

Zakład Histologii i Embriologii, Instytut Biologiczno-Morfologiczny, Wydział Lekarski
Akademia Medyczna w Lublinie

Kierownik: prof. dr hab. n. med. dr h.c. Stanisław Grzycki

Alicja ZARĘBSKA

Analiza histologiczna i histochemiczna gruczołów Morrena u dżdżownicy (*Lumbricus L.*)

Гистологический и гистохимический анализ Морреновы желез у дождевых червей
(*Lumbricus L.*)

A Histological and Histochemical Analysis of Morren's Glands in a Worm
(*Lumbricus L.*)

Moore (1895) badając gruczoły okołoprzełykowe u *Bimastos palustris* stwierdził, że zbudowane są one z unaczynionych blaszek rozchodzących się promieniście od przełyku. Blaszki pokryte są komórkami gruczołowymi zawierającymi różnie umiejscowione jądra. Gruczoły Moorena są odpowiedzialne za utrzymanie równowagi kwasowo-zasadowej we krwi, głównie poprzez wydalanie z niej nadmiaru CaCO_3 (Franz 1959). Brak dokładnej analizy histologicznej i histochemicznej tych gruczołów we wzmiankowanych publikacjach uzasadnia przeprowadzenie naszych badań nad gruczołem okołoprzełykowym dżdżownicy.

MATERIAŁ I METODY

Obserwacji dokonano na odcinku gruczołowym przełyku dżdżownic z gatunku *Lumbricus terrestris* i *Lumbricus rubellus*, odławianych w ciągu całego sezonu, tj. od maja do października. Wypreparowane gruczoły utrwalano w 4% formalinie, a skrawki parafinowe o grubości 10 μm barwiono hematoksyliną i eozyną. Obecność CaCO_3 stwierdzono metodą fluorescencji (wapń świecił kolorem czerwonym), a jego umiejscowienie w gruczole badano wg met. von Kossa. Ponadto wykrywano: a) aktywność fosfatazy zasadowej wg met. Seligmana — na skrawkach parafinowych utrwalanych w acetonie, b) śluzowielocukrowce obojętne wg met. PAS, c) śluzowielocukrowce kwaśne błękitem Astra i błękitem alcjanowym, d) DNA wg met. Feulgena. Mikrofotografie wykonano przy użyciu mikroskopu Lumipan C. Zeiss, Jena, kam. fotogr. Exacta.

OBSERWACJE WŁASNE

Zrąb gruczołu Morrena u *L. terrestris* i *L. rubellus* utworzony jest przez szereg cieniutkich blaszek (20—36 i więcej) rozchodzących się promieniście od nabłonka przełyku do ściany torebki mięśniowej zamykającej niejako gruczoł od zewnątrz, a będącej przedłużeniem ściany przełyku. Każda blaszka posiada naczynie krwionośne biegnące w jej wnętrzu (Pliśko, 1973). Naczynie to pod błoną podstawową nabłonka przełyku tworzy zatokę naczyniową podnabłon-

kową, a na drugim końcu blaszki pod torebką gruczołu rozszerza się również w dość dużą zatokę naczyniową podtorebkową (ryc. 1). Ściany naczyń krwionośnych zbudowane są z komórek śródbłonka i błonki podstawowej. Średnica naczyń wewnątrz blaszki jest różna: w niektórych miejscach jest bardzo mała, w innych znacznie się rozszerza.

Na zewnętrznej stronie błony podstawowej naczyń krwionośnych znajdują się komórki gruczołowe. Są to komórki brukowe o różnej wielkości. W pobliżu przelyku komórki są małe, a prawie całe ich wnętrze wypełnia okrągłe jądro. W miarę posuwania się w kierunku torebki komórki stają się coraz wyższe, jądro położone jest różnie, w przeważającej większości jednak w strefie szczytowej komórki (ryc. 2).

