum* использовали публично доступные в GeneBank последовательности 18S рДНК, приведенные в таблице 3. Данные для молекулярного анализа последовательностей 18s рДНК взяты из публикации Waeschenbach et al., 2017, где впервые были опубликованы последовательности для *P. phocarum* и проведена последняя наиболее существенная ревизия дифиллоботриид.

Таблица 2. Праймеры 18S рДНК

Последовательность праймера	Режим амплификации	Источники
1F	5 мин - 94°C, 35 x [30 сек -	Giribet et al. (1996);
TAC CTG GTT GAT CCT GCC AGT AG	94°C, 30 сек - 49°C, 1 мин -	

5R 72°C], 7 мин - Whiting et al.,
72°C (1997)
CTT GGC AAA TGC TTT CGC

3F
GTT CGA TTC CGG AGA GGG A

18Sbi
GAG TCT CGT TCG TTA TCG GA

18Sa2.0
ATG GTT GCA AAG CTG AAA C

9R
GAT CCT TCC GCA GGT TCA CCT AC

Полученные контиги и последовательности из GenBank (NCBI) были выравнены с помощью алгоритма MUSCLE (Edgar, 2004) в GeneiousPro 10.0.5. Выравненные последовательности 18S рДНК были длиной 2077 пар оснований. Для построения деревьев использовали алгоритм плагина GeneiousPro 10.0.5 Mr.Bayes, Bayesian Inference и Maximum Likelihood (версия 2.2.4) (Kearse et al., 2012).

Таблица 3. Последовательности из GenBank (NCBI), использованные в анализе (Kuchta et al., 2017)

Вид	Хозяин	GenBank ID
<i>Haplobothrium globuliforme</i>	<i>Amia calva</i>	AF124458 (Olson, Caira, 1999)
<i>Didymobothrium rudolphii</i>	<i>Pegusa lascaris</i>	EF095245 (Waeschenbach, Webster, Littlewood, 2007)
<i>Cephalochlamys namaquensis</i>	<i>Xenopus laevis</i>	DQ925307 (Brabec, Kuchta, Scholz, 2006)
<i>Adenocephalus pacificus</i>	<i>Arctocephalus pusillus</i> <i>Neophoca cinerea</i> <i>Callorhinus ursinus</i>	KY552774 KY552776

	<i>Homo sapiens</i>	KY552775 (Waeschenbach et al., 2017) DQ925310 (Brabec, Kuchta, Scholz, 2006)
<i>Dibothriocephalus dendriticus</i>	<i>Coregonus lavaretus</i> <i>Larus hyperboreus</i>	KY552778 KY552779 (Waeschenbach et al., 2017)
<i>Dibothriocephalus ditremus</i>	<i>Salvelinus alpinus</i> <i>Oncorhynchus shawytscha</i>	KY552780 KY552787 (Waeschenbach et al., 2017)
<i>Dibothriocephalus latus</i>	<i>Perca fluviatilis</i> <i>Homo sapiens</i>	AM778553 (Wicht, 2007, direct submission) KY552781 (Waeschenbach et al., 2017)
<i>Dibothriocephalus nihonkaiensis</i>	<i>Homo sapiens</i> <i>Ursus arctos piscator</i>	AM408316 (Wicht, 2007, direct submission) AB374226 (Arizono, Shedko, 2009)
<i>Diphyllobothrium balaenopterae</i>	<i>Homo sapiens</i>	KY552792 (Waeschenbach et al., 2017)
' <i>Diphyllobothrium</i> ' <i>cameroni</i>	<i>Neomonachus schauinslandi</i>	KY552796 (Waeschenbach et al., 2017)
' <i>Diphyllobothrium</i> ' <i>cordatum</i>	<i>Erignathus barbatus</i>	KY552788 (Waeschenbach et al., 2017)
' <i>Diphyllobothrium</i> ' <i>lanceolatum</i>	<i>Erignathus barbatus</i>	KY552789 (Waeschenbach et al., 2017)
' <i>Diphyllobothrium</i> ' <i>schistochilos</i>	<i>Pusa hispida</i>	KY552782 (Waeschenbach et al., 2017)
' <i>Diphyllobothrium</i> ' <i>scoticum</i>	<i>Mirounga leonina</i>	KY552777 (Waeschenbach et al., 2017)
<i>Diphyllobothrium stemmacephalum</i>	<i>Lagenorhynchus acutus</i> <i>Tursiops truncatus</i> <i>Phocoena phocoena</i>	AF124459 (Olson, Caira, 1999) KY552793 (Waeschenbach et al., 2017)

		DQ768163 (Nicoulaud, Yera, Dupouy-Camet, 2006, direct submission)
' <i>Diphyllobothrium</i> ' <i>tetrapterum</i>	<i>Callorhinus ursinus</i>	KY552786 (Waeschenbach et al., 2017)
' <i>Diphyllobothrium</i> ' <i>sp. 1</i>	<i>Zalophus californianus</i>	KY552794 (Waeschenbach et al., 2017)
<i>Diphyllobothriidae</i> <i>gen. sp</i>	<i>Trematomus bernacchii</i>	KY552795 (Waeschenbach et al., 2017)
<i>Ligula alternans</i>	<i>Hemiculter lucidus</i>	DQ925308 (Brabec, Kuchta, Scholz, 2006)
<i>Ligula cf. intestinalis</i>	<i>Podiceps cristatus</i> <i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	KY552785 KY552783 (Waeschenbach et al., 2017)
<i>Ligula pavlovskii</i>	<i>Neogobius fluviatilis</i>	KY552784 (Waeschenbach et al., 2017)
<i>Schistocephalus solidus</i>	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	KY552797 KY552798 (Waeschenbach et al., 2017)
<i>Schistocephalus pungitii</i>	<i>Pungitius pungitius</i>	KY552799 (Waeschenbach et al., 2017)
<i>Spirometra sp.</i>	<i>Pantherophis obsoletus</i>	KY552800 (Waeschenbach et al., 2017)
<i>Spirometra erinaceieuropaei</i>	<i>Canis familiaris</i> <i>Xenochrophis flavipunctatus</i> <i>Canis familiaris</i>	KY552801 KY552802 (Waeschenbach et al., 2017)
<i>Pyramicocephalus phocarum</i>	<i>Myoxocephalus Scorpius</i> <i>Pollachius virens</i>	KY552790 KY552791 (Waeschenbach et al., 2017)

3.4. Микроскопия

3.4.1. Световая микроскопия

Для изучения микроскопической анатомии, живых личинок фиксировали 2,5% глутаровым альдегидом на 0,1 М натрий-натриевом фосфатном буфере (pH 7,4) с добавлением 0,1 М сахарозы в течении нескольких часов (от 1 до 24 час) при 4°C. Затем отмывали в том же буфере и фиксировали в 1% растворе OsO₄ на том же буфере в течение 1 часа при комнатной температуре. Затем снова отмывали в буфере и проводили по спиртам восходящей концентрации от 30% до 70% спирта для хранения. Далее червей обезвоживали в нескольких сменах 96% этанола и постепенно замещали спирт на чистый ацетон. При необходимости разрезали червей на фрагменты. Далее постепенно переводили кусочки из ацетона в эпоксидную смолу марки Epon или Surr в разных соотношениях. Пропитку смолой проводили от 6 до 12 час в роторе при комнатной температуре. Для заливки, кусочки перекладывали в чистую смолу, ориентировали в нужной плоскости и помещали в термостат для пропитки при 37°C на 24 час, а затем для полимеризации при 60°C на 48 час. Полученные блоки резали на ультрамикротоме LKB III, LKB V, Leica UC7 на срезы толщиной примерно 500 нм, выкладывали их на стекло и окрашивали 1% метиленовым синим на 50% сахарозе (Бисерова, 2013). Срезы просматривали на световом микроскопе Leica DM5000 с камерой Leica DFC425C.

3.4.2. Конфокальная микроскопия

Червей фиксировали в 4% параформе (PF) на 0,1 М фосфатном буфере (PBS), pH=7.3, 10 часов; фиксированных червей разрезали на кусочки объемом 1-2 мм³ ориентированные поперечно или продольно. Кусочки отмывали в 0,1 М PBS + 0,03% NaNO₃ два раза по 1 часу, при 4°C в шейкере; затем в 0,01 М PBS + 3% Triton x100 + 0,003% NaNO₃, 4°C в шейкере в течение 6 часов. Преинкубацию проводили в 5% NGS in 0,01 М PBS + 3 % Triton x100 + 0,003% NaNO₃, 15 часов, 4°C. Подготовленную ткань инкубировали в растворе моноклональных антител против серотонина (5-HT), FMRF-amide, гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), ацетилированного тубулина (α -Tub) (все антитела фирмы SIGMA, USA) для выявления нейроактивных молекул и визуализации нервной системы. Часть материала дополнительно окрашивали Phalloidin TRITC для выявления фибриллярного актина и визуализации миофибрилл. Часть зафиксированного материала (4 шт.) были

порезаны на криотоме (Zeiss). Серийные замороженные срезы толщиной 7 μm раскладывали на стекла с полилизинном, высушивали при комнатной температуре (1 сут.), затем срезы были окрашены антителами против серотонина (5-HT), нейропептидов группы RF (FMRFamide), α -тубулина (αTub), и окрашены фаллоидином (f-actin) для выявления специфических компартментов нервной системы и зон иннервации мышечных волокон.

Использовали следующие протоколы инкубации в коктейле первичных антител при 4°C в шейкере:

A) anti 5-HT (serotonin) rabbit 1:7000, + anti-tubulin mouse 1:1000 в 0,01 М PBS + 1 % TritonX100 + 1% NGS + 0,003% NaNO_3

Б) anti FMRFamide rabbit 1:5000, + anti-tubulin mouse 1:1000 in 0,01 М PBS + 1 % TritonX100 + 1% NGS + 0,003% NaNO_3

B) anti GABA mouse 1:200 + anti FMRFamide rabbit 1:5000 в 0,01 М PBS + 1 % TritonX100 + 1% NGS + 0,003% NaNO_3 .

Время инкубации в первичных антителах варьировали от 1 до 5 суток. Отмывка от первичных антител: 0,1 М PBS + 1% TritonX100 + 1% NGS, 6 раз по 15 минут в шейкере при 4°C. В качестве вторичных антител, использовали Alexa 405, 488, 532, 633, 635 против кролика или мыши в разных комбинациях при разведении 1:800 в 0,01 М PBS + 1% Triton в течение 7-12 часов, 4°C; затем докрашивали Phalloidin TRITC.

Использовали следующие протоколы инкубации в гистохимических красителях при 4°C в шейкере:

Phalloidin TRITC 1:1000 in 0,1 М PBS + 1% Triton X100, 1 час.

Кусочки ткани отмывали в 0,1 М PBS, 6 раз по 15 минут. Полученные препараты заключали в глицерин с добавлением 0,1 М PBS (1:1), окантовывали и хранили при температуре минус 20°C. Готовые образцы изучали под конфокальным микроскопом Leica TSC SPE (Germany) в Межкафедральной Лаборатории электронной микроскопии Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

3.4.3. Трансмиссионная микроскопия

Для изучения тонкого строения плероцеркоида, живых червей фиксировали и дегидратировали и заливали в смолу также, как описано для световой микроскопии

выше. Полученные блоки резали на микротоме LKB 6 и Leica UC7 на срезы толщиной 70 нм. Переносили срезы на бленды с формваровыми подложками и контрастировали 4 % водным раствором уранилацетата (40 минут при 37°C) и цитратом свинца (5 минут при комнатной температуре). Готовые препараты просматривали с использованием трансмиссионных электронных микроскопов JEM-1011 и JEM-100C (JEOL) в Межкафедральной Лаборатории электронной микроскопии Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова и в Центре коллективного пользования электронной микроскопии в Институте биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина.

3.4.4. Сканирующая микроскопия

Для изучения поверхности тела и сколов плероцеркоида, живых червей фиксировали и дегидратировали также, как описано для световой микроскопии выше. После дегидратации в чистом ацетоне, кусочки помещали в сжиженный CO₂ для высушивания в специальной установке методом перехода через критическую точку углекислого газа. Высушенные кусочки монтировали на металлические столики целиком, или разламывали лезвием поперечно и продольно для изучения архитектуры каналов выделительной системы. Образцы напыляли платино-паладиевой смесью в установке ионного напыления для создания электропроводящего слоя на поверхности ткани. Образцы просматривали под сканирующим электронными микроскопами TESCAN MIRA3 LMH, Cam Scan и JSM Scan в Межкафедральной Лаборатории электронной микроскопии Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, в Центре коллективного пользования электронной микроскопии в Институте биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина, и в Институте проблем экологии и эволюции им А.Н. Северцова РАН.

Глава 4. Результаты

Глава 4.1. Генетическое исследование плероцеркоида из трески

Обнаруженные плероцеркоиды из трески образуют одну кладу с плероцеркоидами *P. phocarum* из GenBank (NCBI), извлеченными из сайды и керчака (рис. 1, 2). По предварительным данным, плероцеркоиды, извлеченные из пинагора также попадают в эту кладу.

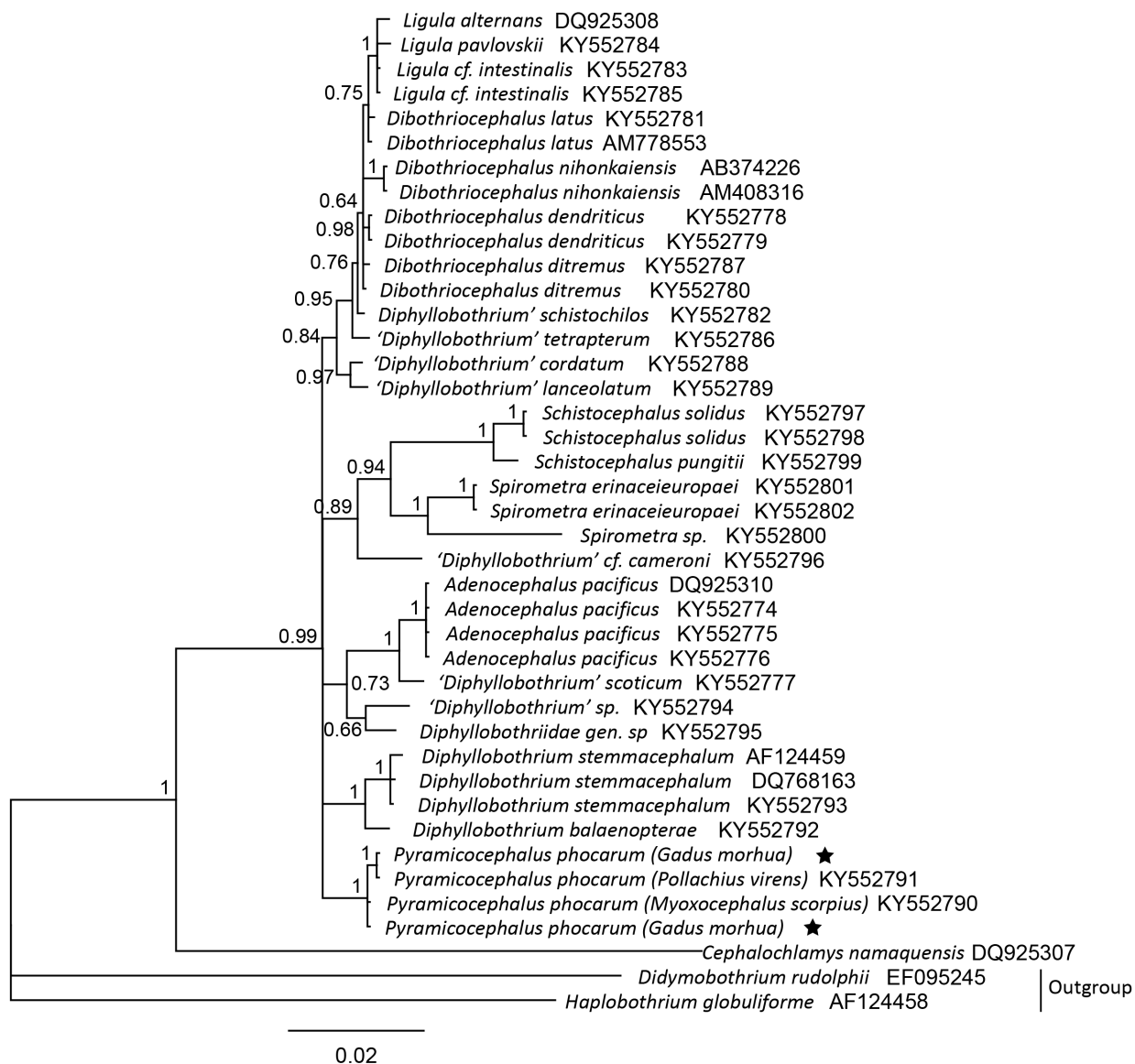


Рисунок 1. Филогенетическое дерево, построенное на основе анализа 18S рДНК, GeneiousPro 10.0.5 Mr.Bayes (версия 2.2.4). Образцы, исследованные в этой работе, помечены звездочкой.

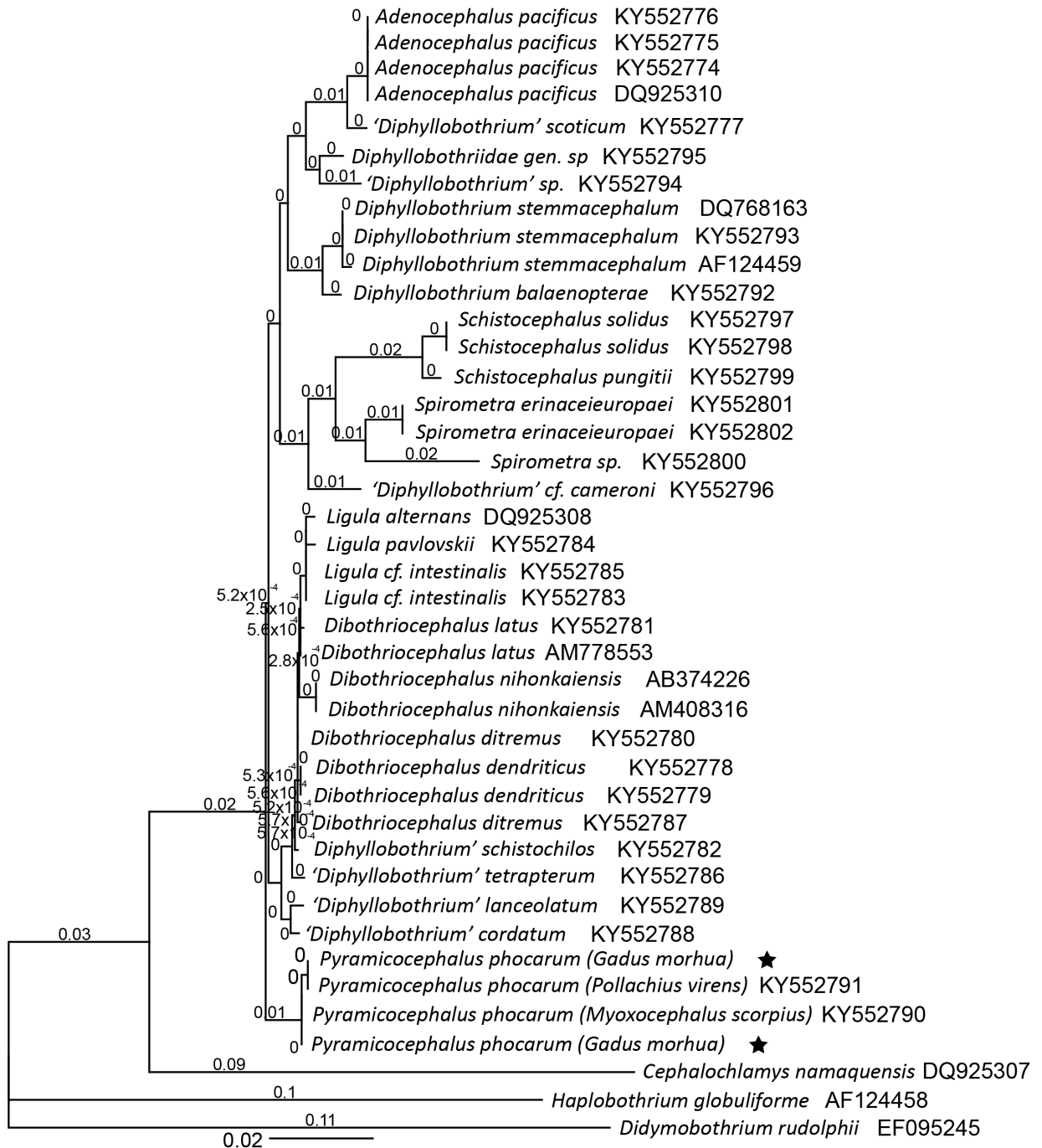


Рисунок 2. Филогенетическое дерево, построенное на основе анализа 18S рДНК, GeneiousPro 10.0.5 Mr.Bayes (версия 2.2.4). Метод Maximum Likelihood. Образцы, исследованные в этой работе, помечены звездочкой.

Последовательности 18S рДНК у исследованных образцов (8-6-18 и 10-6-18) и образцов из сайды и керчака (KY552791 и KY552790, GenBank) совпадают вплоть до нуклеотидных замен. Других различий между последовательностями не было обнаружено. Таким образом, плероцеркоиды *P. phocarum* из сайды и керчака,

обитающие у Шпицбергена в Норвегии и плероцеркоиды из трески и пинагора, обитающие в Белом море, являются одним видом. Кроме того, к списку подтвержденных молекулярными методами вторых промежуточных хозяев можно отнести треску (*G. morhua*) и, предварительно пинагора (*C. lumpus*).

Подводя итог, личинки цестод, обнаруженные нами в беломорской треске и пинагоре достоверно принадлежат к виду *Pyramicocephalus phocarum*, образуя общую кладу с личинками из других хозяев.

Глава 4.2. Двигательная активность плероцеркоида

Pyramicocephalus phocarum in vitro

Плероцеркоиды располагаются в полости тела промежуточного хозяина, на поверхности печени, иногда в паренхиме печени или между пилорических отростков желудка. Плероцеркоиды частично заключены в прозрачную капсулу (рис. 4 В-Д). Животные легко освобождаются от этой капсулы, при этом капсула структурно связана с тканями хозяина, по-видимому, капсула синтезируется самим хозяином. Капсула образована клетками, которые расположены в несколько плотных рядов (рис. 4 Д). При извлечении плероцеркоиды *P. phocarum* имели размеры от 10 до 40 мм, при содержании в течение нескольких суток в физиологическом растворе по крови трески (Бисерова, 2013; Абрамочкин, 2016) были слабо подвижны.

Для животного, вынутого из капсулы, характерны регулярные перистальтические сокращения сколекса, тела и хвостового отдела; вытягивание и сокращение сколекса существенно меняет внешнюю морфологию ботрий и апекса (рис. 3 А, Б). При перемещении червя в физраствор происходит активизация перистальтических движений. При этом тело существенно удлиняется, до 80-90 мм. Ботрии в виде складчатых фестонов лежат дорсально и вентрально; латеральная поверхность так же собирается в складки; пирамидальная форма сколекса отчетливо видна в вытянутом состоянии, при этом апекс выдвигается на существенное расстояние вперед в виде «хоботка» (рис. 3 А, 4 А). По телу червя проходят перистальтические волны в продольном направлении тела от переднего конца к заднему. Изредка отмечается обратная перистальтика тела. При фиксации тело сокращается и становится похожим на состояние червя в полости тела промежуточного хозяина (рис. 3 В, Г).

При извлечении плероцеркоидов из капсулы черви начинают активно двигаться. Сколекс растягивается, становится длиннее в несколько раз; апикальная часть сколекса вытягивается в «хоботок», которого в сокращенном состоянии в печени промежуточного хозяина не видно. Фестончатые края ботрий смыкаются и размыкаются, при этом различий в движении дорсальных и вентральных ботрий не было обнаружено; остальное тело плероцеркоида совершает интенсивные перистальтические движения, которые изменяют длину тела в несколько раз. Иногда наблюдаются перистальтические движения в обратном направлении.

Глава 4.3 Микроскопическая анатомия и ультраструктурная организация систем органов плероцеркоида *Pyramicoscephalus phocarum*

Глава 4.3.1 Строение тегумента, базального матрикса и мышечной системы *P. phocarum*

Тегумент покрывает всю поверхность тела плероцеркоида, а также выстилает полость терминальной поры на заднем конце тела. Он представляет собой погруженный синцитиальный эпителий, который состоит из дистальной цитоплазмы и погруженных цитонов с ядрами, соединенных с дистальной цитоплазмой цитоплазматическими мостиками. Апикальная поверхность дистальной цитоплазмы несет три типа микротрихий (рис. 5 А-Д).

Микротрихии 1 типа (рис. 5 Б, В) имеют конусовидную загнутую форму с сильно расширенной базальной частью. Микротрихии сильно наклонены, как правило ростро-каудально на поверхности тела, однако в складках ботрий они могут быть направлены от дна ботрий в сторону поверхности тела, а в складках терминальной поры – от складки в сторону полости поры. Электронно-плотный кончик микротрихии (*cap*) представляет собой практически всю длину микротрихии (несколько мкм), базальная часть микротрихии (*base*) – электронно светлая, высотой 0,3 мкм, диаметром до 1,6 мкм (рис. 5 Б, В). В ней нет органелл и включений, характерных для дистальной цитоплазмы тегумента. Базальная часть отделена от апикальной «базальной пластинкой» (*baseplate*). Апикальный кончик микротрихии закруглен и уплощен в плоскости, параллельной поверхности тела. В цитоплазме апикальной части расположены трубочки (*cap tubules*), которые образуют характерную исчерченность, направление трубочек преимущественно продольное, но некоторые пучки трубочек бывают направлены в другие стороны. Электронно-плотный апикальный кончик микротрихии 1 типа в проксимальной части содержит немембранные плотные включения, размером до 60 нм. Микротрихий 1 типа очень много на поверхности сколекса, также они встречаются на поверхности тегумента терминальной поры, но на поверхности тела плероцеркоида их не было обнаружено.

Микротрихии 2 типа (рис. 5 Г) имеют конусовидную удлинённую форму с заостренным кончиком и относительно узкой базальной частью. Наклонены микротрихии в ростро-каудальном направлении, наклон выражен слабо. Базальная

часть микротрихии имеет ширину около 0,3 мкм, высоту – 0,2-0,4 мкм, свободна от митохондрий, палочковидных тел и каких-либо везикул, отделена от апикальной части микротрихии «базальной пластинкой». Апикальная часть электроннотемная, длиной 2,2 мкм, продольно исчерченна за счет трубочек. Микротрихии 2 типа многочисленны на поверхности тела и в терминальной поре.

Микротрихии 3 типа (рис. 5 Б-Д) имеют удлиненную цилиндрическую форму, наклон при основании росто-каудальный. Основная длина микротрихии представлена электронно-светлой базальной частью. Эта часть цилиндрическая, длиной более 1,1 мкм, на поперечном срезе округлая, диаметром около 0,1 мкм. Цитоплазма светлая, свободна от органелл и включений. «Базальная пластинка» отделяет базальную часть микротрихии от апикальной части. Электронно-плотный апикальный кончик заостренный, может быть очень длинным, более 1 мкм, несет плотные продольные трубочки. Микротрихии 3 типа встречаются на поверхности тела, сколекса и терминальной поры.

Мембрана микротрихий и апикальная мембрана дистальной цитоплазмы несет слой гликокаликса толщиной до 30 нм. Иногда апикальная мембрана дистальной цитоплазмы между микротрихиями образует светлые выпячивания цитоплазмы без органелл. Такие выпячивания встречаются в тегументе полости терминальной поры.

Дистальная цитоплазма тегумента электронноплотная и имеет толщину от 2 мкм и может достигать толщины 10 мкм на поперечных срезах. В складках тела толщина на поперечных срезах может быть еще больше (до нескольких десятков микрон). Она содержит многочисленные плотные мембраноограниченные палочковидные и дисковидные тела (рис. 5 В). Палочковидные тела имеют темное гомогенное содержимое. Их размер не превышает 230 нм. Дисковидные тела содержат гетерогенный материал: плотный материал дисковидных тел располагается на периферии, а в центре находится светлое содержимое с гранулами темного материала. Дисковидные тела крупнее палочковидных, их размер составляет около 340 нм. Тела расположены равномерно по всему объему дистальной цитоплазмы. Плотность расположения палочковидных тел примерно 25 тел/мкм², дисковидных – 12 тел/мкм². В базальной части дистальной цитоплазмы располагаются многочисленные мелкие округлые митохондрии (размер около 0,3 мкм). В дистальной цитоплазме встречаются двумембранные пузырьки с электронносветлым содержимым (размер около 200 нм).

Базальная мембрана дистальной цитоплазмы образует многочисленные неглубокие инвагинации, в которые на заходит базальная пластинка тегумента (рис. 5 E). Базальная мембрана дистальной цитоплазмы образует контакты по типу десмосом в месте соприкосновения с выводными протоками эккринных фронтальных желез, ресничных и безресничных рецепторов, экскреторными эпителием в области нефропора. Кроме того, с базальной мембраной дистальной цитоплазмы тегумента ассоциированы радиальные заякоривающие фибриллы внеклеточного матрикса (см. ниже).

Дистальная цитоплазма связана с погруженными цитонами посредством регулярных цитоплазматических мостиков. Их цитоплазма светлая, заполнена палочковидными и дисковидными телами, митохондриями, светлыми вакуолями. Длина мостиков порядка 5-8 мкм, диаметр около 0,15 мкм (рис. 5 E).

Дистальная цитоплазма лежит на базальной пластинке. Она состоит из двух слоев. Дистально располагается электронноплотный тонкий слой *lamina densa*, толщиной 40 нм (рис. 5 E). Он обрамляет переход цитоплазматического отростка тегумента в дистальную цитоплазму, но не распространяется по нему. Ниже располагается рыхлый и светлый слой *lamina reticulosa*. Он имеет разную толщину в зависимости от местоположения: в сколексе его толщина составляет около 0,25 - 0,5 мкм, в теле толщина может достигать 3,4 мкм. Всю толщину базальной пластинки пронизывают радиально направленные электронноплотные заякоривающие филаменты (рис. 5 E). Они имеют толщину около 40 нм, округлые на поперечном сечении и не ветвятся. Их дистальный конец прикрепляется полудесмосомой к базальной мембране дистальной цитоплазмы тегумента, а проксимальный конец – к поверхности мускулатуры. Слой *lamina reticulosa* продолжается в экстраклеточный матрикс, лежащий между клетками субтегумента. В этой области экстраклеточный матрикс занимает небольшой объем, однако в центральной паренхиме тела его доля может превалировать над долей клеток паренхимы (в т.ч. железистых, мышечных, гликогеновых клеток).

Цитоны погружены вглубь субтегумента под слой базального матрикса и мускулатуры. Тела цитонов крупные, достигают 6 мкм и более. Их цитоплазма электронноплотная, зернистая, содержит большое количество свободных рибосом, развитый шероховатый ЭПР, вакуоли со светлым, слоистым, зернистым или гомогенным содержимым, митохондрии, палочковидные и дисковидные тела,

липидные включения. Цитоны имеют богатое эухроматином ядро. В ядре имеется крупное ядрышко.

Мышечная система плероцеркоида представлена субтегументальной мускулатурой, мускулатурой паренхимы, мускулатурой центральных протонефридиальных каналов (рис. 6).

Субтегументальные мышцы располагаются под базальной пластинкой тегумента. Они образуют слои продольных, расположенных дистально, и кольцевых, расположенных проксимально, мышц (рис. 6 А, Б, Е). Толщина слоев варьирует от 1 до 2 мкм. Эти мышцы расположены по всему телу и являются обязательным компонентом субтегумента. Перикарионов этих мышц обнаружить не удалось. Миофибриллы состоят из толстых миозиновых волокон, окруженных тонкими и нерегулярными актиновыми волокнами. Нередки небольшие участки цитоплазмы, в которых встречаются только тонкие актиновые филаменты. Иногда цитоплазма свободна от актиновых и миозиновых волокон и заполнена гликогеновыми гранулами. В цитоплазме иногда находятся мелкие округлые митохондрии.

Сквозь слои субтегументальных мышц проходят отростки цитонов, выводные протоки фронтальных желез, ресничные и безресничные рецепторы, а также каналы протонефридиальной системы в области нефропортов. Отдельно нужно отметить мощные слои субтегументальной мускулатуры в области терминальной поры. В этом месте мускулатура образует несколько разнонаправленных слоев. Кроме того, в сколексе в области ботриальных складок субтегументальные мышцы также могут образовывать несколько слоев (рис. 6 Б).

Мускулатура паренхимы разнообразна. К ней относятся продольные, дорзо-вентральные, латеро-латеральные и радиальные мышцы в центральной, медуллярной и кортикальной паренхиме. Мускулатура наиболее хорошо развита в сколексе (рис. 13, 14 А): имеются дорзовентральные мышечные пучки, пересекающие центральную паренхиму в области центральной нервной системы и главных протонефридиальных каналов; радиальные пучки тянутся в кортикальной паренхиме; продольные и латеро-латеральные мышечные пучки тянутся в центральной и кортикальной паренхиме. В паренхиме остального тела животного мускулатура паренхимы развита хуже: имеются редкие дорзо-вентральные мышечные пучки и мелкие мышцы, направленные в разные стороны. Часто мембрана сократимой части имеет выпячивания цитоплазмы, заполненные

гранулами гликогена. Мембрана этих гликогеновых выпячиваний иногда образует непротяженные щелевые контакты с такими же выпячиваниями или с мембранами других клеток, например, экскреторного эпителия, терминальных клеток, фронтальных желез, цитонов тегумента.

Перикарионы мышц паренхимы имеют как правило треугольную или овальную форму, длинная сторона которого совпадает с направлением сократимой части клетки (рис. 6 В). В цитоплазме перикарионов большое количество свободных рибосом, темных митохондрий с большим количеством крист. Ядро крупное, удлинённое, с большим количеством эухроматина и ядрышком. Иногда обнаруживаются отростки цитоплазмы с гликогеном, отходящие от перикариона или сократимой части клетки.

Мускулатура центральных протонефридиальных каналов предствалена слоем продольной мускулатуры (рис. 6 Г) и рассмотрена подробнее в главе, посвященной протонефридиальной системе.

Краткое заключение. Таким образом, в ходе изучения плероцеркоида *P. phocarum*, была впервые описана ультраструктурная организация тегумента, базального матрикса тегумента, мышечной системы тела. Подробно описана морфология трех типов микротрихий, особенности их локализации на теле и сколексе. Кроме того, впервые для дифиллоботриид описаны заякоривающие филаменты в базальном матриксе тегумента и характер их соединения с базальной пластинкой и субтегументальной мускулатурой. Описаны различные способы залегания гликогеновых гранул в мышечной системе.

Глава 4.3.2. Строение нервной системы *Pyramicosephalus phocarum*

Нервная система плероцеркоида *P. phocarum* состоит из центральной нервной системы, представленной главными продольными стволами, парой латеральных долей мозга с нейропилиями, соединенными поперечной комиссурой, и периферической нервной системы, представленной малыми продольными стволами, периферическими нейропилиями, радиальными, продольными и кольцевыми тонкими волонками плексуса (рис. 7 А, Б).

Иммуногистохимия

Иммунореактивность к ацетилированному тубулину

Визуализация центральной нервной системы сколекса была проведена с помощью иммунореакции к ацетилированному тубулину (α Tub-IR). α Tub-IR была выявлена в нервной системе в отростках и телах нейронов, нервных окончаниях в тегументе (рис. 8, 9). Была прослежена архитектура основных нервных трактов – главных и малых продольных нервных стволов, комиссур, периферического плексуса; а также расположение протоков эккринных желез в сколексе (рис. 8 Е). При окраске продольных срезов видно, что в средней части сколекса расположены латеральные доли мозга, которые плавно продолжают в главные нервные стволы (рис. 9 Г, 12 О). Латеральные доли широко расставлены, имеют овально-вытянутую форму с наиболее плотной центральной зоной, иммунореактивной к α Tub (рис. 12 М-О). С дистальной (обращенной к тегументу) поверхности каждой доли отходят многочисленные нейриты в зону субтегумента (рис. 12 А, В); проксимальная поверхность обращена к главному протонефридальному каналу (рис. 25 А). От проксимальной поверхности выходят многочисленные медианные нервные тяжи, соединяющие обе доли и формирующие протяженную комиссуру (рис. 12 С). Центральная область каждой доли представлена массивным нейропилем. Нейропили латеральных долей вытянуты в дорзо-вентральном направлении; размер наиболее плотной части составляет около 58x18 мкм (рис. 12 Е). Кроме нейропилей латеральных долей мозга, на поперечных срезах выявлены периферические нейропили в участках пересечения радиальных, продольных и кольцевых периферических нервов (рис. 9 Д). На поперечных срезах средней части тела нейропили главных нервных стволов имеют большие размеры в дорзо-вентральном направлении; корешки направлены дорзально и вентрально, вдоль дорзо-вентральных мышечных пучков. В корешках можно изредка встретить тела нейронов, на некотором расстоянии от нейропиля.

Отдельно следует отметить богатую иннервацию мышечной стенки главных выделительных сосудов, которая осуществляется непосредственно нейритами главных нервных стволов (рис. 8 А, 25 А).

На поперечном срезе тела периферические нейропили с отчетливой зоной α Tub-IR встречаются регулярно, через равные промежутки, располагаясь в зоне кортикальной паренхимы (рис. 8 Г). Из каждого периферического нейропиля в тегумент уходит тонкий α Tub-IR тяж; вместе они образуют субтегументальный нервный плексус (рис. 9 Ж, 3). В состав плексуса входят как серотонинэргические,

так и пептидэргические волокна; тела FMRFamide- IR нейронов лежат рядом с нейропилями 9 А; 12 Л, М).

Иммунореактивность к FMRFамиду

Иммунореакция к FMRFамиду (FMRFamide-like-IR) выявлена в латеральных долях мозга, медианной комиссуре, главных нервных стволах и периферических плексусах.

В нейропилях латеральных долей и главных нервных стволов выявлена интенсивная иммунореакция к FMRFamide как в отростках, так и телах нейронов (рис. 9 А, В, 12). Сомы FMRFamide нейронов занимают кортикальное положение в нейропиле, располагаясь на его поверхности. Они могут непосредственно примыкать к нейропиллю, или лежать на небольшом удалении, посылая отростки в нейропилль (9Г, 12 Д-Ж, Л). Сомы нейронов имеют овальную форму, нейриты (от 2 до 4-х) направлены дорзо-вентрально, уходят в корешки. Сомы достигают 10-12 μm в длину и 6.5 μm в ширину; ядра крупные, 6х3 μm . В плоскости одного поперечного среза толщиной 5-7 μm , обычно выявляется 3-4 нейрона. Так, показаны четыре FMRFamide нейрона в одном нейропиле, и ещё один нейрон, расположенный между ними, имеет только $\alpha\text{Tub-IR}$ (рис. 12 Д-Ж). В другом нейропиле на дистальной стороне лежит один FMRFamide-IR нейрон с 4 отростками, размером 11х5 μm , ядро 5х3 μm (рис. 12 М); один отчетливый биполяр и 2 варикоза, похожих на сомы, - на проксимальной стороне (рис. 12 З-К). На продольном срезе латеральные доли имеют вытянутую форму с наиболее плотной центральной зоной, иммунореактивной к αTub . Большая часть FMRFamide нейронов расположена на поверхности долей и главных стволов. Кортикальное положение отчетливо видно на продольном срезе (рис. 12 Л-П). Нейриты FMRFamide нейронов отличаются характерными утолщениями, или варикозами, в виде чётков или бус (рис. 12 Д). Нейриты FMRFamide нейронов иннервируют мускулатуру ботрий, продольные мышцы сколекса и тела, FMRFamide терминали многочисленны тегументе (рис. 8 Д).

Дорзо-вентральные корешки, выходящие из латеральных долей в передней части сколекса очень мощные (рис. 102 А-Г). Каждый состоит из 4 и более пучков нейритов, которые далее ветвятся на более тонкие нервы в зоне кортикальной паренхимы и субтегумента. Первая пара нервов, выходящая из нейропиля проксимально, ближе к главным протонефридиальным каналам, иннервирует

внутреннюю поверхность складки ботрий, или дорзальную и вентральную область сколекса; остальные 3 пары FMRFamide-IR нервов ветвятся в дистальной зоне, иннервируя внутреннюю и внешнюю поверхность ботрий и латеральную зону сколекса. Периферические FMRFamide-IR нейроны, связанные с дистальными нервами в составе корешков, многочисленны, по 5-8 в поле зрения, сомы биполярны и крупные варикозы лежат в области субтегумента и, видимо, являются сенсорными нейронами.

Медианная комиссура, соединяющая латеральные доли мозга, представлена отдельными FMRFamide-IR нейритами, проходящими через центральную зону сколекса. FMRFamide-IR нейриты многочисленны, расположены рыхло и не образуют плотного тяжа (рис. 12 P-T).

FMRFamide-IR часть периферической нервной системы плероцеркоида богата представлена в субтегументальном плексусе в виде кольцевых и радиальных нервов (рис. 8, 9 Д). Периферические нейроны многочисленны; имеют те же размеры сомы (10 μm) и ядра, но перикарион гораздо интенсивнее окрашивается к FMRFamide. На фото (рис. 9 Д) показан периферический нейрон, сома овальная, ядро круглое; два ветвящихся дендрита направлены в субтегумент; аксон направлен к нейропилю. Сома лежит в узловой точке, на пересечении кольцевых и радиальных тяжей периферического плексуса. Важно отметить, что FMRFamide-IR и $\alpha\text{Tub-IR}$ тяжи плексуса не всегда совпадают по расположению: часть нервных тяжей имеет только $\alpha\text{Tub-IR}$, а часть только FMRFamide-IR. При этом, кольцевые и более толстые радиальные тяжи имеют преимущественно $\alpha\text{Tub-IR}$. Кольцевой нервный тяж проходит в кортикальной паренхиме; на пересечении с более толстыми радиальными тяжами регулярно отмечаются периферические нейропили с выраженной $\alpha\text{Tub-IR}$ (рис. 8 Г). Здесь же могут встречаться FMRFamide-IR нейроны, посылающие отростки по кольцевому нерву. Наиболее интенсивное развитие FMRFamide-эргического плексуса наблюдали в зоне дна ботрий (рис. 8 Б, В). Малые стволы в теле плероцеркоида имеют значительно выраженную FMRFamide-IR; сомы в малых стволах обнаружить не удалось. Нейроны имеются в тонких поперечных тяжах, регулярно расположенных в паренхиме медуллярной части тела плероцеркоида.

Иммунореактивность к серотонину

Элементы нервной системы, иммунореактивные к серотонину (5-HT-IR) выявлены в латеральных долях, медианной комиссуре, главных стволах и периферическом нервном плексусе (рис. 10).

В верхней части сколекса, серотонинэргические нейроны расположены вокруг латеральных долей, причем их сомы лежат на некотором расстоянии от компактной части нейропиля. В этой области обнаружены как сенсорные, так и моторные 5-HT-IR нейроны. Сенсорные нейроны имеют крупную овальную сому (15 μm), главный аксон направлен в нейропиль латеральной доли, а ветвящийся дендрит ветвится на противоположном полюсе сомы. Веточки дендритов направлены в субтегумент и тегумент. Моторные нейроны обычно биполярны, их сомы (15 μm) расположены вблизи нейропиля главных стволов, с которым связан один из нейритов, а второй уходит в кольцевой нерв или в радиальный\латеральный тяж периферического плексуса (рис. 10 А, Б). Непосредственно в составе нейропиля выявлен триполяр с сомой треугольной формы размером 8x10 μm и широким главным нейритом в составе дорзо-вентрального корешка (рис. 10 Г). Нейропили латеральных долей имеют высокую интенсивность 5-HT-IR, представлены многочисленными нейритами, формирующими густую сеть из переплетенных отростков.

В медуллярной зоне передней трети сколекса 5-HT-IR нейроны лежат диффузно, многочисленные нервные тяжи проходят медианно от одной доли к другой, и разветвляются в складках ботрий на тонковолокнистый плексус (рис. 10 Д). Часто встречаются отдельные нервные волокна, проходящие латеро-латерально и связывающие между собой зоны ветвления корешков и периферических нейропилей.

Мощные 5-HT-IR терминали выявлены в зоне дна ботрий.

Все серотонинэргические нейроны характеризуются овальной формой сомы с ровно очерченными краями, и гладкими нейритами, часто совпадающими с $\alpha\text{Tub-IR}$. В главных стволах нейроны расположены в корковом слое, преимущественно дистально по отношению к нейропилю и выделительному сосуду, иннервируя латеральную зону сколекса и тела.

GABA-like IR в центральной и периферической нервной системе

Компартмент нервной системы, иммунореактивный к гамма-амино-масляной кислоте (GABA-like IR) (рис. 11), представлен нейронами в главных стволах, в

периферическом плексусе, а также многочисленными GABA-like IR нейритами на поверхности мышечных слоёв (11 Г), как в медуллярной, так и в кортикальной паренхиме, и в субтегументе. В периферической нервной системе были выявлены нейроны с интенсивной GABA-like IR. Зоны иннервации миофибрилл сочетали наличие GABA-like и FMRFamide-IR нервных терминалей, что может говорить в пользу противоположной направленности сигнала этих нейронов. Ко-локализации двух нейроактивных субстанций в одном нейроне не наблюдали. В главных стволах перикарионы GABA-like IR нейронов имели слабо выраженную иммунореакцию, тогда как отростки этих нейронов всегда интенсивно окрашены. GABA-like IR нейроны в главных стволах не проявляли иммунореакцию к FMRFamide (рис. 11).

Ультраструктура

Исследование серийных полутонких и ультратонких срезов *P. phocarum* выявило в передней трети сколекса плероцеркоида заметное скопление нейронов, в виде парных латерально расположенных долей, соединенных длинной медианной комиссурой (рис. 13). Каждая латеральная доля представлена телами нейронов и их отростками, которые переплетаясь, плотно контактируют между собой и образуют вытянутый в дорзо-вентральном направлении нейропилль. Тела нейронов чаще расположены снаружи нейропиля, в дорзальной, латеральной и вентральной зоне. Нейроны не образуют сплошной корковый слой, а располагаются группами; в каждой доле можно видеть по 11-18 нейронов на одном срезе. Крупные железистые клетки расположены дистально от нейропилей латеральных долей мозга, придавая им подковообразную раздвоенную форму (рис. 13, 14 Б).

Из долей в ботрии выходят мощные парные дорзальные и вентральные корешки, образуя дорзальные и вентральные утолщения латеральных долей мозга. Корешки иннервируют мускулатуру ботрий, и, по-видимому, включают отростки сенсорных нейронов и свободных нервных окончаний, расположенных в тегументе ботриальных складок.

Медианная комиссура длинная, состоит из многочисленных светлых тонких параллельных аксонов и тел нейронов. Тела нейронов встречаются как в медуллярной зоне, так и ближе к латеральным нейропилям (рис. 13). В центральной зоне медианная комиссура расслаивается, перемежаясь с многочисленными железистыми клетками, их отростками и пучками дорзо-вентральных мышц (рис. 13, 14 А). Цистерны с секреторными гранулами

фронтальных желез и выводные протоки занимают большую часть паренхимы вокруг медианной комиссуры. Выводные протоки желез армированы микротрубочками по периферии и направлены в тегумент апикальной зоны сколекса и в ботрии (18 Г, Ж). В паренхиме сколекса часто встречаются отдельные тонкие нервные тяжи, проходящие параллельно комиссуре и связывающие между собой зоны ветвления дорзальных и вентральных корешков латеральных долей (13 Б).

Следует отметить малый диаметр всех нейритов в составе нейропилей и медианной комиссуры, характерный для нервной системы на стадии плероцеркоида.

На стадии плероцеркоида, концентрированные нервные элементы – нейропилы, комиссуры и главные нервные стволы, не имеют специализированных оболочек; они тесно контактируют непосредственно с клетками фронтальных желез, миоцитами и эпителиальными клетками выделительных каналов (рис. 7 А, 14 А). Глиальные клетки и выраженный слой экстрацеллюлярного матрикса вокруг латеральных долей не были обнаружены.

Латеральные доли мозга плавно продолжают в главные нервные стволы (рис. 7 Б). В их состав входят нейроны, расположенные чаще на поверхности стволов; иногда в центральной проводящей части встречаются биполяры и недифференцированные клетки. Биполяры имеют два главных нейрита отходящих от сомы в роstralном и каудальном направлении. Вентральнее и дорсальнее от каждого главного ствола проходят субвентральные и субдорсальные малые нервные стволы. На протяжении всего тела от главных стволов отходят нервные корешки в кортикальную паренхиму и субтегумент. В их состав входят многочисленные тонкие нейриты, формирующие пучки вдоль мышечных слоев тела плероцеркоида. Кроме того, многочисленные отростки отходят в зону медуллярной паренхимы.

Ультраструктура нейронов и синаптических контактов

Большинство нейронов в сколексе плероцеркоида *P. phocarum* имеют округлые ядра, богатые эу- и гетерохроматином. Сомы небольших размеров от 3 μm до 4,5 μm в максимальном диаметре, дают тонкие отростки – нейриты. По структуре цитоплазмы перикариона, нейроны могут быть разделены на «светлые» и «темные» (рис. 14 Б, 15).

Светлые нейроны отличаются малым количеством свободных рибосом, слабым развитием гранулярной ЭПР, содержат преимущественно светлые круглые везикулы в перикарионе, изредка встречаются круглые электронно-плотные везикулы (рис. 15 Б). На рисунке 15 показан крупный нейрон, со светлой цитоплазмой и нейротрубочками в перикарионе; на соме найдены многочисленные входящие синапсы, образованные тонкими нейритами, и один исходящий синапс образован с мышечным волокном. В пресинапсе нейромышечного контакта имеются светлые везикулы неправильной или округлой формы.

Темные нейроны имеют плотную структурированную цитоплазму, содержащую рибосомы, гранулы β -гликогена, митохондрии и электронно-плотные везикулы разного диаметра в зоне комплекса Гольджи. На рисунке (рис. 15 Г) показан униполярный темный нейрон, с овальным ядром и сомой; в перикарионе имеются электронноплотные круглые везикулы размером 100 нм, в аксоне и перикарионе отмечены многочисленные микротрубочки. Кроме того, обнаружены темные нейроны с мелкими электронноплотными везикулами (10-20 нм), сконцентрированными в зонах комплекса Гольджи. Цитоплазма содержит мелкие митохондрии с плотным матриксом, имеются нейротрубочки и свободные рибосомы.

Отдельный кластер составляют *нейросекреторные нейроны*, перикарион которых заполнен электронноплотными крупными везикулами. В сколексе *P. phocarum* обнаружены нейросекреторные нейроны, содержащие многочисленные овальные электронно-плотные везикулы размером (150-175 нм) на 90 нм. Секреторные везикулы заполняют цитоплазму вокруг ядра и в отходящих отростках. Тела нейронов лежат вплотную к мышечным клеткам, на небольшом расстоянии от нейропиля латеральных долей (рис. 15 В).

Гигантские нейроны медианной комиссуры, в отличие от нейронов латеральных долей, характеризуются более крупными размерами. Их сомы имеют округлую форму, достигая 12 μm , круглое ядро (диаметр 5.8-6.5 μm) с крупным круглым ядрышком, диаметром 2.5 μm . Цитоплазма перикариона имеет многочисленные инвагинации, содержит светлые и темные участки, что придает ей «пенистый» вид; в цитоплазме имеются многочисленные электронноплотные везикулы диаметром 80 нм и микротрубочки (рис. 15 А). Из цитоплазмы перикариона везикулы перемещаются в тонкие нейриты, плотно их заполняя.

Синаптические контакты

Множество синаптических контактов было обнаружено в нейропилях латеральных долей мозга (рис. 17). Асимметричные химические синапсы образованы тонкими нейритами, содержащими как светлые круглые везикулы (рис. 17 Б), так и отдельные круглые электронноплотные везикулы в пресинаптической зоне. Кроме того, имеются терминали, содержащие только круглые светлые везикулы, содержащие вероятно ацетилхолин. Часто встречаются долевы синапсы, когда пресинаптическая терминаль образует контакт на двух постсинаптических нейритах. Множество тонких нейритов, содержащих электронноплотные везикулы (70-80 нм), формируют контакты с доровентральными мышцами (рис. 14 А; 17 Б, В). Эта мускулатура отвечает за прикрепления к поверхности с помощью ботрий: когда она сокращается, ботриальные складки становятся глубже, когда расслабляется – складки уплощаются. Таким образом, нейриты медианной комиссуры предположительно контролируют движения сколекса.

Нейро-железистый комплекс

В паренхиме сколекса расположены фронтальные железы, состоящие из перикарионов, резервуаров с секретом и терминальных протоков, выносящих секреторные гранулы на поверхность тела плероцеркоида. Все эти элементы встречаются в непосредственной близости к долям мозга, нейропилям и медианной комиссуре (рис. 14). В медианной комиссуре и латеральных долях мозга обнаружено множество синапсов на мембране железистых клеток. Рядом с перикарионами желез и выносящими секреторными протоками располагаются мелкие светлые нейроны, в цитоплазме которых имеются синаптические везикулы. Установлено, что вокруг секреторных протоков имеются синаптические контакты 1-го порядка с мембраной перикариона фронтальной железы и синаптические контакты 2-го порядка, между нейритом первого порядка и другими нейритами (рис. 14 В). В нейроплазме встречаются электронно-плотные мелкие круглые везикулы и микротрубочки. В нейрите 2-го порядка обнаружены электронно-плотные мелкие округлые везикулы, которые могут иметь модуляторную функцию на нейрит 1-го порядка, в котором в свою очередь обнаружены светлые везикулы (рис. 14 В). Это говорит в пользу стимуляции фронтальных желез нейронами мозга. Обнаруженные в мозге плероцеркоида синапсы с железистыми клетками свидетельствуют о контроле нервной системы над функционированием фронтальных желез.

Кроме нейро-железистых контактов, в латеральных долях и комиссуре встречаются отростки мышечных клеток и нейромышечные контакты.

Мембрана выводных протоков фронтальных желез армирована по периферии микротрубочками, которые помогают продвижению секреторных гранул к поверхности тегумента. В субтегументе выводные протоки проходят сквозь слой субтегументальных мышц. При этом на поверхности мышечных отростков располагаются нейромышечные контакты.

Терминальные части выводных протоков фронтальных желез проходят сквозь тегумент и открываются порой на его поверхности. Пory фронтальных клеток локализованы с рецепторами на внутренней поверхности складок ботрий.

Ультраструктура сенсорных органов

В тегументе ботрий выявлены многочисленные свободные нервные окончания в виде чувствительных отростков с ресничкой или без неё (рис. 16).

Тип 1. Ресничный рецептор с развитой кинетосомой и коротким корешком; кольцевой септированный контакт в виде широкого кольца включает до 10 септ, два мощных опорных электронноплотных кольца; в расширении имеются мелкие митохондрии, мелкие светлые везикулы, микротрубочки. Дендрит тонкий, извитой. Основание реснички плотно охвачено кольцом прилегающего тегумента (рис. 16 А).

Тип 2. Ресничные рецепторы с коротким корешком (0,36 x 0,19 нм). Ресничка не имеет кинетосомы и корешков. Рецептор располагается на уровне основания тегумента. Имеется кольцевой септированный контакт и одно опорное кольцо. В бульбе рецептора имеются многочисленные микротрубочки и везикулы нерегулярной формы (рис. 16 Б).

Тип 3. Безресничное нервное окончание с исчерченным корешком, располагается под базальной мембраной цитоплазматической части тегумента, не имеет выхода на поверхность. Сенсорное окончание в форме перевернутого конуса имеет широкий септированный контакт на апикальной поверхности, подстланный двумя опорными кольцами, объединяющимися в базальной области в единый комплекс. Кинетосома отсутствует. Корешок в форме «зонтика», представлен центральным пучком тонких филаментов, обладающих поперечной исчерченностью, и периферическими пучками в виде расходящихся спиц, объединенных кольцевыми перемычками. Снаружи «зонтика» располагаются митохондрии и микротрубочки;

так же длинные вытянутые митохондрии заполняют тонкий дендритный отросток. Окончание имеет асимметричный отросток, направленный вдоль базальной пластинки тегумента. Сенсорные органы этого типа часто расположены рядом с протоками фронтальных желез, и вместе с сенсорными окончаниями другого типа (рис. 16 В, Г).

Тип 4. Безресничное окончание дендрита; кинетосома и корешок отсутствуют. Форма отростка цилиндрическая, диаметром 0,72 мкм, лежит в среднем слое тегумента, связан с поверхностью тонким каналцем. Окончание заполнено прозрачными мелкими везикулами овальной формы, диаметром 40-50 нм. Везикулы выделяются наружу в каналец через центр апикальной поверхности, окруженный септированным контактом. Имеется одно опорное кольцо. Такие окончания регулярно встречаются вместе с протоками фронтальных желез и рецепторами 3-го типа (рис. 16 В, Г).

Наряду с описанными выше свободными нервными окончаниями, в тегументе часто встречаются тонкие терминали (диаметр не превышает 0,43-0,58 мкм), связанные с поверхностью тонким микроканалцем, чья принадлежность к нейронам не установлена. Свободные терминали отделены от тегумента септированным кольцевым контактом, подостланным слабо развитым электронноплотным кольцом. Диаметр таких терминалей очень мал, по сравнению с типичными сенсорными окончаниями. Они располагаются в среднем слое тегумента и часто встречаются группами по 3-4 отростка. Терминаль обычно заполнена везикулами и микротрубочками. Над апикальной поверхностью часто имеется небольшая полость. Функция этих структур, вероятно, связана с экзокринной секрецией (рис. 16 Г). В субтегументе дна ботрий обнаружены тела нейронов с ядрами, со светлой цитоплазмой, содержащей очень мелкие плотные и светлые везикулы, соответствующие таковым в сенсорных окончаниях в тегументе.

Краткое заключение. Таким образом, в данной работе была впервые изучена ультраструктурная и цитохимическая организация нервной системы плероцеркоида *P. phocarum*. Описана общая архитектура нервной системы плероцеркоида, включающая пару латеральных долей мозга с нейропилиями, соединенными длинной медианной комиссурой, и главные продольные стволы; периферическую нервную систему, представленную малыми продольными стволами, периферическими нейропилиями, радиальными, продольными и кольцевыми тонкими волонками плексуса. Особенностью ЦНС *P. phocarum*

является рыхлое расположение волокон медианной комиссуры мозга, значительная удаленность нейропилей долей друг от друга, расположение нейронов на некотором расстоянии от нейропилей, значительная протяженность медианной комиссуры в росторо-каудальном направлении, присутствие в комиссуре и вокруг долей железистых клеток, наличии нейро-железистых синаптических контактов в мозге. В то же время ПНС сильно развита и упорядочена, образует регулярные кольцевые и радиальные нервы с периферическими нейропилями в местах пересечения. Ультраструктура НС характеризуется наличием 4 типов нейронов в составе мозга и комиссуры: светлые, темные, нейросекреторные нейроны и гигантские нейроны медианной комиссуры. Ультраструктура сенсорных органов типична для цестод; обнаружены ресничные и безресничные свободные нервные окончания четырех типов. Иммуноцитохимическими исследованиями впервые описаны α -tub-IR, FMRFamide-IR, 5-HT-IR и GABA-ir компартменты центральной и периферической нервной системы *P. phocarum*.

Глава 4.3.3 Строение фронтальных желез *Pyramicocephalus phocarum*

Железистый аппарат плероцеркоида *P. phocarum* представлен интенсивно развитыми фронтальными железами эккринового типа (рис. 18). Фронтальные железы особенно хорошо развиты в сколексе и представляют собой многоядерный синцитий, который состоит из перикарионов, цистерн с секретом и выводных протоков, открывающихся в тегументе порами.

Перикарионы с активными ядрами встречаются в кортикальной и медулярной паренхиме (рис. 18 Б). Цитоплазма перикарионов плотная, содержит богатую сеть шероховатой ЭПР. Гранулы секрета в цитоплазме мембраноограниченные, электронноплотные, гомогенные. Они имеют округлую или вытянутую форму и достигают в диаметре до 0,85 мкм. В цитоплазме железистых клеток также имеются свободные рибосомы, округлые митохондрии и аппарат Гольджи. Ядра перикарионов фронтальных желез крупные, округлые, богатые эухроматином, с крупным ядрышком.

