

А. И. МАРКАРЯН

К МОРФОЛОГИИ ЦИСТ ЛАМБЛИИ ЧЕЛОВЕКА

Для выяснения изменчивости морфологических признаков цист ламблий человека (*Lamblia intestinalis*) нами были изучены 4 штамма.

Цисты изучались с применением субвитальных красок (нейтралрот, нильблаусульфат), раствора Люголя, а также на фиксированных и окрашенных препаратах.

В качестве фиксирующих жидкостей были использованы кроме сулемового алкоголя, осмиевая кислота и пикрино-укусная кислота.

Окраска препаратов производилась в основном железным гематоксилином, кроме того был испробован метод влажной окраски по Романовскому и окраска ализарин-толуидиновой синькой и Икеда.

Для обнаружения гликогена в протоплазме применялся раствор Люголя и окраска кармином по Бесту. Для выявления тимонуклеиновой кислоты в ядрах — реакция Фельгена.

В качестве материала служили свежие выделения 4-х лиц, содержавшие цисты ламблий.

Наблюдения проводились в течение 5-ти дней подряд. Для выявления морфологических особенностей цист ламблий — «морфологические типы» — и их процентного соотношения от каждого больного ежедневно изучалось по 200 цист, всего следовательно, по 1000 цист. За 5 дней в препаратах, окрашенных железным гематоксилином, всего изучено 4000 цист. Проведена зарисовка 1000 цист одного штамма. Изучение свежевыделенных цист из фекалий человека дало следующие результаты:

1. В отношении распределения гликогена в протоплазме. При воздействии на цисты раствора Люголя протоплазма диффузно окрашивалась в светло- или темно-коричневый цвет. При применении же окраски кармином по Бесту удалось выявить наличие разбросанных в протоплазме многочисленных оранжевого цвета мелких зерен. При этом изменений в количестве и распределении гликогена у цист разных стадий развития не было отмечено.

2. В отношении изучения стадий развития цист ламблий на основании наличия и распределения тимонуклеиновой кислоты в ядрах применением реакции Фельгена.

Реакция основана на том, что в результате гидролиза в соляной кислоте от молекулы тимонуклеиновой кислоты отщепляются находящиеся в ней гуанин и аденин и освобождаются углеводы. При последующем действии сернокислого фукоина, в случае наличия среди углеводов альдегидов, последние дают ярко-фиолетовое окрашивание. Нуклеиновая реакция Фельгена обнаруживает наличие в хроматине альдегидов, как одной из основных частей нуклеиновой кислоты.

Ядра цист ламблий на разных стадиях их развития при этой окраске выступали в виде круглых или несколько удлиненных гомогенных глыбок, окрашенных в фиолетово-красный цвет. Равномерное окрашивание ядер указывало на равномерное распределение в них тимонуклеиновой кислоты.

3. В отношении гликогена и нуклеиновой кислоты в нитчатых или серповидных образованиях в цистах. Согласно нашим исследованиям, нитчатые образования не содержат гликогена и нуклеиновой кислоты. Они так же, как аксонемы жгутиков, окрашиваются кармином по Бесту в синевато-фиолетовый цвет и дают отрицательную реакцию на тимонуклеиновую кислоту. По-видимому нитчатые образования имеют такую же природу, какую аксонемы и жгутики.

4. В отношении структурных изменений в цистах в связи со стадией их развития было выявлено наличие в экскрементах человека 4-х «морфологических типов» цист ламблий, исходя из количества ядер в них, а именно:

I тип — 2-ядерные цисты.

II тип — 4-ядерные цисты.

III тип — 6-ядерные цисты.

IV тип — 8-ядерные цисты.

I тип содержит 3 пары блефаропластов, II, III, IV типы — по 2 пары блефаропластов. Все 4 типа имеют по 3 пары аксонем и от 4 до 10 нитчатых образований (рис. 1).