Fosfataza zasadowa

Fosfataza zasadowa wykazuje wyraźną aktywność w błonach torebki gruczołu i w grzbietowym naczyniu krwionośnym. Nieco słabszą aktywność tego enzymu wykazano wewnątrz blaszek, a konkretnie w błonie podstawowej, na której od wewnątrz spoczywają komórki śródbłonka, od zewnątrz zaś sześciennokomórkowe gruczołowe (ryc. 3).

Śluzowielocukrowce obojętne

Reakcja PAS jest dobrze zaznaczona tylko w komórkach nabłonka przelyku oraz w błonach wewnątrz blaszek. W komórkach nabłonka przelyku silny odczyn występuje w małej odległości od wolnego brzegu komórek, dając wyraźny różowy prążek.

Śluzowielocukrowce kwaśne

Śluzowielocukrowce kwaśne wykryto w komórkach gruczołowych, w torebce gruczołu, na wolnej powierzchni komórek nabłonka przelyku oraz w mikrokosmkach. W nabłonku grzbietowej i brzusznej ściany przelyku znajdują się pojedyncze, typowe, o kształcie gruszkowatym komórki śluzowe, które też dają reakcję na mukopolisacharydy kwaśne (ryc. 4).

Kwasy dezyksyrybonukleinowe

Jądra komórek gruczołowych są duże, okrągłe, z wyraźnymi, luźno leżącymi ziarnami DNA. Jądra komórek śródbłonka są mniejsze, owalne, a ziarna DNA mniej wyraźne i skupione. Jądra komórek nabłonka przelyku są również duże, mniej lub bardziej wydłużone, z wyraźnymi ziarnami chromatyny.

Sole wapnia

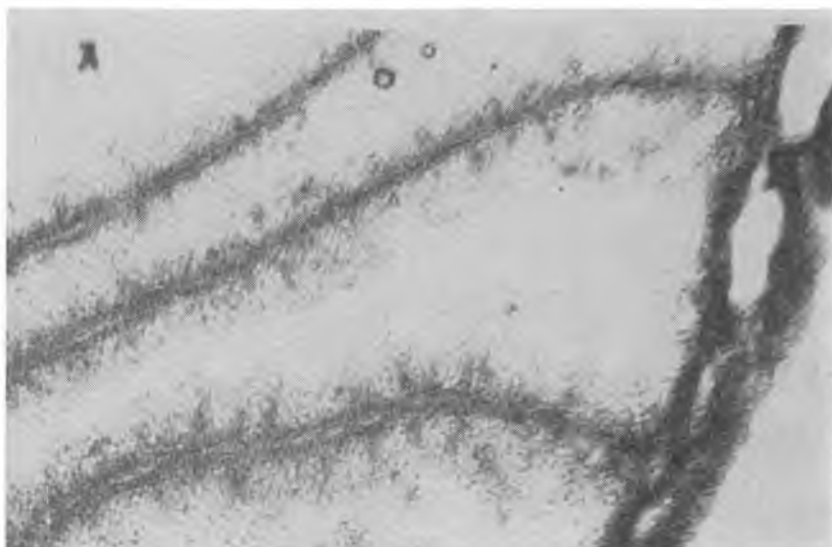
W pobliżu torebki w cylindrycznych komórkach gruczołowych stwierdzono dużą ilość CaCO_3 (met. von Kossa), a w pobliżu przelyku w komórkach małych wykryto tylko pojedyncze ziarna CaCO_3 . W porównaniu z zewnętrzną częścią gruczołu stwierdzono tu o wiele większą ilość CaCO_3 pomiędzy blaszkami (ryc. 5). W gruczołach pochodzących z niektórych okazów *L. terrestris* i *L. rubellus*, a zwłaszcza z okazów odławianych w jesieni, obserwowano przy barwieniu przeglądowym wyraźne kryształki CaCO_3 skupione w mniejsze lub większe grupy (ryc. 6, 7, 8). Skupienia te występowały zarówno w pobliżu przelyku, jak i tuż pod torebką gruczołu. Poza tą małą różnicą, porównując



