

BADANIA ULTRASTRUKTURALNE TOREBKI I „NURSE-CELL” *TRICHINELLA SPIRALIS* W SIEDEM MIESIĘCY OD ZARAŻENIA MYSZY

JULIA DĄBROWSKA¹, MICHAŁ WALSKI^{1,2}, BARBARA GRYTNER-ZIĘCINA¹,
BARBARA MACHNICKA-ROWIŃSKA³, EWA DZIEMIAN³ I EWA JANKOWSKA-
STEIFER⁴

¹Zakład Biologii Ogólnej i Parazytologii Akademii Medycznej, ul. Chałubińskiego 5, 02-004 Warszawa, E-mail:jdabro@ib.amwaw.edu.pl; ²Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN im. M. Mossakowskiego, ul. Pawińskiego 5, 02-106 Warszawa; ³Instytut Parazytologii im. W. Stefańskiego PAN, ul. Twarda 51/55 00-818 Warszawa, ⁴Katedra Histologii Akademii Medycznej, 02-004 Warszawa, ul. Chałubińskiego 5

ABSTRACT. Ultrastructural analysis of capsule and nurse-cell morphology examined seven months after *Trichinella spiralis* mouse infection. Ultrastructural changes in muscles cells of mice infected with *T. spiralis* larvae in 220 day of infection were evaluated. The object of study was in the region of the „nurse-cell” being in direct contact with the larva wall. Electron microscopic observations revealed the continuity of the muscle cell membrane adjacent to larva surface.

Key words: nurse-cell, *Trichinella spiralis*, ultrastructure.

WSTĘP

Larwy L₁ *T. spiralis*, aby przeżyć w organizmie żywicielskim, muszą dokonać zmian w metabolizmie oraz ultrastrukturze włókien mięśniowych żywiciela, prowadzących do powstania specyficznego mikrośrodowiska, w którym będą mogły osiedlić się i zakończyć rozwój (Despommier 1998).

Zmiany strukturalne i czynnościowe zachodzące w zarażonym mięśniu określane są jako transformacja bazofilna (Gabryel i wsp. 1995, Błotna-Filipiak i wsp. 1998). Stransformowany fragment komórki mięśniowej tzw. „nurse-cell”, oddzielony torebką od pozostałej części tego włókna, zapewnia larwie dogodne warunki do egzystencji tak długo, jak długo działają sterowane przez larwę *T. spiralis* mechanizmy umożliwiające podporządkowanie sobie mikrostruktur tego fragmentu komórki mięśniowej, tak by spełniały wszelkie potrzeby pasożyta (Gabryel i wsp. 1995, Sacchi i wsp. 2001). Zastanawiającym jest, po jakim czasie od zarażenia, może nastąpić degeneracja kompleksu torebki i larwy *T. spiralis* u myszy i czy prowadzić do niej może zmniejszenie aktywności samej larwy czy nasilenie reakcji obronnej żywiciela.

Celem prezentowanej pracy było ocena na poziomie ultrastrukturalnym stanu i funkcjonowania kompleksu „nurse-cell” i larwy *T. spiralis* w czasie długo trwającej inwazji.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań ultrastrukturalnych stanowiły fragmenty przepony oraz mięśnia czworogłowego uda myszy szczepu BALB/c zarażanych *per os* 400 larwami L1 *Trichinella spiralis*. Badane mięśnie, pobrane w 220 dniu po zarażeniu, utrwalano w mieszaninie 2,5% glutaraldehydu i 2% paraformaldehydu, a potem dotrwalano w 1% wodnym roztworze OsO_4 z K_4FeCN_6 . Materiał tkankowy zatapiano w żywicy Spurr, a skrawki ultracienkie analizowano w mikroskopie elektronowym JEM 1200EX.