На мембранах железистых клеток, расположенных в зоне мозговой комиссуры, обнаружены синаптические контакты, которые содержат везикулы двух разных типов (подробнее в главе о строении нервной системы, рис. 17).

На расстоянии от ядерных участков, расположены обширные цитоплазматические лопасти, плотно заполненные электронноплотными гранулами (рис. 18 В, Д); они представляют собой секреторные резервуары, которые лежат, как правило, в кортикальной и медулярной паренхиме. Гранулы в резервуарах имеют те же размеры и строение, что и в перикарионах фронтальных желез, но расположены более плотно, в результате часто теряют свою округлую форму. В цитоплазме секреторных резервуаров иногда встречаются митохондрии.

Выводные протоки желез направлены в ботрии и в апикальную зону сколекса, в апекс (рис. 18 А). В кортикальной паренхиме резервуары уменьшаются в диаметре; на внутренней поверхности мембраны выстраиваются микротрубочки, формируя протоки, укрепленные по периферии одним рядом микротрубочек (рис. 18 Г, И). Выводные протоки располагаются как правило ближе к кортикальной паренхиме и направлены к тегументу. Однако часть выводных протоков располагается в центральной паренхиме, в промежутках между dorзо-вентральными и латеро-латеральными мышцами, и пронизывают медианную нервную комиссуру, соединяющую латеральные доли мозга (рис. 18 Д). Эти протоки желез направлены рострально, к тегументу апикальной части сколекса.

Выводные протоки фронтальных желез (рис. 18 Е-И) проходят сквозь слои субтегументальных мышц и дистальную цитоплазму тегумента и выносят секрет непосредственно на поверхность тела через пору. При этом содержимое тегумента и выводных протоков фронтальных желез не сливается: базальная мембрана дистальной цитоплазмы тегумента сохраняет свою целостность. Поры выводных протоков фронтальных желез окружены кольцевой септированной десмосомой, связывающей мембрану тегумента и железы, и электронноплотным опорным кольцом со стороны протока (рис. 18 Ж, З).

Терминальные части выводных протоков и поры встречаются чаще всего в тегументе внутренней поверхности складок ботрий. Важно отметить, что именно в тегументе складок ботрий располагается большое количество и разнообразие свободных нервных окончаний с ресничкой или без нее. Рецепторы и поры фронтальных желез оказываются локализованы на внутренней поверхности складок ботрий (рис. 16 Г): на одном ультратонком поперечном сечении одной ботрии было обнаружено около 30 терминалей выводных протоков и 50 свободных нервных окончаний.

Методами конфокальной микроскопии с помощью α Tub-IR были визуализированы терминальные части выводных протоков фронтальных желез. Многочисленные выводные протоки обнаружены в центре сколекса и в области дна бортир (рис. 8 Б, В). Отростки железистых клеток, иммунореактивных к α Tub, отличаются от нервных терминалей наличием расширений (резервуаров). В зоне субтегумента бортир обнаружены секреторные α Tub-IR терминали, содержащие на поверхности FMRFamide-IR варикозы (рис. 8 Е-З). Эти факты свидетельствуют о иннервации фронтальных желез FMRFamide-IR нейронами мозга.

Краткое заключение. В ходе исследования фронтальных желез плероцеркоида *P. phocarum* были выявлены 4 структурных элемента системы фронтальных желез: перикарионы, секреторные резервуары, протоки, укрепленные микротрубочками и терминальные поры в тегументе; описана их ультраструктура. На поверхности перикарионов желез обнаружены синаптические контакты, образованные нейронами мозга. Вокруг терминальных пор в тегументе обнаружены сенсорные органы в виде ресничных и безресничных рецепторов. Тесное расположение желез вокруг латеральных долей мозга и мозговой комиссуры приводит к формированию единого нейрожелезистого комплекса – нейрожелезистого мозга.

Глава 4.3.5. Протонефридиальная система плероцеркоида *Pyramicocephalus phocarum*

На основании серий полутонких и ультратонких срезов мы установили, что выделительная система плероцеркоида *P. phocarum* представлена двумя самостоятельными структурными элементами: циртоцитами, или ресничными клетками, и экскреторным эпителием (рис. 19). Экскреторный эпителий в свою очередь формирует протонефридиальные воронки канальцев, сложную систему каналов различного порядка и мочевой пузырь (рис. 19 Г). Фильтрационная верша находится между отростками циртоцита и отростками протонефридиальной воронки канальца (рис. 20 А). Конечным отделом выделительной системы плероцеркоида *P. phocarum* является терминальная пора - отверстие на заднем конце тела, образованное глубокой складкой тегумента в виде складчатого канала (рис. 4 Б).

Циртоциты и протонефридиальный комплекс. Циртоциты, или ресничные клетки, обнаружены по всей длине тела *P. phocarum*. С помощью конфокальной

микроскопии, окраски фаллоидином и α -тубулином (рис. 21 А, Б) удалось установить, что циртоциты располагаются преимущественно в субтегументе и кортикальной паренхиме плероцеркоида, и встречаются довольно часто: плотность их расположения около 200 клеток на квадратный мм. На одном полюсе циртоцита расположено ядро, на другом – пучок ресничек. Как правило, ресничные клетки лежат ядром к тегументу, а их ресничное пламя, интенсивно окрашенное α -тубулином, обращено в воронку канальца, образованного экскреторным эпителием. Отмечается интенсивная реактивность ресничных клеток по отношению к f-актину: ярко окрашены области верши (рис. 21 Б). Сомы ресничной клетки окрашены в области микроворсинок, а также в области корешков ресничек (но не так ярко, как микроворсинки). Воронка протонефридия окрашена фаллоидином в области микроворсинок верши, однако окрашивание в этой области менее интенсивное. Кроме того, отмечена иммунореактивность терминальных клеток к серотонину (5-НТ) в области кинетосом ресничек и верши.

Циртоциты лежат одиночно в слое рыхлого межклеточного вещества паренхимы плероцеркоида. Диаметр сомы циртоцита заметно меньше диаметра окружающих клеток. Циртоцит имеет форму цилиндра (диаметр около 3 мкм) с коническим пучком ресничек внутри, который постепенно сужается по направлению к воронке терминального канальца (рис. 21 В-Д). Ядро циртоцита окружено небольшим слоем цитоплазмы, которая содержит митохондрии, везикулы, аппарат Гольджи и комплект кинетосом ресничек (рис. 22 А). Наружная цитоплазматическая мембрана перикариона образует нерегулярные отростки, направленные в окружающую паренхиму. В отростках обнаружены свободные рибосомы, вакуоли со светлым гетерогенным содержимым и темным гомогенным содержимым размером до 120 нм. Эти отростки иногда образуют короткие щелевые контакты с клетками окружающей паренхимы, в частности, обнаружены контакты с отростками мышечных клеток, аккумулирующих гликоген. На ресничном полюсе циртоцита наружная плазматическая мембрана образует упорядоченные выросты в виде правильного венчика длинных микроворсинок, окружающего пучок ресничек циртоцита и тонкие внутренние лептотрихии (рис. 22 А-Е). Реснички имеют нормальную аксонему с микротрубочками (9+2), длину порядка 9 мкм, при диаметре 270 нм и покрыты наружной цитоплазматической мембраной. Ресничек в пучке ресничного пламени циртоцита порядка 70-90 штук (до 100). Их корешки частично прилегают к ядерной мембране и образованы электронно-плотными тяжами без

регулярной исчерченности. Снаружи ресничного пучка располагаются два кольца лептотрихий, – тонкие (70 нм) цитоплазматические выросты наружной мембраны циртоцита (рис. 22 А, Б, Г). Вокруг лептотрихий располагается кольцо длинных пальцевидных микроворсинок правильной цилиндрической формы диаметром 140-150 нм. В цитоплазме микроворсинок имеются протяженные продольные филаменты, и, вероятно, по одной центральной микротрубочке, которые видимы только при больших увеличениях. Поверхностная мембрана длинных пальцевидных микроворсинок несет выраженный слой экстрацеллюлярного матрикса из тонких филаментов и фибрилл (рис. 22 Е).

Протонефридиальная воронка. Второй структурной единицей протонефридия является протонефридиальная воронка (рис. 19 Г, 20 А, 22 А, Ж). Воронка имеет расширенный конец с кольцом длинных пальцевидных выростов\микроворсинок диаметром 180-190 нм, и суженную часть, в виде тонкого канальца, продолжающегося в канальную систему (рис. 21 В, Д). Внутри воронки расположено ресничное пламя циртоцита (рис. 22 Б, В). Стенки воронки продолжаются в стенки канала и образованы экскреторным эпителием (рис. 22 З). Внешний ряд длинных микроворсинок воронки прилегает к внутреннему ряду пальцевидных микроворсинок циртоцита и образует вершу, или фильтрационный аппарат протонефридия. В цитоплазме в месте контакта микроворсинок разноименных клеток располагается электронно-плотный материал (рис. 22 Г). На поверхности разноименных мембран располагается слой внеклеточных филаментов, ориентированных крест-на-крест, толщиной 22 нм, которые формируют межклеточный контакт по типу *zonula adhaerens* (рис. 22 Е). С помощью окрашивания фаллоидином в этой области обнаруживается фибриллярное актиновое кольцо (рис. 21 Б). Наличие открытых пор (нефростомов) без zip-соединения филаментов нами не установлено.

Цитоплазма расширенной части воронки содержит концентрически расположенные фибриллы (рис. 22 Ж); иногда в базальном слое эпителия воронки обнаруживаются единичные мелкие митохондрии. Цитоплазма воронки показывает интенсивную иммунореактивность к f-актину (рис. 21 Б). Внутренняя поверхность воронки в расширенной части гладкая, в узкой несет шаровидные микроворсинки диаметром до 100 нм с электронно-плотными округлыми частицами (рис. 22 Ж). Воронка терминального канальца продолжается в каналы 1-го порядка.

Архитектура каналов выделительной системы. Для реконструкции канальной системы плероцеркоида были исследованы серии гистологических замороженных срезов с гистохимической окраской фаллоидином и иммуноцитохимическим окрашиванием для CSLM; серии полутонких поперечных срезов; и серии разломов в продольном и поперечном сечении высушенных в критической точке личинок для сканирующей электронной микроскопии (SEM).

Было установлено, что выделительная система представлена каналами разного диаметра и положения в теле плероцеркоида (рис. 19 А-В). Мы выделяем каналы 1-го порядка и каналы 2-го порядка, образующие сложную трехмерную периферическую сеть в субтегументе и кортикальной паренхиме (рис. 19 А); и продольные центральные (главные) выделительные каналы, соединенные поперечными анастомозами. В сколексе центральные каналы проходят через латеральные доли мозга, проксимально по отношению к нейропиллю (рис. 25 А). Поперечный анастомоз подстилает нервные волокна медианной мозговой комиссуры (рис. 25 Г). Ближе к заднему концу, продольные центральные каналы дихотомически ветвятся и впадают в расширенную полость мочевого пузыря (рис. 19 В). Мочевой пузырь открывается нефропором в длинный извитой тегументальный канал терминальной поры с отверстием на заднем конце плероцеркоида. Кроме того, каналы 2-го порядка в заднем конце тела мешковидно расширены и так же открываются в канал терминальной поры самостоятельными нефропорами.

Пара главных каналов расположена на границе мышечных слоёв медуллярной и кортикальной паренхимы. Главные каналы близко связаны с главными нервными стволами, которые проходят с дистальной стороны, ближе к тегументу (рис 25 А). Диаметр просвета главного канала составляет около 22 мкм в теле плероцеркоида. При гистохимическом окрашивании фаллоидином, в стенке главных каналов выявлено несколько слоев волокон мускулатуры, ориентированных преимущественно продольно охватывающих канал по спирали. Мышцы стенки канала образуют заметный слой в виде мелких компактных пучков и формируют эластичную оплётку трубки главного канала. Снаружи миофибрилл заметны округлые тела эпителиальных клеток, формирующих стенку канала (рис. 25 Б). Кроме фибриллярного актина, с помощью иммуноцитохимических методов, в стенке главных экскреторных каналов выявлен α -тубулин. Иммунореакция на α -тубулин, характерна для нейронов и их отростков, и убедительно доказывает

наличие интенсивной иннервации стенки главных выделительных каналов плероцеркоида *P. phocarum*. Тела иммунореактивных к α -тубулину нейронов обнаружены в непосредственной близости от центрального экскреторного канала; их вытянутые аксоны\нейриты образуют окончания в стенке канала (рис. 25 А). В периферических каналах 1-го и 2-го порядков не обнаружено фаллоидиновой метки. Таким образом, центральные каналы обладают способностью к перистальтическим сокращениям за счёт мускулатуры стенки и иннервации от главных нервных стволов, тогда как периферические каналы могут менять свой диаметр только пассивно, за счет сокращения субтегументальной мускулатуры плероцеркоида.

Ультраструктура экскреторного эпителия. Вся канальная система, начиная с протонефридиальной воронки, каналов различного порядка и мочевого пузыря выстланы синцитиальным экскреторным эпителием. Тонкие каналы 1-го порядка встречаются в разных участках тела и не имеют регулярной формы, размера и направления (рис. 20 А, 22 А, 24 Б). Они формируются внутри расширенных отростков эпителиальных клеток, в виде небольших внутриклеточных вакуолей с шаровидными микроворсинками. Диаметр канальцев варьирует по форме и по размеру; толщина стенки не превышает 0,5 мкм. Базальная поверхность стенки канальцев является наружной плазматической мембраной цитона, образует складки и контакты с другими клетками. Тонкий слой *lamina fibroreticularis* подстилает базальную мембрану стенки канала. Шаровидные микроворсинки находятся на апикальной, обращенной в просвет канала 1го порядка. Шаровидные микроворсинки (диаметром до 100 нм) содержат электронно-плотные округлые частицы размером до 60-70 нм. Ядра эпителиальных клеток богаты эухроматином, окружены плотной цитоплазмой, включающей митохондрии, гранулы гликогена; ближе к апикальной мембране иногда встречаются редкие палочковидные тела. С расширением диаметра просвета канальца, цитоплазма стенки делится на 2 слоя: апикальный слой цитоплазмы однородный, электронно-плотный, без органелл; базальный слой цитоплазмы тонкий, светлый и содержит большое количество органелл (митохондрии, редкие палочковидные тела, различные мембранные включения, рибосомы).

Каналы 2-го порядка являются продолжением каналов 1-го порядка (рис. 21 В, 23 Б,В, 24 В-Д). Они направлены преимущественно вдоль тела, между собой имеют частые анастомозы. В ботриях сколекса каналы 2-го порядка образуют

упорядоченную сеть: имеются строго продольные и строго поперечные анастомозирующие протоки (рис. 24 Д). В сколексе каналы 2-го порядка изредка соединяются с центральными протонефридиальными каналами. В заднем конце тела каналы 2-го порядка наиболее многочисленны: они мешковидно расширены и контактируют с тегументом терминальной поры (рис. 19 В, 23 Г).

Ядра экскреторного эпителия каналов 2-го порядка погружены неглубоко, и соединены со стенкой канала короткими цитоплазматическими мостиками (рис. 23 Б). Ультраструктура перикариона имеет сходное строение с цитоплазмой эпителия 1-го порядка, образующего внутриклеточные каналы. Отличия в ультраструктуре выявлены в цитоплазме стенки каналов 2-го порядка, которая дифференцирована на 3 слоя (рис. 23 В): базальный, медиальный, апикальный. Базальный слой (толщиной около 0,8 мкм) светлый, богатый органеллами (в том числе митохондриями, рибосомами, гранулами гликогена и мелкими светлыми везикулами диаметром до 50 нм). Медиальный слой (толщиной 0,3 мкм) содержит многочисленные палочковидные тела, ориентированные вдоль апикальной поверхности канала. Апикальный слой цитоплазмы (толщиной около 0,3 мкм) гомогенный, электронно-плотный, не содержит органоидов; апикальная мембрана образует шаровидные микроворсинки, аналогичные описанным выше. Встречаются участки без микроворсинок, с гладкой апикальной поверхностью. В просвете канала имеются единичные выпячивания апикального цитоплазмы слоя без органоидов и многочисленные отделившиеся мембраноограниченные вакуоли (иногда очень крупные, до 4 мкм в диаметре). Базальная мембрана эпителия каналов 2-го порядка складчатая, подостлана *lamina fibroreticularis (reticulosa)*, толщиной 0,8-2 мкм. Под базальной пластинкой встречаются тонкие нерегулярные мышечные пучки.

Каналы 2-го порядка в заднем конце тела открываются в резервуар терминальной поры. В этом месте мембраны экскреторного эпителия и тегумента терминальной поры образуют кольцевой септированный контакт, окружающий каждую выделительную пору (нефропор) (рис. 23 Д). Каждый канал прободает тегумент, от которого он отделен кольцевым септированным контактом, и изливает содержимое в резервуар терминальной поры, из которого жидкость выходит наружу, в хозяина.

Два центральных выделительных канала занимают латеральное положение на границе центральной паренхимы и тянутся вдоль всего тела плероцеркоида (рис. 19 А, 25). В сколексе центральные каналы соединяются между собой редкими

поперечными анастомозами (рис. 25 Г). Центральные каналы тесно ассоциированы с нервными стволами и мозгом: они всегда располагаются медиальнее нервных стволов, а в самой передней части сколекса нейроны долей мозга могут вплотную прилегать к стенке канала (рис. 25 А). Просвет центральных каналов варьирует от 4 до 22 мкм в диаметре, имеет овальную форму и утолщенные стенки (рис. 24 Е). Апикальная поверхность канала складчатая (рис. 25 Е).

Ядра экскреторного эпителия центральных каналов погружены в паренхиму на глубину около 5 мкм, и имеют длинные цитоплазматические мостики, связывающие их с апикальной цитоплазмой (рис. 25 Д). Цитоплазма цитонов содержит палочковидные тела, митохондрии, гликогеновые гранулы, рибосомы и различные мембранные включения. Цитоплазматические мостики заполнены палочковидными электронно-плотными телами. Цитоны образуют базальные отростки разного диаметра, формирующие протяженные щелевые контакты с соседними клетками паренхимы.

Безъядерная цитоплазматическая часть стенки канала дифференцирована на два слоя, апикальный и базальный (рис. 25 Е). Цитоплазма апикального слоя электронно-плотная, гомогенная, толщиной от 0,16 до 1,1 мкм. Базальный слой цитоплазмы содержит многочисленные палочковидные тела, расположенные параллельно поверхности базальной мембраны. Толщина этого слоя около 0,5 мкм. Апикальная поверхностная мембрана несет шаровидные микроворсинки. В некоторых участках центральных каналов апикальная поверхность гладкая, без микроворсинок.

Базальная мембрана эпителия канала слегка складчатая. Базальная пластинка представлена рыхлыми волокнами *lamina fibroreticularis* толщиной около 0.3 мкм. Под базальной пластинкой располагается несколько слоев миофибрилл, размер каждой миофибриллы варьирует от 1 до 7 мкм. Мышечные волокна содержат толстые миозиновые фибриллы и окружающие их тонкие актиновые филаменты. Расположение актиновых волокон относительно миозиновых не регулярно: часто встречаются обширные области миоцитоплазмы, в которых есть только актиновые филаменты.

На заднем конце тела каналы теряют часть миофибрилл, эпителий стенки каналов окружают нерегулярные разнонаправленные мышечные пучки (рис. 26 А, Б). Цитоны экскреторного эпителия в каудальной зоне погружены относительно

неглубоко, на 2-3 мкм от стенки канала. Цитоплазма стенки канала в этом месте также дифференцирована на 2 слоя.

Мочевой пузырь. В задней части тела *P. phocarum* центральные выделительные каналы соединяются с лопастным расширением - мочевым пузырем. Мочевой пузырь, как и каналы, выстлан синцитиальным экскреторным эпителием (рис. 26 В). Цитоплазма дифференцирована на 2 слоя: базальный слой содержит многочисленные палочковидные тела; апикальный слой гомогенный, электронно-плотный, не содержит органоидов и изредка несет шаровидные микроворсинки. Имеются протяженные участки без микроворсинок, с гладкой апикальной мембраной. Ядра экскреторного эпителия погружены в паренхиму неглубоко (1-2 мкм). Под базальной мембраной располагается базальная пластинка *lamina fibroreticularis*. Регулярная мышечная обкладка отсутствует.

Мочевой пузырь открывается нефропором в складчатый резервуар терминальной поры на заднем конце тела (рис. 26 Г, Д). Экскреторный эпителий мочевого пузыря контактирует с тегументом резервуара посредством кольцевого септированного контакта, окружающего нефропор.

Таким образом, вся канальная система *P. phocarum* представляет собой единый синцитий, включающий воронки терминальных канальцев, каналы 1-го порядка, периферические каналы 2-го порядка и центральные продольные каналы, а также мочевой пузырь (рис. 19 Г).

Терминальная экскреторная пора. На заднем конце тела плероцеркоида имеется отверстие (рис. 4 Б) - терминальная пора. Терминальная пора ведет в расширенный резервуар, выстланный тегументом – резервуар терминальной поры (рис. 26 Г, Д). В результате наблюдения за живыми плероцеркоидами выяснилось, что терминальная пора может плотно замыкаться и отделять резервуар от внешней среды. Внутренняя поверхность резервуара складчатая. Тегумент резервуара несет на поверхности многочисленные цилиндрические микротрихии (*filitriches*) и более редкие конические крючковидные (*spinithrix microtriches*). Дистальная цитоплазма тегумента имеет типичное строение, включает палочковидные и дисковидные тела, однако митохондрий и вакуолей, характерных для тегумента сколекса и тела, не обнаружено. Нередко тегумент терминальной поры образует выпячивания цитоплазмы, размером около 0,3-0,6 мкм, лишенные органоидов и палочковидных и дисковидных тел.

В тегументе терминальной поры обнаружен чувствительный орган (рис. 26 Е). Безресничное рецептор имеет расширенную бульбу, включает кинетосому, широкий сложный корешок, митохондрии. Дистальная мембрана нервного окончания формирует септированный контакт с базальной мембраной тегумента, который укреплен мощным опорным кольцом.

Краткое заключение. Установлено, что выделительная система плероцеркоида *P. phosarum* на цитологическом уровне представлена циртоцитами (ресничные клетки) и синцититальным экскреторным эпителием. Впервые описана общая архитектура протонефридиальной системы, включающая в себя циртоциты, протонефридиальные воронки канальцев, сложную трехмерную систему каналов 1-го и 2-го порядка, центральные продольные каналы, обладающие мышечной стенкой, мочевого пузыря, многочисленные нефропоры и терминальную пору. В сколексе поперечные анастомозы и главные экскреторные каналы проходят сквозь латеральные доли мозга и подстилают медианную комиссуру; главные нервные стволы ко-локализованы с главными выделительными каналами. Выявлен характер соединения циртоцита и протонефридиальной воронки, составляющих двухклеточный протонефридиальный комплекс. Впервые описана ультраструктура мочевого пузыря, нефропоры и контакты в зоне соединения экскреторного эпителия и тегумента терминальной поры, горизонтальная стратификация цитоплазмы экскреторного эпителия в разных отделах протонефридиальной системы. Обнаружены сенсорные органы в виде безресничных рецепторов в стенке терминальной поры.

Иммуноцитохимически доказано наличие иннервации центральных каналов нейритами главных стволов, участие серотинина в работе ресничных терминальных клеток, наличие фибриллярного актина в стенках протонефридия.

Глава 4.3.6. Сравнительный анализ тонкого строения выделительной системы заднего конца тела других цестод

Данных о строении протонефридиальной системы у представителей различных групп цестод в литературе недостаточно. Особенно большой пробел имеется в представлении об ультраструктуре конечных отделов выделительной системы на заднем конце тела цестод, как взрослых, так и личинок. Для того, чтобы провести

сравнительный анализ тонкого строения выделительной системы цестод, мы изучили 3 других вида цестод из разных отрядов. Были выбраны плероцеркоиды *S. solidus* (Diphyllbothriidea) и *N. surmenicola* (Trypanorchyncha); а также половозрелые цестоды и отряда Caryophyllidea, *C. laticeps*.

S. solidus – представитель того же отряда Diphyllbothriidea, что и описанный выше *P. phocarum*. Он хорошо изучен с точки зрения паразито-хозяйственных отношений (Giles, 1983; Scharsack, Koch, 2007; Barber, Scharsack, 2010), однако ультраструктура выделительной системы у этого вида практически не изучена. Сравнительный анализ *P. phocarum* и *S. solidus*, а также других видов дифиллоботриид, известных в литературе, поможет выявить признаки протонефридиальной системы, типичных для группы.

N. surmenicola – представитель более удаленного от базального предка по сравнению с остальными изученными видами *P. phocarum* и *S. solidus*, Trypanorchyncha (Waeschenbach, Littlewood, 2017). По литературным данным его выделительная системы типична для трипаноринх, включает главные вентральные и дорзальные парные каналы, периферические каналы и циртоциты (Гордеев, 2016). Однако детальных ультраструктурных данных о строение протонефридиальной системы этого вида недостаточно.

C. laticeps (Caryophyllidae) – представитель базальной группы Eucestoda (Hoberg et al., 1997), группа близкая к дифиллоботриидам (Olson, Caira, 1999; Kodedova et al., 2000). Кариофиллиды - монозоичные цестоды, то есть дифинитивная стадия не имеет членистой стробилы и половая система (мужская и женская) представлена одним комплектом органов. При созревании задний конец тела, содержащий конечные отделы выделительной системы не отбрасывается (в отличие от членистой стробилы дифиллоботриид), поэтому эти отделы сохраняются у взрослых особей. В этой связи изучение выделительной системы взрослых кариофиллид и ее сравнение с выделительной системой плероцеркоидов других отрядов представляется наиболее интересным.

4.3.6.1. Строение выделительной системы плероцеркоида *Schistocephalus solidus* (Scyphocephalidae, Diphyllbothriidea)

Циртоциты. Циртоциты *S. solidus* лежат в кортикальной паренхиме по одному. Ядерная часть циртоцита смещена вбок, цитоплазма очень плотная, содержит

ядро, диаметром 2-3 мкм, свободные рибосомы, митохондрии (рис. 27 Б, 29 А). Цитоплазма циртоцита образует внутренний ряд микроворсинок верши (диаметром около 0,11 мкм), окруженный внешним рядом удлиненных на поперечном сечении микроворсинок протонефридиальной воронки (размер по длинному диаметру около 0,3 мкм) (рис. 22 А). Цитоплазма микроворсинок уплотнена. Микроворсинки, образующие вершущу, соединены между собой внеклеточным электронноплотным материалом. Циртоцит имеет один пучок ресничек ресничного пламени, который направлен в просвет воронки. Ресничек в пучке около 75 штук. Формула аксонемы ресничек 9+2. Вокруг пучка ресничек располагается 1 ряд тонких внутренних лептотрихий, диаметром 75 нм.

Протонефридиальная воронка. Протонефридиальная воронка является самым первым элементом выделительной системы, образованным экскреторным эпителием (рис. 29 Б). В расширенной части воронка плероцеркоида *S. solidus* имеет диаметр 3,8 мкм. Стенка воронки плотная, гомогенная, внутренняя поверхность воронки гладкая. В более узкой части воронки можно заметить вертикальную стратификацию цитоплазмы стенки на апикальный и базальный слой. Апикальный слой плотный и гомогенный, базальный слой светлый, содержит гранулы гликогена, митохондрии, темные включения размером 80 нм.

Канальцы 1-го порядка. Канальцы 1-го порядка плероцеркоида *S. solidus* образованы экскреторным эпителием и являются внутриклеточными (рис. 27 Е, 29 В). Апикальная поверхность канальца, обращенная в просвет, несет шаровидные микроворсинки, диаметром 95 нм. Внутри микроворсинок имеются электронноплотные частицы, диаметром 53 нм. Стенка канальца стратифицирована на апикальный и базальный слой. Апикальный слой электронноплотный, гомогенный, базальный слой цитоплазмы светлый, содержит гранулы гликогена, единичные темные включения, микротрубочки. Базальная мембрана канальца образует неглубокие инвагинации.

4.3.6.2. Строение выделительной системы половозрелых *Caryophyllaeus laticeps* (Caryophyllaeidae, Caryophyllidea).

Половозрелые кариофиллиды принадлежат к нечленистым цестодам, они имеют сколекс и вытянутое тело с закругленным задним концом. Выделительная система включает ресничные клетки (циртоциты), протонефридиальные воронки, систему

каналов, проходящих в субтегументе, мочевой пузырь, терминальную экскреторную пору.

Циртоциты в каудальной части тела *C. laticeps* не обнаружены. Они располагаются довольно редко в более передних отделах тела, ближе к органам половой системы, и лежат по одному в рыхлом межклеточном веществе кортикальной парнехимы.

У циртоцита на одном полюсе располагается бобовидное ядро, на другом – пучок ресничек (рис. 27 В, 30 А, Б). Сoma циртоцита имеет размер около 9 мкм, в центре располагается крупное бобовидное ядро (8,5 x 6 мкм), богатое эухроматином; ядерно-цитоплазматическое отношение высокое. В цитоплазме, прилежащей к вогнутой части ядра, располагаются многочисленные мелкие округлые митохондрии (около 0,4 мкм), единичные микротрубочки и кинетосомы ресничек пламени.

Пучок ресничного пламени включает более 130 ресничек с аксонемой (9 + 2). Центральные реснички пучка длиннее краевых, поскольку число ресничек в просвете воронки постепенно уменьшается и составляет несколько десятков. Пучок ресничек окружен многочисленными тонкими лептотрихиями (диаметром 82 нм). Вокруг лептотрихий располагаются микровросинки циртоцита, образующие внутренний ряд верши. Микровросинки циртоцита имеют диаметр 100-140 нм и длину около 2-3 мкм.

Протонефридиальная воронка образует внешний круг микровросинок верши. Воронка *C. laticeps* в расширенной передней части имеет диаметр около 6 мкм. Толщина стенки воронки составляет около 830 нм. Стенка образована несколькими отростками, соединенными между собой десмосомо-подобными контактами (рис. 30 В, Г). Цитоплазма однородная и темная, иногда в базальной части стенки воронки имеется тонкий слой светлой цитоплазмы. Базальная мембрана стенки воронки образует короткие контакты с отростками соседних клеток, аккумулирующими гликоген.

По мере удаления от циртоцита диаметр воронки сужается (3 – 3,5 мкм) (рис. 30 Г), цитоплазма стенки канала стратифицируется на два слоя: апикальный слой цитоплазмы, обращенный в просвет воронки – электронноплотный, однородный, с гладкой мембраной; базальный слой цитоплазмы светлый, заполнен гранулами гликогена. Базальная мембрана стенки воронки фестончатая, образует

протяженные щелевые контакты с отростками соседних клеток, заполненных гликогеном. Межклеточных контактов в стенке воронки не обнаружено.

Полости воронок продолжают в просвет тонких канальцев 1-го порядка, которые в свою очередь продолжают в крупные экскреторные каналы, расположенные в субтегументе. Стенка экскреторных каналов *C. laticeps* образована эпителием синцитиального строения (рис. 27 Ж).

Субтегументальные экскреторные каналы. Продольные каналы *C. laticeps* залегают в области субтегумента, доходя до заднего конца тела, где тегумент втянут внутрь на определенную глубину, образуя узкий канал, в который открывается мочевой пузырь. На поперечном сечении заднего конца тела обнаружено два круга продольных выделительных каналов, внешний и внутренний, образующие субтегументальную сеть каналов. Внешний круг каналов лежит под тегументом тела, внутренний круг – под тегументом резервуара терминальной экскреторной поры (рис. 33 А). Во внешнем круге имеется порядка 20 каналов, во внутреннем – 17 – 25 каналов. Вероятно, каналы внешнего круга продолжают в каналы внутреннего круга загибаясь вместе с тегументом на заднем конце тела.

Стенка каналов внутреннего и внешнего круга устроена одинаково. Эти каналы выстланы синцитиальным экскреторным эпителием; в стенке мы не обнаружили межклеточных контактов. Канал образует безъядерная часть эпителия, перикарионы погружены вглубь паренхимы (рис. 28 Б, 31). Стенка каналов стратифицирована на два слоя: апикальный слой, обращенный в просвет канала, и базальный слой (рис. 32 Б). Апикальный слой электронноплотный, гомогенный, толщиной около 0,16 мкм. Апикальная мембрана образует уплощенные ламеллы, длиной до 0,7 мкм, высотой 0,03 мкм. Базальный слой цитоплазмы имеет разную толщину, от 90 нм до 1,4 мкм. Цитоплазма базального слоя светлая, содержит гликогеновые гранулы, митохондрии, аппарат Гольджи, мелкие круглые везикулы со светлым содержимым, мембраноограниченные везикулы с неомогенным темным, гомогенным темным или прозрачным содержимым (размер около 0,3 мкм), мультивезикулярные тела. Базальная мембрана канала образует глубокие инвагинации, направленные к просвету. Базальная мембрана темная, образует частые щелевые контакты с соседними клетками экскреторного эпителия и других клеток. Кроме того, обнаружены протяженные контакты по типу десмосом. В дополнение к вышеописанным контактам, базальная мембрана экскреторного

эпителия образует парные межклеточные контакты по типу десмосом с другими базальными отростками экскреторного эпителия (рис. 28 Б, 31 Б, В).

Под базальной мембраной каналов располагаются продольные мышечные пучки (2-3 пучка на один канал) (рис. 28 Б, 31 Г). Между клетками и их отростками располагается очень тонкий, светлый и рыхлый слой межклеточного вещества.

Обнаружены перикарионы экскреторного эпителия каналов (рис. 31 А, Б). Это крупные светлые погруженные перикарионы. Ядро (9-10 мкм), иногда с крупным ядрышком. Цитоплазма клеток светлая, заполнена свободными рибосомами, а также рибосомами, расположенными на гРЭПР. Также в цитоплазме имеются многочисленные митохондрии и цистерны аппарата Гольджи.

Мочевой пузырь. Мочевой пузырь лопастной, спавшийся, возможно, в результате фиксации ткани (рис. 32 А). С мочевым пузырем связаны субтегументальные выделительные каналы и продольные выделительные каналы (рис. 28 Г, 32 Б, В), располагающиеся глубоко в паренхиме вокруг органов половой системы.

Мочевой пузырь выстлан экскреторным эпителием, тонкая стенка достигает 0.4-0.6 мкм вместе с ламеллами. Апикальная мембрана складчатая, образует длинные и тонкие ламеллы, часто расположенные вдоль стенки в несколько слоев. Цитоплазма стенки пузыря стратифицирована на апикальный и базальный слой. Цитоплазма апикального слоя элетронноплотная, имеет большое количество везикул нерегулярной формы и размера со светлым содержимым и иногда с темными гранулами (рис. 32 А). Базальный слой цитоплазмы светлый, содержит гранулы гликогена, митохондрии и различные включения. Базальная мембрана складчатая, образует протяженные щелевые контакты с соседними клетками.

Мочевой пузырь открывается в резервуар экскреторной поры, выстланный тегументом.

Экскреторная пора. Экскреторная пора располагается на заднем конце тела терминально и ведет в удлинённый складчатый тегументальный резервуар терминальной поры (рис. 33). Под тегументом резервуара располагается внутренний круг субтегументальных экскреторных каналов.

Стенка резервуара образована дистальной цитоплазмой тегумента (рис. 33 Б). Апикальная поверхность, направленная в просвет резервуара, несет многочисленные конические микротрихии. Основание микротрихий (base) светлое,

цилиндрическое, длиной до 0,38 мкм, шириной 0,11 мкм, апикальный кончик плотный (сар), имеет удлинённую коническую форму, длина до 1,5 мкм.

Цитоплазма тегумента имеет толщину от 0,5 до 6 мкм. Цитоплазма стратифицирована на два слоя: апикальный и базальный. Апикальная часть электронноплотная, содержит множество палочковидных и дисковидных тел, редкие везикулы со светлым содержимым. Базальная часть цитоплазмы светлая, сильно вакуолизирована, содержит светлые вакуоли различного размера (от 0,1 до 0,45 мкм) с темной мембраной, иногда вакуоли с темным содержимым и мелкие пузырьки округлой формы с темной мембраной и светлым содержимым. Кроме того, в цитоплазме имеются длинные митохондрии и редкие липидные капли. В цитоплазме базальной части редко встречаются мембраноограниченные плотные палочковидные и дисковидные тела. Базальная мембрана цитоплазматической части сильно складчатая, глубина складок может достигать до 4-5 мкм (рис. 33 Б). Иногда эти складки захватывают не только базальный слой цитоплазмы, но и апикальный. В таких случаях между мембранами складки образуется протяженный десмосомоподобный контакт (длиной около 1 мкм).

Базальная мембрана цитоплазмы тегумента подстлана базальной пластинкой. Она состоит из электронноплотного тонкого слоя *lamina densa* и рыхлого слоя *lamina lucida* (толщина 50 нм и 360 нм, соответственно). *Lamina densa* иногда заходит в инвагинационные складки базальной мембраны цитоплазматической части тегумента на глубину до нескольких микрон. Кроме того, *Lamina densa* базальной пластинки тегумента переходит на отростки цитонов и постепенно истончается по направлению к цитону.

Отростки цитонов тегумента прободают базальную пластинку и слой подлежащей субтегументальной мускулатуры. Отростки цитонов широкие (около 1,3 мкм), содержат большое количество светлых вакуолей и редкие плотные дисковидные и палочковидные тела.

Непосредственно под базальной пластинкой располагается слой субтегументальных продольных и кольцевых мышечных волокон. Толщина мышечных фибрилл составляет около 0,17 мкм. Глубже располагается внутренний круг субтегументальных экскреторных каналов.

В глубине терминальной поры строение тегумента постепенно меняется (рис. 33 В). Сначала микротрихии постепенно удлиняются: базальная часть становится в

несколько раз длиннее (около 2 мкм), апикальная часть тоже увеличивается, но незначительно. Глубже тегумент теряет микротрихии, а тегумент становится тоньше (0.5-1 мкм). базальная мембрана образует складки. Истончается слой субтегументальной мускулатуры. Еще глубже отмечаются длинные (до 5-6 мкм, а потом и более длинные) и тонкие выпячивания апикального слоя цитоплазмы в просвет резервуара терминальной поры (рис. 33 Г). В этом месте тегумент показывает признаки высокой секреторной/экскреторной активности: в выпячиваниях апикального слоя цитоплазмы можно заметить мембраноограниченные везикулы с прозрачным содержимым различного диаметра, до 4 мкм. Кроме того, можно заметить еще более крупные везикулы нерегулярной формы с серым гомогенным содержимым, которые выбрасываются в просвет резервуара, где также имеется большое количество круглых везикул с идентичным содержимым.

Тегументальные цитоны погружены на глубину 10-20 мкм, имеют крупное ядро (размером 8-9 мкм), с большим количеством эухроматина, ядрышки редки. Цитоплазма темная и очень плотная, заполнена большим количеством свободных рибосом, а также грЭПР. Кроме того, в цитоплазме отмечены многочисленные митохондрии, аппарат Гольджи. Встречаются участки цитоплазмы со светлыми вакуолями различного диаметра (0,1-0,3 мкм) и редкими палочковидными и дисковидными телами. Наружная мембрана цитонов сильно складчатая, цитоплазматические складки и отростки клетки образуют сложный лабиринт. Нефропоры в тегументе резервуара терминальной поры не обнаружены.

4.3.6.3. Строение выделительной системы плероцеркоида *Nybelinia surmenicola*.

Плероцеркоид имеет развитый сколекс и нечленистое тело с заостренным каудальным концом.

Циртоциты. На заднем конце тела были обнаружены циртоциты, которые располагались одиночно (рис. 27 Г, 34 А) и имели под одному пучку ресничного пламени, направленному в протонефридиальную воронку. Перикарион лежит сбоку от ресничного пламени, светлая цитоплазма, заполнена свободными рибосомами, митохондриями, которые скапливаются ближе к базальным телам ресничек пламени, а также светлыми пузырьками нерегулярной формы и размера. В области базальных тел ресничек отмечаются многочисленные микротрубочки,

направленные в разные стороны. Ядро небольшое (2-3 мкм), ядерно-цитоплазматическое отношение низкое.

Верша состоит из двух рядов микроворсинок циртоцита и воронки (диаметром 0,1 и 0,15 мкм соответственно) (рис. 34 Б): микроворсинки циртоцита образуют внутренний круг, микроворсинки воронки - внешний. Мембраны противоположащих микроворсинок соединены электронноплотным внеклеточным веществом. Цитоплазма микроворсинок верши уплотнена в области контакта с соседней микроворсинкой. Внутри верши располагается 2 ряда тонких лептотрихий, диаметр каждой составляет около 75 нм. Пучок ресничек состоит из 60-80 (в среднем 67) ресничек; формула аксонемы (9+2).

Протонефридиальная воронка. Диаметр протонефридиальной воронки составляет около 2-3 мкм, толщина стенки воронки – не более 0,4 мкм (рис. 34 В). Воронка образована экскреторным эпителием. Апикальная поверхность, обращенная в просвет, гладкая. Стенка эпителия воронки стратифицирована на апикальный и базальный слой. Апикальный слой, толщиной 0,15 мкм, электронноплотный, гомогенный. Базальный слой цитоплазмы, толщиной не более 0,25 мкм, светлый, содержит гранулы гликогена, единичные редкие светлые везикулы, диаметром около 50 нм.

Экскреторные каналы. Экскреторные каналы плероцеркоида выстланы экскреторным синцитиальным эпителием с погруженными ядрами.

Внутриклеточные каналцы 1-го порядка, с которыми соединяется просвет протонефридиальных воронок, лежат свободно в паренхиме, окруженные рыхлым межклеточным веществом (рис. 27 З, 34 Г, 35 А). На внутренней поверхности каналцев имеются мелкие шаровидные микроворсинки диаметром 70 нм. Цитоплазма каналов стратифицирована на апикальный и базальный слой. Апикальный слой электронноплотный, базальный – светлый, несет гранулы гликогена, митохондрии, везикулы со светлым или темным содержимым. Перикарионы экскреторного эпителия, образующего внутриклеточные каналцы, электронноплотные, содержат большое количество свободных рибосом, ядро (диаметром 2-2,5 мкм) с ядрышком; базальная мембрана образует щелевые контакты с соседними клетками.

Периферические каналы имеют очень тонкую выстилку (270 нм) (рис. 35 Б). В цитоплазме обнаружены единичные везикулы с прозрачным содержимым, а также

гранулы гликогена, которые лежат преимущественно в базальной части эпителия. На апикальной поверхности, обращенной в просвет, располагаются длинные (380 нм) и тонкие, удлинённые, иногда ветвящиеся микроворсинки. Базальная мембрана также образует тонкие длинные отростки, лежащие параллельно просвету канала. Экскреторный эпителий периферических каналов подстилается рыхлой и тонкой (120 нм) базальной пластинкой.

Экскреторная пора располагается на заднем конце тела плероцеркоида терминально. Просвет на поперечном сечении имеет треугольную форму.

Поверхность тегумента эксcretорной поры несет одинаковые микротрихии (рис. 35 В). Базальная часть микротрихий светлая, цилиндрическая (диаметр 0,1 мкм, длина от 1 мкм до нескольких микрон), апикальная часть микротрихии небольшая, заостренная. Часть тегумента гладкая, микротрихий не несет. Эти микротрихии соответствуют трубчатым микротрихиям, описанным у этого же вида на поверхности тела (Biserova et al., 2015).

Цитоплазматическая часть тегумента толстая, от 2,5 до 7 мкм. Цитоплазма электронноплотная, в ней содержатся многочисленные везикулы с прозрачным содержимым или с плотными частицами. Плотные палочковидные и дисковидные тела редки. В цитоплазме тегумента заднего конца, для сравнения, гораздо меньше прозрачных везикул и гораздо больше палочковидных и дисковидных тел. Кроме того, в среднем слое цитоплазматической части имеются многочисленные округлые митохондрии.

Базальная мембрана тегумента складчатая, складки достигают длины 3,4 мкм. Базальная мембрана лежит на рыхлой светлой базальной пластинке, которая варьирует по толщине от 0,17 до 3,5 мкм.

В стенке эксcretорной поры обнаруживаются обширные выпячивания цитоплазмы (2-8 мкм) с прозрачным содержимым, иногда с крупными митохондриями (рис. 35 Г).

В стенке тегумента эксcretорной поры обнаружено свободное нервное окончание в виде безресничного рецептора (рис. 35 Д). Ширина бульбы рецептора составляет 716 нм. Рецептор укреплен одним опорным кольцом, подстилающим септированную десмосому. В цитоплазме бульбы рецептора располагается корешок, микротрубочки, одна большая митохондрия (1,6 мкм), мелкие темные

везикулы, диаметром 60 нм. Бульба рецептора в районе опорного кольца имеет по крайней мере один цитоплазматический отросток, направленный назад, к базальной мембране тегумента. Длина отростка составляет 708 нм.

Краткое заключение. Таким образом в результате исследования удалось получить данные для сравнительного анализа о строении выделительной системы четырех видов цестод: *P. phocarum*, *S. solidus*, *C. laticeps*, *N. surmenicola*. Общий план строения и ультраструктура выделительной системы изученных в данной работе видов имеет ряд сходств и различий:

- Архитектура протонефридиальной системы плероцеркоида *P. phocarum* и взрослой особи *C. laticeps* в каудальной части тела имеет общие черты: имеется терминальная тегументальная пора с тегументальным резервуаром, который связан с мочевым пузырем. Имеющиеся различия касаются расположения каналов в медулярной паренхиме перед впадением в мочевой пузырь, а также тем, что периферические каналы не имеют прямой связи с резервуаром терминальной поры.
- Ультраструктурная организация ресничных клеток у всех четырех изученных видов имеет общий план строения: полярные, одиночные циртоциты с внутренними лептотрихиями и одним ресничным пламенем, направленным в протонефридиальную воронку. Строение верши и характер соединения циртоцита с протонефридиальной воронкой также схожи. Различия касаются набора органелл цитоплазмы, размеров различных клеточных структур.
- Протонефридиальные воронки в целом демонстрируют сходство в строении: полые трубки с расширенной частью, образующей внешний ряд микроворсинок верши. Цитоплазма стенки воронки в дистальных отделах у всех видов стратифицируется на слои. *P. phocarum* в отличие от других видов, имеет шаровидные микроворсинки в просвете воронки. Воронка *C. laticeps* состоит из нескольких отростков, соединенных десмосомами, тогда как у остальных изученных видов стенка воронки единая.
- Каналы 1-го порядка, обнаруженные у всех изученных видов, имеют синцитиальное строение и располагаются внутриклеточно. У представителей отряда дифиллоботриид и трипаноринх поверхность канала несет шаровидные

микроворсинки, а у *C. laticeps*, представителя кариофиллид, мембрана канала образует ламеллы.

- Нам удалось изучить каналы 2-го порядка для видов *P. phocarum*, *C. laticeps*, и *N. surmenicola*. Их стенка представлена синцитиальным экскреторным эпителием. Структура стенки каналов 2-го порядка у видов стратифицирована по горизонтали, но детальное строение каналов сильно отличается размерными характеристиками, набором органелл (только у *P. phocarum* в цитоплазме имеются палочковидные плотные тела), поверхностными структурами в просвете канала (у вида *N. surmenicola* они отличаются по сравнению с каналами 1-го порядка), степенью инвагинированности базальной мембраны. Также только у *C. laticeps* периферические каналы 2-го порядка имеют мышечную обкладку.
- Мочевой пузырь нам удалось изучить на примере двух видов: *P. phocarum* и *C. laticeps*. У обоих видов он представлен синцитиальным экскреторным эпителием с погруженными ядрами. Различается характер горизонтальной стратификации стенки (у *P. phocarum* имеется гомогенный слой и слой с палочковидными телами, характерный для всего экскреторного эпителия, у *C. laticeps* апикальная цитоплазма дифференцирована на три слоя: гомогенный, вакуолизированный, зернистый слой с органеллами) и поверхностные структуры просвета (*P. phocarum* имеет редкие шаровидные микроворсинки, *C. laticeps* – уплощенные ламеллы, расположенные на поверхности в несколько рядов).
- Структура экскреторной поры изучена на примере *P. phocarum*, *C. laticeps*, *N. surmenicola*. У всех изученных видов стенка выстлана тегументом с микротрихиями. Существенно ультраструктура тегумента отличается у *C. laticeps*: она отличается как по сравнению с тегументом поверхности тела, так и на протяжении самой поры. Важным отличием строения стенки экскреторной поры *P. phocarum* от других изученных видов является наличие нефропор периферических каналов 2-го порядка.

Глава 5. Обсуждение результатов

5.1 Филогенетическое положение, особенности жизненного цикла и биология *Pyramicocephalus phocarum*

Жизненный цикл *P. phocarum* изучен не до конца. Имеются литературные сведения о том, что плероцеркоиды *P. phocarum* встречаются в наваге *Eleginus navaga*, в атлантическом палтусе *Hippoglossus hippoglossus*, камбале *Pleuronectes stallatus*, дальневосточной наваге *Eleginus gracilis* и *Megalocottus platycephalus* (Rausch, 1967). Эти виды рыб являются промыслово важными для человека. Однако, как правило, определение плероцеркоидов происходит на основе морфологических данных. Этот метод имеет свои ограничения, поскольку морфологических признаков, достаточных для точного определения, у личинок не много. В данном случае использование молекулярных методов для определения видовой принадлежности личинок представляется более объективным. Установить принадлежность к виду молекулярными методами удалось только для плероцеркоидов *P. phocarum* из керчака и сайды (Waeschenbach et al., 2017).

В ходе настоящего исследования удалось подтвердить, что плероцеркоиды, извлеченные из трески *G. morhua* на Белом море, принадлежат к виду *Pyramicocephalus phocarum*. Это также означает, что спектр возможных промежуточных хозяев плероцеркоида в данном исследовании пополнился. По предварительным данным также можно считать, что пинагор является подтвержденным промежуточным хозяином плероцеркоида *P. phocarum*. Таким образом, на основе наших данных и литературных данных, спектр подтвержденных молекулярными методами хозяев плероцеркоида включает треску, пинагора, сайду и керчака (*G. morhua*, *C. lumpus*, *Pollachius virens*, *Myoxocephalus scorpius* (L.), соответственно) (Waeschenbach et al., 2017).

Окончательными хозяевами *P. phocarum* являются рыбающие млекопитающие, например, тюлени или морские выдры. Часто плероцеркоиды находят в ластоногих, таких как морской заяц и лахтак (*Erignathus barbatus barbatus* u *Erignathus barbatus nauticus*) (Schmidt, 1986, Delamure et al., 1985, Margolis et al., 1997, Lauckner, 1985). Их популяции более чем наполовину поражены взрослой стадией *P. phocarum*, в частности экстенсивность составляет до 70%, а интенсивность инвазии порядка 100-250 червей. У других ластоногих млекопитающих экстенсивность заражения составляет менее 3-5% (Delyamure, 1961).

Экспериментальные заражения крыс и золотистых хомяков плероцеркоидами *P. phocarum* не привели к положительным результатам (Мустафина и др., 2016). Вероятная причина кроется в том, что крысы и золотистые хомяки являются неспецифичными хозяевами плероцеркоида. Неудачные результаты экспериментального заражения собак плероцеркоидами *P. phocarum* (Rausch, Adams, 2000) также говорят об узкой специфичности этого паразита.

Для рассмотрения особенностей жизненного цикла *P. phocarum* в части жизненного цикла от процеркоид до плероцеркоида, следует принять во внимание следующие сведения:

1. Процеркоиды дифиллоботриид обитают в полости тела копепод. По пищевой цепочке они передаются следующему хозяину – рыбе (Догель, 1981).
2. Плероцеркоиды *P. phocarum* обитают в некоторых видах рыб, в том числе во взрослой треске, достигая в них крупных размеров, порядка 4-6 см (Grabda, 1977). В то же время размеры плероцеркоидов других диффилоботриид достигают лишь 1-1,5 см (Догель, 1981). Плероцеркоиды достигают своих размеров за 2.5-3.5 месяца или быстрее (на примере *D. latum* - Kuhlowl, 1955).
3. Сеголетки трески (длиной 3.8-9.2 см) питаются полихетами, изредка пинагорами, морскими стрелками, моллюсками, амфиподами, изоподами, мизидами и, в том числе, копеподами (Бондарев, 2017). Однако копепод в спектре питания взрослой трески нет (Гончаров, Фукс, 2010; Горбатенко, Савин, 2012). С ростом трески доля планктонных и бентосных беспозвоночных среди кормовых организмов снижается. Треска размером до 40 см является эврифагом (Кузнецова, 2004; Чучукало, 2006). Взрослая треска является рыбохищником, в спектр питания которой входят другие рыбы (керчак, навага, треска, сельдь, ершоватка, маслюк, люмпенус), а также иногда крупные черви, моллюски и другие крупные беспозвоночные.
4. Достоверно известными хозяевами плероцеркоида *P. phocarum*, как уже обсуждалось выше, являются также пинагор (*C. lumpus*), сайда (*P. virens*) и керчак (*M. scorpius*). Спектр питания пинагора включает амфипод, копепод, полихет, изопод (Кудрявцева, 2008; Бондарев, 2018). Молодь сайды (*P. virens*) питается мелкими ракообразными Calanoida, Harpacticoida, Cladocera, Pteropoda, личинками *Balanus*, молодью мидий (*Mytilus edulis*) и икрой рыб (Долгов, 2005). Керчак (*M. scorpius*) – эврифаг с очень пластичным спектром питания: молодь

чаще питается беспозвоночными (амфиподы, моллюски, декаподы, полихеты), взрослые чаще питаются рыбной пищей (сайка (*Boreogadus saida*)), отмечен каннибализм (Landry, 2018). К сожалению возраст сайды и керчака, из которых были извлечены плероцеркоиды *P. phocarum* не указан, однако размеры сколексов плероцеркоидов (судя по фото в публикации), извлеченных из трески и керчака, примерно одинаковые (Waeschenbach et al., 2017).

Из всего вышесказанного, можно сделать предположение, что между стадией процеркоида в копеподе и стадией плероцеркоида в треске имеется еще один хозяин. Если развивать эту гипотезу, то жизненный цикл *P. phocarum* можно предположить в следующем виде: первый промежуточный хозяин (копепода) несет процеркоид; второй промежуточный хозяин, связанный с первым пищевой цепью, является небольшой, вероятно пелагической планктонной рыбой. Возможно на эту роль подходят сайда и пинагор. Треска (и возможно керчак) в таком случае является резервуарным хозяином, в котором не происходит метаморфоза личинки, а лишь ее линейный рост.

Альтернативная гипотеза, объясняющая вышеописанные нестыковки в жизненном цикле *P. phocarum*, выглядит следующим образом: процеркоид (обитающий в копеподе) передается по пищевой цепочке другому резервуарному хозяину – планктонному ракообразному из спекта питания трески. В этом хозяине происходит линейный рост процеркоида, а метаморфоз в плероцеркоида происходит уже в рыбе. Но в таком случае мы, вероятно, чаще бы встречали молодь рыб, поряженную плероцеркоидами *P. phocarum*, поэтому эта гипотеза представляется нам менее вероятной. Версия, при которой другие беспозвоночные (моллюски или черви) выступают в качестве резервуарных хозяев представляется нам еще менее вероятной ввиду специфичности паразита. В любом случае, данные предположения требуют проверки и новых исследований.

Соединительно-тканная капсула, окружающая плероцеркоид, описана для многих видов диффилоботриид, например, для *D. dendriticum* (Куперман, 1973; Пронина, 1988). Капсула синтезируется клетками хозяина и представляет собой защитную реакцию окружающих тканей на инвазию. В процессе онтогенеза плероцеркоидов в полости тела и органах рыб выделяют следующие этапы развития капсулы:

грануляционная капсула, молодая соединительнотканная капсула и зрелая соединительнотканная капсула (Пронина, 1988). По ряду признаков капсулы (степень развития плероцеркоида, дегенеративные изменения в органе, оформленность капсулы), обнаруженные в рамках данного исследования, можно характеризовать как зрелые соединительно-тканые капсулы (Пронина, 1988). В такой капсуле червь лежит неподвижно, а окружающие его ткани (при низкой интенсивности инвазии) выглядят нормальными.

Прижизненные наблюдения за движениями тела плероцеркоида показали интенсификацию движений после извлечения плероцеркоида из полости тела промежуточного хозяина и помещении его в физиологический раствор по крови рыбы. При этом черви демонстрировали «поисковый» паттерн движения сколекса (Гордеев, 2016): сколекс растягивается, апикальная часть сколекса вытягивается в «хоботок», края ботрий смыкаются и размыкаются, ощупывая стенки чашки Петри. Остальное тело плероцеркоида совершает интенсивные перистальтические движения, которые изменяют длину тела в несколько раз. Иногда наблюдаются перистальтические движения в обратном направлении, что было ранее описано для *D. dendriticum* (Lindroos, 1982). Перистальтические движения тела выполняются преимущественно слоями кольцевой и продольной мускулатуры субтегумента. Движения сколекса в большой степени контролируются дорзовентральными, латеро-латеральными мышцами, и продольными мышцами в центральной паренхиме сколекса. Движения ботрий осуществляются преимущественно за счет субтегументальной мускулатуры и развитой мускулатуры дна ботрий, которая богато иннервируется дорзальными и вентральными нервными корешками. Края ботрий двигаются наиболее активно, «ощупывая» субстрат. Эти движения осуществляются за счет утолщенного слоя субтегументальных мышц. Именно за счет этих мышц, а также за счет мышц центральной паренхимы в дальнейшем происходит прикрепление сколекса к стенке кишечника окончательного хозяина.

Краткое заключение. Таким образом, впервые для *P. phocarum* удалось молекулярными методами подтвердить, что одними из промежуточных хозяев плероцеркоида *P. phocarum* являются пинагор и треска. Кроме того, выдвинуто предположение о том, что треска играет роль резервуарного хозяина *P. phocarum*. Также впервые описана соединительно тканная капсула у *P. phocarum* и сделано предположение о ее происхождении. И, наконец, впервые для плероцеркоида

изученного вида описаны паттерны движения и мышцы, за счет которых эти движения совершаются.

5.2 Анализ строения *Pyramicocephalus phocarum*

5.2.1 Строение тегумента, базального матрикса, мускулатуры и фронтальных желез

Тегумент

Тегумент плероцеркоида *P. phocarum* имеет типичное строение для цестод, однако были обнаружены некоторые важные отличия. Из черт, встречающихся и у других дифиллоботриид, можно отметить микротрихии. Например, микротрихии 1 типа *P. phocarum* соответствуют конусовидным микротрихиям у *D. latum* (Куперман, 1988) или спинитрихиям (spinitrix microtriches) согласно классификации Chervy (Chervy, 2009). Кроме того, описанные в работе Б.И. Купермана (1988) булавовидные микротрихии, по нашему мнению, являются теми же конусовидными микротрихиями, но срезанными под другим углом. Трубочатые микротрихии *D. dendriticum* соответствуют описанным у *P. phocarum* микротрихиям 3 типа, или цилиндрическим филитрихиям (Chervy, 2009). Отличие состоит в том, что у *P. phocarum* они несколько короче и расположены равномерно, тогда как у *D. dendriticum* эти микротрихии расположены группами на выростах цитоплазмы. Вообще говоря, трубчатые микротрихии характерны для многих представителей дифиллоботриид) и в целом цестод других отрядов (Coil, 1991; Chervy, 2009).