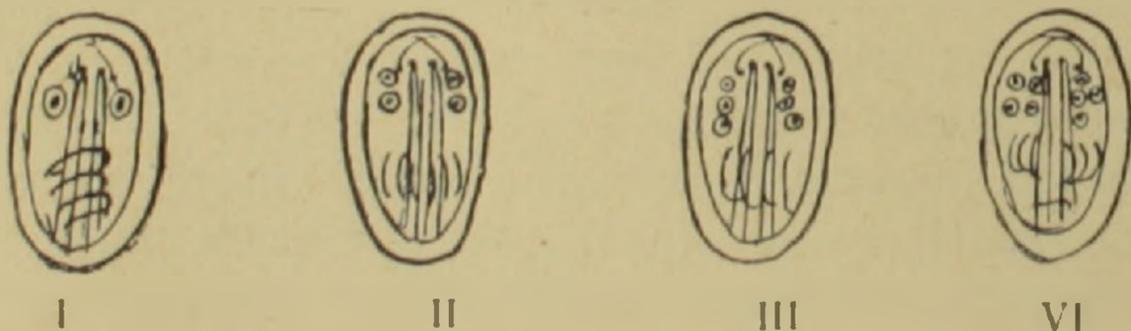


Рис. 1. Морфологические типы цист ламблий.

Считаем, что наиболее молодые из цист — 2-ядерные. Они сравнительно недавно образовались из вегетативных форм и сохранили еще подобно последним овальное строение ядра и 3 пары блефаропластов.

Зрелыми цистами являются 4-ядерные, за счет которых, надо полагать, в основном, происходит размножение.

6-ти и 8-ядерные цисты, нам думается, не являются типичными в процессе размножения. Возможно, что они образуются при особых условиях среды кишечника.

В 4-ядерных цистах, в зависимости от их возраста, нами был отмечен различный характер расположения ядер (рис. 2).

1. В более молодых экземплярах, зарегистрированных в 62% от общего процента четырехядерных цист (91,2), 2 ядра в каждой половине цисты располагаются одно позади другого (а).

2. На следующем этапе развития 4-ядерных цист (встречающихся в 24%) 2 ядра в одной половине цисты расположены одно позади другого по длине тела, в другой — рядом по ширине (б).

3. В дальнейшем все 4 ядра располагаются в большей или меньшей степени по ширине тела (в — 5%).

