

УДК 576.895.122:591.128.1

***ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ТРЕМАТОД
ВИДА НАПЛОМЕТРА CYLINDRACEA, ПАРАЗИТИРУЮЩИХ В ЛЁГКИХ
ПОЙКИЛОТЕРМНЫХ ЖИВОТНЫХ***

Начева Л.В.

д.б.н., профессор, заведующий кафедрой

биологии с основами генетики и паразитологии

ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет»

Министерства здравоохранения РФ,

Россия, г. Кемерово

Аннотация. В статье описывается пищеварительная система трематоды *Haplometra cylindracea*, паразитирующей в лёгких лягушек, зараженность которых обнаружена в г. Кемерово. Показано, что кишечник трематод выстлан однослойным микроворсинчатым эпителием, функционирующим по апокриновому типу, и проявляет положительные реакции: бромфенолофилию, альцианофилию, толуидинофилию и Шик-реакцию, что указывает на его активность в процессах пищеварения, а также приспособленность трематод к существованию в пойкилотермном животном.

Ключевые слова: гистология, гистохимия остромордая лягушка, пойкилотермные животные, *Haplometra cylindracea*, эпителий кишечника, апокриновая секреция.

***HISTOCHEMICAL STUDIES OF THE DIGESTIVE SYSTEM OF THE
PULMONARY FLUKE – HAPLOMETERS***

Nacheva L.V.

Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department

biology with the basics of genetics and parasitology

FSBEI HE «Kemerovo State University»

Russia, Kemerovo

Abstract. The article describes the digestive system of the fluke *Haplometra cylindracea*, which is parasitic in the lungs of the frogs, the invasion of which was found in Kemerovo. It is shown that the fluke gut is lined with a single-layer microvilli epithelium, functioning according to the apocrine type, and shows positive reactions: bromphenolophilia, alcianophilia, toluidinophilia and Chic reaction, which indicates its activity the digestive processes, as well as the fitness of flukes to exist in a poikilothermic animal.

Key words: histology, histochemistry sharp-faced frog, poikilothermic animals, *Haplometra cylindracea*, intestinal epithelium, apocrine secretion.

Введение. Зараженность трематодами пойкилотермных животных в разнообразных биогеоценозах является результатом сложных пищевых цепей, сложившихся в процессе адаптации, как паразитов, так и животных к меняющимся условиям существования. Было выявлено, что в городе и пригородах Тюмени остромордые лягушки заражены 3-мя видами трематод, среди которых и *Haplometra cylindracea* [2]. Наблюдения в течение 8 лет зарубежных ученых показали, что малый прудовик, инвазированный личинками хаплометр, заражает как крупных жаб *Vufobufo*, так и остромордых небольших лягушек *Rana arvalis* [14]. Следует обратить внимание и на то, что земноводные считаются лёгкой пищевой добычей как для холоднокровных (рыб, змей, ящериц), так и для теплокровных животных (ежей, птиц, лис, волков). Поэтому изучение инвазированности безхвостых земноводных семейства *Ranidae* лёгочными трематодами рода *Haplometra*

имеет большое значение для экспертного состояния биогеоценозов в городской черте.

Интересным является факт того, что *Haplometra cylindracea* значительно сдерживает развитие фасциолы в промежуточном хозяине моллюске рода *Lymnaea* [10] или она вообще не развивается [1]. Исходя из этого, мы можем предположить, что *Haplometra cylindracea* выступает в роли агента биологической борьбы с фасциолёзом [12,13] или в роли сдерживающего фактора его распространения. Это актуально в связи с не достаточной изученностью в Кемерове и Кемеровском районе зараженности лягушек хаплометрами. В то же время актуальным является изучение у *Haplometra cylindracea* пищеварительной системы, за счет которой трематоды приспособились к паразитированию в среде 1 порядка – организме лягушки.

В некоторых исследованиях показано, что земноводные играют роль амфиксенического хозяина в жизненном цикле хаплометр [11], то есть трематоды используют в качестве дополнительного и окончательного хозяина одну особь лягушек [7,8]. Данный факт ещё больше подчеркивает актуальность изучения пищеварения у *Haplometra cylindracea*.

