

УДК 576.895.121

**СТРОЕНИЕ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ СКОЛЕКСА
TRIAENOPHORUS NODULOSUS (CESTODA: PSEUDOPHYLLIDEA)**

© Н. М. Бисерова

Изучена ультраструктура головных ганглиев, центральной комиссуры и нервов ботрии у цестоды *Triaenophorus nodulosus*. Приводятся описания 5 типов нейронов, синаптических контактов в нейропиле ганглиев и в нервах ботрий. Показана взаимосвязь нервной и выделительной систем, аналогичная нейроглиальным отношениям высших животных. Гистохимическими методами исследовано распределение серотонина (5-НТ) и RFamide на тотальных препаратах. Методом электронной иммуноцитохимии показано наличие RF-иммунореактивных (IR) гранул в типичном синапсе в области мускулатуры крючьев.

Triaenophorus nodulosus (Cestoda) давно является объектом всестороннего изучения. В ряде работ (Куперман, 1973, 1988; Kuperman, Davydov, 1982a, 1982b; Виноградов и др., 1982a, б) подробно рассмотрена ультраструктура покровов, желез и выделительной системы этого вида, но не затронуто строение нервной системы. Гистохимическим методом выявления холинэстераз было исследовано (Котикова, Куперман, 1977) формирование нервной системы *T. nodulosus* в онтогенезе, которое показало последовательное увеличение числа нервных стволов от процеркоида до взрослой стадии, формирование плексусов и нервной системы сколекса. Нервные клетки не были исследованы. В работе Густафссон (Gustafsson, 1973), посвященной исследованию клеточного состава плероцеркоида *T. nodulosus* в области шейки, указывается на наличие клеток, расположенных снаружи нервного ствола, так называемые „клетки-спутницы”, и высказывается предположение о возможности формирования ими его защитной оболочки. Ультраструктура центральной и периферической нервной систем *T. nodulosus* до настоящего времени не изучена.

Различные нейромедиаторы, такие как ацетилхолин, биогенные амины и нейропептиды, были выявлены гистохимическими и иммуноцитохимическими методами у некоторых представителей цестод (Шишов, 1991; Gustafsson e. a., 1985; Webb, Mizukawa, 1985; Reuter, Gustafsson, 1989; Samii, Webb, 1990; Wikgren e. a., 1990; Gustafsson, Eriksson, 1991). Было показано наличие ацетилхолина и серотонина в нервной системе *T. nodulosus* (Котикова, Куперман, 1977; Biserova e. a., 1991).

Настоящая работа посвящена изучению ультраструктуры головных (сколексовых) ганглиев, центральной комиссуры и стволов, иннервирующих ботрии, у половозрелых *T. nodulosus*, выявлению и распределению элементов нервной системы, содержащих серотонин (5-НТ), и иммунореактивных к нейропептидам группы RF (RF-IR).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Половозрелых червей извлекали из кишечника щуки (*Esox lucius*) и помещали в стандартный раствор Хенкса с добавлением глюкозы (1 г/л). Для изучения ультраструктуры нервной системы в норме червей фиксировали 2 %-ным глутаровым альдегидом на 0.1 М какодилатном буфере pH=7.2 (2 ч) и 2 %-ным OsO₄ на том

же буфере (2 ч), дегидратировали в спиртах повышающейся концентрации и ацетоне. После постепенного пропитывания в смеси ацетона и аралдита, материал помещали в чистый аралдит для полимеризации при температурах 37 и 60°.

Для электронной иммуноцитохимии после фиксации в течение 2 ч 2%-ным глутаровым альдегидом на 0.1 М какодилатном буфере червей дегидратировали в спиртах повышающейся концентрации с одновременным понижением температуры до -35°. При той же температуре и ультрафиолетовом облучении кусочки пропитывали смолой Lovicryl в смеси со спиртом в течение 2 сут. Полимеризацию проводили в течение 2 сут с постепенным повышением температуры при ультрафиолетовом облучении.

Полутонкие и ультратонкие срезы получали при помощи ультрамикротомы LKB-NOVA. Срезы инкубировали в растворе антител к RF⁺ (разведение 1:100) в течение суток, промывали водой, 0.02 М раствором TBS и затем инкубировали в растворе (1:20) иммунозолота (protein A-gold) в течение часа (размер метки - 10 нм); промывали 0.02 М TBS, водой и затем контрастировали водным насыщенным раствором уранилацетата и цитратом свинца по Миллонингу. Ультратонкие срезы просматривали на электронном микроскопе JEM-100C.

Для изучения распределения серотонина на макроуровне 10 экз. плероцеркоидов из печени окуня (*Perca fluviatilis*) и 18 половозрелых червей из кишечника щуки (*Esox lucius*) обработали водно-глиоксильным методом (Torre, Surgeon, 1975) и просматривали на люминесцентном микроскопе. Для выявления иммунореактивности к RFamide на макроуровне 6 половозрелых червей из кишечника щуки фиксировали и инкубировали в растворе антител по методу Густафссон (Gustafsson, 1991). Препараты просматривали на люминесцентном микроскопе Leitz Orthoplan с блоком фильтров, затем фотографировали при помощи микрофотоприставки Olympus PM 10ADS.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Гистохимия. Ранее было показано, что при обработке глиоксильной кислотой взрослых *T. nodulosus* в элементах нервной системы появляется желтая флуоресценция, которая обусловлена присутствием серотонина (Biserova e. a., 1991).

У плероцеркоидов желтая флуоресценция отчетливо прослеживалась в области сколекса и в латеральных стволах до середины тела червя. Парное сплетение светящихся волокон обнаружено под крючьями и соответствует по расположению двум ганглиям. Между ними на уровне комиссуры, соединяющей ганглии, выявлены 3 ярко светящиеся клетки. Две клетки размером 5 × 10 мкм - биполяры, посылающие свои отростки в оба ганглия; третья - расположена между ними, более крупная (10 × 10 мкм) и имеет три отростка, два из которых направлены в один ганглий, а третий отросток - в другой. Главные латеральные стволы в области шейки и на участке тела за ней высвечиваются в виде трубочек с поперечными тяжами, что, возможно, свидетельствует о поверхностном (или периферийном по отношению к другим отросткам ствола) расположении волокон, содержащих серотонин. Латеральные стволы лежат на границе кортикальной паренхимы и проходят параллельно главным выделительным сосудам. Область ствола, обращенная к выделительному сосуду, отчетливо видна, так как отростки редко встречающихся клеток проходят вдоль нервного ствола. Большая часть светящихся клеток и варикоз расположены в кортикальной области латерального ствола. Отростки нейронов расположены латеро-латерально, поэтому граница ствола со стороны субтегумента выглядит нечетко.

