

УДК 576.895.133:576.315

DOI: 10.31016/1998-8435-2018-12-1-52-58

ВНУТРИЯДЕРНЫЕ ВКЛЮЧЕНИЯ В МАКРОФАГАХ ЯЩЕРИЦЫ *Lacerta agilis*, ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ИНВАЗИРОВАННОЙ СКРЕБНЕМ *Corynosoma strumosum*

ВЛАДИМИР ПАВЛОВИЧ НИКИШИН^{1, 2},
ЕКАТЕРИНА МИХАЙЛОВНА СКОРОБРЕХОВА¹

¹ Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, Россия, г. Магадан, ул. Портовая, 18

² Северо-восточный государственный университет, Россия, г. Магадан, ул. Портовая, 13; e-mail: nikishin@ibpn.ru

Поступила в редакцию: 20.09.2017; принята в печать 26.01.2018

Аннотация

Цель исследований: изучение клеточного ответа неестественного паратенического хозяина и процесса инкапсуляции в нем скребня *Corynosoma strumosum* в условиях эксперимента для последующего сравнения с механизмом инкапсуляции этого скребня в естественном паратеническом хозяине.

Материалы и методы. Опыты проводили на 24 ящерицах *Lacerta agilis* и одной *L. viridis*. От 13 из них были получены 17 инкапсулированных скребней. Скребней вместе с капсулами препарировали для электронно-микроскопических исследований по стандартной методике и изучали в световом (на полутонких срезах) и электронных (на ультратонких срезах) микроскопах. Полутонкие срезы окрашивали метиленовым синим или смесью метиленового синего и кристаллического фиолетового. Ультратонкие срезы контрастировали цитратом свинца. С применением светового микроскопа были исследованы все капсулы, полученные в эксперименте, электронно-микроскопически – капсулы в возрасте 1,5 и 10 сут.

Результаты и обсуждение. Все исследованные скребни, включая и обнаруженных через полтора суток после начала эксперимента, были заключены в толстую клеточную капсулу, в составе которой преобладали одноклеточные или мультителесные макрофаги. Примерно в половине ядер были обнаружены одиночные электронно-плотные включения правильной округлой формы, окруженные гало из умеренно-плотного материала. Природа включений осталась неизвестной. При интерпретации результатов описанной находки необходимо учитывать: 1) наличие этих включений в ядрах только макрофагов; 2) строго одиночное расположение их в ядрах; 3) строго сферическая форма; 4) очень высокая электронная плотность образующего их материала, превышающая плотность ядрышка и хроматина; 5) наличие гало; 6) отсутствие видимых признаков патологии ядер и цитоплазмы клеток, в которых эти включения обнаружены. Предполагается, что их появление связано с повышенной активностью макрофагов ящерицы, вызванной инвазией паразитическим червем.

Ключевые слова: акантоцефалы, скребни, *Corynosoma strumosum*, *Lacerta agilis*, капсула, макрофаги, внутриядерные включения.

Для цитирования: Никишин В. П., Скоробрехова Е. М. Внутриядерные включения в макрофагах ящерицы *Lacerta agilis*, экспериментально инвазированной скребнем *Corynosoma strumosum* // Российский паразитологический журнал. 2018. Т. 12. № 1. С. 52–58.

DOI: 10.31016/1998-8435-2018-12-1-52-58

© Никишин В. П., Скоробрехова Е. М.

INTRANUCLEAR INCLUSIONS IN MACROPHAGES OF LIZARDS *Lacerta agilis*, EXPERIMENTALLY INFECTED BY ACANTHOCEPHALAN *Corynosoma strumosum*

VLADIMIR P. NIKISHIN^{1,2}, EKATERINA M. SKOROBRECHOVA¹

¹Institute of Biological Problems of the North FEB RAS, Magadan, 18 Portovaya Str., Magadan

²North-East State University, 13 Portovaya Str., Magadan; e-mail: nikishin@ibpn.ru

Submitted 20.09.2017; accepted for printing 26.01.2018

Abstract

The purpose of the research: to study the cell response of non-natural paratenic host and encapsulation process of acanthocephalan *Corynosoma strumosum* in experiment for further comparison with encapsulation mechanism of this acanthocephalan in natural paratenic host.

