

С. А. САРКИСЯН

ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ  
*ENTAMOEBA INVADENS*, RODHAIN, 1934

*Entamoeba invadens* была впервые выделена от змей в 1934 г. Роденом [11]. В дальнейшем она была детально изучена и другими учеными [12, 13, 8, 9]. Размер трофозоитов в мазках *faces* змей составляет в среднем 22μ, однако в культурных условиях размеры особей доходят до 25,5μ, диаметр ядер составляет около 5μ.

Изучение *Ent. invadens* с помощью светового микроскопа показало, что по своим морфологическим особенностям этот вид очень похож на *Ent. histolytica*. Прозрачная эктоплазма отличается от эндоплазмы, которая содержит многочисленные пищеварительные вакуоли. Движение *Ent. invadens* активное и характерное для амёб; оно осуществляется с помощью появляющихся прозрачных, закругленных эктоплазматических псевдоподий, в которые вливается содержимое эндоплазмы. Иногда псевдоподии становятся тонкими и разветвленными.

При изучении *Ent. invadens* с помощью светового микроскопа было показано, что особи, находящиеся в предцистной стадии и в стадии цисты, содержат цитоплазматические включения—хроматоидные тела цилиндрической или игловидной формы [8]. Изучение хроматоидных тел энтамеб имеет диагностическое значение, поскольку их форма, размер и количество варьирует у разных видов энтамеб. По данным Геймана и Ратклиффа [8] размер хроматоидных тел зависит от локализации цист в организме хозяина. Так, хроматоидные тела цист, развивающиеся в печени змей, мельче, чем эти включения, образующиеся в кишечнике. В нативных препаратах, изучаемых в световом микроскопе у трофозоитов *Ent. invadens*, хорошо дифференцируется ядро, особенно четко выявляемое, когда эндоплазма не заполнена зернами рисового крахмала или другими пищевыми веществами. Ядро имеет тонкую оболочку, под которой находится слой хроматина. Кариосома в виде гомогенной гранулы расположена в центральной части ядра. Однако часто наблюдается и гранулярное строение кариосомы [8], которое было ранее описано Добеллом [6] у *Ent. histolytica*. В отличие от других видов энтамеб, ядро *Ent. invadens* более устойчиво к условиям культивирования и изменениям температуры. Возможно это связано с легкой адаптацией этого вида энтамеб, которое объясняется способностью *Ent. invadens* вызывать инфекцию у различных представителей пресмыкающихся [8].

Детальное изучение субмикроскопической организации представителей рода энтамеб, с помощью электронного микроскопа представляет большой интерес для дальнейшего развития цитологии, уточнения вопросов систематики, а также улучшения диагностики энтамеб.

Электронномикроскопическое исследование *Ent. invadens* было проведено Дейч и Замен [7]. Тонкая структура хроматоидного тела *Ent. invadens* была описана Баркером и Дейч [3] и Баркером [4, 5].

Нами было проведено изучение субмикроскопического строения трофозитов *Ent. invadens*. Изученный штамм был получен из Института медицинской паразитологии (Москва), который поддерживался на среде Павловой (1957). Центрифугат трофозитов *Ent. invadens* фиксировали по Шестранду [14]. После обезвоживания в спиртах материал заключали в полужидкий предполимер из смеси бутил и метилметакрилата (4 : 1), с перекисью бензоила в качестве катализатора. Заливку проводили в металлические кольца [1]. Ультратонкие срезы (толщиной 250 Å) были получены на ультратоме ЛКВ и изучены на японском электронном микроскопе JEM-6С.

В препаратах, изученных с помощью электронного микроскопа *Ent. invadens* имеет характерное строение. Она ограничена одноконтурной цитоплазматической мембраной (рис. 1). Дифференциации на экто-эндоплазму не наблюдается. Центральная часть цитоплазмы электронно-оптически более плотная, содержит много пищеварительных вакуолей и скоплений, состоящих из осмиофильных гранул разной величины. Можно предположить, что этот участок соответствует эндоплазме, наблюдаемой с помощью светового микроскопа. От центральной части цитоплазмы, ближе к цитоплазматической мембране, выявляются менее электронно-оптически плотные участки, содержащие единичные гранулы и мелкие вакуоли. Эта периферическая часть цитоплазмы по своей структуре соответствует прозрачной эктоплазме, описанной в световом микроскопе. В цитоплазме *Ent. invadens* пищеварительные вакуоли размером от 300 Å-5 μ содержат бактерии или зерна рисового крахмала на разных стадиях переваривания. Цистерны, каналы, скопления мелких вакуолей, которые, по-видимому, выполняют выделительную функцию, заполняют цитоплазму. В цитоплазме *Ent. invadens* нами была выявлена развитая система агранулярного эндоплазматического ретикулума (рис. 2).