У половозрелых червей обнаружены некоторые отличия в расположении

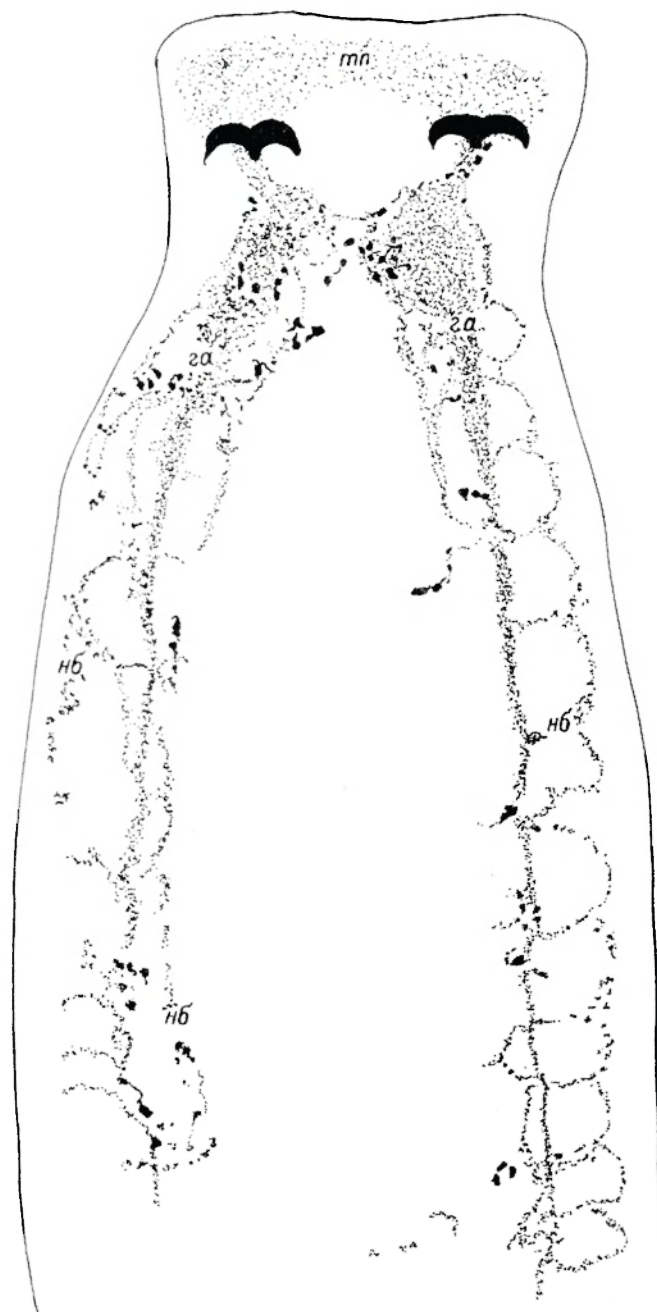


Рис. 2. Распределение RF-IR элементов в области крючьев и ботрий *T. nodulosus* (рисунок с тотального препарата).

га – ганглий; nb – нервы ботрий; mn – теменная пластинка.

Fig. 2. Distribution of RF-IR elements in the region of hooks and bothriae of *T. nodulosus* (drawing from the total specimen).

Рис. 3. Распределение RF-IR элементов в латеральном стволе в области шейки (рисунок с тотального препарата).

лс — латеральный ствол; п — покровы.

Fig. 3. Distribution of RF-IR elements in the lateral branch in the neck region (drawing from the total specimen).



серотонинсодержащих элементов нервной системы. В сколексе свечение выявлено в волокнах, подходящих к крючьям, в ботриях, в центральной комиссуре (рис. 1, а; см. вкл.). В области центральной комиссуры имеются три нейрона: два — в ганглиях и один — в комиссуре, сходных по расположению и размерам с нейронами плероцеркоида. В области ганглиев отмечена небольшая концентрация светящихся элементов (рис. 1, б). От них в ботрии отходят по три тонких нерва, связанных между собой многочисленными поперечными тяжами. Ниже ботрий нервы объединяются в главные латеральные стволы (рис. 1, в). В отличие от плероцеркоида в переднем и среднем отделах стробилы свечение выявлено не только в латеральных нервных стволах, но и в парных центральных, а также в поперечных комиссурах стробилы, в волокнах субтегументального плексуса и в волокнах, подходящих к конечным отделам половой системы. В латеральных стволах переднего отдела стробилы в местах пересечения с кольцевыми комиссурами высвечиваются нейроны размером 5–6 мкм. Наиболее интенсивно окрашиваются кортикальная и медулярная области ствола, тогда как центральная часть остается темной (рис. 1, в). Большинство клеток и варикоз выявляются в кортикальной области ствола. Нейроны посылают отростки латеро-латерально, поперек ствола и к субтегументу.

Иммуногистохимия. Распределение элементов нервной системы, показавших RF-позитивную иммунореактивность, было изучено на тотальных препаратах и полутонких срезах (рис. 1, г–е; 2; 3). В области теменной пластинки сколекса выявлено интенсивное свечение диффузно распределенных элементов, которые собираются под крючьями в два нерва, входящие затем в массивные ганглии. От ганглиев тремя ветвями отходят нервы: два ботридиальных, проходящих по краю ботрий, и центральный, наиболее массивный. Все три нерва в области шейки объединяются в главный латеральный ствол (рис. 3), причем центральная часть ствола имеет наиболее интенсивное свечение. Дистально и медианно высвечиваются тонкие веточки, показывающие расположение RF-IR волокон в кортикальной и медулярной областях главного латерального ствола.

Иммунореактивность. Распределение элементов нервной системы, показавших RF-позитивную иммунореактивность, было изучено на тотальных препаратах и полутонких срезах (рис. 1, г–е; 2; 3). В области теменной пластинки сколекса выявлено интенсивное свечение диффузно распределенных элементов, которые собираются под крючьями в два нерва, входящие затем в массивные ганглии. От ганглиев тремя ветвями отходят нервы: два ботридиальных, проходящих по краю ботрий, и центральный, наиболее массивный. Все три нерва в области шейки объединяются в главный латеральный ствол (рис. 3), причем центральная часть ствола имеет наиболее интенсивное свечение. Дистально и медианно высвечиваются тонкие веточки, показывающие расположение RF-IR волокон в кортикальной и медулярной областях главного латерального ствола.

Электронная микроскопия. Ультратонкое строение центральной нервной системы сколекса и переднего отдела стробилы *T. nodulosus* было исследовано на сериях продольных и поперечных срезов с последующей реконструкцией общего строения ганглиев.

