

Ս. Ա. ՄԱՆՈՒԿՅԱՆ

СУБМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ЛЕПТОМОНАДНОЙ ФОРМЫ *L. TROPICA*

Лейшманин и трипанозомы имеют большое значение как возбудители серьезных инвазивных заболеваний человека и животных. Изучение морфологии лейшманий с точки зрения дифференцирования различных видов и их разновидностей имеет как теоретическое, так и практическое значение.

Электронномикроскопические исследования лептомонадных форм *L. tropica* проводились [6, 2] на целых клетках. Применяя метод ультратонких срезов [4, 8], позднее было дано субмикроскопическое строение *L. donovani*.

В данной работе нами проводились электронномикроскопические изучение ультраструктуры лептомонадной формы *L. tropica*.

Материал и метод. Для исследования брались лептомонадные формы *L. tropica*, штамм РКЛ, выделенный из лейшманиомы человека в Туркмении, остро некротизирующий, сельский тип. Изучали на 7—8 и 20 день культивирования в двухфазной среде (кровяной NN-агар + обогащающая жидкость). Из засеянных пробирок жидкую часть среды центрифугировали 10—15 минут при 3000 об/мин. Полученный осадок фиксировали 1% забуференным раствором осмия [11] — стандартная пропись. Были применены и другие методы фиксации: 0,2% р-р $KMnO_4$ на дистиллированной воде, 1% глютаральдегид на фосфатном буфере [10]. После фиксации обезживали в спиртах, заливали емесью бутил- и метилметакрилатов (4 : 1) с перекисью бензонла в качестве катализатора. Для заключения в метакрилат использовали желатиновые капсулы, а также металлические кольца [1]. Для контрастирования в процессе обезживания использовали 1% р-р уранил-ацетата в 70° спирте, 1% р-р фосфорно-вольфрамовой кислоты в 100° спирте. Ультратонкие срезы получали на ультратоме LKB-Producter и дополнительно контрастировали 5% уранил-ацетатом или лимоннокислым свинцом [9].

При изучении целых клеток использовали метод негативного контрастирования фосфорно-вольфрамовой кислотой (рН 7,6—8,0).

Электронные фотографии были получены на японском электронном микроскопе УЕМ-6С.

Результаты и обсуждение. При изучении ультратонких срезов лептомонадных форм *L. tropica* установлено, что тело паразита ограничено с поверхности мембраной, имеющей гладкие очертания, и на строго поперечных срезах имеет трехслойную структуру. Толщина мембраны 100—120 Å. Она состоит из двух краевых осмиофильных слоев по 25 Å

каждый и одного осмиофобного промежуточного слоя толщиной около 50 Å (рис. 3). Различные методы фиксации выявляют различную толщину наружного осмиофильного слоя, оставляя без изменения величину осмиофобного и внутреннего осмиофильного слоев.

В непосредственной близости к базальной части клеточной мембраны расположены трубчатые структуры (рис. 3). На строго поперечных срезах эти образования выявляются в виде двухконтурных колец и видны под оболочкой по периферии всей клетки. Диаметр этих образований 250 Å, расстояние между их центрами 350—400 Å. В стенке колец расположены 9 продольных нитей, диаметр которых 30—40 Å. При косых поперечных срезах эти образования (рис. 4) имеют вид полых цилиндров, трубок и расположены в передне-заднем направлении тела клетки. Подобные образования были описаны у *Tyranozoma lewisii* [12] и не имели связи с клеточной стенкой по данным этих исследований. Электронномикроскопическое изучение не позволяет с уверенностью судить о функции этих образований в жизнедеятельности клетки. Можно предположить, что они служат для поддержания формы тела простейшего, т. е. несут опорную функцию. Возможно также, что подобно фибриллам мионем у крупных простейших они принимают участие в сократительных процессах при движении клетки [7]. Природа данных структур изучается нами цитохимическими методами.