Materials and methods. Experiments were carried out on 24 lizards *Lacerta agilis* and one *L. viridis*. 17 encapsulated acanthocephalans were received from 13 of them. Acanthocephalans with capsules were prepared for electron microscopic analysis according to standard methods and examined in light (semithin sections) and under electron (in ultrathin sections) microscopes. Semithin sections were stained with methylene blue or a mixture of methylene blue and crystal violet. Ultrathin sections were stained with lead citrate. All capsules received in the experiment were investigated with the use of the light microscope; 1, 5 and 10 day capsules were examined under electron microscope.

Results and discussion. All acanthocephalans studied in this paper including those discovered one and half day after the start of experiment were enclosed in the thick cellular capsule with prevailing mononuclear and multinuclear macrophages. Single electron-dense inclusions of regular rounded shape surrounded by halo of moderately dense material were found in approximately half of both types of nuclei. Nature of inclusions remained unknown. In the interpretation of results, it is necessary to take into account: 1) the presence of these inclusions in macrophage nuclei only; 2) their strictly ordinary positioning in the nucleus; 3) strictly spherical shape; 4) very high electronic density of their material, that exceeds the density of the nucleolus and chromatin; 5) presence of halo; 6) absence of visible pathological signs in nuclei and cell's cytoplasm where these inclusions had been found. Their appearance is supposed to be connected with the overactivity of lizard macrophages caused by invasion of a parasitic worm.

Keywords: acanthocephalan, *Corynosoma strumosum*, *Lacerta agilis*, capsule, macrophage, intranuclear inclusions.

For citation: Nikishin V. P., Skorobrechova E. M. Intranuclear inclusions in macrophages of lizards *Lacerta agilis*, experimentally infected by acanthocephalan *Corynosoma strumosum*. Russian Journal of Parasitology. 2018; 12(1):52–58. DOI: 10.31016/1998-8435-2018-12-1-52-58

Введение

Характерным признаком представителей типа Acanthocephala является способность к паратеническому паразитизму [1, 13]. Наличие в жизненном цикле паразитов паратенического хозяина рассматривается как важная экологическая особенность, обеспечивающая успешную передачу инвазии от промежуточного хозяина к окончательному [2]. В паратенических хозяевах скребни окружаются капсулой, структура которой, по нашим данным, может варьировать в зависимости от степени предпочтительности хозяина [3, 14].

С целью изучения особенностей процесса инкапсуляции скребня *Corynosoma strumosum* в паратенических хозяевах было проведено экспериментальное заражение естественных и неестественных хозяев. При изучении ультра-

структуры капсулы, формируемой вокруг коринозом в экспериментально инвазированных ящерицах (неестественные хозяева), в некоторых клетках капсулы мы обнаружили необычные внутриядерные включения. В настоящем сообщении представлено описание этих включений.

Материалы и методы

В двух экспериментах были использованы 24 ящерицы *Lacerta agilis* и одна *L. viridis*, каждой из которых было скормлено от 6 до 21 молодых скребней, извлеченных из естественных паратенических хозяев – морских рыб разных видов, пойманных в окрестностях города Магадана (полное описание первого эксперимента опубликовано ранее [15]). Зараженными оказались 16 ящериц обоих ви-

дов. От 13 из них были получены 17 инкапсулированных скребней в возрасте 1,5; 2; 4,5; 5; 6, 10, 25 и 30 сут (учитывались только живые скребни, проникшие в полость тела, и не учитывались скребни, обнаруженные в просвете или в слизистой оболочке кишечника хозяев). Оставшиеся ящерицы были вскрыты на 30 (2), 34 (1), 90 (2), 105 (5) и 572 (1) сутки после начала эксперимента; живые скребни в них обнаружены не были.