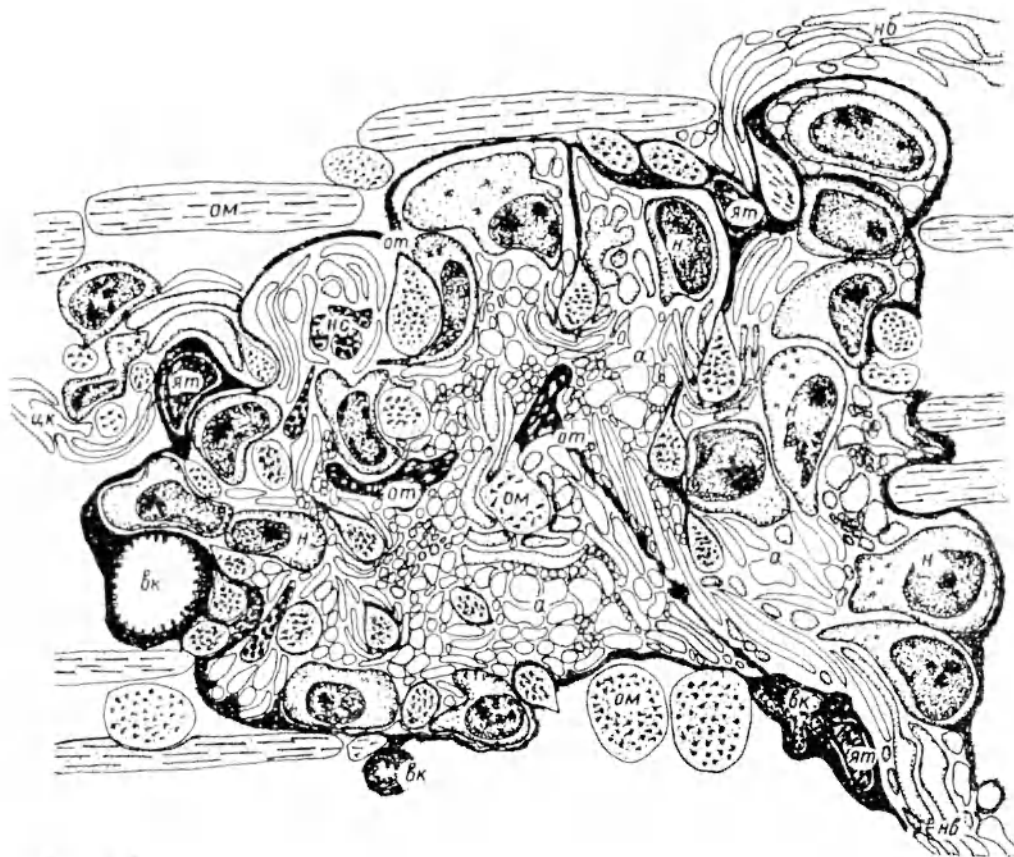


Рис. 4. Схема поперечного сечения ганглия с отходящими нервами и комиссурой.

а – аксоны; вк – выделительный канал; н – нейрон; нб – нервы ботрий; нс – нейросекреторные отростки; ом – отростки мышечных клеток; от – отростки „темных” клеток; ик – центральная комиссура; ят – ядра „темных” клеток.

Fig. 4. Scheme of the transversal section of the ganglion with branching out nerves and a commissure.

Головные ганглии и комиссура. В сколексе пара ганглиев занимает центральное положение, каудальнее мускулатуры крючьев. Ганглии соединены между собой центральной комиссурой. Путем реконструкции серийных срезов показано, что общее число клеток в парном ганглии и комиссуре сколекса около 80, причем в одном ганглии выявлено 30, а в другом – 40 клеток и 11 – в комиссуре. От каждого ганглия к крючьям отходят короткие нервы, распадающиеся на множество тонких волокон, идущих к мускулатуре крючьев и к теменной пластинке. По 2 нерва отходят к ботриям таким образом, что иннервация каждой ботрии осуществляется нервами, выходящими из обоих ганглиев. Большая часть отростков, расположенных в центре ганглиев, продолжается в главные латеральные стволы.

В поперечном сечении (рис. 4) ганглий – плотное, без расширенных межклеточных скопление отростков и нейронов, ядерные участки которых расположены чаще всего по периферии. Нейроны не образуют замкнутого кольца, а лежат группами по 3–4 клетки в местах отхождения нервов и центральной комиссуры,

посылая в них свои отростки. Некоторые нейроны лежат в центральной части ганглия. Расположенные вблизи ганглия „темные” клетки и их отростки окружают краевые нейроны, пучки нервных волокон и весь ганглий в целом, изолируя от других тканей и придавая ему морфологическую целостность (рис. 4; 5, а, в; см. вкл.). Путем реконструкции серийных срезов удалось показать, что это клетки, образующие стенки выделительных сосудов, каналцы которых часто вплотную прилегают к ганглию (рис. 6, б, г; см. вкл.). Удалось проследить непосредственную связь отростков этих клеток со стенкой выделительного каналца. В отростках, проникающих в ганглий, можно различить слипшиеся микроворсинки, плотно упакованные и имеющие гексагональную форму, но по мере расширения каналца, принимающие привычный вид микроворсинок на стенках выделительного канала. Ядра „темных” клеток овально-треугольной формы, обладают высокой электронной плотностью. Четко очерченного ядрышка не обнаружено. Цитоплазма, окружающая тонким слоем ядро, содержит плотноупакованные рибосомы и розетковидные гранулы гликогена; митохондрии редки, встречаются вакуоли со светлым содержимым (рис. 5, в; 6, б, г). Тонкие отростки, окружающие нейроны и пучки нервных отростков, содержат те же органоиды.

Кроме нервных элементов в составе ганглиев выявлены отростки мышечных клеток (рис. 4; 6, б). Крупные мышечные волокна, составляющие мускулатуру сколекса, плотно прилегают к ганглиям и посылают в нейропилль тонкие отростки, содержащие миофибриллы. Проникая в центральную область ганглия, отросток тем не менее имеет синаптические контакты только в определенных участках, тогда как большая часть поверхности мышечного волокна окружена тонким слоем электронноплотной цитоплазмы „темных” клеток.

Нейроны, входящие в состав ганглиев и комиссуры, неоднородны по ультра-тонкому строению и могут быть условно разделены на 5 типов.

1. Крупные мультиполярные нейроны (рис. 5, а). Клетки с большим объемом цитоплазмы, заполненной множеством органоидов. Ядро неправильной формы с характерным круглым ядрышком, располагается асимметрично. Один полюс ядра вытянут, ядерная оболочка образует выпячивания в виде тонких выростов, направленных в сторону отростков клетки. Цитоплазма изрезана глубокими инвагинациями наружной плазматической мембраны, плотно структурирована. Гранулярная ЭПС развита, хотя часть рибосом лежит свободно в цитоплазме. Митохондрии многочисленны, небольших размеров. Везикулы слабой электронной плотности, очень мелкие, диаметром 0.03–0.04 мкм. Такие клетки расположены преимущественно в комиссуре и латеральных стволах, в ганглиях встречаются реже. Отростки этих клеток, входящие в состав центральной комиссуры, почти лишены органоидов, электронно-прозрачны, содержат микротрубочки.

2. Униполярные нейроны. Мелкие клетки с крупными ядрами, окруженными очень тонким слоем плотной гомогенной цитоплазмы (рис. 5, в). В месте отхождения отростка (аксонном холмике) наблюдается скопление митохондрий и везикул, обычно мелких, круглых, средней электронной плотности. Везикулы отшнуровываются от вытянутых цистерн гладкой ЭПС, проходящих вдоль ядра вместе с многочисленными микротрубочками. Клетки встречаются в основном на периферии ганглия, обнаружены также в латеральном стволе в области шейки.

3. „Светлые” нейроны (рис. 5, б, в). Клетки с крупными округлыми ядрами и светлой цитоплазмой, объем которой равен или немного больше объема ядра. Для этих нейронов характерны мелкие электронноплотные гранулы овальной, иногда неправильной формы, размером 0.1×0.075 мкм. Митохондрии немногочисленны, не более двух в поле зрения. Многочисленные инвагинации наружной плазматической мембраны часто доходят до ядра клетки. Наиболее типичные и многочисленные нейроны встречаются в ганглиях и латеральных стволах.

