

УДК 576.895.122 : 591.88+612.8

КАТЕХОЛАМИНЫ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ NOTOCOTYLUS ATTENUATUS (TREMATODA, NOTOCOTYLIDAE)

Б. А. Шишов, Л. М. Люкшина

Описана локализация катехоламинов, выявленных гистохимическим методом с помощью глиоксиловой кислоты, в нервной системе церкарии и мариты.

Вопрос о распределении катехоламинов (КА) в нервной системе к настоящему времени рассмотрен лишь на примере марит шистозом *Schistosoma mansoni*, *S. japonicum* (Bennett, Bueding, 1971; Machado e. a., 1972) и фасциолы *Fasciola hepatica* (Shishov e. a., 1974; Bennett, Gianutsos, 1977). У этих трематод катехоламинергические волокна присутствуют в нейрофилах мозгового ганглия, в продольных стволах и в поперечных комиссурах, в волокнах, иннервирующих присоски, соматическую мускулатуру, экстерорецепторы и другие образования.

Наряду с указанными чертами сходства выделяются некоторые различия. У шистозом катехоламинергические волокна описаны в составе двух мощных стволов, проходящих билатерально вдоль тела. По их ходу расположены 4—5 пар относительно крупных нейронов (10—15 мкм) и, возможно, мелкие клетки, содержащие КА. У фасциолы крупных нейронов выявлено только две пары. Распределение катехоламинергических волокон у представителей этого вида подобно типичной для трематод схеме нервной системы, т. е. волокна проходят в составе брюшных, латеральных и спинных стволов.

Чем обусловлены различия в числе катехоламинергических нейронов и в распределении их волокон у трематод пока не ясно. Неясен и диапазон возможных расхождений в общей схеме катехоламинергических структур у трематод. Не исключено, что какие-то из этих признаков окажутся характерными для того или иного таксономического ранга и найдут применение при рассмотрении вопросов систематики и филогении. Для решения этих вопросов необходимо накопление сведений о локализации КА у различных представителей рассматриваемого класса.

В связи с указанным ниже приведены результаты выявления КА у церкарии и молодой мариты *N. attenuatus*. Этот вид, так же как и изученная в рассматриваемом плане фасциола, относится к отряду Fasciolida, но представляет в нем боковую ветвь от общего ствола древних трематод (Гинецинская, 1968).

МАТЕРИАЛ И МЕТОД

Предварительная работа, проведенная нами, показала, что для выяснения общей картины распределения КА в нервной системе трематод весьма удобными объектами являются церкарии. В них достаточно хорошо выявляются КА, а малые размеры личинок позволяют увидеть в целом локализацию катехоламинергических элементов. Однако выявление КА у церкарий нотокотилиуса оказалось более трудным, чем у представителей других видов. Вероятно, это связано с сильной пигментацией церкарий нотокотилиуса, обилием цистогенных желез в их теле и с быстрым инцистированием церкарий после выхода из моллюска. Учитывая то, что в таких условиях выявление КА может оказаться

недостаточно полным, реакция на КА проведена также на молодых маритах трематоды. На этой стадии развития гельминтов специфическая флуоресценция КА не маскируется обычно сильной автофлуоресценцией половой системы.

В работе использованы церкарии нотокотилеуса от естественно зараженных моллюсков *Lymnaea stagnalis*. Мариты получены из экспериментально инвазированных цыплят, которых забивали через 5, 7 и 9 дней после заражения.