Ранее были изучены пути инвазии лягушек хаплометрами [9]. Анализ литературных данных показывает, что по пищеварительной системеразных трематод есть некоторые микроморфологические её описания [3,5]. С помощью гистологических методов исследован кишечник у трематод, паразитирующих в желчных протоках печени [4], выявлены особенности строения пищеварительной системы *Pegosomum Saginatum* [6]. Но вопросы морфологии и гистохимии пищеварительной системы *Haplometra cylindracea* не были изучены, как и не установлена зараженность хаплометрами лягушек в г.Кемерово.

Цель исследования. Изучить гистологические и гистохимические особенности пищеварительной системы трематоды *Haplometra cylindracea*, паразитирующей в лёгких пойкилотермных животных.

Материалы и методы исследования. Проведено обследование лягушек, обитающих в разных участках г. Кемерово, на зараженность лёгочными трематодами. Установлена высокая инвазированность пойкилотермных животных, доказываемая тем, что при спонтанной выборке у каждой лягушки были хаплометры. Объектами исследования были трематоды вида *Haplometra cylindracea* (Zeder, 1800) Looss, 1899, полученные вместе с лёгкими лягушек, при проведении ревизии на зараженность паразитами у 2-х видов: сибирская лягушка *Rana amurensis* Boulenger, 1886 и остромордая лягушка *Rana arvalis* Nilsson, 1842.

Половозрелые особи – мариты трематод вместе с тканью хозяина фиксировали в 10% нейтральном формалине, спирт-формалине по Шафферу 1:9, в жидкости Карнуа. Обработка проводилась по общепринятой гистологической методике. Материал заливали в парафин с добавлением воска. Срезы, толщиной 5-6 мкм, окрашивали с использованием гистологических методов: гематоксилин Карацци-эозин и галлоцианин. В гистохимических исследованиях нами были использованы: окраска альциановым и толуидиновым синими на выявление гликозаминогликанов; окраска бромфеноловым синим по Бонхегу для выявления суммарных белков и Шик-реакция по Мак-Манусу на гликоген и гликопротеины. Было изготовлено 600 гистологических микропрепаратов (по 100 препаратов при каждом виде окраски), которые изучали в световом микроскопе и производили микрофотосъемку.

Результаты исследования. Изучение лёгких лягушек установлена высокая степень заражения их трематодой *Haplometra cylindracea*, при этом отмечено, что одно лёгкое, как правило, с паразитами, а второе лёгкое свободно от них. Видимо, это приспособленность трематоды к

Дневник науки | www.dnevniknauki.ru | СМИ Эл № ФС 77-68405 ISSN 2541-8327

паразитированию в хозяине для сохранения его жизнеспособности. Хаплометры паразитируют в полости легких лягушек свободно, не обособляясь капсулой. В связи с этим они должны активно прикрепляться в полости легкого, поэтому у них развиты присоски, особенно ротовая (рис. 1), которая затягивает ткань хозяина. Положительное окрашивание присоски при ШИК-реакции и БФС указывает на наличие в ней гликогена и суммарных белков. Аналогичная картина наблюдалась и в брюшной присоске хаплометр.

