


ҚАЗАҚСТАННЫҢ
БИОЛОГИЯЛЫҚ
ҒЫЛЫМДАРЫ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ
НАУКИ
КАЗАХСТАНА



БОТАНИКА
ЗООЛОГИЯ
ФИЗИОЛОГИЯ
ГЕНЕТИКА
ЭКОЛОГИЯ

ТОНКАЯ СТРУКТУРА И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОТДЕЛОВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ТРЕМАТОДЫ *CYCLOCOELUM MUTABILE* (ZEDER, 1800) СЕМ. CYCLOCOELIDAE

К.К. АХМЕТОВ

Павлодарский государственный университет и.м. С. Торайгырова

Трематодалардың ас қорту мүшелерінің гистологиялық және цитохимиялық ерекшеліктеріне арналған жұмыстар сирек кездеседі. Сол себептен осы мүшелердің қатарындағы бөлімдердің қызыметтері анық белгіленбеген. Усынып отырған мақалада құстардың тыныс алу мүшелерінде мекендейтін Cyclocoelum mutabile құртының ас қорту мүшесіне сипаттама беріледі.

Работ, посвященных изучению гистологии и гистохимии органов пищеварительной системы трематод, встречается крайне мало. До настоящего времени не установлены функциональные особенности отделов этой системы. Настоящая статья посвящена изучению тонкой структуры и функции органов пищеварения трематоды Cyclocoelum mutabile.

The histology and the histochemistry of trematoda digestive systems are studied very little. Before this time is not established the function measures of this system. The fine structure and functions of digestive system of Cyclocoelum mutabile trematoda is studied in this article.

Переход к паразитическому существованию у трематод выработал ряд приспособлений, которые касаются всех систем. Особый интерес представляют адаптационные преобразования органов, осуществляющих контакт с окружающей средой. Одной из них является пищеварительная система. Пищеварительная система обеспечивает питание клетками тканей хозяина и их усвоение. У видов, паразитирующих в пищеварительной системе, участвуют в поглощении гидролизованная и негидролизованная части содержимого кишечника хозяина.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Трематоды *Cyclocoelum mutabile* были собраны из воздухоносных мешков лысухи обыкновенной (*Fulica atra*).

Половозрелых особей *Cyclocoelum mutabile* извлекли из кишечника выпей. Для гистологического и гистохимического анализа были использованы следующие фиксаторы: 10% нейтральный

формалин, 80° и 90° этиловый спирт, 80° и абсолютный ацетон, фиксаторы Бейкера, Карнуа, Россмана, Ценкера. Фиксацию гельминтов производили при 40°С в течение 16-24 часов. Паразитов после фиксации обезвоживали в спиртах восходящей концентрации (50, 60, 70, 80, 90, 96 и 100) затем проводили через смесь бензола и 100% спирта в соотношениях 1:2, 2:1 и чистый бензол.

Далее материал пропитывали парафином в термостате при температуре 54°-56° С (в трех сменах) и окончательно заливали в парафин //120//.

Для микроморфологических исследований срезы толщиной 4-7 мкм. окрашивали гематоксилин-эозином по Караци, гематоксилин-эозином по Эрлиху и по методике Маллори (Кисели, 1962).

В исследовании использовано 12 гистохимических и 16 вспомогательных тестов.

Суммарные протеины выявлены методом Бонхега, основные белки - методом Бонхега и прочным зеленым при рН 8,0, кислые белки - прочным зеленым при 2.2. SH-группы - по методике Шевремона и Фредерика, NH₂-группы - по Ясума и Итчикава, SS-группы - надмуравьиной кислотой с последующей обработкой альционовым синим. Гликоген определяли по Мак-Манусу, кислые мукополисахариды - по Сидмену. Кислую и щелочную фосфатазы - по Гомори. Для оценки результатов исследований были проведены химические конт-

роли, мепилирование, деметелирование, денатурация ферментов. При расшифровке полученных данных были использованы методы гистохимического анализа различных авторов (Пирс, 1962, Виноградов, 1973, Елисеева, 1967).

Полученные препараты изучались при помощи микроскопов Polivar (Австрия), PZO (Польша).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Микроморфология пищеварительной системы. Пищеварительная система хорошо развита. Она начинается ротовым отверстием, которое ведет в предглотку. Глотка в основном имеет округлую форму. Его размеры 0,8-1х0,4-1,0 мм. Глотка переходит в пищевод. Пищевод имеет форму прямой трубки. Бифуркация имеет значительные размеры. За ней следуют две ветви кишечника, которые соединяются на заднем конце тела, образуя так называемую кишечную арку.

