## 肝片吸虫神经系统结构组化定位

李海云1,温山鸿1,孔小明2,刘香勤1

(1 华南农业大学 动物科学学院,广东 广州 510642; 2 华南农业大学 兽医学院,广东 广州 510642)

摘要: 以美蓝、硫酸铜-硝酸银及乙酰胆碱法对肝片吸虫神经系统结构进行组化定位, 为其神经肽相关研究探明结构基础. 研究结果表明: 仅乙酰胆碱法可以将肝片吸虫的神经系统结构定位出来. 肝片吸虫的神经系统发达, 中枢神经系统由 1 对咽前侧神经节(脑神经节)、1 对粗大的腹神经索、较细的成对的背神经索和侧神经索及横向神经联合组成; 外周神经系统由各纵行神经索及横向神经联合发出的纤细神经纤维交织形成的神经网构成. 扁形动物梯状神经系统模式在肝片吸虫中的表现并不典型.

关键词: 肝片吸虫; 神经系统; 组化定位中图分类号: R383.2 文献标识码: A

目前,寄生蠕虫包括肝片吸虫的抗药性已成为畜牧业生产的世界性问题<sup>[1]</sup>,但专家们预测在今后相当长的一段时期内,药物驱虫仍是防治人畜寄生蠕虫病的主要手段. 传统的驱虫药以经典神经递质为靶标. 由于经典神经递质种类不多,选择余地有限,国外已有人把研究目标转向种类繁多的神经肽上<sup>[2]</sup>. 在肝片吸虫中,前人已进行了包括胰多肽、组异亮肽、胃泌素释放肽等多种神经调节肽的定位及部分功能研究<sup>[3]</sup>,但未对肝片吸虫神经系统的基本结构进行定位. 本研究以美蓝、硫酸铜-硝酸银及乙酰胆碱法对肝片吸虫的神经系统结构进行定位,为其神经肽相关研究探明结构基础.

### 1 材料与方法

#### 1.1 肝片吸虫成虫

由广州市牛羊食品公司赵伦云兽医师协助自广西水牛的肝脏胆管中采集,并暂时贮藏于胆囊液中,使虫成活.活虫带回实验室中经生理盐水清洗,备用.

#### 1.2 染色方法

美蓝法参考实验生物学制片技术<sup>[4]</sup>;硫酸铜-硝酸银显示法参考涡虫神经纤维显示法<sup>[5]</sup>;乙酰胆碱法参考扁形动物神经系统标本制作方法<sup>[6]</sup>.

## 2 结果与讨论

#### 2.1 美蓝染色法

仅能显示前端脑神经节及较粗大的神经索,不

文章编号: 1001-411X (2003) 01-0089-02

能显示其他神经纤维结构. 醌亚胺类染料美蓝(次甲基蓝)作为一种神经活体染料, 理论上应当可以显示肝片吸虫的神经纤维结构, 实际中仅显示出前端脑神经节及较粗大的神经索, 可能与此虫纤细神经纤维的化学组成及含量有关.

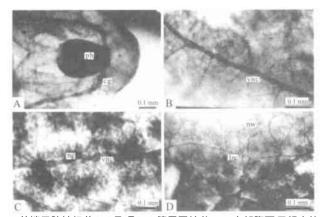
#### 2.2 硫酸铜-硝酸银显示法

无法定位出肝片吸虫的神经系统结构,当进行至氯化金调色步骤时,标本整体变黑.多次反复并调整硫酸铜、硝酸银的浸染时间及标本在显色液中显色的时间,均未能显示出神经系统结构.据介绍此法不但可以用于整体涡虫神经纤维的显示,而且可以用于离虫切片中的神经纤维显示.在系统学中,肝片吸虫的系统地位接近于涡虫,同属于扁形动物.笔者不能以硫酸铜-硝酸银方法成功地显示肝片吸虫神经纤维的可能原因:一是药品的纯度与试剂的有效性;二是肝片吸虫自身的皮层透性及化学组成.