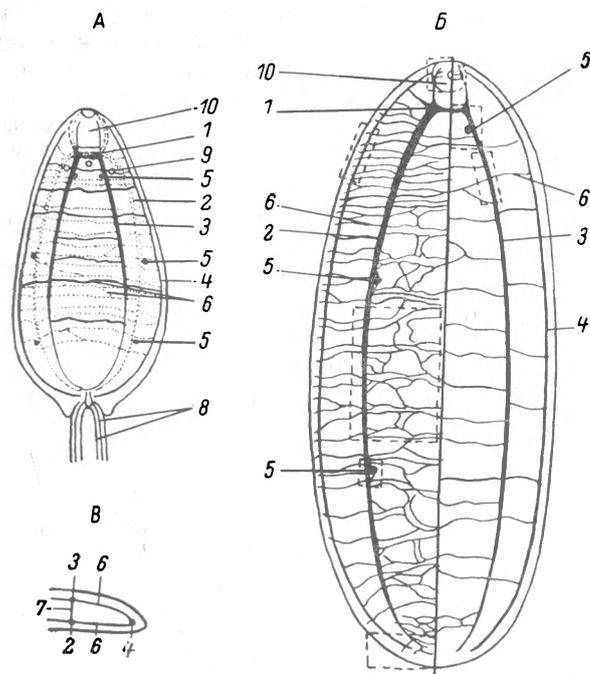
КА выявляли с помощью глиоксиловой кислоты (Lindvall, Björklund, 1974; Швалев, Жучкова, 1979). 2%-ный раствор моногидрата глиоксиловой кислоты готовили на 0.1 М фосфатном буфере (рН 7).

Церкарий инкубировали в капле раствора глиоксиловой кислоты на стекле в течение 15—20 мин. Затем кислоту осторожно отсасывали, а стекло с церкариями высушивали под струей холодного воздуха такое же время. После этого стекла с церкариями помещали в сушильный шкаф (80 °С) на 5 мин. Препараты заключали в вазелиновое масло. Подобной процедуре подвергали и марит нотокотилеусов. В качестве контроля служили препараты, не обработанные глиоксиловой кислотой, а также обработанные кислотой, но не подвергавшиеся специальному высушиванию.

Просмотр и фотографирование препаратов производилось с помощью люминесцентного микроскопа МЛ-2, работающего с лампой ДРШ-250 при фильтрах ФС 1—4, СЗС 14—4, БС 8—2, «запирающим» — 2.¹

РЕЗУЛЬТАТЫ

У церкарий флуоресценция КА проявляется в различных отделах нервной системы (рис. 1, А; 2, а, б; см. вкл.). Специфическое свечение имеет место в мозговой комиссуре и в нейропилиях, расположенных главным образом в ее латеральных участках. Многочисленные волокна, содержащие КА, простираются от этой комиссуры в составе тонких нервов к переднему концу тела церкарии. Катехоламинергические волокна проходят также в вентральных, дорсальных и латеральных стволах, направленных к заднему концу церкарии. Продольные стволы



от этой комиссуры в составе тонких нервов к переднему концу тела церкарии. Катехоламинергические волокна проходят также в вентральных, дорсальных и латеральных стволах, направленных к заднему концу церкарии. Продольные стволы

Рис. 1. Схема локализации катехоламинов в нервной системе церкарии (А) и мариты (В). Слева — вид с вентральной, справа — с дорсальной сторон (пунктиром отмечены фрагменты, представленные на микрофотографиях рис. 2). В — схематическое изображение на поперечном срезе комиссур, связывающих продольные стволы.

1 — комиссура и нейропили мозга; 2 — вентральный; 3 — дорсальный; 4 — латеральный стволы; 5 — нейрон; 6 — поперечная комиссура; 7 — нервные волокна, связывающие вентральный и дорсальные стволы; 8 — нервы в хвосте церкарии; 9 — глазок; 10 — ротовая присоска.

соединены поперечными комиссурами, которых особенно много с брюшной стороны. Нервные волокна содержат массу варикозных утолщений. По числу волокон и по интенсивности флуоресценции выделяются вентральные стволы; хуже видны дорсальные и плохо просматриваются латеральные стволы. Тонкие нервные стволы с варикозными утолщениями переходят в хвост церкарии.

¹ Авторы глубоко признательны Л. В. Филимоновой за предоставленный материал и консультации.

У церкарий видны 3 пары нейронов, содержащих КА. Одна пара клеток расположена в начале задних спинных стволов. Другие две пары клеток находятся около брюшных стволов приблизительно на уровне середины и начала задней четверти тела. Их размеры около 5 мкм.

