

**BADANIA NAD PATOGENEZĄ ZMIAN  
W ZAKRESIE WZROSTU SOMATYCZNEGO *LYMNAEA STAGNALIS*  
(GASTROPODA: PULMONATA) DOŚWIADCZALNIE ZARAŻONYCH  
PARTENITAMI *OPISTHIOGLYPHE RANAE*  
(DIGENEA: PLAGIORCHIIDA). I. WZGLĘDNA MASA PŁCIOWYCH  
NARZĄDÓW DODATKOWYCH ORAZ SYNTETYCZNA  
AKTYWNOŚĆ KOMÓREK NEUROSEKRECYJNYCH\***

ZBIGNIEW POKORA

Katedra Biologii i Parazytologii Śl. AM  
40-752 Katowice, ul. Medyków 18

**INVESTIGATIONS ON PATHOGENESIS OF CHANGES IN SOMATIC GROWTH  
OF *LYMNAEA STAGNALIS* (GASTROPODA: PULMONATA) EXPERIMENTALLY  
INFECTED WITH PARTHENITES *OPISTHIOGLYPHE RANAE*  
(DIGENEA: PLAGIORCHIIDA) I. RELATIVE WEIGHT OF THE ACCESSORY SEX  
ORGANS AND SYNTHETIC ACTIVITY OF THE NEUROSECRETORY CELLS**

**Abstract.** In the paper an attempt to define pathogenesis of changes in somatic growth of juvenile individuals of the popular freshwater snail *Lymnaea stagnalis* experimentally infected with parthenites of the trematode *Opisthioglyphe ranae* was undertaken. Significant enlargement of relative wet weight of examined accessory sex organs (albumen gland, oothecal gland, prostate, male copulatory organ) observed in infected snails permits to explain increase of their somatic growth basing on the hypothesis of disturbances in energetistic budget of the host - as a consequence of reduction by the parasite activity of the snail's reproductive system. Pathogenesis of this phenomenon has probably a complicated character, including also effect of parthenites on activity of the neurosecretory cells that control somatic growth in examined species of the snail. An argument for this standpoint is, observed in infected snails, increase of amount of neurosecretory material and RNA in cytoplasm of these cells (the light green cells of cerebral ganglia), as well as amount of the loose fraction of chromatine in their nuclei.

WSTĘP

Jednym z następstw zarażenia ślimaków przez stadia rozwojowe przywr digenetycznych są zaburzenia w zakresie wzrostu, często w postaci gigantyzmu somatycznego. Patogeneza tego zjawiska jest dyskusyjna. W pracach prowadzonych na różnych doświadczalnych modelach układu pasożyt-żywiciel

---

\* Praca była referowana na X Krajowym Sympozjum Malakologicznym w Obrzycku k/Poznania (25-28 kwietnia 1994).

przedstawiono kilka hipotez dla jej wyjaśnienia, z czego, jako dobrze udokumentowane, na uwagę zasługują dwie. Pierwsza, określana mianem „hipotezy naruszenia budżetu energetycznego żywiciela”, tłumaczy zmiany w zakresie wzrostu zarazonych ślimaków jako jedną z konsekwencji kastracji pasożytnej (ROTHSCHILD 1936, WILSON i DENISON 1980). Opierając się na silnej energochłonności procesów rozrodczych, zakłada ona wykorzystanie przez tkanki somatyczne zarazonego ślimaka ogółu tych substancji odżywczych, które w warunkach fizjologicznych przyswajane są przez gonadę, a w wyniku upośledzenia przez partenity czynności tego narządu, pozostają w dużej ilości w hemolimfie. Druga hipoteza przewiduje możliwość wpływu partenit pasożyta na aktywność ośrodków neurohormonalnych kontrolujących wzrost ślimaka żywicielskiego (JOOSSE i VAN ELK 1986).

W pracy podjęto próbę określenia patogenezy, opisanego wcześniej (POKORA 1994), nasilonego wzrostu ślimaków *Lymnaea stagnalis* doświadczalnie zarazonych partenitami pospolitego pasożyta jelita cienkiego żab, *Opisthio-glyphe ranae*. Dla określenia ewentualnych zmian w czynności (rozwoju) układu rozrodczego zarazonych ślimaków badano masę dużych narządów gonoduktu (płciowych narządów dodatkowych, accessory sex organs = ASO). Biorąc pod uwagę drugą z przedstawionych hipotez analizie histochemicznej poddano jasnozielone komórki zwojów mózgowych (light green cells = LGC), które są znane jako neurosekrecyjne centra kontroli wzrostu somatycznego *L. stagnalis*.

### Material i metody

Obiektem badań było 70 młodocianych osobników *Lymnaea stagnalis*, z których połowę zarazono larwami przywry *Opisthioglyphe ranae* (grupa doświadczalna). Grupę kontrolną stanowiły pozostałe ślimaki wolne od zarażenia. Sposób pozyskiwania inwazyjnych jaj pasożyta oraz zarażania i hodowli ślimaków opisano wcześniej (POKORA 1994). Po 10 tygodniach od zarażenia ślimaki obu grup sekcjonowano celem pobrania zwojów mózgowych, które poddano badaniom histochemicznym, oraz dużych egzokrynowych gruczołów gonoduktu (białkowego, skorupkowego i prostaty) i męskiego narządu kopulacyjnego (prącia, pochewki prącia i prepucjum) - dla określenia ich masy mokrej. Podczas sekcji analizowano skuteczność zarażenia.

W celu uwidocznienia w perykarionach LGC (patrz POKORA i SZILMAN 1995: ryc. 1) neurosekretu, czołowe i strzałkowe przekroje zwojów mózgowych cięte przy zachowaniu seryjności skrawków (7  $\mu\text{m}$ ; po utrwaleniu w płynie BOUINA), barwiono paraldehydową fuksyną wg CAMERONA i STEELE'a oraz chromową gallocyjaniną wg BOCKA (patrz POKORA 1992).

Dla wybarwienia kwasów nukleinowych w jądrach i cytoplazmie tych komórek preparaty zwojów mózgowych barwiono zielenią metylową i pyro-

nią Y wg BRACHETA (za CIECIURĄ 1982) oraz odczynnikiem SCHIFFA (wykonanym metodą DE TOMASSIEGO) wg FEULGENA i ROSSENBECKA (za PEARSEM 1957), różnicując w ostatnim przypadku czas trwania kwaśnej hydrolizy skrawków (optymalny dla użytego tu płynu utrwalającego CARNOYA oraz o połowę krótszy).

Białka histonowe w jądrach LGC barwiono zielenią trwałą FCF (po 24 godzinnym utrwalaniu materiału w 10% obojętnej formalinie) wg ALFERTA i GESCHWINDA w modyfikacji DEITSCHA (za MYŚLIWSKIM 1982) oraz błękitem alcjanowym (płyn utrwalający CARNOYA, 12 godz.) wg LABELLE i BRIERE.

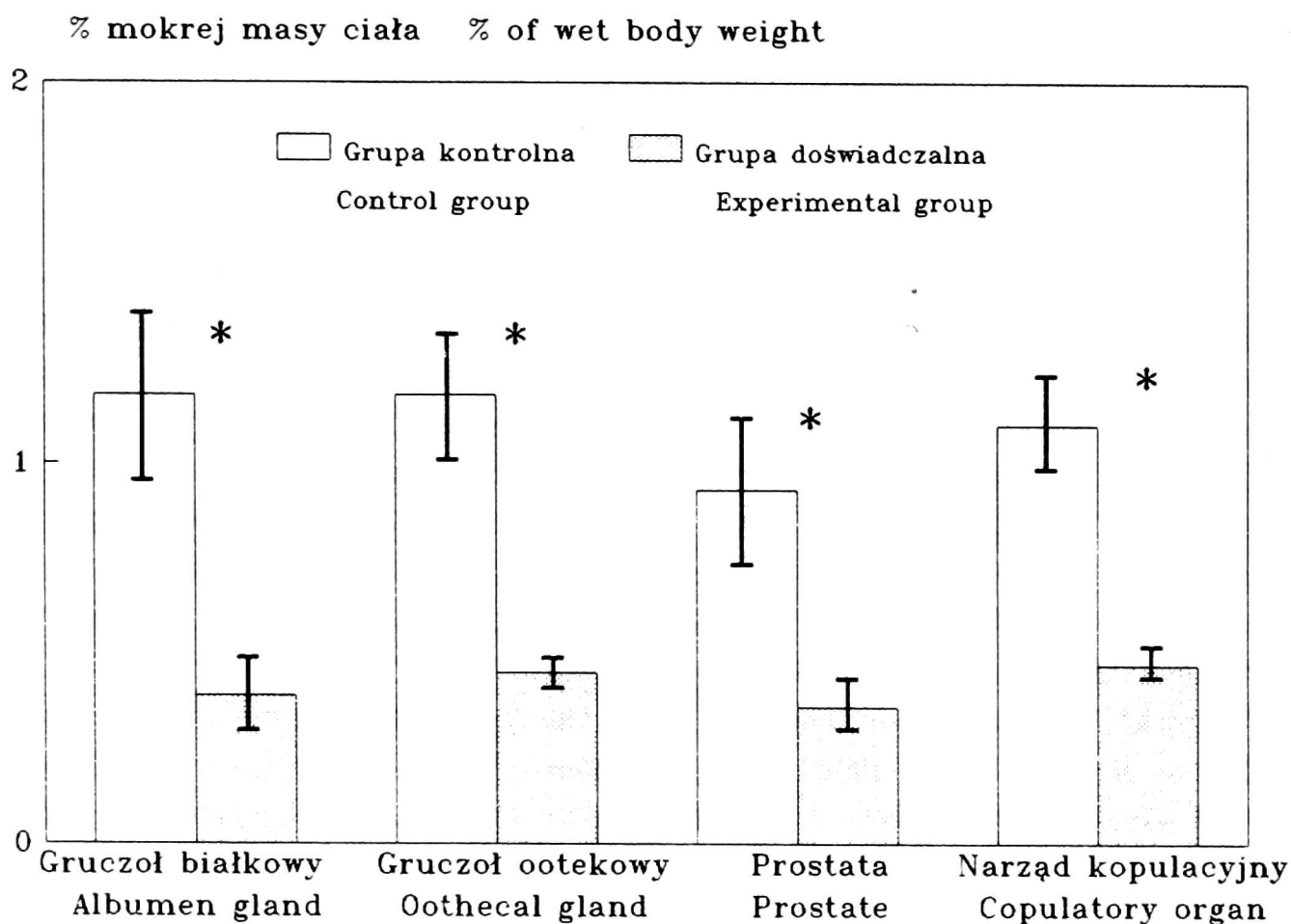
Każdą z tych reakcji wykonywano na przekrojach zwojów mózgowych 5 osobników danej grupy (w przypadku reakcji FEULGENA na przekrojach 5 osobników danej grupy dla każdego z czasów kwaśnej hydrolizy preparatów). Do reakcji służących wykryciu kwasów nukleinowych i białek histonowych wykonano odpowiednie reakcje kontrolne.