Ryc. 1



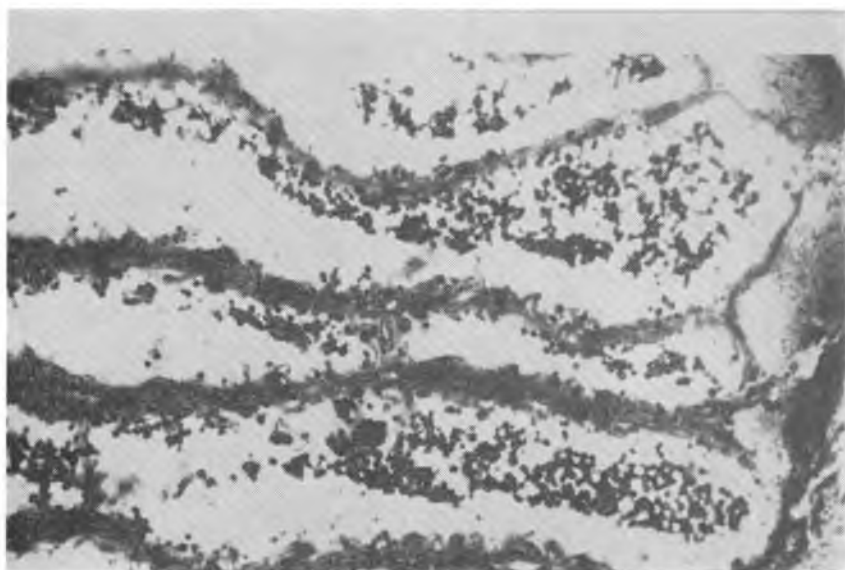
Ryc. 2



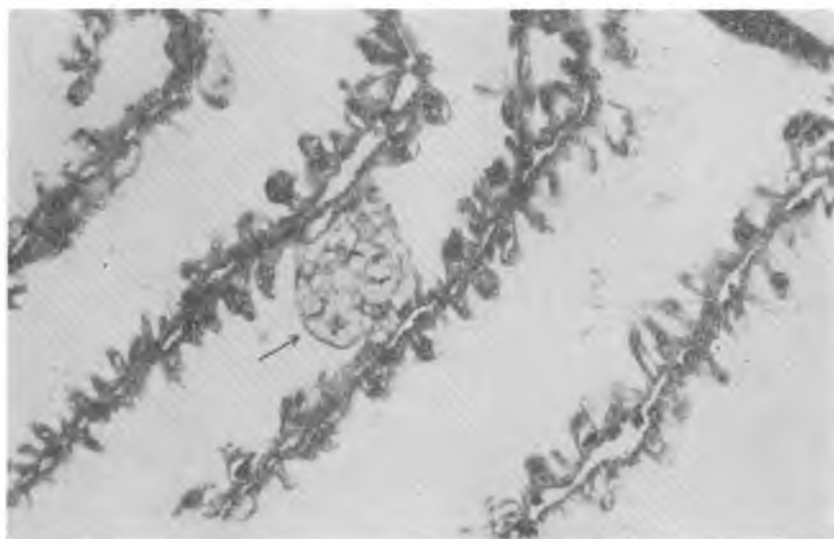
Ryc. 3



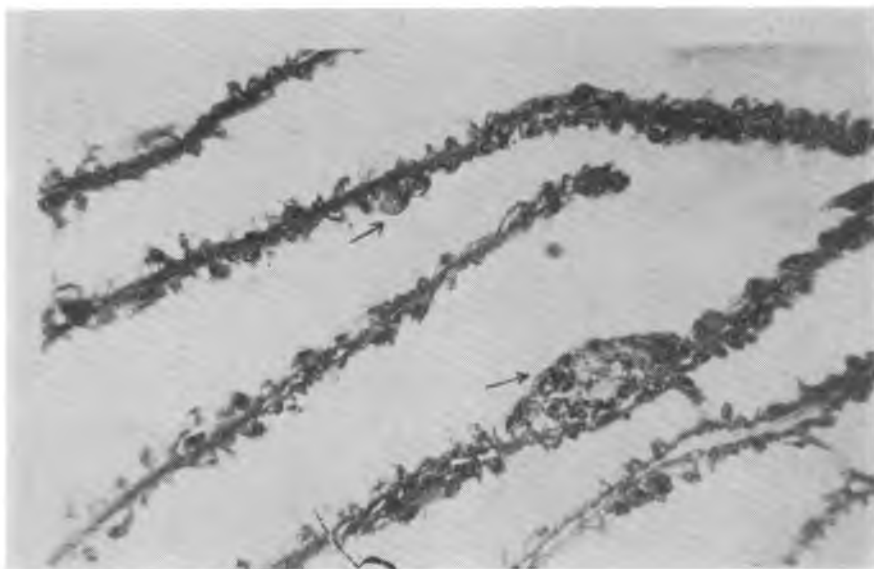
Ryc. 4



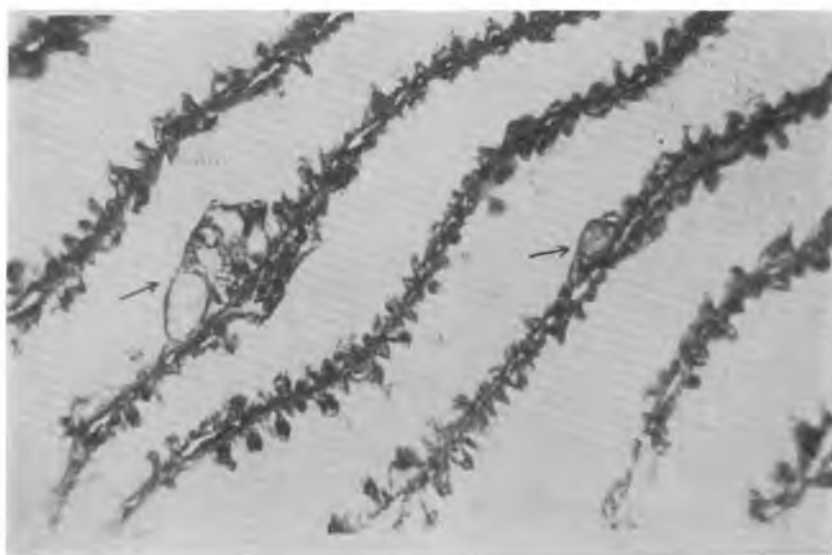
Ryc. 5



Ryc. 6



Ryc. 7



Ryc. 8

okazy odławiane na wiosnę, w lecie i w jesieni, innych istotnych różnic dotyczących histologicznej i histochemicznej budowy gruczołów Morrena u badanych gatunków dżdżownic nie zauważono.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Gruczoły Morrena są uwypukleniem przełyku, na co z jednej strony wskazuje podwójna mięśniowa torebka o budowie charakterystycznej dla mięśniówki przewodu pokarmowego, z drugiej — ograniczenie gruczołu przez nabłonek przełyku. Komórki brukowe tworzące blaszki gruczołu, a zwłaszcza komórki duże, prawdopodobnie czynnie uczestniczą w wydzielaniu. Potwierdza to obecność w komórkach dużych licznych ziarenek CaCO_3 oraz pojedynczych tylko w komórkach małych. Mała bariera (błona podstawowa + komórki śródbłonka) oddzielająca komórki gruczołowe od krwi pozwala skutecznie i szybko usunąć z niej nadmiar CaCO_3 . Bardzo możliwe, że wapń usuwany jest z krwiobiegu w dwu postaciach: a) drobnitkich, okrągłych kryształków usuwanych bezpośrednio przez komórki do przegród gruczołu, b) większych, wielobocznych kryształów, które formują się w specjalnej torebce. Torebkę tę tworzy jedna lub kilka połączonych komórek, które ulegają silnemu rozcięciu. O tym, że torebka tworzy się z komórek, świadczą jądra komórkowe widoczne pomiędzy lub na tle kryształków. Za usuwanie wapnia w postaci drobnitkich kryształków odpowiedzialne byłyby duże komórki znajdujące się na przegrodach gruczołu. Torebki z dużymi kryształami tworzą się na przegrodach zarówno w pobliżu przełyku, jak i w częściach od niego oddalonych. Torebki takie wykryto w gruczołach niektórych okazów odławianych w październiku. Być może CaCO_3 gromadzi się w nich chwilowo, a następnie zostaje wydalony do światła przełyku. Wydalanie tym sposobem byłoby sporadyczne, związane być może z chwilowym upośledzeniem pobierania pokarmu na skutek obniżenia się temperatury.

