



THE ULTRASTRUCTURE OF BRUGIA PAHANGI
AND THE POSSIBLE ANTIGENIC SOURCES

JANTIMA ROJANANIN

z

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF PHILOSOPHY
(ANATOMY)

IN
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY

1991

อธิบดีมหาวิทยาลัย

จาก

อธิบดีมหาวิทยาลัย

ผ. สหกิจ

reticulum มาก มี Golgi bodies mitochondria และยังมี infolded plasma membrane ทั้ง ด้าน apical และ basal เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวและความสามารถในการแลกเปลี่ยน และส่งผ่านสารระหว่างในและนอกตัว.

เซลล์กล้ามเนื้อประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วนคือ ส่วนนอกเรียกว่าส่วน myofibrillar เป็นส่วนที่มี myofilament ส่วนในมี cytoplasmic organelle อื่นๆ เรียกว่าส่วน non-myofibrillar ส่วน non-myofibrillar ยื่นยาวออกไปยัง dorsal และ ventral cord ซึ่งมีใยประสาทอยู่มากมาย บริเวณนี้เนื้อเยื่อประสาทกับเซลล์กล้ามเนื้อถ่ายทอดประสาทรากันอย่างใกล้ชิด ซึ่งอาจมีการส่งผ่านกระแสประสาทเพื่อควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อที่บริเวณนี้ กล้ามเนื้อเป็นส่วนหนึ่งของผนังลำตัวซึ่งอาจเป็นทางผ่านของสารอาหารจากภายนอกและ ของเสียจากภายในตัว พยาธิที่ส่งผ่านออก ชั้นกล้ามเนื้อจึงเรืองแสงปานกลางเมื่อย้อม ด้วย antiserum ทั้ง 6 ชนิดทั้งกล่าว เนื่องจากภายในชั้นนี้มี immunogenic molecule หลายชนิด แทรกอยู่ด้วยแต่อาจจะไม่มีความเข้มข้นมากนัก.

เซลล์บุผนังมดลูกและ vas deferens มีลักษณะซึ่งแสดงถึงความสามารถสูง ในการสร้างสารเพื่อส่งออกสู่ภายนอกเซลล์ คือสารอาหารซึ่งส่งออกจากเซลล์ทางด้านบนเข้าสู่ท่อเพื่อหล่อเลี้ยงตัวอ่อนในมดลูกและ sperm ใน vas deferens นอกจากนั้นเซลล์บุผนังมดลูกยังสร้าง เปลือกไข่หุ้มตัวอ่อนในมดลูกด้วย เปลือกไข่จะ กลายเป็นผนังนอกสุดของ microfilaria หลังจากถูกปล่อยเข้าสู่กระแสเลือด ส่วน นี้จึงนับเป็นแหล่ง antigen ที่สำคัญมาก เนื่องจากสัมผัสกับระบบภูมิคุ้มกันของ host โดยตรง เปลือกไข่ในมดลูกจึงเรืองแสงมากเมื่อย้อมด้วย antiserum ทั้ง 6 ชนิด ส่วนเซลล์เยื่อผิวเองและสารที่หลั่งออกมาคคือเรืองแสงปานกลาง.

เซลล์บุผนังลำไส้มี microvillus สั้นและไม่เป็นระเบียบ ซึ่งอาจแสดงว่าลำไส้ทำหน้าที่เกี่ยวกับการย่อยและการดูดซึมอาหารน้อยกว่าใน nematode อื่นๆ สารอาหารอาจส่งผ่านผนังลำตัวผ่าน pseudocoel เข้าสู่อวัยวะภายใน และของเสีย ค้างวจากภายในซึมผ่านผนังลำตัวออกสู่ภายนอก และสัมผัสกับระบบภูมิคุ้มกันของ host ได้เช่นกัน ดังนั้น pseudocoel นอกจากจะเป็น turgor pressure system แล้วยังทำหน้าที่เป็นที่เก็บทั้งสารอาหารและของเสียอีกด้วย อาหารและของเสียอาจจะซึมออกทางชั้นผิวและทางอวัยวะภายในโดยผ่านชั้น basal lamina และ basal lamina จึงเรืองแสงมากเมื่อย้อมด้วย antiserum ทั้ง 6 ชนิด เนื่องจากมี high antigenicity จากองค์ประกอบของตัวมันเองและสารอื่นที่ผ่าน เข้าออก และอาจคั่งค้างอยู่ในชั้นดังกล่าว.