Сходная картина распределения КА наблюдается у марит с той разницей, что в связи с увеличением общих размеров нервной системы лучше видны некоторые детали (рис. 1, *Б*; 2, *в—м*). С брюшной стороны марит, особенно между вентральными стволами, выделяется масса тонких нервных волокон. Они образуют довольно густую сеть, которая охватывает участки, где, как известно, располагаются так называемые вентральные железы или вентральные папиллы (рис. 2, *м*). Довольно много волокон соединяют вентральные и латеральные стволы. Поперечных комиссур между дорсальными стволами и особенно между дорсальными и латеральными стволами значительно меньше (рис. 2, *з—к*). Наряду с комиссурами, проходящими по периферии тела и объединяющими продольные стволы, вентральные и дорсальные стволы имеют между собой короткие прямые связи (рис. 1, *В*). Латеральные стволы, главным образом в передней части тела, посылают большое количество тонких волокон к поверхности тела (рис. 2, *э*).

Среди флуоресцирующих структур у марит, так же как и у церкарий, ярко выделяются 3 пары нейронов. У взрослых червей клетки увеличиваются в размерах. Величина биполярных нейронов (1-я пара) в спинных стволах марит около 9×6 мкм (рис. 2, *е*), а клеток (2-я и 3-я пары) в брюшных стволах приблизительно 15×8 мкм (рис. 2, *л*). Видимые размеры клеток даже в каждой симметричной паре у одного и того же экземпляра могут довольно сильно отличаться. Складывается впечатление, что это в значительной степени зависит от того, в каком состоянии окажутся окружающие нервные клетки ткани, в частности мышечная, в момент фиксации.

Помимо отмеченных 6 нейронов, очевидно, имеются более мелкие нервные клетки, но их трудно рассмотреть среди волокон и варикозных утолщений. Вероятно, к числу таких клеток относится, в частности, флуоресцирующий элемент размером около 5×3 мкм, неоднократно наблюдавшийся нами в нижнем отделе брюшных стволов.

ОБСУЖДЕНИЕ

В отношении нервной системы нотокотилид имеются краткие описания области мозгового ганглия церкарии *Notocotylus ralli* (Dönges, 1962) и нервной системы у церкарии *Catantropis indica* (Rohde, 1968 a, 1968b). Нервная система *C. indica* рассматривается как один из примеров, демонстрирующих относительно простую структуру нервной системы, которая характерна для Trematoda.

У церкарии нотокотилиуса локализации КА в общих чертах соответствует нервным структурам, описанным в работах, цитированных выше. В то же время гистохимический метод выявил ряд дополнительных деталей, которые указывают на сложность нервной системы у данного вида. При этом следует учитывать, что обнаруженные катехоламинергические элементы, очевидно, составляют лишь часть нервных структур. Особенно обращает на себя внимание большое число поперечных комиссур, расположенных преимущественно с брюшной стороны нотокотилиуса. Такой картины не обнаружено ни у *C. indica*, ни у церкарий ряда других видов, которых исследовали мы.

Распределение флуоресцирующих волокон на брюшной стороне мариты нотокотилиуса напоминает распределение катехоламинергических волокон в прикрепительном диске *Aspidogaster limacoides*. С другой стороны, наличие большого числа комиссуральных связей продольных нервных стволов у нотокотилиуса ассоциируется со схемой нервной системы мариты другого представителя подотряда Notocotylata из сем. Pronocephalidae — *Diaschistorchis multitesticularis* (Rohde, 1968b). В частности, у нотокотилиуса, так же как и диасхисторхиса, наряду с обычными кольцевыми или полукольцевыми комиссурами, идущими по периферии тела, обнаружены более короткие (прямые) связи между продольными нервными стволами. Сложное строение нервной системы *D. multitesticularis* рассматривается как явление вторичного порядка и необычное для трематод

(Rohde, 1968a). Предполагается, что оно связано с появлением у трематоды воротничка и с изменением ее локомоторной активности.

Данные о КА у нотокотилиуса показывают, что у этого представителя подотряда достаточно сложная организация нервной системы, но обусловлена она иными причинами. В ряде работ отмечено, что нотокотилиус при фиксации на тканях хозяина загибает края тела, а его вентральные папиллы способны втягиваться или выступать над поверхностью тела (Скрябин, 1953; Radlett, 1980; MacKinnon, 1982). В этих же участках тела гельминта наблюдается большая концентрация нервных волокон. Таким образом, особенность структуры нервной системы нотокотилиуса, очевидно, взаимосвязана с развитием функции латеральных участков тела и с появлением своеобразных органов — вентральных папилл.