4. Нейросекреторные клетки (рис. 6, а–в) содержат круглые электронноплотные гранулы диаметром 0.09–0.12 мкм. В сколексе обнаружены 2 такие клетки. Ядерный участок одной из них расположен вблизи комиссуры, глубже идентифицирован отросток этого нейрона, входящий в состав основного латерального ствола. Ядро вытянуто, образует лопасти в направлении главного отростка (рис. 6, б). Плотное круглое ядрышко расположено асимметрично. Перикарион в области противоположной отростку свободен от электронноплотных гранул, содержит рибосомы и микротрубочки. Остальная часть цитоплазмы заполнена гранулами разной электронной плотности и элементами гладкой ЭПС. Наиболее компактная диктиосома Гольджи лежит вблизи ядра. Вторая клетка расположена на противоположной стороне сколекса несколько глубже второго ганглия, в ботрии. В отличие от первой она имеет более крупное круглое ядро и, по-видимому, два или несколько отростков, несущих электронноплотные круглые гранулы такого же размера (рис. 6, а, в).

5. „Интернейроны” (рис. 7, д; см. вкл.). Клетки небольшого размера, расположены в центральной части ганглия. Ядро вытянутой овальной формы, окружено тонким слоем цитоплазмы, содержащей мелкие светлые везикулы, рибосомы, микротрубочки. На теле этих нейронов располагаются многочисленные синаптические контакты. По-видимому, эти клетки выполняют функцию интернейронов.

Нейропил. Центральная часть ганглиев заполнена многочисленными отростками (рис. 4). Крупные электронно-светлые отростки содержат микротрубочки и элементы гладкого ретикулума; тонкие темные отростки заполнены синаптическими везикулами; реже встречаются отростки с большими электронноплотными гранулами типа нейросекреторных. Большая часть отростков образует между собой синаптические контакты. Чаще всего встречаются контакты, в которых пресинаптическое окончание содержит очень мелкие круглые прозрачные везикулы диаметром 30 нм. В активной зоне синапса на некотором расстоянии от пресинаптической мембраны формируется небольшое уплотнение матрикса в виде пластинки; синаптические мембраны в этой точке зачернены и утолщены. Иногда электронноплотная пластинка в пресинаптическом окончании отсутствует, а постсинаптическая мембрана зачернена и значительно утолщена, таким образом синапс имеет асимметричное уплотнение мембран. Две модификации синаптических контактов, содержащих в пресинаптической области только мелкие светлые везикулы, обнаружены не только в нейропиле центральных ганглиев, но и в нервах ботрий (рис. 7, а, б).

Кроме того, в нейропиле и стволах встречаются контакты, в которых пресинаптическое окончание содержит наряду со светлыми электронноплотными мелкими гранулами диаметром 0.08 мкм (рис. 7, д). Мембраны в зоне контакта мало зачернены, синаптическая щель четко выражена. При концентрации в активной зоне мелких везикул, электронноплотная пластинка не формируется, постсинаптическое зачернение мембраны не происходит.

Кроме химических синапсов встречаются контакты типа щелевых, когда два светлых отростка, плотно прилегая друг к другу, образуют контакт без участия везикул или гранул. Мембраны в зоне электрического синапса слегка уплотнены.

Иннервация ботрий. По краям ботрий латеро-латерально проходят тонкие нервные стволики, соединенные между собой поперечными тяжами. Отростки, входящие в состав стволиков, так же как и в нейропиле центральных ганглиев, подразделяются на более крупные светлые и меньшего размера темные с синаптическими пузырьками и митохондриями.

Поперечные тяжи нервов участвуют в иннервации мускулатуры ботрии, которая представлена разнонаправленными группами мышц, связанными между собой тонкими тяжами цитоплазмы. На поверхности этих цитоплазматических тяжей и

образуют чаще всего синаптические контакты веточки аксонов, содержащие мелкие круглые прозрачные везикулы (рис. 7, а, б). Рядом с сократимым участком мышечной клетки, содержащей миофибриллы, обычно расположены отростки нейросекреторных клеток, заполненные крупными электронноплотными гранулами, диаметром 0.12–0.14 мкм (рис. 6, в).

В состав нервных стволиков ботрий входят не только многочисленные отростки, но и клетки. Большинство нейронов, иннервирующих ботрии, относится к 3-му типу и имеет крупные круглые ядра и светлую цитоплазму с электронноплотными гранулами размером 0.1×0.075 мкм. Наряду с ними встречаются униполярные нейроны (тип 2).

Электронная иммуноцитохимия. При помощи техники окрашивания иммунным золотом была показана RF-позитивная иммунореактивность в элементах нервной системы сколекса взрослого *T. nodulosus*. Сгруппированная метка была обнаружена в синапсах (рис. 7, в, з), расположенных на поверхности клеток и мышц, не содержащих метки. Пресинаптическое окончание содержит электронноплотные гранулы диаметром 0.05–0.075 мкм. Параллельно проходящие в зоне контакта мембраны образуют четкую синаптическую щель, постсинаптическая мембрана значительно зачернена и утолщена. По 3–4 единицы метки осаждались в электронноплотных везикулах пресинаптического окончания (рис. 7, в, з).

Кроме синаптических терминалей интенсивное мечение наблюдалось в отростках, содержащих электронноплотные гранулы неопределенной формы, размером 0.1–0.18 мкм, в которых оседает 10–15 единиц метки.

Также метка была обнаружена в секреторных гранулах, наполняющих протоки фронтальных желез (по 3–7 единиц), при этом фоновое окрашивание рядом лежащих тканей отсутствовало.

ОБСУЖДЕНИЕ

Гистохимическое исследование нервной системы *T. nodulosus* путем выявления холинэстераз (Котикова, Куперман, 1977) дает представление о расположении основных проводящих путей на сколексе и стробиле цестоды. Следующим шагом на пути исследования нервной системы этого вида было выявление серотонина водно-глиоксильным методом (Biserova e. a., 1991). Изучение расположения серотонин-содержащих компонентов в нервной системе плероцеркоида и взрослого червя показало их приуроченность к главным латеральным стволам и в меньшей степени к ганглиям и центральной комиссуре. Это хорошо согласуется с гистохимическими исследованиями нервной системы *Amphilina foliacea* и *Khawia* sp. (Шишов, 1991) и плероцеркоида *Diphyllobothrium dendriticum* (Gustafsson, Wikgren, 1981), у которых наиболее интенсивное и упорядоченное свечение также наблюдается в главных латеральных стволах.

Топография элементов нервной системы иммунореактивных к серотонину подробно изучена у плероцеркоида *D. dendriticum* (Gustafsson e. a., 1985), *Hymenolepis diminuta* (Webb, Mizukawa, 1985; McKay e. a., 1991) и подтверждает, что большая часть 5HT-IR волокон и клеток расположена в латеральных стволах.

Исследования по выявлению элементов нервной системы иммунореактивных к различным пептидам, проводимые на *D. dendriticum* (Gustafsson e. a., 1985; Gustafsson, 1991), *H. diminuta* (McKay e. a., 1991), *Moniezia expansa* (Maule e. a., 1993), выявили широкий спектр нейропептидов, выполняющих у цестод различные трансмиссивные функции, в том числе показано наличие RF-IR участков нервной системы.

Нами впервые получены данные по топографии RE-позитивных элементов нервной системы в сколексе и стробиле взрослого *T. nodulosus*. Значительная

концентрация RF-IR элементов в сколексе и латеральных стволах стробилы согласуется с данными других авторов для *D. dendriticum* (Gustafsson e. a., 1985), *H. diminuta* (McKay e. a., 1991). Выявленное на тотальных препаратах *T. nodulosus* диффузное свечение RF-IR элементов в области теменной пластинки и мускулатуры крючьев косвенно свидетельствует об участии их в иннервации мускулатуры сколекса и хорошо согласуется с данными электронной микроскопии. Среди мускулатуры крючьев, теменной пластинки и ботрий обнаружены многочисленные нервные волокна и окончания, содержащие электронноплотные гранулы диаметром 120–140 нм (рис. 6, е). Вероятно, они имеют пептидергическую природу.