Клеточная мембрана непосредственно переходит на жгут, покрывая его в виде чехла (рис. 1). Под мембраной располагается пучок из 9 периферических двойных фибрилл и 2 центральных одинарных. Таким образом, «формула фибриллярного набора» равна $18+2$. На поперечном сечении (рис. 6) как центральных, так и периферических фибрилл, выявляются более электроннооптически плотная красвая и, менее плотная, центральная зоны. Диаметр фибрилл 220—250 Å. На продольных срезах (рис. 5) жгута эти фибриллы выглядят в виде полых цилиндров. От внутреннего осмиофильного листка клеточной мембраны (оболочки жгута) в сторону периферических фибрилл отходят гребни. Расстояние между ними 270—300 Å.

В основании жгута лежит блефаропласт (рис. 1) с «формулой фибриллярного набора» $27+0$, так как центральные фибриллы не доходят до блефаропласта. Подобная структура блефаропласта описана при изучении фибриллярных образований жгутиковых [5].

В переднем отделе тела перпендикулярно к оси жгута расположен кинетопласт (рис. 1). Он имеет почковидную форму и размер около 1μ в длину и $0,25 \mu$ в ширину. Кинетопласт окружен двухконтурной мембраной, толщина которой 120—140 Å. От внутреннего листка внешней стенки мембраны отходят кристы. Вдоль длинной оси кинетопласта расположены фибриллярные структуры в виде спирали. Последние состоят из нитей, диаметром 70 Å, по-видимому, представляющих собой нити

ДНК. Согласно данным некоторых исследователей [3], кинетопласт выполняет важную роль при движении клеток, координируя активность жгутов, а также несет побочную генетическую функцию.

Основное вещество цитоплазмы представляют различные компоненты: мембраны, вакуоли и гранулы. Многочисленные трубочки, идущие в различных направлениях, иногда расширяясь, образуют цистерны, ограниченные мембранами с расположенными на них гранулами 100—120 А—рибосомы. В вакуолях иногда можно видеть плотные осmioфильные включения. Прослеживается связь между эндоплазматическими капиллярами, крупными цистернами и уплощенными пузырьками, которые скапливаются в непосредственной близости к клеточной мембране.

Митохондрии (рис. 2) преимущественно располагаются под оболочкой или вблизи кинетопласта. Они не постоянны по форме и величине. По своей организации отличаются от таковых в животных клетках беспорядочным расположением крист, их количеством и числом.

Комплекс Гольджи (рис. 1) представлен вполне дифференцированной частью цитоплазмы. Как и в животных клетках, имеет вид уплощенных мешочков, цистерн, которые на срезах выглядят как плотно расположенные мембраны, лишенные гранул, скопления пузырьков и вакуолей.

Большую часть клетки занимает ядро, которое, в зависимости от плоскости среза и функционального состояния клетки, может иметь различную форму и величину (рис. 1, 2). Ядро окружено оболочкой, состоящей из двух листков по 75 А каждый, на которых расположены гранулы по 100—120 А—рибосомы. Их разделяет зона меньшей электроннооптической плотности, около 140—150 А, так называемая перинуклеарная зона. На строго перпендикулярных срезах выявляется трехслойность каждого листка ядерной оболочки. Ядерная оболочка пронизана порами, диаметр которых 600—800 А. Ядро состоит из осmioфильных гранул 100—120 А величиной и менее плотных нитей 40—50 А. Ядрышко без оболочки, содержит два вида гранул: крупные по периферии 170—180 А и мелкие в центре 100—120 А.

Процесс деления осуществляется путем продольного, равнодольного расщепления клетки, при этом деление кинетопласта предшествует делению ядра, за которыми следует деление цитоплазмы. Жгут не делится, а целиком переходит к одной из дочерних особей, а у другой он образуется вновь, очевидно в результате деления бляфаропласта. Деление тела начинается от переднего конца и идет к заднему. В некоторых случаях деление идет неравномерно, напоминая почкообразование.