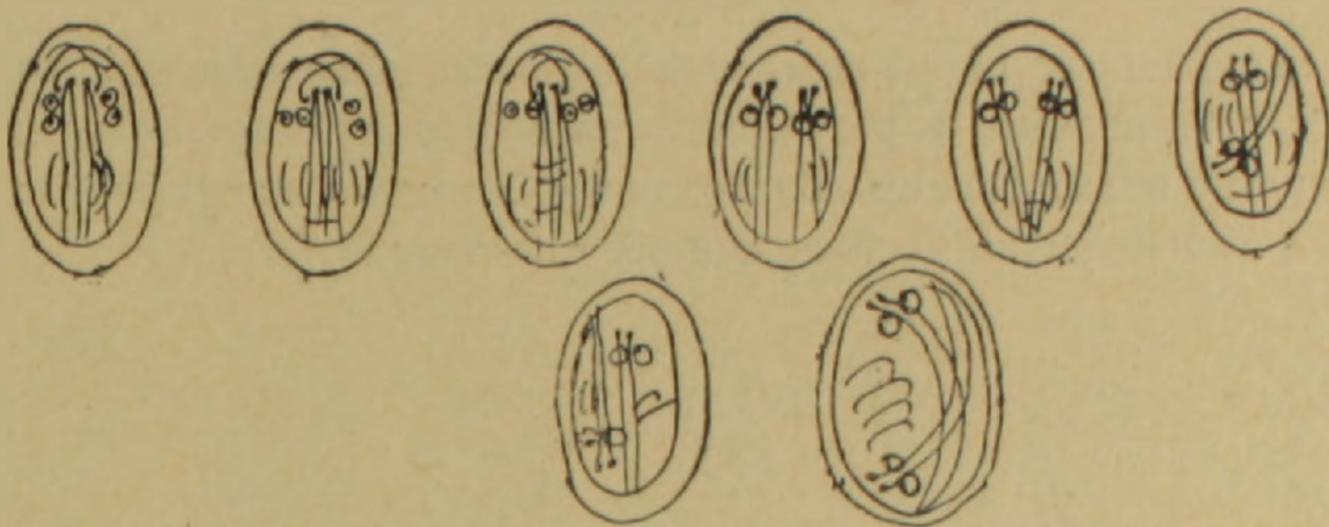


Рис. 2. Процесс созревания цист ламблии.

Ядра: 1—а, 2—б, 3—в, 4—в¹, 5—в², 6—в³, 7—в⁴, 8—г.

4. Последний, подмеченный нами этап развития это, когда два ядра одной половины располагаются у переднего полюса, а другие два другой половины со своими блефаропластами и аксонемами передвигаются к заднему полюсу (г — 0,2%).

Между формами «в» и «г» отмечены переходные формы, характеризующиеся соответствующим прогрессивным перемещением ядер, блефаропластов и аксонем (в¹ — в).

Окончательного деления тела с образованием 2-х обособленных особей нам выявить не удалось.

Между выявленными «морфологическими типами» у 4-х штаммов цист установлено следующее среднее процентное соотношение (таблица 1).

Таблица 1

Штаммы 1—4 (в %)о

„Морфологические типы“	Дни наблюдения					В среднем
	1 день	2 день	3 день	4 день	5 день	
I	3,1	2,6	3,6	2,5	2,2	2,8
II	90,8	90,1	90,8	91,2	93,0	91,2
III	5,6	7,0	5,6	6,1	4,6	5,8
IV	0,5	0,3	—	0,1	0,1	0,2

Как видно из приведенной таблицы, во всех 4-х штаммах преобладают цисты 2-го «морфологического типа», т. е. 4-ядерные.

В среднем у четырех прослеженных штаммов 2-ядерные цисты встретились в 2,8%, 4-ядерные в 91,2%, 6-ядерные в 5,8% и 8-ядерные в 0,2%.

Отмеченные колебания частоты встречаемости «морфологических типов» цист в среднем в отдельных штаммах следующие:

2-ядерные	от 1,2 до 7,0%
4-х	» » от 86,2 до 96,6%
6-ти	» » от 2,2 до 9,2%
8-ми	» » от 0 до 0,4%

На окрашенных препаратах выявлен постепенный переход от 2-ядерных цист к 8-ядерным, в результате расщепления кариозомы ядер на две гранулы с последующим образованием 2-х молодых сферических ядер, нередко с эксцентрично расположенной кариозомой (рис. 3).