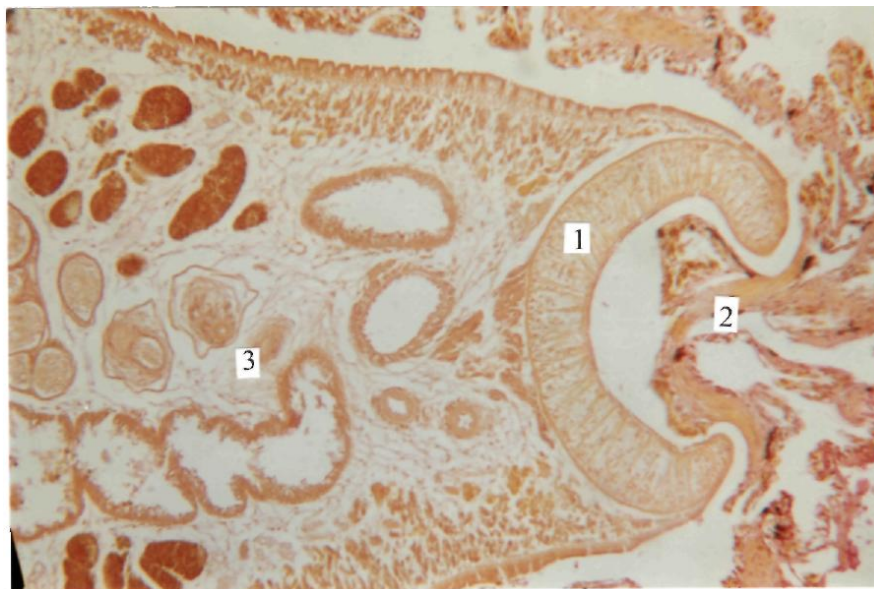


Рис. 1. Фрагмент ротовой присоски трематоды вида *H. cylindracea*.

1 - ротовая присоска паразита,

2- ткань легкого лягушки, захваченная паразитом, 3 - тело гельминта.

Микрофото. Ув. 7x20. Окраска Ван Гизон.

Изучение на разных гистологических срезах вариантов прикрепления трематод к легочной ткани способствовало выявлению их функциональной динамики. Если обе присоски были откреплены и находились в стороне от ткани лёгкого, то хаплометры были прикреплены к септам лёгкого с помощью наружного покрова за счет его адгезивных способностей. Когда прикрепление трематод в лёгких происходит за счет хотя бы одной из присосок, то тегумент не участвует в адгезивном процессе.

В присоске и фаринксе трематод были обнаружены нейросекреторные клетки, в которых присутствовала субстанция нейрогуморального характера. Очевидно, что эти клетки осуществляют комплекс регуляторных процессов организма гельминта через пищеварительную систему, обеспечивая динамику взаимоотношений в системе «паразит-хозяин».

Пищевод трематод, отходящий от фаринкса, выстлан эпителиальным пластом из цитоплазматического матрикса, отграниченного базальной мембраной. Пищевод снабжен мышцами и двумя типами одноклеточных пищеварительных желез. В месте перехода глотки в пищевод выявлены вытянутые секреторные клетки с длинным протоком, которые собираются в пучок. Вдоль пищевода располагаются колбообразные клетки с коротким протоком, цитоплазма которых содержит вакуоли. Пищеварительные железы проявляют яркую бромфенолофилию, толуидинофилию, фуксинофилию, что указывает об их функциональной активности. Поскольку питательный материал от хозяина требует переработки, реализации и внутренней защиты паразита от иммунологической агрессии хозяина, то в этих процессах и принимают активное участие секреторные железы переднего отдела пищеварительной системы пневмотрематод.

Кишечник трематод имеет две ветви, располагающиеся латерально и которые заканчиваются слепо на заднем конце тела гельминта. Стенка кишечника хаплометрвыстлана однослойным каемчатым эпителием. Клетки кишечного эпителия, называемые энтероцитами, лежат на тонкой волокнистой базальной мембране. Эпителиальные клетки обладают выраженной полярностью. Проксимальный конец является базальной частью эпителия, которая имеет сетевидную цитоплазму с ядром. Дистальная или апикальная часть состоит из микроворсинок, являющихся продолжением цитоплазмы их базальной части. Энтероциты плотно соединены между собой без видимых границ и способны менять свои

Дневник науки | www.dnevniknauki.ru | СМИ Эл № ФС 77-68405 ISSN 2541-8327

размеры и форму в различные периоды функциональной деятельности. Например, когда в кишечнике много элементов крови, эпителиальные клетки имеют разрушенную апикальную часть, и ворсинки не обнаруживаются (рис.2Б). Эпителиоциты кишечника накапливают пищеварительные ферменты, апикальная часть вакуолизируется, а затем происходит их секреция по апокриновому типу с разрушением микроворсинок .

