

**ГИСТОХИМИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ
НА БИОГЕННЫЕ АМИНЫ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ
ЛИЧИНКИ И ЗРЕЛОЙ ЦЕСТОДЫ
MICROSOMACANTHUS MICROSKRJABINI**

Н. А. Поспехова, Б. А. Шишов, Л. Т. Плужников

На основании гистохимической реакции с глиоксиловой кислотой выявлена специфическая флуоресценция, обусловленная присутствием индоламина (вероятно, серотонина) в нервной системе личинки и зрелой цестоды. Свечение проявляется в нейронах и нервных волокнах центрального ганглия и его комиссуры, в нервных клетках хоботка, в продольных стволах и в поперечных комиссурах, а также в нервных элементах, связанных с половой системой.

Серотонин (5-ОТ) или сходный индоламин обнаружен в гомогенатах тканей разнообразных цестод (Александрюк, 1965; Chou e. a., 1972; Hariri, 1974; Lee e. a., 1978; Terenina, 1984). Гистохимические, иммуногистохимические и электронно-микроскопические исследования показывают, что его локализация связана с нервной системой (Краснощеков и др., 1981; Shield, 1971; Lee e. a., 1978; Gustafsson, Wikgren, 1981; Gustafsson e. a., 1985; Webb, Mizukava, 1985). Однако общая картина распределения индоламина в нервной системе ленточных червей остается недостаточно ясной. Круг исследованных объектов ограничен; мало сведений о числе и расположении серотонинсодержащих нейронов у разных представителей цестод, об изменениях в распределении нервных элементов такого рода в ходе развития гельминта.

Локализация аминергических элементов в нервной системе личинки и зрелой цестоды *Microsomacanthus microskrijabini* изложена ниже.

Материал и метод. Работа выполнена на инвазионных личинках и зрелых цестодах, полученных соответственно от спонтанно зараженных гаммарусов и экспериментально зараженных птенцов чернети (*Aythya marila*), любезно предоставленных К. В. Регель. Личинок подвергали эксцистированию, выдерживая их 30—40 мин при 39° в растворе Локка, содержащем свежую желчь. Часть личинок и зрелых гельминтов инкубировали около 12 ч в растворе Локка с серотонин-креатинин-сульфатом (10^{-4} М).

Локализацию биогенных аминов выявляли гистохимическим методом с использованием глиоксиловой кислоты (De la Torre, Surgeon, 1976). В качестве контроля использованы объекты, не обработанные глиоксиловой кислотой, а также обработанные кислотой, но не подвергавшиеся специальному высушиванию. Специфичность полученной флуоресценции проверяли повторным увлажнением препаратов, дополнительным освещением их ультрафиолетовыми лучами, а также посредством смены фильтров ФС на УФС и ЖС-18 на ЖС-3 (Салимова, Сахаров, 1981).

Результаты. Специфическая желтая флуоресценция обнаружена в нервной системе эксцистированных личинок и зрелых цестод, но не выявлена в цистах. Цвет свечения сохранялся при замене фильтров. Флуоресценция оказалась нестойкой и исчезала через 2—3 мин при освещении ультрафиолетом.

Добавление 5-ОТ в среду, где находились гельминты, вызывало заметное повышение сократительной активности личинок и зрелых цестод. Пребывание гельминтов в таком растворе усиливало специфическое свечение на препаратах и позволило обнаружить больше деталей. Поэтому ниже приведено описание флуоресцирующих структур, выявленных на инкубированном материале.

Инвазционная личинка. «Желтые» нервные элементы сколекса личинки, как и зрелой цестоды, разделены на 3 основные группы стенками хоботкового влагалища и собственно хоботка (рис. 1; 2, а, б; см. вкл.). Большинство флуоресцирующих нейронов личинки размером около 5—6 мкм.

В основании сколекса проходят 1—2 флуоресцирующих волокна, которые входят в состав комиссуры церебрального ганглия. В середине этой комиссуры лежат 1—2 биполярные клетки. Концы комиссуры примыкают к парным скоплениям светящихся волокон в церебральном ганглии. Желтая флуоресценция проявляется также в нервах сколекса и лежащих по ходу их единичных мультиполярных нейронах (рис. 1, А; 2, а).