При электронно-микроскопическом изучении строения папилл выявлены в области нервных и мышечных элементов нейросекреторные гранулы с электронноплотным содержимым (MacKinnon, 1982). В соответствии с нашими данными о распределении катехоламинергических волокон, в частности об их густой сети вокруг папилл, можно предположить, что указанные нейросекреторные гранулы являются везикулами, содержащими КА. Локализация нервных волокон с КА среди соматической и специализированной мускулатуры, а также у покровной ткани гельминта говорит в пользу того, что КА выполняют функцию медиатора (медиаторов) в чувствительных и моторных нервах нотокотилиуса.

Сравнивая результаты, полученные на нотокотилиусе с упомянутыми во введении данными о КА у фасциолы и шистозом, следует отметить несколько моментов. У всех этих видов КА присутствуют в мозговой комиссуре и в нейропилиях. У нотокотилиуса, так же как и у фасциолы, катехоламинергические волокна простираются в трех парах нервных стволов. 1-я пара крупных нейронов, содержащих КА, у рассматриваемых трематод расположена ниже мозговой комиссуры, т. е. в начале формирующихся нервных стволов. 2-я пара нейронов с КА у шистозомы и у фасциолы расположена приблизительно на уровне брюшной присоски. Вероятно, этим клеткам соответствует и 2-я пара катехоламинергических нейронов нотокотилиусов. Число относительно крупных нейронов, содержащих КА, у нотокотилиуса (3 пары) отличается от числа подобных клеток у фасциолы (2 пары) и у шистозом (4—5 пар).

Таким образом, результаты исследования распределения КА у нотокотилиуса согласуются в общих чертах с данными, полученными на фасциоле и шистозомах, но в то же время они показывают расхождение в количестве и в локализации катехоламинергических элементов в нервной системе этих трематод.

Л и т е р а т у р а

- Гинецинская Т. А. Трёматоды, их жизненные циклы, биология и эволюция. Л., Наука, 1968. 410 с.
- Скрябин К. И. Трёматоды животных и человека. Т. 8. М., Изд-во АН СССР, 1953. 618 с.
- Швалев В. Н., Жучкова Н. И. Простой способ выявления адренергических нервных структур в тканях человека и животных с применением раствора глиоксиловой кислоты. — Архив анат. гистол. и эмбриол., 1979, т. 76, № 6, с. 114—116.
- (Шишов Б. А., Жучкова Н. И., Теренина Н. Б.) Shishov B. A., Zhuchkova N. I., Terenina N. B. Study of monoaminergic nerve cells in some nematodes and in Trematoda, Fasciola hepatica. — Third international congress of Parasitology, proceedings, Munich, 1974, vol. 3, p. 1503—1504.
- Bennett J., Bueding E. Localization of biogenic amines in Schistosoma mansoni. — Comp. Biochem. and Physiol., 1971, vol. 39A, N 4, p. 859—867.
- Bennett J., Gianutsos G. Distribution of catecholamines in immature Fasciola hepatica: a histochemical and biochemical study. — Int. J. Parasitol., 1977, vol. 7, N 3, p. 221—225.
- Dönges J. Entwicklungsgeschichtliche und morphologische Untersuchungen an Notoctyliden (Trematoda). — Z. Parasitenk., 1962, Bd 22, p. 43—67.
- Lindvall O., Björklund A. The glyoxylic acid fluorescence histochemical method: a detailed account of the methodology for the visualization of central catecholamine neurons. — Histochemistry, 1974, vol. 39, p. 97—127.
- Machado C. R. S., Machado A. B. M., Pellegrino J. Catecholamine-containing neurons in Schistosoma mansoni. — Z. Zellforsch., 1972, Bd 124, N 2, p. 230—237.