#### 2.3 乙酰胆碱法

此法可以将肝片吸虫神经系统结构清晰地定位 出来, 结果如图 1、2 所示.

从组织定位结果来看, 肝片吸虫的神经系统并非不发达, 它的中枢神经系统由 1 对咽前侧神经节(脑神经节)、1 对粗大的腹神经索、较细的成对的背神经索和侧神经索及横向神经联合组成; 外周神经系统由各纵行神经索及横向神经联合发出的纤细神经纤维交织形成的神经网构成. 扁形动物梯状神经系统模式在肝片吸虫中的表现并不典型, 而以神经网成分为主.



A. 前端示脑神经节(cg)及咽(ph) 等周围结构; B. 中部腹面示粗大的腹神经索(vnc)及其分支; C. 中后端示腹神经索(vnc)上神经节(ng)及神经节的分支; D. 侧方示侧神经索(lnc)及体侧缘的神经网(nw)结构 A. Anterior part of the body showing cerebral ganglia (cg), pharynx (ph) and peripheral structures; B. Ventral side near the middle of the body showing ventral nervous cord (vnc) and its branches; C. Middle posterior body showing nervous ganglia (ng) on ventral nervous cord (vnc) and branches from the ganglia; D. Lateral side of the body showing lateral nervous cord (lnc) and nervous web (nw)

# 图 1 乙酰胆碱酯酶活性组化定位显示的部分肝片 吸虫神经系统结构

Fig. 1 Acetylcholinesterase (AChE) activity showing parts of the nervous structure in Fasciola hepatica



vnc 腹神经索; np-神经丛. vnc- ventral nervous cord; np-nervous plexus 图2 乙酰胆碱酯酶活性分布示肝片吸虫的神经系统结构——以神经网为主(借助描绘器绘制)

Fig. 2 AChE activity showing the nervous system in Fasciola hepatica. Nervous web is the main structure throughout the body (Drawn with the help of a tracer)

#### 参考文献:

- [1] 郭仁民. 家畜寄生蠕虫抗药性及对策[J]. 青海畜牧兽 医杂志, 1997, 27(1): 31-33.
- [2] GEARY T G. The nervous systems of helminths as targets for drugs J. Journal of Parasitology, 1992, 76: 215—230.
- [3] FAIRWEATHER I, HALTON D W. Neuropeptides in platy-helminths J. Parasitology, 1991, 102; S77—S92.
- [4] 曾小鲁. 实验生物学制片技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 1989. 101—102.
- [5] 佚 名. 涡虫神经纤维的硫酸铜-硝酸银显示法[J]. 陈在田摘译. 生物学通报, 1963, 6, 30.
- [6] 王 勇,汪 昊. 介绍一种扁形动物神经系统标本制作 方法[1]. 生物学通报, 1994, 29(8): 29.

## Histochemical Localization of Nervous System in Fasciola hepatica

LI Hai-yun<sup>1</sup>, WEN Shan-hong<sup>1</sup>, KONG Xiao-ming<sup>2</sup>, LIU Xiang-qin<sup>1</sup>
(1 College of Animal Science, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China;
2 College of Veterinary Medicine, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642 China)

**Abstract:** It has been suggested that developing antihelminth medicines based on analogues, metabolic regulates and antagonists of neuropeptides is a new idea. It is also the main way to develop future antihelminth medicines. In the present research, methylene blue, CuSO<sub>4</sub>-AgNO<sub>3</sub> and acetylcholine methods are used to locate the nervous system in *Fasciola hepatica* to probe its structural basement for researches on neuropeptides. The results show that only acetylcholine method can locate the nervous structure of *Fasciola hepatica*. The nervous system in *Fasciola hepatica* is well developed. It is composed of a pair of cerebral ganglia, stout ventral nervous cords, slender dorsal and lateral nervous cords, fine branches from longitudinal nervous cords and transverse commissures form a nervous web throughout the body. The nervous system model of ladder—shapped in platyhelminth isn't typical in *Fasciola hepatica*.

**Key words:** Fasciola hepatica; nervous system; histochemical localization

【责任编辑 柴 焰】