Preparaty barwione metodami FEULGENA, ALFERTA i GESCHWINDA oraz LABELLE i BRIERE, jako nisko kontrastowe, poddano analizie denzytometrycznej. Denzytometryczne pomiary ekstynkcji badanych komórek wykonywano za pomocą komputerowego analizatora obrazu Quantimet-720 (Cambridge Industr.). Po standardowej kalibracji denzytometru zakreślano piórem świetlnym obszar zajmowany przez jądro, a następnie eliminowano tło za pomocą dyskryminatora. Poziom dyskryminacji tła był dla wszystkich prób podobny.

### Wyniki

70. dnia po zarażeniu względne masy mokre (% mokrej masy narządu względem masy ciała) gruczołów: białkowego (albuminowego), skorupkowego (ootekowego), sterczowego (prostaty) oraz męskiego narządu kopulacyjnego ślimaków grupy doświadczalnej były istotnie niższe w stosunku do analogicznych parametrów ślimaków wolnych od zarażenia (ryc. 1).

Obrazy mikroskopowe preparatów badanych komórek neurosekrecyjnych, barwionych za pomocą metod CAMERONA i STEELE'a oraz BOCKA były podobne (tab. 1). Czytelniejsze preparaty uzyskano za pomocą pierwszej z tych metod. Perykariony LGC ślimaków grupy kontrolnej zawierały ziarnisty neurosekret równomiernie rozłożony w całej neuroplazmie, z tendencją do silniejszego skupiania się w strefie okołojądrowej. Odczyn reakcji barwnej oceniono jako umiarkowanie silny, w części przypadków jako słaby. Nie odnotowano różnic w zakresie morfologii neurosekretu w perykarionach LGC grupy środkowo- i boczno-grzbietowej (ryc. 2, 3, 4). W porównaniu z grupą kontrolną zabarwienie LGC ślimaków poddanych zarażeniu było wyraźnie silniejsze (ryc. 5, 6). W większości przypadków ziarna neurosekretu całkowicie wypełniały perykariony tych komórek.

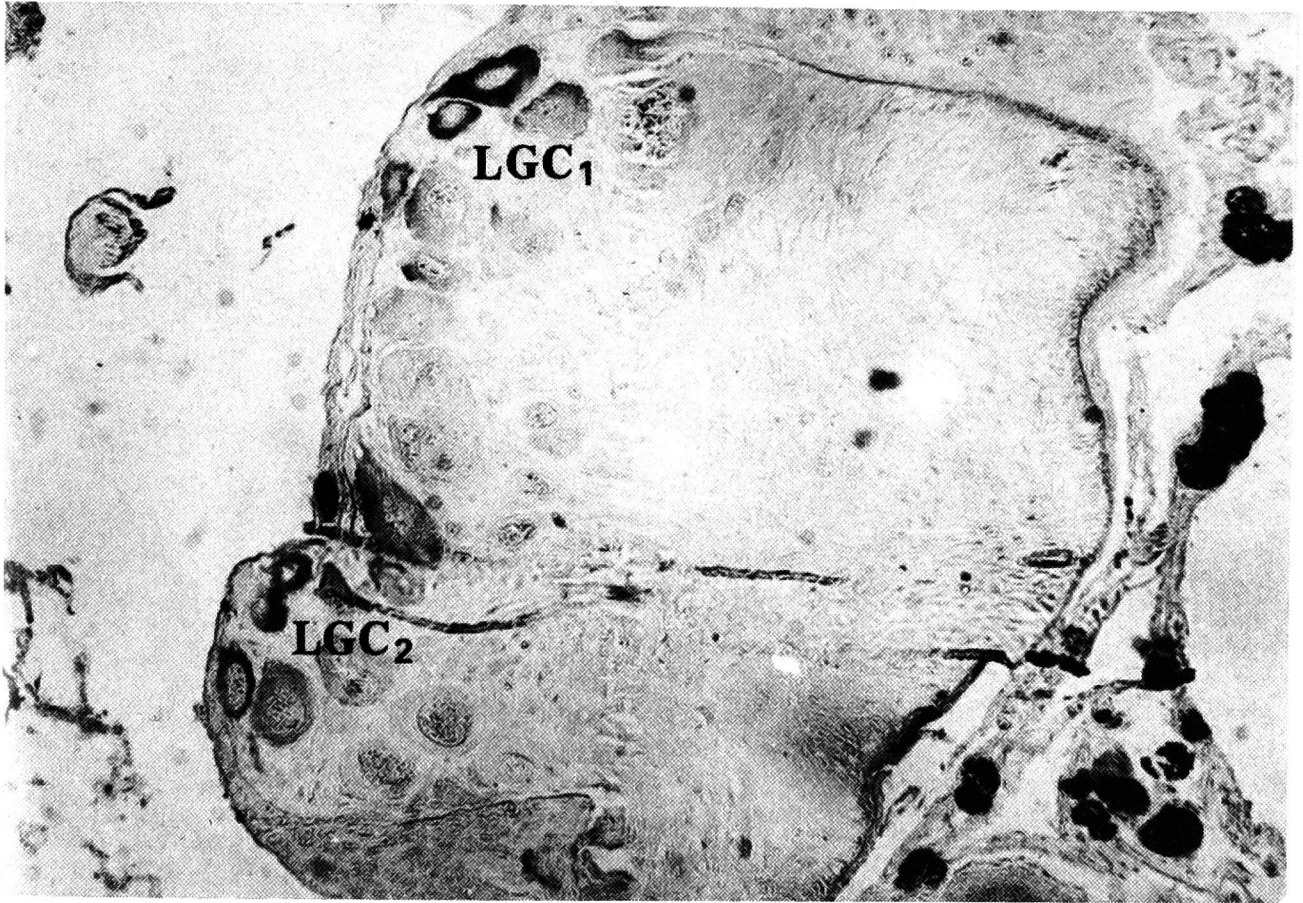


Ryc. 1. Względna masa mokra (% mokrej masy ciała) gruczołów: białkowego, ootekowego i sterczowego oraz męskiego narządu kopulacyjnego ślimaków grupy kontrolnej i zarażonych partenitami *Opisthioglyphe ranae* (gwiazdkami oznaczono różnice statystycznie znamienne,  $p < 0,05$ )  
 Fig. 1. Relative wet weight (% of wet body weight) of albumen, oothecal and prostate glands and male copulatory organ of snails from control group and infected with parthenites of *Opisthioglyphe ranae* (asterisks mark statistically significant differences,  $p < 0.05$ )

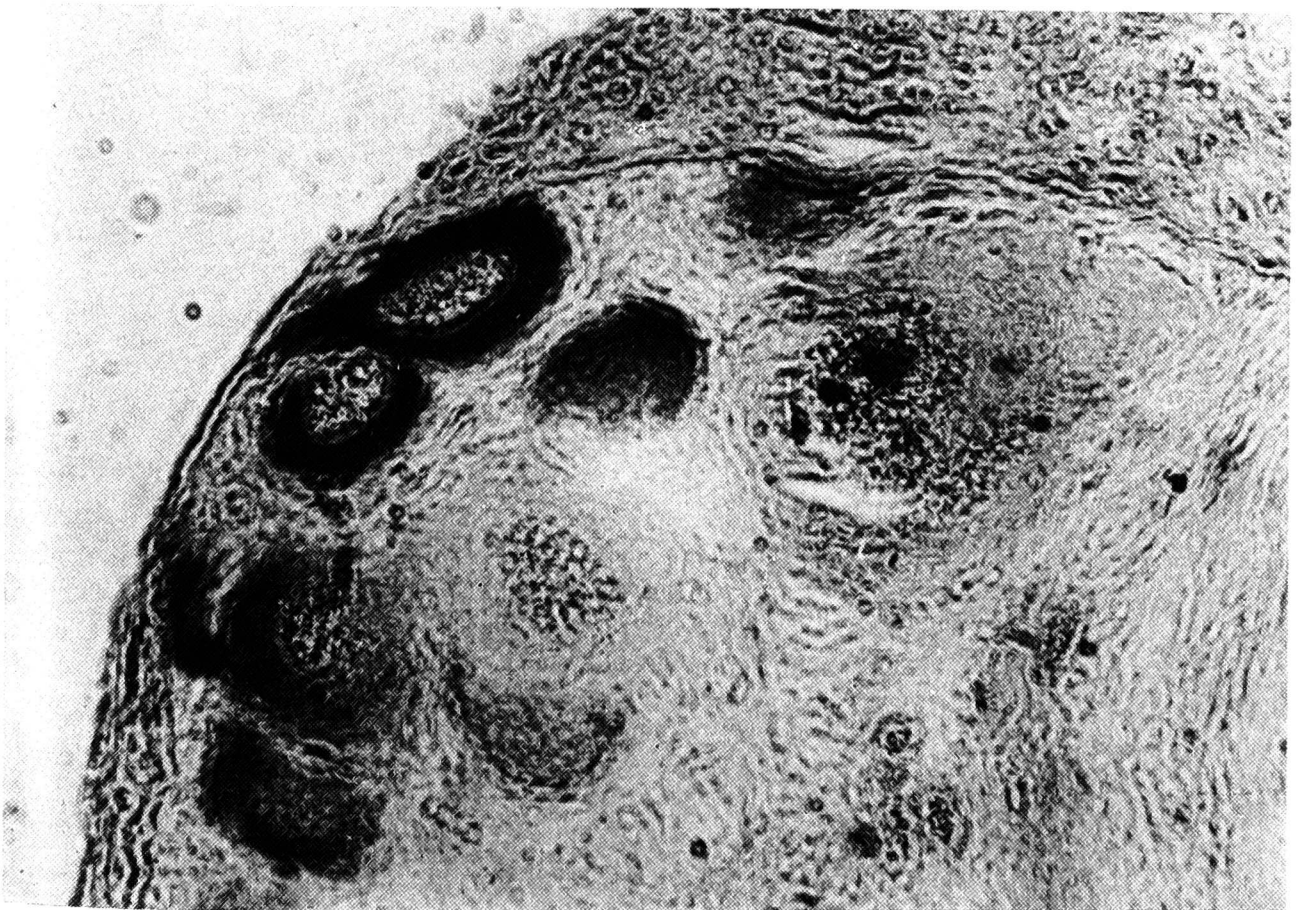
W preparatach zwojów mózgowych barwionych metodą BRACHETA, pochodzących od zwierząt wolnych od zarażenia, silniejsze skupienia substancji pyroninofilnej (RNA) widoczne były w perykarionach LGC w postaci granul, regularnie rozproszonych w całej neuroplazmie (ryc. 7). W cytoplazmie tych komórek u ślimaków grupy doświadczalnej stwierdzono przyrost materiału pyroninofilnego, z silnie zaznaczoną kumulacją w strefie okołojądrowej (ryc. 8, tab. 2).