При этом обращают на себя внимание углы, которые, загибаясь и образуя арку, имеют почти 90°С, т.е. прямые. Кишечник не образует боковых выростов. Распределение пищевого материала по кишечным стволам неравномерное.

Стенка кишечника с наружной стороны имеют достаточно хорошо развитую, плотную соединительнотканную стенку, толщина ее почти везде одина-

ПАРАЗИТОЛОГИЯ

ковая и достигает 1 мкм. По Маллори, этот слой окрашивается в интенсивно синий цвет, что позволяет его отнести к соединительнотканым структурам. Стенка кишечника достаточно умеренно реагирует с гематоксилином и проявляет небольшую эозинофилию, по Карацци и Эрлиху, красится в фиолетовый цвет с небольшими участками розового цвета. Кишечник этого вида может образовывать расширенные участки и участки с довольно суженным просветом. Расширенные участки характерны для частей кишечника, наполненным пищевым детритом. В зависимости от наполнения просвета существует и разность высоты эпителиального слоя. Эта особенность может быть показателем функциональной активности участков эпителия кишечника.

Участок кишечника, где отсутствуют нутриенты, по-видимому, имеют относительно ровное развитие эпителия, которое характеризуется вариацией эпителиальных клеток по высоте: от 5,2 до 8,1 мкм. В областях кишечных стволов, содержащих пищевой материал, высота эпителиальных клеток кишечника в большой степени разнится по высоте. В ряде участков высота эпителиальных клеток достигает 11,4-13,3 мкм. При этом их апикальная поверхность содержит ровный ряд микроворсинок.

На апикальных концах микроворсинок и в их слое на препаратах, окрашенных гематоксилином – эозином, окрашиваются слизеподобные субстанции,

проявляя слабую или умеренную эозинофилию. В ряде случаев эти вещества достаточно плотной консистенции. В таких зонах слизь почти умеренного фиолетового цвета. Слизеподобный слой содержит очень мелкий гранулярный материал, который обнаруживается лишь при увеличении в 600 раз. Следует заметить, что такого материала не много. И в основной своей массе они приурочены к микроворсинкам. В этих же, наполненных пищевыми комками участках кишечника, дифференцируются и эпителиальные клетки, имеющие среднюю высоту 8-9,4 мкм, которые имеют такую же морфологию, что и высокие клетки.

Некоторые участки кишечника имеют очень низкую эпителиальную выстилку, высота которой не превышает и 1-1,5 мкм. По нашему мнению, это обстоятельство связано с физиологической активностью.

Участки кишечника стволов, просвет которых не содержит пищевых масс, имеют наибольшую высоту, и в них хорошо дифференцируются микроворсинчатые структуры.

Участки кишечных стволов, где просвет уже почти расщепленный, пищевой материал и высота кишечного эпителия средняя, микроворсинчатые структуры слабо различимы в световом микроскопе.

Районы кишечника, заполненные, относительно грубой еще, волокнистой пищевой массой, которая, по-видимому,

начинает подвергаться воздействию энзимов характеризуется тем, что высота эпителия разная. Невыделившие секрет участки эпителия высокие, выделяющие – средние и низкие. Поэтому можно говорить о микроапокриновом типе секреции.

Секреты, выделяемые эпителиальными клетками, по-видимому, образуют единый слизистый чехол для пищевой массы, которая, по Маллори, красится в сероватый цвет и проявляет равномерную эозинофилию. В составе слизистого слоя, обволакивающего пищевые комки на светооптическом уровне не обнаруживается какого-либо зернистого материала. По-видимому, везикулы, выходя из эпителия кишечника и разрушаясь, выделяют содержимое, образуя слизеподобную субстанцию в просвете кишечника.

Гистохимия пищеварительной системы. Пищеварительная система *C. mutabile* содержит в своем составе суммарные протеины в ротовой присоске, глотке, стенке кишечника. Реакция во всех случаях умеренная.

Белки основной природы установлены в составе протеинов выстилки кишечных стволов, реакция имеет слабую интенсивность в тестах с водным раствором реактива Бонхега, но при реакции прочным зеленым при pH 8.0 интенсивность окраски несколько возрастает и близка к умеренной.

Кислые протеины установлены в эпителиальной выстилке кишечных стволов, где реакция с прочным зеленым

при pH 2.2 – умеренная, а слизистые субстанции, содержащиеся в составе нутриентов, имеют слабую реакцию.

Аминогруппы протеинов в составе белков пищеварительной системы гельминта не установлены.

Сульфгидрильные группы протеинов в очень небольшом количестве обнаружены нами в составе выстилки кишечника и содержимого его просвета. Реакция на эти функциональные группы белков слабая и они, в основном, приурочены лишь к редким гранулярным элементам описываемых структур.