В тегументе плероцеркоида *P. phocarum* выявлено 3 типа микротрихий; их расположение на теле неоднородно: микротрихии 1 типа (или спинитрихии, по Chervy, 2009) встречаются преимущественно на сколексе и на внутренней поверхности терминальной поры, микротрихии 2 типа (или тонкие конические микротрихии, по Chervy, 2009) – на поверхности тела и терминальной поры, микротрихии 3 типа (или цилиндрические филитрихии, по Chervy, 2009) – встречаются на всей поверхности тела. Неравномерность распределения микротрихий описана для многих цестод на разных стадиях развития (Berger, Mettrick, 1971; Бисерова, Куперман, 1983; Бисерова, 1987; 1991; Куперман, 1988; Nayunga, 1991; Palm et al., 1998; Radha et al., 2006;). Были высказаны предположения, что, неоднородность в расположении микротрихий по поверхности тела и приуроченность определенных типов к определенным участкам, связана с различными функциями, которые характерны для тегумента сколекса и тегумента других областей тела. В этой связи можно сказать, что конусовидные спинитрихии (1 тип) выполняют фиксаторную функцию, помогая сколексу *P. phocarum* в

движении и прикреплении, а цилиндрические филитрихии (3 тип) – трофическую, увеличивая поверхность для мембранного пищеварения в отсутствие кишечника, и обеспечивая питательными веществами формирующуюся стробилу (Бисерова, 1987; 1991; Jones, 1998; Halton, 2004; Poddubnaya et al., 2007). Трубочатые микротрихии 3 типа увеличивают поток нутриентов к поверхности тегумента (Halton, 2004; Poddubnaya et al., 2007). Предполагается, что микротрихии участвуют в примембранном пищеварении за счет своей удлинённой базальной части, а электронно-плотная апикальная часть участвует в проникновении, фиксации и противостоянии перистальтике (Jha, Smyth, 1969; Hayunga, 1991; Radha et al., 2006). Поэтому микротрихии *P. phocarum*, обладающие массивной электронноплотной апикальной частью, 1 и 2 типа, могут выполнять фиксаторные или защитные функции, тогда как микротрихии 3 типа более специализированы для примембранного пищеварения, распространены по всему телу и наиболее многочисленны на стробиле цестод.

Цитоплазма тегумента дифиллоботриид содержит сходный набор органелл, который идентичен для многих цестод, например, *Diphyllobothrium latum* (Braten, 1968; Yoneva et al., 2018). В их дистальной цитоплазме и цитоплазме *P. phocarum* описаны многочисленные электронноплотные тела, которые расположены ближе к апикальной поверхности тегумента. В литературе их называют различными терминами, например, «дисковидные тела» и «палочковидные тела» (Braten, 1968; Morris, Finnegan, 1969; Threadgold, 1984; Osaki, 1990). Согласно Osaki (1990), эти тела связаны с обновлением мембраны тегумента и, в том числе, микротрихий.

Высокое содержание митохондрий в базальной части дистальной цитоплазмы тегумента может свидетельствовать о процессах дыхания, хотя размеры митохондрий и количество крист в них невелики (Braten, 1968).

Базальная мембрана дистальной цитоплазмы тегумента складчатая. Некоторые авторы (Pease, 1956; Braten, 1968) связывают это с активным транспортом, проходящим через мембрану в процессе осморегуляции или секреции.

Базальный матрикс

Базальный матрикс тегумента рассматривается как разновидность экстраклеточного матрикса, образует с ним единое целое (Pedersen, 1991). У *P. phocarum* базальный матрикс тегумента двуслойный, дистальный слой lamina densa, проксимальный слой lamina fibroreticularis (reticulosa), который продолжается

в экстраклеточный матрикс глубоких слоев субтегумента и паренхимы. Связь между базальным матриксом и межклеточным матриксом также была убедительно показана для *D. dendriticum* (Lindroos, 1984) и *H. diminuta* (Holy, Oaks, 1987).

По литературным данным, синтез экстраклеточного матрикса осуществляется клетками паренхимы (Kornakova, 1989; Conn, 1993) или клетками мышечной системы (Hildreth, Lumsden, 1983; Conn, Rocco, 1989; Conn, 1993). Экстраклеточный матрикс распространен по всему телу *P. phocarum*, однако в определенных местах его вытесняют другие клетки: в медуллярной и кориткальной паренхиме сколекса проходит большое количество нервных, железистых и мышечных элементов. Доля экстраклеточного материала там минимальна. Кроме того, доля экстраклеточного материала минимальна в субтегументальной зоне по всему сколексу, телу и каудальной области, принадлежащей полости терминальной поры. Однако в теле, особенно в центральной паренхиме, объем экстраклеточного матрикса порой превышает объем клеток.

В базальном матриксе тегумента плероцеркоида *P. phocarum* впервые для дифиллоботриид описаны зякоривающие филаменты. Они схожи с таковыми, описанными для *H. diminuta* (Holy, Oaks, 1987): электронно-плотные исчерченные филаменты (расстояние между филаментами 70 нм), прикрепляющиеся одним концом полудесмосомами к субтегументальной мускулатуре. Дистальный конец филаментов прикрепляется к базальной мембране дистальной цитоплазмы. Вероятно, зякоривающие фибриллы осуществляют опорную функцию и противодействуют сжатию тканями хозяина.

Мускулатура

Мышечная система *P. phocarum*, описанная в настоящем исследовании, в целом соответствует описанию мускулатуры, сделанному для *D. dendriticum*, *D. latum* и *D. ditremum* (Andersen, 1975; Wahlberg, 1998). У плероцеркоида *P. phocarum* имеются все описанные мышечные компартменты: субтегументальная мускулатура, мускулатура паренхимы и мускулатура протонефридиальных каналов.

Субтегументальная мускулатура тела представляет собой как правило 2 слоя мышц, кольцевых и продольных. На сколексе, в субтегументе ботрий, и на заднем конце в субтегументе терминальной поры обнаружены несколько слоев субтегументальной мускулатуры. Это связано с репертуаром движений,

совершаемых в данных областях тела, что подтверждается прижизненными наблюдениями за плероцеркоидом: при раздражении червя сколекс, ботрии и терминальная пара сильно сжимаются.

Мышечные клетки цестод запасают гликоген. Такие миоциты с отростками, содержащими гликоген описаны для *T. nodulosus* (Korneva, 2001), у которого гликогенсодержащие отростки могут располагаться как в трофической, так и в сократимой части миоцита. У плероцеркоида *P. phocarum* мы обнаружили трофические и сократимые отростки миоцитов, заполнены гликогеном. Отростки, заполненные гликогеном, образуют межклеточные щелевые контакты. Эти контакты немногочисленны и непротяженны, что соответствует описанию для плероцеркоида *T. nodulosus* (Korneva, 2001). Межклеточные щелевые контакты у плероцеркоида *P. phocarum* обнаружены как правило между гликогенсодержащими отростками мышечных клеток; иногда между гликогенсодержащими отростками и клетками экскреторного эпителия, цитонами тегумента, клетками фронтальных желез, терминальными клетками. Через щелевые контакты возможна передача лишь низкомолекулярных веществ. Вероятно, гликоген, который наиболее интенсивно запасается на стадии плероцеркоида (Korneva, 2004), является расходным запасным материалом не только для мускулатуры, но и для клеток протонефридиальной системы, тегумента и фронтальных желез.

Фронтальные железы

Фронтальные железы *P. phocarum* представляют собой синцитий, который наиболее сильно развит в сколексе. Набор органелл в перикарионах свидетельствует о высокой синтетической активности клеток. Сильно развитая шероховатая ЭПР косвенно дает основания предполагать, что секрет фронтальных желез имеет белковую природу. С другой стороны, иммуногистохимические исследования, выполненные на *D. dendriticum* показали иммунореактивность секрета фронтальных желез к простагалидинам (Kutyrev et. al., 2017).

Ультраструктура фронтальных желез, включая перикарионы, резервуары с секреторными гранулами и выводные протоки, сходна со строением фронтальных желез плероцеркоидов *D. latum* и *D. dendriticum*, *D. ditremum* (Kuperman, Davydov, 1982; Куперман, 1988; Бисерова, Кемаева, 2012). Тонкая морфология гранул секрета показывает наличие ограничивающей мембраны и идентична у разных видов. Длинные выводные протоки фронтальных желез укреплены

микротрубочками и имеют кольцевые десмосомы, окружающие терминальные поры в тегументе, через которые происходит выброс секреторного материала наружу, в организм хозяина. Такое строение фронтальных желез также было описано в сколексе *Grillotia erinaceus* (van Beneden, 1858) (Давыдов, Бисерова, 1985). Микротрубочки на периферии выводных протоков способствуют продвижению секрета и препятствуют сжатию протоков при сокращении мускулатуры. Чаще всего поры фронтальных желез *P. phocarum* встречаются в тегументе внутренней поверхности складки ботрий. Отмечена колокализация пор фронтальных желез и ресничных и безресничных рецепторов в складках ботрий, что подтверждается данными, полученными на других видах (Kutyrev et al., 2017; Bařčák et al., 2019). Вероятно, эти рецепторы важны при попадании в окончательного хозяина, поскольку именно складками ботрий черви «ощупывают» поверхности и прикрепляются к стенке кишечника. Расположение пор фронтальных желез непосредственно в тегументе в складках ботрий повышают вероятность прицельного попадания модулирующего иммунитет хозяина секрета фронтальных желез.

С другой стороны, нами впервые были описаны синаптические контакты перикарионов фронтальных желез плероцеркоида *P. phocarum* с нейритами светлых нейронов, несущих в цитоплазме везикулы двух разных типов. Нейрожелезистые контакты обнаружены в непосредственной близости к долям мозга, нейропилям и в медианной комиссуре мозга. Поэтому можно предположить, что фронтальные железы стимулируются нейронами мозга за счет двух различных нейроактивных субстанций. Тесно расположенные и контактирующие между собой посредством синапсов нейроны и железы представляют собой единую морфологическую структуру, для которой предложен специальный термин – нейрожелезистый мозг (Biserova et al., 2022).

Нейрожелезистые контакты были описаны и для других дифиллоботриид, например, в мозге *D. ditremum* (Бисерова, Кемаева, 2012).

Краткое заключение. На ультраструктурном уровне для плероцеркоида *P. phocarum* было подробно описано строение тегумента, мышечной системы, фронтальных желез и базального матрикса.

Тегумент имеет типичное для дифиллоботриид строение. Описаны 3 типа микротрихий и их локализация в соответствии с общепринятой классификацией и

предположена их функция. Имеются признаки активного транспорта через тегумент и дыхания. Впервые для дифиллоботриид описаны заякоривающие филаменты в базальном матриксе тегумента.

Мышечная система плероцеркоида состоит из субтегументальной мускулатуры, мускулатуры паренхимы и мускулатуры протонефридиальных каналов, что полностью соответствует другим представителям отряда. Мышечные клетки накапливают гликоген в отростках цитоплазмы. Эти отростки образуют щелевые контакты с другими клетками.

Фронтальные железы имеют синцитиальное строение и состоят из четырех отделов: 1) перикарионы, которые имеют чрезвычайно развитый синтетический аппарат; 2) резервуары, в которых происходит формирование гранул секрета и их накопление; 3) протоки желез, укрепленные микротрубочками по периферии и выносящие секрет к поверхности тегумента; 4) поры желез в дистальной цитоплазме тегумента, оформленные септированным контактом и одним опорным кольцом, высвобождают секрет по эккриновому типу. Показано, что фронтальные железы и нервная система близко локализованы друг с другом на разных уровнях. Иннервация фронтальных желез плероцеркоида *P. phocarum* происходит непосредственно нейронами латеральных долей и медианной комиссуры. Тесное расположение желез вокруг латеральных долей мозга и мозговой комиссуры приводит к формированию единого нейрожелезистого комплекса. Кроме того, описана ко-локализация пор фронтальных желез с сенсорными органами тегумента.

5.2.2 Строение нервной системы

Нейрожелезистый мозг

Микроскопическая анатомия нервной системы дифиллоботриид преимущественно изучена на стадии плероцеркоида, чаще всего с помощью иммуногистохимических методов на примере плероцеркоида *D. dendriticum* (Gustafsson, Wikgren, 1981; Wikgren, 1986; Gustafsson, 1990; Gustafsson, 1991; Gustafsson, Eriksson, 1991, 1993). Дополнительные ультраструктурные работы посвящены описанию отдельных нейронов и синапсов (Gustafsson, 1984). Несмотря на большое количество публикаций по данной тематике, архитектура мозга *D. dendriticum* остается не ясной и вряд ли может использоваться для сравнительного морфологического анализа внутри Eucestoda.

Существенные отличия в строении мозга у разных представителей семейств дифиллоботриид выявлены в работах по изучению морфологии мозга *L. intestinalis* (Бисерова, Гордеев, 2010). У плероцеркоида этого вида имеется 3 доли в мозге (2 латеральные и одна непарная центральная), а также описана дорзовентральная асимметрия в расположении нейронов.

В нашем исследовании у плероцеркоида *P. phocarum* наиболее заметное скопление нервных элементов находится на переднем конце тела и имеет вид двух больших латеральных нейропилей, ассоциированных с нейронами и их отростками. Правый и левый нейропили соединены многочисленными нервными тяжами, проходящими в медианной плоскости сколекса, которые протянуты на значительное расстояние спереди назад. Кроме того, дорзальные и вентральные корешки, выходящие из нейропилей, формируют дорзальную и вентральную дополнительные комиссуры, так же протянутые на значительное расстояние спереди назад по дну ботрий. На *гистологическом уровне* мы не обнаружили структуру, соответствующую определению «центральная комиссура» мозга. На *ультраструктурном уровне* выявлена тонкая длинная медианная комиссура, которая в центральной зоне распадается на многочисленные нейриты, огибая фронтальные железы. Нейропили латеральных долей дают начало главным латеральным стволам; выходящие корешки – парным сублатеральным, дорзальным и вентральным малым стволам в теле плероцеркоида. Многочисленные нейроны связаны с нейропилями и главными стволами. Сенсорные нейроны расположены в субтегуменальном плексусе.

В строении нервной системы плероцеркоида *P. phocarum*, по сравнению с остальными представителями дифиллоботриид, есть схожие черты и различия. Схожесть в строении проявляется в количестве долей (2 доли), их удлинённой форме, а также их симметричном положении в сколексе (Gustafsson, Wikgren, 1981; Wikgren, 1986; Gustafsson, 1990; Бисерова, Кемаева, 2012; Biserova, Kutyrév 2014; Barčák et al., 2019; Biserova et al., 2020).

К характерным чертам строения можно отнести как значительную протяжённость, так и рыхлое расположение нейритов в медианной комиссуре. Строение и положение церебральной комиссуры в сколексе цестод является одной из важнейших морфологических черт строения нервной системы. Как было показано ранее для многих цестод, медианная комиссура, соединяющая правую и левую доли мозга, присутствует у всех изученных в этом отношении цестод и других групп неодермат (Biserova et al., 2016). Среди дифиллоботриид, наличие медианной комиссуры отмечено для *D. dendriticum* (Gustafsson, Wikgren, 1981; Wikgren, 1986; Gustafsson, 1990; Biserova, Kutyrév, 2014), *D. ditremum* (Бисерова, Кемаева, 2012), *L. intestinalis* (Бисерова, Гордеев, 2010). У *D. latum* были описаны две комиссуры, соединяющие правую и левую доли (Barčák et al., 2019). К сожалению, установить положение комиссуры в мозге *D. latum* не представляется возможным, поскольку в вышеупомянутой работе не представлены фотографии поперечных срезов сколекса. Остается не ясным, имеет ли она медиальное или дистальное положение.

Как было показано в нашем исследовании методами иммуногистохимии и ультраструктурными методами, рыхлое расположение нейритов в комиссуре обусловлено положением выводных протоков фронтальных желез, которые окружают комиссуру. Известно, что на всех стадиях онтогенеза дифиллоботриид в сколексе развиты эккринные фронтальные железы, достигающие максимального развития у плероцеркоидов (Braten, 1968; Andersen, 1975, 1977; Куперман, Davydov, 1982; Куперман, 1988; Бисерова, Кемаева, 2012). У плероцеркоида *P. phocarum* железы очень сильно развиты (Mustafina, 2017; Mustafina, Biserova, 2017), их протоки занимают большой объем в сколексе, как в медианной области, так и в субтегументе. Латеральные доли и нейриты медианной комиссуры буквально окружены железистыми клетками и протоками желез с секреторными гранулами. Это морфологическая особенность плероцеркоида *P. phocarum* определяет прохождение нервных терминалей между протоками и клетками

фронтальных желез, которые получают дополнительные зоны синаптических контактов и стимуляцию от нейронов мозга. Таким образом, иннервация фронтальных желез плероцеркоида *P. phocarum* происходит непосредственно нейронами латеральных долей и медианной комиссуры. Мембраны железистых клеток имеют синаптические контакты непосредственно с нейронами мозга, которые содержат прозрачные пузырьки в пресинаптической цитоплазме. Ранее нейро-железистые синаптические контакты были описаны в мозге плероцеркоидов *D. ditremum* (Бисерова, Кемаева, 2012) и *D. dendriticum* (Kutyrev et al., 2017). Мозг плероцеркоидов дифиллоботриид *P. phocarum*, *D. ditremum*, *D. dendriticum* состоит из комплекса нейронов и секреторных клеток, которые тесно взаимодействуют через синаптические контакты. Мы предлагаем термин «нейро-железистый мозг» для обозначения структур такого типа, характерных для дифиллоботриид.

Цитохимическая и цитоморфологическая организация нервной системы

У дифиллоботриидных цестод цитохимическая и цитоморфологическая организация центральной нервной системы имеет большое сходство. У изученных видов *D. dendriticum*, *D. latum*, *D. ditremum* (Ohman-James 1973; Gustafsson, Wikgren, 1981; Gustafsson, Eriksson, 1991; Gustafsson et al., 1993; Biserova, Kutyrev, 2014; Biserova et al., 2014; Barčák et al., 2019) и представленного в этой работе *P. phocarum*, серотонинергические нейроны имеют более крупные размеры и правильную овальную форму сомы. Число серотонинергических нейронов, выявляемое в мозге и стволах меньше, чем пептидергических. В главных нервных стволах *P. phocarum* серотонинергические нейроны расположены в корковом слое, на дистальной поверхности, в латеральной зоне тела. В целом, это совпадает с положением сом и главных отростков 5-НТ-эргичных нейронов в главных стволах плероцеркоида *D. dendriticum*. У *P. phocarum* серотонинергические нейроны лежат на некотором удалении от нейропиля, тогда как у *D. dendriticum* они лежат на поверхности нейропиля (Biserova, Kutyrev, 2014; Biserova et al., 2014). В сколексе *P. phocarum* мы обнаружили периферические 5-НТ IR нейроны, расположенные на значительном расстоянии от боковых долей, но они связаны с нейропилем главным нейритом (аксоном). Тонкие отростки дендритного дерева такого нейрона прослеживаются в субтегументе ботрии. Мы предполагаем сенсорную функцию этих серотонинергических нейронов. Периферические 5-НТ-IR нейроны были также отмечены в ботриях *D. latum* (Barčák et al., 2019).

FMRFamide-эргические нейроны *P. phocarum* имеют общую морфологическую черту: их отростки имеют вид чёток или бус, и многочисленные варикозы; сомы часто неправильной формы, с 3-4 отростками, без главного нейрита. Цитоморфология пептидэргических нейронов сходна у *P. phocarum* и *D. dendriticum*, однако имеются некоторые отличия в расположении нейронов, более приуроченных к проксимальной и медуллярной зоне тела у *D. dendriticum* (Gustafsson, Wikgren, 1981; Gustafsson et al., 1985; Biserova et al., 2014). Напротив, у *P. phocarum*, FMRFamide-эргические нейроны и отростки богато представлены в кортикальной паренхиме и субтегументе. В то же время, в периферическом плексусе выявлены FMRFamide-эргические нейроны с главным нейритом, направленным в радиальный нерв, связанный с главным стволом. На противоположном конце сомы имеется развитое дендритное дерево. Возможно, эти FMRFamide-эргические нейроны имеют сенсорную функцию, ассоциированную с субтегументальными мышцами.

В медианной комиссуре плероцеркоида *D. dendriticum* были обнаружены нейроны как 5-HT-IR, так и FMRFamide-IR (Gustafsson et al., 1985; Biserova et al., 2014; Biserova, Kuttyrev, 2014). У *P. phocarum* ни серотонинэргические, ни FMRFамид-эргические нейриты не образуют единого пучка церебральной комиссуры. Иммунореактивные нейроны расположены рыхло, ближе к латеральным нейропилям.

В дополнение к вышесказанному, в центральной и периферической нервной системе *P. phocarum* были найдены нейроны с GABA-like IR. Присутствие GABA у ленточных червей давно ставилось под сомнение, но в конце концов оно было обнаружено в нервной системе *Moniezia expansa* (Rudolphi, 1810) (Eriksson et al., 1995), *Caryophyllaeus laticeps* и *D. dendriticum* (Biserova et al., 1998; 2014), *L. intestinalis* и *T. nodulosus* (Бисерова и др., 2007). У *M. expansa* GABA-нейроны присутствуют в нервных сетях, тесно связанных с мускулатурой стенки тела и в продольных нервных стволах. У *D. dendriticum* GABA-эргические нейроны обычно униполярны и имеют более интенсивную иммунную реакцию в нейрите, чем в перикарионе. У *C. laticeps* встречаются два типа GABAэргических нейронов: маленькие нейроны в центральной нервной системе и большие униполярные нейроны в периферической нервной системе, связанные с продольными мышцами. Расположение GABA-нейритов связано с продольными, поперечными и дорсовентральными слоями мышц, включая интенсивно окрашенные

периферические GABA-эргические нейриты в субтегументальной зоне (Biserova et al., 2014). Характер распределения GABA-like реакции в нервной системе плероцеркоида *P. phocarium* схож с таковой у плероцеркоида *D. dendriticum*. GABA-like IR обнаруживается как в центральной, так и в периферической нервной системе плероцеркоидов. Как и у *D. dendriticum*, в главных нервных стволах *P. phocarium* GABA-like-иммунореактивность более интенсивна в нейритах, чем в сомах нейронов. На периферии все слои мышц имеют сопутствующие GABA-нейроны. Важно отметить, что, как и у плероцеркоида *D. dendriticum*, миофибриллы продольных мышц *P. phocarium* совместно иннервируются ГАМК- и FMRFамид-нейритами. Таким образом, у разных представителей сем. Diphyllbothriidea эти нейромедиаторы могут работать как антагонисты в противофазе друг к другу сокращая и расслабляя мышцы. Кроме того, GABA-like молекулы могут действовать как независимый медиатор в периферической нервной системе, где он может участвовать в регуляции работы субтегументальных мышц, а также дорсовентральной и поперечной мускулатуры.

Периферическая нервная система. Упорядоченный α Tub-IR плексус с регулярными кольцевидными и радиальными нервами отличает периферическую нервную систему *P. phocarium* от других изученных дифиллоботриидных цестод. Регулярные периферические нейропили обнаружены в области субтегумента и кортикальной паренхимы *P. phocarium*. Развитие правильного упорядоченного плексуса, скорее всего, связано с развитием мощных слоев продольных и кольцевых мышц стенки тела, а также мощных дорсовентральных и поперечных мышц сколекса *P. phocarium*. Интенсивная иммунореактивность к 5-HT-, FMRFамиде- и α Tub-IR в паренхиме складок ботрий *P. phocarium* вызвана обильной иннервацией мышц, секреторных протоков и присутствием многочисленных сенсорных нейронов. Плотный плексус дна ботрий имеет некоторое сходство с дополнительными дорсальными и вентральными комиссурами. Похожая картина в паренхиме дна ботрии обнаружена у *D. dendriticum* в отношении активности холинэстеразы (Котикова, Куперман, 1978); однако иммунореакция 5-HT или FMRFамида не была выражена (Бисерова, Кутырев, 2014). Для обоих видов характерна интенсивная иммунореактивность к α Tub-IR в центральной части сколекса и в ботрии, что связано с наличием укрепленных периферическими микротрубочками протоков фронтальных желез в этой области. Кроме того, интенсивная иммунореактивность к α Tub-IR в секреторных протоках фронтальных

желез *P. phocarum* сочетается с FMRFamide-IR. Впервые показано, что расширенные терминалы секреторных протоков желез имеют на своей поверхности множество нервных окончаний, иммунореактивных к FMRFamide, что свидетельствует об участии FMRFamide-эргических нейронов мозга в регуляции секреции фронтальных желез.

Ультраструктура нервной системы

Нервная система была исследована ультраструктурными методами у нескольких видов дифиллоботриид, например, у *D. dendriticum*, *D. ditremum*, *D. latum*, *Spirometra mansoni* (Mueller, 1938), *L. intestinalis*. Ультраструктурная организация нервной системы плероцеркоида *P. phocarum* показала высокое сходство со строением нервной системы плероцеркоидов *D. dendriticum* (Gustafsson, Wikgren 1981; Wikgren, 1986; Kutyrav et al., 2017), а также были выявлены некоторые черты сходства с представителями отрядов Bothriosephalidea, Trypanorhyncha, and Cyclophyllidea (Webb, Davey 1975; Fairweather, Threadgold, 1983; Biserova et al., 1996; Бисерова, 1997; Biserova et al., 2020). Как и у большинства видов, темные, светлые и нейросекреторные нейроны располагаются в мозге и главных стволах. Медианная комиссура *P. phocarum* содержит нейроны, сходные по своим ультраструктурным характеристикам с гигантскими нейронами комиссуры у *L. intestinalis* (Бисерова, Гордеев, 2010) и *D. ditremum* (Бисерова, Кемаева, 2012). *Гигантские нейроны медианной комиссуры* отличаются очень большими ядрами (более 6 микрон у всех трех видов), глубокими впячиваниями внешней мембраны, пенистой цитоплазмой и небольшими электронно-плотными везикулами. Этот тип нейронов не обнаружен ни в медианной комиссуре *T. nodulosus* (Bothriosephalidea) (Biserova et al., 1996), ни у Trypanorhyncha (Biserova et al, 2020). Обнаружение этого типа нейронов у *P. phocarum*, в дополнение к ранее описанному у двух других видов дифиллоботриидных плероцеркоидов, позволяет предположить гомологию гигантских нейронов комиссуры среди Diphyllbothriidea.

Нервная система плероцеркоида *P. phocarum* характеризуется рыхлым расположением нейронов и небольшим диаметром нейритов как в нейропиях, так и в главных нервных стволах и периферических нервах. Мы не обнаружили структур, ограничивающих доли мозга от паренхимы или специализированных оболочек вокруг нейропилей. Отростки клеток экскреторного эпителия проникают между нейронами, но не образуют специализированных оболочек, как это было

обнаружено в мозге и стволах у *T. nodulosus* (Bothriocephalidea) (Biserova et al., 1996). У плероцеркоидов и взрослых *T. nodulosus* клетки эпителия экскреторных сосудов могут выполнять глиальную функцию и формировать особые оболочки церебрального ганглия и медианной комиссуры (Бисерова, Сальникова, 2002). У *T. nodulosus* изоляция отделов центральной нервной системы от окружающих клеток начинается на ранних стадиях онтогенеза. На стадии процеркоида оболочки сформированы не полностью; однако на стадии плероцеркоида специализированная оболочка полностью развита; она образована отростками экскреторного эпителия и внутриклеточным фибриллярным матриксом (Бисерова, Корнева, 2006). У плероцеркоида *L. intestinalis* (Diphyllbothriidea) глиеподобные клетки были обнаружены в главных стволах, что подтверждено иммуноцитохимическими данными (Бисерова, 2008). Оболочки, отделяющие нейроны от паренхимы, хорошо развиты у трипаноринх: несколько типов глиальных клеток обнаружены в мозге, нервах и медианной комиссуре (Бисерова, 2008; Бисерова и др., 2010; Biserova et al., 2020). Однако глиеподобные клетки пока не обнаружены в нервной системе плероцеркоида *P. phocarum*.

Таким образом, ультраструктура нейронов у дифиллоботриид имеет высокую степень сходства. Гигантские нейроны медиальной комиссуры, вероятно, гомологичны в пределах отряда Diphyllbothriidea.

Ультраструктура сенсорных органов

Сенсорные органы изучены с помощью трансмиссионной электронной микроскопии для нескольких видов дифиллоботриид. Сенсорные папиллы описаны в тегументе взрослой особи *Spirometra mansoni* (Okino, Hatsushika, 1994). Было описано два типа сенсорных безресничных рецепторов. Рецептор 1 типа с расширенной терминальной частью имеет два электронно-плотных кольца и четыре корешка, окруженных многочисленными тонкими филаментами. Рецептор 2 типа агрегируется в группы по несколько штук, апикальный конец рецептора контактирует с внешней средой. Это простой, похожий на булаву сенсорный рецептор содержит электронно-светлые везикулы и микротрубочки (Okino, Hatsushika, 1994). У плероцеркоида *D. dendriticum* (Kutyrev et al., 2017) описано 2 типа ресничных и 2 типа безресничных рецепторов. Авторы предполагают, что эти рецепторы обслуживают секретирующие простагландины фронтальные железы, поскольку у дифиллоботриид описана ко-локализация сенсорных органов

с терминальными порами желез (Kutyrev et al., 2017). В тегументе сколекса плероцеркоидов *D. latum* был обнаружен безресничный рецептор (Barčák et al., 2019), у *D. ditremum* – и ресничные и безресничные рецепторы (Бисерова, Кемаева, 2012), также ко-локализованные с порами фронтальных желез.

В тегументе плероцеркоида *L. intestinalis* обнаружено три типа сенсорных органов: один тип ресничных рецепторов и два типа безресничных рецепторов (Бисерова, Гордеев, 2010). У плероцеркоида *P. phocarum* обнаружено 4 типа рецепторов. Безресничный рецептор 3-го типа предположительно выполняет механо-тактильную функцию и соответствует свободному нервному окончанию 6-го типа в ранней публикации (Mustafina, Biserova, 2017). Ресничный рецептор 2-го типа с короткой ресничкой у *P. phocarum* имеет ту же структуру, что и рецептор 4-го типа у *D. dendriticum* (Kutyrev et al., 2017), рецептор 1-го типа у *L. intestinalis* (Бисерова, Гордеев, 2010), рецептор типа 1 у плероцеркоида *T. nodulosus* (Бисерова, Корнева, 1999) и ресничный рецептор у взрослой особи *Hymenolepis nana* (Fairweather, Threadgold, 1983). Характерными чертами этих рецепторов являются короткая ресничка, одно опорное кольцо в цитоплазме под септированным контактом, прозрачные везикулы. Кинетосома имеется, корешки в основном редуцированы. Предположительно, этот тип нервных окончаний относится к хеморецепторам (Vinnikov, 1982).

Ресничные окончания с длинной ресничкой, двумя опорными кольцами, кинетосомой и корешком (тип 1 у *P. phocarum*) встречаются у всех изученных в этом отношении цестод. Однако нельзя говорить о единообразии строения и функции этих рецепторов; у каждого вида есть некоторые различия в строении везикул, наличии митохондрий, степени развития корешка, форме реснички и т. д. Fairweather и Threadgold (1983) описали сенсорные органы взрослых особей *H. nana* с такой же ультраструктурой, что и у плероцеркоида *P. phocarum* (свободные окончания, тип 5). Также аналогичные свободные окончания были обнаружены в тегументе других цестод, но клеточные источники этих свободных окончаний пока не обнаружены.

Специфическим для распределения рецепторов на сколексе является совместная локализация с терминалями эккринных желез в тегументе. Такая совместная локализация была обнаружена у *P. phocarum*, *D. dendriticum*, *D. latum*, *D. ditremum* (Бисерова, Кемаева, 2012; Мустафина, Бисерова, 2017; Kutyrev et al., 2017; Barčák et al., 2019). Такие комплексы могут быть похожи по функциям на головные

сенсиллы моногеней, регулирующих высвобождение секрета на переднем конце тела (Lyons, 1972). Аппарат фронтальных желез у *Diphyllobothriidea* сильно развит. Выделение секреторных продуктов в хозяина регулируется нервной системой и коррелирует с сенсорным входом и иммуномодулирующим ответом плероцеркоида (Kutyrev et al., 2021; Biserova et al., 2022).

Краткое заключение. Впервые для плероцеркоида *P. phocarum* описана общая архитектура нервной системы, состоящая из пары латеральных долей мозга в сколексе, которые соединены рыхлой медианной комиссурой с многочисленными нервными тяжами, а также дорзальными и вентральными комиссурами. Имеются главные латеральные стволы, сублатеральные, дорзальные и вентральные малые стволы. В субтегументе расположены отдельные сомы сенсорных нейронов.

Показано, что центральная нервная система плероцеркоида *P. phocarum* отличается низкой концентрацией нервных элементов: нейроны лежат на некотором расстоянии от нейропилей, медианная комиссура тонкая и слабо концентрированная, прерывается продольными и дорзо-вентральными мышечными волокнами, протоками и резервуарами фронтальных желез.

Отмечена ко-локализация элементов нервной системы с элементами фронтальных желез, что характерно для всех изученных *Diphyllobothriidae*. Периферические сенсорные органы формируют структурный комплекс с порами фронтальных желез, нейроны латеральных долей и медианной комиссуры иннервируют фронтальные железы. Такое тесное расположение желез вокруг мозга и медианной комиссуры приводит к формированию единого нейрожелезистого комплекса.

Впервые для вида изучена цитохимическая и ультраструктурная организация нервной системы плероцеркоида. В центральной и периферической нервной системе выявлены многочисленные α -tub-IR нейроны, а также серотонин- и GABA, FMRFamide эргические нейроны.

В мозге обнаружено несколько ультраструктурных типов нейронов, включая светлые, темные и секреторные нейроны, а также гигантские нейроны медианной комиссуры. Сенсорный аппарат плероцеркоида *P. phocarum* представлен 4мя типами ресничных и безресничных сенсорных органов в тегументе. В складках ботрий обнаружены ресничные и безресничные рецепторы, ко-локализованные с терминальными порами фронтальных желез, что подтверждает нервную

регуляцию желез эккринного типа у дифиллоботриид. Рецепторы расположены преимущественно на сколексе, реже на теле, однако один тип безресничного рецептора был обнаружен в тегументе резервуара терминальной поры.

5.2.3 Анализ строения протонефридиальной системы

5.2.3.1 Применяемая терминология

В литературе (Табл. 1) имеется широкий разброс терминологии, применяемой в литературе как на русском языке, так и на английском. Наибольший разброс отмечен для терминов, используемых для описания структур верши, канальной системы и терминальных отделов выделительной системы – мочевого пузыря и терминальной поры.

Разброс в описании структур верши наследуется из различных описаний, сделанных для неодермат и “турбеллярий” в целом. Несмотря на это, термины, используемые для описания цестод в целом синонимичны.

Различия в описании канальной системы наиболее болезненны для сравнительного анализа, особенно в свете того, что большинство работ, сделанных с их применением, проведено лишь на гистологическом уровне, поэтому проверить и соотнести структуры самостоятельно по литературным источникам не представляется возможным.

Различия в описании каудальных отделов выделительной системы – мочевого пузыря и терминальной поры – вероятно связаны с неполнотой данных и различиями в интерпретации результатов.

Таким образом, для качественного сравнительного анализа выделительной системы цестод в будущем необходима ревизия терминологии. Наша попытка унифицировать терминологию в области протонефридиальной системы цестод представлена в Таблице 4.

5.2.3.2 Анализ строения протонефридиальной системы *P. phocarum*

Циртоцит, или ресничная пламенная клетка, это начальное звено протонефридиальной выделительной системы цестод. Проведенный анализ данных литературы показал, что циртоциты имеют общий план строения внутри разных групп неодермат (Wilson, Webster, 1974; Rohde, 1990; Xylander, 2001; Poddubnaya et al., 2020; Biserova et al., 2021), однако на ультраструктурном уровне они обладают высокой степенью пластичности.

Наши исследования показали, что циртоциты плероцеркоида *P. phocarum* имеют один пучок ресничек, так же как у других дифиллоботриид *D. dendriticum* (Lindroos, 1983; Kuttyrev et al., 2017), *D. latum* (Barcak et al., 2019) и Pseudophyllidea sensu lato (Куперман, 1988). Единичные ресничные комплексы описаны у представителей Bothrioccephallidea (Korneva et al., 1998), Tetracyllidea (McCullough, Faiweather, 1991); Litobothriidea (Gallagher et al., 2017) и Cyclophyllidea (Howells, 1969; Coil, 1991; Valverde-Islas et al., 2011; Rozario, Newmark, 2015). У представителей базальных групп цестод встречаются циртоциты с несколькими ресничными комплексами. Так, у *Khawia armeniaca* (Cholodkovsky, 1915) (Caryophyllidea) описаны циртоциты с 4-мя ресничными комплексами (Поддубная, 2003). Наши исследования ультраструктуры циртоцита *Caryophylleus laticeps* не выявили подобных комплексов в каудальном отделе тела. Обнаруженный нами циртоцит обладал одним ресничным пламенем. У взрослых *Amphilina foliacea* (Rudolphi, 1819) описаны обычные циртоциты с одним ресничным комплексом (Хуландер, 1992), а также звездоподобные циртоциты, которые имеют до 6 ресничных комплексов на одну клетку (Poddubnaya et al., 2020). Существенные отличия в строении циртоцитов разных таксонов цестод касаются также набора органелл в коме, строении корешковой системы, количества и длины ресничек, наличия или отсутствия внешних, или внутренних лептотрихий (McCullough, Faiweather, 1991; Хуландер, 1992; Поспехова и др., 1993; Поддубная, 2003; Poddubnaya et al., 2020). Так, у *C. laticeps* наблюдали 130 ресничек, у *S. solidus* около 75, у *N. surmenicola* 60-80, *P. phocarum* 70-90 ресничек в пламени. Эти различия, вероятно, отражают функциональное состояние протонефридиев, о чем более подробно написано ниже. Циртоциты некоторых циклофиллид располагаются группами (Поспехова и др., 1993). У плероцеркоида *P. phocarum* циртоциты располагаются одиночно, каждая клетка формирует одну вершу с одним ресничным пламенем, все реснички которого потенциально подвижны. В разных отделах тела *P. phocarum* отличий в ультраструктуре циртоцитов не обнаружено. Наличие циртоцитов с несколькими ресничными комплексами интерпретируются некоторыми авторами как тенденция к полимеризации органов (Поддубная, 2003). В то же время, учитывая способность ленточных червей к постоянному росту и увеличению линейных размеров, характерную как для личинок, так и для взрослых червей, следует иметь в виду существующие механизмы удвоения базальных телец и аксонем ресничных клеток, что может привести к формированию новых ресничных комплексов и их

дальнейшего отделения. Мы предполагаем, что наблюдаемые мультресничные комплексы могут отражать процесс деления циртоцитов в период роста цестод. Характер соединения циртоцита с клеткой канала является главным предметом дискуссии в строении и функционировании протонефридия ленточных червей. Для *M. expansa* (Cyclophyllidea) показано, что микроворсинки верши соединяются между собой десмосомами, хотя иногда микроворсинки верши остаются несомкнутыми (Howells, 1969). В таком случае полость верши сообщается с межклеточным пространством. Септированные контакты также были описаны у гирокотилид (Poddubnaya et al., 2020) и циклофиллид (Поспехова и др., 1993). В отличие от них, у плероцеркоида *P. phocarum* не обнаружено септированных контактов и десмосом в верше. Межклеточное соединение микроворсинок верши осуществляется за счет фибриллярных компонентов поверхностного слоя на мембране по принципу zip-соединения (Biserova et al., 2021). Эти фибриллы формируют между микроворсинками так называемую *zonula adherents*. *Zonula adherents* описана между ресничной клеткой и каналом у *Trilocularia acanthiaevulgaris* (Olsson, 1867) (McCullough, Faiweather, 1991) и у *Gyrocotyle urna* (Grube & Wagener, 1852) (Poddubnaya et al., 2020). Наши данные подтверждают идею самостоятельности циртоцитов и двухклеточности протонефридиального комплекса, в отличие от синцитиальной гипотезы Купермана (1988). Самостоятельность циртоцитов косвенно подтверждается выявлением серотонина только в терминальной клетке и их отсутствием в стенке канальца.

Функциональное значение протонефридия. Литературных данных о механизме функционирования циртоцитов у цестод немного. Согласно Valverde-Islas с соавторами (Valverde-Islas et al., 2011), которые исследовали личинок *Taenia solium*, транспорт жидкости в выделительный канал происходит непосредственно через цитоплазму циртоцитов. Авторы предполагают, что экскреторные везикулы высвобождаются из циртоцита в пространство между базальными телами ресничек. При исследовании циртоцитов *P. phocarum* мы не наблюдали экзоцитоз везикул в полость верши ни с поверхности лептотрихий, ни с поверхности венчика микроворсинок. Экзоцитоз в основании ресничек физически маловероятен, т.к. пучок аксонем имеет очень плотную компоновку, между ними нет пространства свободной мембраны. Поэтому, механизм работы циртоцита, описанной в данной работе представляется нам противоречивым, а описанный путь транспорта кажется маловероятным. Так же необходимо учитывать активное биение ресничек,

находящихся внутри верши. Участие серотонина в работе циротоцитов, показанное в данной работе, вместе с актиновым кольцом, окружающим вершу предполагает наличие другого механизма. Согласно нашей гипотезе, ресничные клетки, свободно лежащие в межклеточном пространстве паренхимы *P. phocarum*, фильтруют межклеточную жидкость через сито филаментов гликокаликса *zonula adherens*, толщиной 22 нм, покрывающего пальцевидные микроворсинки верши (Бисерова и др., 2021). Такой механизм функционирования согласуется с ранее выдвинутым предположением (Wilson, Webster, 1974; Ruppert, Smith, 1988) об ультрафильтрации межклеточной жидкости через вершу с отделением воды и низкомолекулярных соединений от макро-соединений. Такой механизм ультрафильтрации предполагает, что полость верши должна быть полностью изолирована от межклеточного вещества, что достигается замыканием по принципу zip-соединения противостоящих мембран микроворсинок.

Кольцо полимеризованного актина, выявленное на конфокальном уровне при окраске Phalloidin-TRIC, совпадает с положением микроворсинок верши. Вместе с обнаруженными на ультраструктурном уровне филаментами в микроворсинках верши и в стенке протонефридиальной воронки канальцев, эти факты, вероятно, говорят о том, что филаменты выполняют опорную функцию. По-видимому, актиновые филаменты помогают поддерживать диаметр протонефридиальной воронки постоянным, при активном биении ресничек ресничного пламени. Очевидно, постоянный объем верши и канала воронки необходим для поддержания постоянного отрицательного давления жидкости, создаваемого биением ресничек. Кольцо полимеризованного актина в протонефридии также было описано у *D. dendriticum* (Wahlberg, 1998; Kutyrev et al., 2017) и *T. solium* (Valverde-Islas et al., 2011). Впервые выявленная иммунореактивность ресничных клеток к серотонину (5-НТ) в области кинетосом ресничек и верши, вероятно, связана с ролью серотонина в обеспечении движения ресничек пламени. Кроме того, в циротоцитах *D. dendriticum* была показана иммунореактивность к простагландинам (Kutyrev et al., 2017), возможному иммуномодулятору иммунитета хозяина. С другой стороны, мы предполагаем, что простагландины в циротоцитах могут выполнять роль вазодилататора, способствуя увеличению просвета тонких каналов 1-го порядка.

Архитектура каналов. Плану строения или архитектуре каналов выделительной системы придаётся большое значение при филогенетических построениях внутри

класса цестод, как одному из морфологических коррелятов определения родственных связей между крупными таксонами (Rohde, 1990; Хуландер, 2001).

В базальных группах цестод нет единого плана в архитектуре крупных каналов. У амфилинид канальная система имеет одинаковое строение во всем теле. Главных каналов не выделяют, но в разных родах имеется как сетевая (*A. foliacea*), так и продольная ориентация канальной системы (*Schizochoerus liguloideus* (Diesing, 1850)); а у представителя *Gephyrolina paragonopora* (Woodland, 1923) обнаружены два латеральных канала, соединенных поперечными каналами (Дубинина, 1982; Хуландер, 1992). У гирокотилид (*G. urna*) главных магистральных каналов также нет, однако их канальная система дифференцирована на два типа по положению и по ультраструктуре. Поверхностная (периферическая) сеть каналов отличается дистальным, поверхностным расположением и наличием ресничек в эпителии стенки (Хуландер, 1992; Poddubnaya et al., 2020). Более глубокая сеть каналов (проксимальная) характеризуется наличием циртоцитов и ламеллами на внутренней поверхности эпителия каналов. Таким образом, канальная система гирокотилид существенно отличается от амфилинид и эуцестод, у которых отсутствует ресничный эпителий на всех стадиях развития.

Среди эуцестод, наиболее простой тип канальной части выделительной системы, по мнению Coil (1991), имеется у циклофиллид. У взрослой *M. expansa* описаны продольные, поперечные, первичные собирательные каналы, тонкие терминальные каналы (Howells, 1969). Данных о строении каналов выделительной системы личиночных стадий циклофиллид мало. У *Cysticercus taeniae-taeniaeformis* (Bastch, 1786) (личинки *Cysticercus fasciolaris* (Rudolphi, 1808)) (Вагон, 1968) описаны дорсальные и вентральные экскреторные каналы и поперечные каналы в теле (Rees, 1951). В сколексе продольные каналы соединяются между собой, формируя сложную сеть. Ближе к заднему концу тела продольные дорсальные и вентральные каналы ветвятся и тоже формируют сеть. На примере личинок *H. diminuta* было установлено, что поперечные анастомозы соединяют только вентральные продольные каналы, с которыми связана сеть тонких терминальных трубочек, каждая из которых заканчивается пламенной клеткой (Rozario, Newmark, 2015).

Парные вентральные и дорсальные каналы были обнаружены в разных отрядах эуцестод, таких как Trypanorhyncha (Rees, 1988), Tetrphyllidea (Rees, 1953; McCullough, Fairweather, 1991) и Litobothriidea (Gallagher et al., 2017). Они разветвляются в сколексе на сеть более мелких каналов, степень развития которой

связана с развитием прикрепительных органов в конкретном отряде. Связь вентральных и дорзальных каналов в сколексе может осуществляться как поперечными, так и дорзовентральными анастомозами.

У дифиллоботриид на примере *D. dendriticum* на макроуровне выделяют три компартмента канальной системы: периферическая сеть каналов, капиллярная сеть в сколексе и главные выделительные каналы, соединяющиеся с мочевым пузырем (Lindroos, Gardberg, 1982). Канальная система плероцеркоида *P. phocarum* имеет сходную архитектуру и в целом типична для дифиллоботриид. Таким образом, каналы выделительной системы дифиллоботриид более дифференцированы, по отношению к базальным группам цестод (амфилинидам и гирокотилидам); у дифиллоботриид имеется как ретикулярная периферическая сеть каналов, так и обособленные магистральные главные выделительные каналы.

Терминальные отделы выделительной системы: мочевой пузырь, нефропор и экскреторная пора. В литературе используют различные термины для обозначения терминальных отделов выделительной системы: нефропоры (Бисерова и др., 2021) или нефридиопоры (Хуландер, 1992; Корнева et al., 1998), а также экскреторные поры и мочевые пузыри (Lindroos, Gardberg, 1982, 1983; Бисерова и др., 2021). Понимание этих терминов в разных работах различное. У цестод мочевым пузырем называют разные структуры. Так, у процеркоидов *D. latum*, *D. dendriticum*, *Diphyllobothrium osmeri* (Malmberg, 1972) мочевым пузырем обозначена складка\инвагинация тегумента на заднем конце тела. У процеркоидов *T. nodulosus* мочевым пузырем обозначено мешковидное расширение каналов выделительной системы, выстланное экскреторным эпителием (Корнева et al., 1998). Термин «нефропор», или «нефридиопор» также неоднозначен. К примеру, Хуландер (1992) описывает нефропоры как отверстия на поверхности тела, а экскреторные поры считает их синонимом. В то время как Lindroos и Gardberg (1982) в своих описаниях ограничивается лишь понятием экскреторная пора, и, в данном случае, имеется ввиду отверстие на поверхности тела. У корацидия нефропор – это канал, образованный специальной клеткой, у процеркоида – это отверстие на поверхности тела около церкомера (Корнева et al., 1998). Показана мультинефропоральность для нескольких представителей дифиллоботриид (*D. latum*, *D. dendriticum*, *D. osmeri*) методом световой микроскопии (Malmberg, 1971).

В нашей работе мы показываем, что терминальные отделы выделительной системы устроены сложнее, чем это считалось изначально. Мы определяем мочевой пузырь как мешковидное расширение на заднем конце тела, образованное экскреторным эпителием (Мустафина, 2021). А нефропор, или нефридиопор, как место контакта экскреторного эпителия и тегумента экскреторной поры. Терминальная экскреторная пора – это терминальное отверстие на заднем конце тела, сформированное инвагинацией тегумента. Мочевой пузырь и нефропоры открываются в резервуар терминальной поры в случае *P. phocarum*.

Количество и положение экскреторных пор разное в разных группах цестод. Например, у гирокотилид на примере *G. urna* имеется пара экскреторных пор, которые выходят на поверхность тегумента близ переднего конца тела (Malhmborg, 1974; Xylander, 1992). У амфилинид (*A. foliacea*) имеется лишь одна экскреторная пора на заднем конце тела. У *D. dendriticum* пора также одна на заднем конце тела (Lindroos, Gardberg, 1982). У *Cysticercus taeniae-taeniaeformis* (Bastch, 1786) (личинки *Cysticercus fasciolaris* (Rudolphi, 1808)) (Baron, 1968), изученном на гистологическом уровне (Rees, 1951) имеется множество, нерегулярно расположенных экскреторных пор на поверхности тела заднего конца личинки.

Данных о строении, положении и количестве нефропор (как мест контакта экскреторного эпителия и тегумента) в литературе мало. У процеркоида *T. nodulosus* после завершения формирования вторичной экскреторной системы описан лишь один единственный нефропор близ церкомера (Korneva, 1998). В работах Malmber (1971), проведенных на процеркоидах *D. dendriticum*, *D. latum*, *D. osmeri*, показано, что к моменту завершения формирования вторичной экскреторной системы имеется несколько каналов, которые сообщаются с латеральной и медиальной поверхностями тела. Мочевой пузырь на стадии процеркоида еще не сформирован, он формируется на стадии плероцеркоида (Lindroos, Gardberg, 1982). Если такой же механизм формирования вторичной экскреторной системы имеет место и у *P. phocarum*, то, мы полагаем, что в период быстрого роста плероцеркоида нефропоры, располагавшиеся изначально на поверхности тела, были инвагинированы внутрь вместе с тегументом. В результате мог быть образован резервуар экскреторной поры с многочисленными нефропорами на своей поверхности. Гипотеза об инвагинации покровов тела с образованием резервуара экскреторной поры поддерживается и другими авторами (Malmberg, 1972).

Ультраструктура каналов. Эпителий протонефридиальной воронки, периферических и центральных выделительных каналов плероцеркоида *P. phocarum* является единым синцитием; клеточных контактов внутри системы каналов мы не обнаружили. Ранее было показано, что в онтогенезе *T. nodulosus* эпителий каналов процеркоида образуется из отдельных недифференцированных клеток с клеточными контактами путём последующего слияния и формирования синцитиального слоя эпителия каналов (Korneva et al., 1998). Вопрос о наличии клеточных контактов в эпителии каналов плероцеркоидов и взрослых цестод остается дискуссионным. У амфилинид (Xylander, 1992), тетрафиллид (McCullough, Fairweather, 1991), ботриоцефаллид (Куперман, 1988; Корнева, 2007; Korneva, 2013) имеется синцитиальная выстилка каналов с погруженными под базальную мембрану цитонами. У взрослых особей циклофиллидных цестод, по-видимому, эпителий синцитиальный, но одни авторы описывают межклеточные контакты между каналами разных порядков (Поспехова и др., 1993), а другие наоборот – описывают их отсутствие (Kabbany, 2009). У плероцеркоидов дифиллоботриид на примере *D. dendriticum*, эпителий каналов представляет собой синцитий, хотя некоторые авторы описывают десмосомы в стенке каналов, в местах слияния мелких каналов с более крупными; этот факт может быть связан с ростом тела личинки (Lindroos, 1983). Такие различия в строении экскреторного эпителия на разных стадиях развития, по-видимому, говорят о том, что, возможно, эти характеристики показывают высокий уровень тканевой пластичности цестод (Корнева, 2007).

Цитоплазма экскреторного эпителия плероцеркоида *P. phocarum* стратифицирована по вертикали. Более того, характер вертикальной стратификации цитоплазмы у плероцеркоида *P. phocarum* изменяется от протонефридиальной воронки к нефропоры. Кроме того, вместе с вертикальной стратификацией цитоплазмы изменяется содержимое просвета каналов и плотность расположения шаровидных микроворсинок. Микроворсинки имеются по всей длине экскреторного эпителия, однако они наиболее многочисленны в каналах 2-го порядка передней части тела. В нашем исследовании показана высокая секреторная активность эпителия: в просветах каудальных отделов канальной системы свободно лежат отшнуровавшиеся вакуоли. Также изменяется глубина погружения перикарионов в паренхиму; наиболее удалены цитоны центральных

продольных каналов, что связано с развитием многослойной мышечной обкладки каналов.

По литературным данным эпителий каналов выделительной системы может выполнять экскреторную функцию (Webster, Wilson, 1970 на примере *H. diminuta*) на основании того факта, что содержимое каналов имеет высокую концентрацию молочной кислоты. Согласно тем же авторам, экскреторная система потеряла способность к осморегуляции, поскольку не было найдено доказательств содержания гипоосмотрической жидкости в системе. Авторы предполагают, что это связано с тем, что организм находится внутри хозяина с осмотически постоянной окружающей средой. Осморегуляторная функция может осуществляться тегументом (Виноградов и др., 1982). Гипотезы о распределительной роли (Lindroos, Gardberg, 1982; Куперман, 1988) или дренажной функции (Поспехова и др., 1993) экскреторного эпителия также выдвигались различными авторами. Кроме того, были обнаружены ультраструктурные свидетельства активного транспорта в экскреторных каналах: у *S. erinacei* были описаны пиноцитозные пузырьки в стенках каналов. Авторы предполагают, что за счет своей секреторной и реабсорбционной активности, экскреторная система может адаптироваться к условиям окружающей среды и участвует в сохранении и регуляции количества жидкости в теле (Yamane et al., 1978).

На основании наших ультраструктурных данных мы предполагаем, что экскреторный эпителий может сочетать несколько различных функций, описанных выше. Вероятно, они сменяют друг друга по ходу продвижения жидкости от протонефридия к мочевому пузырю. В пользу такого предположения говорят исследования, показывающие реактивность различных отделов экскреторной системе к веществам. Например, собирающие канальцы *Raillietina cest icillus* (Molin, 1858) показывают интенсивную реакцию к щелочной фосфатазе и АТФазе (Parshad, Guraya, 1977). Также показано всасывание глюкозы и транспорт лактата и мочевой кислоты в различных отделах экскреторной системы (Webster, 1972). Сменяемость функций по ходу движения жидкости в каналах, связанная со строением стенки этих каналов, показана для других типов животных, в первую очередь позвоночных животных (Гамбарян, 1985; Ojeda et al., 2013).

Кроме того, должна быть рассмотрена роль канальной системы в качестве циркуляторной системы (Куперман, 1988). Нами установлено, что пара главных

продольных каналов плероцеркоида *P. phocarum* обладает хорошо развитой мышечной стенкой. Таким образом, главные каналы *P. phocarum* играют роль магистральных распределительных путей, которые создают направленный ток к мочевому пузырю. Кроме того, у плероцеркоида *P. phocarum* имеется мышечная обкладка, образованная субтегументальной мускулатурой в области терминальной экскреторной поры. Просвет терминальной поры сокращается и изливает содержимое за счет сокращений субтегументальной мускулатуры. Подобное строение стенок главных экскреторных каналов описано у плероцеркоидов *D. dendriticum*, у которых также имеется мощная мускулатура центральных каналов и незначительно развитая мускулатура стенки периферических каналов (Wahlberg, 1998; Biserova et al., 2014).

В ходе исследования было обнаружено свободное нервное окончание в виде безресничного рецептора в тегументе терминальной поры плероцеркоида *P. phocarum*. Похожие структуры были обнаружены в тегументе сколекса (Mustafina, Biserova, 2017; Biserova et al., 2022 in press), которые могут функционировать как механо-тактильные сенсорные органы, чувствительные к растяжению тегумента. Мускулатура главных каналов, по-видимому, регулируется непосредственно центральной нервной системой. Например, в стенке главных каналов *D. dendriticum* (Biserova et al., 2014; Biserova, Kutyrev, 2014) была обнаружена иммунорективность к нейромедиатору GABA. Мускулатура главных экскреторных каналов плероцеркоида *P. phocarum* иннервируется нейритами главных нервных стволов. Тесное взаимодействие главных каналов с нервной системой и мозгом было обнаружено у многих цестод (Rees, Williams, 1965; Rees, 1966; 1988; Бисерова, 1997; Бисерова, Сальникова, 2002; Бисерова, Гордеев, 2010; Бисерова, Корнева, 2012). Более того, базальные отростки экскреторного эпителия часто окружают нервные клетки, участвуя в метаболизме нервной системы и выполняя роль глиоподобных структур в нервной системе некоторых цестод (Biserova et al., 2010).

Таким образом, выделительная система плероцеркоида *P. phocarum* на цитологическом уровне состоит из двух типов структур. Она включает циртоциты (пламенные клетки) и синцититальный экскреторный эпителий. Экскреторная система изолирована от других клеток слоем рыхлого внеклеточного матрикса. Фильтрация происходит в протонефридиальном двухклеточном комплексе, в который входят циртоцит и протонефридиальная воронка. Они отделены друг от

друга внеклеточными филаментами, формирующими так называемую *zonula adherens*. Ультрафильтрат продвигается по системе каналов различного диаметра и порядка в мочевой пузырь, которые открываются посредством нефропора в резервуар терминальной экскреторной поры на заднем конце тела. Жидкость покидает резервуар через терминальную пору и попадает во внешнюю среду – в хозяина. Отличительной чертой выделительной системы плероцеркоида *P. phocarum* является наличие независимых нефропор у каналов 2-го порядка. Все нефропоры отделены кольцевым септированным контактом от тегумента. Близкое расположение выделительной и нервной систем прослежено во всех частях тела. Поперечные анастомозы и главные экскреторные каналы проходят сквозь латеральные доли мозга и подстилают медианную комиссуру в сколексе. Главные нервные стволы ко-локализованы с главными выделительными каналами. Отростки нейронов стволов иннервируют мышечную обкладку главных каналов. Обнаружены сенсорные органы в виде безресничных рецепторов в стенке терминальной поры. Протонефридиальная система плероцеркоида *P. phocarum* может совмещать в себе несколько функций, таких как реабсорбционная, циркуляторная, секреторная и экскреционная.

5.2.3.3 Сравнительный анализ протонефридиальной системы плероцеркоидов *Pyramicocephalus phocarum*, *Schistocephalus solidus*, *Nybelinia surmenicola* и взрослой особи *Caryophyllaeus laticeps*

Архитектура экскреторной системы. Морфологическое сравнение архитектуры выделительной системы заднего конца двух видов – *P. phocarum* и *C. laticeps* – показало следующие результаты. Общий план строения канальной системы имеет определенное сходство (рис. 28 В, Г). У обоих видов имеется периферическая субтегументальная сеть анастомозирующих каналов, и продольные центральные каналы, впадающие в мочевой пузырь. Мочевой пузырь у обоих видов изливается в резервуар экскреторной поры на заднем конце тела.

Однако в ходе изучения архитектуры протонефридиальной системы мы обнаружили несколько различий. Во-первых, каналы в центральной паренхиме у *C. laticeps* не ориентированы во фронтальной плоскости, как у *P. phocarum*, а располагаются по кругу, постепенно расходясь по более широкому радиусу. Во-вторых, у *P. phocarum* периферические каналы открываются в резервуар

эксcretорной поры посредством нефропоров, тогда как у *C. laticeps* периферические каналы впадают в мочевой пузырь.

У *P. phocarum* имеется лишь одна пара главных каналов в центральной паренхиме. Для кариофиллид же, по литературным данным, характерно наличие пары восходящих каналов в сколексе, которые связаны с многочисленными нисходящими каналами (Mackiewicz, McCrae, 1965). Восходящих каналов может быть больше, например, 4 (Mackiewicz, McCrae, 1962). Впрочем, остается не ясным каким образом устанавливалось направление каналов.

К сожалению, провести корректное сравнение архитектуры протонефридиальной системы в передней и средней части тела двух видов сложно, из-за недостатка данных. Необходимы дополнительные ультраструктурные исследования взрослых *P. phocarum* и личинок *C. laticeps*.