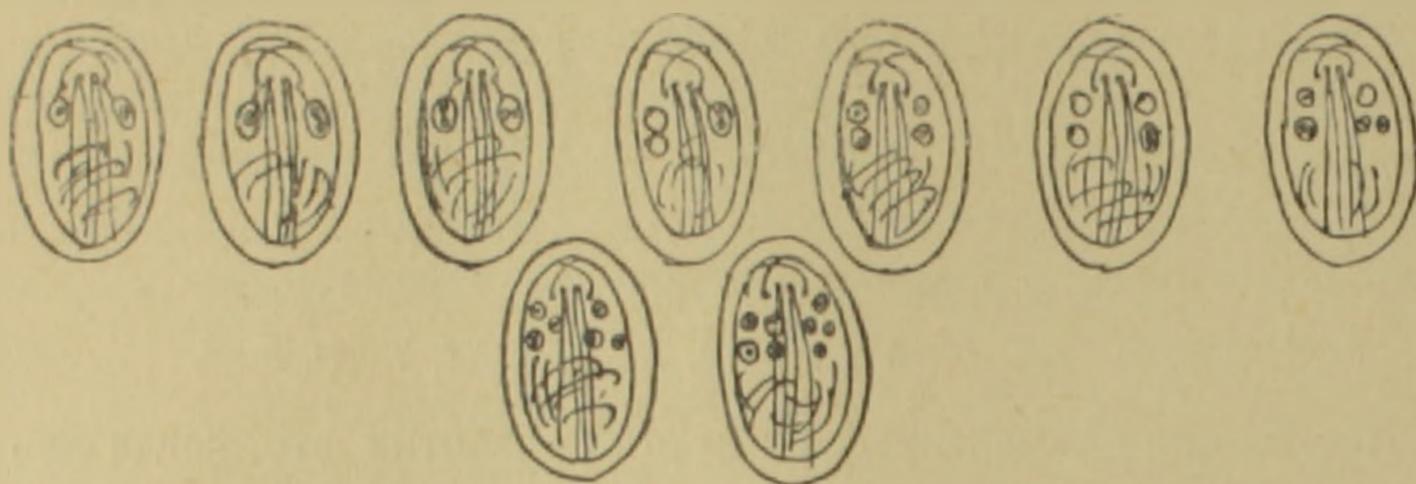


Рис. 3. Превращение 2-ядерных цист в 4-х, 6-ти и 8-ядерные.

Выявить образование ахроматинового веретена и центрозома не удалось. Хотя, по литературным данным (Воеск. 1917), и описан случай типичного митоза при делении ядра вегетативных форм *Lamblia intestinalis*, однако вопрос этот, по нашему мнению, нуждается в дальнейшем изучении.

С целью выяснения возможности морфологических изменений в цистах, находящихся вне организма, мы провели наблюдения над 3-мя штаммами отмытых цист, помещенными в физиологический раствор при температуре 18—20°C.

Наблюдения проводились в течение четырех, шести и 25 суток (таблицы 2, 3, 4).

Таблица 2

Штамм 5 (в %)

Морфологические типы* цист ламблий	Дни наблюдений				В среднем
	1 день	2 день	3 день	4 день	
I	2	2	2	2	2,0
II	98	98	93	96	96,2
III	—	—	5	2	1,8
IV	—	—	—	—	—

Таблица 3

Штамм 6 (в %)

Морфологические типы* цист ламблий	Дни наблюдений						В среднем
	1 день	2 день	3 день	4 день	5 день	6 день	
I	1	1	4	3	4	3	2,7
II	96	98	92	95	93	97	95,2
III	3	1	3	2	2	—	1,8
IV	—	—	1	—	1	—	0,3

Таблица 4

Штамм 7 (в %)

Морфологические типы* цист ламблий	Исследо- вание до обо- гощения	1 день	3 день	5 день	7 день	10 день	12 день	15 день	17 день	19 день	21 день	25 день
		I	2,0	1,0	1,0	2,0	1,0	1,0	1,0	1,5	1,0	0,9
II	44,0	44,0	39,0	33,0	38,0	42,0	43,5	35,5	23,0	17,0	17,5	10,0
III	46,0	47,0	50,0	49,0	45,0	38,0	22,5	12,5	4,0	0,5	0,4	0,1
IV	5,0	5,0	6,0	10,0	6,0	7,0	4,0	3,5	1,0	0,6	0,2	0,1
Процент дегенерир. цист	3,0	3,0	4,0	6,0	10,0	12,0	29,0	47,0	71,0	81,0	81,0	89,0

Цисты штаммов № 5 и 6 (табл. 2 и 3) по процентному соотношению встретившихся «морфологических типов» после 4 и 6-суточного пребывания их в физиологическом растворе не выявили никаких признаков прогрессивного развития, равно как и явлений регрессии, а именно 2-ядерные цисты в среднем за 4 и за 6 суток наблюдения были зарегистрированы в 2,0% и 2,7%, 4-ядерные в 96,2 и 95,2%, 6-ядерные у обоих штаммов в 1,8%, 8-ядерные в одном штамме отсутствовали, в другом были выявлены в 0,3%.