Ե. Ա. ՄԱՆՈՒԿՅԱՆ,

L. TROPICA-Ի ԼԵՊՏՈՄՈՆԱԴՈՅՈՆ ՉԵՎԻ ՍՈՒՐՄՈՎՐՈՍԿՈՊԻԿ ԿԱՌՈՒՑՎԱՅՔԸ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ներկա աշխատության մեջ ուսումնասիրված է L. tropica-ի լեպտոմոնազային ձևի, PK.I շտամի ուլտրաստրուկտուրան:

Էքսպերիմենտայ նյութը՝ ֆիքսված ըստ Շյուտերանդի մեխոպիկայի, չրուպրկված է սպիրտների բարձրացող կոնցենտրացիաներում և պարփակված է մետակրիլատներում:

Ուլտրամուրք կտրվածքներն ստացված են LKB—Producter ուլտրաթմափրա, միկրոֆատակաբաճանույթ կատարված է VEM-6C էլեկտրոնային միկրոսկոպով:

Բացառությամբ է L. tropica-ի հետևյալ բջջային կառուցվածքը.

1. Պարազիտի մարմինը սահմանափակված է երեքշերտանի բջջային մեմբրանով՝ 100—120 \AA ։

2. Բջջային մեմբրանի հիմնային շերտի տակ գտնվում են խողովակաձոր զոչացություններ, արամպիծը 140—150 \AA ։

3. Մարմնի առաջնային մասից սկսվում է մարտկը, որը կազմված է 9 պերիֆերիկ երկտիկ ֆիբրիլներից և 2 կենտրոնական մեկական ֆիբրիլներից:

4. Մարտկի հիմքում գտնվում է բյեֆարոպլաստը:

5. Մարտկի առանցքին ուղղահայաց գտնվում է կինետոպլաստը, որը սահմանափակված է երեքշերտանի մեմբրանով և կազմված է կրիստալներից, ֆիբրիլներից և գրանուլաններից:

6. Տրասպլազմային մեծ մասը զբաղեցնում է կորիզը, որը շրջապատված է թաղանթով՝ Կորիզային թաղանթը կազմված է երկու շերտից: Յուրաբանչյուրի հաստությունը հավասար է մոտավորապես 70 \AA ։

Կորիզային թաղանթն ունի թափանցող անցքեր, կորիզակը առանց թաղանթի է:

7. Գուլջի կամպլեքսը արտահայտված է որպես ցիտոպլազմայի լրիվ կազմակերպված մի մաս:

8. Խիտոխոլերիտներից առկայությունը են հաճախ բջջային մեմբրանի տակ և կինետոպլաստի մաս:

9. Էնդոպլազմատիկ սետիկուլումը ներկայացված է գրանուլյար և ազրանուլյար տիպի մեմբրաններով:

10. L. tropica-ն բաժանվում է հավասար, երկայնական ձևով:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Быковские А. Ф. Вопросы вирусологии, 4, 500—501, 1961

2. Нолов Н. А., Ванилова М. П. Тр. Ташкентского научно-исследовательского института паразитологии и энтомологии, т. VII (23), 1962

3. Baker J. K., Jr., Roy, T. Soc. Trop. Med. Hyg., 55, 5, 518—524, 1961.

4. Chang P. C. H., J. Parasitology, 42, 1, 126—136, 1956.

5. Gibbons J. R., Grimstone A. V. J. *Biophys. Biochem., Cytol.*, 8, 3, 617—647, 1960.
6. Lofgren R. J. *Bacteriology*, 60, 5, 617—625, 1950.
7. Meyer H. and Porfer K. R. J. *Parasitology*, 40, 1, 16—23, 1954.
8. Pyne C. K. et Chakraborty F. J. *Protozoology*, 5, 4, 264—269, 1958.
9. Reynold S. E. J. *Cell. Biology*, 17, 1, 208—211, 1963.
10. Sabatini D. D., Benson K., Barruel R. J. J. *Cell. Biology*, 17, 1, 19—58, 1963.
11. Sjostrand F. S. J. *Cell. Comp. Physiol.*, 42, 15, 1953.
12. Yudge D. M. and Anderson S. J. *Parasitology*, 50, 6, 757—762, 1964.