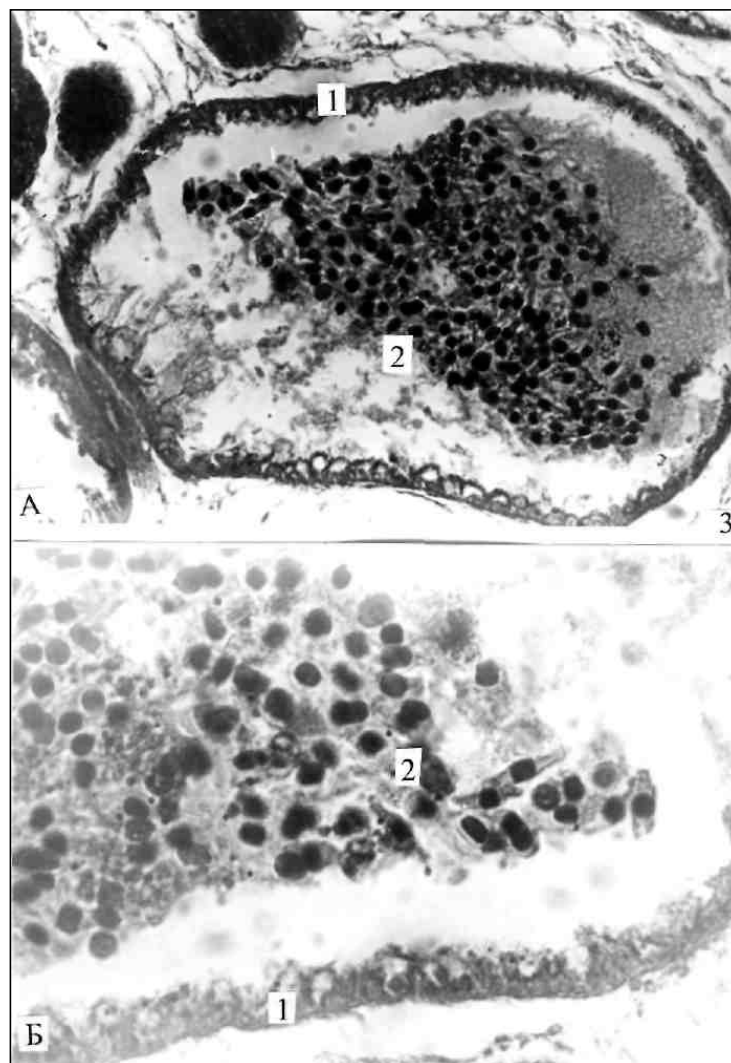


Рис. 2.- А, Б. Пищеварительная система *N. cylindracea*.

1 - эпителиальные клетки с разрушенной апикальной частью,
2 - просвет кишечника с клетками крови, 3 - паренхима.
Микрофото. Ув. А - 10x20, Б - 10x40. Окраска Ван Гизон.

Питание хаплометр происходит путём захвата клеток крови ротовой присоской и постепенное переваривание эритроцитов в кишечнике трематоды (рис.2 А,Б). Адгезивные возможности тегумента хаплометры обеспечивают освобождение ротовой присоски для захвата пищи.

Наличие одноклеточных пищеварительных желёз, выбрасывающих секрет в просвет начальных отделов пищеварительной системы, способствует частичной обработке трофического материала. О том, что кишечный эпителий принимает активное участие в пищеварении, доказываем гистохимически тем, что он проявляет бромфенолофилию, толуидинофилию с умеренной метахромазией и положительную ШИК-реакцию. В процессе пищеварения участвует и тегумент, который периодически в разных местах тела гельминта вступает в плотный контакт с лёгочной тканью хозяина и между ними происходит частичный обмен углеводами и белками с их интеграцией. Об этом свидетельствуют положительные реакции: бромфенолофилия, альцианофилия и толуидинофилия. Это способствует адаптации паразита за счет выделения веществ, блокирующих действие протеолитических ферментов хозяина.

Выводы. Гистологические и гистохимические исследования пищеварительной системы *Haplometra cylindracea* показали, что ее стенки выстланы однослойным микроворсинчатым эпителием, который функционирует по апокриновому типу, переваривает эритроциты хозяина, проявляет положительные реакции: бромфенолофилию, альцианофилию, толуидинофилию и ШИК-реакцию, что указывает на его активность в процессах пищеварения, а также приспособленность трематод к существованию в пойкилотермном животном.