Капсулы, содержащие скребней, фиксировали в 2%-ном глутаровом альдегиде на 0,1 М фосфатном буфере в течение двух суток, постфиксировали в 2–4%-ном тетраоксиде осмия на 0,2 М фосфатном буфере в течение двух часов, обезвоживали в серии спиртов восходящей концентрации и заключали в смесь эпона и аралдита. В процессе дегидратации образцы контрастировали в 1%-ном уранилацетате на 70%-ном спирте в течение ночи. Из полученных блоков готовили полутонкие (для световой микроскопии) и ультратонкие (для электронной микроскопии) срезы. Полутонкие срезы окрашивали метиленовым синим или смесью метиленового синего и кристаллического фиолетового, просматривали в световом микроскопе Olympus CX-41 и фотографировали фотоаппаратом Olympus E-420. Ультратонкие срезы контрастировали цитратом свинца и просматривали в электронных микроскопах JEM-7 и JEM-1011. С применением светового микроскопа были исследованы все капсулы, полученные в эксперименте, электронно-микроскопически – капсулы в возрасте 1,5 и 10 сут.

Результаты и обсуждение

Уже через полтора суток после начала эксперимента скребни проникали сквозь стенку кишечника ящериц и локализовались или на внешней поверхности кишечника (в большинстве случаев) или на поверхности печени (два случая). Все скребни, включая и обнаруженных через полтора суток после начала эксперимента, были окружены сплошной толстой клеточной капсулой. В составе капсул преобладали макрофаги, значительно реже встречались эозинофилы, базофилы и фибробласты. Большинство макрофагов характеризуются уплощенной формой, многочисленными тонкими отростками и имеют одно ядро. Однако, некоторые из них, располагающиеся во внутреннем участке капсулы, увеличены в разме-

рах, имеют неправильную форму и содержат по несколько (до четырех – десяти и более на одном срезе) ядер. Цитоплазма макрофагов обеих форм включает хорошо развитые комплекс Гольджи и гранулярный эндоплазматический ретикулум, организованный в виде длинных канальцев, скопления которых часто наблюдают вблизи диктиосом, а также многочисленные овальные или удлинённые митохондрии с электронно-плотным матриксом. Из включений в цитоплазме отмечены липидные капли, иногда образующие скопления, и электронно-плотные тельца неправильной формы, напоминающие вторичные лизосомы или фагосомы. Ядра одноядерных макрофагов располагаются эксцентрично, имеют размеры $3,8\text{--}7,7 \times 1,8\text{--}4,3$ мкм и характеризуются четким овальным ядрышком и многочисленными скоплениями гетерохроматина, рассеянными в кариоплазме или сконцентрированными в виде узкого слоя вдоль внутренней поверхности ядерной оболочки. Все органеллы и в целом макрофаги имеют нормальную внешность без видимых признаков патологических изменений.

Примерно в половине ядер как моноядерных, так и мультиядерных макрофагов обнаружены округлые включения диаметром 0,6–1,6 мкм (рис. 1, а, б, в). Эти включения состоят из гомогенного материала очень высокой электронной плотности, превышающей плотность ядрышка и гетерохроматина. Ограничивающая их мембрана отсутствует, но вокруг каждого включения имеется гало толщиной 0,1–0,3 мкм, образованное умеренно-плотной субстанцией (рис. 2, а, б, в). Эта субстанция морфологически отличается от окружающей кариоплазмы и организована в виде неясных концентрических слоёв, параллельных поверхности включения. В некоторых случаях между гало и включением имеется небольшое пространство, содержащее материал, сходный с кариоплазмой.

В каждом ядре во всех случаях имеется только одно такое включение. Контакты включений с ядерной оболочкой, ядрышком или массами гетерохроматина не наблюдали.

В литературе имеется множество сведений о различных внутриядерных образованиях, обнаруженных у одноклеточных и в разнообразных клетках беспозвоночных и позвоночных животных, включая человека. Однако, в

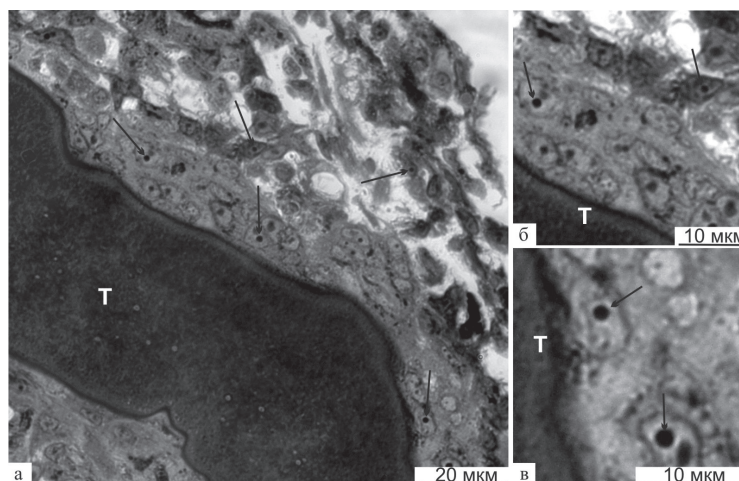


Рис. 1. Микроморфология капсулы, окружающей скребня *Corynosoma strumosum* в ящерице *Lacerta agilis* (полутонкий срез):