Небольшое скопление слабосветящихся волокон находится в базальной части хоботкового влагалища. Оно связано с комиссурой ганглия двумя симметричными пучками волокон (рис. 1, А; 2, а, б). По бокам ретракционного канала проходят ярко-желтые волокна, соединенные двумя кольцевыми комиссурами. В местах их пересечения находится по одному мультиполярному нейрону (рис. 2, а).

Пара относительно крупных (7×10 мкм) флуоресцирующих клеток лежит в центре хоботка (рис. 1, А; 2, а, б). Передние отростки этих нейронов уходят в апикальную часть хоботка, а задние — к скоплению волокон в хоботковом влагалище. Около оснований хоботковых крючьев находится густое сплетение волокон с варикозными расширениями (рис. 2, в).

На границе сколекса и шейки расположены 2 пары ярких мультиполярных нейронов (рис. 2, б). В этой области начинаются главные продольные стволы (рис. 1, А; 2, а—г). В местах их пересечения с кольцевыми комиссурами, которых у личинки обнаружено 6—8, флуоресцируют по 1—2 клетки.

Флуоресцирующие волокна дорсальных и вентральных медианных стволот отходят от комиссуры церебрального ганглия 2—3 корешками, которые вскоре сливаются в один нерв. В задней части личинки продольные стволы вместе с комиссурами образуют крупночешуйчатый плексус (рис. 2, г).

Зрелая цестода. При общем сходстве архитектоники флуоресцирующих элементов у личинки и зрелой цестоды имеются значительные различия, связанные с развитием гельминта. Так, комиссура и нейроны церебрального ганглия, отходящие от него нервы более массивны и ярче светятся у зрелой цестоды по сравнению с личинкой.

В передней части хоботкового влагалища зрелой цестоды, как и у личинки, расположены 4 мультиполярных нейрона. В дистальных отделах церебрального ганглия флуоресцируют 8—10 мультиполярных нейронов размером 5—8 мкм (рис. 1, А; 3, б; см. вкл.). В присосках имеется сплетение тонких волокон с мелкими варикозами (рис. 1, А; 3, а). В хоботке, помимо апикального плексуса, выявляется густая сеть слабосветящихся волокон.

Главные продольные стволы ярко флуоресцируют. Их диаметр постепенно увеличивается и в гермафродитных члениках достигает 20—25 мкм. В данном случае не исключено, что светящиеся волокна принадлежат как главным, так и сопутствующим тонким дорсо- и вентролатеральным стволам. Медианные стволы и кольцевые комиссуры хорошо видны в передней части стробилы, но в маточных члениках они трудно различимы.

В проглоттидах с несформированной половой системой выявлена 1 флуоресцирующая кольцевая комиссура в передней части членика. В местах ее пересечения

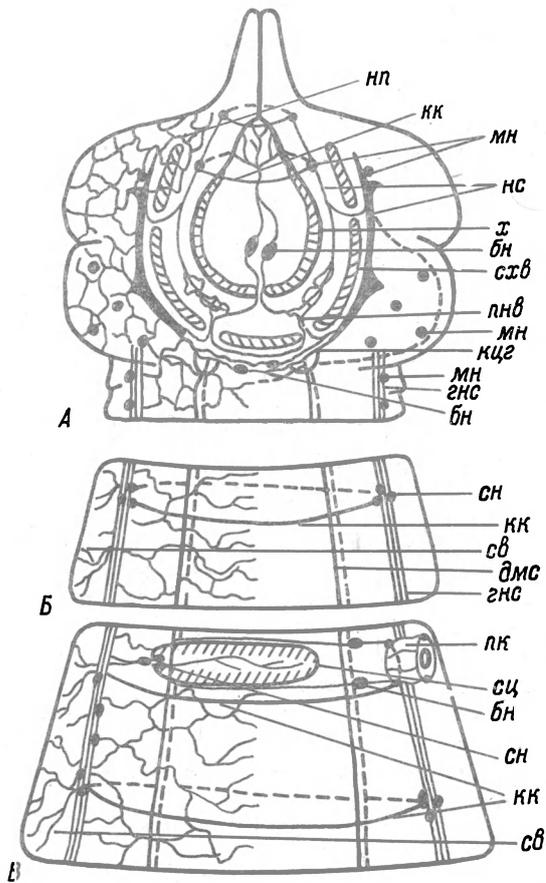


Рис. 1. Схема распределения аминергических нервных элементов у зрелой цестоды.