Дисульфидные группы белков в составе органов пищеварительной системы нами не установлены.

Реакция на гликоген в стенках кишечника интенсивная, слизистые субстанции в просвете кишечника имеют умеренную реакцию. Пищевой материал, содержащийся в кишечных стволах, слабо окрашен. Стенки ротовой присоски и глотки так же содержат гликоген и имеют в тесте Мак-Мануса умеренную реакцию.

Кислые мукополисахариды нами не установлены во всех отделах пищеварительной системы гельминта.

Кислая и щелочная фосфатаза установлена в составе стенок кишечника, причем реакция на кислую фосфатазу более сильная, чем на щелочную.

ОБСУЖДЕНИЕ

Для *C. mutabile* характерна общеизвестная для трематод структура пищева-

рительной системы. Она включает ротовое отверстие, открывающееся в глотку, от которой берет начало пищевод, разветвляющийся на два кишечных ствола. Ветви кишечника на заднем конце тела, загибаясь под углом, близким к 90, образуют арку. Таким образом, кишечник кольцеобразный. Следует отметить, что у данного гельминта кишечник не образует боковых ответвлений, возможно, это связано с особенностями потребляемой пищи. Известно, что данная трематода питается кровью и ее составными элементами.

Полости ротовой присоски, глотки и пищевода гельминта выстланы продолжением тегумента, т.е., по сути, представляют из себя синцитиальную структуру. Ранее подобное строение передних отделов пищеварительной системы трематод было установлено и другими авторами (Ждярска, Соболева, 1990; Подвязная, 1986). Синцитиальную организацию данных отделов можно объяснить тем, что ротовая присоска, глотка и передние отделы пищевода, участвуют в актах активного поглощения посредством сосания. А присутствие клеточных границ могло бы лишь создавать дополнительные затруднения в питании. Поэтому наличие синцития в данных отделах функционально более выгодно.

Выстилка кишечника (гастродермис) у *S. mutabile* клеточного типа, хотя это не единственное возможное строение, встречающееся у трематод. Другой тип гастродермиса – синцитиальный -

описан многими авторами (Чубрик, 1971; Лифарева, Шаймарданов, 1999; Dawes, 1962; Логачев, 1960; Gresson, Threadgold, 1959). Клеточный тип гастродермиса был исследован у *Haemotoloexus medioplexus* (Dike, 1976), *Shistosoma mansoni* (Morris, 1968), *Sch. haematobium* (Sodeman, Sodeman, 1972).

Наши данные по изучению морфологии эпителиальной выстилки в кишечных стволах, заполненных пищей и свободных от нее, наталкивает на мысль о том, что пищеварительный процесс сопровождается изменением морфологической структуры эпителия. Свободные от пищевого материала кишечные стволы характеризуются максимальной высотой эпителиальной выстилки, вследствие чего просвет кишечника кажется очень узким.

При наличии в кишечнике пищевого материала на препаратах отмечается изменение высоты гастродермиса. Это говорит о протекании различных этапов секреторной деятельности. Суть ее в появлении в составе эпителия гранулярных структур. Гранулы имеют базофильные характеристики. Возможно, это связано с тем, что они имеют кислую природу. Несомненно, гранулы являются энзимами. Следующий этап – формирование везикулярных тел. Увеличенные везикулы локализуются в апикальных областях. Процесс формирования секреторного материала в виде везикул отмечен Dawes (1962), Threadgold

(1965), Halton (1982). Вопрос о стимулах, приводящих в действие процесс секреторной деятельности в кишечнике трематод в литературе объясняется появлением в начальных отделах пищеварительной системы пищевого материала (Hathaway, 1972).

Логачев (1960) считает, что процесс образования псевдоподиальных выростов на апикальной поверхности эпителия кишечника так же обуславливает наличие большого спектра форм гастродермиса. По нашему мнению, активизация гастродермиса и образование псевдоподиальных выростов связаны с внешними факторами, одним из них может быть изменение рН кишечной среды. Основанием для этого являются данные Булычева (1986). По его мнению, псевдоподии образуются за счет движения цитоплазмы, которая стимулируется изменением рН. При этом цитоплазма гастродермиса активизируется за счет других стимулов. По Глебову (1978), им могут быть ферменты и белки с основными свойствами. Последние, по нашим данным, установлены у исследуемого вида.