Тонкая структура хроматоидного тела *Ent. invadens* представляет собой удлиненную структуру, состоящую из спиралевидных нитей толщиной 100—110 Å (рис. 3). При поперечном сечении этих спиралевидных нитей, выявляются частицы размером 300 Å—450 Å, которые расположены линейно. Эти частицы имеют сложное строение, они, в свою очередь состоят из 5—8 субъединиц размером 100 Å—120 Å. При гистохимическом анализе в электронном микроскопе выяснилось, что хроматоидные включения в основном состоят из рибонуклеопротеидов. В этом отношении наши данные совпадают с данными, полученными Баркером [4, 5].

В цитоплазме *Ent. invadens* ни митохондрий, ни аппарата Гольджи не было обнаружено.

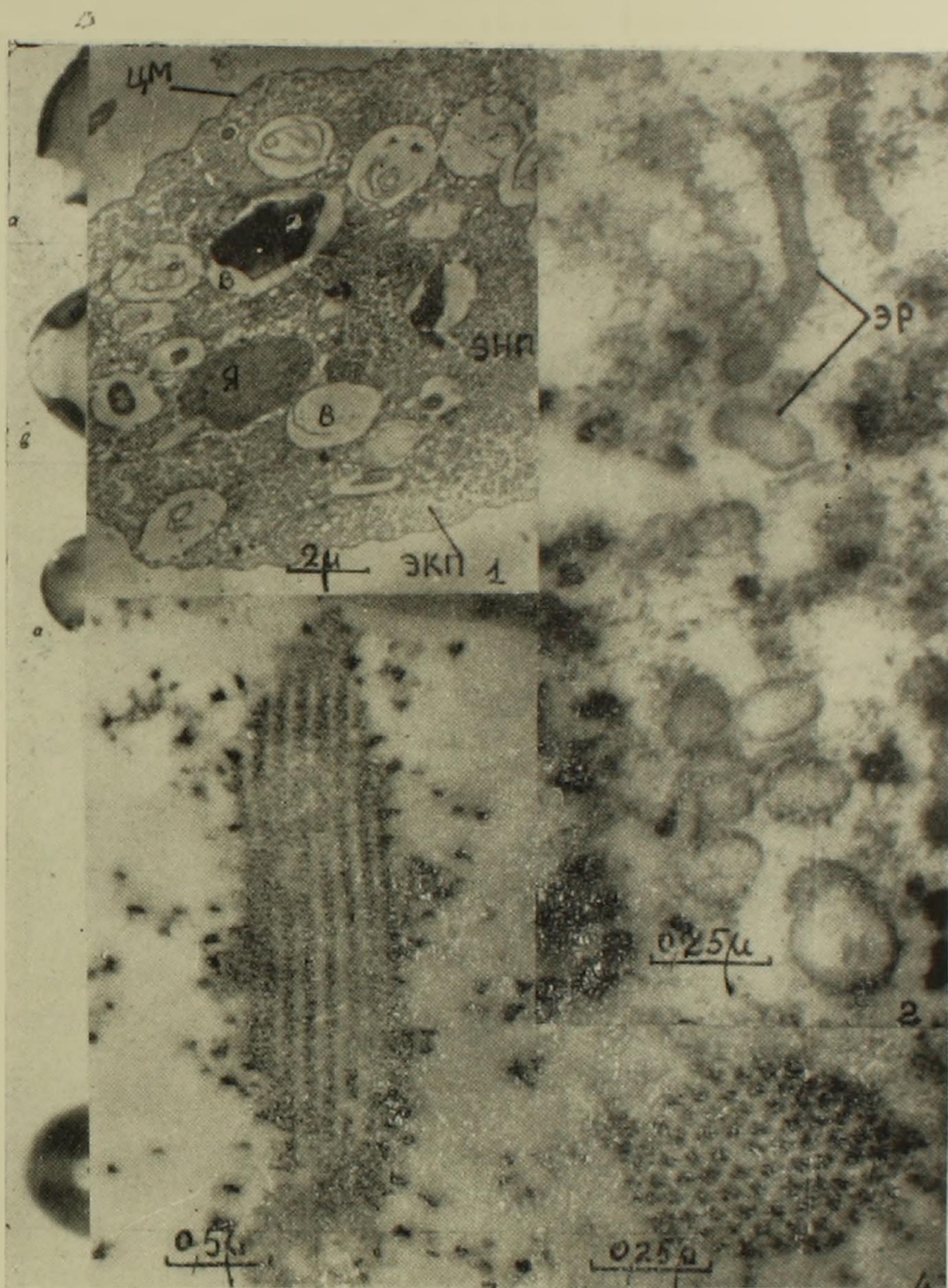


Рис. 1. Ультратонкий срез трофозонта *Ent. invadens*. Одноконтурная цитоплазматическая мембрана (ЦМ). Эктоплазма (ЭКП), эндоплазма (ЭНП), пищеварительные вакуоли (В), ядро (Я). X 5500. Рис. 2. Фрагмент трофозонта *Entamoeba invadens*. Система агранулярного эндоплазматического ретикула (ЭР), X 78000. Рис. 3. Продольный срез хроматоидного тела в цитоплазме *Entamoeba invadens*. X 31200. Рис. 4. Поперечный срез хроматоидного тела *Ent. invadens*. X 67000.