Штамм же № 7 по количественному соотношению «морфологических типов» цист резко отличался от всех штаммов, с которыми мы до этого имели дело. В этом штамме от больного А. Л. (табл. 4) среднее соотношение «типов» в результате наблюдения, произведенного до обогащения, было следующим: 2-ядерных 2,0%, 4-ядерных — 44,0%, 6-ядерных — 46,0%, 8-ядерных — 5,0% и дегенерированных — 3,0%.

Дать в настоящее время окончательное объяснение этому явлению мы затрудняемся, однако считаем, что необходимо указать, что штамм 7 был получен от больного, который принимал препараты йода. Возможно, что изменившиеся под влиянием этого медикамента биохимические условия кишечника и явились моментом, обусловившим соответствующие структурные изменения.

Начиная с 10-го дня и, что особенно заметно, с 12-го, в этом штамме резко возрастает процент дегенерированных цист. Так, на 12 сутки он равен 29,0%, на 15—47,0%, на 17—71,0%, на 19—81,0% и на 25—89,0%.

Наиболее устойчивыми оказались 2-ядерные цисты, которые за все время наблюдения обнаруживались в пределах 2,0—0,8%, наименее устойчивыми были 6-ти и 8-ядерные цисты, наличие которых на 12 сутки снизилось до 22,5% (6-ядерные) и 4,0% (8-ядерные), а к 19 дню процент выявления обоих этих «типов» равнялся 0,5%.

4-ядерные цисты с 44,0% при начале опыта на 17 сутки снизились до 23,0%, а на 19 сутки до 17,0%.

Выводы

1. Морфологическое изучение цист ламблий показало, что в экскрементах человека встречаются 4 «типа» цист: 2-ядерные, 4-ядерные, 6-ядерные и 8-ядерные; причем 2-ядерные цисты зарегистрированы в среднем в 2,8%, 4-ядерные в 91,2%, 6-ядерные в 5,8% и 8-ядерные в 0,2%.

2. Наиболее молодыми формами цист следует считать 2-ядерные; зрелыми 4-ядерные цисты, за счет которых и происходит, по всей вероятности, размножение цист; 6-ти и 8-ядерные цисты, надо полагать, не являются нормальными участниками размножения и образование их возможно связано с изменениями физико-химического характера среды кишечника.

3. В 4-ядерных цистах в зависимости от их возраста отмечается различный характер расположения ядер: в более молодых экземплярах 2 ядра в одной половине цисты располагаются одно позади другого, в другой — рядом по горизонтали; далее 4 ядра располагаются в большей или меньшей степени по горизонтали цисты, и, наконец, последний этап развития, когда 2 ядра одной половины располагаются у переднего полюса цисты, а другие 2, со своими блефаропластами и аксонемами, постепенно передвигаются к противоположному полюсу.

4. Наблюдения, проведенные в течение 4-х и 10-ти суток за 3-мя штаммами отмытых цист, находившихся в физиологическом растворе при температуре 18—20°C, показали, что каких-либо изменений, соответствующих прогрессивному развитию цист во внешней среде в условиях опыта, за эти сроки не происходит.

Начиная с 10, 12 суток заметно возрастает процесс дегенерации, который на 19 сутки захватывает 81,0% и на 25—89,0%, находившихся под опытом цист (штамм 7).

Институт эпидемиологии
и гигиены Минздрава АрмССР

Поступило 29 III 1957.

Ա. Ի. ՄԱՐԿԱՐՅԱՆ.