- а – в составе капсулы преобладают макрофаги. В ядрах многих макрофагов видны образования (стрелки), отличающиеся от ядрышек правильной сферической формой и более высокой плотностью;
 б, в – фрагменты рисунка (а) с ядрами макрофагов, содержащими сферические включения (стрелки).
 (Т – тегумент скребня, поверхностный срез)

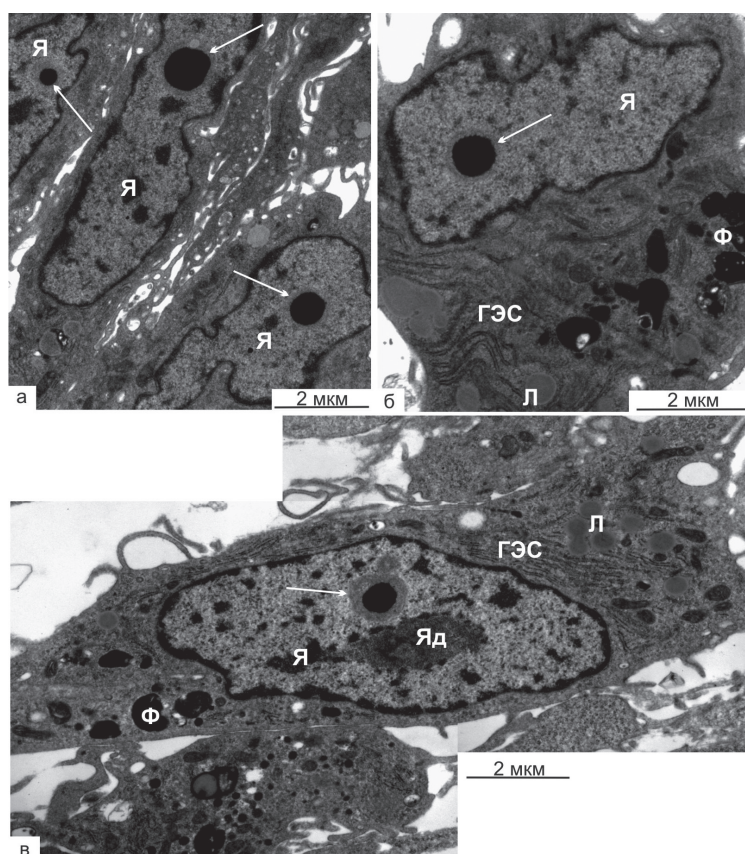


Рис. 2. Ультраструктура макрофагов ящерицы *Lacerta agilis* из капсулы, окружающей скребня *Corynosoma strumosum*. В ядрах (Я) макрофагов видны одиночные сферические включения (стрелки), образованные электронно-плотным материалом и окруженные умеренно плотным гало:

- а – фрагменты трех макрофагов из средней части капсулы. Внутрядерные включения пересечены на разных уровнях; б – типичный макрофаг из наружной части капсулы с многочисленными цистернами гранулярного эндоплазматического ретикула (ГЭС), фагосомами (Ф) и липидными каплями (Л) в цитоплазме. Внутрядерное включение пересечено через его центральную часть; в – типичный макрофаг из центральной части капсулы с включением в ядре, пересеченным через его периферическую часть; Яд – ядрышко

большинстве случаев эти включения морфологически существенно отличаются от найденных нами. Некоторое сходство с нашей находкой имеют ядерные тела («nuclear bodies»), обнаруженные в клетках разных тканей человека в норме и патологии [6, 9], включая головной мозг [12, 18], а также в макрофагах хомяков при экспериментальной инвазии зверьков различными патогенами [7]. Эти образования также имеют электронно-плотную центральную часть и окружены пластинчатым гало. Однако, в отличие от описанных нами включений они образованы зернистым материалом и своим происхождением, вероятно, обязаны вирусным инфекциям [12]. Кроме того, электронная плотность содержимого этих ядерных тел существенно меньше, чем у найденных нами включений и сравнима с плотностью хроматина, что позволило некоторым авторам предположить их генетическую связь [18].