Очень часто с апикальными частями гастродермиса трематод связаны структуры, положительно реагирующие в тестах, на присутствие ферментов кислотную и щелочную фосфатазы. Кислая фосфатаза является маркерным ферментом, чаще всего связанным с лизосомами, Булычев (1986) и указывает на активность эндосом после фагоцитоза и

пиноцитоза. Этот энзим может присутствовать как на мембранах, так и матриксе (Сопина, 1998). Большинство хорошо охарактеризованных кислых фосфатаз являются димерными белками, гликопротеинами и встречаются во множественных формах (Kubietz et.al, 1985).

Щелочная фосфатаза при участии в адсорбционном процессе реагирует на изменение рН среды. При высоких значениях рН энзим проявляет большую активность, освобождая прочно связанный фосфат (Hull, Sikes, 1976). Исходя из этого, можно говорить о том, что имеет место функциональный блок фермент – гастродермис, реагирующий на изменение рН.

Фосфатазы кишечника обеспечивают абсорбцию веществ. Для трематоды *S.mutabile* активность кислотной и щелочной фосфатаз указывает на то, что процессы поглощения низкомолекулярных соединений в гастродермисе достаточно развиты. В то же время мы допускаем, что у этого гельминта присутствует полостное пищеварение, поскольку в кишечнике присутствуют остатки крови и тканей хозяина. Полостное пищеварение осуществляется за счет секрета везикулярных тел. Эти секреты, видимо, относятся к группе кислых протеинов с активными –SH группами. Завершение процессов пищеварения происходит в гастродермисе.

Таким образом, у *S.mutabile* имеет место полостное и внутриклеточное пищеварение.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Cohn L.* Helminthologische Mittheilungen // Arch.f.Naturg., 1904. №70. S.223-258.
2. *Чубрик Г.К.* Морфология и функциональная изменчивость кишечного эпителия некоторых трематод // Тр.ВИГИС. -1971. -№17. -С. 133-137.
3. *Лифарева Н.А., Шаймарданов Ж.К.* Ультраструктурная организация кишечного эпителия *Pneumonocoeces variegatus*. Ruq.1918 (Trematoda: Plagiorchiidae) // Ученые записки ПГУ. -Павлодар, 1999. -Т.2. -№7. -С.6-13.
4. *Daves B.* A histological study of the ceecal epithelium of *Fasciola hepatica* // Parasitol., 1962. №62. -P.483-493.
5. *Dike S.C.* Ultrastructure of the ceca of the digenetic trematodes, *Gorgodera amplicava* and *Haematoloexus mediopexus* // Journ.Parasit. 1976. Vol.53, №1. -P.1173-1185.
6. *Hathaway R.P.* The fine structure of the ceecal epithelium of the trematoda *Aspidogaster conchicola* (Baer, 1827) // Proc.Helminthol.Soc.Wash., 1972. -Vol.39, №1 -P.101-107.
7. *Gresson R., Threadgold L.* A light and electron microscope study of the epithelial cells of the gut *Fasciola hepatica* // Journ. Biophys. Biochem.Cytol., 1959. -Vol.6, №3. -P.157-162.
8. *Логачев У.Д.* К вопросу о трофической функции кишечника // Докл.АН СССР. -1960. Т.131. -№3. -С.709-713.
9. *Ждырска З., Соболева Е.Н.* Гистохимия и ультраструктура предглоточных железистых клеток мариц *Brachylaimus aequans* и *B.fuscatus* // Экология и морфология гельминтов животных Казахстана. -А-А., 1990. -С.92-95.
10. *Подвяжная И.М.* Тонкое строение тегумента представителей двух семейств трематод *Alloasogonoporidae* и *Lecithodentriidae* (*Plagiorchiida*) // Тр.ЗИН. АН СССР. 1986. -Т.155; -№94. -P.103-108.
11. *Глебов Р.Н., Крыжановский Г.Н.* Функциональная биохимия синапсов. -М.1978. - 89 с.
12. *Бульчев А.Г.* Сегрегационная функция клетки и ее молекулярные механизмы // Цитология. - 1986. -Т.28. -№4. -С.387-402.
13. *Сопина В.А.* Кислая фосфатаза у Амoеба proteus // Цитология. -1998. -Т.40. -№11. -С.980-990.
14. *Kubietz A., Waheed A., Van Eften R.L.* Isolation and characterization of a homogeneous acid phosphatase from catfish liver // Comp. Biochem. Pysiol., 1985. №81B. -P.177-183.
15. *Hull W., Sykes B.D.* // Biochemistry. 1976. -Vol.15. -P.1535-1538.
16. *Пирс Э.* Гистохимия. Теоретическая и прикладная. -1962. -962 с.
17. *Виноградов В.В.* Углеводные соединения // Принципы и методы гистохимического анализа в патологии. -Л., 1973. -С.7-187.
18. *Елисеева В.Г.* Гистология. -М., 1963. -671 с.