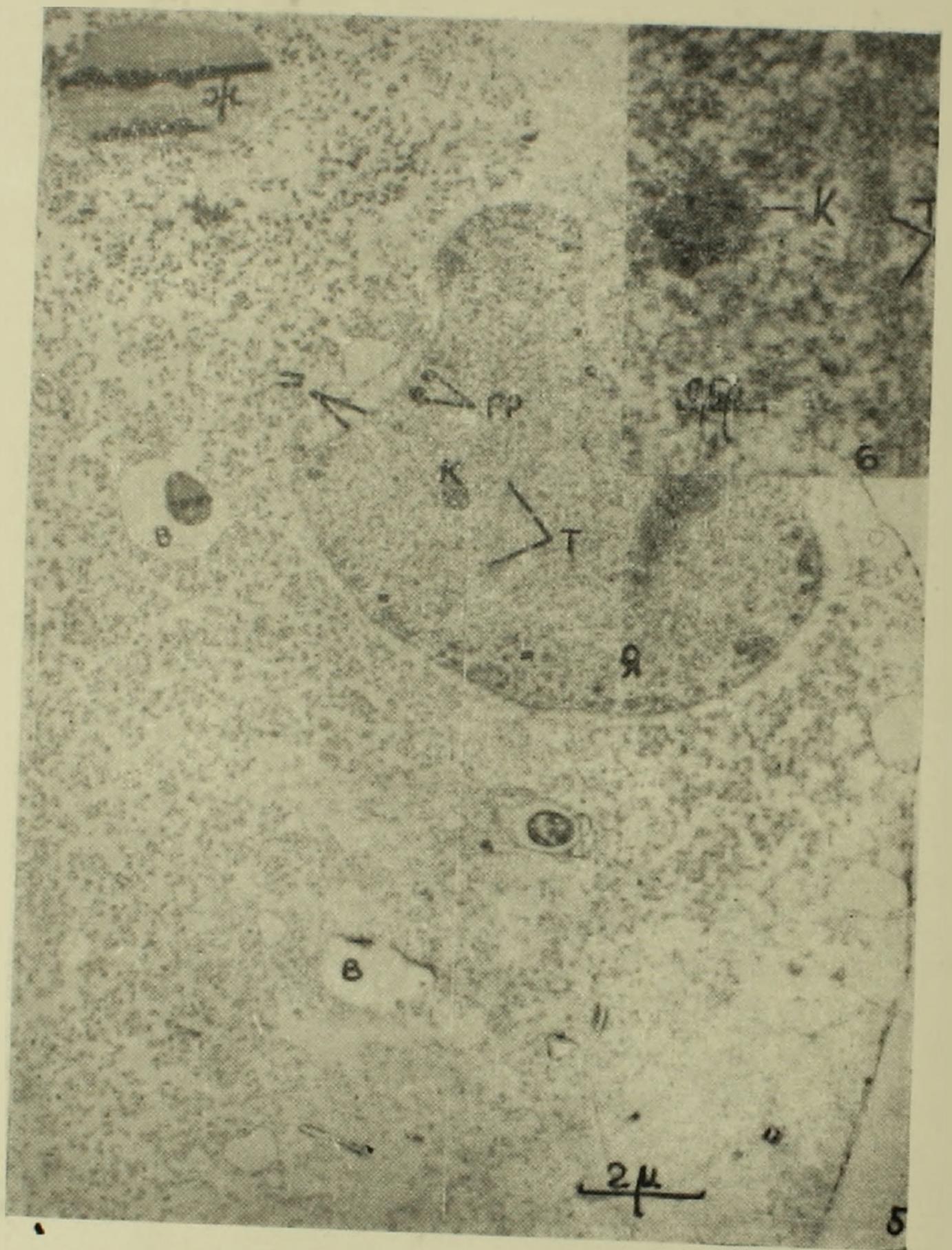


Рис. 5, 6. Фрагмент трофозонта *Ent. invadens*, ядро (Я), жир (ж). Под оболочкой ядра осмиофильные гранулы (ГР), кариосома (К), тяжи (Т). Поры оболочки ядра (П). X 8500, 26000.

Электроннооптически плотное ядро ограничивается двухконтурной оболочкой, состоящей из 2-х осмиофильных слоев толщиной по  $40 \text{ \AA}$  и из одного осмиофобного слоя толщиной  $80 \text{ \AA}$  (рис. 5). Оболочка ядра пронизана порами диаметром примерно  $750\text{--}850 \text{ \AA}$ . Расстояние от центра одной поры до центра соседней поры составляет  $1200\text{--}1500 \text{ \AA}$ . В зависимости от плоскости среза, форма ядра самая разнообразная — овальная, сферическая, удлинённая. Под оболочкой ядра находится тонкий слой хроматина, описанный в светоптическом микроскопе. В ядре обнаружены осмиофильные гранулы размером  $3000\text{--}3500 \text{ \AA}$  и тяжи, природа и функция которых не выяснена. От электроннооптически плотных гранул берут свое начало спиральные нити толщиной  $110\text{--}120 \text{ \AA}$ . Размеры этих спиральных нитей совпадают с размерами дезоксирибонуклеиновой кислоты, описанной у *Amoeba proteus* [10]. Для полной идентификации этих гранул и выходящих из них спиральных нитей нами продолжаются электронномикроскопические исследования.

Кариосома имеет гранулярное строение. Она состоит из гранул размером  $400\text{--}460 \text{ \AA}$  (рис. 6).