По мнению других авторов, подобные тела представляют собой постоянные внутриядерные «органеллы» [9], появление которых, возможно, связано с гиперактивностью клеток [6, 9]. Отметим, что все макрофаги в исследованных нами капсулах характеризуются явными признаками повышенной активности, о чем свидетельствуют многочисленные фагосомы в их цитоплазме, а также способность к образованию многоядерных симпластов.

Электронно-плотные образования, по плотности частично сходные с обнаруженными нами включениями, были описаны в ядрах тегумента сколексов некоторых цестод подотряда Taeniata. Авторы рассматривают их как скопления протеина, в дальнейшем выделяемого из ядра, транспортируемого в дистальный отдел тегумента и используемого для формирования хоботковых крючьев [11], однако не делают никаких предположений относительно механизмов транспорта образующего их материала из цитоплазмы в ядро и сформированных включений из ядра в цитоплазму.

Согласно другой версии, их появление связывается со стробилиацией цестоды [16]. Гербаут с соавторами [10], критикуя обе версии, полагают, что эти включения характерны для цитонов тегумента только полностью развитых протосколексов, и в их образовании, возможно, принимает участие ядрышко или

хроматин. Однако описанные упомянутыми авторами структуры в ядрах цитонов тегумента цестод в отличие от обнаруженных нами включений характеризуются неправильной формой и встречаются не только поодиночке, но и по несколько экземпляров в одном ядре.

Очевидно, обнаруженные включения могут либо быть производными самого ядра, либо иметь внешнее происхождение. В пользу первой версии свидетельствует видимое отсутствие ограничивающей мембраны. Однако, эта мембрана может оставаться незамеченной в случае тесного контакта с исключительно электронно-плотным материалом включения. Кроме того, сомнительно, чтобы включения представляли собой трансформированные фрагменты содержимого ядра, поскольку плотность их материала существенно превышает плотность гетерохроматина и, тем более, ядрышка.

Другое предположение о природе этих включений связано с их бактериальным происхождением. В пользу этой версии свидетельствует правильная, во всех случаях, форма включений, факт их обнаружения только в макрофагах, наличие гало, напоминающего цисту. Однако, видимое отсутствие ограничивающей мембраны и одиночный характер их присутствия ставят под сомнение и эту версию. Кроме того, описанные включения морфологически существенно отличаются от известных внутриядерных бактерий [4, 17] или других организмов, например, кокцидий [5, 8].

Можно выделить наиболее важные особенности описанной находки, которые необходимо учитывать при интерпретации результатов. К таковым относятся: 1) наличие этих включений в ядрах только макрофагов; 2) строго одиночное расположение их в ядрах; 3) строго сферическая форма; 4) очень высокая электронная плотность образующего их материала, превышающая плотность ядрышка и хроматина; 5) наличие гало; 6) отсутствие видимых признаков патологии ядер и цитоплазмы клеток, в которых эти включения обнаружены.

Однако, ввиду недостаточности данных однозначная интерпретация находки в настоящее время не представляется возможной. По аналогии с вышеприведенным мнением [6, 9] можно лишь предполагать, что появление этих включений каким-то образом связано с

повышенной активностью макрофагов ящерицы, вызванной инвазией паразитическим червем.

Исследования поддержаны грантами РФФИ (№ 15-04-01418) и Президиума ДВО РАН (№ 15-I-6-0150).