WYNIKI

Ultrastruktura torebki larwy *T. spiralis*

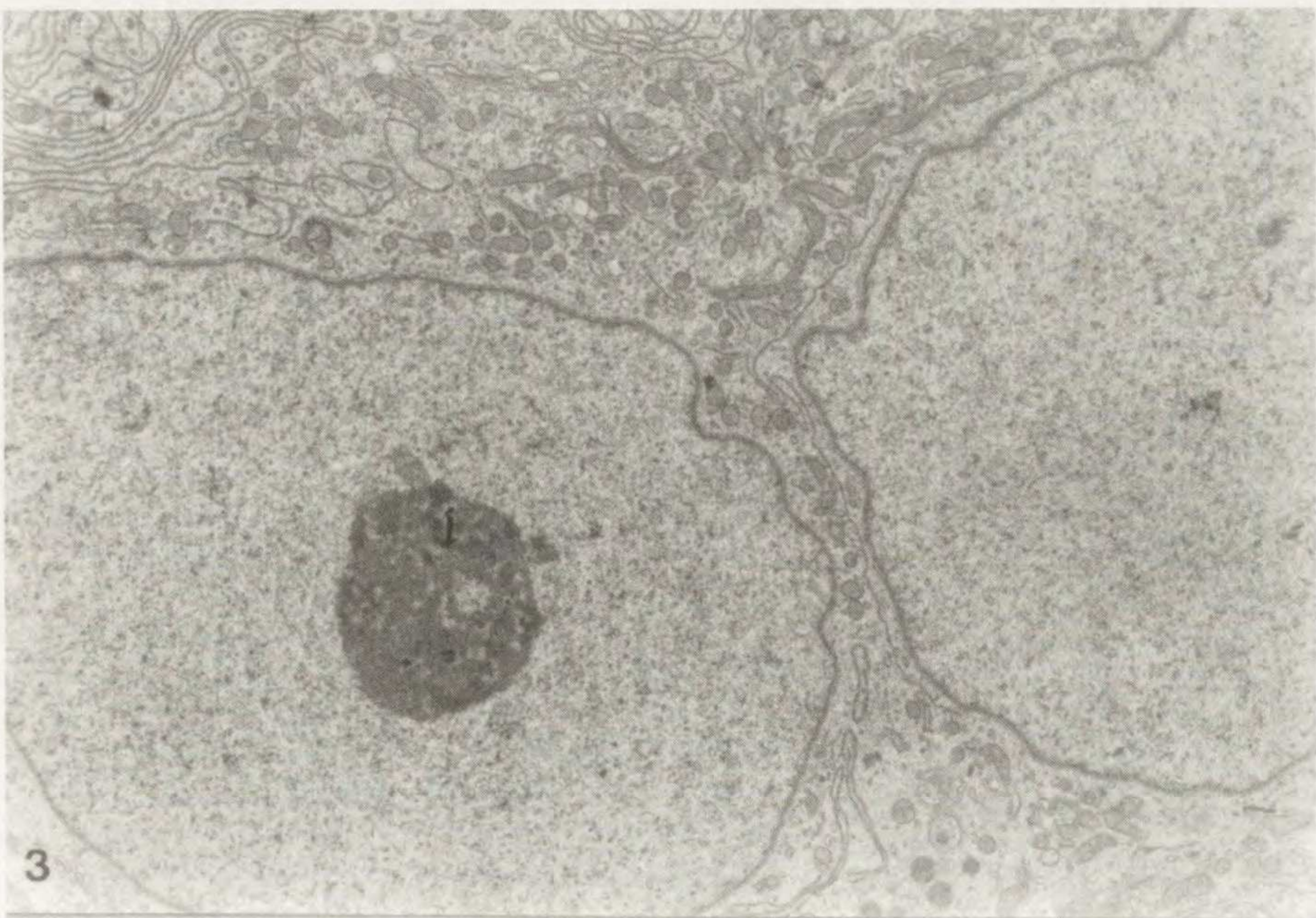
W zewnętrznej warstwie torebki wyróżniano naczynia kapilarne, elementy łącznotkankowe i elementy włókienkowe. Obserwowano szeregowe ułożenie naczyń włosowatych, z których wiele miało wysokie śródbłonki, ale jeszcze zamknięte światło. Przemawia to za powstawaniem nowych naczyń w ścianie torebki larwy *T.*