В правой части сколекса пунктир — ориентировочная граница церебрального ганглия. А — сколекс; Б — членик с несформированной половой системой; В — гермафродитный членик; бн — биполярный нейрон; гнс — главный продольный нервный ствол; дмс — дорсомедиальный нервный ствол; кк — кольцевая комиссура; кцг — комиссура церебрального ганглия; мн — мультиполярный нейрон; нп — нервный плексус; нс — нервы в сколексе; нцг — нейрониль церебрального ганглия; пк — половая клоака; пнв — пучок нервных волокон; сн — скопление нервных волокон; св — стенка хоботкового влагалища; сц — сумка цирруса; х — хоботок; св — субтегументальные нервные волокна.

с главными продольными стволами расположено по 2—4 мульти- и биполярные клетки размером до 8 мкм (рис. 1, Б; 3, а, в).

Гермафродитные членики отличаются наибольшим количеством флуоресцирующих элементов и интенсивностью их свечения (рис. 1, В; 3, в, г). Отверстие половой поры и дно половой клоаки окружены кольцевыми светящимися волокнами. Здесь расположено по 2 нейрона размером 6 мкм. Тонкие волокна идут от одного кольца к другому вдоль стенок клоаки. Между клоакой и сумкой цирруса находятся еще два биполярных нейрона. Отростки клеток с одной стороны подходят к клоаке, а с другой — следуют вдоль стенок сумки цирруса к ее дальнему концу, где имеется компактная группа из 3—4 мелких (4 мкм) нейронов. Пучок варикозных волокон идет от этой группы к главному продольному стволу апоральной стороны стробилы. Таким образом, в гермафродитных члениках флуоресцирующие элементы нервной системы находятся в связи с мужской половой системой, за исключением общего компонента мужской и женской половой систем — половой клоаки.

В гермафродитных члениках видны 2 кольцевые комиссуры. Передняя из них плохо просматривается вследствие наложения волокон, иннервирующих половую систему. Нейроны на поральной стороне стробилы расположены преимущественно в местах пересечения кольцевых комиссур с главными продольными стволами, а на апоральной они находятся по ходу ствола между комиссурами.

Наряду со стволами, комиссурами и нейронами в каждом членике выявляется множество тонких светящихся волокон с варикозами. Короткие ветвящиеся волоконца отходят от главных стволов и скопленений клеток к тегументу (рис. 1, Б, В; 3, в—д). Основная масса волокон формирует диффузный плексус между главными продольными стволами. В зрелой части стробилы (рис. 3, д) волокна плексуса видны по периферии проглотида. В центральной части членика, где расположена матка с яйцами, специфической флуоресценции не обнаружено.

Обсуждение. Желтое свечение в нервной системе личинки и зрелой цестоды, очевидно, связано с присутствием в ней индоламина. В пользу этого говорит то, что цвет флуоресценции не меняется при смене фильтров, и свечение быстро исчезает под действием ультрафиолета. Маркерным соединением вероятно, является 5-ОТ, так как он обнаружен, как указано выше, в гомогенатах тканей ряда цестод. В этом же плане выступают данные иммуногистохимических и электронно-микроскопических исследований.

В яйцах *M. microskrjabini*, в том числе содержащих зрелые гексаканты, не обнаружено специфической флуоресценции, так же как в эмбрионах *Hymenolepis diminuta* и *H. nana* (Lee e. a., 1978; Webb, Mizukava, 1985). Поскольку в нашем случае свечение элементов нервной системы не выявляется в цистах, но заметно у вышедших личинок, можно предположить, что глиоксиловая кислота не проникает через оболочку цист. В то же время не исключено, что стимуляция экзистирования личинок влияет на состояние нервных клеток и содержание в них биогенных аминов.

Усиление флуоресценции в нейронах и волокнах при инкубации личинок и зрелых *M. microskrjabini* в 5-ОТ указывает на способность определенных нейронов поглощать из внешней среды и накапливать 5-ОТ.

Сравнение распределения серотонинсодержащих элементов у личинки и зрелой *M. microskrjabini* показывает, что в основе картина в обоих случаях одна и та же. Однако, сохраняя определенное постоянство, нервная система перестраивается с ростом и развитием гельминта. Полученные результаты показывают, что изменения происходят в отделах, расположенных как в сколексе, так и в стробиле. Увеличение размеров проглотида сопровождается увеличением диаметра нервных стволов. В половозрелых члениках появляются дополнительные нейроны, комиссуры и волокна. В зрелой части стробилы происходит, по-видимому, частичная их редукция. Таким образом, в онтогенезе, с одной стороны, проявляется определенный консерватизм нервной системы, а с другой — в ней происходят изменения в распределении серотонинсодержащих элементов, распространяющиеся на ортогон и периферию.