Литература

1. Петроченко В. И. Акантоцефалы домашних и диких животных. Т. 1. М.: АН СССР, 1956. 436 с.
2. Шарпило В. П., Саламатин Р. В. Паратенический паразитизм: становление и развитие концепции. Киев: ЛОГОС, 2005. 240 с.
3. Skorobrechova E. M., Nikishin V. P. Зависимость строения капсулы, окружающей скребня *Corynosoma strumosum*, от видовой принадлежности естественного паратенического хозяина // Известия РАН. Серия биологическая. 2013. № 6. С. 696–712. DOI: 10.7868/S0002332913050160.
4. Arneodo J. D., Bressan A., Lherminier J., Michel J., Boudon–Padieu E. Ultrastructural detection of an unusual intranuclear bacterium in *Pentastiridius leporinus* (Hemiptera: Cixiidae). *J. Invert. Pathol.*, 2008, vol. 97, pp. 310–313. DOI:10.1016/j.jip.2007.09.009.
5. Atkinson C. T., Ayala S. C. *Isospora manchacensis* n. sp., an intranuclear coccidian from the Louisiana ground skink, *Scincella lateralis* (Say, 1823) (Lacertilia: Scincidae). *J. Parasitol.*, 1987, vol. 73, pp. 817–823.
6. Bouteille M., Kalifat S. R., Delarue J. Ultrastructural variations of nuclear bodies in human diseases. *J. Ultrastr. Res.*, 1967, vol. 19, pp. 474–486.
7. Dumont A., Robert A. Ultrastructure of complex nuclear bodies produced experimentally in hamster peritoneal macrophages. *J. Ultrastr. Res.*, 1971, vol. 36, pp. 483–492.
8. Garner M. M., Gardiner C. H., Wellehan J. F. X., Johnson A. J., McNamara T., Linn M., Terrell S. P., Childress A., Jacobson E. R. Intranuclear coccidiosis in tortoises: nine cases. *Vet. Pathol.*, 2006, vol. 43, pp. 311–320.
9. Henry K., Petts V. Nuclear bodies in human thymus. *J. Ultrastr. Res.*, 1969, vol. 27, pp. 330–343.
10. Herbaut C., Petavy A.-F., Deblock S., Gabrion D. Nuclear inclusions in rostellar cells of *Echinococcus multilocularis* (Cestoda). *Parasitol. Res.*, 1988, vol. 74, pp. 399–402.
11. Hulinska D., Fedoseenko V.M. Studies on the fine structure of the rostellar hooks of *Multiceps endorhynchus* during the ultimate phase of their formation. *Folia parasitol.*, 1977, vol. 24, pp. 347–351.
12. Martinez A. J., Ohya T., Jabbour J. T., Duenas D. I. Subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) reappraisal of nuclear, cytoplasmic and axonal inclusions. Ultrastructural study of eight cases. *Acta neuropath.*, 1974, vol. 28, pp. 1–13.
13. Schmidt G. Development and life cycles / Biology of the Acanthocephala / Eds. Crompton D., Nickol B. – Cambridge: Cambridge University Press, 2005, pp. 273–305.
14. Skorobrechova E. M., Nikishin V. P. Structure of capsule surrounding acanthocephalans *Corynosoma strumosum* in paratenic hosts of three species. *Parasitol. Res.*, 2011, vol. 108, pp. 467–475. DOI: 10.1007/s00436-010-2088-3.
15. Skorobrechova E., Nikishin V., Lisitsyna O. Structure of capsule around acanthocephalan *Corynosoma strumosum* from uncommon paratenic hosts – lizards of two species. *Parasitol. Res.*, 2012, vol. 110, pp. 459–467. DOI 10.1007/s00436-011-2512-3.
16. Thompson R. C. A., Dunsmore J. D., Hayton A. R. *Echinococcus granulosus*: secretory activity of the rostellum of the adult cestode in the dog. *Exp. Parasitol.*, 1979, vol. 48, pp. 144–163.
17. Van Kirk L. S., Hayes S. F., Heinzen R. A. Ultrastructure of *Rickettsia rickettsii* actin tails and localization of cytoskeletal proteins. *Infection Immunity*. 2000, vol. 68, pp. 4706–4713.
18. Vasquez J. J., Ortuno G., Cervos–Navarro J. An ultrastructural study of spheroidal nuclear bodies found in gliomas. *Vet. Pathol.*, 1970, vol. 43, pp. 311–320.

