

文章编号: 1000-7423(2011)-01-0071-03

印度殖盘吸虫神经系统的乙酰胆碱酯酶定位观察

张浩^{1,2}, 张威², 朱燃², 诸葛洪祥^{1*}

【摘要】 采用乙酰胆碱酯酶组织化学方法对印度殖盘吸虫进行染色, 观察并描绘其神经结构。结果显示, 该吸虫脑神经节与神经连合位于口吸盘和生殖吸盘之间、虫体的背侧。脑神经节向前发出 4 对神经干, 与口吸盘内神经网络相连; 向后发出 3 对神经干, 其中腹主神经干最粗大, 3 对神经干在虫体后端各分出几条神经分支进入腹吸盘。生殖吸盘上分布有发达的神经网络。虫体表面神经纤维成对平行, 斜行交叉, 构成表面神经网络。分布于前体部的神经细胞分为 3 种类型。说明印度殖盘吸虫神经结构符合复殖类吸虫的基本特征, 其生殖吸盘内具有独特、复杂的神经结构。

【关键词】 印度殖盘吸虫; 神经系统; 乙酰胆碱酯酶; 组织化学

中图分类号: R383.2

文献标识码: B

Localization of Acetylcholinesterase in the Nervous System of *Cotylophoron indicum*

ZHANG Hao^{1,2}, ZHANG Wei², ZHU Ran², ZHUGE Hong-xiang^{1*}

(1 College of Medicine, Suzhou University, Suzhou 215123, China; 2 Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, China)

【Abstract】 The nervous system of *Cotylophoron indicum* was studied by using acetylcholine esterase histochemical staining techniques. Cranial ganglia and transverse commissure situate at dorso-lateral body between oral sucker and genital sucker. From the cranial ganglia four pairs of nerves proceed cephalad and connect with nerve network of the oral sucker. The posterior nerve cords from the cranial ganglia consist of 3 pairs and the ventral ones are the stoutest and longest nerves. A few branches from the 3 pairs of nerve cords connect to ventral sucker. There is a developed nerve network distributed in its genital sucker. The nerve fibers on body surface in pairs and parallel are diagonal and cross to form a nerve network on body surface. Three kinds of neurocytes distribute at the prosomal region. Results show that the nervous system structure of *C. indicum* is consistent with the essential features of Digenea, but more special and complicated around genital sucker.

【Key words】 *Cotylophoron indicum*; Nervous system; Acetylcholinesterase; Histochemistry

Supported by a Heilongjiang Provincial Fund for Young Teachers in Higher Education Institutions (No. 1152G056) and the Natural Science Fund of Heilongjiang Province (No. D200814)

* Corresponding author, E-mail: hxzhuge@163.com

印度殖盘吸虫(*Cotylophoron indicum* Stiles et Goldberger, 1910)隶属于同盘科(*Paramphistomatidae* Fiscoeder, 1901)、同盘亚科、殖盘属, 是牛、羊胃内常见的吸虫之一, 对于宿主危害较为严重^[1]。在形态学上该类吸虫以其腹面具有一个明显的生殖吸盘而区别于同盘科的其他类群。对吸虫神经系统的研究有助于揭示蠕虫不同类群的演化规律, Котикова^[2]通过对比寄生蠕虫的神经结构, 提出寄生蠕虫神经系统的发育分为两个方向, 单殖类和绦虫类为一个方向, 复殖类为另一个方向; 研究显示, 蠕虫体内的某些神经递质分子除了参与调控虫体的肌肉活动外, 还可能参与调控虫体的生长、发育和生殖等生理功能^[3], 因此对神经系统的深入研究还有助于揭示虫体本身的

生命规律。我国在这一领域的研究进展相对缓慢, 为了解殖盘吸虫神经结构的特征, 探讨吸虫生理功能与神经结构之间的关系, 本实验采用乙酰胆碱酯酶组织化学定位方法对印度殖盘吸虫神经系统进行染色, 观察和描述。

1 材料与方法

1.1 虫体来源 2008 年采自黑龙江省齐齐哈尔市屠宰场黄牛的瘤胃内, 分离虫体, 置于生理盐水中, 反复冲洗。取 24 只压片, 10%中性甲醛溶液固定 3 h 以上, 流水冲洗过夜。

1.2 主要试剂和仪器 碘化乙酰硫代胆碱购自瑞士 Fluka 公司, 洋红(胭脂红)购自上海化学试剂公司, 生物显微镜(CX31-RBSF)和显微描绘器(U-DA7G25730)为日本 Olympus 公司产品, 电子天平(FA2004N)为上海精密科学仪器有限公司产品。

1.3 虫种鉴定 取 7 只虫体, 置醋酸明矾洋红染液^[4]中 12 h, 梯度乙醇脱水、二甲苯透明、中性树胶封片, 镜下观察、测量。虫体活时呈乳白色, 染色后呈鲜红色, 内部结构清晰, 体