Вопрос о формировании конечных отделов выделительной системы, в частности мочевого пузыря и эксcretорной поры, тесно связан с развитием формированием плероцеркоида и отделением церкомера (Calentine, 1962; Malmberg, 1971, 1972, 1974; Korneva, 1998). Поэтому исследования в этой области важны также с точки зрения онтогенеза и филогении макрогрупп неодермат. Для формулировки соответствующих выводов необходимы дополнительные исследования видов на стадии процеркоида.

Поскольку в остальных отрядах цестод выделительная система изучена слабо, а сам факт связи периферических каналов с резервуаром терминальной эксcretорной поры установлен на ультраструктурном уровне для цестод впервые, для интерпретации данных необходимы дополнительные детальные исследования характера соединения канальной системы с окружающей средой у представителей различных отрядов цестод.

С другой стороны, поскольку план строения эксcretорной системы заднего конца тела плероцеркоида *P. phocarum* и взрослой особи *C. laticeps* имеет много общих черт, можно предположить, что эксcretорная система дифиллоботриид полностью формируется на стадии плероцеркоида. Это также подтверждается результатами сравнительного анализа протонефридиальной системы взрослых особей *D. latum* и плероцеркоидов (Vargas et al., 2019). Дальнейшие изменения в плане строения системы у дифиллоботриид связаны с образованием стробилы: весь задний конец тела, начиная от разветвления центральных каналов и ниже, отделяется;

формируется выделительная система стробилы, подобная той, что имеется у других взрослых дифиллоботриид. Для подтверждения этой гипотезы необходимы дополнительные исследования.

Циртоциты. Строение циртоцитов *P. phocarum*, *S. solidus*, *C. laticeps*, *N. surmenicola* соответствует общему плану строения (рис. 27 А-Г): протонефридиальный комплекс двуклеточный, циртоцит имеет один пучок ресничек, направленный в протонефридиальную воронку. Верша образована внутренним рядом микроворсинок циртоцита и внешним рядом микроворсинок воронки, микроворсинки связаны между собой экстраклеточным материалом.

Однако имеются и отличия. Наиболее отличительным является строение циртоцита *C. laticeps*. Вероятно, это связано с тем, что *C. laticeps*, изученный в данной работе, единственный является взрослой особью, тогда как остальные – плероцеркоидами. Отличия в строении – крупный перикарион, большое количество митохондрий и ресничек – может являться следствием функциональной адаптации червя к окружающим условиям. Показано, что строение циртоцитов связано с функциональным состоянием организма и может изменяться для обеспечения его потребностей (Поддубная, 2003). Учитывая тот факт, что *C. laticeps* на взрослой стадии живет в осмотически непостоянной среде – кишечнике леща, - выявленные отличия могут быть свидетельством такой адаптации. Фактор осмотического градиента в связи с функционированием выделительной системы также является одним из определяющих с точки зрения других авторов (Webster, Wilson, 1970). В дополнения к вышесказанному, вероятно, «гипертрофия» циртоцитов в сочетании с редким их расположением в паренхиме, также говорит в пользу их высокой функциональной нагрузки.

Несмотря на то, что плероцеркоиды *P. phocarum*, *S. solidus* и *N. surmenicola* принадлежат к разным отрядам цестод (к дифиллоботриидам и трипаноринхам), а также, несмотря на то, что по мнению многих авторов строение циртоцитов имеет важное значение с точки зрения макрофилогении (Rohde 1991; Hertel, 1993), ультраструктура циртоцитов у них очень схожая. Вероятно, такое строение является базовым для личинок, живущих при относительно постоянных условиях среды. Возможно, при попадании в окончательного хозяина, где условия (в том числе осмотические) не стабильные, циртоциты могут пластично изменять свою структуру, как видно на примере *C. laticeps*.

Строение верши *S. solidus*, *C. laticeps*, *N. surmenicola* также ультраструктурно схоже со строением верши *P. phocarum*, что дает основания предполагать, что механизм фильтрации у них общий. Имеющиеся различия в ультраструктуре верши и циртоцитов, касающиеся набора органелл цитоплазмы, размеров различных клеточных структур, размеров и количества лептотрихий, количества ресничек в пучке, по-видимому, отражают цитологические особенности данных видов.

Протонефридиальная воронка. Протонефридиальная воронка у всех изученных в данной работе видов, образована отдельной от циртоцита клеткой экскреторного эпителия, что противоречит данным о синцитиальном строении протонефридия псевдофиллидных цестод (Куперман, 1988), к которым ранее относили дифиллоботриид, но поддерживает выводы разных авторов для неодермат в целом (Howells, 1969; Wilson, Webster, 1974; Xylander, 2001).

В результате проведенного исследования были обнаружены десмосомоподобные межклеточные контакты между отростками циртоцита и мембраной воронки *C. laticeps*. В ранних исследованиях Поддубной (2003) подобные контакты не были описаны. Мы предполагаем, что наличие контактов в стенке воронки может являться общим цитологическим трендом *C. laticeps*: кроме воронки, межклеточные десмосомоподобные контакты обнаружены между базальными отростками экскреторного эпителия, между мембранами складок тегумента, между сократимыми и гликогенсодержащими отростками мышечных клеток. С другой стороны, образование многочисленных контактов также может являться конечной стадией формирования целостной системы клеток паренхимы у взрослых червей, поскольку подобные контакты могут служить местами интенсивного обмена нутриентами (Lindroos, 1984; Корнева, 2007).

Экскреторный эпителий. Канальная система всех изученных видов образована синцитиальным экскреторным эпителием (рис. 27 Д-3, 28 А, Б), что противоречит описаниям кариофиллид, для которых ранее было показано, что мочевой пузырь имеет «кутикулярную» выстилку (Calentine, 1962). Стенки экскреторного эпителия проявляют признаки вертикальной стратификации цитоплазмы уже на уровне протонефридиальной воронки: имеется апикальный плотный гомогенный слой цитоплазмы и базальный светлый зернистый слой цитоплазмы, содержащий гранулы гликогена и редкие органеллы. Такая же вертикальная стратификация прослеживается в стенке каналов 1-го порядка у всех изученных видов; в стенке каналов 2-го порядка у *P. phocarum*, *C. laticeps* и, вероятно у *N. surmenicola*; в стенке

мочевого пузыря у *P. phocarum*, *C. laticeps*; в стенке главных каналов у *P. phocarum*. Вертикальная стратификация цитоплазмы может свидетельствовать о дифференциации эпителия для выполнения различных функций в различных компартментах эпителия. Кроме того, у *P. phocarum*, *C. laticeps* и *N. surmenicola* заметно изменение ультраструктуры слоев цитоплазмы в разных отделах канальной системы, наличие мышечных волокон под базальной мембраной. А у *N. surmenicola* в канальцах 1-го порядка обнаружены мелкие шаровидные микроворсинки, которые с увеличением диаметра каналов увеличиваются в размерах, могут ветвиться; в каудальных отделах приобретают уплощенную удлинённую форму и располагаются менее плотно. Ранее ветвистые микроворсинки в крупных каналах сколекса *N. surmenicola* были описаны в автореферате И.И. Гордеева (2016). Эти факты свидетельствуют в пользу предположения, что экскреторная система может сочетать в себе несколько функций, которые по ходу каналов могут сменять друг друга. Например, глубокие инвагинации базальной мембраны каналов 1-го и 2-го порядка у *C. laticeps* вероятно связаны с метаболической функцией экскреторного эпителия, что также подтверждается другими авторами (Yamane et al., 1978). Наличие мышечных пучков под базальной мембраной каналов 2-го порядка дает основания предполагать, что каналы участвуют в перераспределении их содержимого в теле червя. Мочевой пузырь *C. laticeps* демонстрирует признаки экскреторной\секреторной активности: апикальная поверхность канала увеличена за счет многочисленных длинных ламелл, уложенных в несколько слоев; также в апикальном слое цитоплазмы имеется большое количество везикул с различным содержимым. Предположительно этот участок экскреторного эпителия участвует в абсорбции веществ из просвета мочевого пузыря или, наоборот, в интенсивной экскреции веществ. Кроме того, вероятно, экскреторной или секреторной активностью обладает тегумент верхних отделов резервуара терминальной поры *C. laticeps*: в этом месте было обнаружено большое количество крупных выпячиваний цитоплазматической части тегумента, идентичных тем, что найдены в просвете резервуара. Сильно складчатая базальная мембрана тегумента резервуара во всех отделах экскреторной поры говорит об очень высокой степени обменных процессов в этой области.

Микроворсинки с электронноплотными частицами в просвете каналов обнаружены у *P. phocarum* и *S. solidus*. Такие же частицы обнаружены и у других представителей

дифиллоботриид: *D. dendriticum* (Lindroos, 1983), *S. erinacei* (Yamane et al., 1978), *D. ditremum*, *L. intestinalis*, *Spirometra mansonoide* (Dougherty et al., 1975). У представителей циклофиллид (*Taenia taeniaeformis*, *Dipylidium caninum*, *Hymenolepis diminuta*, *Mesocestoides corti*) такие частицы не обнаружены (Dougherty et al., 1975). Вместе с тем, палочковидные тела в цитоплазме обнаружены у *P. phocarum*, у *D. dendriticum* (Lindroos, 1983), *Spirometra mansonoide* (Dougherty et al., 1975), *Echinococcus granulosus* (Sanchez et al., 1993). По мнению Lindroos (1983), если микроворсинки каналов считать гомологами микротрихий тегумента, то палочковидные тела можно рассматривать как структуры, пополняющие материал плотных частиц микроворсинок.

Наличие плотных частиц в микроворсинках можно считать особенностью представителей дифиллоботриид.

5.2.3.4 Общее строение выделительной системы цестод

На основе сравнительных исследований выделительной системы нескольких видов цестод и изучения литературных источников предполагаем гипотетический общий план строения выделительной системы паразитических личинок низших цестод. Вторичная выделительная система формируется у процеркоидов и далее наследуется плероцеркоидами и взрослыми червями. Вторичная выделительная система протонефридиального типа и состоит из двух цитологических единиц: самостоятельного циртоцита и канальной системы, представленной синцитиальным экскреторным эпителием. Ни один из элементов вторичной выделительной системы не наследуется из первичной выделительной системы, все элементы образуются в теле личинки *de novo* из недифференцированных клеток.

Каналы образуются посредством аутофагии. При этом в клетках формируются внутриклеточные полости, которые, сливаясь между собой, образуют единую систему каналов. У некоторых цестод каналы выходят на поверхность тела и образуют септированные контакты с тегументом – нефропоры. По мере роста тела процеркоида, отделяется церкомер на заднем конце тела: он не имеет элементов выделительной системы. После отделения, покровы, непосредственно прилегавшие к церкомеру, подворачиваются внутрь и образуют тегументальную складку. Если при этом у процеркоида имелись нефропоры на поверхности – они также могут подворачиваться внутрь нее. Эта тегументальная складка в

дальнейшем сформирует резервуар терминальной поры, а вход в этот резервуар со стороны внешней среды образует терминальную пору.

Циртоциты располагаются в паренхиме тела личинки одиночно или группами, несут как правило одно ресничное пламя (но бывает и несколько, например, у кариофиллид). Циртоцит и проксимальные отделы канальной системы (т.н. протонефридиальные воронки) образуют вершу. Верша состоит из двух рядов пальцевидных цитоплазматических выростов – микроворсинок верши: внутренний ряд образован циртоцитом, внешний – протонефридиальной воронкой. Микроворсинки верши от разноименных клеток соединены между собой внеклеточным матриксом с волокнами ориентированными, крест-накрест, по типу zip-замка. Терминальные клетки иммунореактивны к 5-НТ и реактивны к f-актину.

Фильтрация осуществляется за счет биения ресничек: оно создает отрицательное давление в полости протонефридия, и межклеточная жидкость засасывается через промежутки между микроворсинками верши. Межклеточное вещество паренхимы фильтруется через внеклеточный матрикс на микроворсинках верши. Ультрафильтрат продвигается в сторону протонефридиальной воронки и системы каналов.

Протонефридиальная воронка переходит в канальную систему. Внутренняя поверхность каналов усложнена микроворсинками или ламеллами, которые могут нести электронноплотные частицы. Как правило внутренняя стенка каналов не несет ресничек. Стенка каналов синцитиальная, однако в ней могут обнаруживаться контакты как с другими клетками, так и с отростками экскреторного эпителия. Имеется вертикальная стратификация цитоплазмы стенки каналов на несколько слоев, характер стратификации может изменяться с изменением порядка канала. В целом канальная система как правило дифференцирована на центральные и периферические каналы, которые отличаются своим положением и наличием мышечной обкладки (кроме гирокотилид и амфилинид: дифференцировка их каналов заметна лишь на ультраструктурном уровне). Каналы, в зависимости от порядка, выполняют транспортную, и, вероятно, реабсорбирующую, экскреторную и секреторную функции.

Каналы сливаются в мочевой пузырь, который также образован синцитиальным экскреторным эпителием. Мочевой пузырь складчатый, не имеет мышечной выстилки и накапливает мочу. Опорожняется мочевой пузырь, по-видимому,

пассивно, через нефропор(ы) в резервуар терминальной поры. Этот резервуар выстлан тегументом и сообщается с внешней средой через терминальную пору.

При попадании плероцеркоида в дифинитивного хозяина у монозоичных цестод задние отделы выделительной системы сохраняются и функционируют на взрослой стадии. У остальных цестод задний конец тела в конечном итоге отделяется от стробилы. При этом выделительные каналы последнего членика открываются непосредственно с окружающей среду.

Краткое заключение. Таким образом, экскреторная система цестод представляет собой сложную систему, состоящую из двух структурных элементов: синцитального экскреторного эпителия и циртоцитов. Это единственная система каналов в теле паразитирующих личинок, которая имеет эпителиальную выстилку. Экскреторная система имеется у всех цестод и имеет существенные отличия в архитектуре и числе каналов в разных отрядах. У гирокотилид и амфилинид канальная система слабо упорядочена, представлена сетью (Дубинина, 1982; Rohde, Watson, 1988; Хуландер, 1992). У всех эуцестод, имеются продольные центральные каналы, располагающиеся в центральной паренхиме. Количество центральных каналов может варьировать в разных отрядах. Согласно нашим данным центральные каналы плероцеркоидов соединяются с мочевым пузырем, впадающим в резервуар терминальной поры. Кроме того, у всех низших эуцестод имеется периферическая сеть каналов, связанная с центральными каналами в сколексе.

На ультраструктурном уровне показано, что циртоциты разных видов имеют схожее строение, которое может модифицироваться в зависимости от нагрузки на систему. Канальная система представлена синцитиальным экскреторным эпителием, тонкое строение которого в разных группах варьирует. Различия касаются размерных характеристик, набора органелл, структуры апикальной и базальной мембран, наличием или отсутствием межклеточных контактов и пр. У всех цестод прослеживается горизонтальная стратификация цитоплазмы экскреторного эпителия. Кроме того, описаны особенности строения, связанные со стадией развития и образом жизни цестод. Например, гипертрофия циртоцитов у взрослых *S. laticeps*, связанная с интенсификацией нагрузки на выделительную систему при попадании в окончательного хозяина. Экскреторная система демонстрирует признаки высокой метаболической активности в экскреторном эпителии, играет важную роль в обмене веществ, адаптации к среде обитания, взаимодействии с хозяином. Экскреторная система может совмещать в себе несколько функций,

осуществляемых в разных отделах системы. Отдельные элементы экскреторной системы имеют филогенетическое значение, например, плотные частицы в микроворсинках каналов или плочковидные плотные тела в цитоплазме экскреторного эпителия, характерные для дифиллоботриид.

Заключение

В ходе проделанной работы удалось описать особенности микроскопического и ультраструктурного строения плероцеркоида *P. phocarum*, а также установить некоторые особенности биологии и жизненного цикла данного вида. Тонкое строение систем органов плероцеркоида *P. phocarum* имеет высокую степень сходства с другими представителями семейства Diphyllbothriidae, особенно в строении тегумента, экскреторного эпителия, секреторного аппарата, типов нейронов и их цитохимической принадлежности.

Молекулярными исследованиями была впервые подтверждена принадлежность плероцеркоидов из трески и пинагора к виду *P. phocarum*; впервые описаны некоторые особенности биологии плероцеркоидов. Однако, для составления полноценной картины циркуляции вида в экосистеме и онтогенетических перестроек различных систем, необходимы дополнительные исследования жизненного цикла.

На ультраструктурном уровне была подробно описана морфология тегумента, мышечной системы, фронтальных желез и базального матрикса.

Тегумент *P. phocarum* имеет типичное для дифиллоботриид строение. Описаны 3 типа микротрихий и их специфическая локализация на сколексе и теле плероцеркоида. Впервые для дифиллоботриид описаны заякоривающие филаменты в базальном матриксе тегумента.

Мышечная система плероцеркоида *P. phocarum* состоит из субтегументальной мускулатуры, мускулатуры паренхимы и мускулатуры протонефридиальных каналов, что полностью соответствует другим представителям отряда.

Фронтальные железы имеют синцитиальное строение и состоят из четырех отделов: перикарионов, показывающих высокую синтетическую активность, резервуаров, заполненных секреторными гранулами, укрепленных периферическими микротрубочками протоков желез, оканчивающихся порами и высвобождающих секрет по эккриновому типу.

Для всех изученных Diphyllbothriidae характерно формирование структурного комплекса сенсорных органов, связанных с протоками и терминальными порами фронтальных желез в тегументе сколекса. Иннервация фронтальных желез плероцеркоида *P. phocarum* происходит непосредственно нейронами латеральных

долей и медианной комиссуры мозга. Тесное расположение желез вокруг латеральных долей и мозговой комиссуры приводит к формированию единого нейрожелезистого комплекса.

Впервые для вида изучена цитохимическая и ультраструктурная организация нервной системы плероцеркоида. В центральной и периферической нервной системе выявлены многочисленные α -tub-IR нейроны, а также серотонин-, GABA и FMRFamide эргические нейроны. Показано, что центральная нервная система отличается низкой концентрацией нервных элементов, нейроны лежат на некотором расстоянии от нейропилей, медианная комиссура слабо концентрирована, прерывается мышечными волокнами и протоками фронтальных желез. Мозг включает две латеральных доли с мощными нейропилями, соединенные медианной комиссурой, мозг продолжается в главные нервные стволы; из нейропилей выходят парные дорзальные, вентральные и латеральные корешки, иннервирующие ботрии, сколекс и формирующие малые стволы. В мозге обнаружено несколько ультраструктурных типов нейронов, включая светлые, темные и секреторные нейроны, а также гигантские нейроны медианной комиссуры. Сенсорный аппарат плероцеркоида достаточно разнообразен; в тегументе обнаружено 4 типа ресничных и безресничных сенсорных органов. На ботриях обнаружены комплексы сенсорных органов колаколизированные с терминальными порами фронтальных желез, что подтверждает нервную регуляцию желез эккринного типа у дифиллоботриид.

Основными отличиями нервной системы плероцеркоида *P. phocarum* следует считать рыхлое строение медианной комиссуры мозга, связанное с мощным развитием фронтальных желез на стадии плероцеркоида. В свою очередь, развитие фронтальных желез вероятно связано с особенностями биологии плероцеркоида, обитающего в широком спектре промежуточных и транзитных хозяев-рыб.

Впервые изучена ультраструктура и цитохимия протонефридиев плероцеркоида *P. phocarum*; описана ультраструктура циртоцитов, терминальных воронок, канальцев, главных выделительных каналов, мочевого пузыря, выстланного экскреторным эпителием, и терминальной поры, образованной тегументом. Доказано синцитиальное строение экскреторного эпителия на всем протяжении, и самостоятельность ресничных терминальных клеток, отделенных собственной мембраной и базальным матриксом. Установлено наличие септированных

контактов в нефропорах, открывающихся в тегумент терминальной поры. Иммуноцитохимически доказано наличие иннервации центральных каналов, участие серотонина в работе ресничных терминальных клеток, наличие фибриллярного актина в стенках протонефридия. Впервые для дифиллоботриид показано, что мочевой пузырь и терминальная выделительная пора на заднем конце тела плероцеркоида – это две структурных единицы разного происхождения. Мочевой пузырь представляет собой резервуар, выстланный экскреторным эпителием, сообщающийся с центральными протонефридиальными каналами с одной стороны, и с полостью терминальной поры посредством нефропор, с другой стороны. Отличительной чертой конечных отделов выделительной системы *P. phocarum* является наличие порпериферических каналов в тегументе резервуара экскреторной поры, отделенных кольцевыми септированными контактами впервые показана ультраструктура нефропор. Сведения об ультраструктуре мочевого пузыря плероцеркоида *P. phocarum* и многочисленных нефропорах являются уникальными, т.к. отсутствуют для других представителей семейства Diphylobothriidae и отряда в целом.

Сравнительный анализ элементов выделительной системы, особенно на уровне архитектуры, осложнен в связи с малым количеством работ на эту тему и с большим разнообразием терминов, употребляемым в них. Нам удалось провести сравнительный анализ архитектуры выделительной системы заднего конца тела *P. phocarum* и *C. laticeps*, который показал существенное отличие в характере соединения резервуара экскреторной поры с канальной системой. У *C. laticeps* периферические каналы впадают в мочевой пузырь и не имеют связи с резервуаром терминальной поры. Сравнительный анализ ультраструктуры экскреторной системы *P. phocarum*, *S. solidus*, *C. laticeps* и *N. surmenicola* показал, что гистологически система состоит из двух структурных единиц: циртоцитов и синцитиального экскреторного эпителия. Выявленные ультраструктурные и анатомические различия, вероятно могут быть связаны с биологией изученных видов, обитанием в морской или пресноводной среде, жизненной стадией, а также с филогенетическим положением изученных представителей. Впервые показана и подробно описана вертикальная стратификация цитоплазмы экскреторного эпителия, которая у *P. phocarum*, *C. laticeps*, *N. surmenicola* изменяется по ходу каналов и свидетельствует о выполнении разных физиологических функций.

Выводы

1. Методами молекулярной генетики подтверждена видовая принадлежность личинок цестод из печени трески к виду *Pyramicocephalus phocarum* (сем. Diphyllbothriidae, отр. Diphyllbothriidea). Показано, что плероцеркоид в треске окружен тонкой соединительно-тканной капсулой, формирующейся организмом хозяина.
2. Ультраструктурная организация плероцеркоида *P. phocarum* имеет специфические черты организации; в тегументе обнаружено три типа микротрихий, выполняющих фиксаторную и трофическую функции; в базальном матриксе тегумента, впервые для отряда Diphyllbothriidea описаны радиальные заякоривающие филаменты.
3. Плероцеркоид *P. phocarum* обладает мощно развитым железистым аппаратом, фронтальные железы занимают большой объем и открываются самостоятельными протоками и порами в тегументе и функционируют под контролем нервной системы, получая синапсы от нейронов мозга. Впервые установлена FMRFamide-эргическая регуляция выброса секрета фронтальных желез.
4. Строение нервной системы сколекса плероцеркоида *P. phocarum* характеризуется слабой степенью концентрации; мозг представлен двумя латеральными долями, соединенными рыхлой медианной комиссурой. В нервной системе выявлены многочисленные FMRFamide-, GABA-lig и серотонинэргические нейроны, описаны 4 ультраструктурных типа нейронов и 4 типа сенсорных органов в тегументе.
5. На основе сравнительного анализа нервной и железистой систем плероцеркоида *P. phocarum* с другими представителями дифиллоботриид впервые предложена модель нейро-железистого мозга, характеризующаяся архитектурной, ультраструктурной и функциональной ко-локализацией двух систем.
6. Выделительная система плероцеркоида *P. phocarum* представлена самостоятельными ресничными клетками и сложной системой каналов синцитиального строения. Впервые для дифиллоботриид показано, что мочевого пузыря является производным экскреторного эпителия, а терминальная пора - производной неодермиса (тегументальный канал). Впервые для дифиллоботриид

достоверно доказано наличие множественных нефропоров, открывающихся в канал терминальной поры плероцеркоида.

7. Впервые для цестод показано участие серотонина в работе ресничных терминальных клеток; наличие фибриллярного актина в стенках протонефридия дает основание к поддержке гипотезы ультрафильтрации межклеточной жидкости через молекулярное сито на поверхности микроворсинок верши протонефридия.

8. Изменения в структуре цитоплазмы в выделительных каналах цестод свидетельствует о многофункциональности экскреторного эпителия. Мышечная обкладка центральных каналов и наличие иннервации доказывает их определяющую роль в циркуляции мочи и продуктов обмена и подтверждают важную роль нервной системы в регуляции функций выделительной системы.

9. Тонкое строение плероцеркоида *Pyramicocephalus phocarum* имеет ряд уникальных черт, но в целом соответствуют другим представителям отряда Diphyllbothriidea.

Благодарности

Автор выражает глубокую благодарность научному руководителю – доктору биологических наук Наталье Михайловне Бисеровой за руководство, терпение и советы в ходе выполнения всей работы.

Особая благодарность сотрудникам кафедры Зоологии беспозвоночных Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, член-корр. РАН, д.б.н. проф. Малахову Владимиру Васильевичу, к.б.н. Петруниной Александре Сергеевне, к.б.н. Римской-Корсаковой Надежде Николаевне, к.б.н. Екимовой Ирине, Становой Марии за поддержку и советы; отдельную благодарность сотруднику Биологического факультета к.б.н. Гордееву Илье Ивановичу за любезно предоставленный материал, время, потраченное на изучение настоящей диссертации, и ценнейшие комментарии по ее улучшению; сердечную благодарность сотрудникам Беломорской Биологической Станции им. Н.А. Перцова д.б.н. Александру Борисовичу Цетлину, к.б.н. Татьяне Владимировне Неретиной, Александру Геннадьевичу Семенову, Вало Валовичу Сивонен и сотрудникам водолазной службы за помощь в организации работы и обеспечении материалом; огромную признательность выражаю заведующему Межкафедральной Лаборатории электронной микроскопии Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова Георгию Натановичу Давидовичу и ведущему инженеру Анатолию Георгиевичу Богданову и другим сотрудникам за техническое обеспечение работы на электронных микроскопах; моя искренняя признательность заведующему Центром коллективного пользования электронной микроскопии в Институте биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Сергею Ивановичу Метелеву.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №19-34-90047.

Список литературы

1. Абрамочкин, Д.В. секреция ацетилхолина в сердце и механизмы холинергической регуляции миокарда: Автореф. дис. док. биол. наук. Моск. гос. ун-т им. М.В. Ломоносова. – 2016.
2. Бисерова, Н.М. Строение покровов плероцеркоидов и половозрелых *Grillotia erinaceus* (Cestoda, Trypanorhyncha) / Н.М. Бисерова // Паразитология. – 1987. – Т. 21, № 1. – 26 с.
3. Бисерова, Н.М. Ультраструктурная организация сколекса и покровов стробилы *Echinobothrium typus* (Cestoda: Diphyllidea) / Н.М. Бисерова // Труды ЗИН АН СССР. – 1991. - Т.241. - С.153-172.
4. Бисерова, Н.М. Строение нервной системы сколекса *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda: Pseudophyllidea) / Н.М. Бисерова // Паразитология. – 1997. – Т. 31. – С. 249-259.
5. Бисерова, Н.М. Тонкое строение глиальных клеток в нервной системе *Grillotia erinaceus* / Н.М. Бисерова // Цитология. – 2008. – Т. 50, № 6. – С. 498-508.
6. Бисерова, Н.М. Методы визуализации биологических ультраструктур. Подготовка биологических объектов для изучения с помощью электронных и конфокальных лазерных микроскопов. Практическое руководство для биологов. / Н.М. Бисерова // Изд. КМК Москва, ISBN 978-5-87317-906-0. – 2013. - 110 с.
7. Бисерова, Н.М. Ультраструктурная организация нервной системы плероцеркоида *Ligula intestinalis* (Cestoda: Diphyllbothriidea) / Н.М. Бисерова, И.И. Гордеев // Invertebrate Zoology. – 2010. – Т. 7, № 2. – С. 133-154.
8. Бисерова, Н.М. Строение глии в нервной системе паразитических и свободноживущих плоских червей / Н.М. Бисерова, И.И. Гордеев, Ж.В. Корнева, М.М. Сальникова // Известия Российской академии наук. – 2010. – Т. 3. – С. 333-344.
9. Бисерова, Н.М. Иннервация фронтальных желез сколекса плероцеркоида *Diphyllbothrium ditremum* (Cestoda: Diphyllbothriidea) / Н.М. Бисерова, А.А. Кемаева // Проблемы цестодологии. – 2012. – Т. IV. - С.13-33.
10. Бисерова, Н.М. Реконструкция тонкого строения церебрального ганглия *Parachristianella* sp. (Cestoda, Trypanorhyncha) / Н.М. Бисерова, Ж.В. Корнева // Зоологический журнал. – 2012. – Т. 91, № 3. – С. 259-272.

11. Бисерова, Н.М. Сенсорный аппарат и особенности формирования нервной системы *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda) в онтогенезе / Н.М. Бисерова, Ж.В. Корнева // Паразитология. – 1999. – Т. 33, № 1. – С. 39-48.
12. Бисерова, Н.М. Морфофункциональная дифференциация покровных тканей цестоды *Acanthobothrium dujardini* (Tetraphyllidea) / Н.М. Бисерова, Б.И. Куперман // Паразитология. – 1983. - Т.17, № 5. - С. 382-390.
13. Бисерова, Н.М. Особенности локализации простагландина E₂-аминомасляной кислоты и других потенциальных иммуномодуляторов у плероцеркоида *Diphyllobothrium dendriticum* (Cestoda) / Н.М. Бисерова, И.А. Кутырев // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. – 2014. – № 3. – С. 271-271.
14. Бисерова, Н.М. Строение выделительной системы плероцеркоида *Pyramicocephalus phocarum* (Cestoda: Diphyllobothriidea): доказательство существования самостоятельных терминальных клеток / Н.М. Бисерова, А.Р. Мустафина, В.В. Малахов // Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. – 2021. – Т. 496, № 1. – С. 24-27.
15. Бисерова, Н.М. Ультратонкое строение главных латеральных нервных стволов и сопутствующих элементов *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda: Pseudophyllidea) / Н.М. Бисерова, М.М. Сальникова // Цитология. – 2002. – Т. 44, № 7. – С. 610-619.
16. Бисерова, Н. М. Иммуноцитохимическое выявление и распределение ГАВА в нервной системе гельминтов-паразитов рыб / Н. М. Бисерова, М. М. Сальникова, И. И. Гордеев // Ученые записки Казанского университета. Серия Естественные науки. – 2007. – Т.149, № 3. – С. 93-98.
17. Бисерова, Н. М. Онтогенетическое развитие нервной системы цестод и амфилинид / Н. М. Бисерова, Ж. В. Корнева // Invertebrate Zoology. – 2006. – Т. 3, № 2. – С. 157-184.
18. Бисерова, Н. М. Строение покровов плероцеркоидов и половозрелых *Grillotia erinaceus* (Cestoda, Trypanorhyncha) / Н.М. Бисерова // Паразитология. – 1987. – Т. 21, № 1. – С. 26.
19. Бондарев, О. В. Питание и межвидовые отношения сеголеток трески и сайды в летний период / О.В. Бондарев // In Исследования экосистем морей Арктики. – 2017. – С. 19-24.
20. Бондарев, О.В. Ихтиофауна литоральной и верхней сублиторальной зоны кольского залива в апреле 2010 года / О.В. Бондарев // In Исследования

- арктических экосистем: Матер. XXXVI конф. молодых ученых ММБИ КНЦ РАН, посвященной 40-летию научно-исследовательского судна. – 2018. – Т. 25. – С. 22.
21. Быховская-Павловская, И.Е. Паразиты рыб. Руковод. по изучению / И.Е. Быховская-Павловская // Л.: Наука. - 1985. - 124 с.
22. Виноградов, Г.А. Морфологическое исследование механизмов адаптации к различным соленостям у псевдофиллидных цестод / Г.А. Виноградов, В.Г. Давыдов, Б.И. Куперман // Паразитология. - 1982. - Т. 16, №5. - С. 377-383.
23. Волков, А.Ф. Паразитические черви рыб дальневосточных морей и сопредельных акваторий Тихого океана / А.Ф. Волков, Г.М. Гаврилов, С.Е. Поздняков, В.Е. Родин, Н.С. Фадеев, В.П. Шунтов, Н.С. Самойлова // Владивосток: ТИНРО - центр. – 1999. – 123.
24. Гамбарян, С. П. Ультраструктура почек севрюги из пресной и морской воды / // С.П. Гамбарян // Цитология. – 1984. – Т. 26, №1. – С. 21-28.
25. Гончаров, Ю.В. Некоторые данные о биологии беломорской трески / Ю.В. Гончаров, Г.В. Фукс // Изучения, рационального использования и охраны природных ресурсов белого моря. – 2010. – С. 35.
26. Гордеев, И.И. Микроскопическая анатомия плероцеркоидов цестод отрядов *Tyranorhyncha* и *Diphyllobothriidea*: Автореф. дис. канд. биол. наук Моск. гос. ун-т им. М.В. Ломоносова. – 2016.
27. Давыдов, В. Г. Морфология двух типов фронтальных желез *Grillotia erinaceus* (Cestoda, Tyranorhyncha) / В.Г. Давыдов, Н.М. Бисерова // Паразитология. – 1985. – Т. 19, №1. – С. 32-37.
28. Vinnikov, Y.A. Evolution of receptor cells: cytological. Membranous and Molecular Levels (Translated from Russian by Nicholas Bobrov, with a Foreword by Steven Price) / Y.A. Vinnikov // Springer-Verlag, New York. – 1982.
29. Горбатенко, К. М. Состав, биомасса и трофические характеристики рыб на западнокамчатском шельфе / К. М. Горбатенко, А. Б. Савин // Известия ТИНРО (Тихоокеанского научно-исследовательского рыбохозяйственного центра). – 2012. – Т. 171. – С. 40-61.
30. Давыдов, В. Г. Адаптивные структуры покровов тела некоторых цестод, связанные с защитой паразитов от влияний организма хозяев / В. Г. Давыдов, В. Р. Микряков // In Иммунологические и биохимические аспекты взаимоотношений гельминта и хозяина. – 1988. - С. 88-100.

31. Делямуре, С. Л. Основы цестодологии. Т. 11. Дифиллоботрииды — ленточные гельминты человека, млекопитающих и птиц / С. Л. Делямуре, А. С. Скрябин, А.М. Сердюков // М.: Наука. — 1985. — 198 с.
32. Догель, В.А. Зоология беспозвоночных / В.А. Догель // М.: Высшая школа. — 1981. — 606 с.
33. Долгов, С. В. Питание неполовозрелой сайды (*Pollachius virens* L.) в губах Западного Мурмана / С.В. Долгов // Труды ВНИРО. — 2005. — Т. 144. — С. 222-235.
34. Дубинина, М.Н. Ремнецы Cestoda: Ligulidae фауны СССР / М.Н. Дубинина // М.: Наука. — 1966. — 268 с.
35. Дубинина, М. Н. Паразитические черви класса Amphilinida (Plathelminthes) / М.Н. Дубинина // Труды Зоологического института АН СССР. — 1982. — Т. 100. — С. 144.
36. Корнева, Ж. В. Клеточный состав и ультраструктурная организация корацидия *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda, Pseudophyllidea) / Ж.В. Корнева // Паразитология. — 1994. — Т. 28, № 4. — С. 276-282.
37. Корнева, Ж. В. Тканевая пластичность и морфогенезы у цестод / Ж.В. Корнева // М.: Наука. — 2007. — 186 с.
38. Котикова, Е.А. Анатомия нервного аппарата цестод семейств Amphicotylidae и Diphyllbothriidae (Pseudophyllidea) / Е.А. Котикова, Б.И. Куперман // Паразитология. — 1978. — Т. 12, №3. — С. 210-217.
39. Кудрявцева, О.Ю. Пинагор Баренцева моря и сопредельных вод / О.Ю. Кудрявцева // М.: Наука. — 2008. — 164 с.
40. Кузнецова, Н.А. Питание и пищевые отношения nekтона в эпипелагиали северной части Охотского моря / Н.А. Кузнецова // дис. канд. биол. наук. — Владивосток: ТИНРО-центр. — 2004. — 316 с.
41. Куперман, Б.И. Ленточные черви рода *Triaenophorus* паразиты рыб (экспериментальная систематика, экология) / Б.И. Куперман // Л.: Наука. — 1973. — 207 с.
42. Куперман, Б.И. Функциональная морфология низших цестод: Онтогенетический и эволюционный аспекты / Б.И. Куперман // Л.: Наука. — 1988. — 167 с.
43. Мустафина, А.Р. Особенности биологии и строения *Pyramicoscephalus phocarum* (Diphyllbothriidea) из печени беломорской трески / А.Р.

- Мустафина, М.Ю. Хуторянская // Современные проблемы теоретической и морской паразитологии. – 2016. – С. 188.
44. Мустафина, А.Р. Выделительная система плероцеркоида *Pyramicoscephalus phocarum* (Cestoda) из печени беломорской трески / А.Р. Мустафина // М.: Изд-во ВНИРО. – 2017. – С. 199-201.
45. Мустафина, А.Р. Где находится мочевой пузырь у *Pyramicoscephalus phocarum* (Cestoda: Diphyllbothriidea)? / А.Р. Мустафина // Конференция «Ломоносов 2021», материалы конференции – 2021.
46. Поддубная, Л.Г. Полимеризация в связи с размерами монозоичных цестод (ультраструктурный анализ) / Л.Г. Поддубная // Зоологический журнал. – 2003. – Т. 82, № 1. – С. 3-12.
47. Поспехова, Н.А. Протонефридиальная система сколекса циклофиллидей / Н.А. Поспехова, Г.П. Краснощеков, В.В. Поспехов // Паразитология. – 1993. – Т. 27, № 1. – С. 48-53.
48. Пронина, С.В. Изменение аргирофильной стромы печени некоторых рыб при инвазии плероцеркоидами *Triaenophorus nodulosus* и *Diphyllbothrium dendriticum* / С.В. Пронина // Паразитология. – 1988. – Т. 11. – С. 361-364.
49. Протасова, Е.Н. Кариофиллиды фауны СССР / Е.Н. Протасова, Б.И. Куперман, В.А. Ройтман, Л.Г. Поддубная // М: Наука. – 1990. – 238 с.
50. Чучукало, В.И. Питание и пищевые отношения nekтона и nekтобентоса в дальневосточных морях / В.И. Чучукало // Монография. — Владивосток: ТИНРО-центр. - 2006. — 484 с.
51. Юрахно, М.В. О систематике и филогении некоторых групп цестод отряда Pseudophyllidea / М.В. Юрахно // Паразитология. – 1992. – Т. 26, № 6. – С. 449-461.
52. Agusti, C. Morphological and molecular characterization of tetraphyllidean merocercoids (Platyhelminthes: Cestoda) of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the Western Mediterranean / C. Agusti, F.J. Aznar, P.D. Olson, D.T.J. Littlewood, A. Kostadinova, J.A. Raga // Parasitology. – 2005. – Т. 130, № 4. – С. 461-474.
53. Andersen, K. Comparison of surface topography of three species of *Diphyllbothrium* (Cestoda, Pseudophyllidea) by scanning electron microscopy / K. Andersen // International Journal for Parasitology. – 1975. – Т.5, № 3. – С. 293-300.

54. Andersen, K. The functional morphology of the scolex of *Diphyllobothrium* Cobbold (Cestoda, Pseudophyllidea). A scanning electron and light microscopical study on scoleces of adult *D. dendriticum* (Nitzsch), *D. latum* (L.) and *D. ditremum* (Creplin) / K. Andersen // International journal for parasitology. – 1975. – T. 5, № 5. – C. 487-493.
55. Andersen, K. A marine *Diphyllobothrium* plerocercoid (Cestoda, Pseudophyllidea) from blue whiting (*Micromestius poutasson*) / K. Andersen // Zeitschrift für Parasitenkunde. – 1977. – T.52, № 3. – C. 289-296.
56. Arizono, N. Mitochondrial DNA divergence in populations of the tapeworm *Diphyllobothrium nihonkaiense* and its phylogenetic relationship with *Diphyllobothrium klebanovskii* / N. Arizono, M. Shedko, M. Yamada, R. Uchikawa, T. Tegoshi, K. Takeda, K. Hashimoto // Parasitology International. – 2009. – T. 58, №1. – C. 22-28.
57. Barber, I. The three-spined stickleback-*Schistocephalus solidus* system: an experimental model for investigating host-parasite interactions in fish / I. Barber, J.P. Scharsack // Parasitology. – 2010 - T. 137, № 3 - C. 411-424.
58. Barčák, D. A synoptic review of Caryophyllaeus Gmelin, 1790 (Cestoda: Caryophyllidea), parasites of cyprinid fishes / D. Barčák, M. Oros, V. Hanzelová, T. Scholz // Folia parasitological. – 2019. – T. 64, № 27. – C. 1-25.
59. Barčák, D. Complex insight on microanatomy of larval “human broad tapeworm” *Dibothriocephalus latus* (Cestoda: Diphylobothriidea) / D. Barčák, A. Yoneva, H. Sehadová, M. Oros, A. Gustinelli, R. Kuchta // Parasites & Vectors. – 2019. – T. 12, № 1. – C. 1-17.
60. Baron, P.J. On the histology and ultrastructure of *Cysticercus longicollis*, the cysticercus of *Taenia crassiceps* Zeder, 1800 (Cestoda, Cyclophyllidea) / P.J. Baron // Parasitology. – 1968. – T. 58, № 3. – C. 497-513.
61. Berger, J. Microtrichial polymorphism among hymenolepid tapeworms as seen by scanning electron microscopy / J. Berger, D.F. Mettrick // Transactions of the American Microscopical Society. – 1971. – T. 90, № 4. – P. 393-403.
62. Biserova, N.M. Structure of the glial cells in the nervous system of parasitic and free-living flatworms / N.M. Biserova, I.I. Gordeev, J.V. Korneva, M.M. Salnikova // Biology Bulletin. – 2010. – T. 37, № 3. – C. 277-287.
63. Biserova, N.M. Where are the sensory organs of *Nybelinia surmenicola* (Trypanorhyncha)? A comparative analysis with *Parachristianella* sp. and other

- trypanorhynchean cestodes / N.M. Biserova, I.I. Gordeev, J.V. Korneva // Parasitology Research. – 2016. – T. 115, № 1. – C. 131-141.
64. Biserova, N.M. Platyhelminthes: Neodermata. In: Schmidt-Rhaesa, A., Harzsch, S., Purschke, G. (Eds.), Structure and Evolution of Invertebrate Nervous Systems / N.M. Biserova // Oxford University Press, Oxford. – 2016. – C. 93–117.
65. Biserova, N.M. The nervous system of the pike-tapeworm *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda: Pseudophyllidean): ultrastructure and immunocytochemical mapping of aminergic and peptidergic elements / N.M. Biserova, M.K. Gustafsson, M. Reuter, N.B. Terenina // Invertebrate Biology. – 1996. – T. 155, № 3. – C. 273-285.
66. Biserova, N.M. The brain structure of selected trypanorhynch tapeworms / N.M. Biserova, J.V. Korneva, T.A. Polyakova // Journal of Morphology. – 2020. – T. 281, № 8. – C. 893-913.
67. Biserova, N.M. Localization of prostaglandin E 2, γ -aminobutyric acid, and other potential immunomodulators in the plerocercoid *Diphyllobothrium dendriticum* (Cestoda) / N.M. Biserova, I.A. Kuttyrev // Biology Bulletin. – 2014. – T. 41, № 3. – C. 242-250.
68. Biserova, N.M. GABA in the nervous system of the cestodes *Diphyllobothrium dendriticum* (Diphyllobothriidea) and *Caryophyllaeus laticeps* (Caryophyllideae), with comparative analysis of muscle innervation / N.M. Biserova, I.A. Kuttyrev, K. Jensen // The Journal of Parasitology. – 2014. – T. 100, № 4. – C. 411-421.
69. Biserova, N.M. Structure of the Excretory System of the plerocercoid (Cestoda: Diphyllobothriidea): Proof for the Existence of Independent Terminal Cells / N.M. Biserova, A.R. Mustafina, V.V. Malakhov // Doklady Biological Sciences. – 2021. – T. 496. – C. 17-20.
70. Biserova, N.M. The neuro-glandular brain of the *Pyramicocephalus phocarum* plerocercoid (Cestoda, Diphyllobothriidea): immunocytochemical and ultrastructural study / N.M. Biserova, A.R. Mustafina, O.I. Raikova // Zoology. In press. – 2022. – C. 56-64.
71. Biserova, N.M. GABA- and 5-HT-immunoreactivity in nervous system of *Caryophyllaeus laticeps* (Cestoda: Caryophyllaeidae) / N.M. Biserova, M. Reuter, M.K.S. Gustafsson // Wiadomości Parazytologiczne. – 1998. – V. 44, No 3. – P. 11-12.

72. Biserova, N. M. Ultrastructure of glial cells in the nervous system of *Grillotia erinaceus* / N.M. Biserova // Cell and Tissue Biology. – 2008. – T. 2, № 3. – C. 253-264.
73. Brabec, J. Paraphyly of the Pseudophyllidea (Platyhelminthes: Cestoda): circumscription of monophyletic clades based on phylogenetic analysis of ribosomal RNA / J. Brabec, R. Kuchta, T. Scholz // International Journal for Parasitology. – 2006. – T. 36, № 14. – C. 1535-1541.
74. Braten, T. An electron microscope study of the tegument and associated structures of the proceroid of *Diphyllobothrium latum* (L.) / T. Braten // Parasitology Research. – 1968. – T. 30, № 1. – C. 95-103.
75. Braten, T. The fine structure of the tegument of *Diphyllobothrium latum* (L.) / T. Braten // Zeitschrift für Parasitenkunde. – 1968. – T. 30, № 1. – C. 104-112.
76. Bray, R. A. Order Pseudophyllidea Carus, 1863. Keys to the cestode parasites of vertebrates / R. A. Bray, A. Jones, K. I. Andersen. – 1994. – C. 205-247.
77. Brennan, G.P. Electron immunogold labeling of regulatory peptide immunoreactivity in the nervous system of *Moniezia expansa* (Cestoda: Cyclophyllidea) / G.P. Brennan, D.W. Halton, A.G. Maule, C. Shaw // Parasitology Research. – 1993. – T. 79, № 5. – C. 409-415.
78. Brooks, D.R. Preliminary Phylogenetic Systematic Analysis of The Major Lineages of The Eucestoda (Platyhelminthes, Cercomeria) / D.R. Brooks, E.P. Hoberg, P.J. Weekes // Proceedings of the Biological Society of Washington. – 1991. – T. 104. – C. 651-668.
79. Caira, J.N. On the phylogenetic relationships among tetraphyllidean, lecanicephalidean and diphyllidean tapeworm genera / J.N. Caira, K. Jensen, C.J. Healy // Systematic Parasitology. – 1999. – T. 42, № 2. – C. 77-151.
80. Calentine, R.L. *Archigetes iowensis* sp. n. (Cestoda: Caryophyllaeidae) from *Cyprinus carpio* L. and *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparede / R.L. Calentine // The Journal of Parasitology. – 1962. – C. 513-524.
81. Charles, G.H. Comparative fine structure of outer tegument of *Ligula intestinalis* and *Schistocephalus solidus* / G.H. Charles, T.S.C. Orr // Experimental Parasitology. – 1968. – T. 22, № 2. – C. 137-149.
82. Chervy, L. Unified terminology for cestode microtriches: a proposal from the International Workshops on Cestode Systematics in 2002-2008 / L. Chervy // Folia Parasitologica. – 2009. – T. 56, № 3. – C. 199-230.

83. Coil, W.H. Platyhelminthes: Cestoidea. Microscopic anatomy of invertebrates / W.H. Coil // Platyhelminthes and Nemertinea. – 1991. – T. 3. – C. 211-283.
84. Conn, D.B. Fine structure of the cellular parenchyma and extracellular matrix of *Ophiotaenia loennbergii* (Cestoda: Proteocephalidea) / D.B. Conn, L.J. Rocco // Acta Zoologica. – 1989. – T. 70, № 2. – C. 105-110.
85. Conn, D.B. The biology of flatworms (Platyhelminthes): Parenchyma cells and extracellular matrices / D.B. Conn // Transactions of the American Microscopical Society. – 1993. – C. 241-261.
86. Delyamure, S.L. Ecological and geographical survey of helminthofauna of the northern fur seal / S.L. Delyamure // Helmitol. – 1961. – T. 3. – C. 73-79.
87. Dubinina, M.N. Tapeworms (Cestoda, Ligulidae) of the fauna of the USSR / M.N. Dubinina // Amerind Publishing Co. Pvt. Ltd. – 1980. – 320 c.
88. Dougherty, R. M. On the nature of particles lining the excretory ducts of pseudophyllidean cestodes / R. M. Dougherty, H. DiStefano, U. Feller, J. F. Mueller // The Journal of Parasitology. - 1975. – C. 1006-1015.
89. Davydov, V. G. The development of the tegument in ontogenesis of *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda: Pseudophyllidea) / V. G. Davydov, J. V. Korneva, B. I. Kuperman // Folia Parasitologica. – 1995. – T. 42, № 4. – C. 269-279.
90. Edgar, R.C. Muscle: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput / R.C. Edgar // Nucleic acids research. – 2004. – T. 32, № 5. – C. 1792-1797.
91. Eriksson, K. High-performance liquid chromatographic analysis of monoamines in the cestode *Diphyllobothrium dendriticum* / K. Eriksson, M. Gustafsson, G. Akerlind // Parasitology research. – 1993. – T. 79, № 8. – C. 699-702.
92. Eriksson, K. GABA in the nervous system of parasitic flatworms / K.S. Eriksson, A.G. Maule, D.W. Halton, P.A.J. Panula, C. Shaw // Parasitology. – 1995. – T. 110, № 3. – C. 339-346.
93. Edwards S. On the apparent absence of C-viruslike particles in the Caryophyllaeidae / S. Edwards, J. F. Mueller // Journal of Parasitology. – 1978. – T. 64. – C. 877.
94. Euzet, L. Ultrastructure comparée du spermatozoïde des cestodes. Relation avec la phylogénèse / L. Euzet // Ann Parasitol Hum Comp. – 1981. – T. 56. – C. 247-259.

95. Euzet, L. Problèmes posés par la spécificité parasitaire des cestodes Proteocephalidea et Pseudophyllidea parasites de poissons / L. Euzet // Mémoires du Museum d'Histoire Naturelle, Série A, Zoologie. – 1982. – T. 123. – C. 279-287.
96. Fairweather, I. *Hymenolepis nana*: the fine structure of the adult nervous system / I. Fairweather, L.T. Threadgold // Parasitology. – 1983. – T. 86, № 1. – C. 89-103.
97. Fairweather, I. Neuropeptides in platyhelminths / I. Fairweather, D.W. Halton // Parasitology. – 1991. – T. 102, № 1. – C. 77-92.
98. Freeman, R.S. Ontogeny of cestodes and its bearing on their phylogeny and systematics / R.S. Freeman // Advances in parasitology. – 1973. – T. 11. – C. 481-557.
99. Freze, V. Reconstruction of the systematics of cestodes of the order Pseudophyllidea Carus / V. Freze // Proceedings of the Third International Congress of Parasitology. – 1974. – T. 1. – C. 382-383.
100. Grabda, J. Studies on parasitisation and consumability of alaska pollack, *Theragra chalcogramma* (Pall.) / J. Grabda // Acta Ichthyologica et Piscatoria. – 1977. – T. 7, № 2. – C. 15-34.
101. Gallagher, K. Ultrastructure of cell types within the scolex and cephalic peduncle of the litobothriidean tapeworm, *Litobothrium aenigmaticum* / K. Gallagher, J. Caira, M. Cantino // Invertebrate Biology. – 2017. – T. 136, № 3. – C. 243-259.
102. Gil De Pertierra, A.A. Comparative study of the microtriches of adult cestodes (Proteocephalidea: Monticelliidae), and some comments on their systematic value / A.A. Gil De Pertierra // Zoologischer Anzeiger. A Journal of Comparative Zoology. – 2005. – T. 243, № 4. – C. 295-304.
103. Giles, N. Behavioural effects of the parasite *Schistocephalus solidus* (Cestoda) on an intermediate host, the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. / N. Giles // Animal Behaviour. – 1983 – T. 31, № 4 - C. 1192-1194.
104. Giribet, G. First molecular evidence for the existence of a Tardigrada + Arthropoda clade / G. Giribet, S. Carranza, J. Bagnà, M. Riutort, C. Ribera // Mol. Biol. Evol. – 1996. – T. 13, № 1. – C. 76–84.
105. Grammelvedt, A.F. Differentiation of the tegument and associated structures in *Diphyllobothrium dendriticum* Nitsch (Cestoda: Pseudophyllidea). An electron microscopical study / A.F. Grammelvedt // International journal for parasitology. – 1973. – T. 3, № 3. – C. 321-327.

106. Gustafsson, M.K.S. Synapses in *Diphyllobothrium dendriticum* (Cestoda). An electron microscopical study / M.K.S. Gustafsson // Ann. Zool. Fenn. – 1984. – T. 21. – C. 167–175.
107. Gustafsson, M.K.S. The cells of a cestode. *Diphyllobothrium dendriticum* as a model in cell biology / M.K.S. Gustafsson // In: Gustafsson, M.K.S., Reuter, M. (Eds.), The Early Brain. Acta Academiae Aboensis, Åbo. – 1990. – C. 13–44.
108. Gustafsson, M.K. Localization and identification of catecholamines in the nervous system of *Diphyllobothrium dendriticum* (Cestoda) / M.K. Gustafsson, K. Eriksson // Parasitology research. – 1991. – T. 77, № 6. – C. 498-502.
109. Gustafsson, M.K.S. Never ending growth and a growth factor. I. Immunocytochemical evidence for the presence of basic fibroblast growth factor in a tapeworm / M.K.S. Gustafsson, K. Eriksson // Growth Factors. – 1992. – T. 7. – C. 327–334.
110. Gustafsson, M.K.S. The gull-tapeworm, *Diphyllobothrium dendriticum* and *neuropeptide F*: an immunocytochemical study / M.K.S. Gustafsson, D.W. Halton, A.G. Maule, M. Reuter, C. Shaw // Parasitology. – 1994. – T. 109, № 5. – C. 599-609.
111. Gustafsson, M. K. Immunocytochemical evidence for the presence of “mammalian” neurohormonal peptides in neurones of the tapeworm *Diphyllobothrium dendriticum* / M. K. Gustafsson, M. A. Lehtonen, F. Sundler // Cell and tissue research. – 1986. – T. 243, № 1. – C. 41-49.
112. Gustafsson, M. K. S. Immunocytochemical evidence for the presence of substance P-like peptide in *Diphyllobothrium dendriticum* / M. K. S. Gustafsson, D. Nässel, A. Kuusisto // Parasitology. – 1993. – T. 106, № 1. – C. 83-89.
113. Gustafsson, M.K.S. Two types of frontal glands in *Diphyllobothrium dendriticum* (Cestoda, Pseudophyllidea) and their fate during the maturation of the worm / M.K.S. Gustafsson, B. Vaihela // Zeitschrift für Parasitenkunde. – 1981. – T. 66, № 2. – C. 145-154.
114. Gustafsson, M.K. Peptidergic and aminergic neurons in adult *Diphyllobothrium dendriticum* Nitzsch, (Cestoda, Pseudophyllidea) / M.K. Gustafsson, M.C. Wikgren // Zeitschrift für Parasitenkunde. – 1981. – T. 64, №2. – C. 121-134.
115. Gustafsson, M.K. Release of neurosecretory material by protrusions of bounding membranes extending through the axolemma, in *Diphyllobothrium*

- dendriticum* (Cestoda) / M.K. Gustafsson, M.C. Wikgren // Cell and Tissue Research. – 1981. – T. 220, № 3. – C. 473-479.
116. Gustafsson, M.K. Immunocytochemical demonstration of neuropeptides and serotonin in the tapeworm *Diphyllobothrium dendriticum* / M.K. Gustafsson, M.C. Wikgren, T.J. Karhi, L.P.C. Schot // Cell and Tissue Research. – 1985. – T. 240, № 2. – C. 255-260.
117. Gustafsson, M. K. Development of immunoreactivity to the invertebrate neuropeptide small cardiac peptide B in the tapeworm *Diphyllobothrium dendriticum* / M. K. Gustafsson, M. C. Wikgren // Parasitology Research. – 1989. – T. 75, № 5. – C. 396-400.
118. Halton, D.W. Functional morphology of the platyhelminth nervous system / D.W. Halton, M.K.S. Gustafsson // Parasitology. – 1996. – T. 113, № 1. – C. 47-72.
119. Halton, D.W. Flatworm nerve–muscle: structural and functional analysis / D.W. Halton, A.G. Maule // Canadian Journal of Zoology. – 2004. – T. 82, № 2. – C. 316-333.
120. Halton, D. W. Flatworm nerve–muscle: structural and functional analysis / D. W. Halton, A. G. Maule // Canadian Journal of Zoology. – 2004. – T. 82, №2. – C. 316-333.
121. Hayunga, E.G. Morphological adaptations of intestinal helminths / E.G. Hayunga // The Journal of Parasitology. – 1991. – T. 77, № 6. – C. 865-873.
122. Hemmingsen, W. The parasite fauna of cod (*Gadus morhua* L.) in Balsfjord, North Norway / W. Hemmingsen, N. Lile, O. Halvorsen // Polar Biology. – 1992. – T. 12, № 8. – C. 739-742.
123. Hilliard, D.K. Studies on the helminth fauna of Alaska. The taxonomic significance of eggs and coracidia of some diphylobothriid cestodes / D.K. Hilliard // The Journal of Parasitology. – 1960. – T. 46, № 6. – C. 703-716.
124. Hertel, L. A. Excretion and osmoregulation in the flatworms / L. A. Hertel // Transactions of the American Microscopical Society. – 1993. – C. 10-17.
125. Hess, E. A study of the microtriches and sensory processes of the tetrathyridium of *Mesocestoides corti* Høeppli, 1925, by transmission and scanning electron microscopy / E. Hess, R. Guggenheim // Zeitschrift für Parasitenkunde. – 1977. – T. 53, № 2. – C. 189-199.

126. Hildreth, M. B. Microanatomy of the *Otobothrium insigne* plerocercus (Cestoda: Trypanorhyncha) / M. B. Hildreth, R. D. Lumsden // The Journal of parasitology. – 1987. – C. 400-410.
127. Hoberg, E.P. Phylogeny of the orders of the *Eucestoda* (Cercomeromorphae) based on comparative morphology: historical perspectives and a new working hypothesis / E.P. Hoberg, J. Mariaux, J.L. Justine, D.R. Brooks, P.J. Weekes // The Journal of parasitology. – 1997. – T. 83, № 6. – C. 1128-1147.
128. Holy, J.M. Ultrastructure of the tegumental microvilli (microtriches) of *Hymenolepis diminuta* / J.M. Holy, J.A. Oaks // Cell and Tissue Research. – 1986. – T. 244. – C. 457-466.
129. Holy, J.M. Mechanical integration of muscle, tegument, and subtegumental tissues by anchoring fibrils and microfibrils in the cestode *Hymenolepis diminuta* / J.M. Holy, J.A. Oaks // Tissue and cell. – 1987. – T. 19, № 6. – C. 881-891.
130. Howells, R. Observation on the protonephridial system of the cestode, *Moniezia expansa* (Rud., 1805) / R. Howells // Parasitology. – 1969. – T. 59. – C. 449-459.
131. Hunter, G.W. Notes on the Caryophyllaeidae of North America / G.W. Hunter // The Journal of Parasitology. – 1927. – T. 4, № 1. – C. 16-26.
132. Hyman, L.H. The invertebrates: Platyhelminthes and Rhynchocoela, the acoelomate Bilateria / L.H. Hyman // New York: McGraw-Hill. –1951. – 550 c.
133. Jha, R.K. *Echinococcus granulosus*: Ultrastructure of microtriches / R.K. Jha, J.D. Smyth // Experimental parasitology. – 1969. – T. 25. – C. 232-244.
134. Jones, A. Helminths of rodents and marsupials from Papua New Guinea, with the description of two new species, *Echinostoma echymiperæ* n. sp. (Digenea: Echinostomatidae) and *Vampirolepis peroryctis* n. sp. (Cestoda: Hymenolepididae) / A. Jones, T. J. C. Anderson // Systematic Parasitology. – 1990. – T. 15, № 3. – C. 223-237.
135. Jones, M.K. *Nybelinia queenslandensis* sp. n. (Cestoda: Trypanorhyncha) parasitic in *Carcharhinus melanopterus*, from Australia, with observations on the fine structure of the scolex including the rhyncheal system / M.K. Jones, I. Beveridge // Folia Parasitologica. – 1998. – T. 45, № 4. – C. 295-311.
136. Kabbany, A. Ultrastructural studies of the tegument and excretory system of the cestode *Nematotaenia kashmirensis* (Fotedar, 1966) infecting the toad *Bufo regularis* in Egypt / A. Kabbany // Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries. – 2009. – T. 13, № 4. – C. 17-34.