Выявленные методом электронной иммуноцитохимии синаптические контакты в области мускулатуры крючьев, содержащие RF-IR метку в электронноплотных гранулах, свидетельствуют о пептидергической природе медиатора в этих пузырьках (рис. 7, в, з). Мелкие электронноплотные гранулы, содержащие метку в синапсах *T. nodulosus*, по размеру (50–80 нм) соответствуют выявленным таким же методом гранулам в синапсе *D. dendriticum* (60–90 нм) (Reuter e. a., 1990). Это позволяет предполагать единую биохимическую природу медиатора, а обнаружение меченых пузырьков в пресинаптической области контакта прямо указывает на его трансмиссивную функцию.

Подробное изучение ультраструктуры и клеточного состава головных ганглиев *T. nodulosus* показало, что описанные для некоторых цестод (Голубев, 1982) значительная изрезанность наружной плазматической мембраны и многолопастная форма тела нейронов для *T. nodulosus* характерны в меньшей степени. Часть ганглионарных нейронов, относящихся ко второму типу, почти не имеет инвагинаций, у 1-го и 4-го типов клеток имеющиеся инвагинации образуют 2–3 крупные лопасти и только для 3-го типа нейронов инвагинации характерны. Большая часть клеток расположена не в комиссуре (Голубев, 1982), а в ганглиях. Показано, что ганглии достаточно компактные образования, отростки и тела нейронов плотно прилегают друг к другу. Расширенные межклеточные пространства, имеющиеся в других участках тела цестод, в ганглиях отсутствуют. Вопреки более ранним данным (Webb, Davey, 1975; Голубев, 1982) нам не удалось обнаружить в ганглиях отростков тегументальных или железистых клеток.

От окружающих тканей ганглии отграничены отростками клеток, формирующих стенки выделительных сосудов. Отростки „темных” клеток окружают группы нейронов, аксонов и дендритов, отростки мышечных клеток, входящих в нейропилль, и образуют морфологически вполне оформленную „оболочку” ганглиев. Среди ранее изученных цестод такое явление отмечалось у *Gastrotenia dogielli* (Бисерова, Давыдов, 1988; Давыдов и др., 1990), где электронноплотные цитоплазматические отростки клеток выделительных каналов формируют оболочку центрального ганглия и проникают внутрь нейропиля. Очевидно, что, окружая группы отростков, нейроны и ганглий в целом, „темные” клетки формируют специализированные защитные и изолирующие оболочки, участвуют в процессах обмена веществ нервных клеток, принимая на себя функцию глии. Тесные взаимоотношения между выделительной и нервной системами показаны для *Diphillobothrium dendriticum*, у которого отростки некоторых пептидергических нейронов оканчиваются в стенке главных экскреторных протоков (Gustafsson, Wikgren, 1981). Для этого вида также была показана иммунореактивность к гистамину в клетках стенок центральных и периферических экскреторных протоков (Wikgren e. a., 1990). Показанная ранее для выделительной системы некоторых цестод функция распределения питательных веществ, возможно, будет дополнена коммуникативной, как единственная канальная система, способная относительно быстро разносить нейропептиды и нейрого르몬ы у ленточных червей.

Автор выражает искреннюю благодарность Б. А. Шишову (ИП РАН, Москва), Л. Л. Павлик (ИБФ РАН, г. Пущино), д-ру М. Рейтер (Dr. M. Reuter), д-ру М. К. С. Густафссону (Dr. M. K. S. Gustafsson) (АВО-Academie, Turku, Finland) за методическую помощь, оказанную при выполнении работы.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 96-04-49080.

Список литературы

- Бисерова Н. М., Давыдов В. Г. Ультраструктурные особенности нервной системы *Gastrotaenia dogieli* (Cestoda, Hymenolepididae) // Простые нервные системы. Казань; Л.: Наука, 1988. С. 23-26.
- Виноградов Г. А., Давыдов В. Г., Куперман Б. И. Морфофизиологические особенности водно-солевого обмена у некоторых псевдофиллидных цестод // Паразитология. 1982а. Т. 16, вып. 3. С. 188-193.
- Виноградов Г. А., Давыдов В. Г., Куперман Б. И. Морфофизиологическое исследование механизмов адаптации к различным соленостям у псевдофиллидных цестод // Паразитология. 1982б. Т. 16, вып. 5. С. 377-383.
- Голубев А. И. Электронная микроскопия нервной системы червей. Казань: Казан. гос. ун-т, 1982. 109 с.
- Давыдов В. Г., Поспехова Н. А., Юрлова Н. И. Ультраструктурная организация сколекса и покровов стробилы *Gastrotaenia dogieli* (Cestoda: Hymenolepididae) // Паразитология. 1990. Т. 24, вып. 3. С. 207-215.
- Котикова Е. А., Куперман Б. И. Развитие нервного аппарата *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda, Pseudophyllidea) в онтогенезе // Паразитология. 1977. Т. 11, вып. 3. С. 252-259.
- Куперман Б. И. Ленточные черви рода *Triaenophorus* - паразиты рыб. Л.: Наука, 1973. 207 с.
- Куперман Б. И. Функциональная морфология низших цестод. Л.: Наука, 1988. 168 с.
- Шишов Б. А. Аминергические и холинергические элементы в нервной системе гельминтов // Тр. ЗИН АН СССР. 1991. Т. 241. С. 112-137.
- Biserova N. M., Shisov B. A., Zhukova N. Ultrastructural and histochemical studies of the nervous system of the scolex of adult *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda: Pseudophyllidea) // Simple nervous system. Minsk, 1991. P. 11.
- Gustafsson M. K. S. The histology of the neck region of plerocercoids of *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda, Pseudophyllidea) // Acta zool. Fenn. 1973. N 138. P. 1-16.
- Gustafsson M. K. S. Skin the tapeworms before you stain their nervous system! // Parasitol. Res. 1991. Vol. 77. P. 509-516.
- Gustafsson M. K. S., Eriksson K. Localization and identification of catecholamines in the nervous system of *Diphyllobothrium dendriticum* (Cestoda) // Parasitol. Res. 1991. Vol. 77. P. 498-502.
- Gustafsson M. K. S., Wikgren M. C. Peptidergic and aminergic neurons in adult *Diphyllobothrium dendriticum* Nitzsch, 1824 (Cestoda, Pseudophyllidea) // Z. Parasitenkd. 1981. Bd 64. S. 121-134.
- Gustafsson M. K. S., Wikgren M. C., Karhi T. J., Schot L. P. Immunocytochemical demonstration of neuropeptides and serotonin in the tapeworm *Diphyllobothrium dendriticum* // Cell Tissue Res. 1985. Vol. 240. P. 225-260.
- Kuperman B. I., Davydov V. G. The fine structure of glands in oncospheres, proceroids and plerocercoids of *Pseudophyllidea* // Intern. J. Parasitol. 1982а. Vol. 12, N 2-3. P. 135-144.
- Kuperman B. I., Davydov V. G. The structure of frontal glands in adult Cestodes // Intern. J. Parasitol. 1982b. Vol. 12, N 4. P. 285-293.