Библиографический список:

1. Будалова Т.М. Трематода *Harplometra cylindracea* как агент биологической борьбы с фасциолезом/ Автореф.дис. ... канд.биол.наук. - М., 1986. – 17 с.
2. Буракова А.В. Экология и гельминтофауна остромордых лягушек (*Rana arvalis*) разного возраста / Российский паразитологический журнал, 2011. №4.С.7-13.
3. Маниковская, Н.С. Морфоэкологическая характеристика кишечника трематод / Н.С. Маниковская, Л.В.Начева // сб. науч. тр.: «Проблемы медицины и биологии», материалы всеросс. науч.конф.-семинар, посвящ. 275-летию Российской Академии Наук, Кемерово, 1999. С. 131.
- 4.Маниковская, Н.С. Особенности строения пищеварительной системы *Pegosomum saginatum* (Ratz, 1898) Ratz, 1903 (Trematoda) /Н.С. Маниковская, Л.В.Начева // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. 2016. № 17. С. 238-240.
- 5.Начева, Л.В.Сравнительная морфофункциональная характеристика щеточной каймы кишечника трематод разных эндостаций / Л.В.Начева,Н.С. Маниковская // сб. научн. тр. «Медико-биологические проблемы». Кемерово-Москва, 2002. С. 14-18.
- 6.Начева, Л.В.Структура кишечного эпителия гепатотрематод / Л.В. Начева, Н.С.Маниковская //сб. науч. тр.«Медико-биологические проблемы». Кемерово, 2006.С. 29-34.
- 7.Чихляев И.В., Гельминты бесхвостых земноводных (*Amphibia*, *Anura*) мордовского заповедника / И.В. Чихляев 1 , А.Б. Ручин 2 , А.И. Файзулин 1 //Труды Мордовского государственного природного заповедника имени П. Г. Смидовича. Саранск; Пушта, 2015.-Вып. 14. – СС.376-388.
- 8.ЧихляевИ.В. К гельминтофауне травяной лягушки – *Rana temporaria* Linnaeus, 1768 (*Amphibia*: *Anura*) из разных местообитаний калужской

области /И.В. Чихляев, А. Б. Ручин, С. К. Алексеев, В. А. Корзиков//Современная герпетология, 2013. Том 13, вып. 1/2. С. 58 – 63.

9.ШтейнпрейсТ.А., Путиинвазиилягушкихаплометрой / Т.А. Штейнпрейс, Л.В.Начева // сб. науч. тр. «Медико-биологическиепроблемы». КемГМА. Кемерово, 1998. С. 39-40.

10.Goumghar M.D., Abrous M., Ferdonnet D., Dreyfuss G., Rondelaud D. Prevalence of *Haplometra cylindracea* infection in three species of *Lymnaea* snails in central France. // *Parasitol. Res.*, 2000.V.86(4).P.337-339.

11.Grabda-Kazubska B. Studies on the life-cycle of *Haplometra cylindracea* (Zeder, 1800) (Trematoda, Plagiorchiidae) // *Ibid.*, 1970. Vol.18, fasc. 45. P.497-512.

12. Rondelaud D., Vignoles P., Abrous M., Dreyfuss G. The definitive and intermediate hosts of *Fasciola hepatica* in the natural watercress beds in central France. // *Parasitol. Res.*,2001. V.87(6). P.475-478.

13. Vignoles P., Rondelaud D., Dreyfuss G. The populations of *Galba truncatula*, known for their natural infections with *Haplometra cylindracea* (Digenea, Plagiorchioidea), are better intermediate hosts for metacercarial production of *Fasciola hepatica*. // *Parasitol. Res.*, 2007. V.100 (6). P.1371-1373.

14.VignolesPh., Dreyfuss G., Rondelaud D. *Haplometra cylindracea* (Zeder, 1800) (Trematoda: Plagiorchiidae): variation in the dates of cercarial shedding for overwintering *Galba truncatula*, May 2011, Parasite 18(2):181-4.

Оригинальность 85%