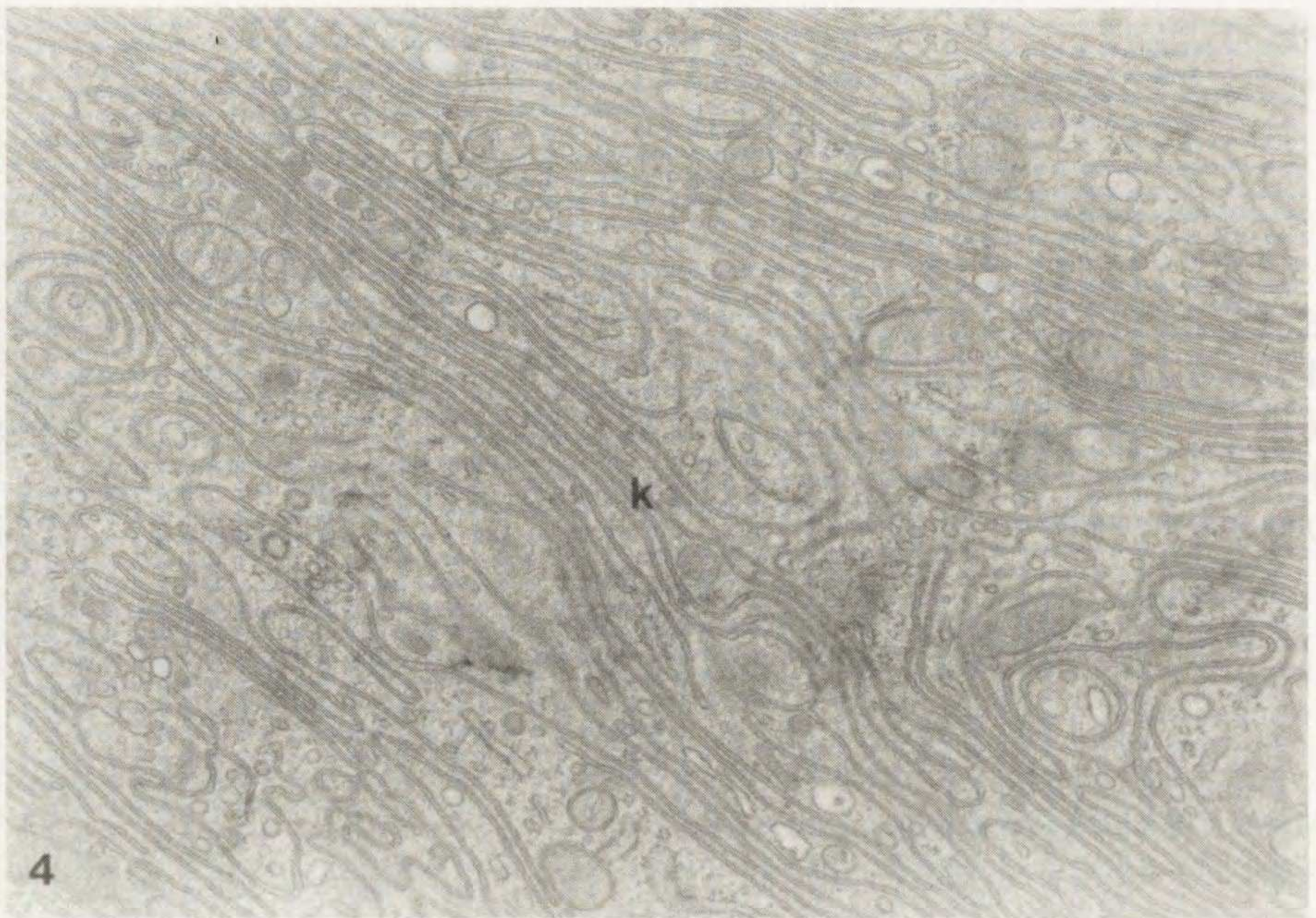
Rys. 1. Torebka larwy *T. spiralis*; widoczne włókienka kolagenowe, fibroblasty, makrofagi oraz powstające naczynia krwionośne (K). W górnej części widoczne mięśnie o prawidłowej strukturze. Pow. 8 000 x.



Rys. 2. Fragment „nurse-cell”; widoczna dezorganizacja komórki mięśniowej z zachowanymi jeszcze fragmentami prążków „Z”. Pow. 10 000 x.