137. Kearse, M. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data / M. Kearse, R. Moir, A. Wilson, S. Stones-Havas, M. Cheung, S. Sturrock, A. Drummond // *Bioinformatics*. – 2012. – T. 28, № 12. – C. 1647-1649.
138. Kodedová, I. On the phylogenetic positions of the Caryophyllidea, Pseudophyllidea and Proteocephalidea (Eucestoda) inferred from 18S rRNA. / I. Kodedová, D. Doležel, M. Broučková, M. Jirku, V. Hypša, J. Lukeš, T. Scholz // *International Journal for Parasitology*. – 2000. – T. 30, № 10. – C. 1109-1113.
139. Kornakova, E.E. Structure of parenchyma in *Udonella murmanica* (Turbellaria, Udonellida) and Main Trends in Evolution of Connective Tissue of Flat Worms / E.E. Kornakova // *Parazitol. Sb. Zool. In-ta AN SSSR*. – 1989. – T. 36. – C. 161-179.
140. Kornakova, E. E. The origin and early evolution of Neodermata (Platyhelminthes): 1. On the possible turbellarian roots of the group — morphological approach / E.E. Kornakova // *Parazitologiya*. - 2018. – T. 52. – C. 233-250.
141. Korneva, J.V. Cell compound of parenchyma and extracellular matrices of *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda) in ontogenesis / J.V. Korneva // *Wiadomości Parazytologiczne*. – 1998. – T. 44, № 3. – C. 596-612.
142. Korneva, Z.V. Cellular composition of parenchyma and extracellular matrix in ontogenesis of *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda) / Z.V. Korneva // *Biology Bulletin of the Russian Academy of Sciences*. – 2001. – T. 28, № 1. – C. 7-17.
143. Korneva, J.V. Fine structure and development of *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda) during metamorphosis: a review / J.V. Korneva // *Acta Zoologica*. – 2004. – T. 85, № 1. – C. 59-68.
144. Korneva, Z.V. Characterization of Cestoda Tissue Organization / Z.V. Korneva // *Biology Bulletin*. – 2013. – T. 40. – C. 146-157.
145. Korneva, J.V. Ultrastructural investigation of the secondary excretory system in different stages of the procercoid of *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda, Pseudophyllidea, Triaenophoridae) / J.V. Korneva, B. Kuperman, V. Davydov // *Parasitology*. – 1998. – V. 116, № 4. – P. 373-381.
146. Kuchta, R. Revision of the paraphyletic "*Pseudophyllidea*"(Eucestoda) with description of two new orders Bothriocephalidea and Diphyllbothriidea / R. Kuchta // Faculty of Biological Sciences, University of South Bohemia, Ph.D. Thesis. – 2007. – 97 c.

147. Kuchta, R. Suppression of the tapeworm order Pseudophyllidea (Platyhelminthes: Eucestoda) and the proposal of two new orders, Bothriocephalidea and Diphyllbothriidea / R. Kuchta, T. Scholz, J. Brabec, R.A. Bray // International Journal for Parasitology. – 2008. – T. 38, № 1. – C. 49-55.
148. Kuhlow, F. Researches on the Development of the Broad Tapeworm (*Diphyllbothrium latum*) / F. Kuhlow // Zeitschrift für Tropenmedizin und Parasitologie. – 1955. – T. 6, № 2. C- 213-25.
149. Kuperman, B.I. The fine structure of glands in oncospheres, procercooids and plerocercoids of Pseudophyllidea (Cestoidea) / B.I. Kuperman, V.G. Davydov // International Journal for Parasitology. – 1982. – T. 12, № 2. – C. 135-144.
150. Kuperman, B. I. The fine structure of frontal glands in adult cestodes / B. I. Kuperman, V. G. Davydov // International Journal for Parasitology. – 1982. – T. 12, № 4. – C. 285-293.
151. Kutyrev, I.A. Prostaglandins E₂ and D₂–regulators of host immunity in the model parasite *Diphyllbothrium dendriticum*: An immunocytochemical and biochemical study Prostaglandins / I.A. Kutyrev, N.M. Biserova, D.N. Olennikov, J.V. Korneva, O.E. Mazur // Molecular and Biochemical Parasitology. – 2017. – T. 212. – C. 33-45.
152. Kutyrev, I. A. Experimental study of ultrastructural mechanisms and kinetics of tegumental secretion in cestodes parasitizing fish (Cestoda: Diphyllbothriidea) / I. A. Kutyrev, N. M. Biserova, O. E. Mazur, Z. N. Dugarov // Journal of Fish Diseases. – 2021. – T. 44, № 8. – C. 1237-1254.
153. Landry, J. J. Feeding ecology of a common benthic fish, shorthorn sculpin (*Myoxocephalus scorpius*) in the high arctic / J.J. Landry, A.T. Fisk, D.J. Yurkowski, N.E. Hussey, T. Dick, R.E. Crawford, S.T. Kessel // Polar Biology. - 2018. - T. 41, № 10. - C. 2091-2102.
154. Lauckner, G. Diseases of Aves (marine birds) / G. Lauckner // – Hamburg: Biologische Anstalt Helgoland. – 1985. – 847 c.
155. Lyons, K. M. Ultrastructural observations on the epidermis of the polyopisthocotylean monogeneans *Rajonchocotyle emarginata* and *Plectanocotyle gurnardi* / K. M. Lyons // Zeitschrift für Parasitenkunde. – 1972. – T. 40, № 2. – C. 87-100.
156. Leuckart, R. Parasites of man and the diseases which proceed from them / R. Leuckart // – Edinburgh: Young J. – 1886. – 771 c.

157. Levron, C. SEM and TEM study of the armed male terminal genitalia of the tapeworm *Paraechinophallus japonicus* (Cestoda: Bothriocephalidea) / C. Levron, L.G. Poddubnaya, R. Kuchta, M. Freeman, Y.H. Wang, T. Scholz // Journal of Parasitology. – 2008. – T. 94, № 4. – C. 803-810.
158. Lindroos, P. The excretory ducts of *Diphyllobothrium dendriticum* (Nitzsch 1824) plerocercoids: ultrastructure and marker distribution / P. Lindroos // Zeitschrift für Parasitenkunde. – 1983. – T. 69, № 2. – C. 229-237.
159. Lindroos, P. Observations on the extracellular spaces and intercellular junctions in *Diphyllobothrium dendriticum* (Cestoda) / P. Lindroos // Acta Zoologica. – 1984. – T. 65, № 3. – C. 153-158.
160. Lindroos, P. The excretory system of *Diphyllobothrium dendriticum* (Nitzsch 1824) plerocercoids as revealed by an injection technique / P. Lindroos, T. Gardberg // Zeitschrift für Parasitenkunde. – 1982. – T. 67, № 3. – C. 289-297.
161. Lindroos, P. Extracellular matrix in platyhelminths, with special reference to the presence of fibronectin / P. Lindroos, M. Wikgren // Acta Zoologica. – 1987. – T. 68, № 3. – C. 147-151.
162. Lumsden, R.D. The ultrastructure of cestode muscle / R.D. Lumsden, J. Byram III // The Journal of parasitology. – 1967. – T. 68, № 3. – C. 326-342.
163. Mackiewicz, J.S. *Monobothrium hunteri* sp. n. (Cestoidea: Caryophyllaeidae) from *Catostomus commersoni* (Lacépède) (Pisces: Catostomidae) in North America / J.S. Mackiewicz // The Journal of Parasitology. – 1963. – C. 723-730.
164. Mackiewicz, J.S. Caryophyllidea (Cestoidea): a review / J.S. Mackiewicz // Experimental Parasitology. – 1972. – T. 31, № 3. – C. 417-512.
165. Mackiewicz, J.S. *Hunterella nodulosa* gen. n, sp. n. (Cestoidea: Caryophyllaeidae) from *Catostomus commersoni* (Lacépède) (Pisces: Catostomidae) in North America / J.S. Mackiewicz, R. McCrae // The Journal of Parasitology. – 1962. – C. 798-806.
166. Mackiewicz, J.S. *Biacetabulum biloculoides* n. sp. (Cestoidea: Caryophyllaeidae) from *Catostomus commersoni* (Lacépède) in North America / J.S. Mackiewicz, R.C. McCrae // Helminthological Society. – 1965. – T. 32, № 2. – C. 225-228.
167. Malmberg, G. On the proceroid protonephridial systems of three *Diphyllobothrium* species (Cestoda, Pseudophyllidea) and Janicki's cercomer theory / G. Malmberg // Zoologica Scripta. – 1971. – T. 1, № 1. – C. 43-56.

168. Malmberg, G. On the early development of the protonephridial systems in some species belonging to the genera *Diphyllobothrium*, *Triaenophorus* and *Schistocephalus* (Cestoda, Pseudophyllidea) / G. Malmberg // Zoologica Scripta. – 1972. – T.1, № 4. – C. 227-228.
169. Malmberg, G. On the larval protonephridial system of *Gyrocotyle* and the evolution of Cercomeromorphae (Platyhelminthes) / G. Malmberg // Zoologica Scripta. – 1974. – T. 3, №2 – C. 65-81.
170. Margolis, L. Helminth parasites of sea otters (*Enhydra lutris*) from Prince William Sound, Alaska: comparisons with other populations of sea otters and comments on the origin of their parasites / L. Margolis, J.M. Groff, S.C. Johnson, T.E. McDonald, M.L. Kent, R.B. Blaylock // Journal-Helminthological Society Washington. – 1997. – T. 64. – C. 161-168.
171. Mariaux, J. A molecular phylogeny of the Eucestoda / J. Mariaux // The Journal of parasitology. – 1998. – T. 84, № 1. – C. 114-124.
172. McCullough, J.S. Ultrastructure of excretory system of *Trilocularia acanthiaevulgaris* (Cestoda, Tetraphyllidea) / J.S. McCullough, I. Fairweather // Parasitology research. – 1991. – T. 77, № 2. – C.157-160.
173. Moniez, R.L. Mémoires sur les cestodes / Moniez R.L. // O. Doin. – 1881. – 238 c.
174. Morris, G.P. Studies of the differentiating plerocercoid cuticle of *Schistocephalus solidus* II. The ultrastructural examination of cuticle development / G.P. Morris, C.V. Finnegan // Canadian Journal of Zoology. – 1969. – T. 47, № 5. – C. 957-964.
175. Morseth, D.J. Fine structure of the hydatid cyst and protoscolex of *Echinococcus granulosus* / D.J. Morseth // The Journal of parasitology. – 1967. – T. 53, № 2. – C. 312-325.
176. Muller R. Worms and human disease / R. Muller // CABI Publishing, Wallingford, UK. – 2002. – C. 300.
177. Mustafina, A.R. The ultrastructure of the excretory system of *Pyramicocephalus phocarum* (Cestoda: Diphyllobothriidea) / A.R. Mustafina // 4th International Congress on the Invertebrate Morphology. – 2017. – T. 1. – C. 187-187.
178. Mustafina, A.R. *Pyramicocephalus phocarum* (Cestoda: Diphyllobothriidea): the ultrastructure of the tegument, glands, and sensory organs / A.R. Mustafina, N.M. Biserova // Invertebr Zool. – 2017. – T. 14. – C. 154-161.

179. Niyogi, A. Morphology of *lucknowia* sp. nov. (Lytocestidae: Caryophyllidea) / A. Niyogi, A.K. Gupta, S.M. Agarwal // Proceedings of the Indian Academy of Parasitology. – 1982. –T. 3, № 1. – C. 17-22.
180. Öhman-James, C. Cytology and cytochemistry of the scolex gland cells in *Diphyllobothrium ditremum* (Creplin, 1825) / C. Öhman-James // Parasitology Research. – 1973. – T. 42, № 1. – C. 77-86.
181. Ojeda-Cervantes, M. Mineralocorticoid receptor blockade reduced oxidative stress in renal transplant recipients: a double-blind, randomized pilot study / M. Ojeda-Cervantes, J. Barrera-Chimal, J. Alberú, R. Pérez-Villalva, L.E. Morales-Buenrostro, N.A. Bobadilla // American journal of nephrology. – 2013. –T. 37, № 5. – C. 481-490.
182. Okino, T. Ultrastructure studies on the papillae and the nonciliated sensory receptors of adult *Spirometra erinacei* (Cestoda, Pseudophyllidea) / T. Okino, R. Hatsushika // Parasitology research. – 1994. – T. 80, № 6. – C. 454-458.
183. Olson, P.D. Evolution of the major lineages of tapeworms (Platyhelminthes: Cestoidea) inferred from 18S ribosomal DNA and elongation factor-1 α / P.D. Olson, J.N. Caira // The Journal of parasitology. – 1999. – C. 1134-1159.
184. Olson, P.D. Interrelationships and evolution of the tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda) / P.D. Olson, D.T.J. Littlewood, R.A. Bray, J. Mariaux // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2001. – T. 19, № 3. – C. 443-467.
185. Osaki, Y. Ultrastructural studies on the plerocercoid of *Spirometra erinacei* in experimental sparganosis / Y. Osaki // Parasitology research. – 1990. – T. 76, № 6. – C. 466-472.
186. Palm H.W. *Otobothrium cysticum* (Cestoda: Trypanorhyncha) from the muscle of butterfishes (Stromateidae) / Palm H.W., Overstreet R.M. // Parasitology Research. – 2000. – T. 86, №1. – C. 41-53.
187. Palm, H.W. Surface ultrastructure of plerocercoids of *Bombycirhynchus sphyraenaicum* (Pintner, 1930) (Cestoda: Trypanorhyncha) / H.W. Palm, S.L. Poynton, P. Rutledge // Parasitology Research. – 1998. - T. 84, № 3. – C. 195-204.
188. Parshad, V.R. Comparative histochemical observations on the excretory system of helminth parasites / V.R. Parshad, S.S. Guraya // Parasitology Research. – 1977. – T. 52, № 1. – C. 81-89.

189. Pease, D. C. Infolded basal plasma membranes found in epithelia noted for their water transport / D. C. Pease // *The Journal of Cell Biology*. – 1956. – T. 2, № 4. – C. 203-208.
190. Pedersen, K.J. Invited review: structure and composition of basement membranes and other basal matrix systems in selected invertebrates / K.J. Pedersen // *Acta Zoologica*. – 1991. – T. 72, № 4. – C. 181-201.
191. Poddubnaya, L.G. Ultrastructural patterns of the excretory ducts of basal neodermatan groups (Platyhelminthes) and new protonephridial characters of basal cestodes / L.G. Poddubnaya, R. Kuchta, T. Scholz // *Parasites & Vectors*. – 2020. – T. 13, № 1. – C. 1-12.
192. Poddubnaya, L.G. Ultrastructure of *Archigetes sieboldi* (Cestoda: Caryophyllidea): relationship between progenesis, development and evolution / L.G. Poddubnaya, J.S. Mackiewicz, B.I. Kuperman // *Folia Parasitologica*. – 2003. – T. 50, № 4. – C. 275-292.
193. Poddubnaya, L.G. Ultrastructure of the proglottid tegument (neodermis) of the cestode *Echinophallus wagneri* (Pseudophyllidea: Echinophallidae), a parasite of the bathypelagic fish *Centrolophus niger* / L.G. Poddubnaya, T. Scholz, R. Kuchta, C. Levron, M. Bruňanská // *Parasitology research*. – 2007. – T. 101, № 2. – C. 373-383.
194. Radha, T. Ultrastructure of polymorphic microtriches in the tegument of *Raillietina echinobothrida* that infects *Gallus domesticus* (fowl) / T. Radha, V.A. Satyaprema, K. Ramalingam, S.P. Indumathi, C. Venkatesh // *J. Parasit Dis.* – 2006. – T. 30. – C. 153-162.
195. Rausch, R.L. A consideration of infraspecific categories in the genus *Echinococcus* Rudolphi, 1801 (Cestoda: Taeniidae) / R.L. Rausch // *The Journal of parasitology*. – 1967. – T. 53, № 3. – C. 484-491.
196. Rausch, R.L. Natural transfer of helminths of marine origin to freshwater fishes, with observations on the development of *Diphyllobothrium alascense* / R.L. Rausch, A.M. Adams // *Journal of Parasitology*. – 2000. – T. 86, № 2. – C. 319-327.
197. Rausch, R.L. Studies on the helminth fauna of Alaska. XLIX. The occurrence of *Diphyllobothrium latum* (Linnaeus, 1758) (Cestoda: Diphyllobothriidae) in Alaska, with notes on other species / R.L. Rausch, D.K. Hilliard // *Canadian Journal of Zoology*. – 1970. – T. 48, № 6. – C. 1201-1219.

198. Rees, G. The anatomy of *Cysticercus taeniae-taeniaeformis* (Batsch 1786) (*Cysticercus fasciolaris* Rud. 1808) from the liver of *Rattus norvegicus* (Erx.), including an account of spiral torsion in the species and some minor abnormalities in structure / G. Rees // Parasitology. – 1951. – T. 41. – C. 46-59.
199. Rees, G. Some parasitic worms from fishes off the coast of Iceland I. Cestoda / G. Rees // Parasitology. – 1953. – T. 43, № 2. – C. 4-14.
200. Rees, G. Nerve cells in *Acanthobothrium coronatum* (Rud.) (Cestoda: Tetracphyllidea) / G. Rees // Parasitology. – 1966. – T. 56. – C. 45-54.
201. Rees, G. The muscle, nervous and excretory systems of the plerocercoid of *Callitetrarhynchus gracilis* (Rud 1819) (Pinter 1931) (Cestoda: Trypanorhyncha) from Bermuda fishes / G. Rees // Parasitology. – 1988. – T. 96. – C. 337-351.
202. Rees, G. The functional morphology of the scolex and the genitalia of *Acanthobothrium coronatum* (Rud.) (Cestoda: Tetracphyllidea) / G. Rees, H.H. Williams // Parasitology. – 1965. – T. 55. – C. 617-651.
203. Rees, G. A record of the trematode and cestode parasites of fishes from the Porcupine Bank, Irish Atlantic Slope and Irish Sea / G. Rees, J. Llewellyn // Parasitology. – 1941. – T. 33, № 4. – C. 390-396.
204. Rees, G. The plerocercoid larva of *Grillotia heptanchi* (Vaullegeard) / G. Rees // Parasitology. – 1950. – T. 40. – C. 265-272.
205. Reid, W.M. Penetration glands in cyclophyllidean onchospheres / W.M. Reid // Transactions of the American Microscopical Society. – 1948. – T. 67, № 2. – C. 177-182.
206. Richards, K. S. Sensory receptors in the scolex-neck region of *Caryophyllaeus laticeps* (Caryophyllidea: Cestoda) / K. S. Richards, C. Arme // The Journal of Parasitology. – 1982. – C. 416-423.
207. Richmond, C. Morphological investigations into *Floriceps minacanthus* (Trypanorhyncha: Lacistorhynchidae) with analysis of the systematic utility of scolex microtriches / C. Richmond, J.N. Caira // Systematic Parasitology. – 1991. – T. 19, № 1. – C. 25-32.
208. Rhode, K. Ultrastructural studies of *Austramphilina elongata* (Cestoda, Amphilinidea) / K. Rhode // Zoomorphology. – 1986. – V. 106, № 2. – P. 91-102.
209. Rohde, K. Phylogeny of Platyhelminthes, with special reference to parasitic groups / K. Rohde // International journal for parasitology. – 1990. – T. 20, № 8. – C. 979-1007.

210. Rohde, K. Development of the protonephridia of *Austramphilina elongate* / K. Rohde, N. Watson // Parasitology Research. – 1988. – T. 74, № 3. – C. 255-261.
211. Rohde, K. Ultrastructure of the flame bulbs and protonephridial capillaries of *Prorhynchus* (Lecithoepitheliata, Prorhynchidae, Turbellaria) / K. Rohde, N. Watson // Zoologica Scripta. –1991. – T. 20, № 2. – C. 99-106.
212. Rohde, K. Ultrastructure of the protonephridial system of *Anoplodiscus cirrusspiralis* (Monogenea Monopisthocotylea) / K. Rohde, N.A. Watson, F.R. Roubal // International Journal for Parasitology. – 1992. – T. 22, № 4. – C. 443-457.
213. Rothman, A.H. The physiology of tapeworms, correlated to structures seen with the electron microscope / A.H. Rothman // Journal of Parasitology. – 1959. – T. 45, № 4. – C. 28-35.
214. Rozario, T.A. confocal microscopy-based atlas of tissue architecture in the tapeworm *Hymenolepis diminuta* / T. Rosario, P.A Newmark // Experimental parasitology. – 2015. – № 158. – C. 31-41.
215. Ruppert, E. E. The functional organization of filtration nephridia / E. E. Ruppert, P. R. Smith // Biological Reviews. – 1988. – T. 63, № 2. – C. 231-258.
216. Sánchez, F. Ultrastructural localization of major hydatid fluid antigens in brood capsules and protoscoleces of *Echinococcus granulosus* of human origin / J. Garcia, F. March, N. Cardeñosa, P. Coll, C. Muñoz, G. Prats // Parasite immunology. – 1993 - T.15, № 8 - C. 441-447.
217. Schaeffner, B.C. Revision of *Wenyonia* Woodland, 1923 (Cestoda: Caryophyllidea) from catfishes (Siluriformes) in Africa / B.C. Shaeffner, M. Jirku, Z.N. Mahmoud, T. Scholz // Systematic Parasitology. – 2011. – T. 79, № 2. – C. 83-107.
218. Scharsack, J. P. Who is in control of the stickleback immune system: interactions between *Schistocephalus solidus* and its specific vertebrate host / J. P. Scharsack, K. Koch, K. Hammerschmidt // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2007 - T. 274, № 1629. - C. 3151-3158.
219. Schmidt, G.D. CRC handbook of tapeworm identification / G.D. Schmidt // CRC Press, Inc. – 1986. – № 675.
220. Sommer, F. Über den Bau der geschlechtsreifen Gleiden von *Bothriocephalus latus* Linne / F. Sommer, L. Landois // Zeitschrift für wissenschaftliche Zool. – 1872. – T. 22. – C. 44-99.

221. Steudener, F.W.E. Untersuchungen über den feineren Bau der Cestoden / F.W.E. Steudener // HW Schmidt. – 1877. – C. 277-316.
222. Swiderski, Z. Ultrastructural studies on the cellular organisation of the coracidium of the cestode *Bothriocephalus clavibothrium* Ariola / Z. Swiderski, J.S. Mackiewicz // Acta Parasitologica. – 2004. – T. 22, № 49. – C. 116-139.
223. Świderski, Z. Postembryonic development of tapeworms—source of novel phylogenetic characters for analysis of cestode evolution: comparative TEM studies / Z. Świderski // Helminthologia. – 2007. – T. 44, № 3. – C. 130-136.
224. Threadgold, L.T. Parasitic platyhelminths / L.T. Threadgold // In Biology of the Integument. – 1984. – C. 132-191.
225. Thurston, J. P. The morphology and life-cycle of *Cephalochlamys namaquensis* (Cohn, 1906) (Cestoda: Pseudophyllidea) from *Xenopus muelleri* and *X. laevis* / J. P. Thurston // Parasitology. – 1967. T. 57, № 1. – C. 187-200.
226. Valverde-Islas, L.E. Visualization and 3D reconstruction of flame cells of *Taenia solium* (Cestoda) / L.E. Valverde-Islas, E. Arrangoiz, E. Vega, E. Robert, L. Villanueva, O. Reynoso-Ducoing, O, J.R. Ambrosio // PloS one. – 2011. – T. 6, №3. – C. 147-154.
227. Von Bonsdorff, C.H. The flagellar structure of the flame cell in fish tapeworm (*Diphyllobothrium latum*) / C.H. Von Bonsdorff, Antti Telkka // Zeitschrift für Zellforschung. – 1966. – T. 70. - C. 169-179.
228. Vogel, H. Development of Procercooids of *Diphyllobothrium latum* / H. Vogel // Zeitschrift für Parasitenkunde. – 1930. – T. 2, № 5. – C. 629-644.
229. Waeschenbach, A. The catholic taste of broad tapeworms—multiple routes to human infection / A. Waeschenbach, J. Brabec, T. Scholz, D.T.J. Littlewood, R. Kuchta // International Journal for Parasitology. – 2017. – T. 47, № 13. – C. 831-843.
230. Waeschenbach, A. A molecular framework for the Cestoda / A. Waeschenbach, T. Littlewood // The KU Natural History Museum. – 2017. – T. 25. – C. 431 – 451.
231. Waeschenbach, A. Added resolution among ordinal level relationships of tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda) with complete small and large subunit nuclear ribosomal RNA genes / A. Waeschenbach, B.L. Webster, R.A. Bray, D.T.J. Littlewood // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2007. – T. 45, №1. – C. 311-325.

232. Wahlberg, M.H. The distribution of F-actin during the development of *Diphyllobothrium dendriticum* (Cestoda) / M.H. Wahlberg // Cell and tissue research. – 1998. – T. 291, № 3. – C. 561-570.
233. Webb, R.A. Ciliated sensory receptors of the unactivated metacestode of *Hymenolepis microstoma* / R.A. Webb, K.G. Davey // Tissue and Cell. – 1974. – T. 6, № 4. – C. 587-598.
234. Webb, R.A. Ultrastructural changes in an unciliated sensory receptor during activation of the metacestode of *Hymenolepis microstoma* / R.A. Webb, K.G. Davey // Tissue and Cell. – 1975. – T. 7, № 3. – C. 519-524.
235. Webster, L.A. Absorption of glucose, lactate and urea from the protonephridial canals of *Hymenolepis diminuta* / L.A. Webster // Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology. – 1972. – T. 41, № 4. – C. 861-868.
236. Webster, L.A. The chemical composition of protonephridial canal fluid from the cestode *Hymenolepis diminuta* / L.A. Webster, R.A. Wilson // Comparative Biochemistry and Physiology. – 1970. – T. 35, № 1. – C. 201-209.
237. Whiting, M.F. The Strepsiptera problem: phylogeny of the holometabolous insect orders inferred from 18S and 28S ribosomal DNA sequences and morphology / M.F. Whiting, J.M. Carpenter, Q.D. Wheeler, W.C. Wheeler // Systematic Biology. – 1997. – T. 46. – C. 1–68.
238. Wicht, B. Multiplex PCR for differential identification of broad tapeworms (Cestoda: *Diphyllobothrium*) infecting humans / B. Wicht, T. Yanagida, T. Scholz, A. Ito, J.A. Jiménez, J. Brabec // Journal of clinical microbiology. – 2010. – T. 48, № 9. – C. 3111-3116.
239. Wikgren, M. Immunocytochemical localization of histamine in flatworms / M. Wikgren, M. Reuter, M.K. Gustafsson, P. Lindroos // Cell and tissue research. – 1990. – T. 260, № 3. – C. 479-484.
240. Wilson, R.A. Protonephridia / R.A. Wilson, L.A. Webster // Biological Reviews. – 1974. – T. 49, № 2. – C. 127-160.
241. Woodland, W.N.F. Memoirs: On some remarkable new Forms of Caryophyllaeidae from the Anglo-Egyptian Sudan, and a Revision of the Families of the Cestodaria / W.N.F. Woodland // Journal of Cell Science. – 1923. – T. 2, № 267. – C. 435-472.
242. Xi, B.W. The occurrence of the common European fish cestode *Caryophyllaeus laticeps* (Pallas, 1781) in the River Irtys, China: a morphological

- characterization and molecular data / B.W. Xi, D. Barčák, M. Oros, K. Chen, J. Xie // *Acta Parasitologica*. – 2016. – Т. 61, № 3. – С. 493-499.
243. Xylander, W.E.R. Ultrastructure of the lycophora larva of *Gyrocotyle urna* (Cestoda, Gyrocotylidae). The protonephridial system / W.E.R. Xylander // *Zoomorphology*. – 1987. – Т. 107. – С. 88-95.
244. Xylander, W. E. Investigations on the protonephridial system of postlarval *Gyrocotyle urna* and *Amphilina foliacea* (Cestoda) / W. E. Xylander // *International journal for parasitology*. – 1992. – Т. 22, № 3. – С. 287-300.
245. Xylander, W.E.R. Gyrocotylidae, Amphilinidae and the early evolution of Cestoda / W.E.R. Xylander // *Interrelationships of the Platyhelminthes*. London: Taylor and Francis. – 2001. - С.103–111.
246. Yamane, Y. Observations on the ultrastructure of the excretory canal of the cestode, *Spirometra erinacei* / Y. Yamane, N. Yoshida, S. Yazaki, J. Maejima // *Shimane J Med Sci*. – 1978. – Т. 2. – С. 1-14.
247. Yoneva, A. Comparative morphology of surface ultrastructure of diphylobothriidean tapeworms (Cestoda: Diphylobothriidea) / A. Yoneva, T. Scholz, R. Kuchta // *Invertebrate biology*. – 2018. – Т. 137, № 1. – С. 38-48.

Ресурсы

Таксономические данные [Июль 2022] из Integrated Taxonomic Information System (ITIS) онлайн базы данных, www.itis.gov, CC0 <https://doi.org/10.5066/F7KH0KBK>

Последовательности генетических данных взять из National Center for Biotechnology Information (NCBI) [Сентябрь 2021] Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; [1988] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Приложение

Таблица 1. Сводный список терминов, относящихся к выделительной системе цестод из литературных источников

Определение структуры в интерпретации автора	Варианты терминов, упомянутые в публикациях
Протонефридиальная ресничная клетка, характеризуется наличием многочисленных ресничек, объединенных в плотный пучок	<p>Flame cell (Bonsdorff, Telkka, 1966; Howells, 1968; Yamane et al., 1978; Lindroos, Gardberg, 1982; McCullough, Fairweather, 1991; McCullough et al., 1990; Rohde, 1991; Coil, 1991; Hertel, 1993; Swiderski et al., 2007; Valverde-Islas et al., 2011; Rozario et al., 2015; Barčák et al., 2019)</p> <p>Terminal cell (Xylander, 1992; Hertel, 1993; Rohde, 1998; Kornakova, 2018; Poddubnaya et al., 2020)</p>
Тонкие длинные цитоплазматические выросты наружной мембраны цитозита	<p>Leptotriches (Wilson et al., 1974; McCullough, Fairweather, 1991; McCullough et al., 1990; Coil, 1991; Xylander, 1992; Hertel, 1993; Świderski et al., 2007; Valverde-Islas et al., 2011; Kornakova, 2018; Barčák et al., 2019; Poddubnaya et al., 2020)</p> <p>Inner outgrowth (Rohde, 1998)</p>
Начало выделительного канала, первый сегмент канала в виде воронки, в которую обращены реснички протонефридиальной ресничной клетки. Край воронки несет длинные выросты-микроворсинки (см. ниже), входящие в состав фильтрационного комплекса	<p>Efferent duct (Yamane et al., 1978)</p> <p>Capillary (Malmberg, 1972, 1974; Rohde, 1991, 1998)</p> <p>First proximal canal cell (Kornakova, 2018)</p> <p>Terminal tubule (Coil, 1991; Swiderski et al., 2007)</p> <p>First canal cell = proximal canal cell, forming protonephridial canal (Xylander, 1992)</p> <p>Collecting tubules (Bonsdorff, Telkka, 1966; Swiderski et al., 2007)</p> <p>Excretory duct (McCullough, Fairweather, 1991)</p> <p>Nephridial tubule (Świderski et al., 2007)</p> <p>Nephridial funnel (Swiderski et al., 2007)</p> <p>Adjacent collecting duct (Rozario et al., 2015)</p> <p>Protonephridial duct (Valverde-Islas et al., 2011)</p> <p>Proximal duct (Poddubnaya et al., 2020)</p> <p>Terminal ductile with nephridial funnel (Howells, 1968)</p> <p>Tubule (Bonsdorff, Telkka, 1966; Wilson et al., 1974)</p>
Полость внутри протонефридия, образованная протонефридиальной ресничной клеткой и воронкообразным первым сегментом канала	<p>Nephridial chamber (Świderski et al., 2007)</p> <p>Lumen (Valverde-Islas et al., 2011)</p> <p>Terminal chamber (Howells, 1968)</p>
Фильтрационный комплекс, образованный протонефридиальной ресничной клеткой и воронкообразным первым сегментом канала, либо одной ресничной клеткой	<p>Flame bulb (Malmberg, 1972, 1974; Rohde, 1991; Kornakova, 2018)</p> <p>Terminal organ (Wilson et al., 1974; Poddubnaya et al., 2020)</p>

<p>Длинные пальцевидные выросты наружной плазматической мембраны, образующие упорядоченную структуру в виде воротничка вокруг пучка ресничек протонефридиальной ресничной клетки и воронкообразного первого сегмента канала</p>	<p>Ribs (McCullough, Fairweather, 1991; McCullough et al., 1990; Rohde, 1991, 1998; Kornakova, 2018; Barčák et al., 2019; Poddubnaya et al., 2020) Rods (flame cell rods and nephridial rods) (Howells, 1968; Coil, 1991; Xylander, 1992; Hertel, 1993; Świdorski et al., 2007) Rod-like structures (Bonsdorff, Telkka, 1966) Fingers of a cell (Wilson et al., 1974)</p>
<p>Упорядоченная система микроворсинок протонефридиальной ресничной клетки и воронкообразного первого сегмента канала для ультрафильтрации</p>	<p>Funnel of flame cell (Yamane et al., 1978) Weir (Rohde, 1988, 1991; Xylander, 1987, 1992; Hertel, 1993; Kornalova, 2018; Poddubnaya et al., 2020)</p>
<p>Соединение поверхностных надмембранных структур микроворсинок, соединяющих противостоящие мембраны цитоплазмы и воронки</p>	<p>Filtration membrane (Kornakova, 2018) Filtration 'membrane' (Rohde, 1991, 1998; Xylander, 1992) Zonula adhaerens (McCullough, Fairweather, 1991; Poddubnaya et al., 2020) Amorphous diaphragm (Świdorski et al., 2007) Fibrous sheet (McCullough et al., 1990; Barčák et al., 2019)</p>
<p>Совокупность канальной части выделительной системы, включающая протонефридиальные воронки, каналы 1-го и 2-го порядков, центральные каналы, анастомозы, мочевого пузыря (см. ниже). Образована экскреторным синцитиальным эпителием</p>	<p>Efferent, primary excretory, secondary excretory duct and collecting excretory canal (Yamane et al., 1978) Peripheral network of ducts; two longitudinal ducts, communicating through transverse ducts; a capillary plexus in the scolex and the excretory bladder and pore in the tail region; capillary bridge (Lindroos, Gardberg, 1982) Dorsal and ventral excretory vessels (Rees, 1988) Dorsal and ventral longitudinal collecting ducts, transverse duct, excretory bladder (Coil, 1991) Distal protonephridial canals of I and II types (Xylander, 1992) Protonephridial canals (Malmberg, 1972) Excretory canals formed by proximal canal cell, distal canal cell and nephridiopore cell (oncosphere) (Korneva, 1994) Major collecting canals (Swiderski et al., 2007; Barčák et al., 2019)</p>
<p>Поверхностные структуры внутренней поверхности каналов выделительной системы</p>	<p>Particles (Yamane et al., 1978) Microvilli (Howells, 1968; McCullough, Fairweather, 1991; McCullough et al., 1990; Rohde, 1991, 1998; Xylander, 1992; Korneva, 2004; Swiderski et al., 2007; Barčák et al., 2019; Poddubnaya et al., 2020) C-type particles in excretory tubules wall (Dougherty et al., 1975) Cytoplasmic lamellae (Rohde, 1991; Xylander, 1992) Luminal cytoplasmic folds (Xylander, 1992) Protrusions (Lindroos, 1983)</p>

Резервуар в каудальной части тела, соединенный с отверстием на заднем конце тела	Excretory bladder (Mackiewicz, 1963; Lindroos, Gardberg, 1982) Urine bladder (Hein, 1904; Xylander, 1992) Excretory vesicle (Rees, 1988) Widened cavity with narrow canal (Rohde, 1991)
Отверстие выделительной системы на поверхности тела	Primary pores (Malmberg, 1972) Excretory pores (Rees, 1951)
Дистальный отдел выделительной системы на поверхности тела, либо клетка, формирующая эту часть выделительной системы	Nephridiopore (lycophore, parasitic larva) (Malmberg, 1974; Xylander, 1992) Nephridiopore cell (Xylander, 1987; Korneva, 2004)
Отверстие на заднем конце тела	Terminal excretory pore (Lindroos, Gardberg, 1982; Lindroos, 1983; Rees, 1988) Nephridiopore (Xylander, 1992)
Тегументальный канал\инвагинация, который связан с отверстием на заднем конце тела	Excretory vesicle (Rees, 1988) Excretory bladder (Malmberg, 1972)

Таблица 4. Термины и определения, используемые в описании выделительной системы автором диссертации

Термин	Определение
Терминальная ресничная клетка, пламенная клетка	Ресничная клетка, характеризуется наличием многочисленных ресничек, объединенных в плотный пучок
Лептотрихии	Тонкие длинные цитоплазматические выросты наружной мембраны циртоцита, не участвуют в формировании верши
Протонефридиальная воронка	Начало выделительного канала, первый сегмент канала в виде воронки, в которую обращены реснички циртоцита. Край воронки несет длинные микроворсинки (см. ниже), входящие в состав фильтрационного комплекса
Протонефридиальная камера	Полость, образованная терминальной клеткой и протонефридиальной воронкой; полость верши
Терминальный орган	Фильтрационный комплекс, образованный терминальной клеткой и протонефридиальной воронкой
Микроворсинки верши \ терминальной клетки \ протонефридиальной воронки	Длинные пальцевидные выросты наружной плазматической мембраны двух разных клеток, образующие упорядоченную структуру в виде воротничка вокруг пучка ресничек терминальной клетки и по краю протонефридиальной воронки
Верша	Упорядоченная система интердигитирующих микроворсинок терминальной клетки и протонефридиальной воронки для ультрафильтрации
zip-соединение волокон гликокаликса по типу zonula adherens	Соединение поверхностных надмембранных структур микроворсинок верши по типу застегнутой молнии, соединяющей противостоящие мембраны терминальной клетки и протонефридиальной воронки
Система каналов выделительной системы \ система экскреторных каналов \ канальная система)	Совокупность канальной части выделительной системы, включающая протонефридиальные воронки, каналы 1-го и 2-го порядков, центральные каналы, анастомозы, мочевого пузырь

Мочевой пузырь	Лопастной резервуар в каудальной части тела, образованный экскреторным эпителием, в который впадают главные каналы. Связан с резервуаром терминальной экскреторной поры посредством нефропора
Нефропор	Пора и место контакта экскреторного эпителия с тегументом, ограниченное кольцевым септированным контактом
Терминальная экскреторная пора	Отверстие на заднем конце тела, образованное складкой тегумента и соединенное с системой каналов экскреторной системы нефропорами
Резервуар экскреторной поры	Тегументальный канал\инвагинация, в который открываются нефропоры мочевого пузыря и периферических каналов

Список сокращений в иллюстрациях:

- A, Ax - аскон;
- An – закоривающие филаменты в базальном матриксе
- Ap – апекс сколекса
- b – тело
- base – базальная часть микротрихии
- Bb – дно ботрии
- BF – ботриальные складки
- BL – доли мозга
- BP – базальная пластинка
- c – цитон
- ca – полость
- cap - апикальная часть микротрихии
- Cc – соединительнотканная капсула
- Ci – ресничка
- Cm – мускулатура канала
- CN – кольцевой нерв
- cr - микроворсинки циртоцита
- cv - clear vesicles
- db – дорсальная ботрия
- dist – дистальная зона
- dn – дорсальный нерв
- DN – темный нейрон
- Dr – дорсальный нервный корешок
- dv – плотные везикулы
- dvM – дорсовентральные мышцы
- eb - мочевого пузыря
- est - экстраклеточный матрикс
- Ee – экскреторный эпителий
- em - внеклеточный матрикс на микроворсинках верши, образующий zip-соединение
- eST – пустые выводные протоки эккриновых желез
- Ex – протонефридиальная система
- Fa – F-актин;
- fc – терминальная клетка
- FG – фронтальные железы
- fr - микроворсинки протонефридиальной воронки
- GI – цитоплазма с гликогеном
- isa - внутриклеточные каналы 1го порядка выделительной системы
- la – ламеллы
- Lat – латеральная зона сколекса
- lep - лептотрихии
- LL – латеральная доля
- lm – продольные мышцы
- LN – светлый нейрон
- lr – латеральный корешок
- lu - просвет канала
- M – миоцит
- MC – медианная комиссура
- mca - главные каналы выделительной системы
- Med – медиальная зона
- mf – миофибриллы
- Mi – малые стволы
- mi – митохондрии
- mic – микроворсинки
- mt - микротрихии
- N – нейрон
- nf – нефропор
- NP – нейропиле
- NS – нейросекреторный нейрон
- nt - нервные терминали
- Nu – ядро
- p – паренхима
- pca - периферические каналы выделительной системы (каналы 2го порядка)
- pf – протонефридиальная воронка
- pNP – периферические нейропиле
- Pr – отростки цитонов
- Prox – проксимальная зона
- R – корешок реснички
- rm - кольцевая мускулатура
- RN – радиальные нервы
- rt - резервуар терминальной поры
- S – секреторные гранулы
- SC – секреторные клетки
- Se – синаптическое окончание
- SG – секреторные гранулы в выводных протоках
- sj – септированный контакт
- Sm – субтегументальная мускулатура
- SP - секреторные отростки
- ST - секреторные терминали
- stpl – субтегументальный плексус
- sv - секреторные везикулы
- T – тегумент
- t - трубочки
- Tb – палочковидные и/или дисковидные тела
- tm - поперечные, латеро-латеральные мышцы
- TP – терминальная пора
- v – везикулы
- vb – вентральные ботрии
- Ve - верша
- vn, vr – вентральный корешок

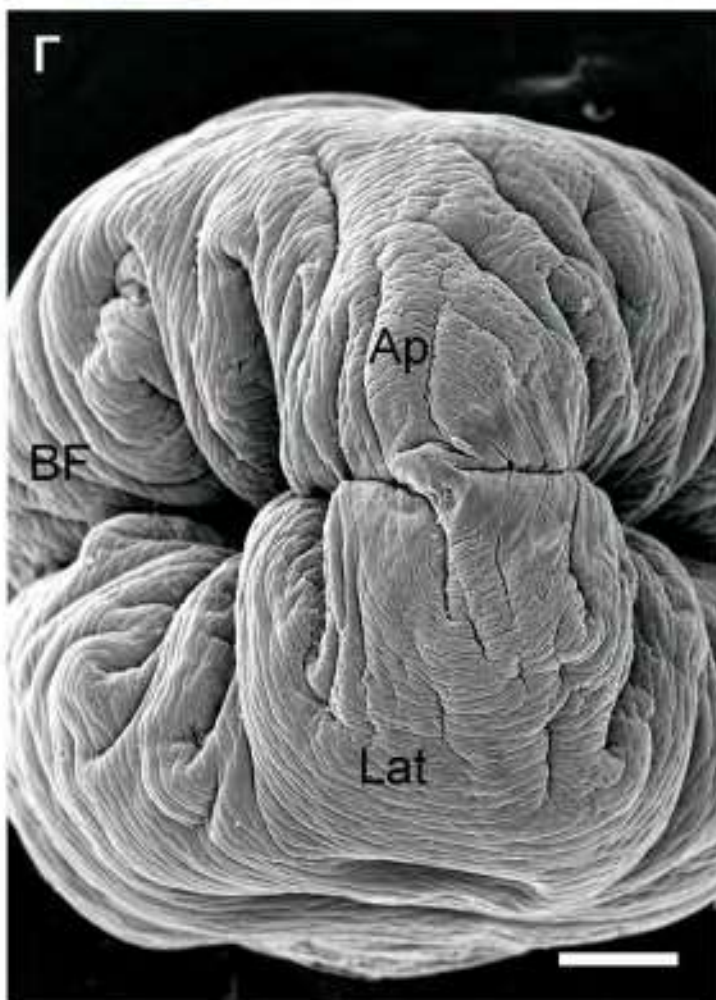
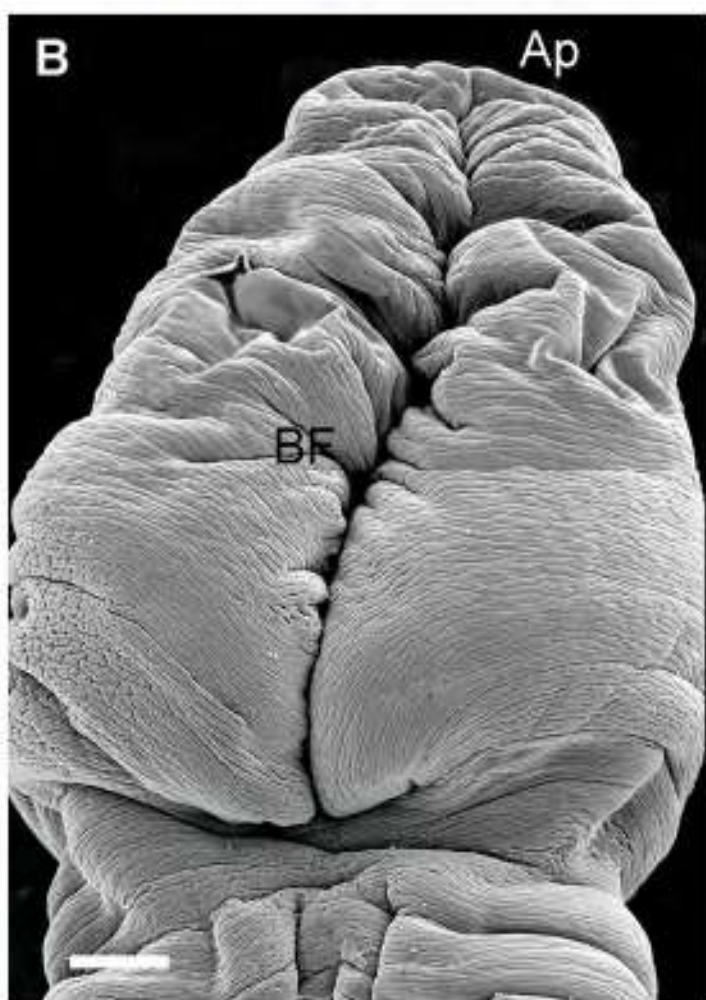
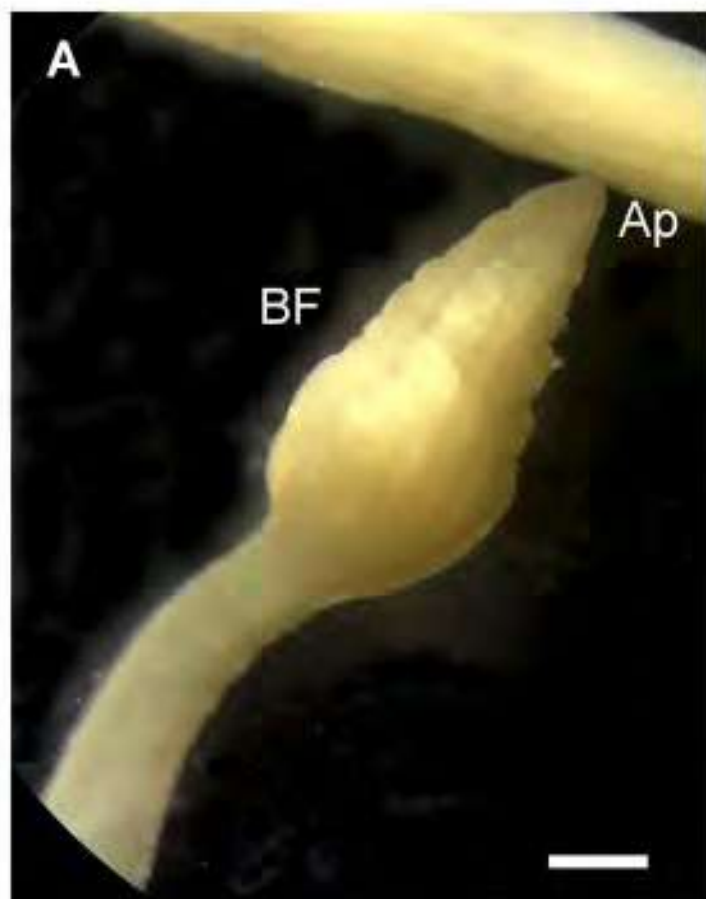


Рисунок 3. Сколекс плероцеркоида. А - сколекс в расслабленном состоянии; Б - сколекс в сокращенном состоянии; В - сколекс дорсальной или вентральной стороны; Г - сколекс сверху. Масштаб: 1 мм, 1 мм, 200 мкм, 200 мкм.

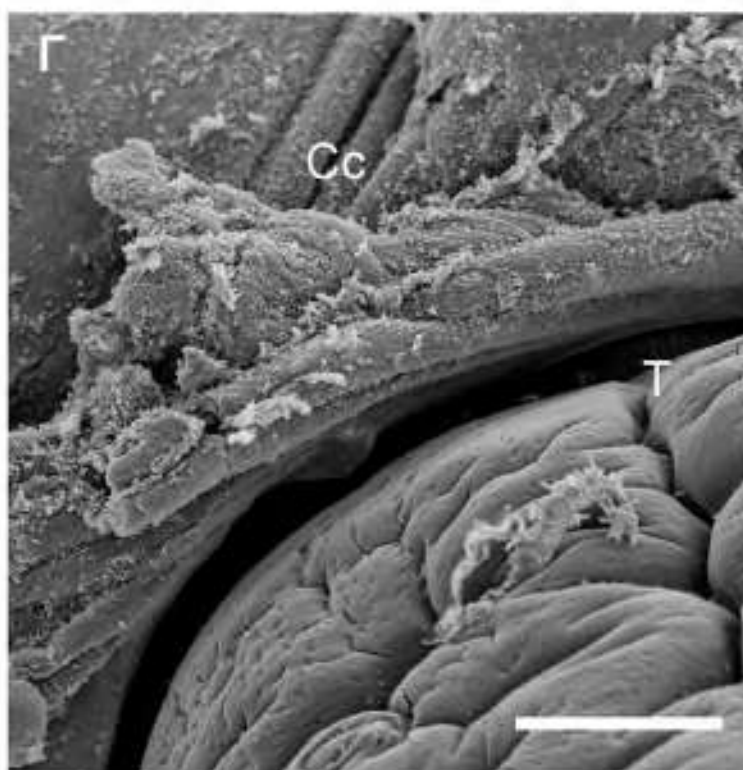
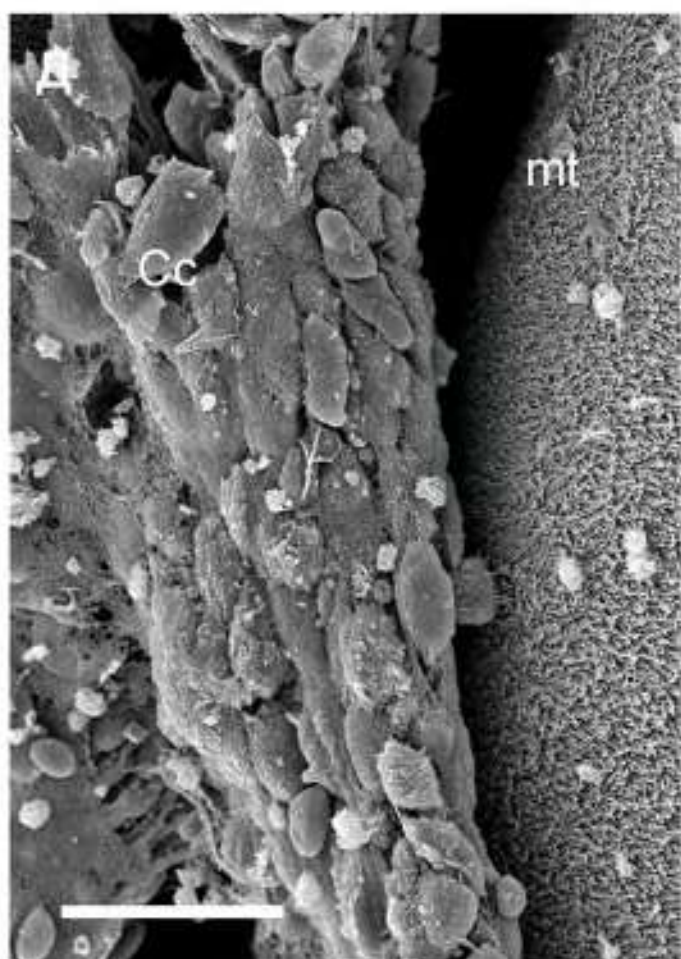
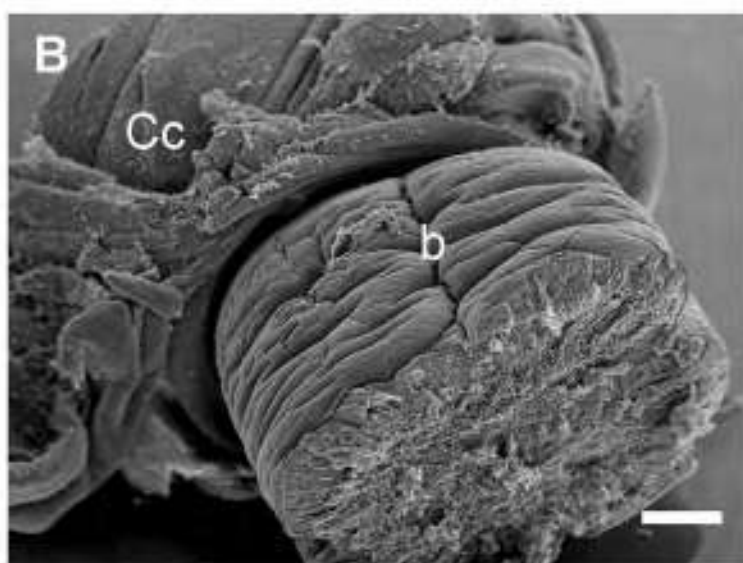
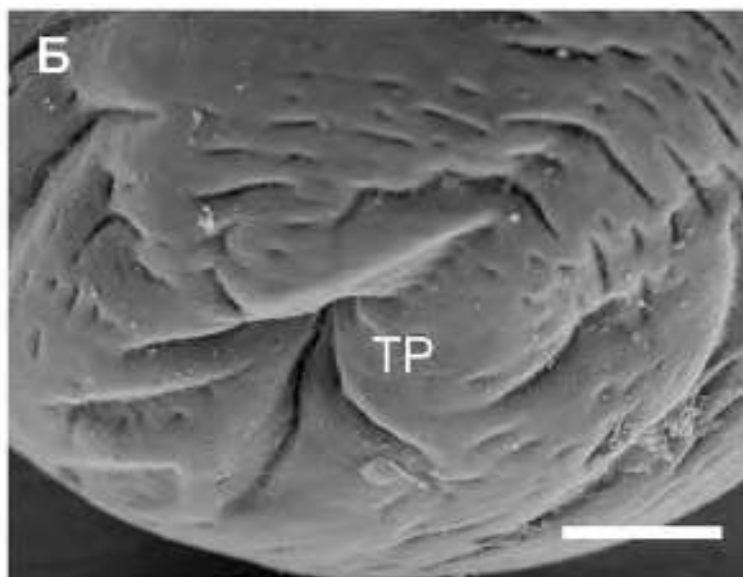
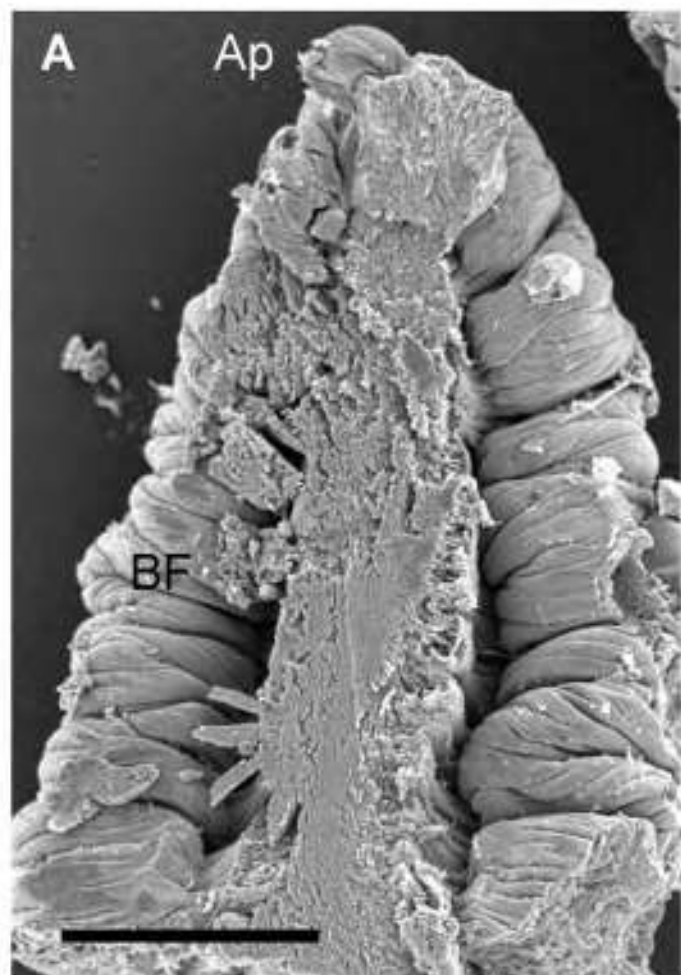


Рисунок 4. Внешний вид плероцеркоида. А - сколекс, разрезанный вдоль саггитальной плоскости; Б - терминальная пора; В - тело плероцеркоида в соединительнотканной капсуле; Г - соединительнотканная капсула; Д - соединительнотканная капсула, детальный вид. Масштаб 500 мкм, 100 мкм, 300 мкм, 20 мкм.