基金项目: 黑龙江省普通高校青年骨干教师资助项目 (No. 1152G056); 黑龙江省自然科学基金(No. D200814)

作者单位: 1 苏州大学基础医学与生物科学学院, 苏州 215123; 2 齐齐哈尔医学院医学技术学院, 齐齐哈尔 161006

* 通讯作者, E-mail: hxzhuge@163.com

长>8 mm; 腹吸盘位于体后端, 有生殖吸盘; 睾丸大、前后排列; 卵黄腺起自生殖吸盘两侧; 无食道球、肠道有 3 个明显弯曲, 鉴定为印度殖盘吸虫^[5]。

1.4 神经染色 按文献 [7] 方法, 取冲洗过夜的虫体, 蒸馏水清洗 3 次, 每组 5、6 只, 置于作用液^[67] 中, 室温下染色 3~6 h。镜下观察染色效果, 当乙酰胆碱酯酶活性部位呈现红棕色或深棕色、整体结构显示清晰时 (约 6 h), 即终止反应。用干净的毛笔挑取虫体置蒸馏水中充分洗涤, 同方法 1.3 脱水、透明、封片。镜下观察、测量、显微摄影、描绘器下绘图。

2 结果

2.1 中枢神经 印度殖盘吸虫的脑神经节和神经连合位于口吸盘和生殖吸盘之间, 虫体的背侧 (图 1A)。脑神经节向体前发出 4 对神经干与口吸盘相连, 简称 a1、a2、a3 和 a4。a1 是最长的一对, 延伸至口吸盘前缘; a2 是次长, 延伸至口吸盘的中部; a3、a4 两对较短, 直接通向口吸盘底部 (图 1B, 图 2A)。脑神经节向体后部发出 3 对神经干, 走行于虫体的背、侧和腹面, 称为后背神经干、后侧神经干和后腹神经干。每一侧的背、侧和腹神经干在虫体后部约 1/3 的位置由 1 条横向神经相互联系 (图 1A)。

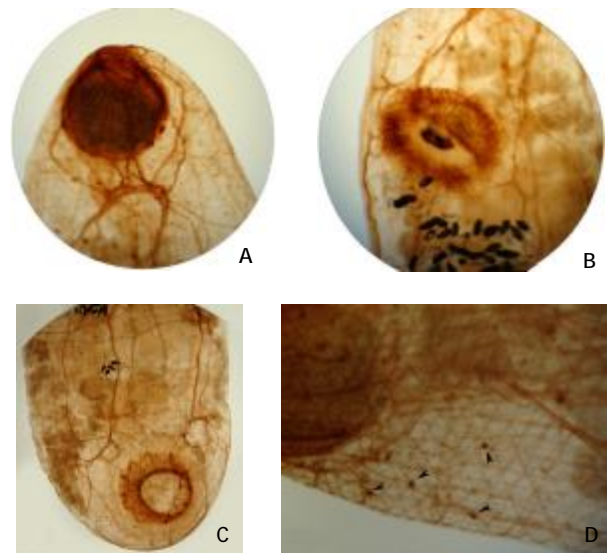
后腹神经干最为粗大, 它们在脑神经节向后很短距离处即各发出 1 条分支, 这对分支在虫体腹面向后伸展, 至体后 1/3 处再与对应的主干汇合; 并在生殖吸盘两侧各发出 4 条短的神经支通入生殖吸盘内。1 对后腹神经干延伸至体后, 在腹吸盘前、后缘各有 1 对分支进入腹吸盘, 这些神经分支及其次级分支参与构成腹吸盘内复杂的神经网络 (图 1C, 图 2C)。而 1 对后侧神经干在虫体前部有较细的神经束与体前神经干 a2 相联系, 并且有横向神经束与后腹、后背神经干相连 (图 1B)。后侧神经干延伸至体后部, 各发出 3 个次级分支, 从侧面进入位于虫体末端的腹吸盘。后背神经干与其他两对相比最为细弱, 延伸至体后部与对应一侧的后腹神经干汇合 (图 1A, 图 1C)。

2.2 吸附器官的神经分布 印度殖盘吸虫的口吸盘略呈球形, 其表面可见呈经、纬线状分布的神经网络, 这些神经网络与体前神经干相连 (图 1B, 图 2A)。生殖吸盘是殖盘属的特征性结构, 位置上接近口吸盘, 生殖孔周围呈深褐色, 吸盘上有成放射状

密集排列的神经纤维。生殖吸盘神经网络通过 4 对短的神干与腹主神经干相连 (图 1B, 图 2B)。腹吸盘的神经呈立体网状分布, 神经网络由后腹神经干和后侧神经干较细的神经分支构成 (图 1C, 图 2C)。