Thesis Title The ultrastructure of Brugia pahangi and the possible antigenic sources.

Name Jantima Rojananin

Degree Doctor of Philosophy (Anatomy)

Thesis Supervisory Committee

 Prasert Sobhon, Ph.D.

 Sanjai Sangvichien, M.D., Ph.D.

 Wanlop Chusattayanond, Ph.D.

 Suchart Upatham, Ph.D.

 Chaitip Wanichanon , Ph.D.

Date of Graduation 17 January B.E. 2534 (1991)

ABSTRACTS

The antigenic sources of adult and the third larval stage (L3) of Brugia pahangi were detected by indirect immunofluorescent technique, using six panels of antisera, including human antisera against B. malayi and W. bancrofti, cat antisera against B. malayi and B. pahangi and jird antisera against B. malayi and B. pahangi as primary antibodies. All antisera give the same results, although four of the six were not infected by B. pahangi. This indicates the non-species specificity, and that B. pahangi, B. malayi and W. bancrofti must share most of the common antigenic molecules. All antisera reacted well with the surface of L3 B. pahangi in the whole mount preparations, indicating the non-stage specificity as well as non-species specificity. The most intense fluorescence was located at the epicuticle, the basal lamina lining the body wall, the basal laminae covering the gut and the reproductive tracts, the egg shell in utero and the sperms. The hypodermis, the muscle cells, the cuticle beneath the epicuticle, the epithelial cells of the gut and the reproductive tracts showed moderate fluorescence. The

least fluorescence was observed in the egg interior.

Transmission electron microscopy reveals that the cuticle of the L₃ and adult *B. pahangi* is surrounded by a discontinuous trilaminate membrane-like epicuticle which is one of the richest source of antigens because this structure is in direct contact with the host immunity, thus showing high intensity of fluorescent labelling. The cuticle is composed of fibrils arranging in several directions, which are believed to be collagen-like proteins, but comprising finer fibrils with no periodicity. These cuticular proteins may be slowly turned over and released to the environment and act as one source of immunogens. The hypodermis shows cellular components in the lateral cords, each cell bears organelles characteristics of highly synthetic activity and the infolded plasma membrane at both apical and the basal regions. Therefore, in addition to its role in synthesizing cuticular proteins, the infolded plasma membrane of the hypodermal cells may play roles in controlling and facilitating the exchange of nutrient and waste materials through the cuticle; and excreted materials may also be another source of antigens. The somatic muscle cells comprise myofibrillar and non-myofibrillar portions, the latter sends slender processes towards the dorsal and the ventral cords which are riched in neural elements, thus forming the interdigitating caps over the cords where nerve-muscle associations occur. The musculature, being a part of the body wall, may also permit the passages of nutritive and excretory/secretory materials in and out through it from the pseudocoel. It is also faintly stained with various antisera, thus it may contain many kinds of moderately immuogenic molecules.

The epithelial cells of uterus and the vas deferens show

ultrastructural features of synthetically active cells. Their secretions may provide nutrients for egg in utero and developing spermatozoa, respectively. On the basal side, the cells may also secrete substances to form the basal lamina of each organ. The egg shell surrounding the developing microfilariae in utero is also secreted by the uterine epithelium. This structure later becomes the sheath of circulating microfilariae, and is highly antigenic as indicated by the intense labelling with fluorescent antibodies.

The epithelial cells of the gut show short irregular microvilli. This implies that the gut may be poorly functioning in the ingestion and absorption of food, since these substances can as well be uptaken via the cuticle and hypodermis. The pseudocoel functions as a reservoir for both nutrients and waste, and also as a turgor pressure system. Substances may traverse from internal organs and pseudocoel across the body wall, and act as another excretory antigens. The basal laminae provide support to the organs and act as filtration barrier, as food and waste products are transported in and out. The basal laminae thus show high antigenicity that may be derived from their own compositions as well as from substances that pass through and therefore trapped in these layers.