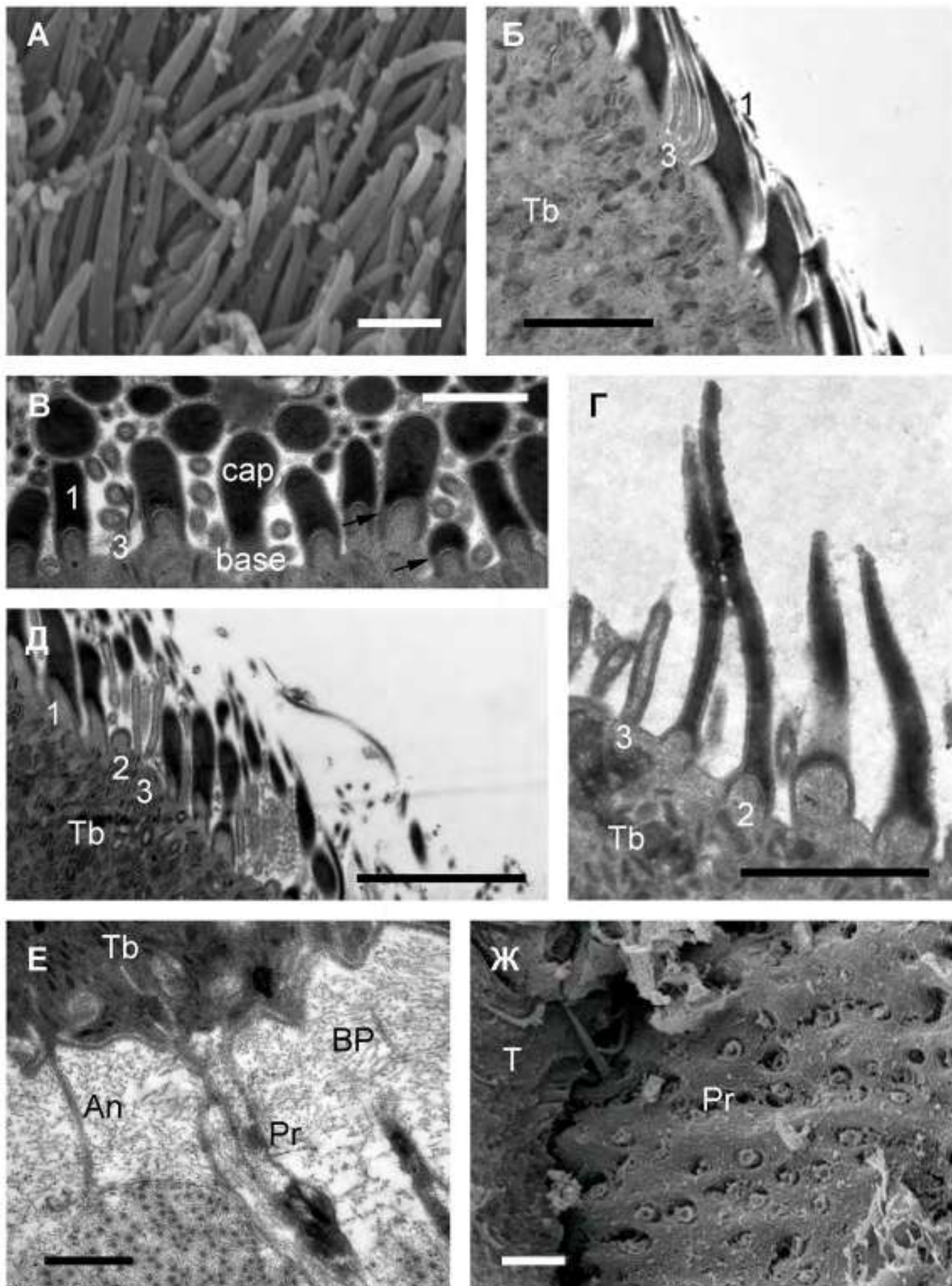


Рисунок 5. Тегумент, стрелки указывают на base plate микротрихий. А - микротрихий на сканирующем электронном микроскопе; Б - микротрихий 1 и 3 типов; В - микротрихий 1 и 3 типов, срезанные поперечно; Г - микротрихий 2 типа; Д - разнообразие микротрихий; Е - закоривающие филаменты в базальной пластинке тегумента; Ж - фронтальный вид базальной пластинки под сканирующим электронным микроскопом. Масштаб: 1 мкм, 2 мкм, 500 нм, 1 мкм, 2 мкм, 500 нм, 2 мкм.

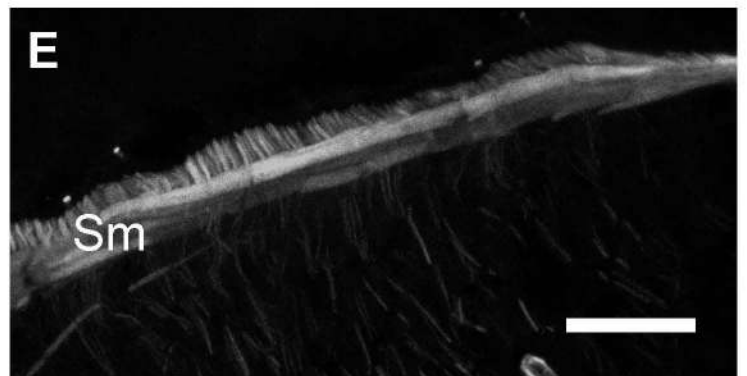
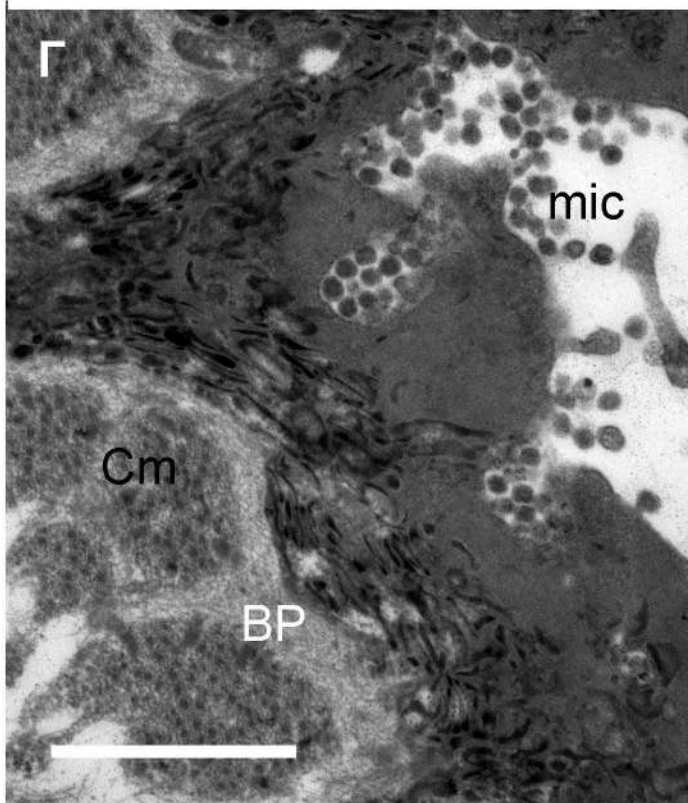
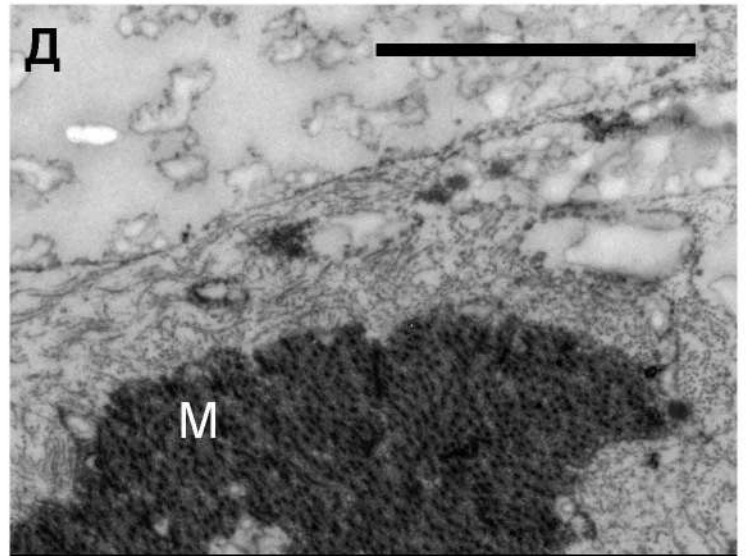
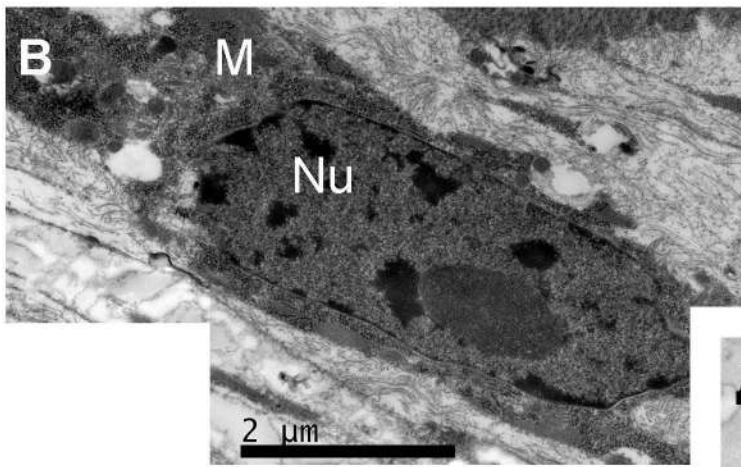
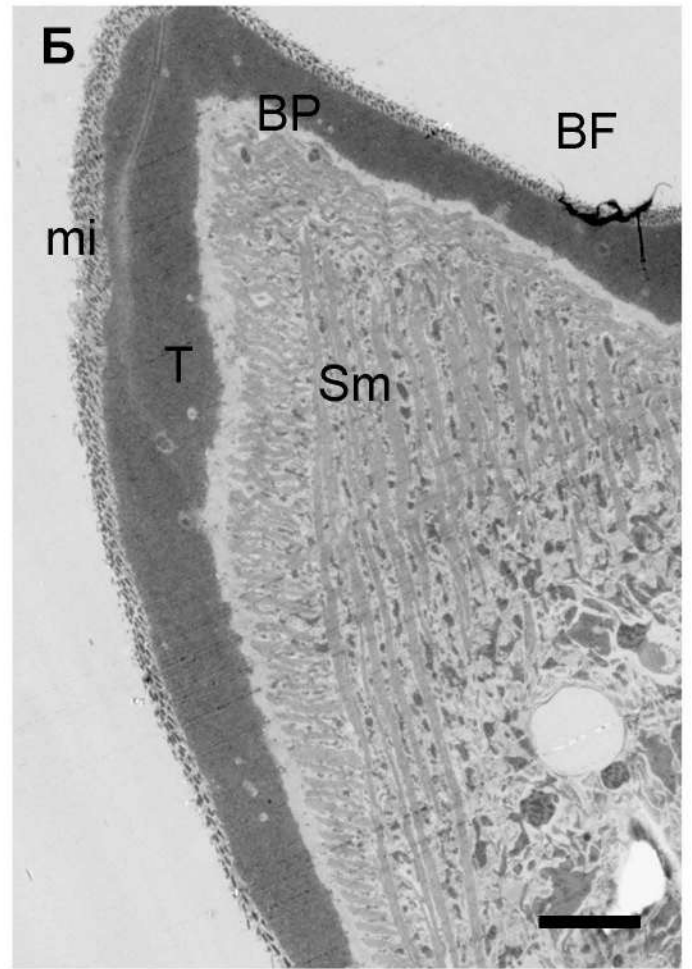
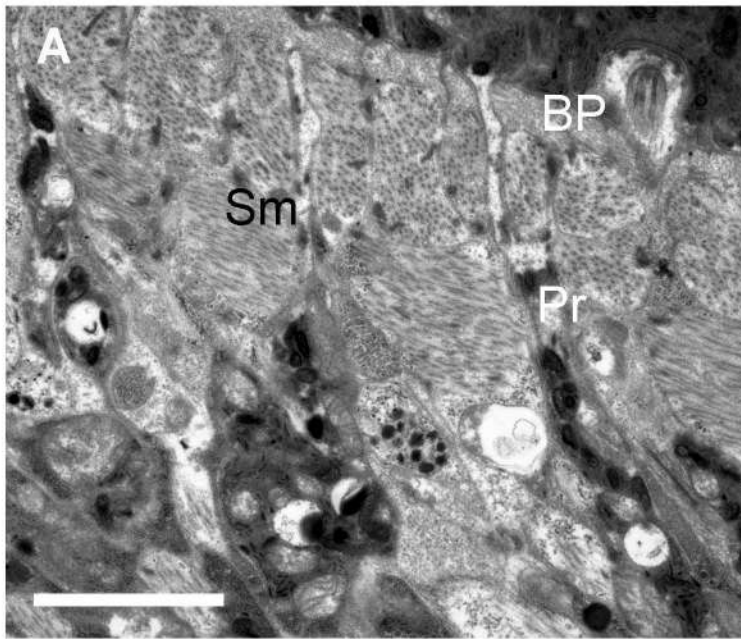


Рисунок 6. Мышечная система. А - субтегументальная мускулатура; Б - субтегументальная мускулатура ботрий; В - перикарион мышечной клетки; Г - мышечная обкладка центрального протонефридиального канала; Д - мышечная клетка с гликогеном; Е - субтегументальная мускулатура, окраска фаллоидином. Масштаб 2 мкм, 10 мкм, 2 мкм, 1 мкм, 2 мкм, 10 мкм.

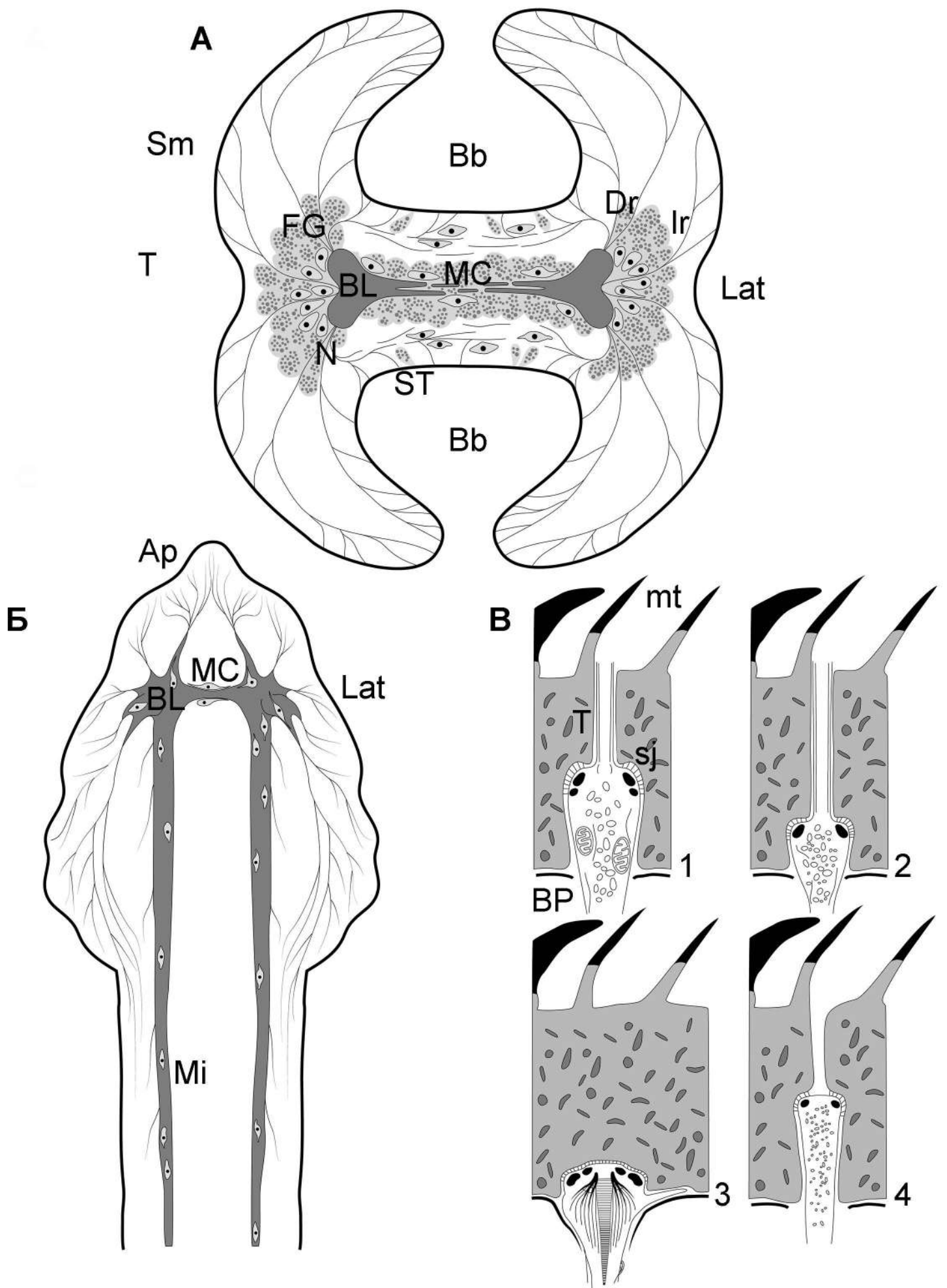


Рисунок 7. Схема нервной системы и сенсорных органов плероцеркоида *P. phosarum*. А – схема нейрогипофизарного мозга, поперечно; Б – нервная система сколекса фронтально; В – свободные нервные окончания 1-4 типов в тегументе.

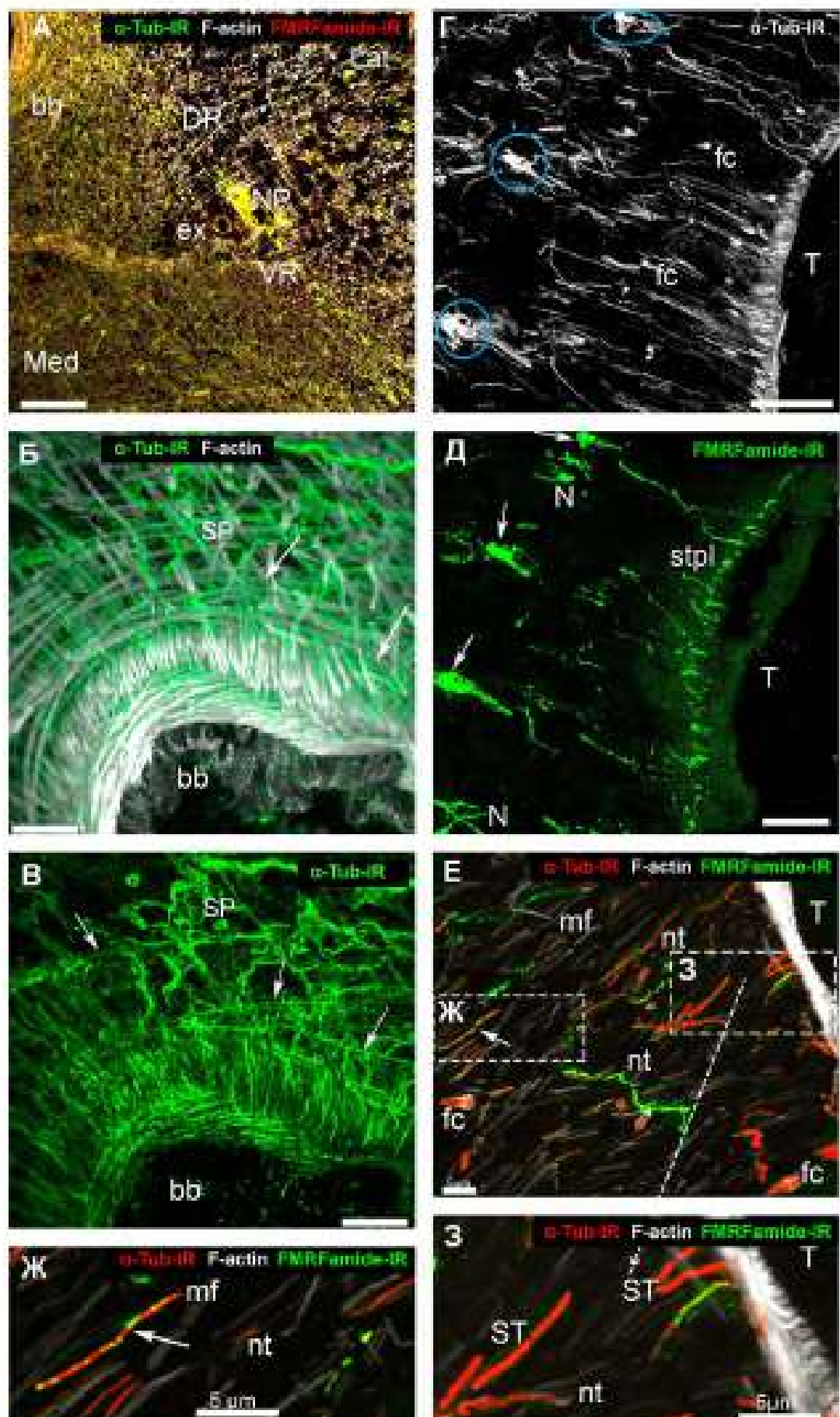


Рисунок 8. Визуализация нервной системы и желез в сколексе: А - поперечный срез сколекса; Б - область дна ботрий (стрелки указывают на нервные отростки); В - область дна ботрий; Г - периферические нейроны (стрелки) в субтегументе латеральной зоны сколекса; Д - плексус в субтегументе и периферические нейроны (стрелки); Е-3 - терминалы фронтальных желез в сколексе с FMR/Famide-IR нервными терминалами на них (стрелки). Масштаб: 100 мкм, 10 мкм, 10 мкм, 50 мкм, 50 мкм, 5 мкм, 5 мкм, 5 мкм.

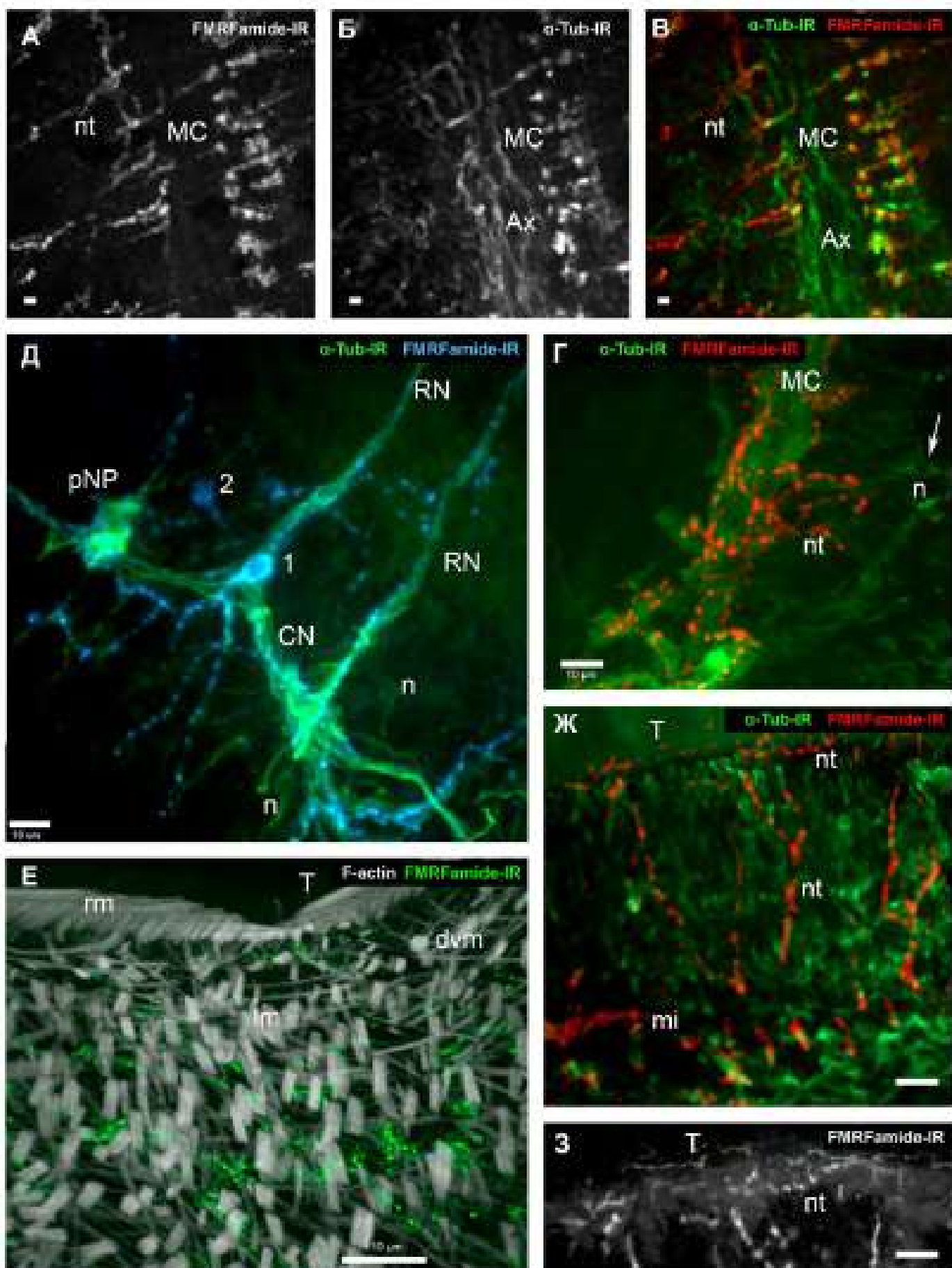


Рисунок 9. FMRFamide-IR компартмент нервной системы. А-В - главный нервный ствол продольно в задней части сколекса; Г - главный нервный ствол в сколексе, продольно с трилопярком (стрелка); Д - периферический нервный плексус в кортикальной паренхиме, поперечно; Е - иннервация мускулатуры в области дна ботрии, середина сколекса, поперечно; Ж - иннервация субтегумента и кортикальной паренхимы, малые стволы (mi) и радиальные нервы (nt); З - иннервация тегумента (увеличенная область картинки Ж). Масштаб на всех изображениях 10 мкм.

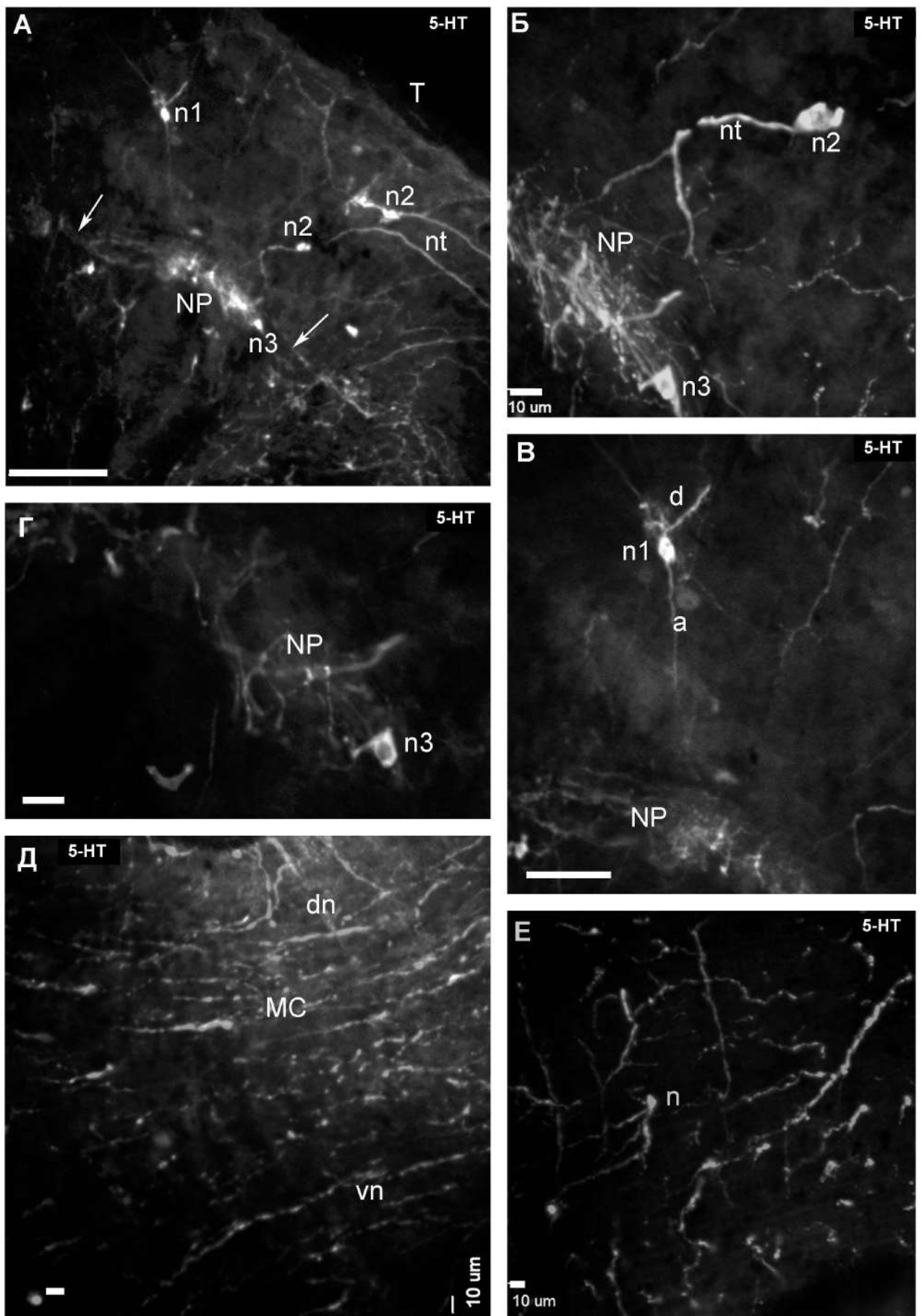


Рисунок 10. Серотонинэргический компартмент нервной системы сколекса. А-Г - нейропили и нейроны латеральных долей. Стрелки указывают на дорзальные и вентральные нервные корешки. Б – биполярный нейрон с разветвленным нейритом (n2) и триполярный нейрон (n3) в нейропиле; В – униполярный нейрон (n1) ассоциированный с нейропилем латеральной доли; Г - полярный нейрон (n3) с круглым ядром в латеральной доле нейропиля; Д - нервы и средней части сколекса; медианная комиссура (MC) и дополнительные субтегументальные дорзальные (dn) и вентральные (vn) нервные волокна; сколекс поперечно; Е - нервы в складке ботрии, сколекс поперечно. Масштаб 100 мкм, 10 мкм, 50 мкм, 10 мкм, 10 мкм, 10 мкм.

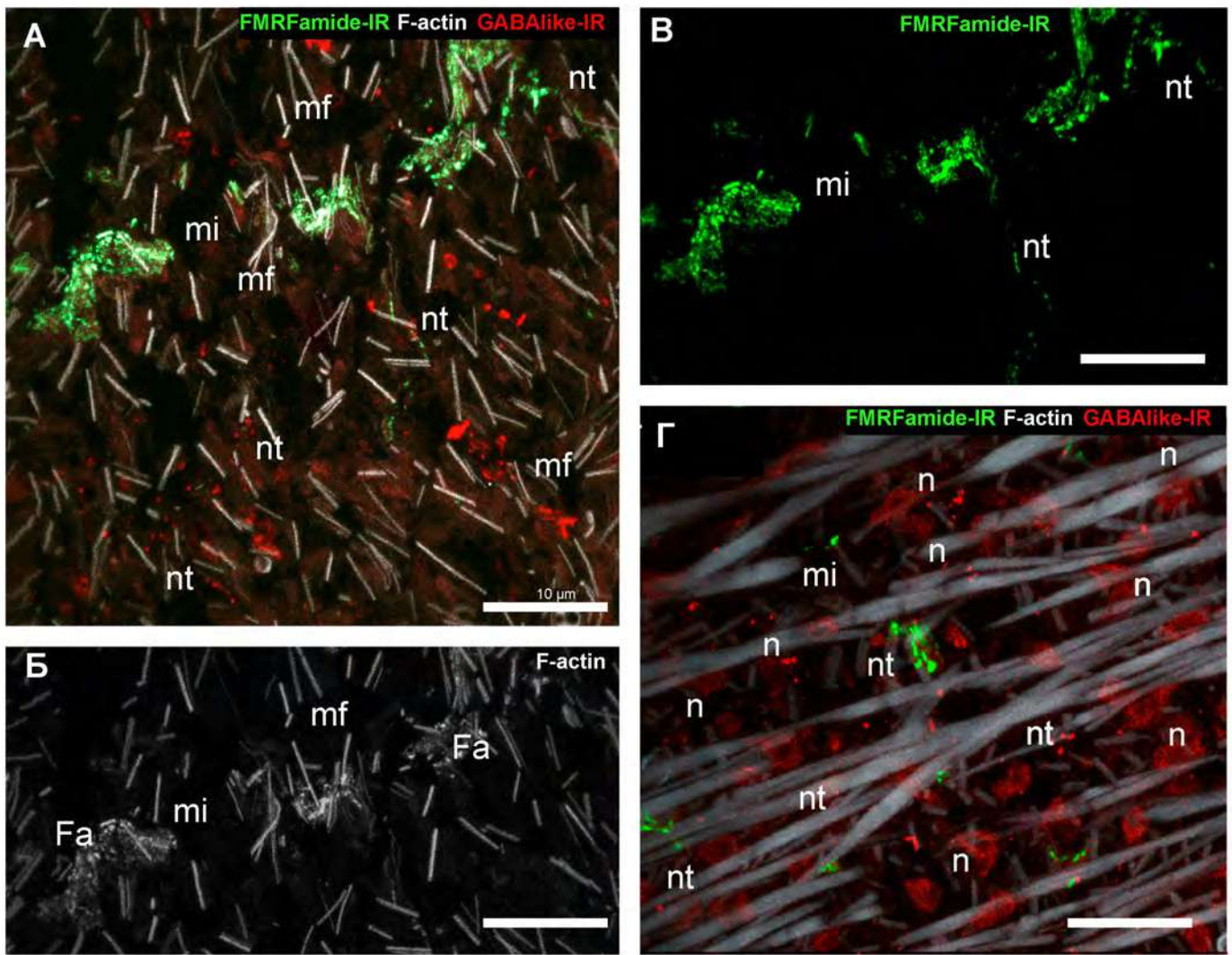


Рисунок 11. GABA-IR в малых нервных стволах и иннервация мышц. GABA-IR (красный), FMRFamide-IR (зеленый) and F-актин (серый). А - малые стволы и окружающие ткани; Б - F-актин в мышечных клетках; В - FMRFamide-IR в малых стволах и нейритах; Г - GABA-like IR и FMRFamide-IR реакция на поверхности продольной мускулатуры тела (серая); наложение 44 оптических срезов. Масштаб всех изображений 10 мкм.

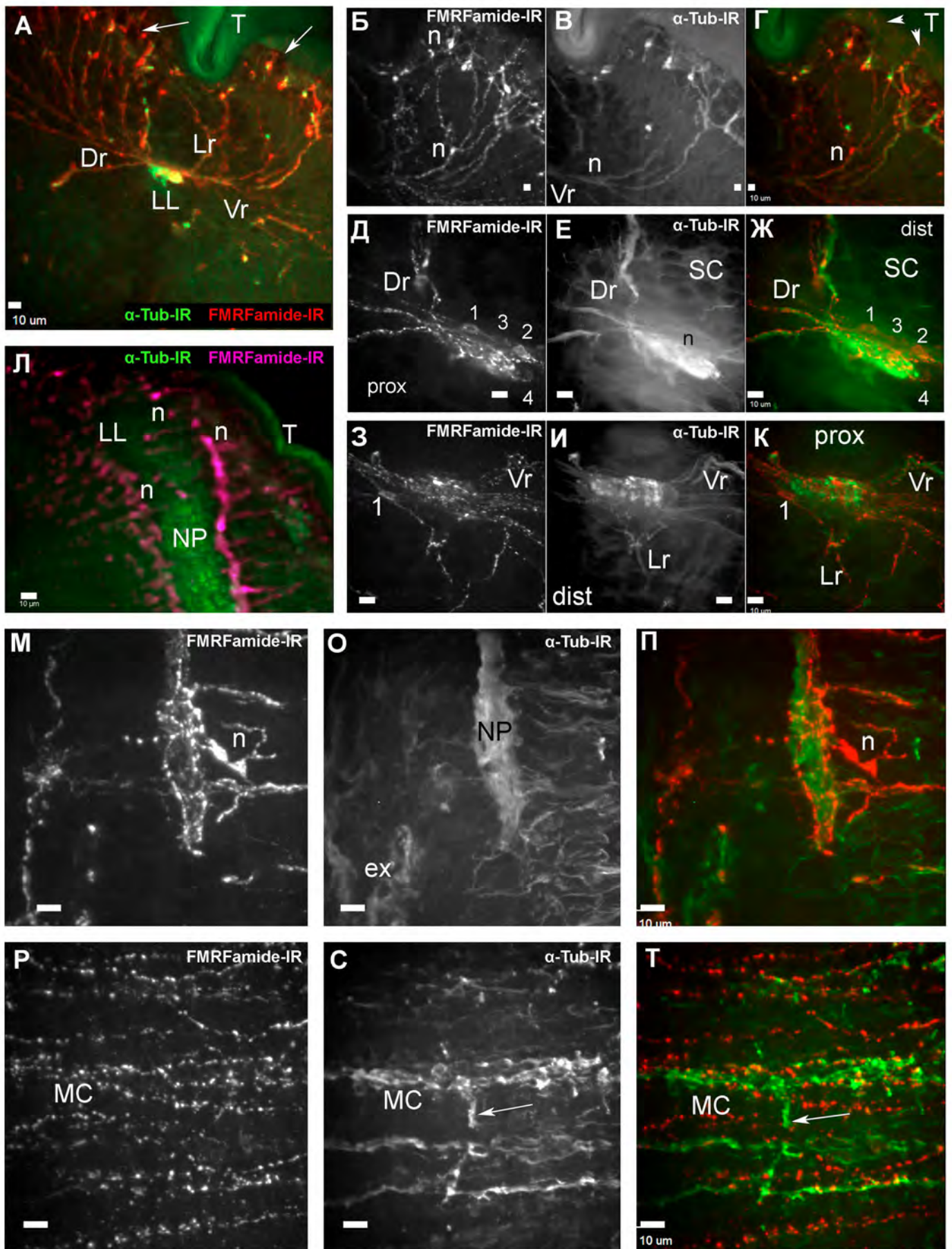


Рисунок 12. Пептидэргический (FMRFamide-IR) компартмент в латеральных долях мозга и медианной комиссуре. А-Г - поперечные срезы латеральных долей в нейропиле и дорзальным и вентральным корешками, стрелки указывают на предположительно сенсорные нейроны в субтегументе латеральной зоны сколекса; А - общий вид; В - FMRFamide-IR в нервных терминалах субтегумента; С - α-Tub-IR в той же области; D - совмещение FMRFamide-IR и α-Tub-IR, стрелки указывают на рецепторы; Д-Ж - правый нейропил, пронумерованы тела нейронов; З-К - левый нейропил; Л - латеральная доля мозга продольно, окруженная нейронами; М-Р - продольный срез латеральной доли мозга; Р-Т - область медианной комиссуры в центре сколекса, стрелка указывает на дорзо-вентральный нерв. Масштаб на всех изображениях 10 мкм.

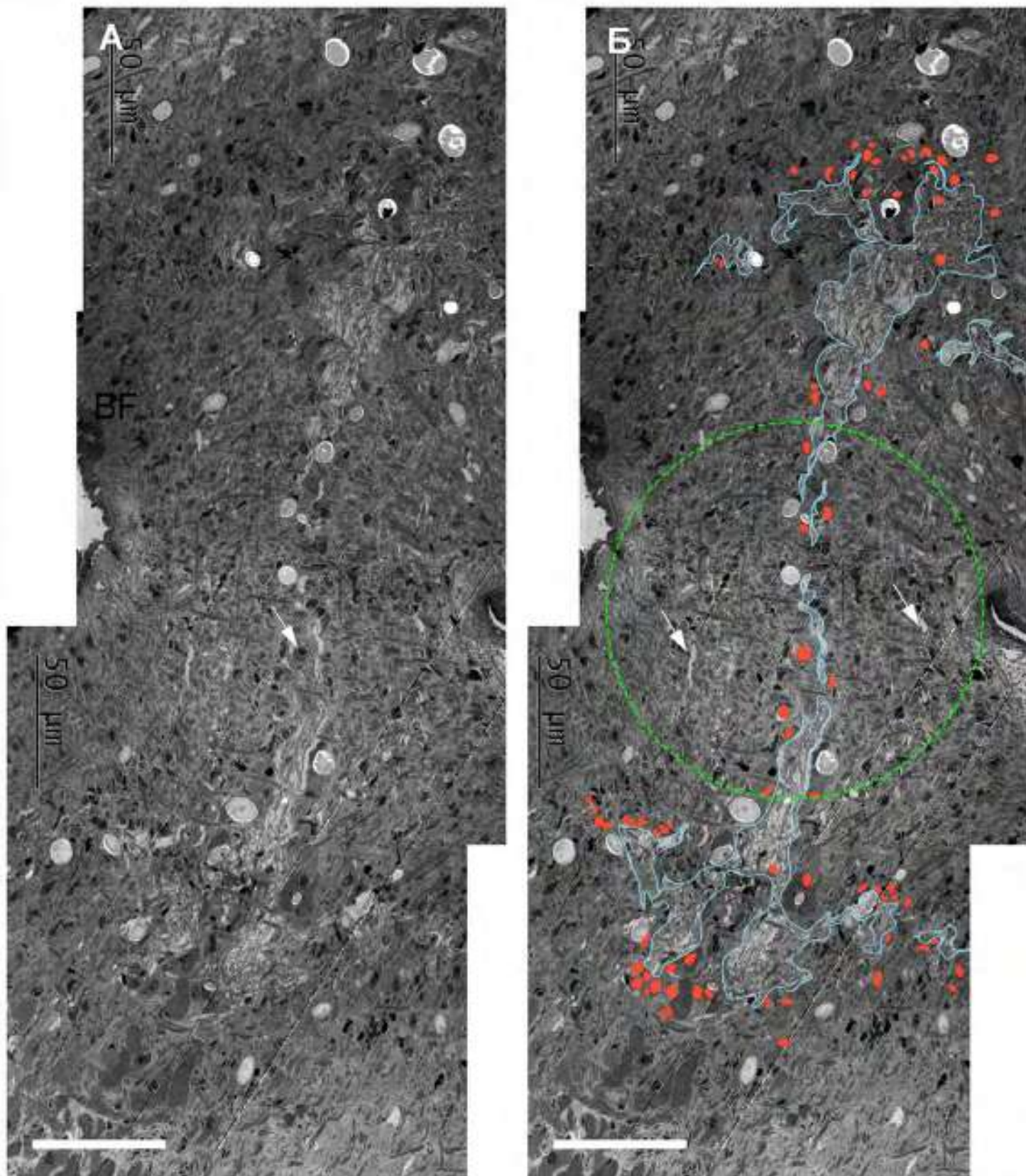


Рисунок 13. Мозг на уровне медианной комиссуры. А - исходная микрофотография, стелкой обозначен гигантский нейрон; Б - та же фотография с разметкой: голубой очерчивает границу аксонов, нейропилей, комиссуры и корешков; красным отмечены тела нейронов; зеленый круг отмечает центральную часть с наибольшей концентрацией железистых клеток; стрелки указывают на субмедианные тонкие нервы. Масштаб 50 мкм.

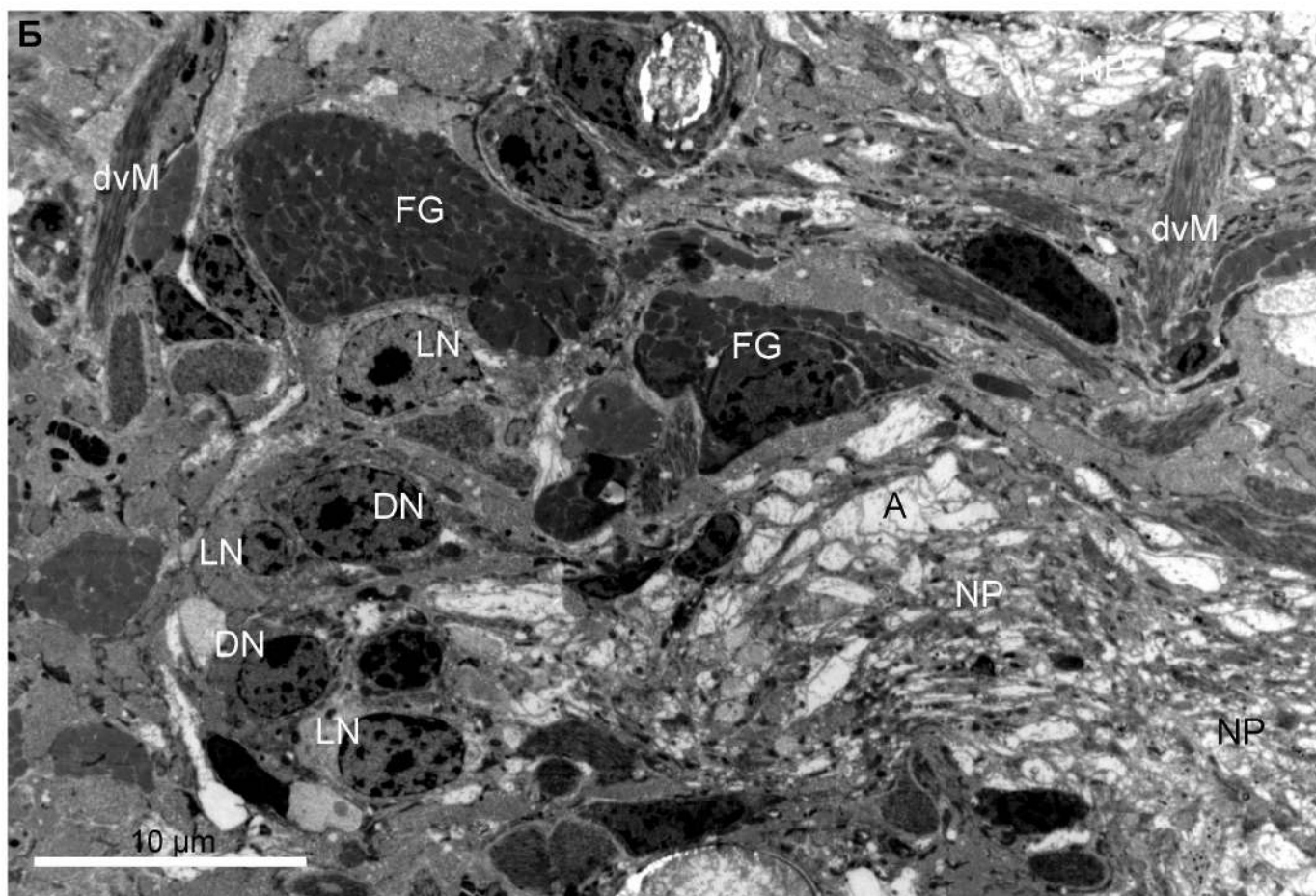
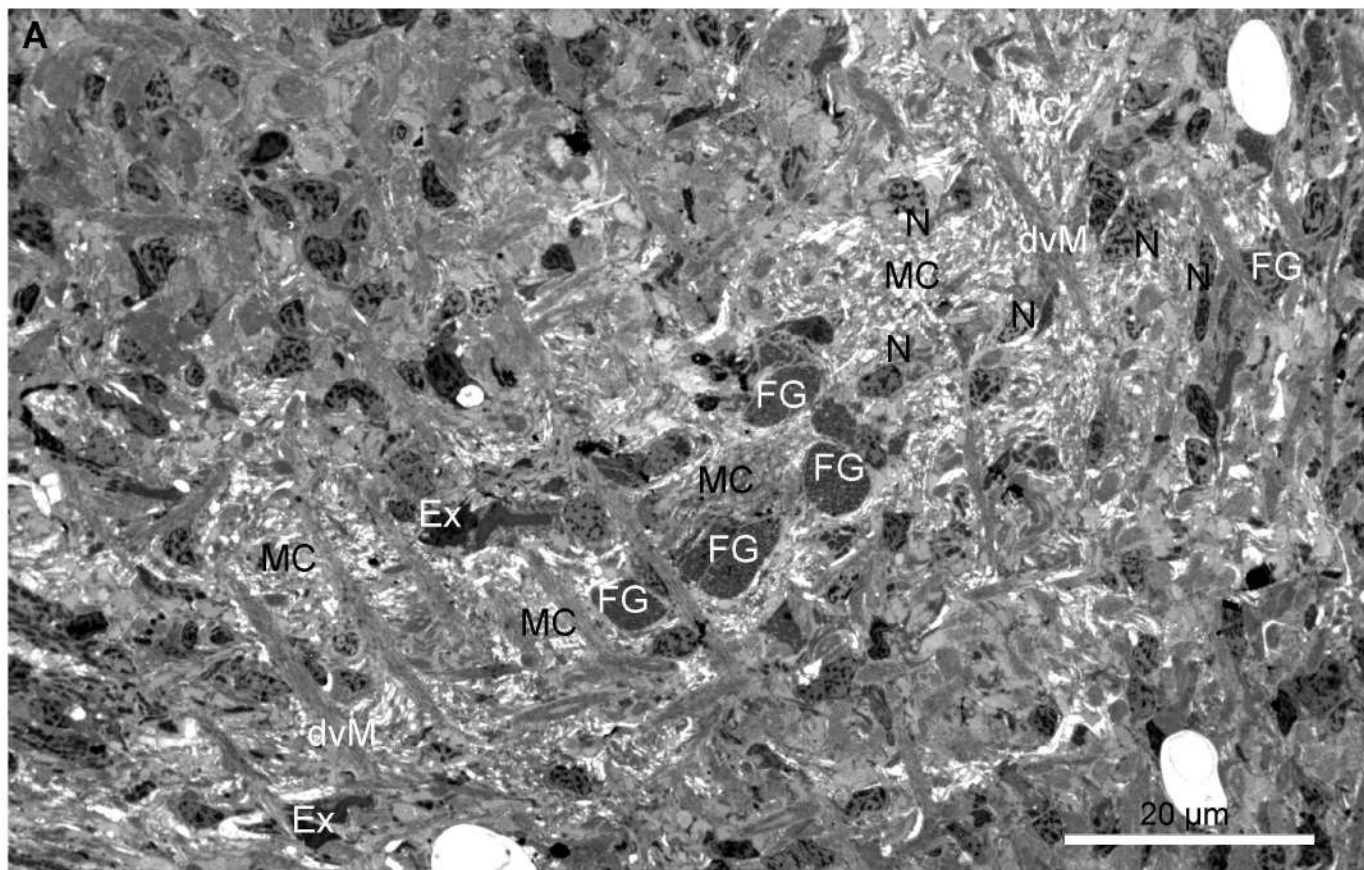


Рисунок 14. Ультраструктура нейрожелезистого комплекса, медианной кимиссуры и латеральных долей. А - центральная часть медианной кимиссуры, поперечное сечение (тонкие нейриты медианной комиссуры контактируют с клетками желез и мышц; Б - кластеры «светлых» и «темных» нейронов, фронтальные железы и неропиль латеральной доли мозга. Масштаб 20 мкм, 10 мкм.

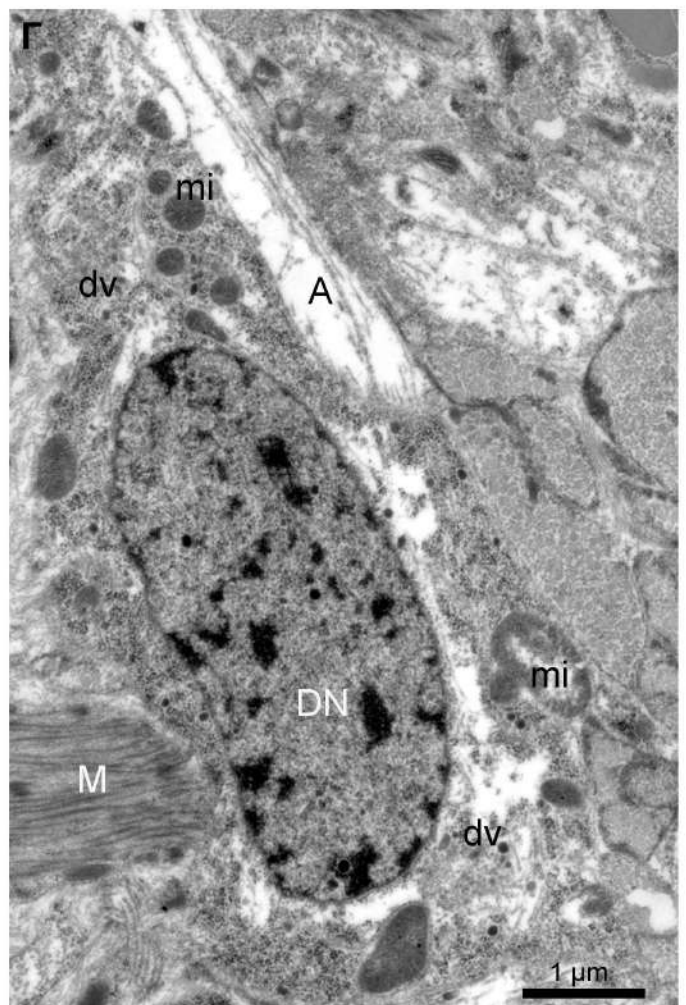
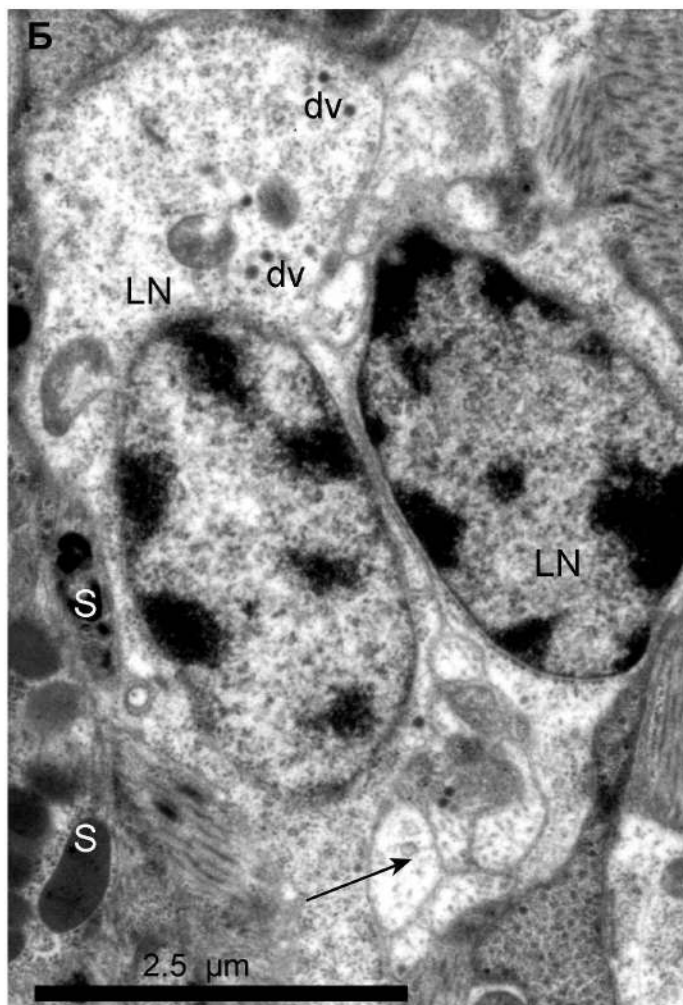
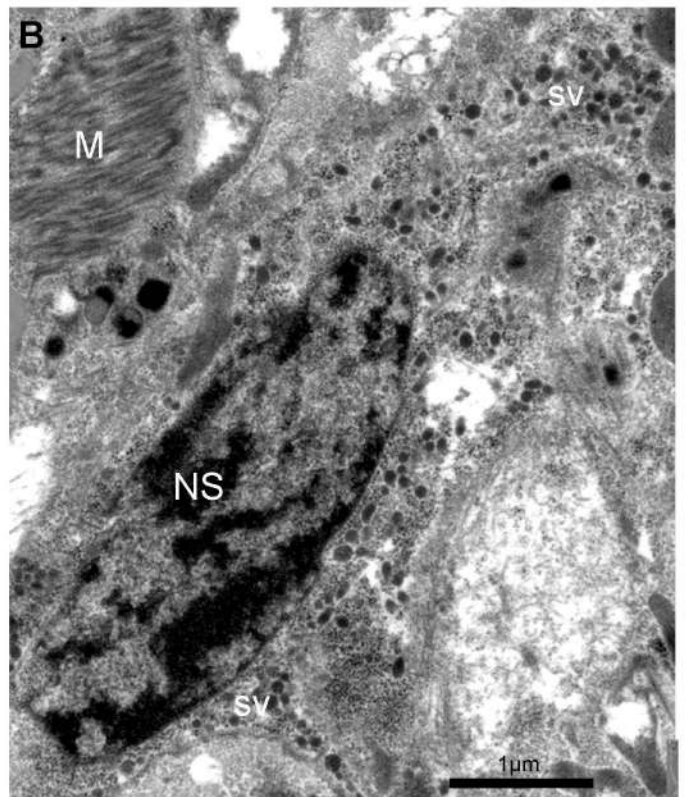
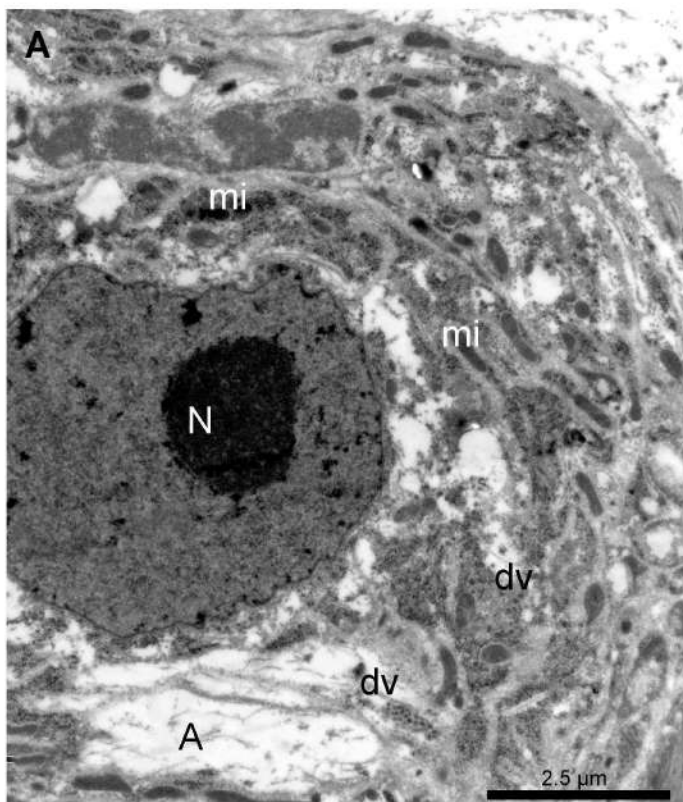


Рисунок 15. Ультраструктура нейронов мозга. А - часть медианной комиссуры с клетками с «пенистой» цитоплазмой; Б - два «светлых» нейрона со светлой цитоплазмой и с мелкими темными везикулами, в близком контакте с секреторными клетками, стрелка указывает на синаптические отростки; В - секреторный нейрон, содержащий множество секреторных электронно-плотных везикул; Г - «темный» униполярный нейрон с плотной цитоплазмой, рибосомами, мелкими везикулами; аксон содержит нейротрубочки. Масштаб 2,5 мкм, 2,5 мкм, 1 мкм, 1 мкм.