DNA barwiony metodą FUELGENA rozmieszczony był u ślimaków wolnych od zarażenia w postaci drobnych ziaren na powierzchni całego jądra badanych komórek neurosekrecyjnych (ryc. 9). Nasilenie reakcji FEULGENA, mierzone poziomem ekstynkcji preparatów, wzrastało u tych zwierząt proporcjonalnie do czasu trwania kwaśnej hydrolizy skrawków. Analizując barwione tą metodą przekroje zwojów mózgowych ślimaków doświadczalnych nie stwierdzono wyraźnych różnic w zakresie rozmieszczenia produktu reakcji barwnej (ryc. 10). Wyższy poziom ekstynkcji tych preparatów odnotowano po krótszym czasie trwania ich hydrolizy (ryc. 13).

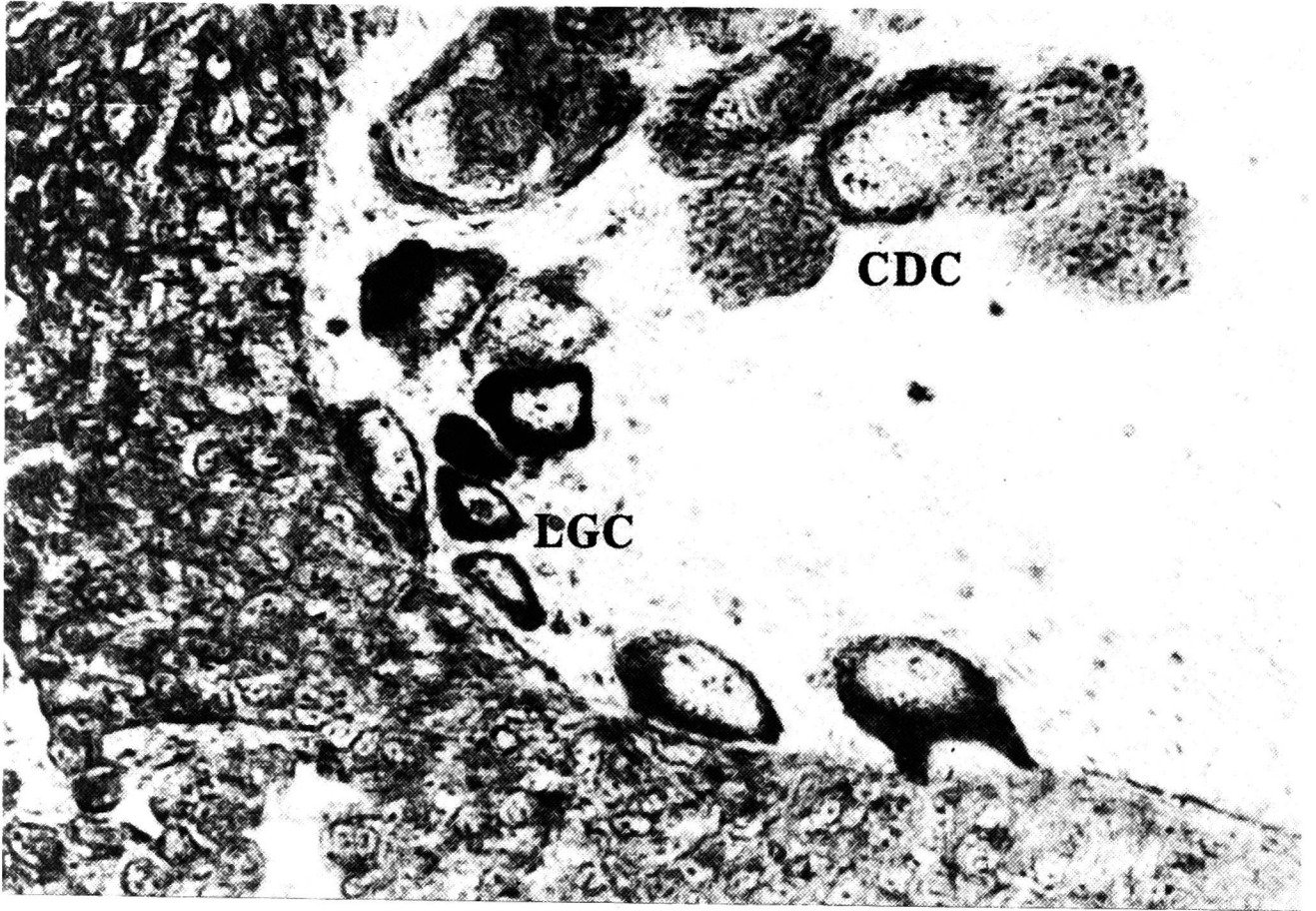
W jądrach analizowanych komórek ślimaków wolnych od zarażenia