2.3 体表神经纤维网 印度殖盘吸虫体前部可见表皮神经呈斜向交叉分布, 外观为众多菱形网格。每个斜纹都由平行的双线神经组成 (图 2D)。

2.4 神经细胞 虫体前部有一些巨大的神经细胞 (图 2D)。这些细胞在形态上可分为单极、双极和多级 3 种类型, 又称为 A、B、C 型神经细胞。这些神经细胞的大小测量结果见表 1。

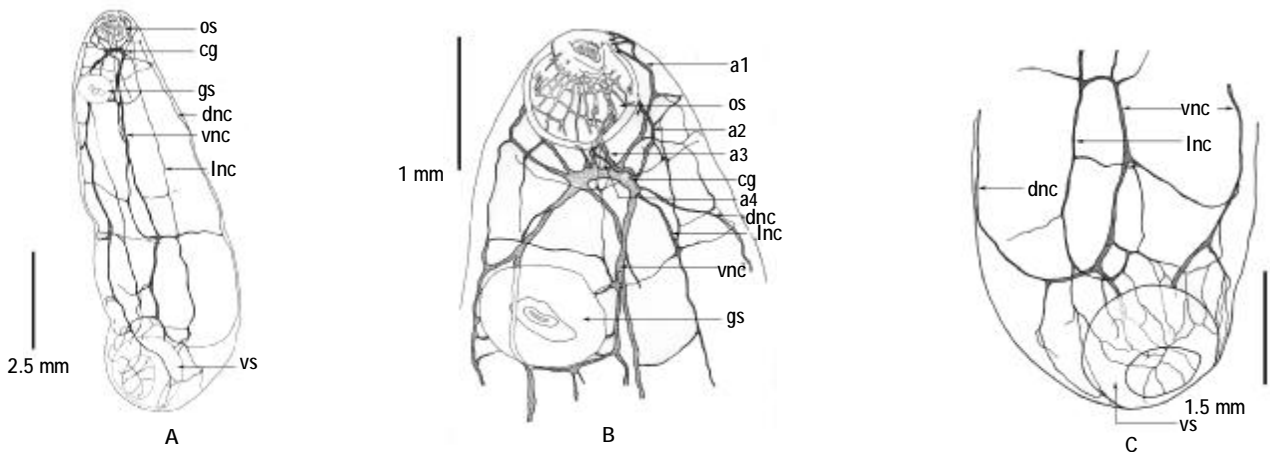


A: 口吸盘、脑神经节 (x100); B: 生殖吸盘 (x100); C: 腹吸盘及体后部神经 (x100); D: 虫体前部体表神经网络及神经细胞 (x400)。

图 2 印度殖盘吸虫神经 (局部)

表 1 印度殖盘吸虫神经细胞的类型及其比例

细胞类型	平均大小(μm)	数量(个)	比例(%)
A	61.7×36.7	4	22.2
B	56.0×26.6	7	38.9
C	64.3×32.6	7	38.9



A: 整体; B: 体前部; C: 体后部。

os: 口吸盘; cg: 脑神经节; gs: 生殖吸盘; dnc: 后背神经干; vnc: 后腹神经干; lnc: 体侧神经干; vs: 腹吸盘; a1~a4: 前神经干。

图 1 印度殖盘吸虫神经

3 讨论

胆碱酯酶组化定位的方法自 20 世纪 60 年代建立以来^[8], 已成为研究蠕虫神经结构的一个重要方法, 其显色清晰、结构完整是以往切片法所无法替代的。

何毅勋^[9]在比较已报告的 6 科复殖吸虫神经解剖结构后认为, 它们“恒定的”共同特点之一是, 从中枢神经节向体后发出 3 对纵向神经干, 且以腹神经干最粗大。印度殖盘吸虫的整体神经结构与上述特征相符。虽然复殖类吸虫的神经系统存在着一些共性, 但由于不同种类之间形态、发育、宿主和生理活动等方面存在明显差异, 神经系统也会相应的出现差异^[10], 一般认为有咽的复殖吸虫其脑神经节向前方发出的神经干为 4 对, 而无咽的种类为 3 对, 如日本血吸虫。印度殖盘吸虫无咽却有 4 对前神经干, 这一特征仅在锯匙叶体吸虫中有过相似报道^[11]。另外, 生殖吸盘是该类吸虫的标志性器官、也是种类鉴定的重要依据, 神经染色显示, 印度殖盘吸虫的生殖吸盘内具有发达的神经网, 通过 4 对短的神经支与腹主神经干发出的较长、较粗大的神经分支相连, 生殖吸盘的位置及神经结构与华支睾吸虫和卫氏并殖吸虫的腹吸盘相似, 但两者腹吸盘内的神经网通过 1 对短的神经支直接与腹主神经干相连。生殖吸盘神经结构的复杂性提示它所承担的生理功能也较为复杂。