Распределение «желтых» нервных элементов среди соматической мускулатуры, окончания волокон в субтегументе позволяют предполагать участие 5-ОТ в регуляции локомоторной и рецепторной функций. Очевидна связь флуоресцирующих нервных элементов с половой системой. Серотонинсодержащие волокна около оснований крючков хоботка, возможно, принимают участие в обеспечении фиксации гельминта. Не исключено, что эти нервные волокна иннервируют и железистые элементы хоботка, обнаруженные у некоторых видов цестод. Таким образом, полученные данные показывают, что элементы, содержащие индоламин, по всей вероятности 5-ОТ, широко распространены в нервной системе цестоды и связаны с основными органами и тканями гельминта.

Л и т е р а т у р а

- Александрюк С. П. Роль серотонина в регуляции двигательной активности ленточного гельминта *Ligula intestinalis* L. — Тр. ГЕЛАН СССР. 1965. Т. 15. С. 5—25.
- Краснощеков Г. П., Плужников Л. Т., Контримавичус В. Л. Два типа секреторных нейронов личинок *Taenia crassiceps* (Cestoda, Taeniidae) // ДАН. 1981. Т. 261, № 2. С. 491—493.
- Салимова Н. Б., Сахаров Д. А. Обилие серотонинсодержащих нейронов в периферической нервной системе круглоротых // Журн. общ. биол. 1981. Т. 42, № 1. С. 106—112.
- Chou T. C. T., Bennett J., Bueding E. J. Occurrence and concentrations of biogenic amines in trematodes // J. Parasitol. 1972. Vol. 58. P. 1098—1102.
- Gustafsson M. K. S., Wikgren M. S. Peptidergic and aminergic neurons in adult *Diphyllobothrium dendriticum* Nitzsch, 1824 (Cestoda, Pseudophyllidea) // Z. Parasitenkd. 1981. Vol. 64. P. 121—134.
- Gustafsson M. K. S., Wikgren M. S., Karhi T. J., Schot L. P. C. Immunocytochemical demonstration of neuropeptides and serotonin in the tapeworm *Diphyllobothrium dendriticum* // Cell. Tissue Res. 1985. Vol. 240. P. 255—260.
- Hariri M. Occurrence and concentration of biogenic amines in *Mesocestodes corti* (Cestoda) // J. Parasitol. 1974. Vol. 60. P. 737—743.
- Lee M. B., Bueding E., Schiller E. L. The occurrence and distribution of 5-hydroxytryptamine in *Hymenolepis diminuta* and *H. nana* // J. Parasitol. 1978. Vol. 64. P. 257—264.
- Shield J. M. Histochemical localization of monoamines in the nervous system of *Dipylidium caninum* (Cestoda) by the formaldehyde fluorescence technique // Int. J. Parasitol. 1971. Vol. 1. P. 135—138.
- Terenina N. B. Results of spectrofluorometric determination of biogenic amines (serotonin, dopamine) in cestodes // Helminthologia. 1984. Vol. 21, N 4. P. 275—280.
- De la Torre J. C., Surgeon J. W. A methodological approach to rapid and sensitive monoamine histofluorescence using a modified glyoxylic acid technique: the SPG-method // Histochem. 1976. Vol. 49. P. 81—93.
- Webb R. A., Mizukava K. Serotoninlike immunoreactivity in the cestode *Hymenolepis diminuta* // J. Comp. Neurol. 1985. Vol. 234. N 4. P. 431—440.

ГЕЛАН СССР, Москва

Поступила 23.10.1986

HYSTOCHEMICAL REACTION TO BIOGENOUS AMINES IN THE NERVOUS SYSTEM OF LARVA AND MATURE CESTODE *MICROSOMACANTHUS MICROSKRJABINI*

N. A. Pospekhova, B. A. Shishov, L. T. Pluzhnikov

S U M M A R Y

Histochemical reaction with glyoxylic acid has revealed a specific fluorescence caused by the presence of indolamine (apparently serotonin) in the nervous system of larva and mature cestode. Fluorescence manifests itself in neurons and nerve fibres of the central ganglion and its commissure, in nerve cells of the proboscis, in longitudinal trunks and transverse commissures, and in the nerve elements connected with genital system.