- M a c K i n n o n B. M. The structure and possible function of the ventral papillae of *Notocotylus triserialis* Diesing, 1839. — *Parasitology*, 1982, vol. 84, part 2, p. 313—332.
- R a d l e t t A. J. The structure and possible function of the ventral papillae of *Notocotylus attenuatus* (Rudolphi, 1809) Kossack, 1911 (Trematoda: Notocotylidae). — *Parasitology*, 1980, vol. 80, p. 241—246.
- R o h d e K. Das Nervensystem der Cercarie von *Catantropis indica* Srivastava, 1935 (Digenea: Notocotylidae) und der geschlechtsreifen Form von *Diaschistorchis multitesticularis* Rohde, 1962 (Digenea: Pronocephalidae). — *Z. Morph. Tiere*, 1968a, Bd 62, S. 77—102.
- R o h d e K. The nervous system of *Multicotyle purvisi* Dawes, 1941 (Aspidogastrea) and *Diaschistorchis multitesticularis* Rohde, 1962 (Digenea). — *Z. f. Parasitenkunde*, 1968b, vol. 30, p. 78—94.

ГЕЛАН СССР, Москва

Поступило 21 VI 1982

CATECHOLAMINES IN THE NERVOUS SYSTEM OF *NOTOCOTYLUS ATTENUATUS*
(TREMATODA, NOTOCOTYLIDAE)

B. A. Shishov, L. M. Lyukshina

S U M M A R Y

Catecholamines (CA) were found in the nervous system of cercaria and immature *N. attenuatus* by means of the histochemical method with glyoxylic acid. Three pairs of relatively large neurons with CA were recognised. The first pair is located at the beginning of dorsal nerve trunks. The second and third pairs of cells are near the abdominal trunks approximately at the level of the middle and the beginning of the hind fourth of the body. Nerve fibers containing CA were found in the cerebral commissure, longitudinal nerve trunks and in numerous commissures especially on the abdominal side of the body. In immature *N. attenuatus* there were found short straight commissures between the ventral and the dorsal trunks along with annular and semi-annular ones. Fibers envelope the oral sucker and those parts of the body where are located ventral papillae. In cercaria fibers with CA innervate the tail too.