- Maule A. G., Halton D. W., Shaw C., Johnston C. F. The cholinergic, serotonergic and peptidergic components of the nervous system of *Moniezia expansa* (Cestoda, Cyclophyllidea) // *Parasitology*. 1993. Vol. 106, N 4. P. 429–440.
- McKay D. M., Fairweather I., Johnston C. F., Shaw C., Halton D. W. Immunocytochemical and radioimmunometrical demonstration of serotonin and neuropeptide immunoreactivities in the adult rat tapeworm *Hymenolepis diminuta* (Cestoda, Cyclophyllidea) // *Parasitology*. 1991. Vol. 103. P. 275–289.
- Reuter M., Gustafsson M. K. S. „Neuroendocrin cells” in flatworms – progenitors to metazoan neurons? // *Arch. Histol. Cytol.* 1989. Vol. 52, suppl. P. 253–263.
- Reuter M., Gustafsson M. K. S., Lang J., Grimmelikhuijzen C. J. P. The release sites and targets of nerve cells immunoreactive to RFamide – an ultrastructural study of *Microstomum lineare* and *Diphyllobothrium dendriticum* (Plathelminthes) // *Zoomorphology*. 1990. Vol. 109. P. 303–308.
- Samil S. I., Webb R. A. Acetylcholine-like immunoreactivity in the cestode *Hymenolepis diminuta* // *Brain Research*. 1990. Vol. 513. P. 161–165.
- 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.* 1975. Vol. 49, N 2. P. 81–93.
- Webb R. A., Davey K. G. The gross anatomy and histology of the nervous system of the metacestode of *Hymenolepis microstoma* // *Can. J. Zool.* 1975. Vol. 53, N 5. P. 661–667.
- Webb R. A., Mizukawa K. Serotoninlike immunoreactivity in the cestode *Hymenolepis diminuta* // *Journ. compar. neurology*. 1985. Vol. 234. P. 431–440.
- Wikgren M., Reuter M., Gustafsson M. K. S., Lindroos P. Immunocytochemical localization of histamine in flatworms // *Cell Tissue Res*. 1990. Vol. 260. P. 479–484.

ИБВВ им. И. Д. Папанина РАН,
Борок, 152742

Поступила 14.03.1995
После доработки 5.10.1996

STRUCTURE OF A SCOLEX NERVOUS SYSTEM
OF THE *TRIAENOPHORUS NODULOSUS* (CESTODA: PSEUDOPHYLLIDEA)

N. M. Biserova

Key words: Cestoda, *Triaenophorus nodulosus*, nervous system, ultrastructure, biogenic amines, serotonin, neuropeptides, RFamide.

SUMMARY

The fine structure of the scolex nervous system of the *Triaenophorus nodulosus* was examined. The ultrastructures of ganglions, central commissure, and bothrium nerves are described. Five ultrastructural types of neurons, processes of muscle cells and cells of excretory ducts have been observed. The synaptic contacts in neuropile of ganglions and bothrium nerves are described in details. An interrelation of nervous and excretory systems, which is similar to the neuroglial relations in high animals, has been recovered. The wall cell processes of excretory ducts cover the ganglions, pierce into neuropile and surround the groups of processes and neurons. The distribution of the serotonin (5-HT) in plerocercoids and adult *Triaenophorus nodulosus* was investigated. The distribution nervous system elements being immunoreactive to RFamide is shown in total specimens and semi-thin microscopic sections of adult worms. The presence of RF-immunoreactive (IR) synaptic vesicles with electron dense contents in presynaptic tips of assymmetric synapses in the region of hook muscles are shown by means of electron immunocytochemistry techniques.

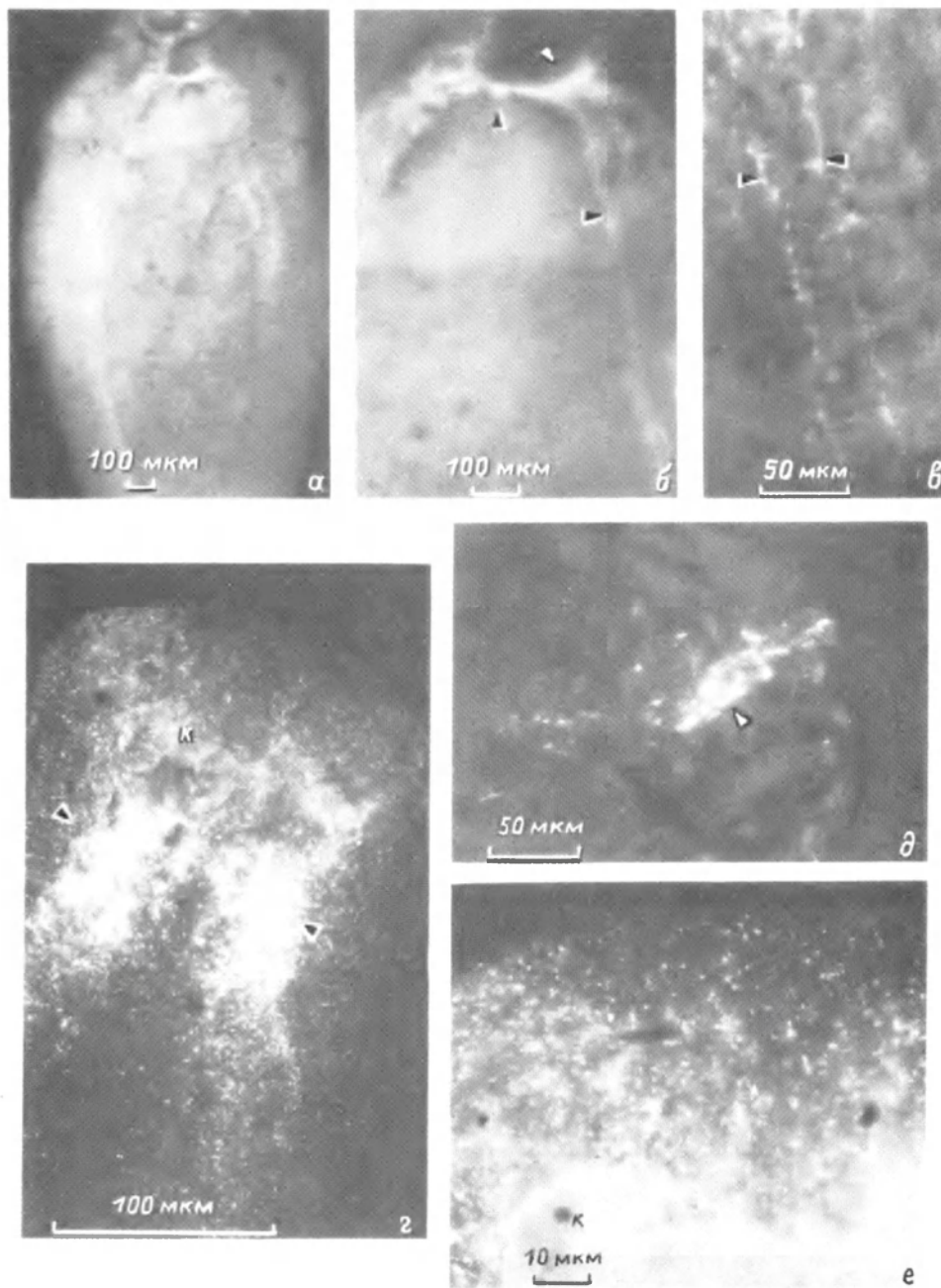


Рис. 1. Распределение серотонина и RFamide в нервной системе *T. nodulosus*.

a – латеральные нервные стволы в области ботрий и шейки (5-НТ); *б* – область ганглиев и центральной комиссуры (5-НТ), стрелки – нейрон в комиссуре и участок правого ганглия с 3 отходящими нервами; *в* – латеральный нервный ствол в передней части стробилы (5-НТ), стрелки – граница ствола; *г* – распределение RF-IR элементов в области ганглиев (тотальный препарат, иммуногистохимическая реакция), стрелки – ганглии; *д* – свечение RF-IR волокон в главном латеральном стволе в области шейки (полутонкий срез, Lovicryl, иммуногистохимическая реакция), стрелки – латеральный ствол; *е* – распределение RF-IR волокон в области теменной пластинки (тотальный препарат, иммуногистохимическая реакция); *к* – крючья.