2



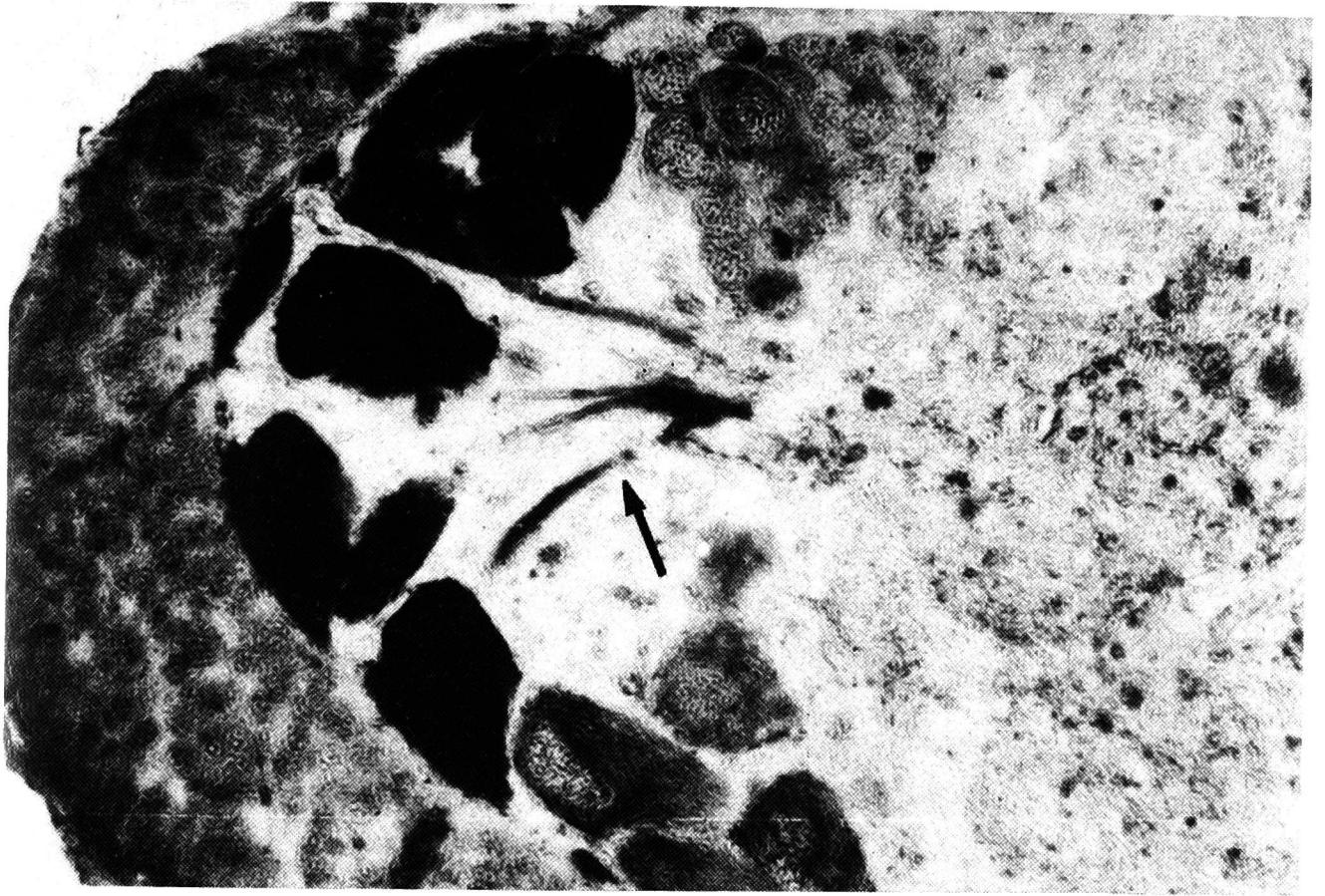
3



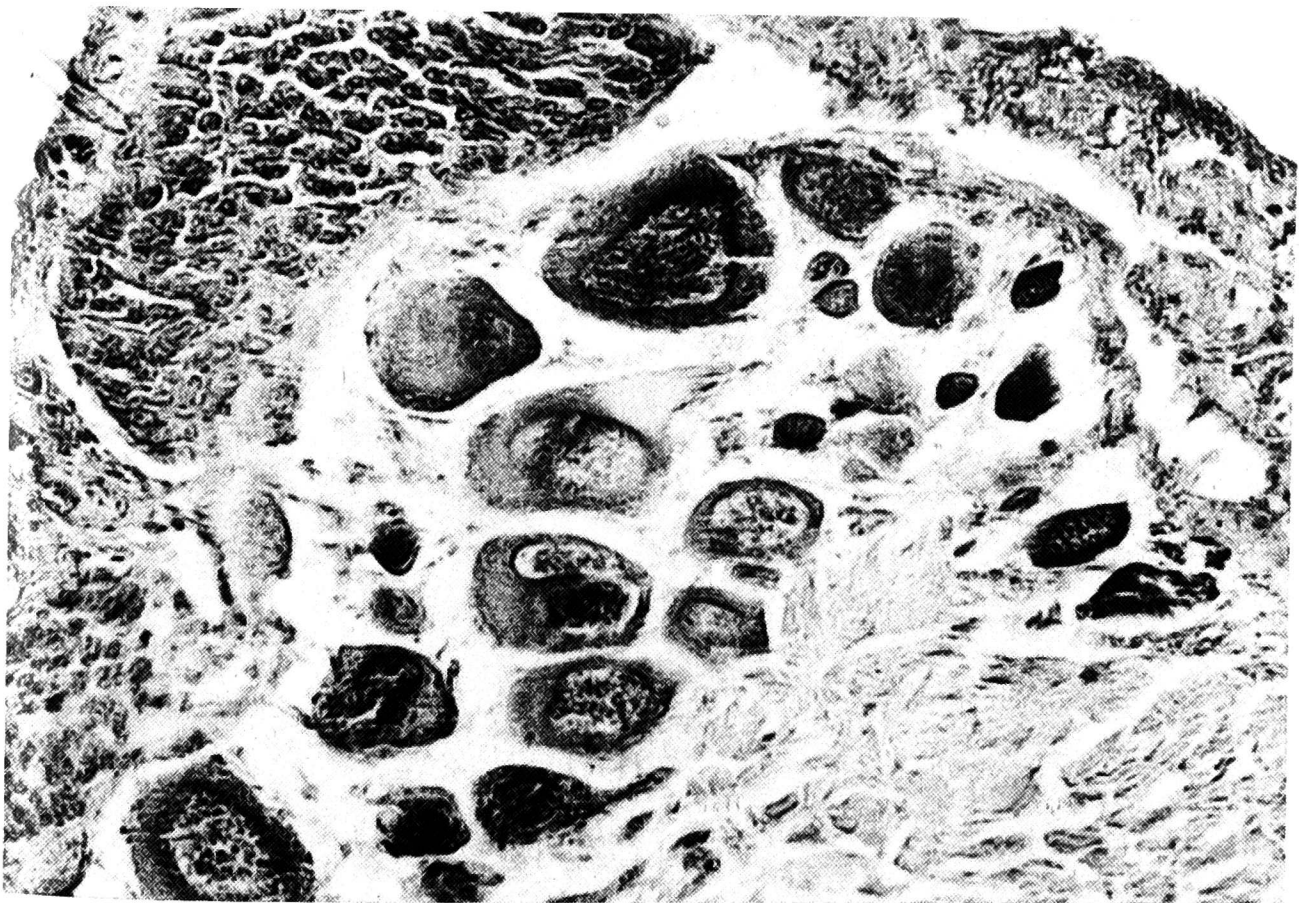
4



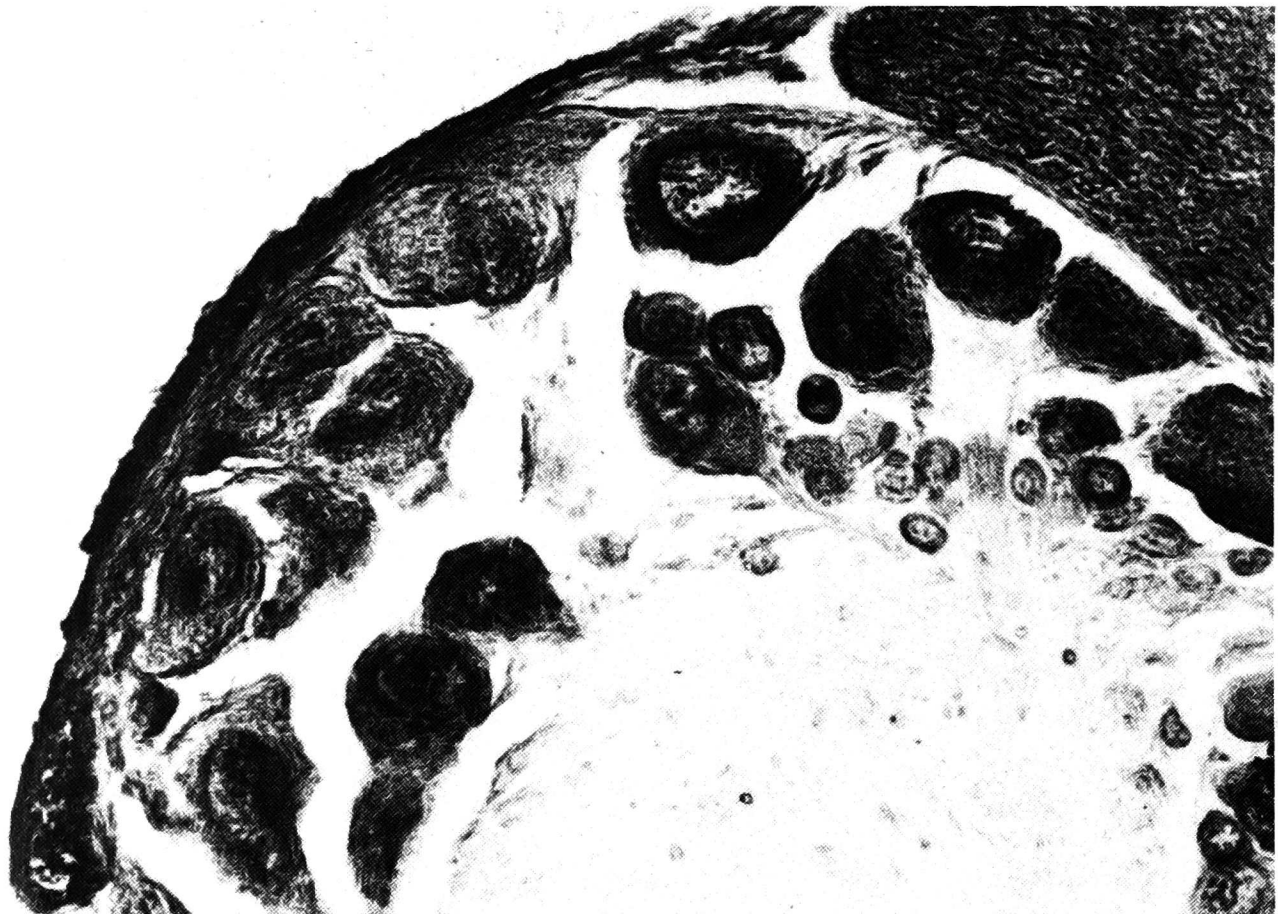
5



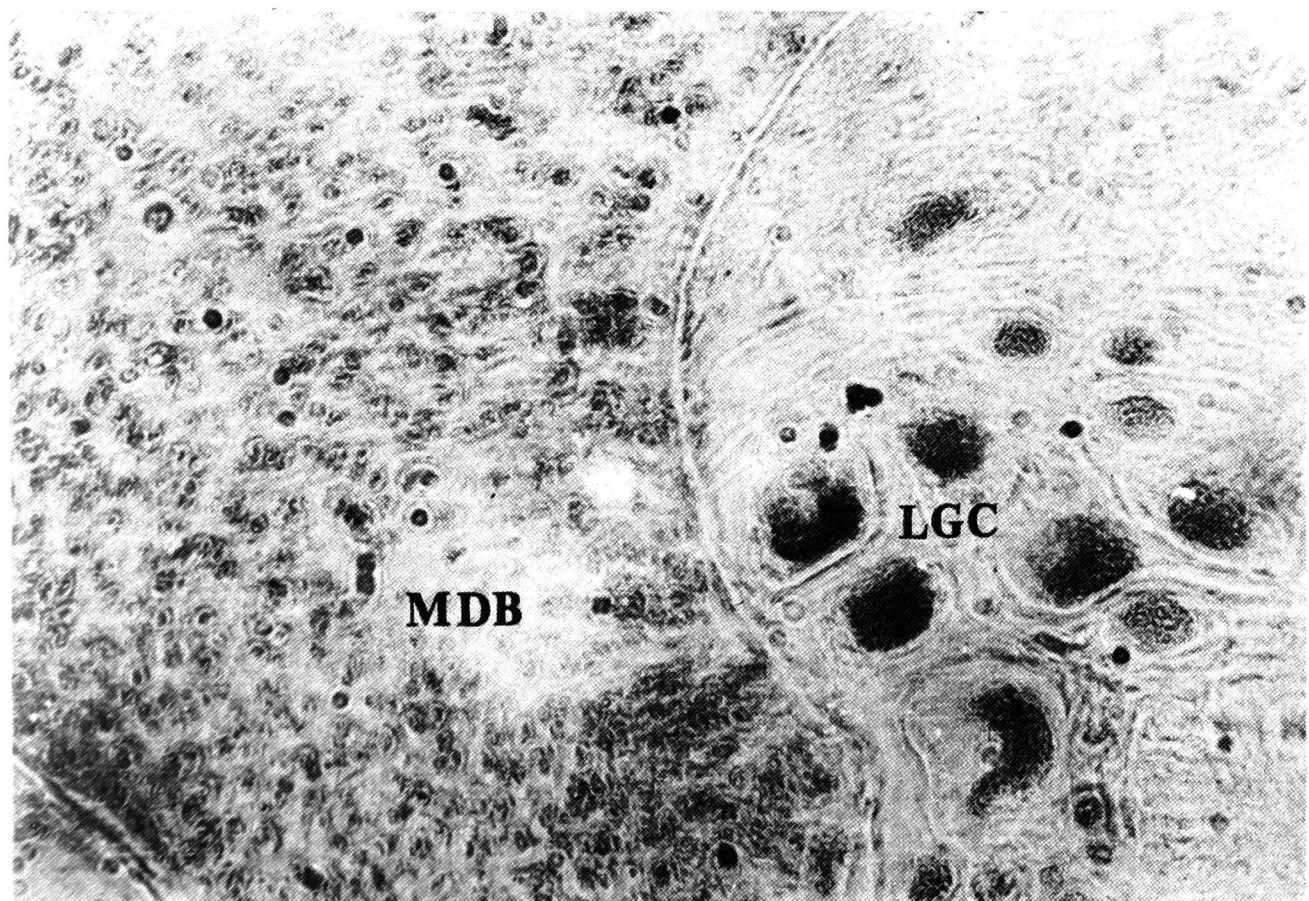
6



7

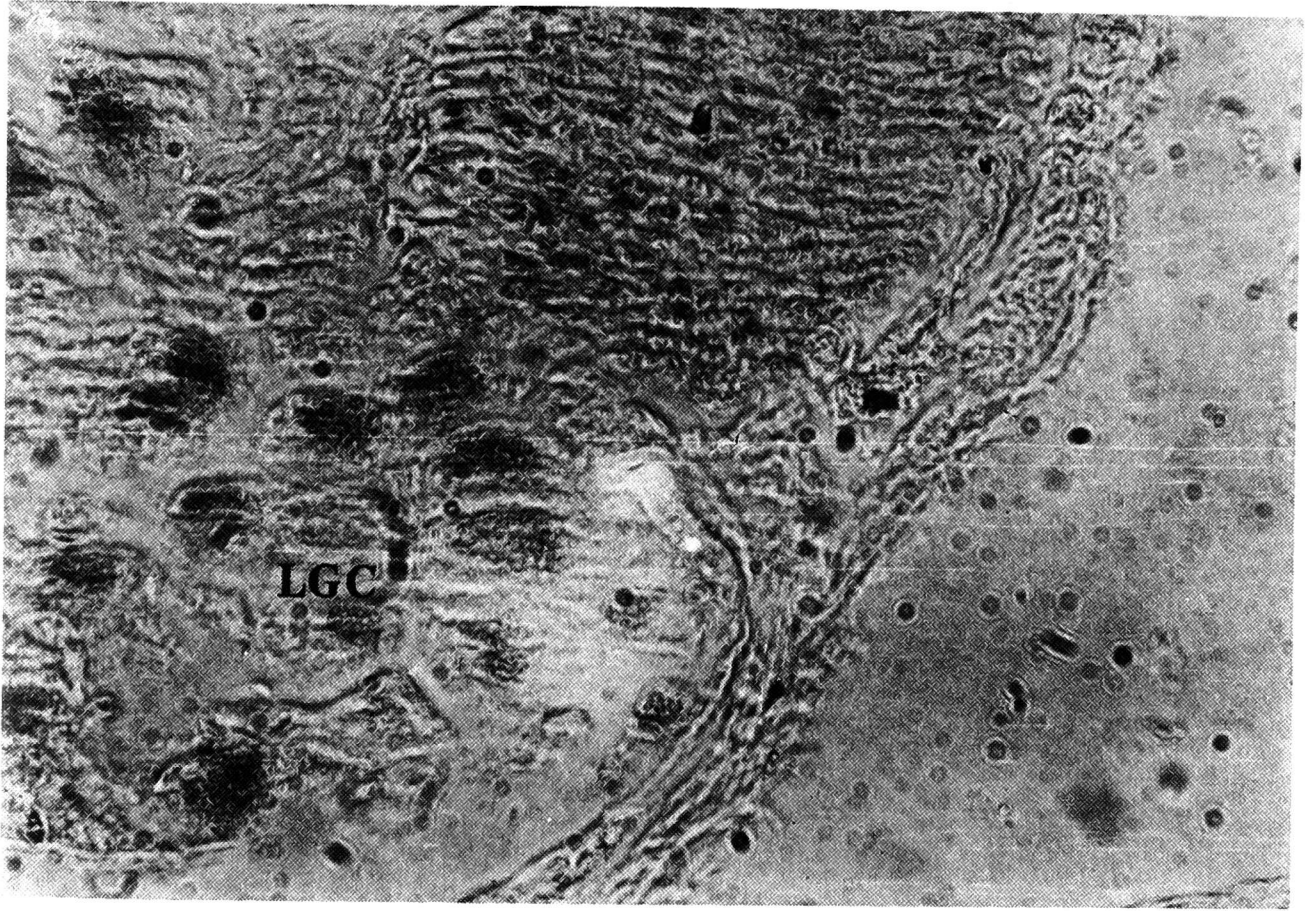


8

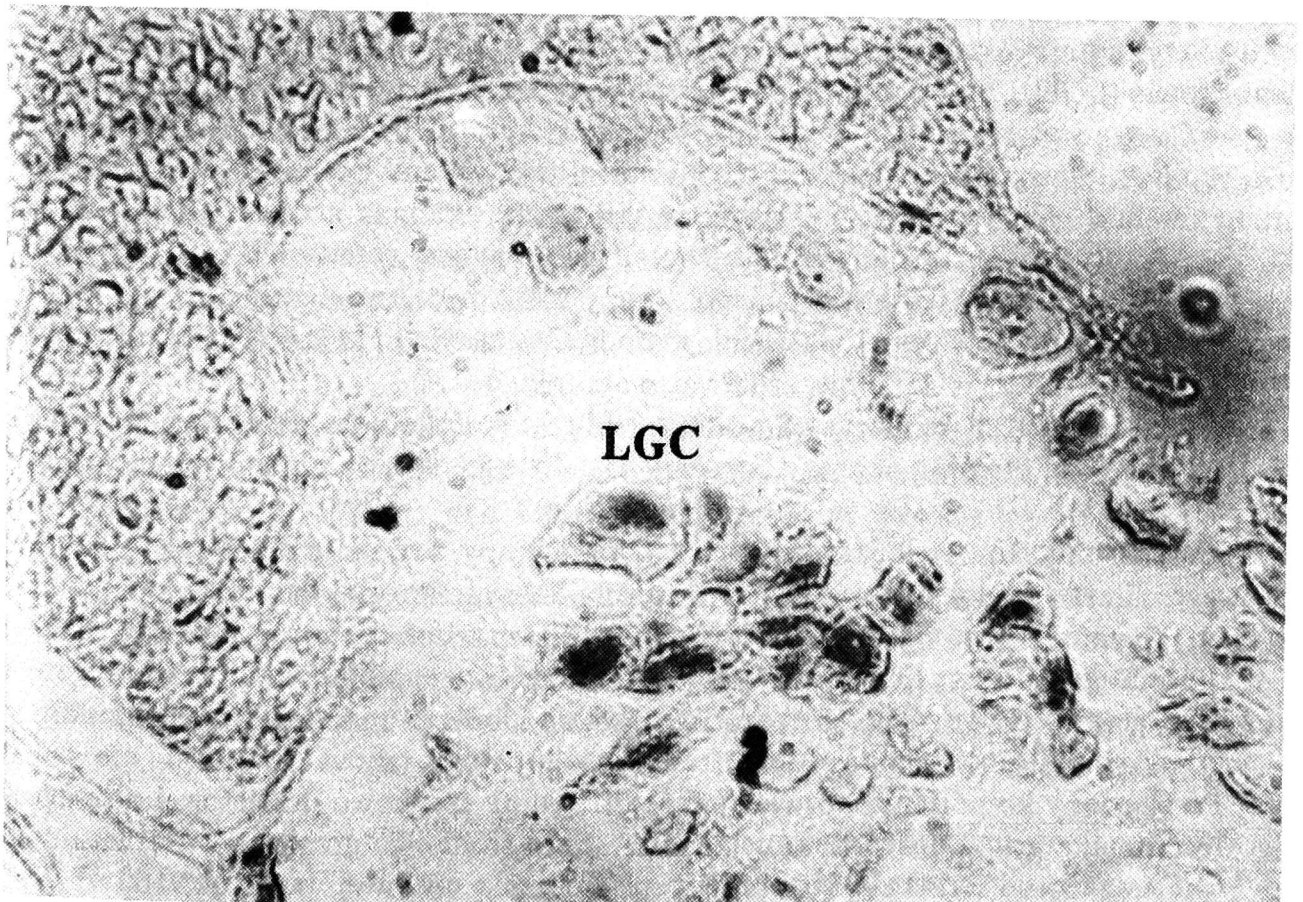


9

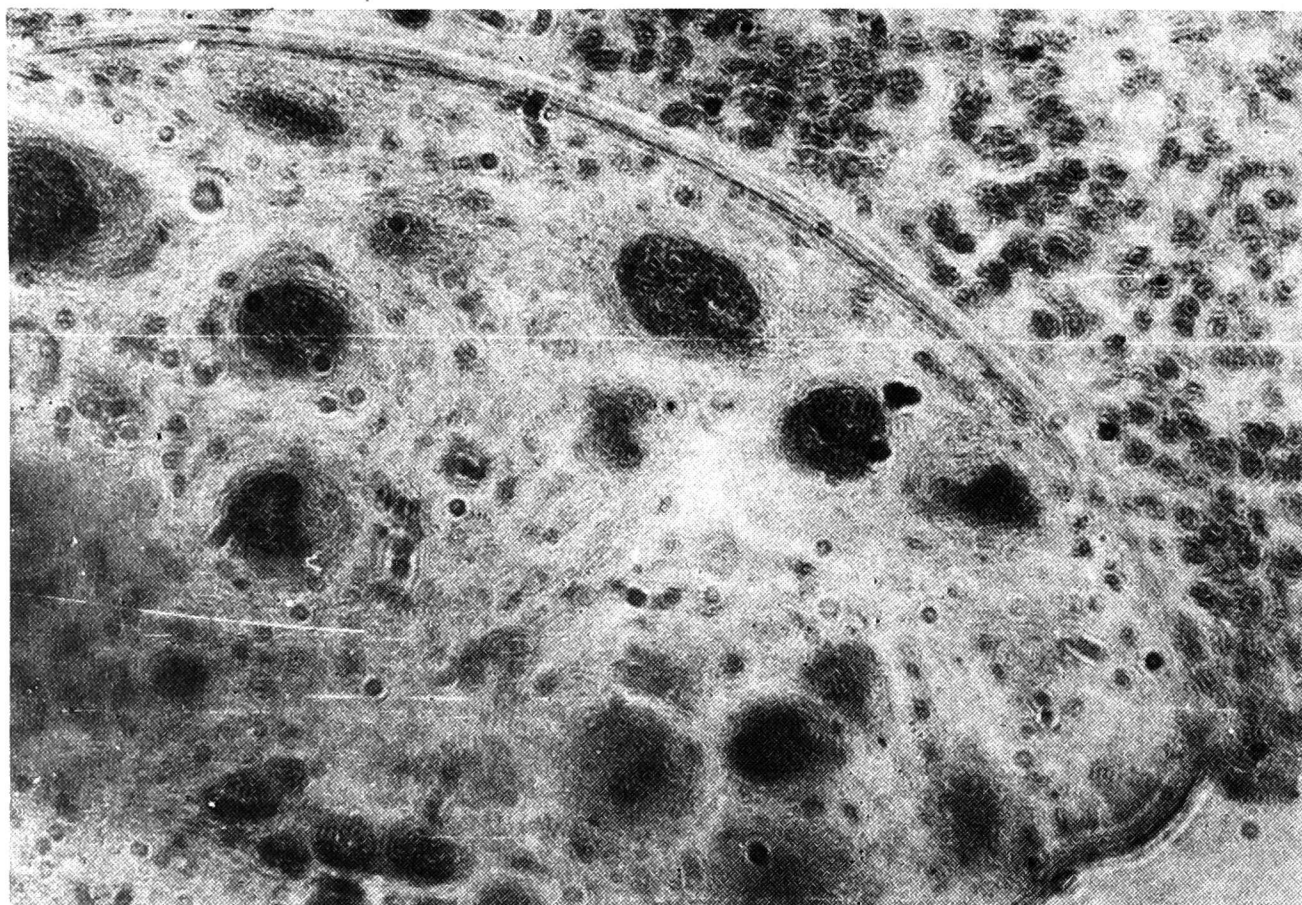




10



11



12

Ryc. 2. Perykariony komórek jasnozielonych grupy środkowo-grzbietowej (LGC1) i boczno-grzbietowej (LGC2) prawego zwoju mózgowego ślimaka grupy kontrolnej. Barwienie metodą CAMERONA i STEELE'a (przekrój w płaszczyźnie czołowej, pow. ok. 160 ×)

Fig. 2. The light green cell perikarya of medio-dorsal (LGC1) and latero-dorsal group (LGC2) of the right cerebral ganglion of a snail from control group. Staining according to CAMERON and STEELE (section at the frontal plane, magn. about 160 ×)

Ryc. 3. Perykariony komórek jasnozielonych grupy środkowo-grzbietowej prawego zwoju mózgowego ślimaka grupy kontrolnej. Barwienie metodą CAMERONA i STEELE'a (przekrój w płaszczyźnie czołowej, pow. ok. 320 ×)

Fig. 3. The light green cell perikarya of medio-dorsal group of the right cerebral ganglion of a snail from control group. Staining acc. to CAMERON and STEELE (section at the frontal plane, magn. about 320 ×)

Ryc. 4. Perykariony komórek jasnozielonych (LGC) grupy boczno-grzbietowej prawego zwoju mózgowego ślimaka grupy kontrolnej; CDC - grupa floksynofilnych komórek ogonowo-grzbietowych. Barwienie metodą BOCKA (przekrój w płaszczyźnie czołowej, pow. ok. 320 ×)

Fig. 4. The light green cells perikarya (LGC) of latero-dorsal group of the right cerebral ganglion of a snail from control group, CDC-group of the phloxinophilic caudo-dorsal cells. Staining acc. to BOCK (section at the frontal plane, magn. about 320 ×)

Ryc. 5. Perykariony komórek jasnozielonych (LGC) grupy środkowo-grzbietowej prawego zwoju mózgowego ślimaka grupy doświadczalnej; MDB - ciało środkowo-grzbietowe. Barwienie metodą CAMERONA i STEELE'a (przekrój w płaszczyźnie czołowej, pow. ok. 160 ×)