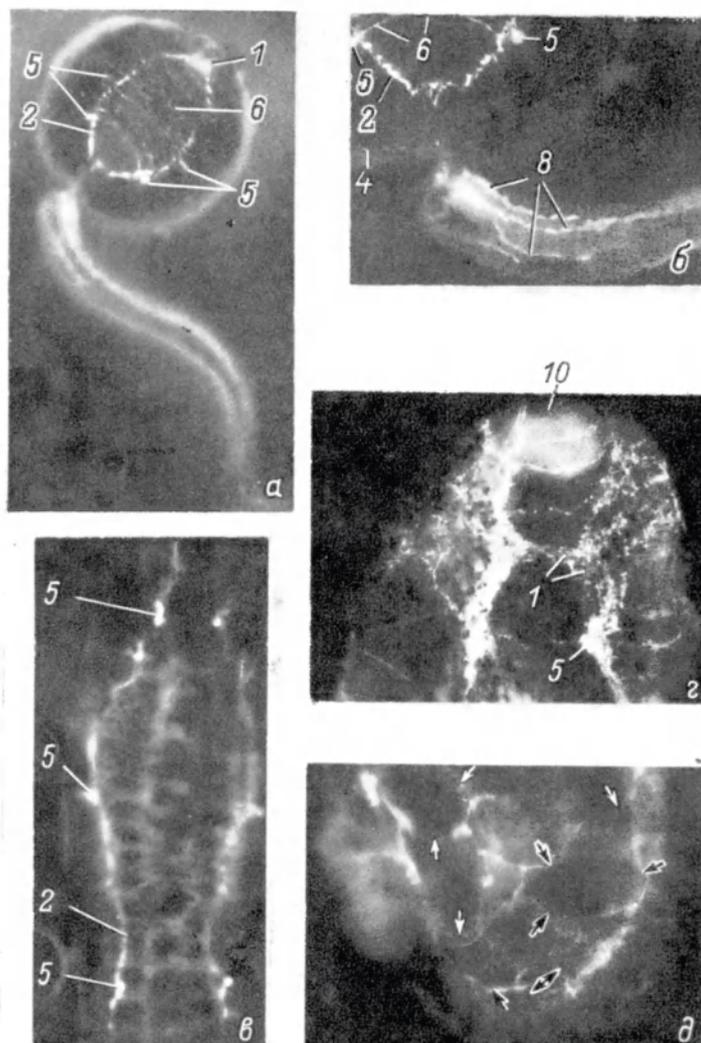


Рис. 2. Флуоресценция катехоламинов в элементах нервной системы *N. attenuatus*.
 а — церкария с брюшной стороны, б — фрагменты тела и хвоста церкарии; в — обзорный снимок мариты;
 г — головной отдел мариты; д — сеть нервных волокон (↑) в заднем отделе мариты; е — нейрон в спинном
 нервном стволе; ж — варикозные нервные волокна на ротовой присоске мариты (ротовое отверстие отме-
 чено крестиком); з — соответственно латеральный, вентральный и дорсальный нервные стволы (стрелкой
 под фото указано направление к середине тела); л — нейрон в вентральном нервном стволе; м — сеть нерв-
 ных волокон (↑) на брюшной стороне мариты. Снимки сделаны с гомалем 3× и объективами: 10× — в, 20× —
 а, г, д, 40× — б, е — м.
 Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

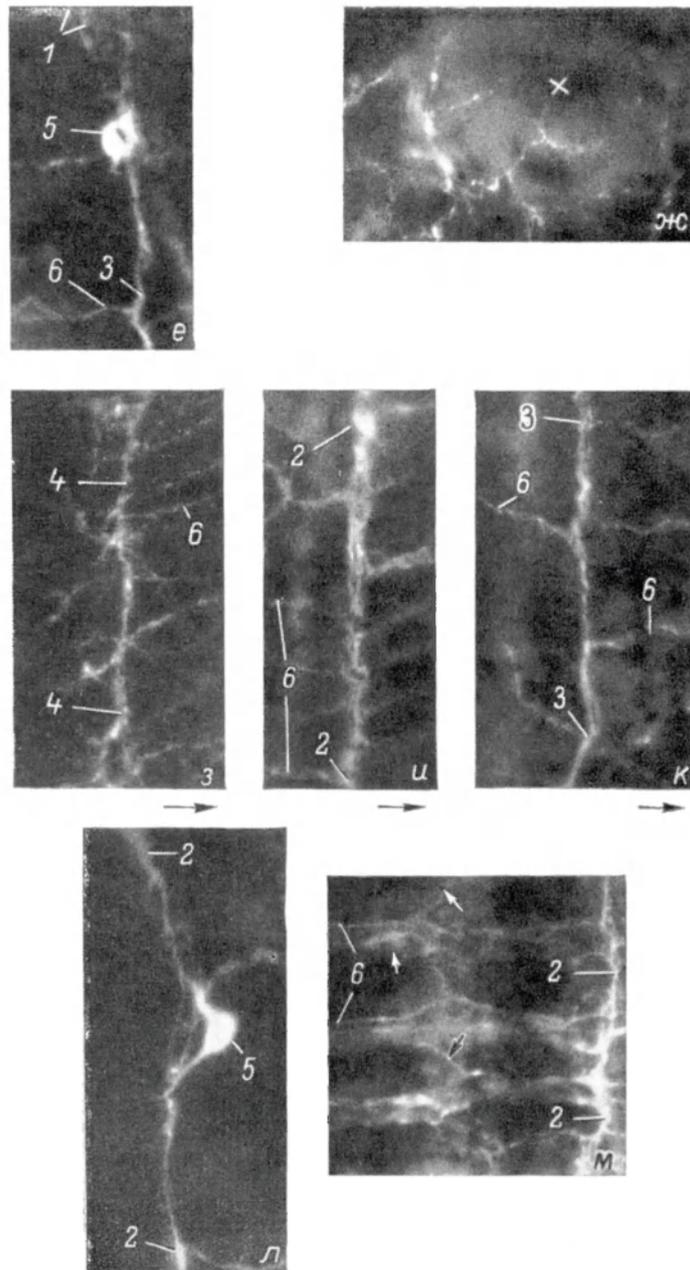


Рис. 2 (продолжение)