Fosfataza zasadowa wykazuje silną aktywność w torebce gruczołu, a o wiele mniejszą w błonach podstawowych przegród. Prawdopodobnie zmniejszona aktywność tego enzymu w przegrodach wiąże się z dużym stężeniem wapnia (przenikanie wapnia przez śródbłonek i błonę podstawową z naczyń krwionośnych do komórek), które hamuje aktywność fosfatazy zasadowej (Zawistowski, 1970).

W błonach podstawowych przegród gruczołów i w komórkach nabłonka przełyku w niewielkiej odległości od wolnego brzegu wykryto obecność mukopolisacharydów obojętnych. W górnej i dolnej części przełyku stwierdzono obecność typowych komórek śluzowych, dających reakcję na mukopolisacharydy kwaśne. W pozostałej części nabłonka przełyku, czyli od strony gruczołów Morrena, komórki śluzowych nie stwierdzono. Mukopolisacharydy kwaśne wykazano ponadto w komórkach gruczołowych, na wolnej powierzchni nabłonka przełyku i w mikrokosmkach. W jądrach komórek gruczołowych, komórek nabłonka przełyku i komórek śródbłonka stwierdzono wyraźny zrań chromatynowy.

PIŚMIENNICTWO

1. Franz H., Allegem., Forstzeitung, Wien, 70 178—181, 1959.
2. Moore H. F.: J. Morph. (Philadelphia) 10, 473—494, 1895.
3. Plisko J. D.: Lumbricidae — dżdżownice, Fauna Polski, 1, PWN, Warszawa 1973.
4. Zawistowski S.: Technika histologiczna, PZWL 197, 1970.

Otrzymano 19 VIII 1974.

OBJAŚNIENIA FOTOGRAFII

Fot. 1. *Lumbricus terrestris* L. Gruczoł Morrena. Zatoki naczyńniewe podnablonkowe i blaszki naczyńniewe. Hem. eoz. Pow. 300X.

Fot. 2. *Lumbricus terrestris* L. Gruczoł Morrena. Blaszki naczyńniewe widoczne od strony torebki. Tuż pod torebką duże komórki gruczołowe. Hem. eoz. Pow. 150X.

Fot. 3. *Lumbricus terrestris* L. Gruczoł Morrena. Metoda Seligmana na fosfatazę zasadową. Silny odczyn w torebce gruczołu, słabszy w błonach podstawowych przegród. Pow. 150X.

Fot. 4. *Lumbricus terrestris* L. Gruczoł Morrena. Fragment nablonka przełyku z komórkami gruczołowymi. Błękit alcjanowy. Pow. 300X.

Fot. 5. *Lumbricus terrestris* L. Gruczoł Morrena. Fragment od strony przełyku. Pomiedzy blaszkami widoczne drobne ziarenka soli wapniowych. Hem. eoz. AgNO₃. Pow. 300X.

Fot. 6. *Lumbricus terrestris* L. Gruczoł Morrena. Torebka z kryształkami soli wapniowych (strzałka). Na tle kryształków widoczne ciemne jądra. Hem. eoz. Pow. 300X.

Fot. 7. *Lumbricus terrestris* L. Gruczoł Morrena. Różnej wielkości torebki z kryształkami soli wapniowych (strzałki), w dużej widoczne jądra komórkowe. Hem. eoz. Pow. 300X.

Fot. 8. *Lumbricus terrestris* L. Gruczoł Morrena. Różnej wielkości torebki z kryształkami soli wapniowych (strzałki). Widoczne kryształki różnej wielkości i kształtu. Hem. eoz. Pow. 300X.