Fig. 5. The light green cells perikarya (LGC) of medio-dorsal group of the right cerebral ganglion of a snail from experimental group; MDB - the medio-dorsal body. Staining acc. to CAMERON and STEELE (section at the frontal plane, magn. about 160 ×)

Ryc. 6. Perykariony komórek jasnozielonych grupy boczno-grzbietowej prawego zwoju mózgowego ślimaka grupy doświadczalnej. Strzałką wskazano aksony LGC penetrujące do środkowego nerwu wargowego. Barwienie metodą BOCKA (przekrój w płaszczyźnie czołowej, pow. ok. 320 ×)

Fig. 6. The light green cells perikarya of latero-dorsal group of the right cerebral ganglion of a snail from experimental group. With an arrow LGC axons penetrating to the medial labial nerve are marked. Staining acc. to BOCK (section at the frontal plane, magn. about 320 ×)

Ryc. 7. Perykariony komórek jasnozielonych grupy boczno-grzbietowej prawego zwoju mózgowego ślimaka grupy kontrolnej. Barwienie metodą BRACHETA (przekrój w płaszczyźnie czołowej, pow. ok. 320 ×)

Fig. 7. The light green cell perikarya of latero-dorsal group of the right cerebral ganglion of a snail from control group. Staining acc. to BRACHET (section at the frontal plane, magn. about 320 ×)

Ryc. 8. Perykariony komórek jasnozielonych grupy środkowo-grzbietowej prawego zwoju mózgowego ślimaka grupy doświadczalnej. Barwienie metodą BRACHETA (przekrój w płaszczyźnie czołowej, pow. ok. 320 ×)

Fig. 8. The light green cell perikarya of medio-dorsal group of the right cerebral ganglion of a snail from experimental group. Staining acc. to BRACHET (section at the frontal plane, magn. about 320 ×)

Ryc. 9. Perykariony komórek jasnozielonych (LGC) grupy środkowo-grzbietowej prawego zwoju mózgowego ślimaka grupy kontrolnej, MDB - tkanki ciała środkowo-grzbietowego. Barwienie metodą FEULGENA (po 8' hydrolizie; przekrój w płaszczyźnie strzałkowej, pow. ok. 320 ×)