### В ы в о д ы

Применяя метод ультратонких срезов изучено субмикроскопическое строение трофозоитов *Ent. invadens*. Клетки *Ent. invadens* ограничены одноконтурной цитоплазматической мембраной. При наших исследованиях дифференциации на экто-эндоплазму не наблюдалось. Цитоплазма *Ent. invadens* наполнена вакуолями с фагоцитированными бактериями и зёрнами рисового крахмала, а также осмиофильными гранулами разной величины. В различных участках цитоплазмы расположены элементы агранулярного эндоплазматического ретикулума. Тонкая структура хроматондных включений, обнаруженная нами, представлена спиралевидными нитями, находящимися в цилиндрической упаковке. При поперечном сечении выявляются частицы размером  $300\text{--}450 \text{ \AA}$ , находящиеся в кристаллоподобной упаковке. Эти частицы образованы 5—8 субъединицами размером  $100\text{--}120 \text{ \AA}$ .

В цитоплазме *Ent. invadens* митохондрий и аппарата Гольджи не обнаружено.

Электроннооптически плотное ядро ограничено двухконтурной оболочкой, состоящей из двух осмиофильных слоев толщиной по  $40 \text{ \AA}$  и одного осмиофобного слоя толщиной  $80 \text{ \AA}$ . Оболочка ядра пронизана порами диаметром  $750\text{--}850 \text{ \AA}$ . В ядре *Ent. invadens* обнаружены осмиофильные гранулы, размером  $2500\text{--}3500 \text{ \AA}$ , от которых берут начало

спирали толщиной 110Å. Кариосома состоит из гранул, размером 400—460 Å.