Fig. 1. Distribution of the serotonin and RFamide in the nervous system of *T. nodulosus*.

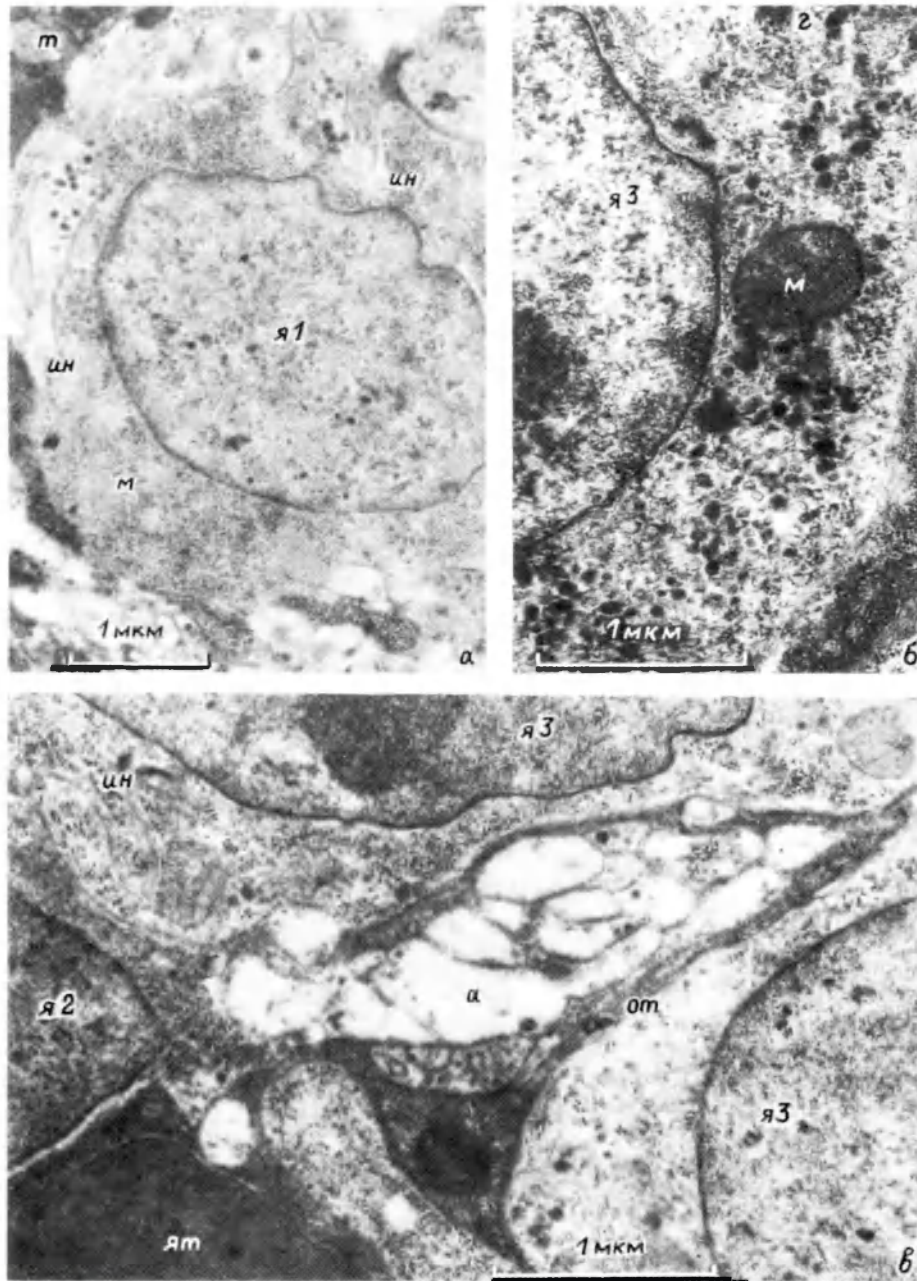


Рис. 5. Ультраструктура ганглионарных нейронов *T. nodulosus*.

а – крупный мультиполярный нейрон (тип1); *б* – „светлый“ нейрон (тип3) с электронноплотными гранулами; *в* – периферийный участок ганглия; *г* – электронноплотные гранулы; *ин* – инвагинация нейрилеммы; *м* – митохондрия; *я1* – ядро клетки 1-го типа; *я2*, *я3* – ядра нейронов 2-го и 3-го типов соответственно; *яг* – ядро „темной“ клетки.
Остальные обозначения такие же, как на рис. 4.

Fig. 5. Ultrastructure of ganglion neurons of *T. nodulosus*.