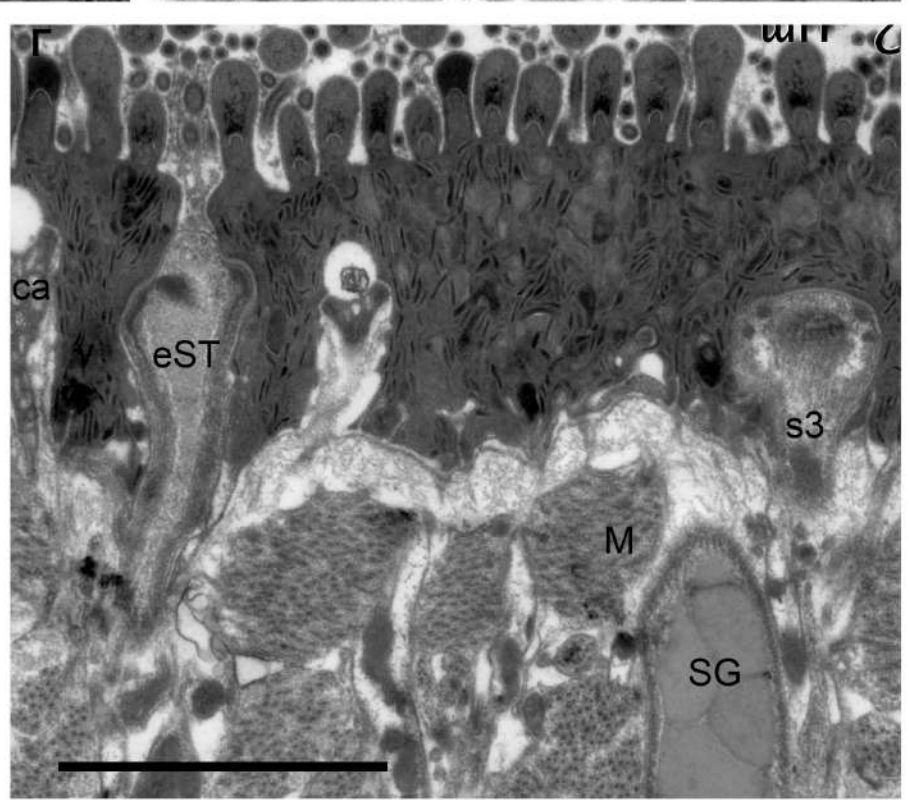
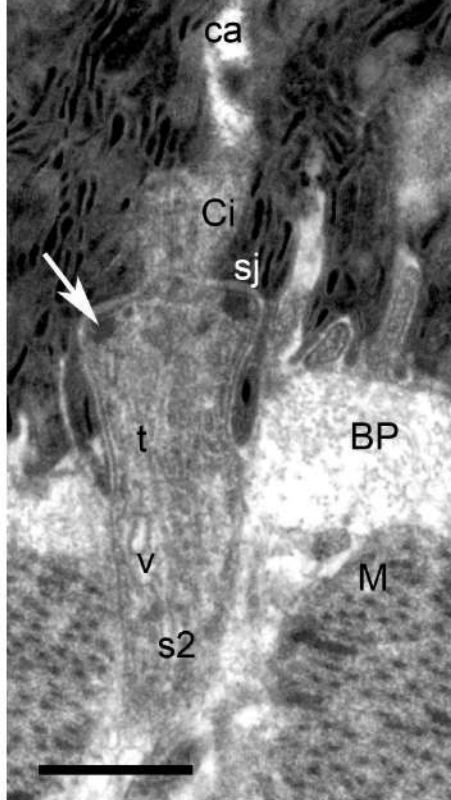
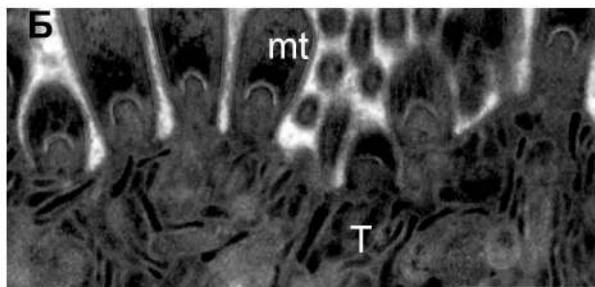
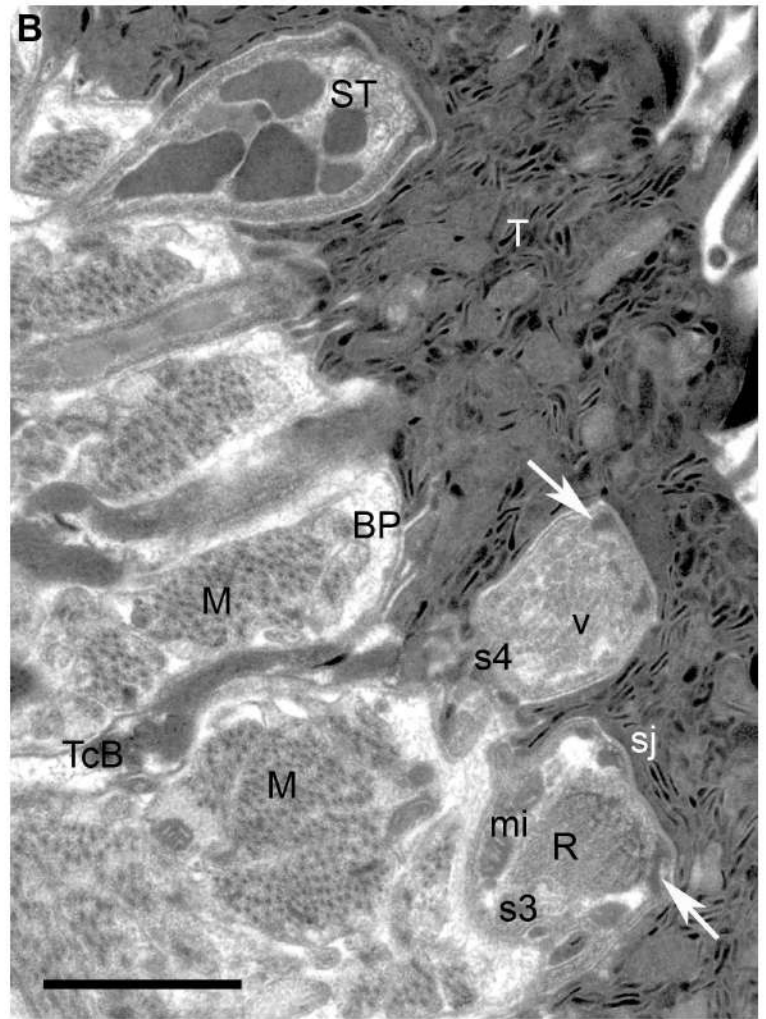
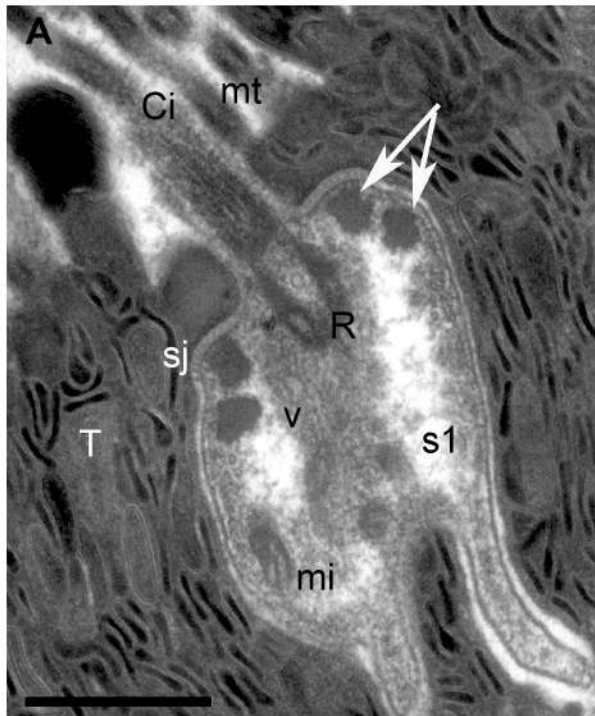


Рисунок 16. Сенсорно-железистый комплекс в тегументе сколекса. А - ресничный рецептор 1 типа, стрелки указывают на опорные кольца; Б - ресничный рецептор 2 типа, лежащий глубоко в тегументе; В - безресничные рецепторы 3 и 4 типов и терминальный проток железы эккринового типа; Г - рецепторы в тегументе, колокализованные с протоками фронтальных желез Масштаб 0,5 мкм, 0,5 мкм, 1 мкм, 2 мкм.

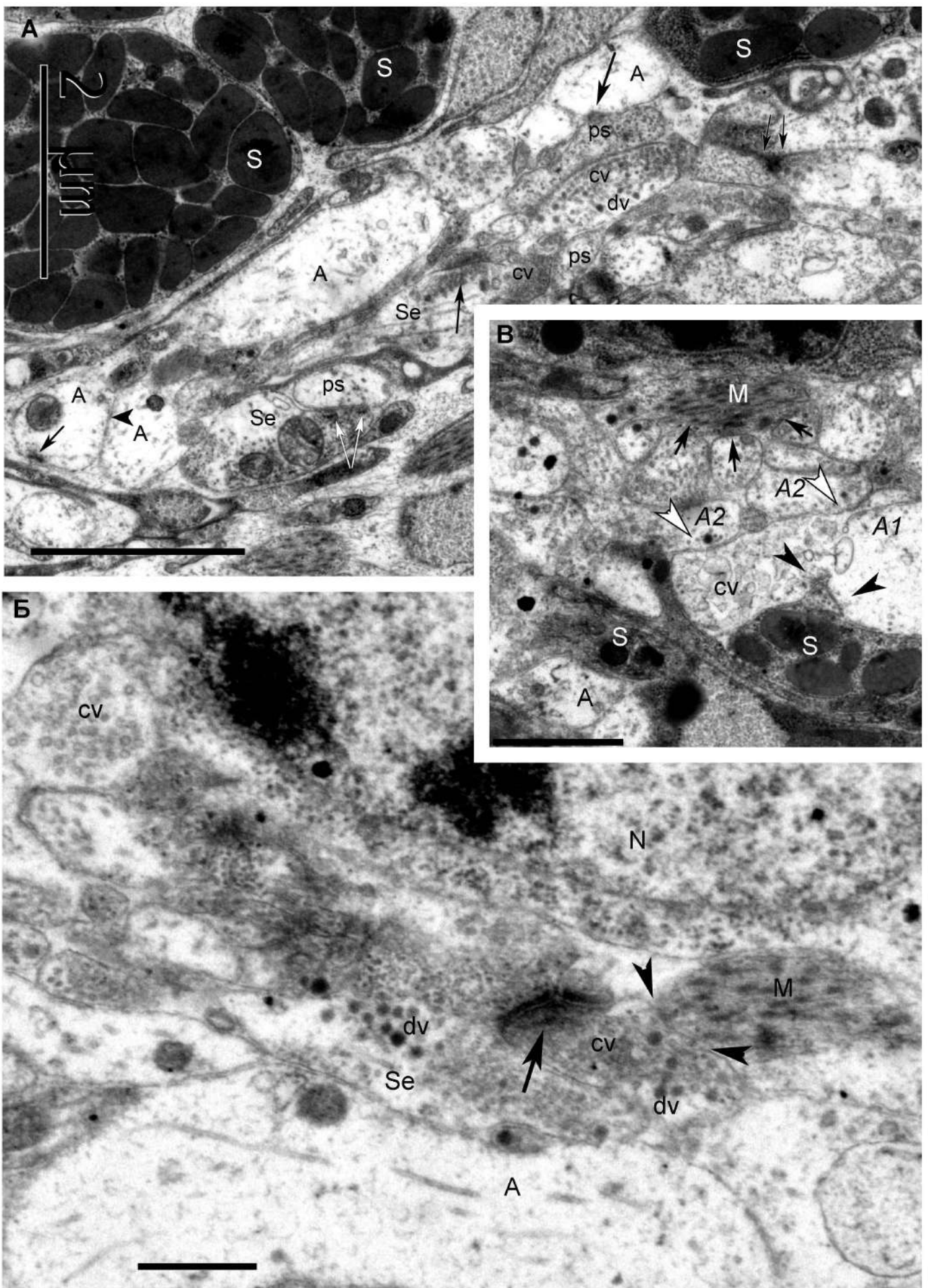


Рисунок 17. Ультраструктура синаптических контактов в мозге. А - участок нейропиля с аксонами и синаптическими контактами, постсинаптическими мембранными структурами и светлыми и темными синаптическими везикулами; стрелки указывают на пресинаптические мембранные уплотнения; Б - синапс, расположенный на соме нейрона; стрелки указывают на пресинапсы, короткие стрелки - на нейромышечные контакты; В - нейромышечный (стрелка) и нейрожелезистый контакты (короткая стрелка) в медианной комиссуре мозга. Масштаб 2 мкм, 0,5 мкм, 1 мкм.

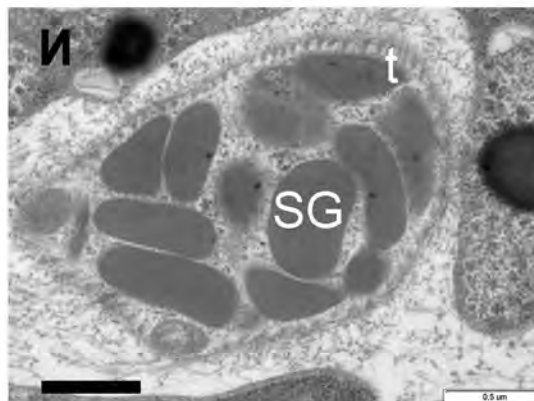
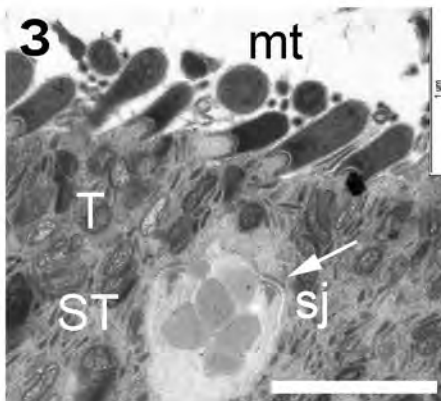
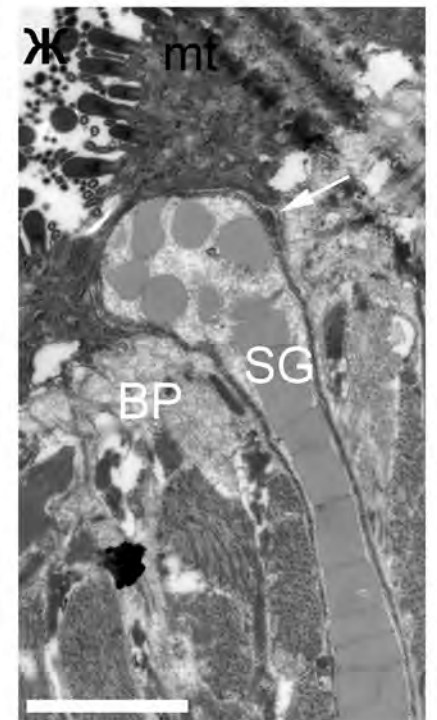
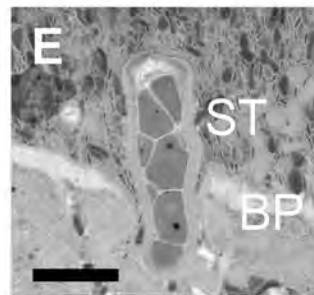
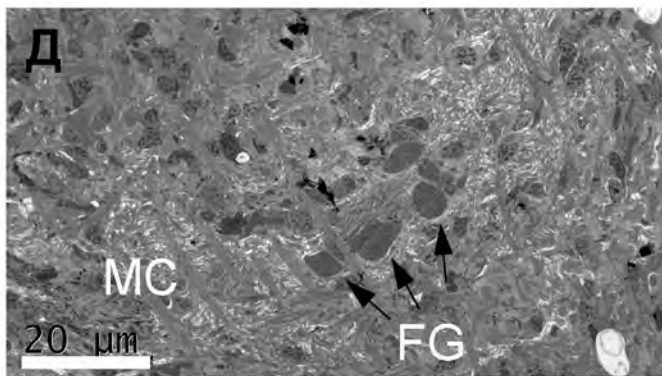
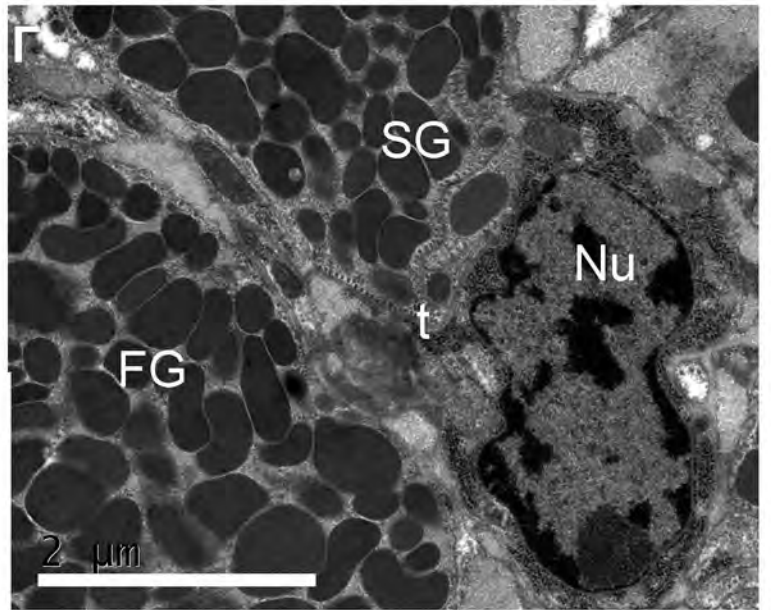
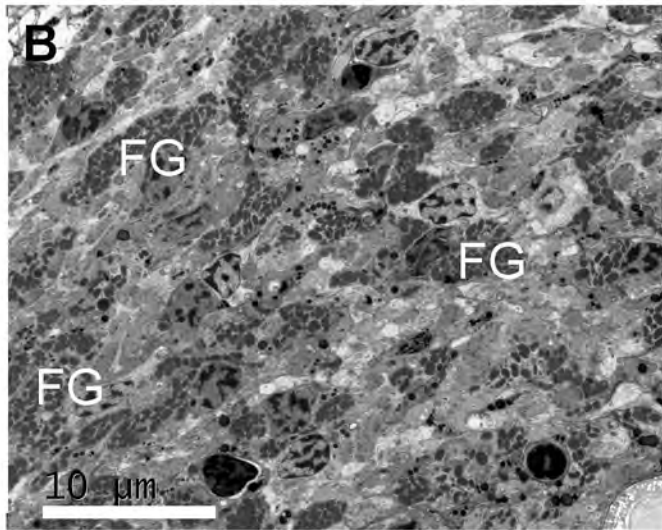
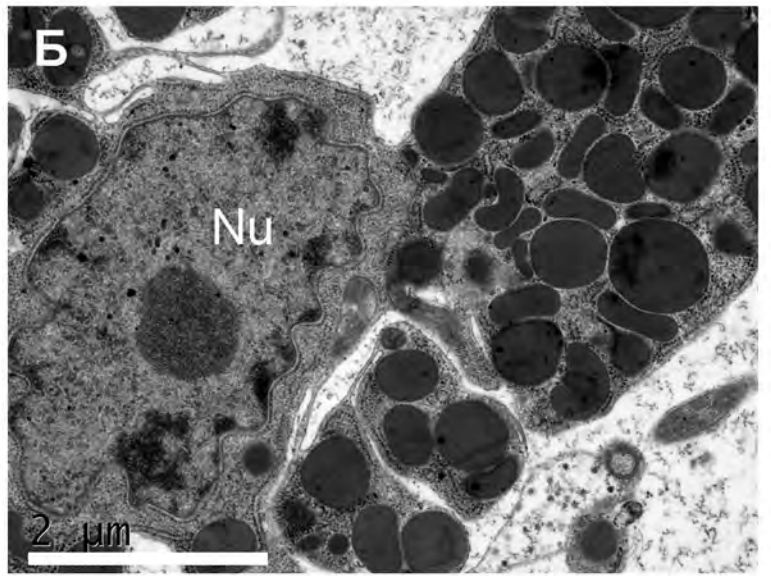
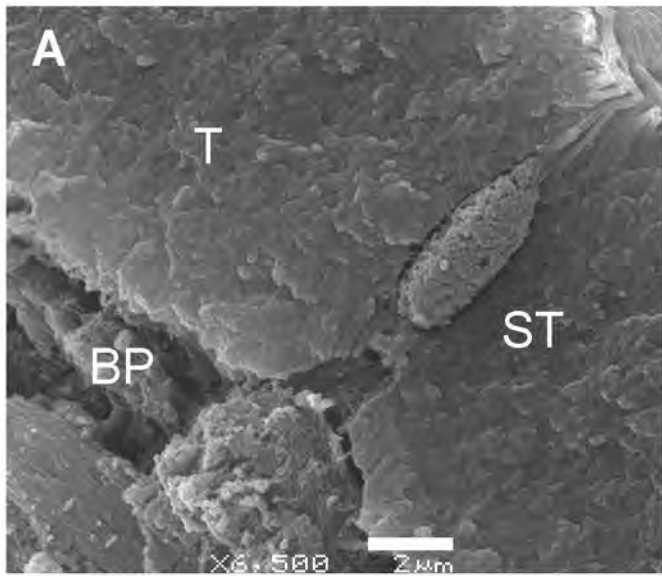


Рисунок 18. Фронтальные железы. А - терминальная часть протока фронтальной железы; Б - перикарион фронтальной железы с крупным ядром с ядрышком и грЭПР; В - кортикальная паренхима дна бортии с большим количеством протоков фронтальных желез; Г - цистерны фронтальных желез, укрепленные микротрубочками; Д - медианная комиссура, прерываемая мышцами и цистернами фронтальных желез; Ж-З - терминальный проток в тегументе, стрелки указывают на опорное кольцо; И - проток железы в субтегументе. Масштаб 2 мкм, 2 мкм, 10 мкм, 2 мкм, 20 мкм, 1 мкм, 2 мкм, 1 мкм, 0,5 мкм.

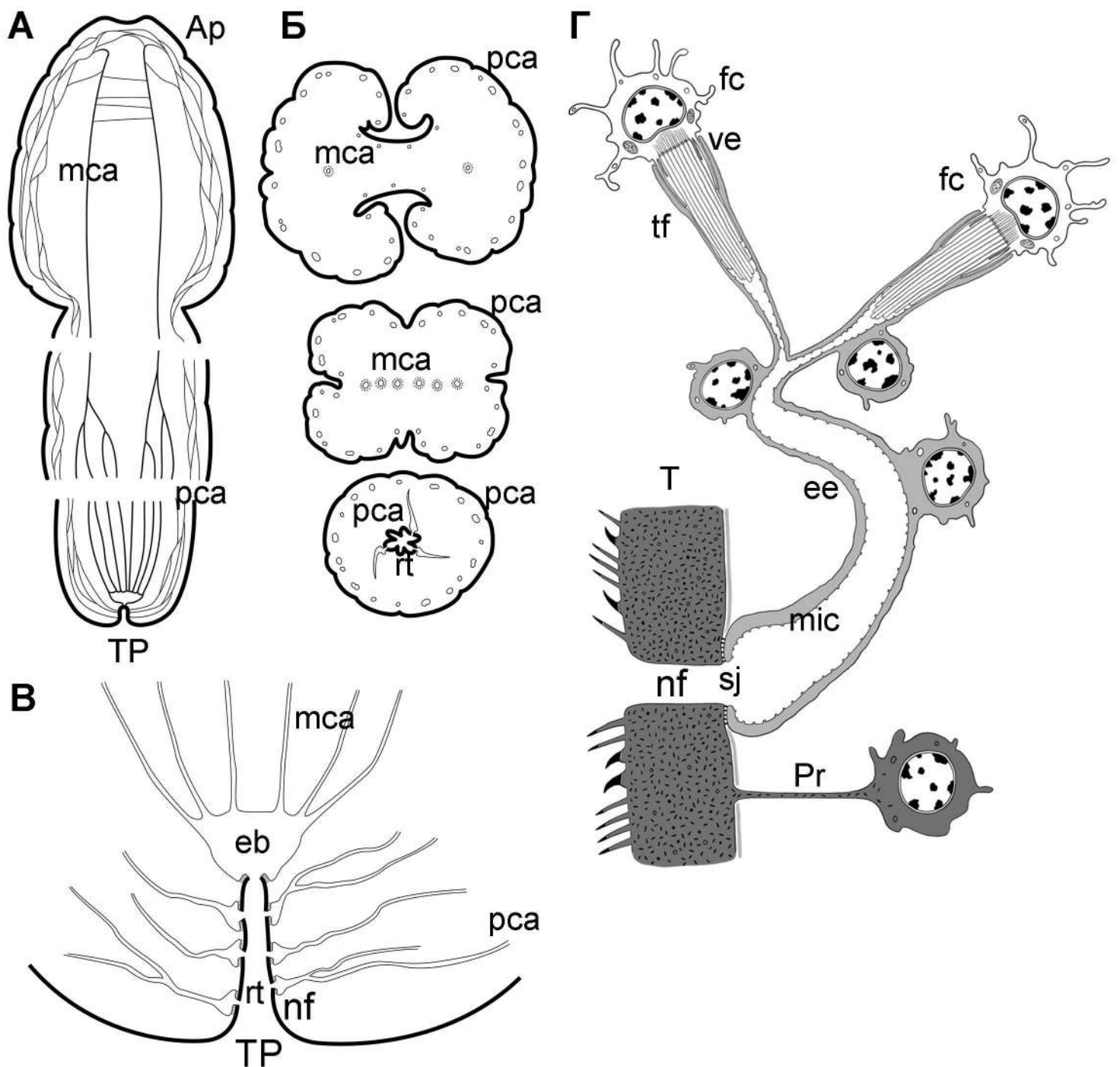


Рисунок 19. Схема строения протонефридиальной системы. А - фронтальный вид архитектуры каналов выделительной системы; Б - каналы выделительной системы на уровне сколекса середины тела и заднего конца тела; В - схема выделительной системы заднего конца тела; Г - цитологическое строение выделительной системы: терминальные ресничные клетки (fc) и экскреторный эпителий (ee), контактирующий с тегументом (Т) резервуара терминальной поры.

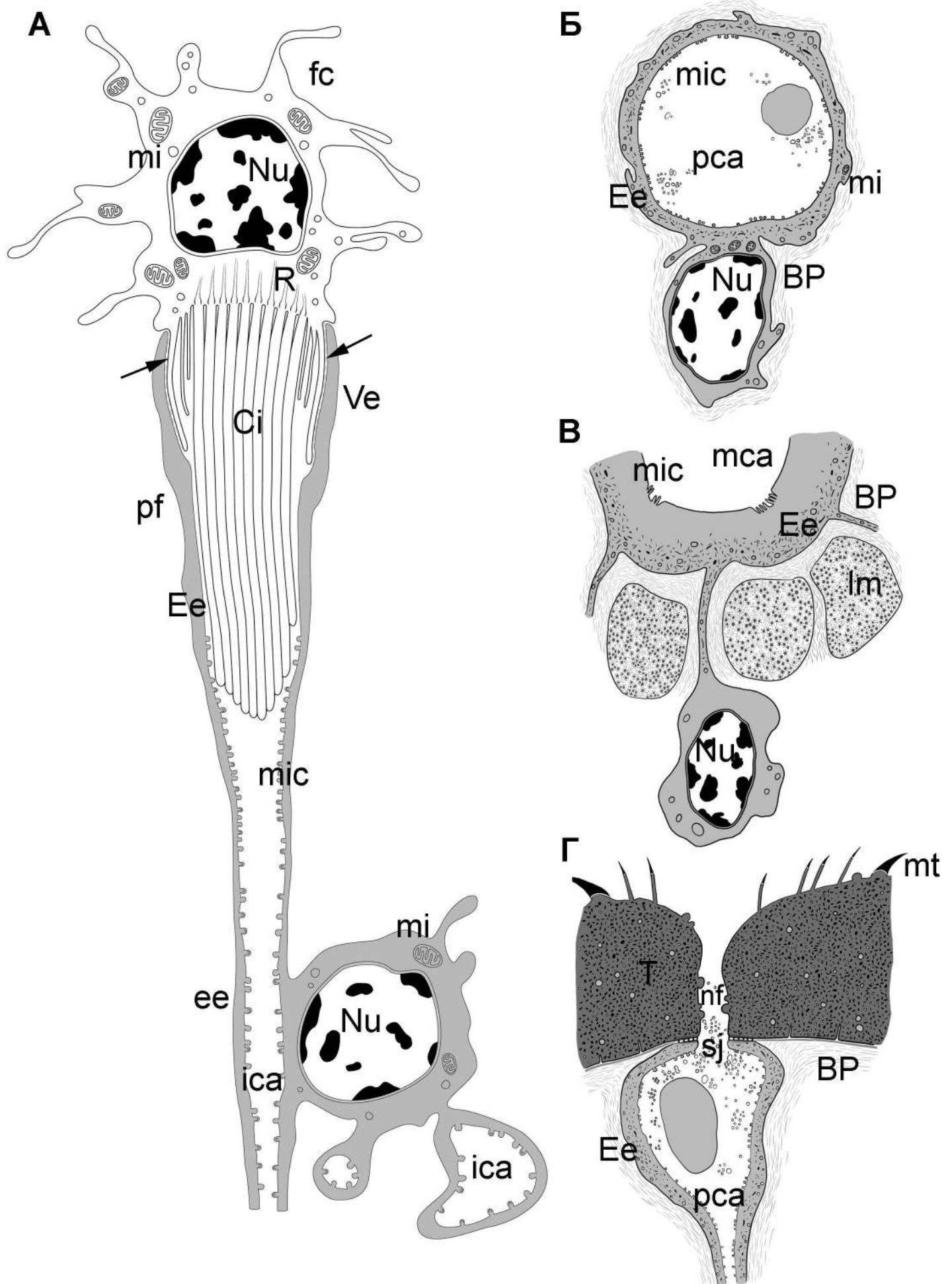


Рисунок 20. Схема строения протонефридиальной системы. А - схема строения цитота, протонефридиальной воронки и внутриклеточного канала 1-го порядка, стрелки указывают на zip-соединение и вершну; Б - канал 2-го порядка, образованный экскреторным эпителием; В - главный каналы выделительной системы; Г - нефропор.

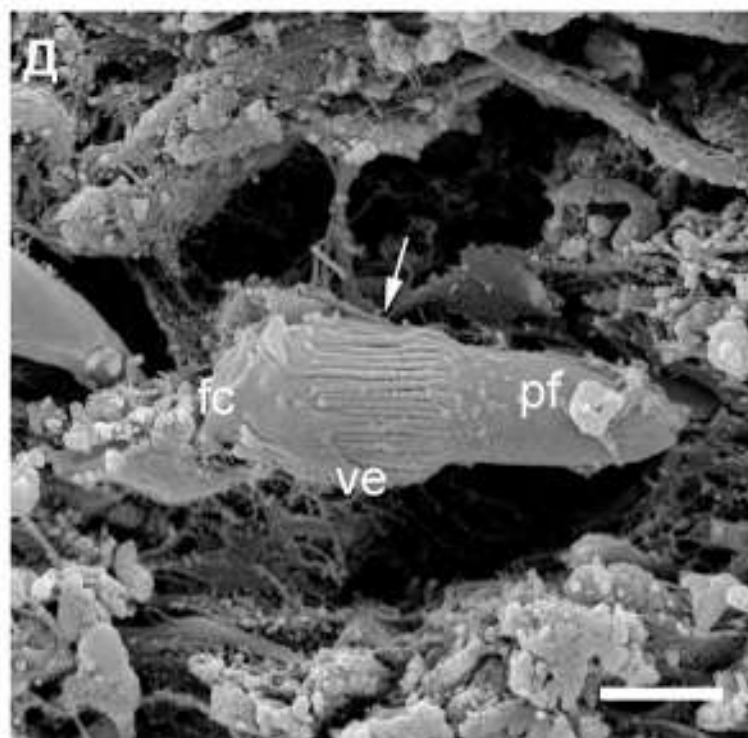
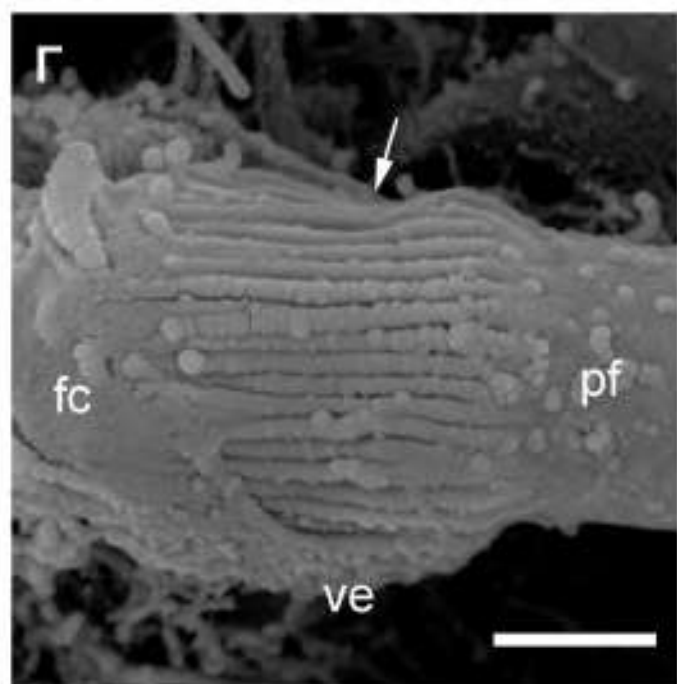
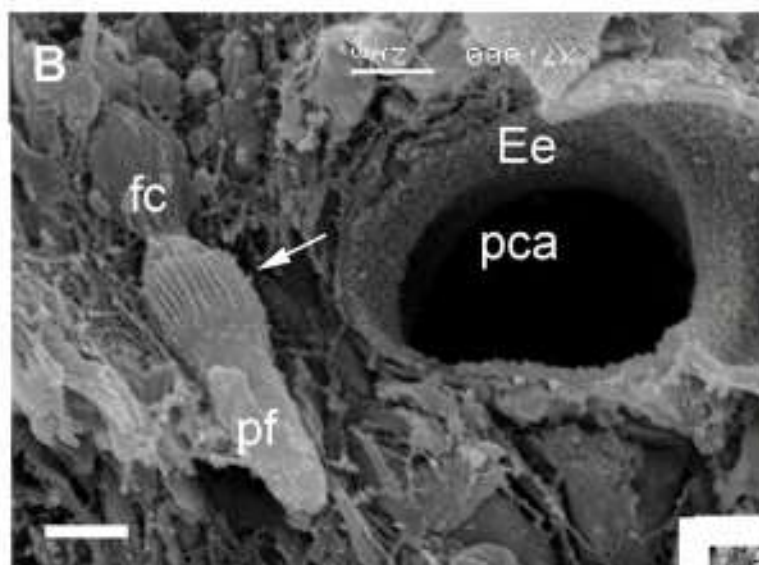
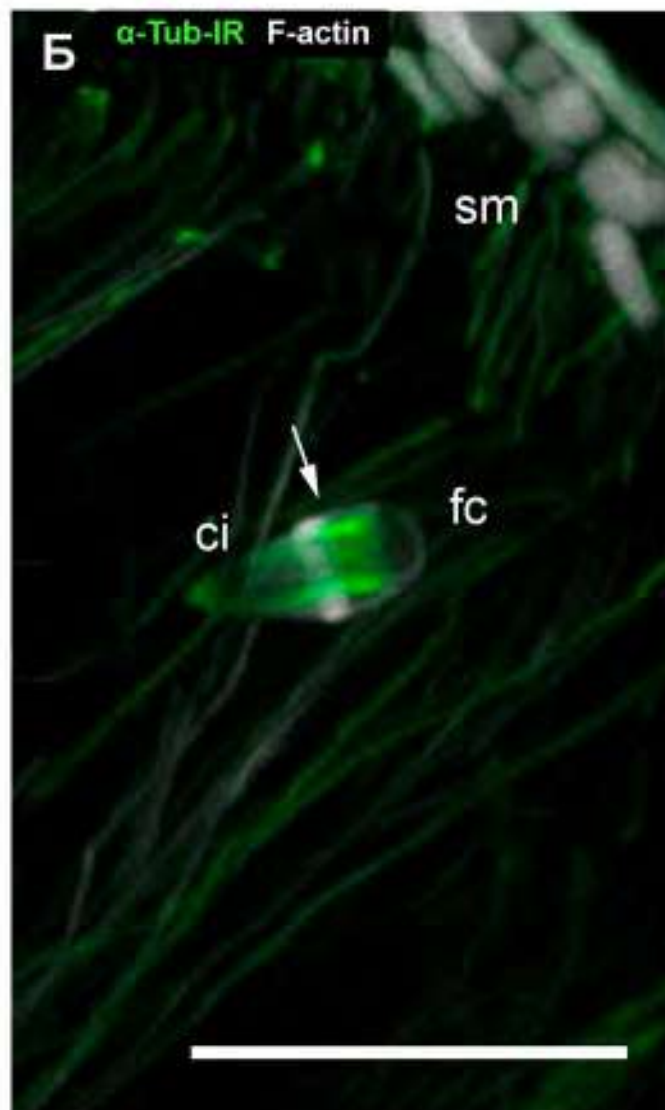
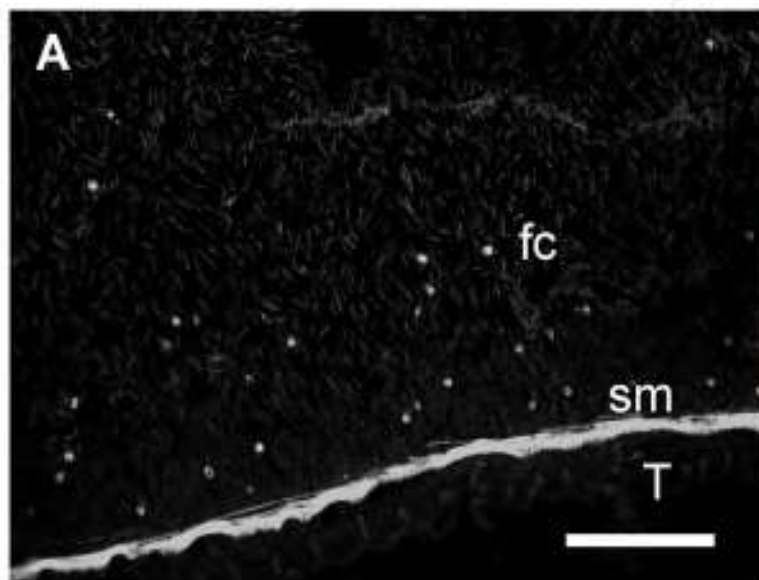


Рисунок 21. Терминальные клетки протонефридиальной системы; стрелки указывают на вершю. А - расположение ресничных терминальных клеток в паренхиме, окраска фаллоидином; Б - терминальная ресничная клетка; В - терминальная клетка и протонефридиальный канал 2-го порядка, выстланный экскреторным эпителием; Г - верша протонефридия, сформированная микроворсинками терминальной клеткой и микроворсинками протонефридиальной воронки; Д - терминальная ресничная клетка и протонефридиальная воронка. Масштаб 100 мкм, 10 мкм, 2 мкм, 1 мкм, 2 мкм.

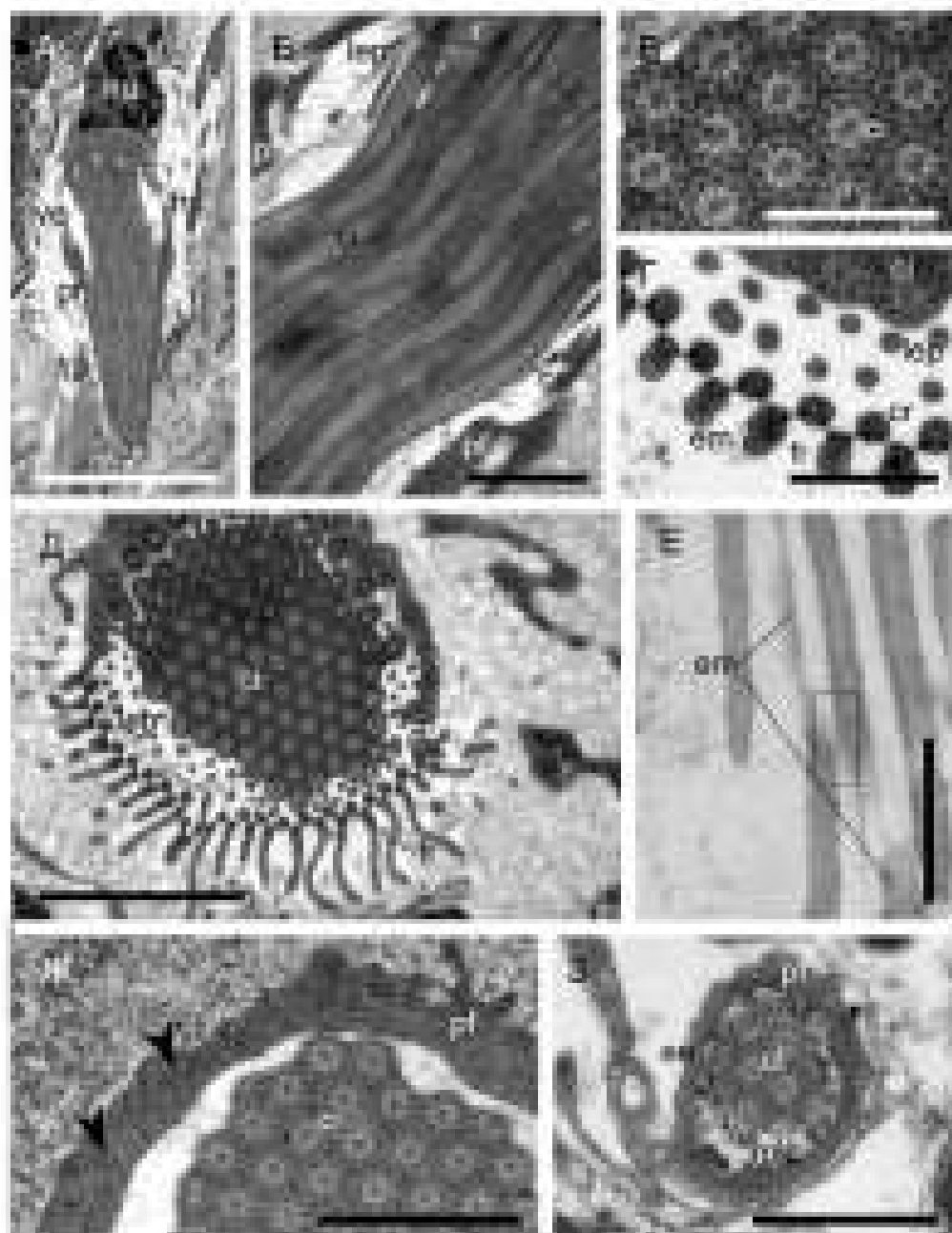


Рисунок 22. Ультраструктура саркомера и митохондрий мышечной ткани. А — продольный срез саркомера протомитохондриальной фазы функционального саркомера; В — продольный срез саркомера ретикулярной саркомера и ее саркомера; С — митохондриальный срез саркомера ретикулярной саркомера; D — продольный срез саркомера саркомера; E — митохондриальный срез протомитохондриальной фазы функционального саркомера; F — продольный срез саркомера саркомера саркомера, разный уровень на саркомера, для саркомера саркомера саркомера саркомера саркомера; G — митохондриальный срез протомитохондриальной фазы функционального саркомера, саркомера саркомера на саркомера и саркомера саркомера; H — митохондриальный срез саркомера саркомера саркомера саркомера саркомера. Масштаб: А — 1 мкм, В — 1 мкм, С — 1 мкм, D — 1 мкм, E — 1 мкм, F — 1 мкм, G — 1 мкм, H — 1 мкм.

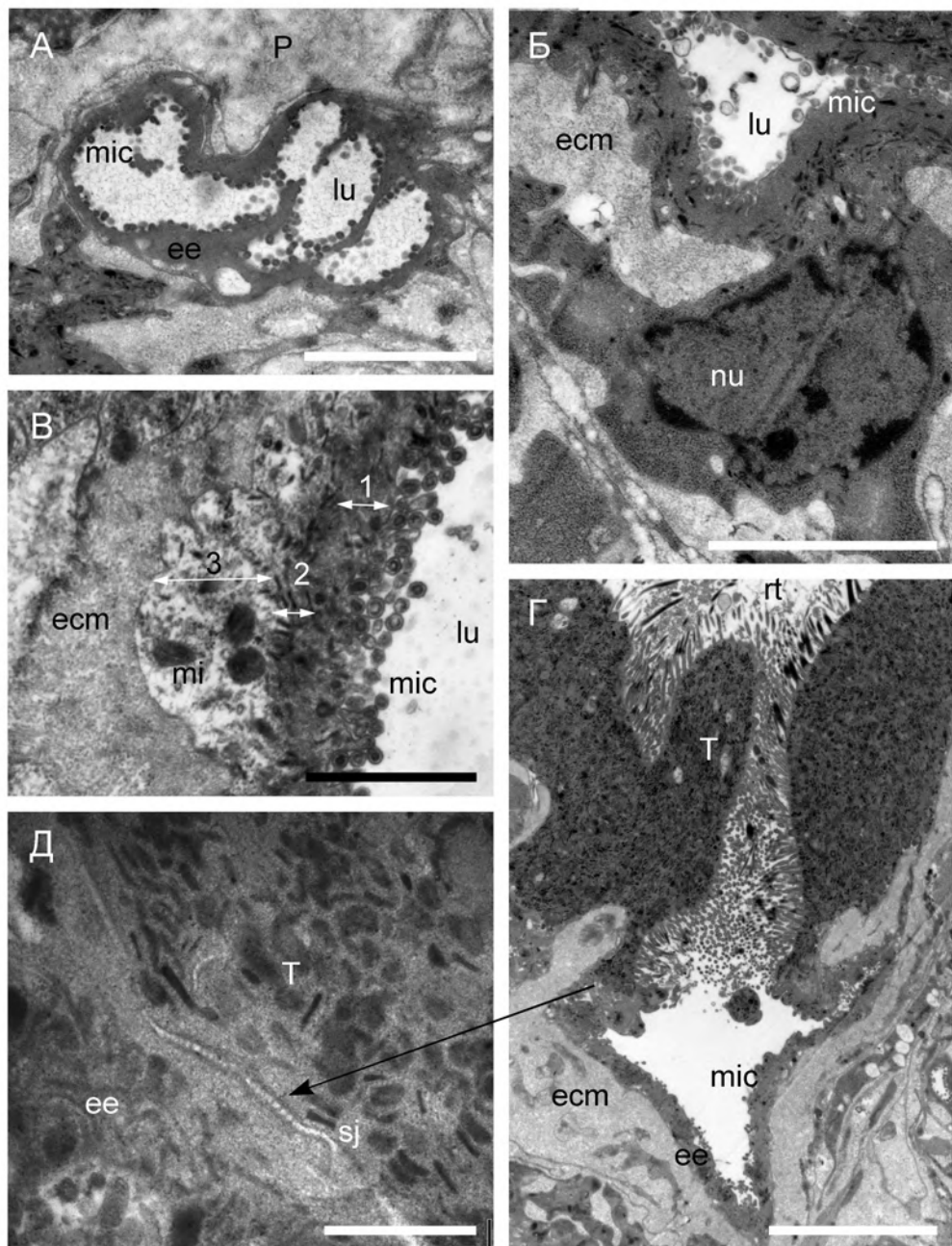


Рисунок 22. Ультраструктура каналов 1-го и 2-го порядков. А — узкий каналец 1-го порядка с эпителиальной стенкой, несущей многочисленные шаровидные микроворсинки; Б — перикарион канала 2-го порядка; В — стратификация цитоплазмы стенки канала 2-го порядка на апикальный (1), медиальный (2) и базальный (3) слои; Г — ультраструктура нефропора: контакт между периферическим каналом 2-го порядка и тегументов резервуара терминальной поры; Д — септированный контакт нефропора. Масштаб 2 мкм, 2 мкм, 1 мкм, 5 мкм, 50 нм.

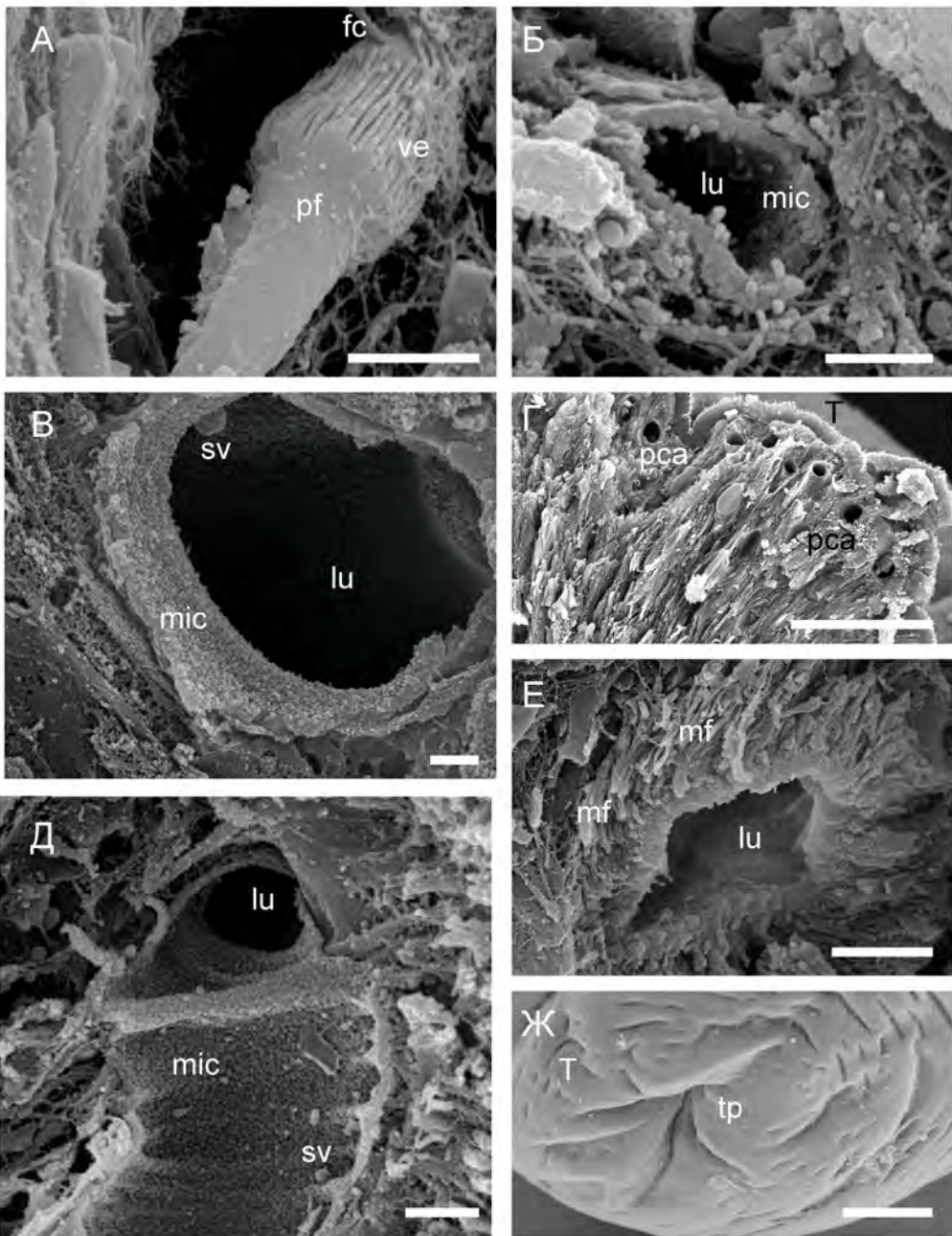


Рисунок 24. Элементы выделительной системы. А — протонефридий в паренхиме; Б — канал 1го порядка; В — периферический канал 2го порядка с шаровидными микроворсинками и секреторными вакуолями; Г — периферические каналы 2го порядка в субтегументе; Д — взаимоперпендикулярные каналы 2го порядка в сколексе; Е — главные экскреторные каналы с мышечной обкладкой; Ж — терминальная пора. 2 мкм, 2 мкм, 2 мкм, 50 мкм, 2 мкм, 5 мкм, 1 мм.

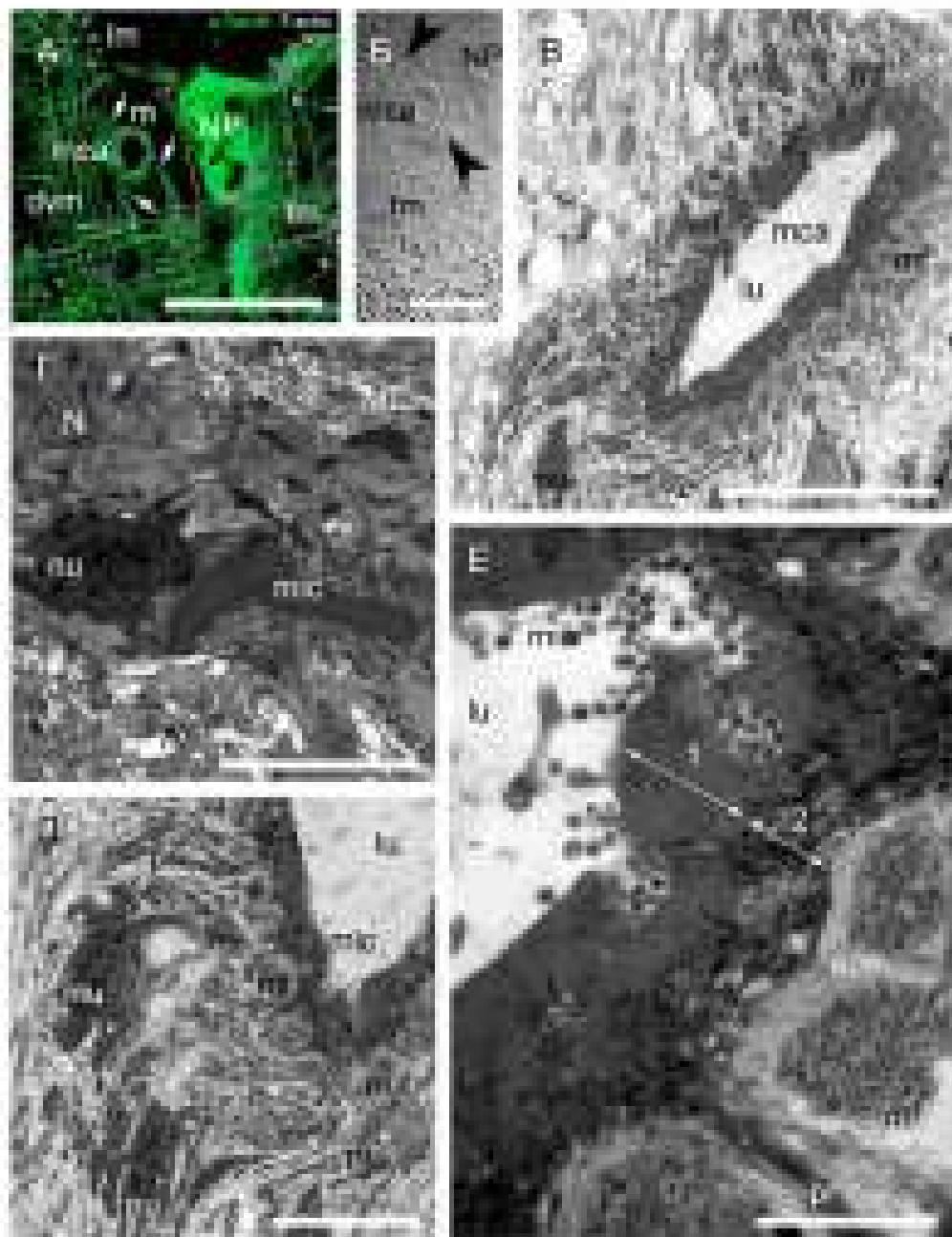


Рисунок 26. Структура стенок развивающегося зародка. А — эмбриональная (зеленая) и материнская (красная) флуоресценция в стенке стеновых клеток и матурирующей клетке утолщения над семяпочкой, эмбриональная флуоресценция над семяпочкой, эмбриональная флуоресценция стенок зародка. В — стеновые клетки, развитая плазматическая мембрана и вода-полимеризованный крахмал (стрелки). С — плазматический слой зародка на стеновых клетках и флуоресцентная мембрана (стрелки). Г — плазматический слой зародка, плазматический слой зародка и плазматический слой зародка. Д-Ж — ультраструктура плазматического слоя зародка стеновых клеток и плазматического слоя зародка (1-3), плазматический слой зародка, плазматический слой зародка и плазматический слой зародка (4-6). К — плазматический слой зародка, плазматический слой зародка и плазматический слой зародка (7-9). Масштаб: А — 10 мкм, В — 1 мкм, С — 1 мкм, Д — 1 мкм, Е — 1 мкм, Г — 1 мкм, И — 1 мкм, К — 1 мкм.

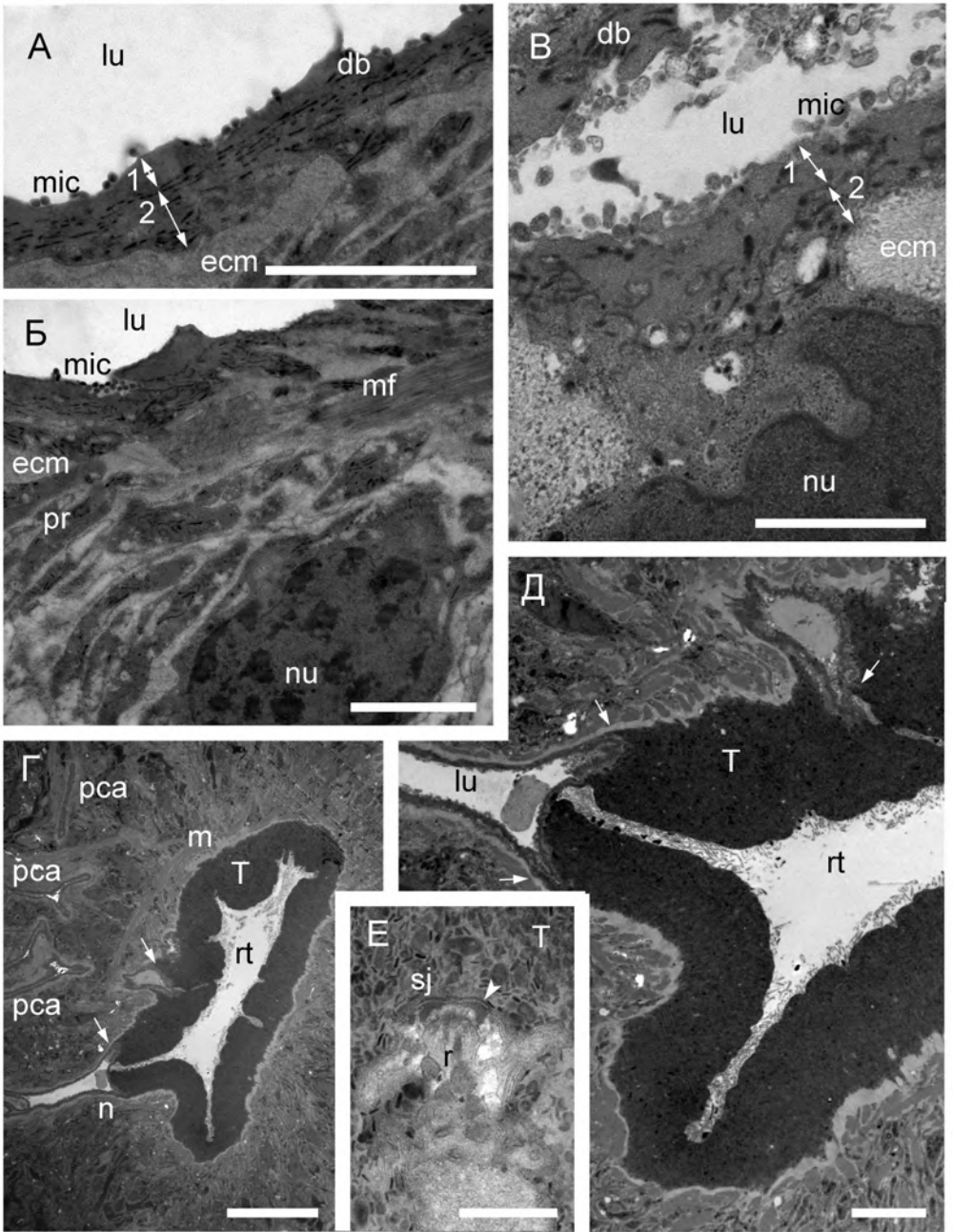


Рисунок 26. Каудальная (терминальная) часть экскреторной системы. А-Б — главный экскреторный канал над местом слияния с мочевым пузырем; цитоплазма двуслойная с редкими микроворсинками и слабо развитой мускулатурой стенки канала; В — эпителий мочевого пузыря с цитоплазмой, дифференцированной на 2 слоя; Г — резервуар терминальной поры на поперечном срезе; Д — увеличенный фрагмент изображения 7Г, два нефропора (стрелки) в тегументе; Е — безресничный рецептор с электронноплотным опорным кольцом (стрелка) и корешком в тегументе экскреторной поры. Масштаб 2 мкм, 2 мкм, 1 мкм, 20 мкм, 5 мкм, 1 мкм.