Вклейка к ст. Н. А. Поспеховой и др.

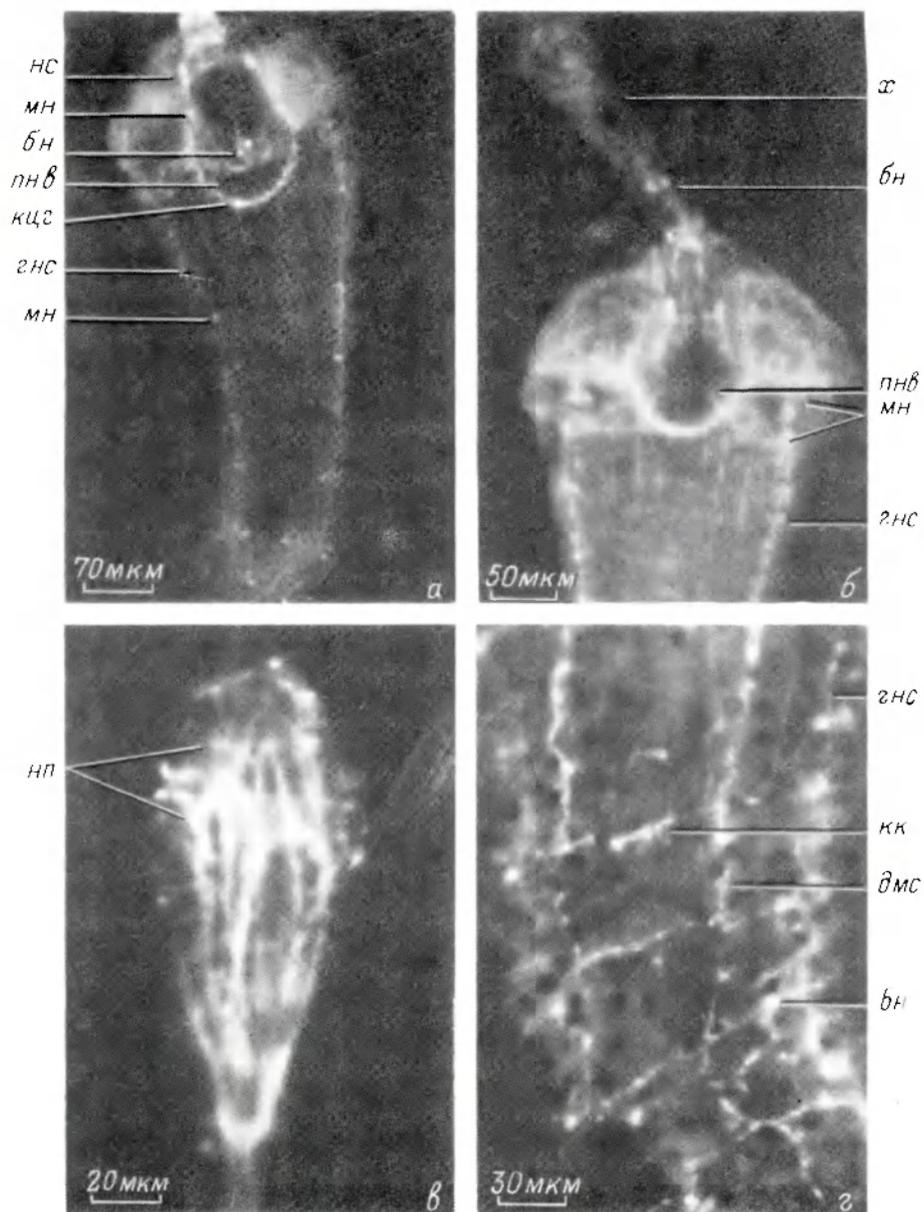


Рис. 2. Флуоресценция нервных элементов, содержащих индоламин, у личинки *M. microskrijabini*, предварительно инкубированной в растворе серотонина.

a — общий вид; *б* — сколекс с выдвинутым хоботком (объектив $\times 10$, фотообъектив $\times 7$); *в* — хоботок; *г* — задний конец личинки (объектив $\times 16$, фотообъектив $\times 7$).
Обозначения такие же, как на рис. 1.