Лаборатория морфологии микроорганизмов и электронной микроскопии института эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР, Москва.

Поступило 12.XII 1964 г.

Научно-исследовательская лаборатория цитологии биологического факультета Ереванского государственного университета

Ս. Ա. ՍԱՐԿԻՅԱՆ

ENTAMOEBEA INVADENS -Ի RODHAIN, 1934  
ԷԼԵԿՏՐՈՆՈՄԻԿՐՈՍԿՈՊԻԿ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Entamoeba invadens-ի տրոֆոգոիդների սուբմիկրոսկոպիական կառուցվածքն ուսումնասիրվել է ուլտրաբարակ կտրվածքների մեթոդի կիրառմամբ: Entamoeba invadens-ի բջիջները սահմանափակված են միաշերտ ցիտոպլազմային թաղանթով: Մեր ուսումնասիրությունների ընթացքում էկտո-էնդոպլազմայի բաժնում չի նկատվել: Ent. invadens-ի ցիտոպլազման պարունակում է տարբեր մեծության օսմիոֆիլ գրանուլներ և վակուոլներ, որոնք հազեցած են բակտերիաներով և բրնձի օսլայի հատիկներով:

Ցիտոպլազմայի տարբեր մասերում տարածված են ոչ-գրանուլյար էնդոպլազմային ցանցի էլեմենտները: Մեր ուսումնասիրությունների ժամանակ հայտնաբերվել է, որ բրոմատոիդային ներփակումները ներկայացնում են իրենցից պարուրած թելեր, որոնք ունեն գլանաձև դասավորություն: Նման ներփակումների լայնական կտրվածքի դեպքում հայտնաբերվել են 300—450Å<sup>0</sup> մեծությամբ մասնիկներ, որոնք ունեն բյուրեղաձև դասավորություն: Այսպիսի մասնիկները կազմված են ավելի փոքր մասնիկներից՝ 100—120Å<sup>0</sup> մեծությամբ: Ent. invadens-ի ցիտոպլազմայում միտոքոնդրիումներ և Գոլջի ապարատը չեն հայտնաբերվել:

Կորիզը սահմանափակված է երկկոնտուր թաղանթով, որը կազմված է երկու օսմիոֆիլ շերտերից՝ 40Å<sup>0</sup> հաստությամբ և մեկ օսմիոֆիլ շերտից՝ 80Å<sup>0</sup> հաստությամբ: Կորիզի թաղանթն ունի ծակոտիներ, որոնց տրամագիծը կազմում է 750—850Å<sup>0</sup>:

Ent. invadens-ի կորիզում հայտնաբերվել են 2500—3500Å<sup>0</sup> մեծությամբ օսմիոֆիլ գրանուլներ, որոնցից սկիզբ են առնում 110Å<sup>0</sup> հաստությամբ պարուրած թելեր: Կարիոսոմը կազմված է 400—460Å<sup>0</sup> մեծությամբ գրանուլներից:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Быковский А. Ф. Вопросы вирусологии, 4, 500, 1961.
2. Засухин Д. Н. Лабораторные методы исследования патогенных простейших, М., 1957.

3. Barker D. C., Deutch K. *Exp. cell Res.*, 15, 604, 1958.
4. Barker D. C. *Exp. cell, Res.*, 32, 272—279, 1963.
5. Barker D. C., Svihla G. *The journal of cell. biology*; v. 20, 3, 1964.
6. Dobell C. *Parasitology*, 20, 357, 1928.
7. Deutsch K., Zaman V. *Exp. cell. Res.*, 17, 310—319, 1959.
8. Geiman Q. M., Ratcliffe H. L. *Parasitology*, 28, 208, 1936.
9. Mc Connachie E. W. *Parasitology*, v. 45, 1, 2, 1955.
10. Pappas G. D. *Ann. of the New-York academy of sciences*, v. 78, art. 2, 1959.
11. Rodhain J. R. *Soc. Biol.-Paris*, 117, 1195, 1934.
12. Rodhain J., van Hoof M. *Ibid*, 117, 1199, 1934.
13. Rodhain J. *Ibid*, 118, 1646, 1935.
14. Zapf, Ludvik *Einführung in die elektronen-mikroskopische präpariertechnik in der mikrobiologie*. Jena. 1961.