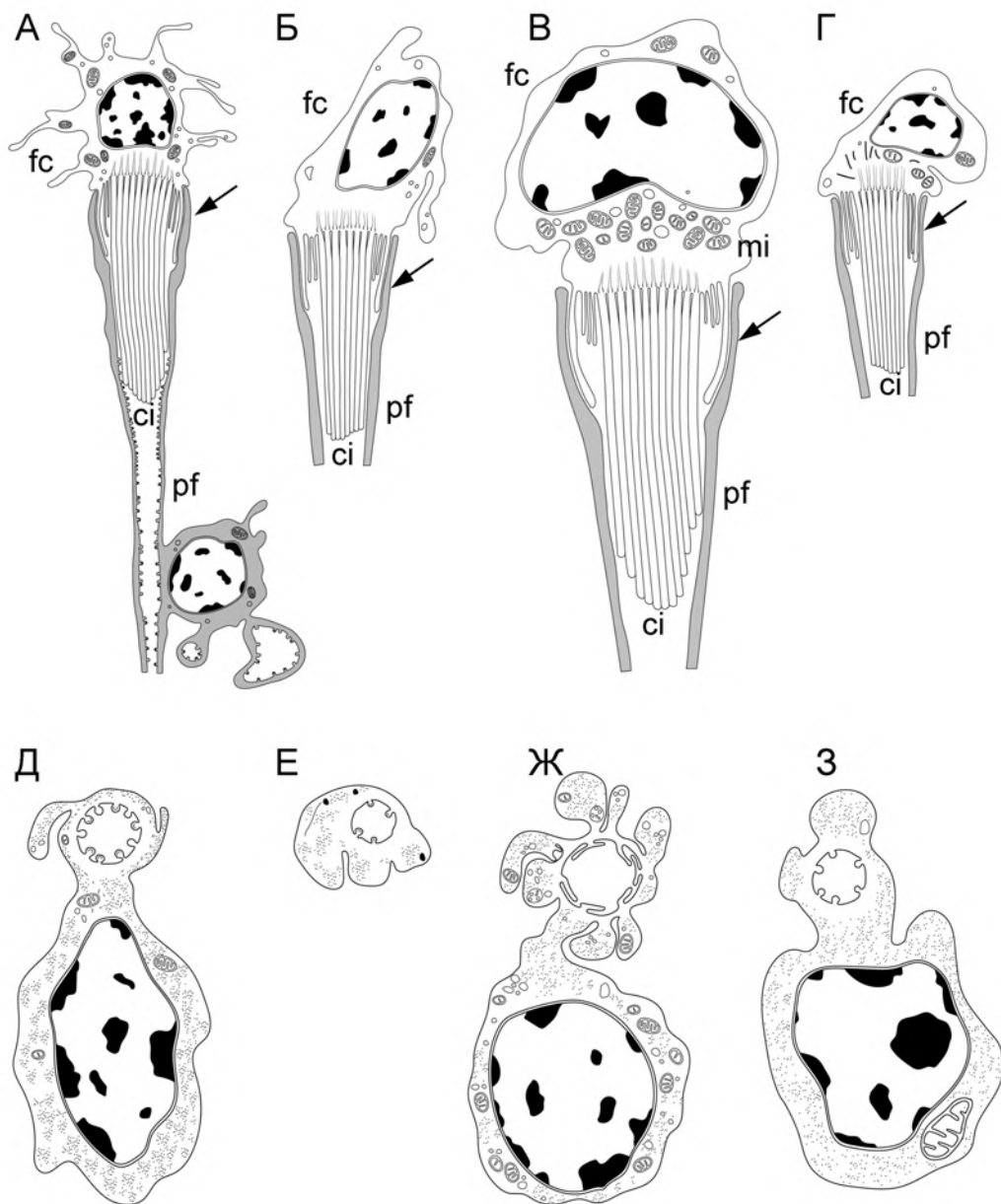


Рисунок 27. Схема строения элементов выделительной системы. А - Г - терминальные ресничные клетки и протонефридиальные воронки плероцеркоидов *P. phocarum*, *Sch. solidus*, взрослой особи *C. laticeps*, плероцеркоида *N. surmenicola*, соответственно. Д - З - каналы 1го порядка у плероцеркоидов *P. phocarum*, *Sch. solidus*, взрослой особи *C. laticeps*, плероцеркоида *N. surmenicola*, соответственно.

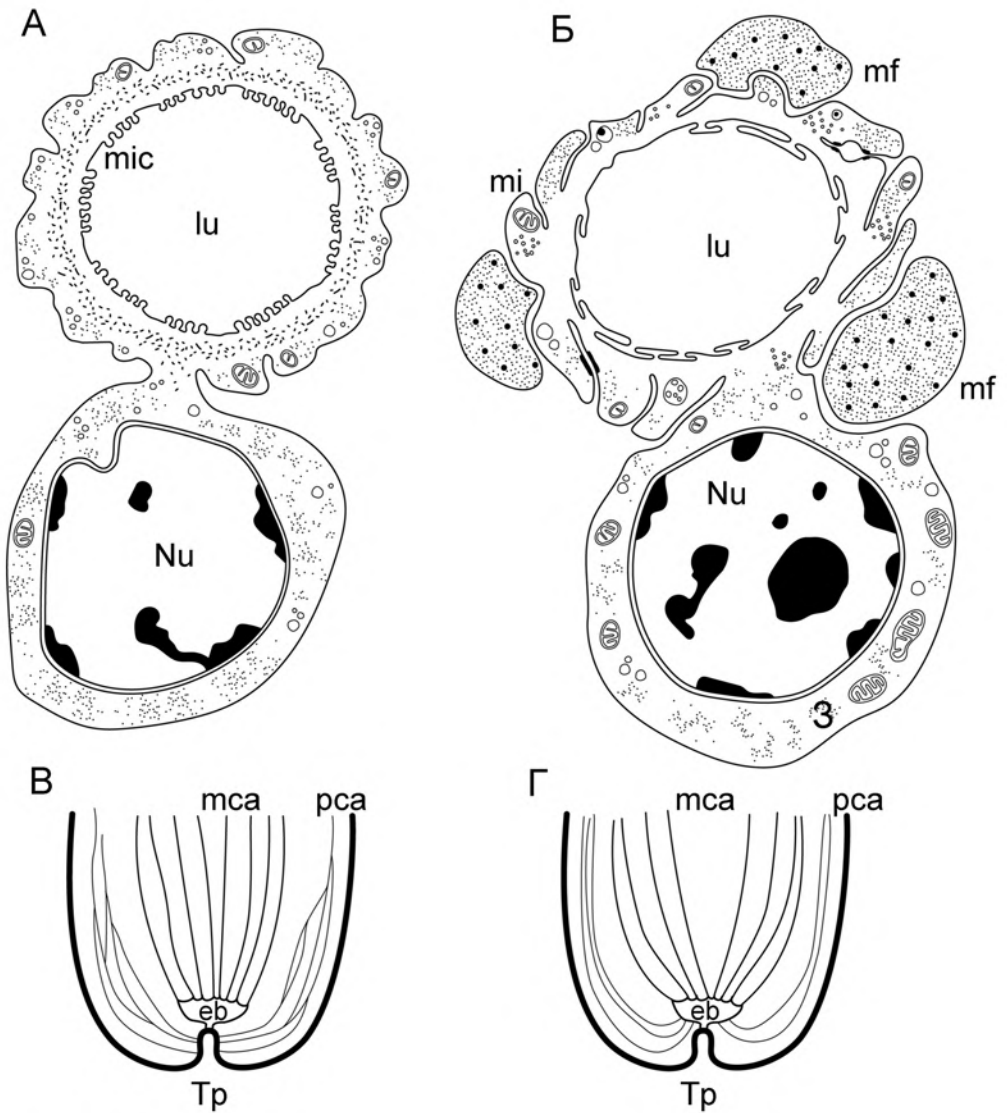


Рисунок 28. Схема строения элементов выделительной системы. А - периферический канал 2го порядка *P. phocarum*; Б - периферический канал 2го порядка взрослой особи *C. laticeps*, ; В - схема строения выделительной системы заднего конца тела плероцеркоида *P. phocarum*, Г - схема строения выделительной системы заднего конца тела взрослой особи *C. laticeps*.

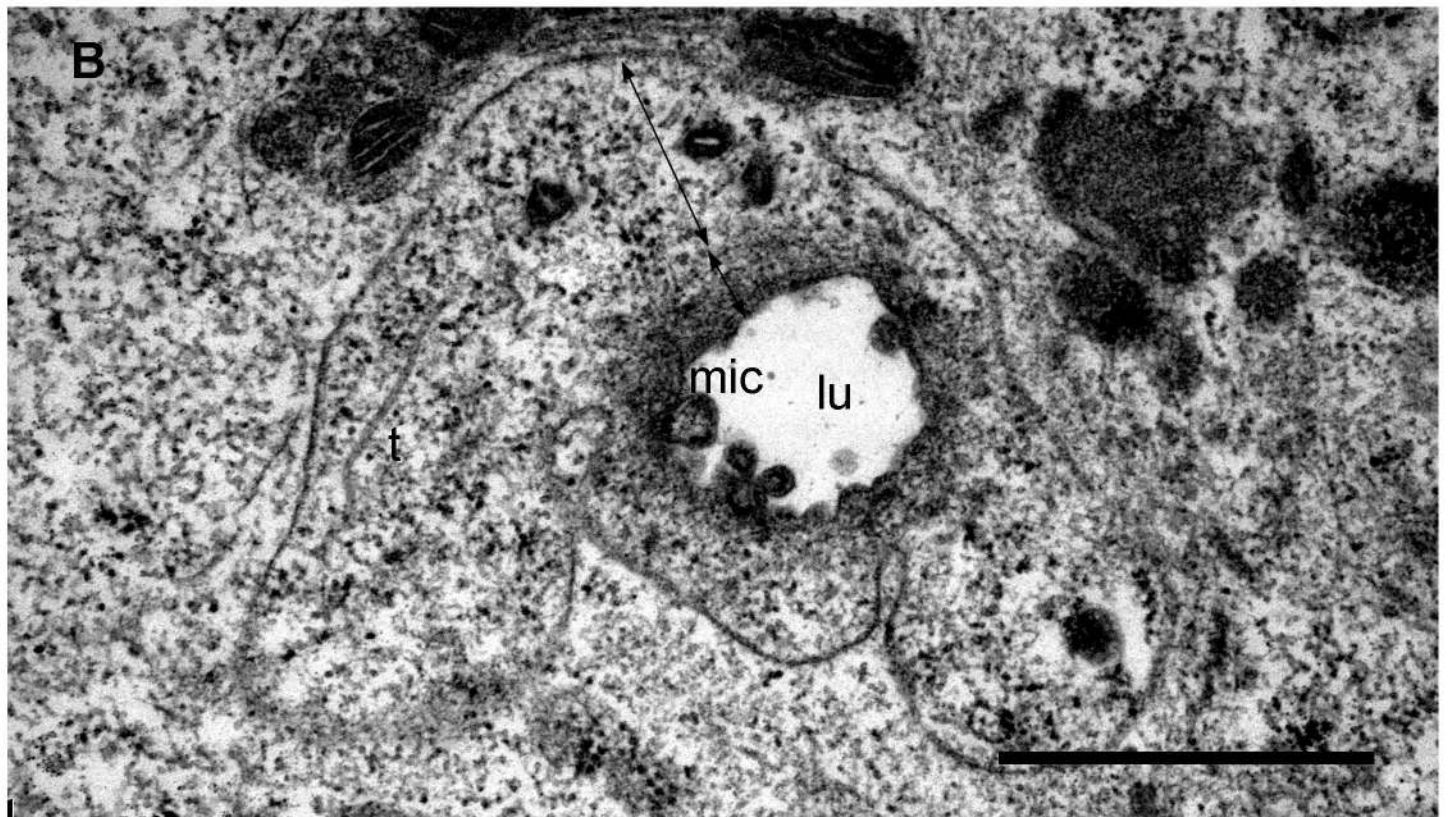
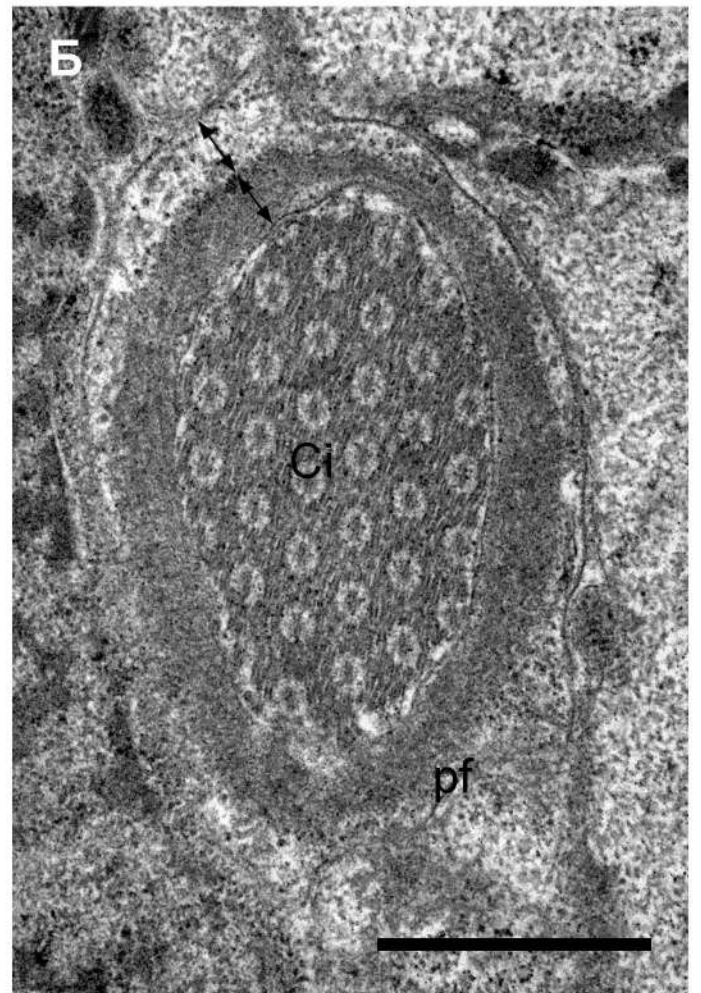
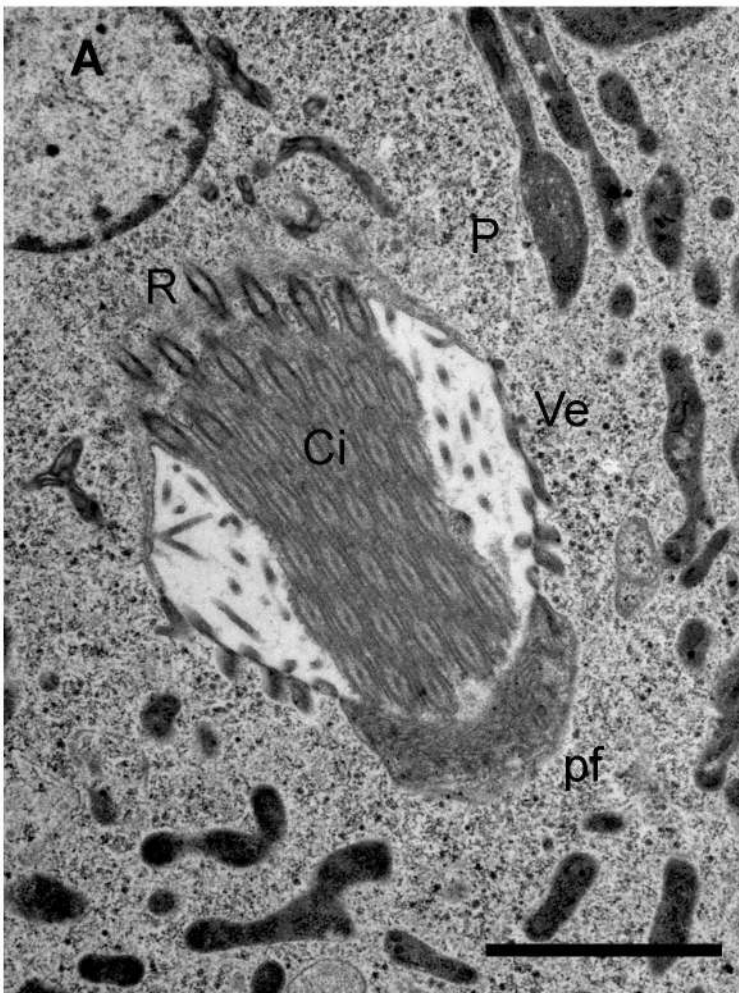


Рис. 29. Выделительная система плероцеркоида *S. solidus*. А - фильтрационная верша; Б - проксимальная часть нефридиальной воронки с стратифицированной цитоплазмой; В - внутриклеточный канал 1-го порядка, видная стратификация цитоплазмы. Масштаб: А - 2 мкм, В - 1 мкм, С - 1 мкм.

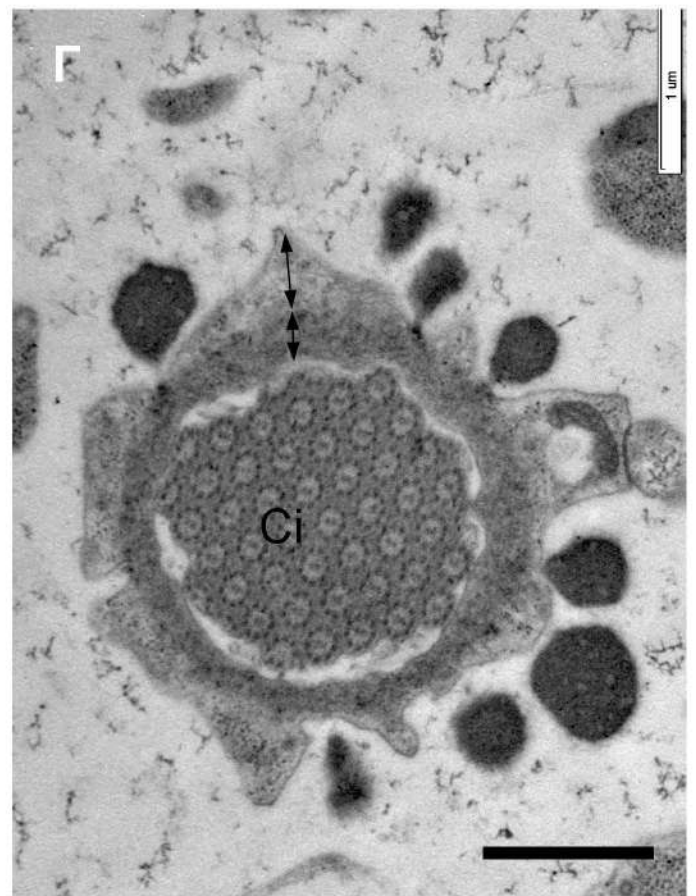
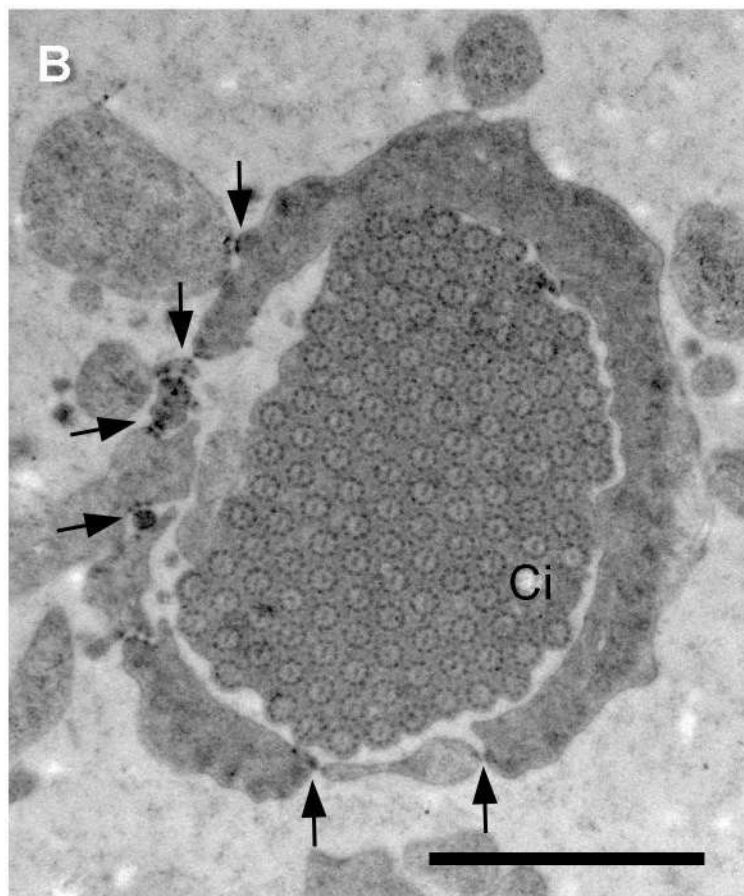
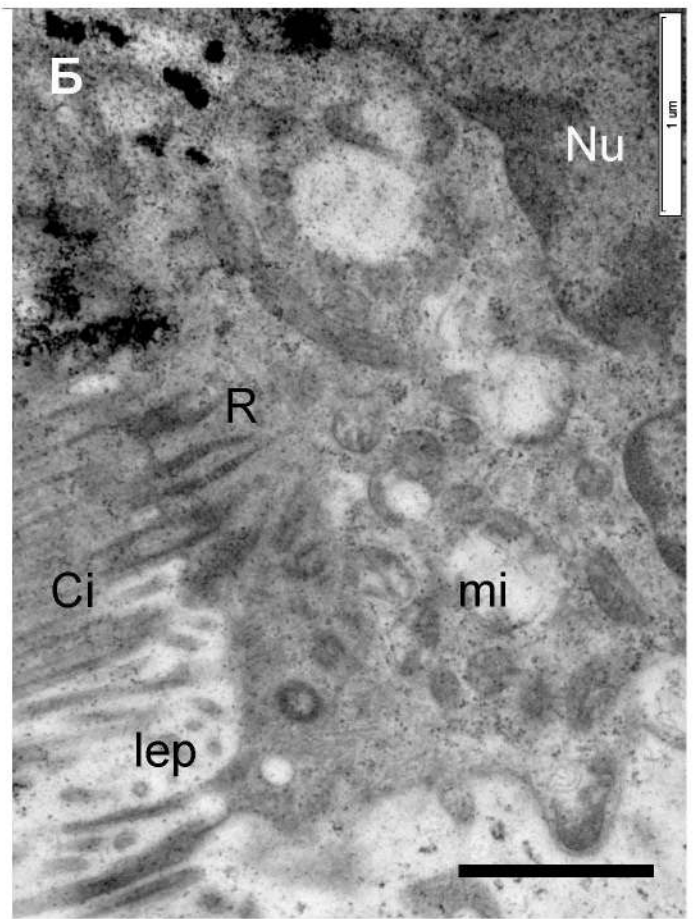
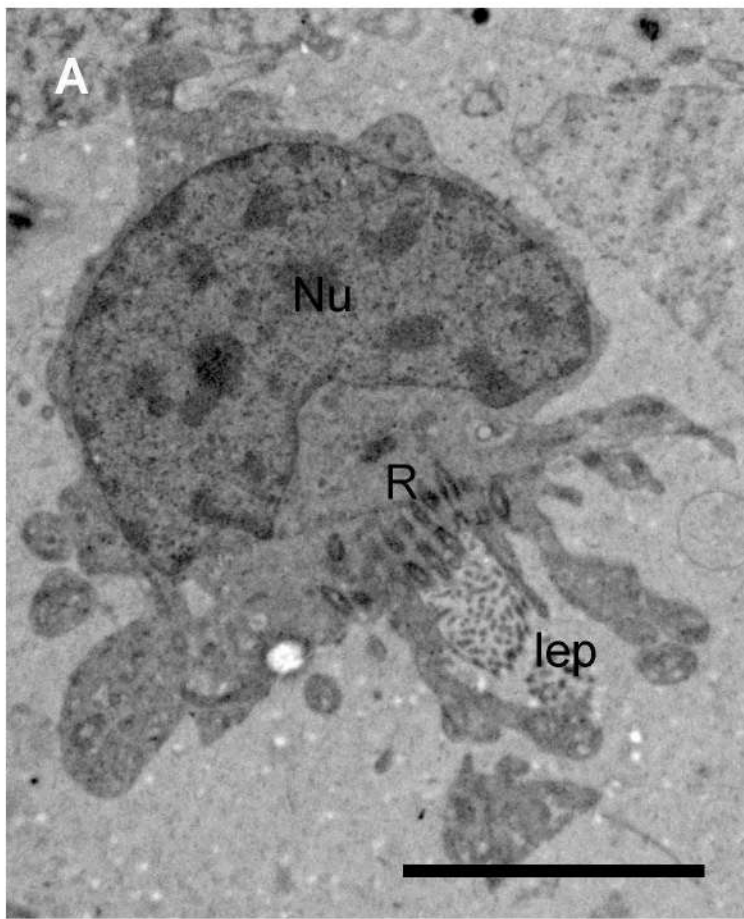


Рис. 30. Выделительная система *C. laticeps*. А - Сомма цитротоцита и частично срезанная продольно верша; Б - органоиды цитротоцита - митохондрии и корешки ресничек пламени; В - поперечный срез проксимальной части воронки, состоящей из нескольких отростков, стрелками показаны контакты; Г - поперечный срез дистальной части воронки, заметная стратификация цитоплазмы. Масштаб: А - 5 мкм, В - 1 мкм, С - 2 мкм, D - 1 мкм.

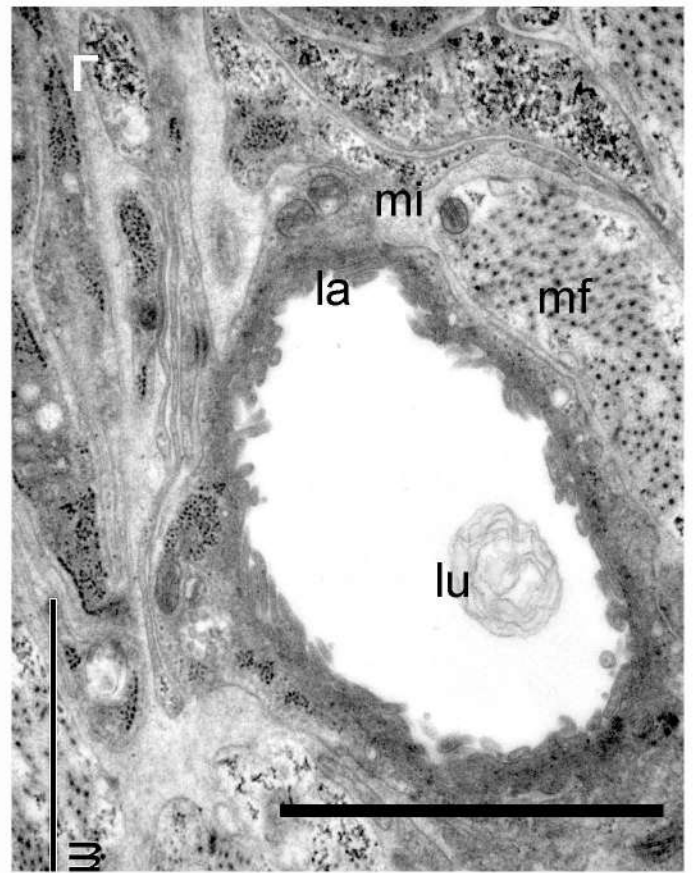
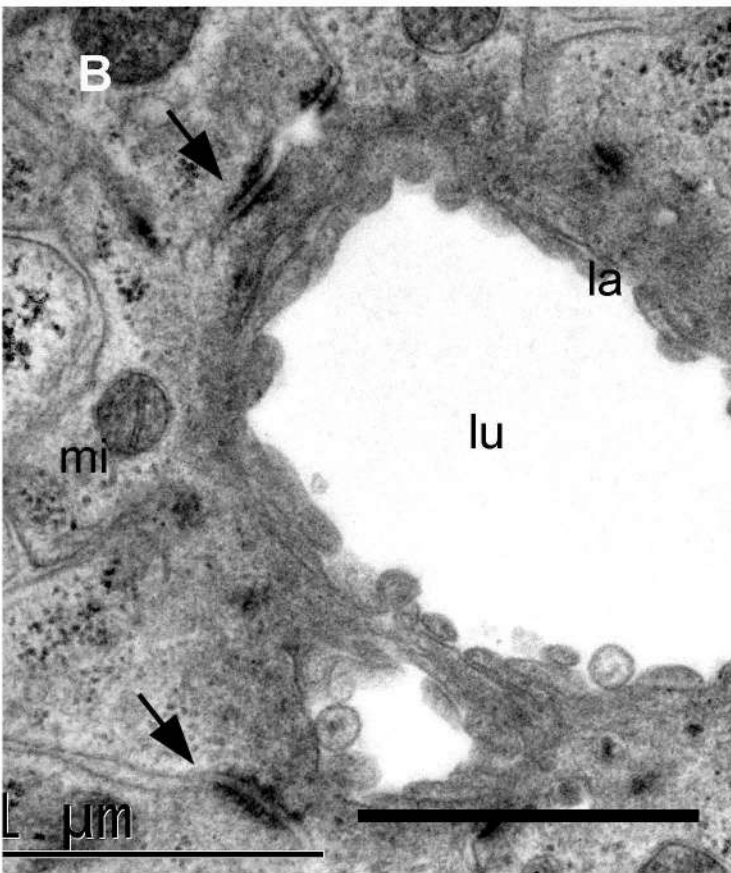
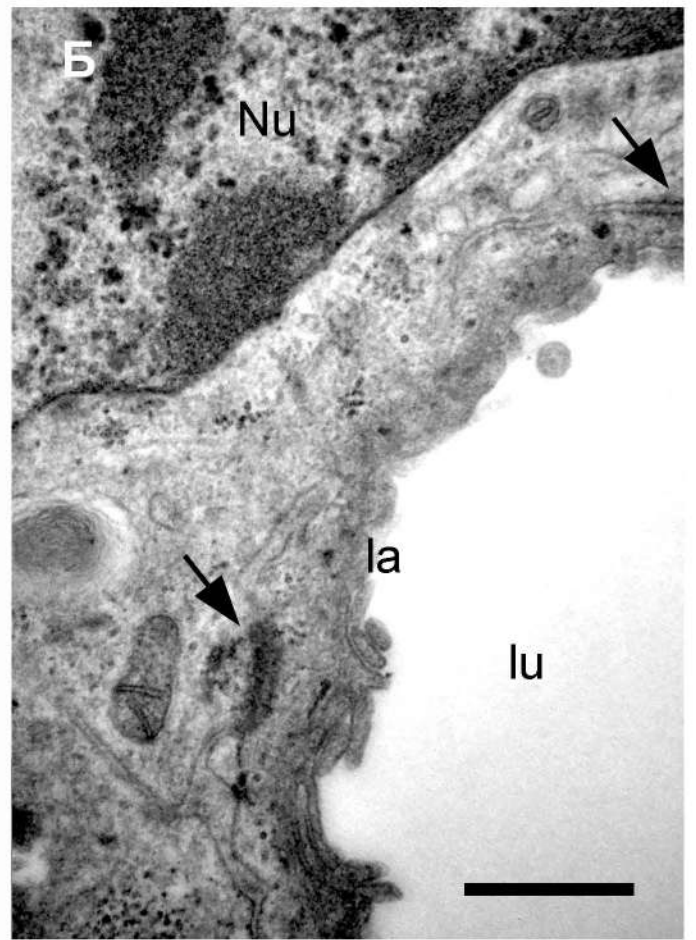
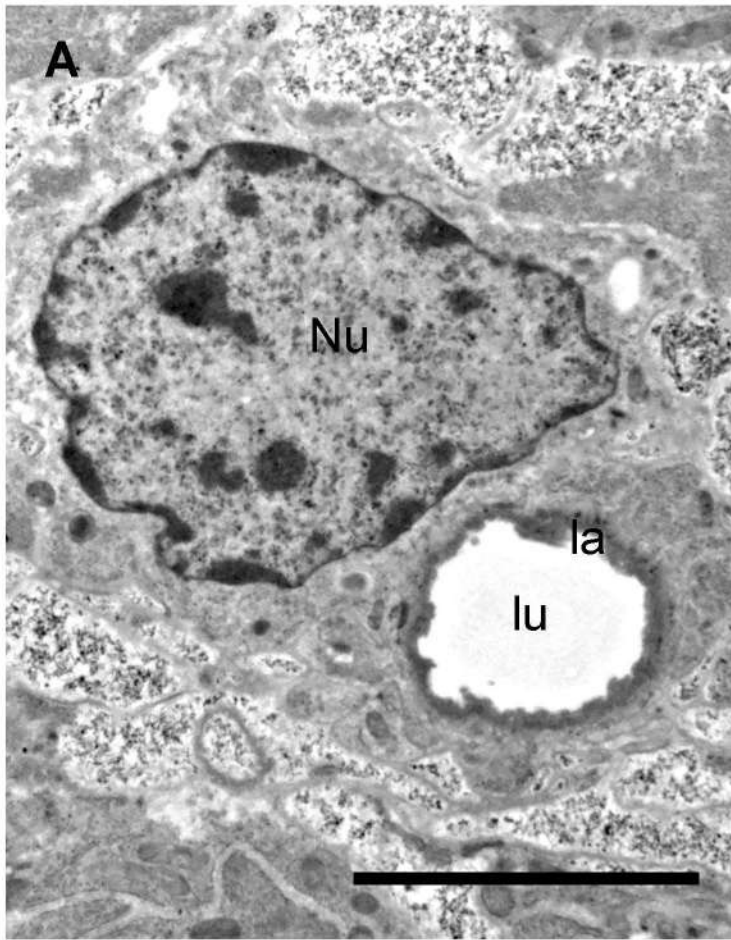


Рис. 31. Выделительная система *C. laticeps*, стрелки указывают на межклеточные контакты, образованные экскреторным эпителием. А - субтегументальный канал с перикарионом экскреторного эпителия; Б - экскреторный эпителий (фрагмент фото А); В - канал 1-го порядка с межклеточными контактами; Г - мышечная обкладка каналов. Масштаб: А - 5 мкм; В - 0.5 мкм; С - 1 мкм; D - 2 мкм.

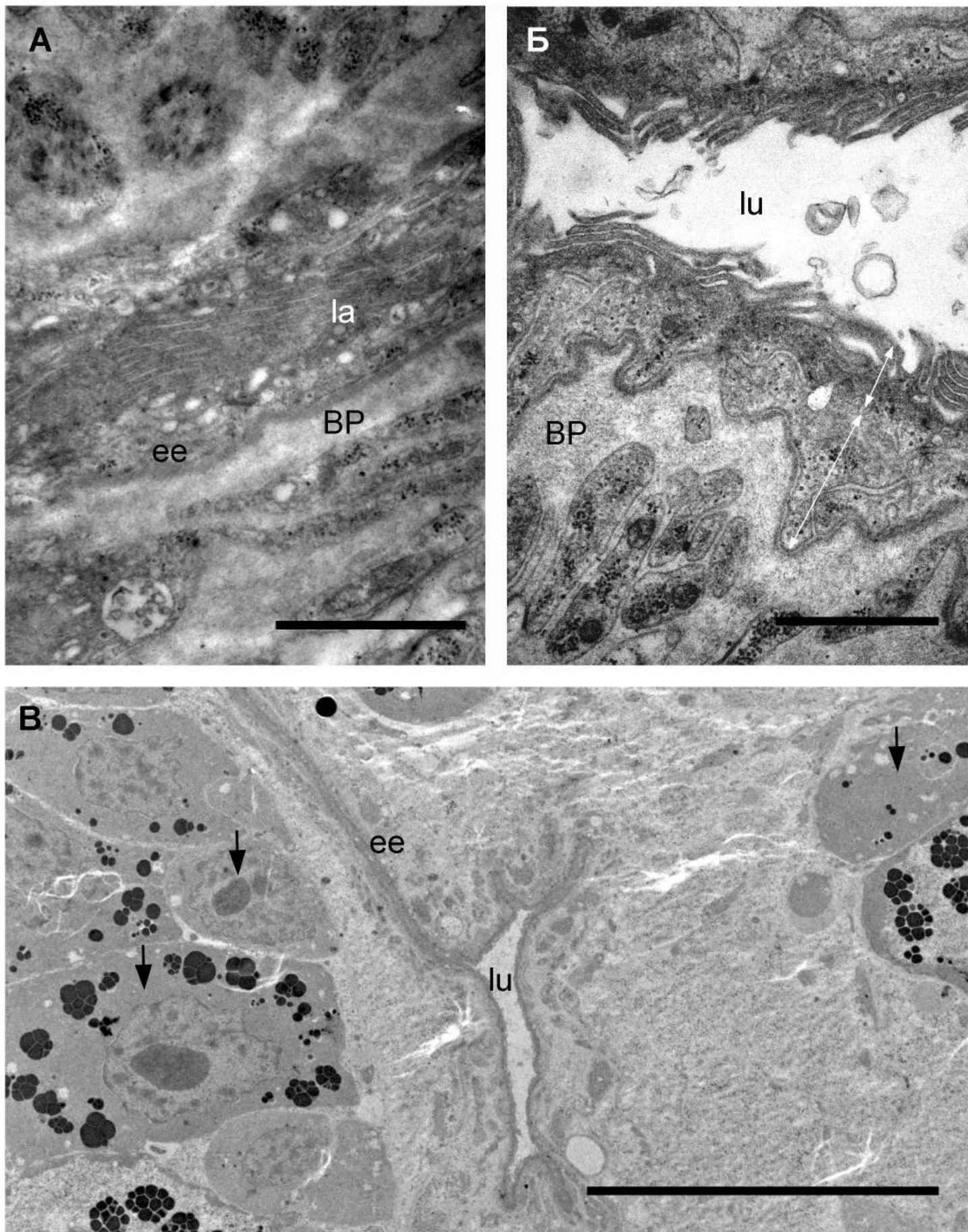


Рис. 32. Выделительная система *C. laticeps*. А - стенка мочевого пузыря; Б - стенка продольных каналов, соединяющихся с передней частью мочевого пузыря, заметная стратификация цитоплазмы на два слоя; В - общий вид одного из продольных каналов, проходящих между отделами половой системы, стрелками отмечена половая система. Масштаб А - 1 мкм, В - 1 мкм, С - 20 мкм.

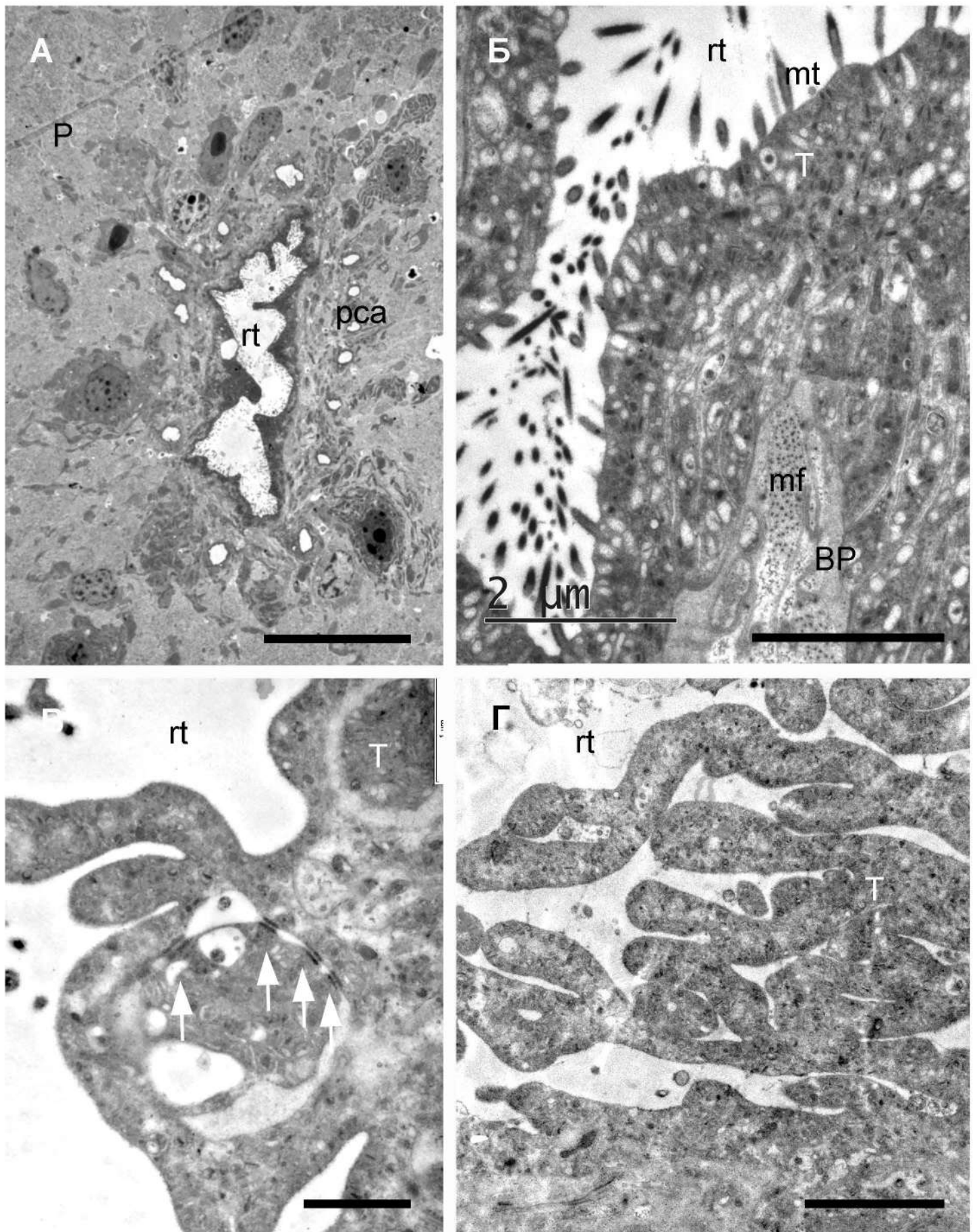


Рис. 33. Выделительная система *C. laticeps*. А - поперечный срез через терминальную пору; Б - тегумент терминальной поры с сильно складчатой базальной мембраной, базальные отростки имеют вакуолизированную цитоплазму; В - поверхность тегумента терминальной поры, стрелки указывают на контакты между мембранами тегумента; Г - поверхность тегумента в глубине терминальной поры с отростками и без микротрихий. Масштаб: А - 20 мкм; Б - 2 мкм; С - 1 мкм; Д - 2 мкм.

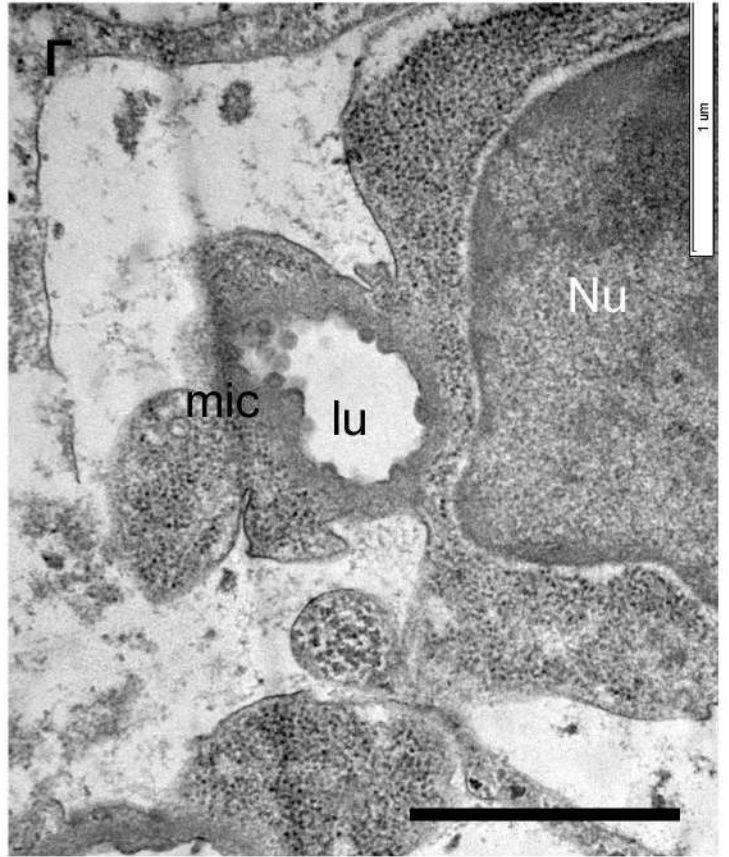
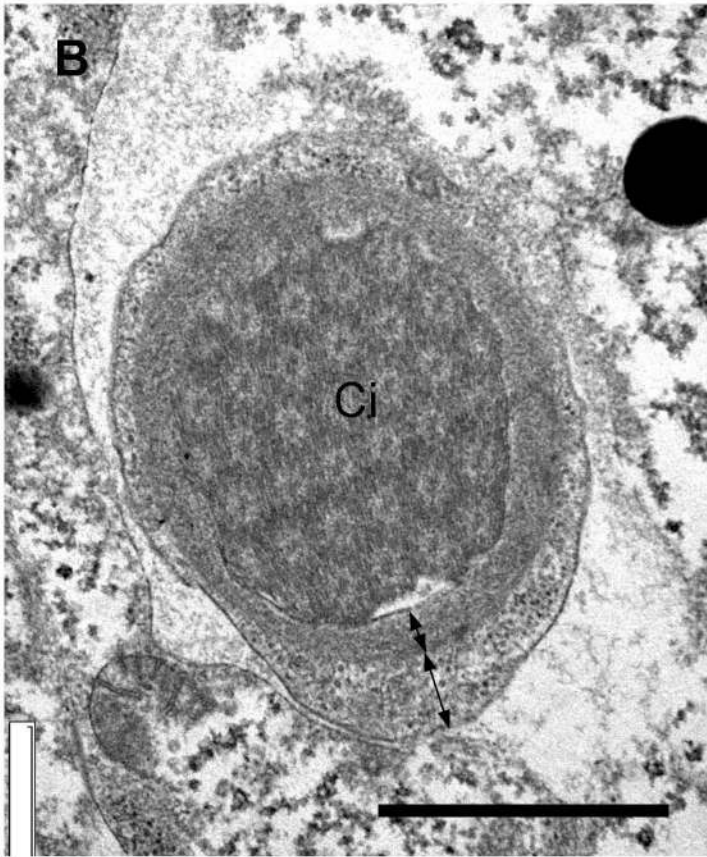
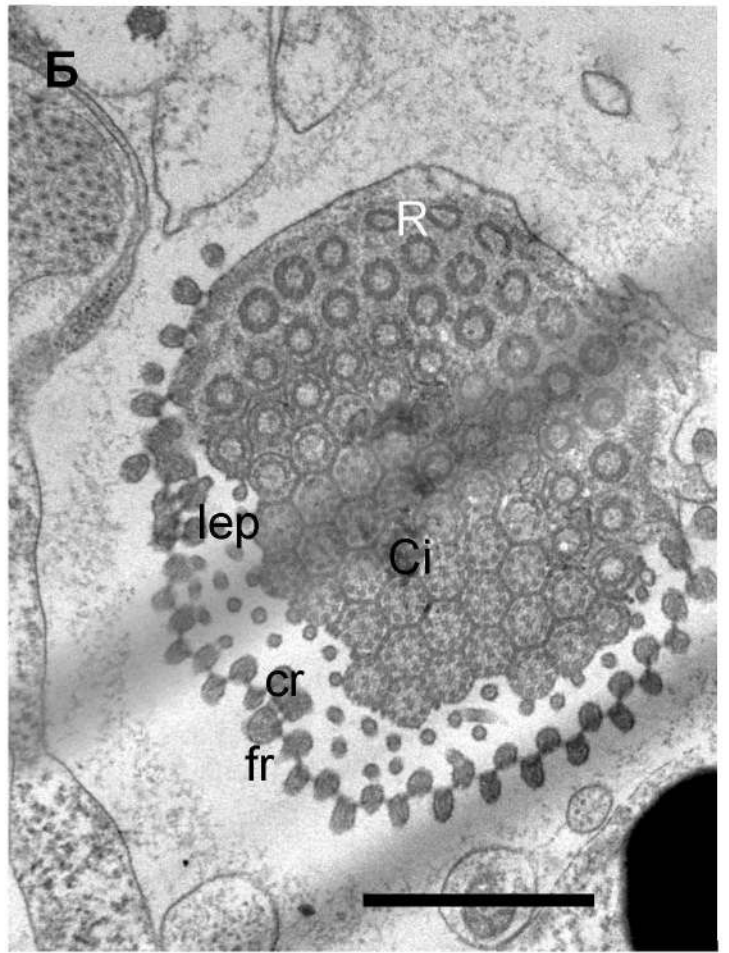
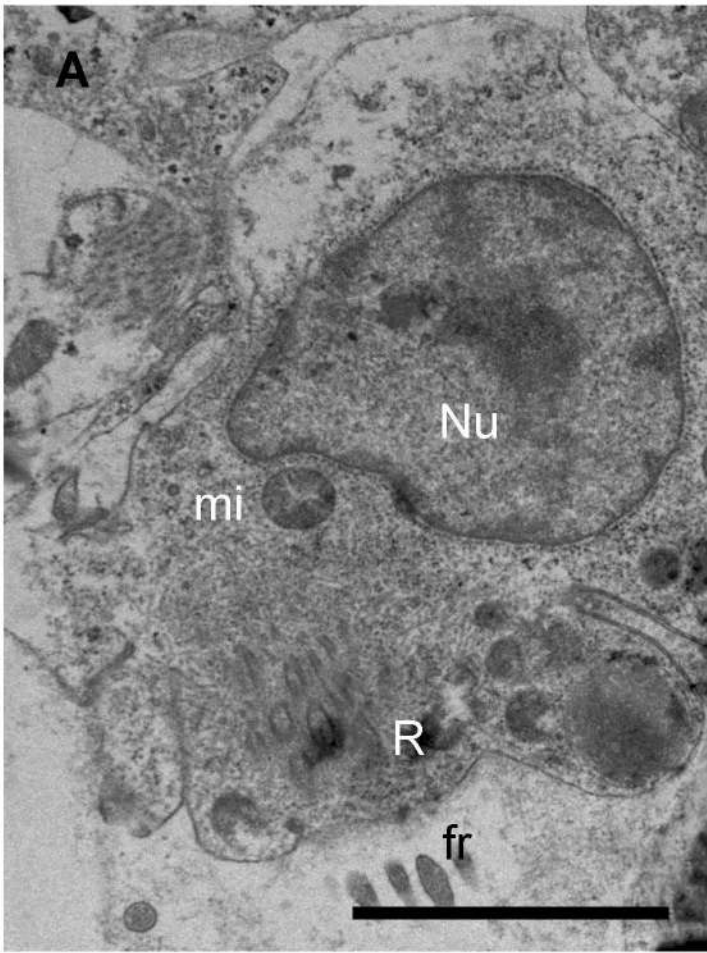


Рис. 34. Выделительная система *N. surmenicola*. А - Перикарион циртоцита; Б - верша; В - нефридиальная воронка, заметная стратификация цитоплазмы; Г - внутриклеточный канал, образованный клеткой экскреторного эпителия. Масштаб А - 2 мкм, В - 1 мкм, С - 1 мкм, D - 1 мкм.

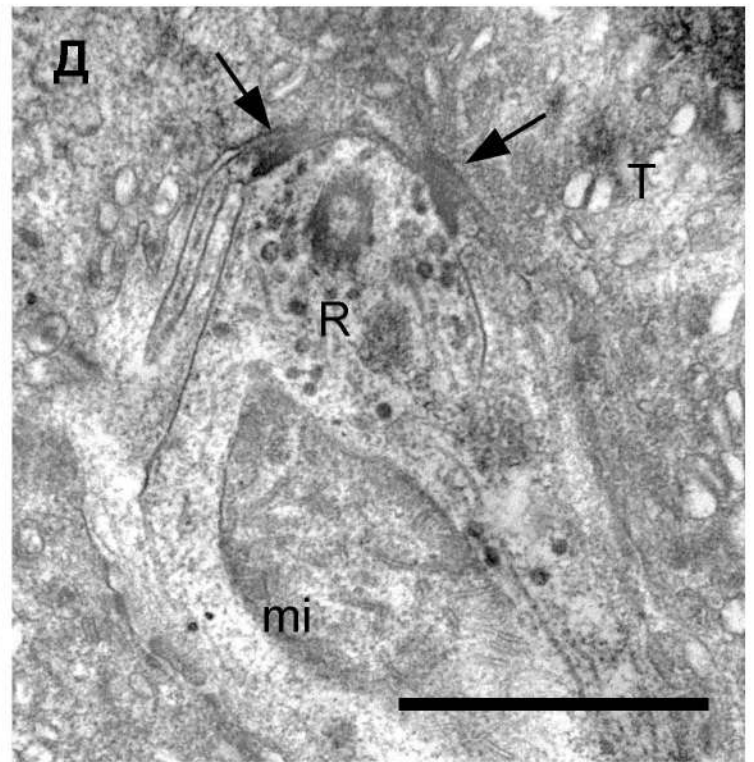
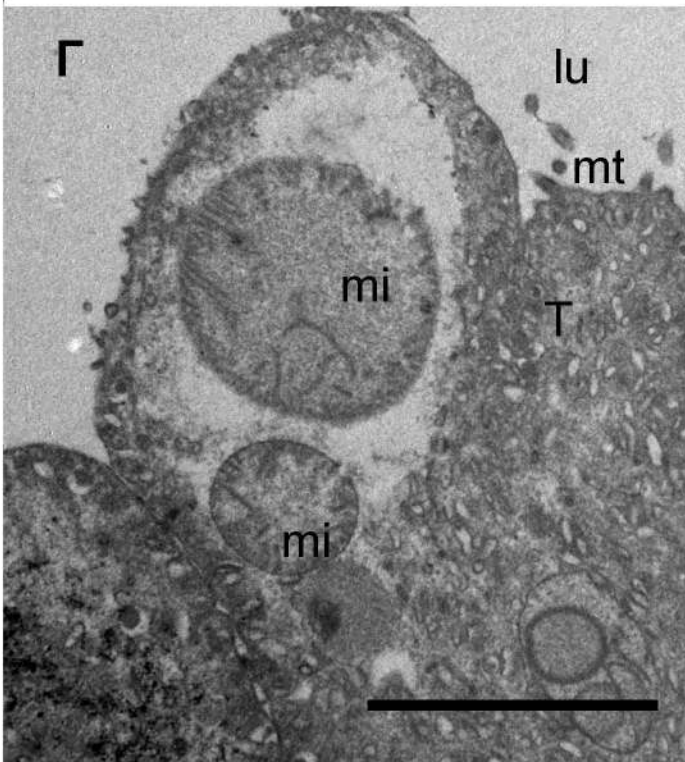
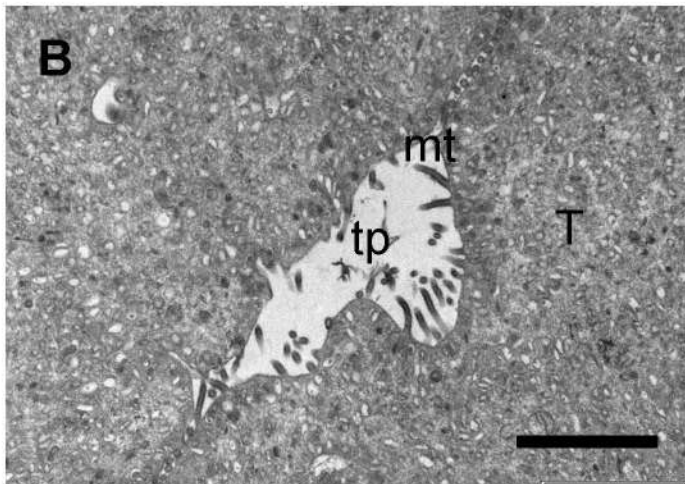
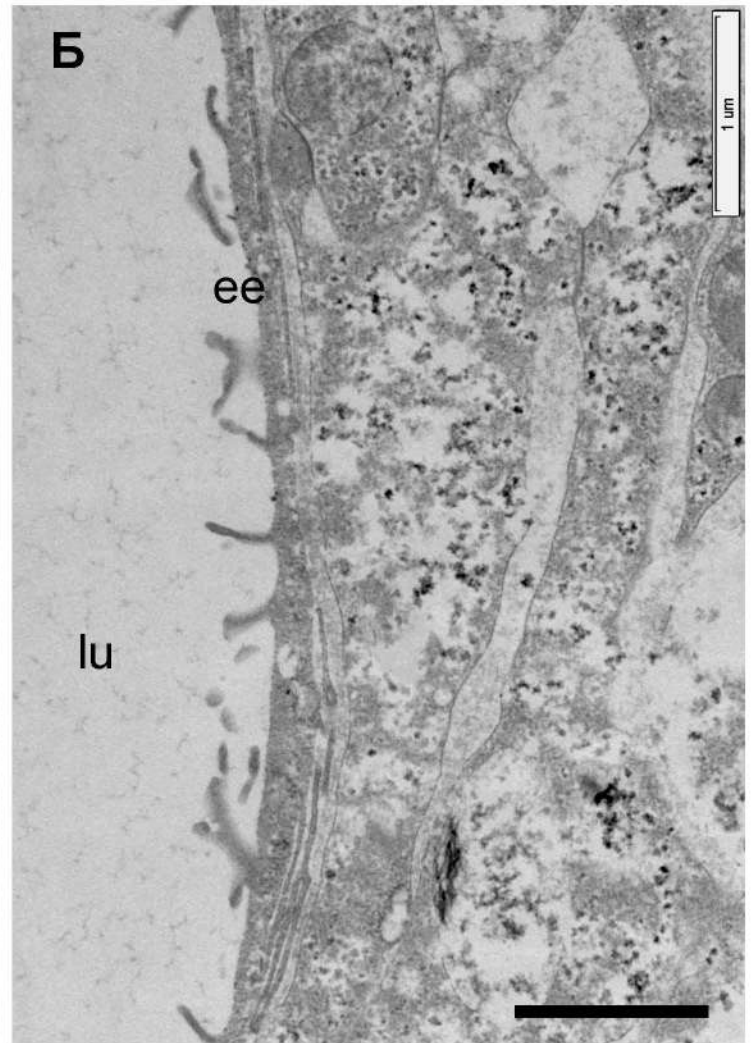
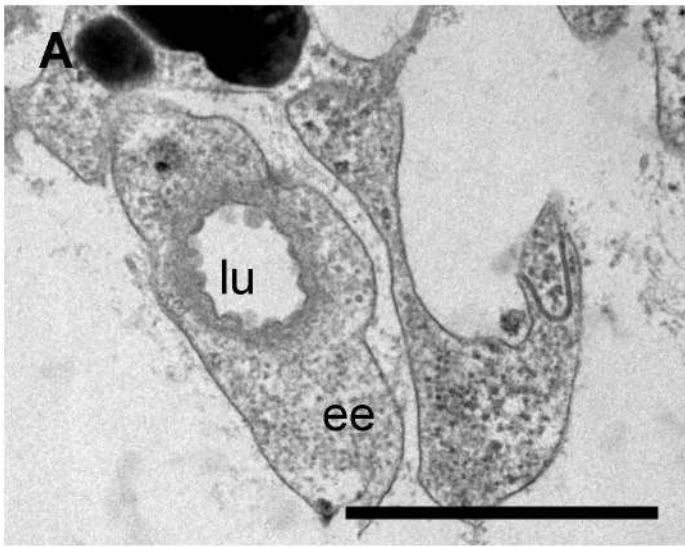


Рис. 35. Выделительная система *N. surmenicola*. А - внутриклеточные каналы с мелкими микроворсинками; Б - стенка периферических каналов с удлиненными микроворсинками; В - просвет терминальной поры; Г - тегумент терминальной поры с крупными выпячиваниями цитоплазмы с митохондриями; Д - безресничное нервное окончание в толще тегумента терминальной поры, стрелками отмечены опорные кольца. Масштаб: А - 1 мкм, В - 1 мкм, С - 2 мкм, D - 2 мкм, Е - 1 мкм.