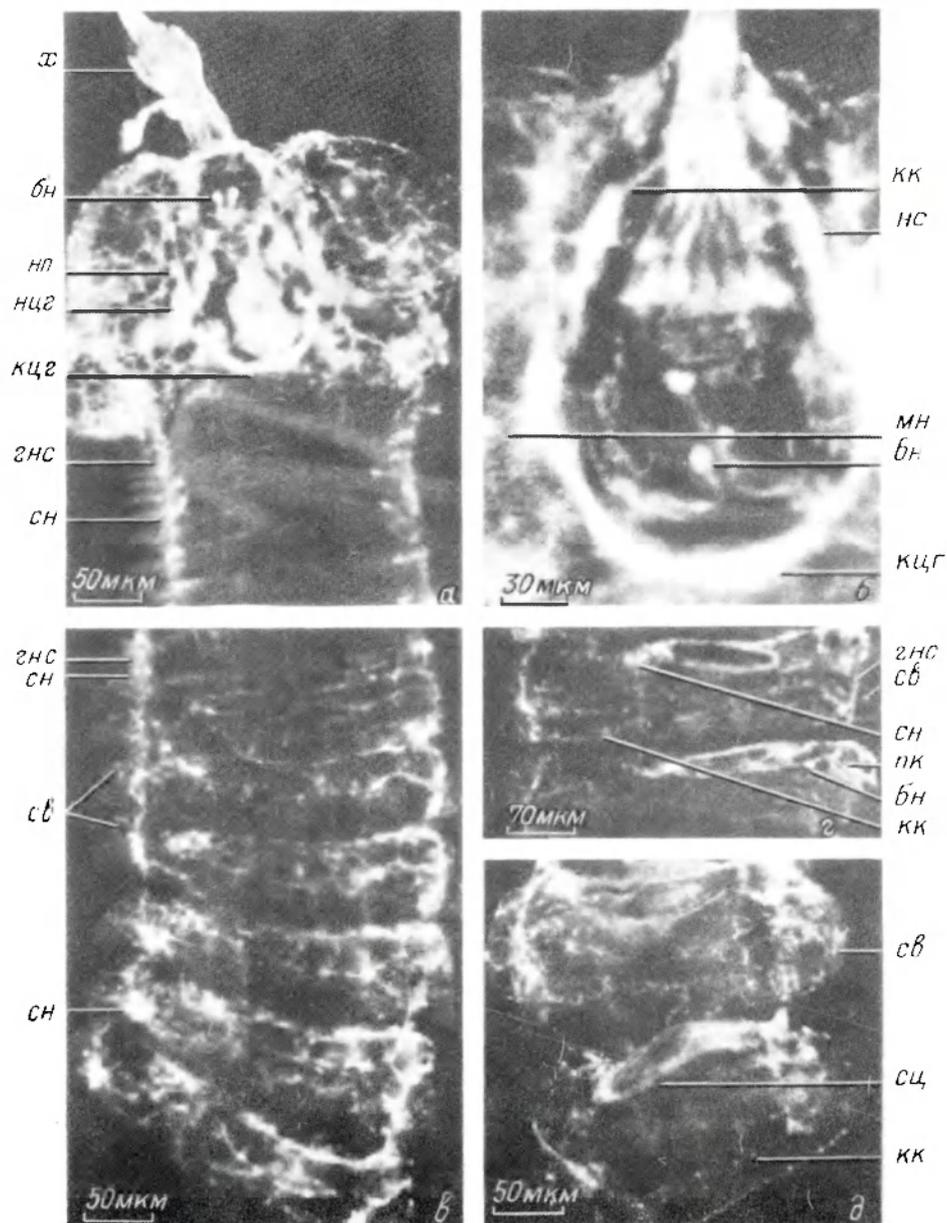


Рис. 3. Флуоресценция нервных элементов, содержащих индоламин, у зрелой цестоды *M. microskrjabini*, предварительно инкубированной в растворе серотонина.

a — сколекс и шейка, хоботок частично выдвинут; *б* — центральная часть сколекса с втянутым хоботком; *в* — стробила; *г* — гермафродитные членики; *д* — маточные членики (объектив $\times 16$, фотообъектив $\times 7$); *св* — субтегументальные нервные волокна.

Остальные обозначения такие же, как на рис. 1.