叶彬等^[12]在比较同盘类的柯布非策吸虫和小盘同盘吸虫的神经系统后认为, 它们的结构基本相似, 脑神经节向前、后各发出 3 对纵神经干, 它们的分布及走向都相似, 所有后行神经干都有分支进入腹吸盘(后端吸盘)。印度殖盘吸虫与它们比较, 体后神经干数目和腹吸盘神经结构相同, 主要区别是: ① 脑神经节向前发出 4 对神经干, ② 生殖吸盘具有发达的神经结构, ③ 体壁神经网及巨大神经细胞的分布形式及类型在其他同盘吸虫中尚无报道。提示印度殖盘吸虫的神经结构有种、属特点。

本研究显示, 乙酰胆碱(Ach)在印度殖盘吸虫的体内广泛分布。但是对 5-羟色胺(5-HT)等其他神经递质的分布仍不清楚。

参 考 文 献

- [1] Tang CT, Tang ZZ. Trematology in China[M]. Fuzhou: Fujian Science and Technology Publishing House, 2005: 689-715. (in Chinese)
(唐崇惕, 唐仲璋. 中国吸虫学[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 2005: 689-715.)
- [2] Timofeeva TA. The structure of the nervous system of *Aspidogaster conchicola* K Baer, 1827(Trematoda, Aspidogastrea)[J]. Parasitology, 1971, 5(6): 517-523. (in Russian)
(Тимофеева ТА. Строение Нервной системы *Aspidogaster conchicola* К.Баер, 1827(Trematoda, Aspidogastrea)[J]. Паразитология, 1971, 5(6): 517-523.)
- [3] Halton DW, Maule AG. Flatworm nerve-muscle: structural and functional analysis[J]. Can J Zool, 2004, 82(2): 316-333.
- [4] Chen PH. Experimental Technique of Human Parasitology [M]. Beijing: Science Press, 1988: 15-16. (in Chinese)
(陈佩惠. 人体寄生虫学实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 1988: 15-16.)
- [5] Chen XT. Fauna Sinica, Platyhelminthes, Trematoda, Digenea (I)[M]. Beijing: Science Press, 1985: 230-318. (in Chinese)
(陈心陶. 中国动物志, 扁形动物门, 吸虫纲, 复殖目(一)[M]. 北京: 科学出版社, 1985: 230-318.)
- [6] Zhang H. Study on the nervous system of adult *Lophotaspis orientalis* Faust and Tang, 1936 (Trematoda: Aspidogastrea)[J]. J Xiamen Univ (Nat Sci), 2006, 45(4): 585-588. (in Chinese)
(张浩. 东方簇盾吸虫神经系统的研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2006, 45(4): 585-588.)
- [7] Du ZM. Practical Histological Techniques [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1982: 317(in Chinese)
(杜卓民. 实用组织学技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 317.)
- [8] Douglas LT. Thiocholine technique; I. Modification for demonstration of acetylcholinesterase in *Schistosoma mansoni* (Trematoda) and in *Hymenolepis diminuta*(Cestoda)[J]. Acta Histochem, 1966, 24: 301-306
- [9] He YX. Localization of acetylcholinesterase in the nervous system of *Clonorchis Sinensis*[J]. Acta Zool Sin, 1991, 37(1): 47-50. (in Chinese)
(何毅勋. 华支睾吸虫神经系统的乙酰胆碱酯酶定位[J]. 动物学报, 1991, 37(1): 47-50.)
- [10] Li JH, Bao HE. Study on the nervous system of *Pagumogonimus skrjabini*[J]. Acta Zool Sin, 1992, 39(1): 109-110. (in Chinese)
(李建华, 包怀恩. 斯氏狸殖吸虫神经系统研究[J]. 动物学报, 1992, 39(1): 109-110.)
- [11] Li JH, Bao HE. Nervous system of *Phyllodistomum serrispatulata* (Trematoda: Digenea)[J]. J Guiyang Med Coll, 1992, 17(4), 288-291. (in Chinese)
(李建华, 包怀恩. 锯匙叶体吸虫神经系统的研究[J]. 贵阳医学院学报, 1992, 17(4): 288-291.)
- [12] Ye B, Tong XH, Pan YQ. Localization of acetylcholinesterase in the nervous system of *Paramphistomum microbothrium*[J]. Veter Sci Chin, 1996, 26(5): 5-7. (in Chinese)
(叶彬, 童新华, 潘永全. 小盘同盘吸虫神经系统的乙酰胆碱酯酶的定位观察[J]. 中国兽医科技, 1996, 26(5): 5-7.)
(收稿日期: 2010-04-14 编辑: 衣凤芸)