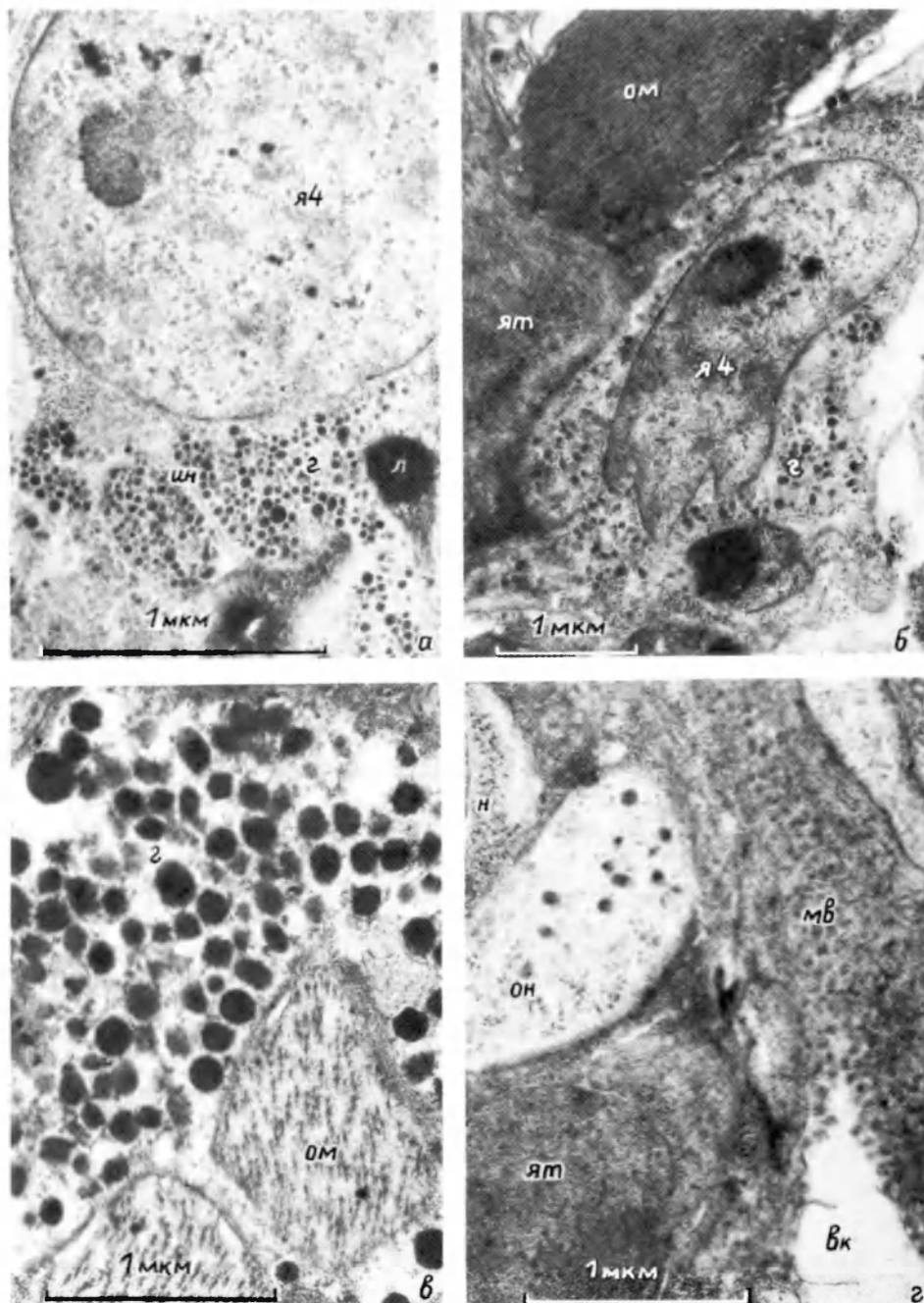


Рис. 6. Нейросекреторные и „темные” клетки в сколексовых ганглиях *T. nodulosus*.

а, б — нейросекреторные нейроны, входящие в состав сколексовых ганглиев; в — отростки с электронноплотными гранулами среди мускулатуры крючьев; з — ядерный участок „темной” клетки в стенке выделительного канальца на периферии ганглия; л — липидная капля; мв — микроворсинки; он — отросток нейрона; я4 — нейроны 4-го типа.

Остальные обозначения такие же, что на рис. 1–5.

Fig. 6. Neurosecret and „dark” cells in ganglia of the scolex of *T. nodulosus*.

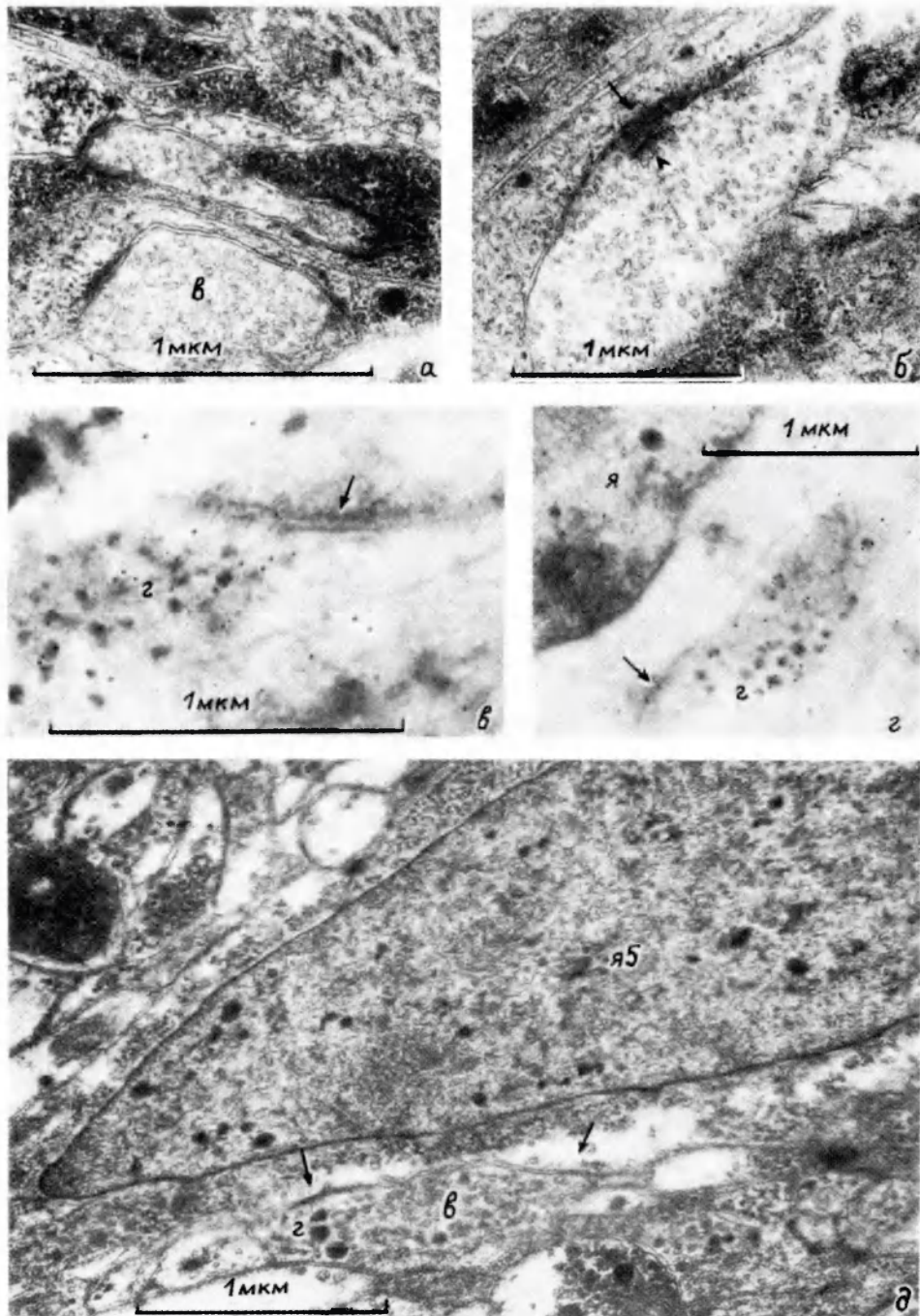


Рис. 7. Синаптические контакты в ганглиях и ботриях.

а — синаптические терминалы, содержащие только светлые везикулы, постсинаптические мембраны значительно утолщены; б — синапс с электронноплотной пластинкой (короткая стрелка) и светлыми везикулами в пресинаптическом окончании, ботрия; в, з — синапсы с электронноплотными гранулами в пресинаптическом окончании; иммуноцитохимическая реакция: метка (protein A-gold, 10 nm) сгруппирована на электронноплотных синаптических везикулах; д — интернейрон (тип 5) в центре ганглия с многочисленными контактами на соме; е — светлые везикулы; я5 — ядро нейрона 5-го типа; я — ядро; длинные стрелки — участки постсинаптических мембран.

Остальные обозначения как на рис. 1–6.

Fig. 7. Synaptic contacts in ganglions and bothriae.