Fig. 9. The light green cells perikarya (LGC) of medio-dorsal group of the right cerebral ganglion of a snail from control group; MDB-tissues of the medio-dorsal body. Staining acc. to FEULGEN (after 8' of hydrolysis; section at the sagittal plane, magn. about 320 ×)

Ryc. 10. Perykariony komórek jasnozielonych (LGC) grupy środkowo-grzbietowej prawego zwoju mózgowego ślimaka grupy doświadczalnej. Barwienie metodą FEULGENA (po 8' hydrolizie; przekrój w płaszczyźnie strzałkowej, pow. ok. 320 ×)

Fig. 10. The light green cells perikarya (LGC) of medio-dorsal group of the right cerebral ganglion of a snail from experimental group. Staining acc. to FEULGEN (after 8' of hydrolysis; section at the sagittal plane, magn. about 320 ×)

Ryc. 11. Perykariony komórek jasnozielonych (LGC) grupy środkowo-grzbietowej prawego zwoju mózgowego ślimaka grupy kontrolnej. Struktura zwoju naruszona w wyniku stosowanej w metodzie drastycznej hydrolizy DNA. Barwienie metodą ALFERTA i GESCHWINDA (przekrój w płaszczyźnie strzałkowej, pow. ok. 320 ×)

Fig. 11. The light green cells perikarya (LGC) of medio-dorsal group of the right cerebral ganglion of a snail from control group. Structure of the ganglion damaged as a result of the severe hydrolysis of DNA. Staining acc. to ALFERT and GESCHWIND (section at the sagittal plane, magn. about 320 ×)

Ryc. 12. Perykariony komórek jasnozielonych grupy środkowo-grzbietowej prawego zwoju mózgowego ślimaka grupy doświadczalnej. Barwienie metodą LABELLE i BRIERE (przekrój w płaszczyźnie strzałkowej, pow. ok. 320 ×)

Fig. 12. The light green cell perikarya of medio-dorsal group of a snail from experimental group. Staining acc. to LABELLE and BRIERE (section at the sagittal plane, magn. about 320 ×)

TABELA 1

Ocena poziomu i rozmieszczenia neurosekretu w perykarionach LGC ślimaków grupy kontrolnej i zarażonych partenitami *Opisthioglyphe ranae*

TABLE 1

Estimation of amount and distribution of neurosecretory material in the LGC perikarya in snails from control group and infected with parthenites of *Opisthioglyphe ranae*