ՄԱՐԿՅԱՆԻ ԼԱՄԲԼԻԱՅԻ ՑԻՍՏԱՆԵՐԻ ՄՈՐՖՈԼՈԳԻԱՅԻ ՇՈՒՐՋԸ:

Ա մ փ ո փ ո ս մ

Lambliia intestinalis ցիստաներն ուսումնասիրվել են սուբմիկրոսկոպիկներով (նեյտրալրոտ, նիլրյաուսուլֆատ), էյուզոլի լուծույթի կիրառմամբ: Ինչպես նաև ֆիքսված ու ներկված պրեպարատների վրա:

Որպես ֆիքսող հեղուկներ օգտագործվել են, բացի սուլեմային ալկոհոլից, օսմինյան թթու և պիկրինա-քաջախային թթու:

Պրեպարատների գունավորումը կատարվել է, հիմնականում, երկաթի հեմատոքսիլինով, բացի գրանից, փորձարկվել է թաց գունավորման մե-

թողը ըստ Թումանովսկու և գունավորումը ալիզարինատուրուլիդինյան լեղակով և Իկեգան:

Պրոտոպլազմայում զլիկոզեն հայանարեբելու համար կիրառվել է Լյուգոլի լուծույթը և կարմիրով գունավորումը ըստ Բեսսի: Միջուկներում տիմոնուկլեինյան թթու երևան բերելու համար՝ ֆյուլգենի սեպիան:

Իրրե նյութ ծառայել են 4 անձի, 5 օրվա ընթացքում (ամենօրյա), արտաթորությունները, որոնք պարունակում էին լամբլիի ցիստաները:

Ն գ Ր ա կ ա ց ու թ յ ու լ ն ն ե ր

1. Լամբլիաների ցիստաների մորֆոլոգիական ուսումնասիրությունը ցույց տվեց, որ մարդու արտաթորության մեջ հանդիպում են ցիստաների 4 տիպեր՝ 2-միջուկային, 4-միջուկային, 6-միջուկային և 8-միջուկային, ընդ որում 2-միջուկային ցիստաներ գրանցված են, միջին հաշվով, 2,8⁰/₀-ով, 4-միջուկայինները՝ 91,2⁰/₀-ով, 6-միջուկայինները՝ 5,8⁰/₀-ով և 8-միջուկայինները՝ 0,2⁰/₀-ով:

2. Ցիստաների առավել երիտասարդ ձևեր պետք է համարել 2-միջուկայինները, հասուններ՝ 4-միջուկային ցիստաները, որոնց հաշվին էլ, ամենայն հավանականությամբ, տեղի է ունենում ցիստաների բազմացումը. 6-միջուկային և 8-միջուկային ցիստաները, պետք է ենթադրել, չեն հանդիսանում բազմացման նորմալ մասնակիցներ և նրանց դուրսգումը թերևս կապված է աղիքների միջավայրի բնույթի փոփոխությունների հետ:

3. 4-միջուկային ցիստաներում, նախած նրանց հասակին, նկատվում է միջուկների դասավորության տարրեր բնույթ՝ ավելի երիտասարդ նմուշներում ցիստալի մի կեսում 2 միջուկ դասավորվում են մեկը մյուսի հետևում, մյուսում՝ կողք-կողքի ըստ հորիզոնականի, այնուհետև 4 միջուկներ ավելի կամ պակաս չափով դասավորվում են ըստ ցիստալի հորիզոնականի և, վերջապես, զարգացման վերջին էտապը, երբ մի կեսի 2 միջուկներ դասավորվում են ցիստալի առջևի բևեռի մոտ, իսկ մյուս 2-ը իրենց բլեֆերաշերտերով և աքսոնեմներով աստիճանաբար շարժվում են դեպի հակադիր բևեռը:

4. 18—20⁰-ի պալմաններում ֆիզիոլոգիական լուծույթում զանվող լվացված ցիստաների 3 շտամների նկատմամբ 4 և 10 օրվա ընթացքում կատարված դիտողությունները ցույց տվեցին, որ արտաքին միջավայրում ցիստաների պրոպրեսիվ զարգացմանը համապատասխանող որևէ փոփոխություն փորձի պալմաններում տեղի չի ունենում նշված ժամկետներում:

Սկսած 10, 12 օրվանից զգալիորեն աճում է դեզեներացիայի պրոցեսը, որը 19-րդ օրում ընդգրկում է փորձի տակ գտնվող ցիստաների 81,0⁰/₀-ը և 26-րդ օրում՝ 89,0⁰/₀-ը (շտամ 7):