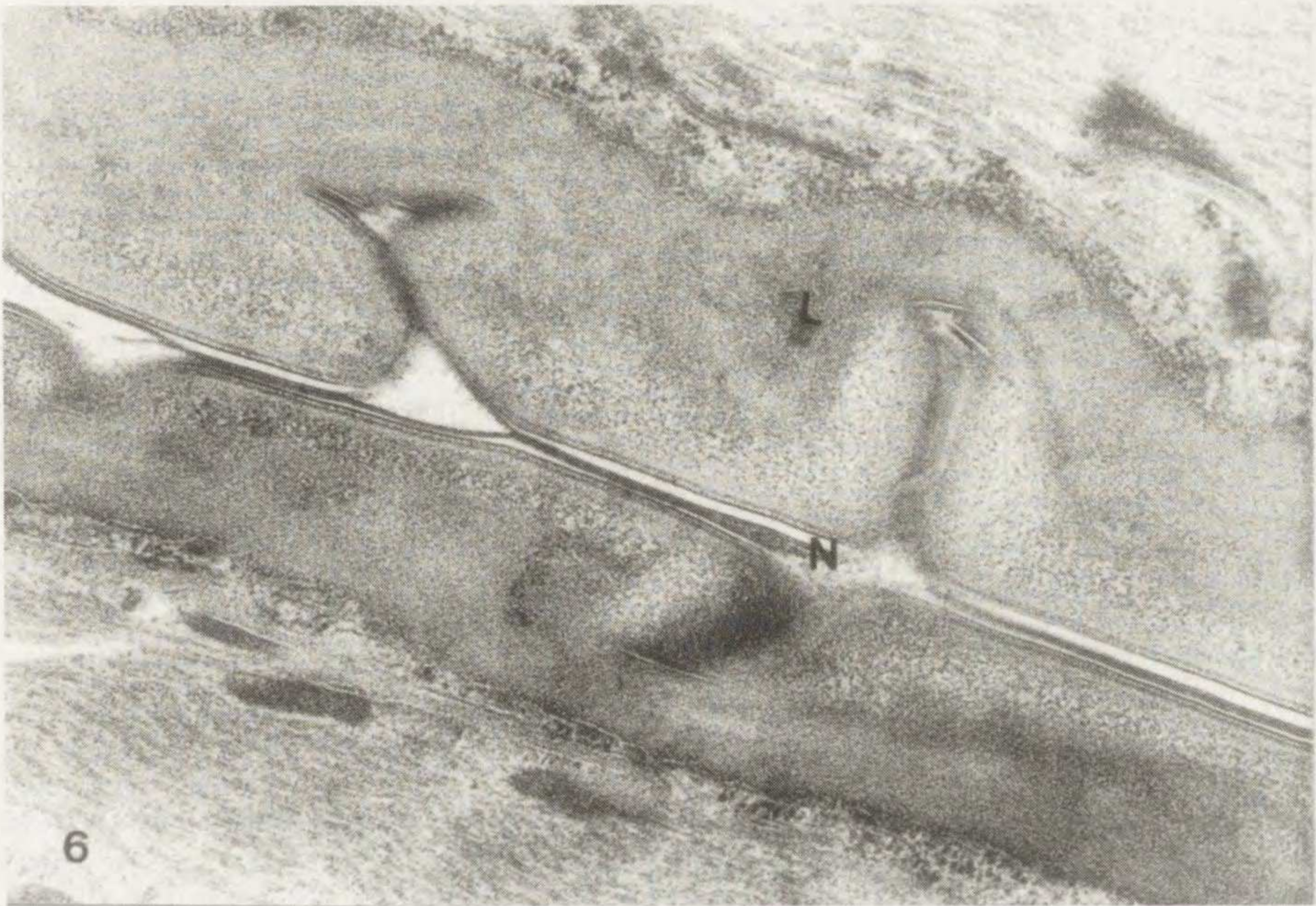
Rys. 3. We wnętrzu „nurse-cell” widoczne dwa jądra komórkowe z jasną chromatyną i jąderkiem (J). Pow. 8 000 x.



Rys. 4. System kanałów (K) utworzonych przez błony gładkie; między nimi widoczne liczne mitochondria i siateczka śródplazmatyczna. Pow. 16 000 x.



Rys. 5. Ściana larwy (L) *T. spiralis* przylegająca do powierzchni „nurse-cell”. Pow. 16 000 x.



Rys. 6. Kutikula larwy (L) *T. spiralis* i wpuklona błona komórkowa „nurse-cell”. Pow. 25 000 x.

spiralis. U podstawy tych naczyń widoczne były nie w pełni uformowane błony podstawne i posiadające charakterystyczne prążkowanie włókienka kolagenowe (Rys. 1). Wśród komórek przeważały fibroblasty, komórki tuczne oraz makrofagi.