Barwienie Staining	Strefy Zones	Grupa kontrolna Control group		Grupa doświadczalna Experimental group	
		LGC1	LGC2	LGC1	LGC2
wg CAMERONA i STEELE'a acc. to CAMERON and STEELE	Okółojądrowa Perinuclear	++	++	+++	+++
	Pod plazmolemą Under plasmalemma	+	+	+++	+++
	Pozostała część perykarionu Remaining part of a perikaryon	+	+	+++	+++
	Stożek aksonalny Axonal cone	+	+	+++	+++
wg BOCKA acc. to BOCK	Okółojądrowa Perinuclear	++	++	+++	+++
	Pod plazmolemą Under plasmalemma	+	+	+++	+++
	Pozostała część perykarionu Remaining part of a perikaryon	+	+	+++	+++
	Stożek aksonalny Axonal cone	+	+	+++	+++

LGC1 – komórki jasnozielone grupy środkowo-grzbietowej

LGC2 – komórki jasnozielone grupy boczno-grzbietowej

Skala odczynu zabarwienia: + umiarkowanie silny

++ silny

+++ bardzo silny

LGC1 – light green cells of the medio-dorsal group

LGC2 – light green cells of the latero-dorsal group

Gradation of staining intensity: + moderately strong

++ strong

+++ very strong

obserwowano jednolite (koloidalne) rozłożenie produktu reakcji barwnej po zastosowaniu metody ALFERTA i GESCHWINDA (ryc. 11). Białka zasadowe barwione błękitem alcjanowym, po wcześniejszym związaniu z heparyną, rozmieszczone były na całej powierzchni przekrojów jąder LGC tych zwierząt w postaci drobnych ziaren (ryc. 12). Obrazy mikroskopowe barwionych obydwoma metodami jąder LGC ślimaków poddanych zarażeniu były podob-

TABELA 2

Ocena poziomu i rozmieszczenia RNA w cytoplazmie perykarionów LGC ślimaków grupy kontrolnej i zarażonych partenitami *Opisthioglyphe ranae*

TABLE 2

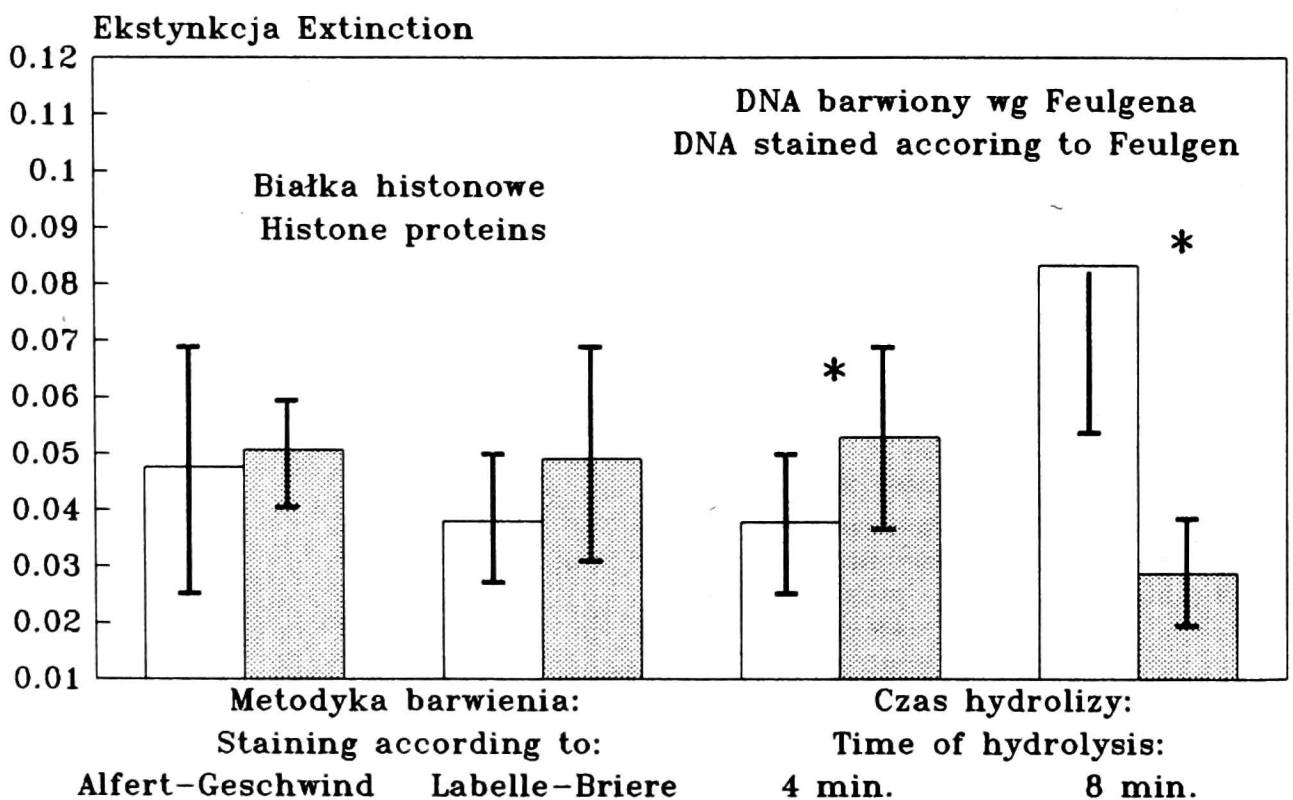
Estimation of amount and distribution of RNA in cytoplasm of the LGC perikarya in snails from control group and infected with parthenites of *Opisthioglyphe ranae*

Srefy Zones	Grupa kontrolna Control group		Grupa doświadczalna Experimental group	
	LGC1	LGC2	LGC1	LGC2
Okółojądrowa Perinuclear	+	+	+++	+++
Pod plazmolemą Under plasmalemma	+	+	++	++
Pozostała część perykarionu Remaining part of a perikaryon	+	+	++	++
Stożek aksonalny Axonal cone	+	+	++	++

Objaśnienia jak w tabeli 1.

Explanations like in the table 1.

□ Grupa kontrolna  
Control group      ▨ Grupa doświadczalna  
Experimental group



Ryc. 13. Średnie arytmetyczne ekstynkcji jąder LGC (barwionych metodami: FEULGENA, ALFERTA-GESCHWINDA oraz LABELLE i BRIERE) ślimaków grupy kontrolnej i zarażonych partenitami *Opisthioglyphe ranae* (gwiazdkami oznaczono różnice statystycznie znamienne,  $p < 0,05$ )

Fig. 13. Arithmetical means of extinction of the LGC nuclei (stained acc. to FEULGEN, ALFERT-GESCHWIND, LABELLE and BRIERE) of snails from control group and infected with parthenites of *Opisthioglyphe ranae* (asterisks mark statistically significant differences,  $p < 0,05$ )

ne do opisanych dla grupy kontrolnej. Denzytometrycznie nie wykazano istotnych różnic w zakresie ekstynkcji preparatów jąder badanych komórek barwionych za pomocą obu metod u ślimaków z grupy kontrolnej i doświadczalnej (ryc. 13.)

### Dyskusja

Przyspieszenie wzrostu somatycznego *Lymnaea stagnalis* zarażonych parthenitami przywry *Opisthioglyphe ranae* można wyjaśnić hipotezą naruszenia budżetu energetycznego żywiciela. Świadczy o tym obniżenie względnej masy mokrej badanych gruczołów gonoduktu oraz męskiego narządu kopulacyjnego u osobników poddanych doświadczalnemu zarażeniu. Spontaniczne składanie jaj odnotowano jedynie u części osobników (20%) grupy kontrolnej. Pierwsze kokony obserwowano 58 dnia po zarażeniu. Biorąc jednakże pod uwagę fakt, że w związku z warunkami hodowli ślimaki były pozbawione możliwości krzyżowej kopulacji, jest prawdopodobne, że osiągnęły dojrzałość płciową znacznie wcześniej (VAN DUIVENBODEN 1983).

Nasileniu procesów wzrostowych ślimaków poddanych zarażeniu towarzyszyło zwiększenie ilości neurosekretu w perykarionach LGC. Pozwala to sądzić, że patogeniza analizowanego zjawiska ma charakter złożony i obejmuje także wpływ pasożyta na aktywność komórek neurosekrecyjnych żywiciela, produkujących hormon wzrostu.

Zwiększenie ilości neurowydzieliny w perykarionach badanych komórek może być spowodowane nasileniem syntezy neurosekretu, jak również upośledzeniem jego transportu wzdłuż włókna aksonalnego (upośledzenie czynności układu tubulinowego i/lub aktyno-miozynowego?). Oznaki zaburzenia aksonoplazmatycznego transportu neurosekretu odnotowano w układzie podwzgórzowo-przysadkowym myszy po dootrzewnowym podaniu adrenaliny (CZECROWICZ i wsp. 1979) oraz w układzie neurosekrecyjnym pijawek końskich (*Haemopsis sanguisuga*) po wprowadzeniu do jamy ciała wybranych antybiotyków (CZECROWICZ i wsp. 1980). W przypadku postępującej retencji neurosekretu w perykarionach LGC ślimaków poddanych zarażeniu należałoby się jednak spodziewać uruchomienia reakcji służących jego degradacji, co by się wyrażało zmianami w obrazie mikroskopowym tych komórek (pojawienie się neurosekretu koloidalnego w miejsce ziarnistego, obecność wakuol autofagocytarnych), czego nie odnotowano. Nawiązując do przedstawionego przez CYMBOROWSKIEGO (1970) schematu morfologii komórki neurosekrecyjnej o okresowej aktywności dobowej, obserwowane u zarażonych ślimaków niemal całkowite wypełnienie perykarionów LGC względnie dużymi granulami neurosekretu wydaje się raczej wskazywać na końcową fazę syntezy, poprzedzającą fazę wydzielania. Podobny obraz morfologii LGC grupy środkowo- i boczno-grzbietowej można wyjaśnić ich wzajemnym sprzężeniem elektro-

tonicznym (BENJAMIN i ROSE 1984), umożliwiającym synchronizację procesu neurosekrecji.