РЕЗЮМЕ

Морреновы железы являются выпуклостью пищевода. Составляют они ряд полостей, разделенных тонкими пластинками, на которых находятся разной величины секреторные клетки. Самые большие из них находятся вблизи сумки, а самые меньшие — вблизи просвета пищевода. Предполагается, что соли кальция удаляются из кровообращения в двух формах: всегда, в виде мелких зерен, секретиремых особенно большими клетками, а также, иногда, в виде кристаллов, образующихся в специальных сумках, созданных одной или несколькими клетками в произвольных областях пластинки. Щелочная фосфатаза проявляет большую активность в сумке железы и много меньшую в мембранах основных перегородок, где она вероятно ингибируется большой концентрацией солей кальция. Нейтральные мукополисахариды обнаружены в мембранах основных перегородок и в клетках пищеводного эпителия на небольшом расстоянии от их свободного берега. Кислые мукополисахариды обнаружены в секреторных клетках, в шлюзовых клетках появляющихся в эпителии верхней и нижней частей пищевода, на поверхности пищеводного эпителия и в микроворсинках. Наличие мукополисахаридов свидетельствует о шлюзовом характере секрета пищеводного отрезка желудочно-кишечного тракта. Реакция Фельгена показала четкую хроматиновую основу в круглых ядрах секреторных клеток и более сбитую в ядрах клеток эндотелия.

SUMMARY

Morren's calciferous glands are the convexity of the esophagus. They form a series of ventricles which are separated by delicate lamellae, on which gland cells of a various size are to be found. The largest are situated near the sac, the smallest — near the light of the esophagus. It is assumed that calcium salts are removed from the blood circulation in two forms: always, in the form of tiny granules which are mostly discharged by the larger cells and sporadically in the form of crystals created in special sacs which are made up of one or a few cells placed anywhere on the lamella. Alkaline phosphatase reveals a large activity in the gland sac and a much weaker one in the basement membranes of the septum in which it is most probably inhibited by the large concentration of calcium salts. Neutral mucopolysaccharides were ascertained in the basement membranes of the septum and in the esophagus of epithelium cells a short distance from their free edge. Acid mucopolysaccharides were ascertained in the gland cells, in the mucous membrane

cells occurring in the epithelium of the upper and lower part of the esophagus, on the surface of the esophagus epithelium and in the microcosms. The presence of mucopolysaccharides proves the mucous character of the discharge from the esophagus part of the alimentary canal. Feulgen's reaction revealed a distinct chromatin stroma in the round nuclei of the gland cells which is more compact in the nuclei of the endothelium cells.

EXPLANATIONS TO THE PHOTOGRAPHS

Phot. 1. *Lumbricus terrestris* L. Morren's gland. Vascular sub-epithelial sinuses and vascular lamellae. Haem. eos. Magn. 300X.

Phot. 2. *Lumbricus terrestris* L. Morren's gland. Vascular lamellae seen from the sac. Close under the sac, large gland cells. Haem. eos. Magn. 150X.

Phot. 3. *Lumbricus terrestris* L. Morren's gland. Seligman's method on alkaline phosphatase. Strong reaction in the gland sac, weaker reaction in the basement membranes of the septum. Magn. 150X.

Phot. 4. *Lumbricus terrestris* L. Morren's gland. A fragment of the esophagus epithelium with gland cells. Alcian blue. Magn. 300X.

Phot. 5. *Lumbricus terrestris* L. Morren's gland. A fragment of gland seen from esophagus. Tiny granules of calcium salts visible between the lamellae. Haem. eos. Magn. 300X.

Phot. 6. *Lumbricus terrestris* L. Morren's gland. The sac with calcium salts crystals (arrow). Dark nuclei visible against the background of crystals. Haem. eos. Magn. 300X.

Phot. 7. *Lumbricus terrestris* L. Morren's gland. Sacs of various sizes with the calcium salts crystals (arrows), in the large sac cellular nuclei visible. Haem. eos. Magn. 300X.

Phot. 8. *Lumbricus terrestris* L. Morren's gland. Sacs of various sizes and shapes visible. Haem. eos. Magn. 300X.