Ultrastruktura „nurse-cell”

Stransformowane fragmenty komórek mięśniowych charakteryzowały się zmienioną budową morfologiczną. W ich części środkowej obserwowano zgrupowane jądra z jasną chromatyną i wyraźnie wyodrębnionymi jąderkami (Rys. 2). Rejony cytoplazmy przylegające do torebki larwy bogate były w mitochondria, kanały siateczki śródplazmatycznej i wolne rybosomy. Czasami były obserwowane zachowane jeszcze fragmenty aparatu kurczliwego w postaci prążków Z i rozrzuconych filamentów aktynowych (Rys. 3). W części centralnej „nurse-cell” obecne były systemy błon plazmatycznych, pomiędzy którymi znajdowały się bardzo liczne i o różnych kształtach mitochondria. Błony te były w bezpośrednim kontakcie z błoną komórkową „nurse-cell” przylegającą do powierzchni larwy (Rys. 4). Zwrócono również uwagę na dezintegrację tego systemu błon w pewnych regionach komórki mięśniowej i rozbudowane fagolizosomy. Badania ultrastrukturalne wykazały obecność ciągłej warstwy błony komórkowej stransformowanego fragmentu komórki mięśniowej otaczającego larwę *T. spiralis* (Rys. 5). Błona ta, zbudowana z osmofilnych blaszek o grubości około 10 nm, przylega bezpośrednio do kutikuli larwy. W preparatach mikroskopowo-elektronowych błona ta ulegała oderwaniu od powierzchni kutikuli dobrze zachowanych jeszcze larw *T. spiralis* (Rys. 6).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Wyniki przeprowadzonych badań ultrastrukturalnych potwierdzają tezę o transformacji morfologicznej obszaru komórki mięśniowej znajdującej się w bezpośrednim sąsiedztwie larwy (Gabryel i wsp. 1995, Machnicka i wsp. 2002). Kompleks torebki i „nurse-cell” *T. spiralis* pozostawał nadal dobrze zachowany, mimo że od zarażenia upłynęło już ponad siedem miesięcy.

Istotne znaczenie ma obserwacja błony komórkowej przylegającej bezpośrednio do powierzchni larwy, co zapewnia pełny kontakt morfologiczny i czynnościowy larwy z fragmentem komórki mięśniowej. Wyniki nasze wskazują więc, że larwa pozostaje oddzielona od cytoplazmy „nurse-cell” błoną komórkową.

Wpuklające się do wnętrza „nurse-cell” błony plazmatyczne, obserwowane w stransformowanym fragmencie komórki mięśniowej, tworzą kanały mogące służyć do transportu substancji troficznych pomiędzy mięśniem a larwą włośnia (Ko i wsp. 1994). Analogiczny system transportowy, co poparte jest badaniami cytochemicznymi, istnieje w kanalikach nerkowych (Walski i Olszewska 1978). Uważamy więc, że aktywność samej larwy *T. spiralis* może zależeć od stanu tych błon.

Natomiast torebka utworzona głównie z elementów włókienkowych i komórek tkanki łącznej, oddzielająca „nurse-cell” od niestransformowanej części mięśnia, ma za zadanie odizolowanie żywiciela od czynników immunogennych larwy *T. spiralis*.

LITERATURA

- Błotna-Filipiak M., Gabryel L., Gustowska L. 1998. *Trichinella spiralis*: induction of basophilic transformation of muscle cells by synchronous newborn larvae. *Parasitology Research* 84: 823-827.
- Despommier D. 1998. How does *Trichinella spiralis* make itself at home? *Parasitology Today* 14: 318-323.
- Gabryel P., Gustowska L., Błotna-Filipiak M. 1995. The unique and specific transformation of muscle cell infected with *Trichinella spiralis*. *Basic Applied Myology* 5: 231-238.
- Ko R.C., Fan L., Lee L., Compton H. 1994. Changes in host muscles induced by excretory/secretory products of larval *Trichinella spiralis* and *Trichinella pseudospiralis*. *Parasitology* 108: 195-205.
- Machnicka B., Grytner-Zięcina, Jankowska E., Dziemian E., Dąbrowska J., Swiderski Z., Walski M. 2002. Ultrastructure of *Trichinella spiralis* nurse cell-complex examined six months after mouse infection. *Proceedings of the 10th International Congress of Parasitology – ICOPA X, Vancouver, August 4-9*: 601-605.
- Sacchi S., Gajadhar A., Pozio E. 2001. Ultrastructural characteristics of nurse cell-larva complex of four species of *Trichinella* in several hosts. *Parasite* 8(Suppl. 2): 54-58.
- Walski M., Olszewska K. 1978. Electromicroscopic histochemical investigation of the surface of the cell membrane of renal tubules with the use of ruthenium red and lanthanum nitrate. *Folia Histochemica et Cytochemica* 16: 19-25.