Argumentów na rzecz nasilonej syntezy w badanych komórkach neurosekrecyjnych u ślimaków poddanych zarażeniu dostarczyły wyniki histochemicznej oceny stanu czynnościowego LGC. Stwierdzony u zwierząt doświadczalnych wzrost poziomu RNA w cytoplazmie LGC, z silną tendencją do skupiania się w strefie okołojądrowej, może świadczyć o syntezie tego związku, stopniowo transportowanego z jądra, gdzie jest transkrybowany, do cytoplazmy, gdzie bierze udział w procesach translacji. Strefa okołojądrowa w komórce nerwowej jest miejscem przejściowego gromadzenia się nowo syntetyzowanego RNA (ADAMS 1965). CZECHOWICZ (1961) zwrócił uwagę na strefę okołojądrową komórek układu neurohormonalnego pijawek z rodzaju *Herpobdella*, jako miejsca syntezy neurosekretu. Potencjalną przyczyną wzrostu poziomu RNA w LGC zwojów mózgowych ślimaków poddanych zarażeniu może być przedłużony czas biologicznego trwania tego związku. Wiadomo jednak, że partenity przywr digenetycznych nasilają u ślimaków żywicielskich katabolizm związków azotowych, w tym także związków o budowie nukleotydowej (SCHMALE i BECKER 1977, BECKER i SCHMALE 1978, BECKER 1983). Powodowane przez partenity zaburzenia degradacji kwasów nukleinowych u zarażonych ślimaków odnotowano wyłącznie na poziomie hydrolizy niektórych nukleotydów, co może być związane z zapotrzebowaniem pasożyta na te związki (RAMALAKSHMI REDDY i VENTAKESVARA RAO 1990).

Metoda FEULGENA, która jest powszechnie stosowana dla swoistego wykrywania obecności DNA, spełnia kryterium reakcji ilościowej prawdopodobnie tylko wobec komórek w fazie czynnego rozplemu. W komórkach, w których odbywają się intensywne procesy transkrypcji, natężenie tej reakcji barwnej może odzwierciedlać nie tyle poziom DNA w jądrze komórkowym, co aktualną konfigurację kompleksu dezoksyrybonukleoproteidu. Wynika to z różnej wrażliwości chromatyny jądrowej na stosowaną w reakcji FEULGENA kwaśną hydrolizę. W barwionych tą metodą jądrach LGC ślimaków poddanych zarażeniu odnotowano wysokie wartości ekstynkcji już po 4 minutach trwania kwaśnej hydrolizy preparatów, podczas gdy w jądrach tych komórek u osobników grupy kontrolnej nasilenie reakcji było proporcjonalne do czasu łagodnego, hydrolitycznego rozkładu DNA. Różne zachowanie się chromatyny jądrowej w krótszym czasie trwania hydrolizy preparatów tłumaczy się różną ilością jej frakcji luźnej, czynnej w procesach transkrypcji RNA (KRYGIER-STOJAŁOWSKA i wsp. 1971).

Dyskusyjne są wyniki barwienia histonów. Obie stosowane reakcje oparte są na wiązaniu barwnika z zasadowymi grupami tych białek w środowisku o wysokim pH, dlatego ich nasilenie zależy od dostępności tych grup, a przez to powinno być modyfikowane przez stan czynnościowy chromatyny. Brak istotnych różnic w zakresie ekstynkcji barwionych tymi metodami jąder badanych komórek neurosekrecyjnych u ślimaków grupy kontrolnej i do-

świadczalnej, wobec odnotowanego wzrostu poziomu frakcji chromatyny luźnej w jądrach LGC u tych ostatnich, może być spowodowany nie kontrolowaną ekstrakcją białek kwaśnych w zasadowym środowisku reakcji. Białka te, dzięki obecności ujemnie naładowanych grup, łączą się elektrowalencyjnie z grupami argininowymi i lizynowymi histonów, wypierając z tych połączeń reszty fosforanowe DNA, co umożliwia transkrypcję.

## LITERATURA

- ADAMS C. M. 1965. Histochemistry. Elsevier Publishing Co. Amsterdam, London, New York.
- BECKER W. 1983. Purine metabolism in *Biomphalaria glabrata* under starvation and infection with *Schistosoma mansoni*. *Comp. Biochem. Physiol.* 76B: 215-219.
- SCHMALE H. 1978. The ammonia and urea excretion of *Biomphalaria glabrata* under different physiological conditions: starvation, infection, dry keeping. *Ibid.* 53B: 75-79.
- BENJAMIN P., ROSE R. M. 1984. Electrotonic coupling and after-discharges in the light green cells: A comparison with two other cerebral ganglia neurosecretory cell types in the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Ibid.* 77A: 67-74.
- BOCK P. 1966. Über die Darstellbarkeit neurosekretorischer Galloxyjanin supraoptico-hypophysäre System bei Hund. *Histochemie* 6: 362-384.
- CAMERON M. L., STEELE J. E. 1959. Simplified aldehyde fuchsin staining of neurosecretory cells. *Stain. Technol.* 34: 265-266.
- CIECIURA L. 1982. Cytochemia kwasów nukleinowych. In: A. KRYGIER-STOJAŁOWSKA i H. GODLEWSKI [red.]. *Topochemiczne metody badań komórek i tkanek*. PWN, Warszawa: 375-393.
- CYMBOROWSKI B. 1970. Investigations on the neurohormonal factors controlling circadian rhythm of locomotor activity in the house cricket *Acheta domestica* L. II. Daily histochemical changes in the neurosecretory cells of the *pars intercerebralis* and subesophageal ganglion. *Zool. Polon.* 20: 127-139.
- CZECHOWICZ K. 1961. Studies on the distribution of nucleic acids in the neurosecretory cells of the central nervous system in some leaches. *Ibid.* 11: 91-99.
- HAJNISZ E., SKOWRONEK M., WOLNA M. 1980. Badania morfologiczne nad wpływem niektórych antybiotyków na układ neurosekrecyjny u pijawek *Haemopsis sanguisuga* (L.). Część pierwsza. Badania w mikroskopie świetlnym. *Acta Biologica* 9: 173-184.
- SKOWERSKA M., WIELGUS-SERAFIŃSKA E., GANO B. 1979. Zachowanie się neurosekrecyjnych jąder podwzgórza myszy po jednorazowym podaniu adrenaliny. *Ibid.* 6: 17-22.
- GERAERTS W. P. M., JOOSSE J. 1984. Freshwater snails (Basommatophora). In: A. S. TOMPA, N. H. VERDONK and J. A. M. VAN DER BIGGELAAR [Eds]. *The Mollusca*, Vol. 7. Reproduction. Academic Press Inc., Orlando, San Diego, San Francisco, New York, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, San Paulo: 141-207.
- JOOSSE J., VAN ELK R. 1986. *Trichoboliharzia ocellata*: Physiological characterization of giant growth, glycogen depletion, and absence of female reproductive activity in the intermediate snail host, *Lymnaea stagnalis*. *Exp. Parasitol.* 62: 1-13.
- KRYGIER-STOJAŁOWSKA A., TESSMAN D., SCHÜTZ M., URASIŃSKI I. 1971. Próba zastosowania metody Feulgena do oceny czynności jądra komórkowego. *Ann. Acad. Med. Stet.* 4, Suppl.: 65-70.
- LABELLE J. L., BRIERE N. 1971. Staining of nuclear basic proteins without deoxyribonucleic acid hydrolysis using heparin and alcian blue. *Acta Histochem.* 41: 338-348.
- MYŚLIWSKI A. 1982. Histochemia histonów. In: A. KRYGIER-STOJAŁOWSKA i H. GODLEWSKI [red.]. *Topochemiczne metody badań komórek i tkanek*. PWN, Warszawa: 361-376.
- PEARSE A. G. E. 1957. Histochemia teoretyczna i stosowana. PZWL, Warszawa.



- POKORA Z. 1992. Przyczynek do badań nad neurosekrecją ślimaków płucodysznych. *Prz. Zool.* 36: 265-266.
- 1994. Badania nad dynamiką somatycznego wzrostu młodocianych ślimaków *Lymnaea stagnalis* (Pulmonata: Basommatophora) w warunkach doświadczalnego zarażenia partenitami przywry *Opisthioglyphe ranae* (Digenea: Plagiorchiida). *Wiad. Parazytol.* 40: 253-263.
- SZILMAN P. 1995. Kariometryczna analiza wybranych komórek układu neurohormonalnego ślimaka *Lymnaea stagnalis* (L.) w warunkach naturalnego zarażenia partenitami przywr digenetycznych. *Ibid.* 41: 53-62.
- RAMALAKSHMI REDDY B., VENTAKESVARA RAO P. 1990. Effect of trematode infection on IMP catabolism in the freshwater pulmonate snail *Lymnaea luteola*. *J. Invertebr. Pathol.* 56: 25-30.
- ROTHSCHILD M. 1936. Gigantism and variation in *Peringia ulvae* Pennant, 1777, caused by infection with larval trematodes. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 20: 537-546.
- SCHMALE H., BECKER W. 1977. Studies on the urea cycle of *Biomphalaria glabrata* during normal feeding activity, in starvation and infection with *Schistosoma mansoni*. *Comp. Biochem. Physiol.* 58B: 321-330.
- VAN DUIVENBODEN Y. A. 1983. Transfer of semen accelerates the onset of egg-laying in female copulants of the hermaphrodite freshwater snail *Lymnaea stagnalis*. *Int. J. Invertebr. Reprod.* 6: 249-257.
- WILSON R. A., DENISON J. 1980. The parasitic castration and gigantism of *Lymnaea truncatula* infected with larval stages of *Fasciola hepatica*. *Z. Parasitenkd.* 61: 109-119.

Otrzymano 14 VI 1994, zaakceptowano 20 VII 1995