References

1. Petrochenko V. I. Akantotsefaly domashnikh i dikikh zhivotnykh [Acanthocephala of domestic and wild animals]. M., USSR Academy of Sciences, vol. 1, 1956. 436 p. (In Russ.).
2. Sharpilo V.P., Salamatin R.V. Paratenicheskiy parazitizm: stanovlenie i razvitie kontseptsii [Paratenic parasitism: origins and development of the concept]. Kiev, LOGOS, 2005. 240 p. (In Russ.).
3. Skorobrechova E.M., Nikishin V.P. Dependence of the structure of the capsule around the acanthocephalan *Corynosoma strumosum* on the species belonging of its natural paratenic host. *Izvestiya RAN. Seriya biologicheskaya = Bulletin of the Russian Academy of Sciences. Biological Series*. 2013; (6):696–712. DOI: 10.7868/S00023329130 50160. (In Russ.).
4. Arneodo J. D., Bressan A., Lherminier J., Michel J., Boudon–Padieu E. Ultrastructural detection of an unusual intranuclear bacterium in *Pentastiridius*

- leporinus (Hemiptera: Cixiidae). *J. Invert. Pathol.* 2008; (97):310–313. DOI:10.1016/j.jip.2007.09.009.
5. Atkinson C. T., Ayala S. C. *Isospora manchacensis* n. sp., an intranuclear coccidian from the Louisiana ground skink, *Scincella lateralis* (Say, 1823) (Lacertilia: Scincidae). *J. Parasitol.* 1987; (73):817–823.
 6. Bouteille M., Kalifat S. R., Delarue J. Ultrastructural variations of nuclear bodies in human diseases. *J. Ultrastr. Res.* 1967; (19):474–486.
 7. Dumont A., Robert A. Ultrastructure of complex nuclear bodies produced experimentally in hamster peritoneal macrophages. *J. Ultrastr. Res.* 1971; (36):483–492.
 8. Garner M. M., Gardiner C. H., Wellehan J. F. X., Johnson A. J., McNamara T., Linn M., Terrell S. P., Childress A., Jacobson E. R. Intranuclear coccidiosis in tortoises: nine cases. *Vet. Pathol.* 2006; (43):311–320.
 9. Henry K., Petts V. Nuclear bodies in human thymus. *J. Ultrastr. Res.* 1969; (27):330–343.
 10. Herbaut C., Petavy A.-F., Deblock S., Gabrion D. Nuclear inclusions in rostellar cells of *Echinococcus multilocularis* (Cestoda). *Parasitol. Res.* 1988; (74):399–402.
 11. Hulinska D., Fedoseenko V.M. Studies on the fine structure of the rostellar hooks of *Multiceps endothoracicus* during the ultimate phase of their formation. *Folia parasitol.* 1977; (24):347–351.
 12. Martinez A. J., Ohya T., Jabbour J. T., Duenas D. I. Subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) reappraisal of nuclear, cytoplasmic and axonal inclusions. Ultrastructural study of eight cases. *Acta neuropath.* 1974; (28):1–13.
 13. Schmidt G. Development and life cycles / Biology of the Acanthocephala / Eds. Crompton D., Nickol B. Cambridge: Cambridge University Press, 2005, pp. 273–305.
 14. Skorobrechova E. M., Nikishin V. P. Structure of capsule surrounding acanthocephalans *Corynosoma strumosum* in paratenic hosts of three species. *Parasitol. Res.* 2011; (108):467–475. DOI: 10.1007/s00436-010-2088-3.
 15. Skorobrechova E., Nikishin V., Lisitsyna O. Structure of capsule around acanthocephalan *Corynosoma strumosum* from uncommon paratenic hosts – lizards of two species. *Parasitol. Res.* 2012; (110):459–467. DOI 10.1007/s00436-011-2512-3.
 16. Thompson R. C. A., Dunsmore J. D., Hayton A. R. *Echinococcus granulosus*: secretory activity of the rostellum of the adult cestode in the dog. *Exp. Parasitol.* 1979; (48):144–163.
 17. Van Kirk L. S., Hayes S. F., Heinzen R. A. Ultrastructure of *Rickettsia rickettsii* actin tails and localization of cytoskeletal proteins. *Infection Immunity.* 2000; (68):4706–4713.
 18. Vasquez J. J., Ortuno G., Cervos-Navarro J. An ultrastructural study of spheroidal nuclear bodies found in gliomas. *Vet. Pathol.* 1970; (43):311–320.