

УДК: 611.814-013:611.018

ЗМІНА ВУГЛЕВОДНОГО СКЛАДУ ТКАНИН У ПРОЦЕСІ РАНЬОГО ЕМБРІОНАЛЬНОГО ГІСТОГЕНЕЗУ ЗАГРУДНИННОЇ ЗАЛОЗИ ЛЮДИНИ

Олійник І.Ю.

Буковинський державний медичний університет, кафедри загальної та оперативної хірургії з топографічною анатомією, патологічної анатомії та судової медицини (Театральна пл., 2, м.Чернівці, 58000, Україна)

Резюме. На 96 зародках, передплодах і плодах людини, які розвивались у матці при відсутності впливів шкідливих факторів зовнішнього середовища, віком від 21 доби до 12 тижнів на стадіях 9-23 та початку плодового періоду за класифікацією інституту Карнегі виявлено закономірний перерозподіл глікополімерів в епітеліальних і мезенхімних компонентах закладки за груднинної залози (ЗЗ). Диференціювання епітеліальної закладки ЗЗ веде до інтенсивного накопичення рецепторів лектинів сої (SBA), зав'язі пшениці (WGA), бузини чорної (SNA), арахісу (PNA) на цитолемі і в цитоплазмі клітин. Децю меншу виразність цих рецепторів спостерігали в клітинах прилеглої до епітеліальної закладки ЗЗ мезенхіми.

Ключові слова: глікополімери, пренатальний онтогенез, за груднинна залоза, епітеліальні клітини, мезенхіма.

Summary. Regularity of redistribution of glycopolymers in the epithelial and mesenchymal components of the thymic gland has been established in 96 human embryos, fetuses, in the absence of visible environmental disturbing factors, aged from 21 days to 12 weeks at stages 9-23 at the beginning of the embryonal period according to the classification of Carnegie's institute. The differentiation of the epithelial anlage of the thymus results in an intensive accumulation of the lectin receptors of SBA, WGA, SNA, PNA on the cellular cytolemma and cytoplasm. A somewhat lower number of these receptors are in the cells of the mesenchyma adjacent to the epithelial thymic anlage.

Key words: glycopolymers, prenatal ontogenesis, thymus, epithelial cells, mesenchyma.

Вступ

В останні десятиліття детальна увага спеціалістів зосереджена на дослідженні будови й функціонування однієї з найбільш важливих інтегративних систем організму - імунної системи, яка, будучи високо спеціалізованою, знаходиться в стані постійної проліферації [Сапин, Етингер, 1996]. У цьому зв'язку любий ендогенний або екзогенний вплив обов'язково ампліфікується [Волошин с соавт., 2002]. При цьому пошкодження імунної системи може проявлятися посиленням або супресією імунних функцій організму, або зовсім клінічно не проявлятися. Представниками Московської школи лімфологів під керівництвом М.Р.Сапіна були сформульовані загальні морфофункціональні закономірності, характерні для органів імунної системи [Сапин, 1993; Сапин, Етингер, 1996]. Детально вивчений процес розвитку центральних і периферичних лімфоїдних органів у ембріогенезі [Хлыстова с соавт., 2002]. Досліджено функціональну значимість різноманітних зон органів імунної системи, їх клітинне представництво. У доступній нам літературі ми не знайшли досліджень, які були б спрямовані на вивчення лектиногістохімічних характеристик ембріогенезу центральних лімфоїдних органів людини та за груднинної залози (ЗЗ) зокрема. Адже, на послідовних етапах гісто- і морфогенезу в складі клітин і тканин різних видів тварин і людини відбувається постійна перебудова лектин-рецепторних систем [Луцик с соавт., 1989]. Зі специфічною структурою вуглеводних детермінант глікопротеїнів пов'язані механізми, які забезпечують орієнтацію білкових молекул у біліпідному шарі плазмолемі, стабілізацію просторової структури білків, трансмембранний і внутрішньоклітинний транспорт (перенесення гідролітичних ферментів із комплексу Гольджі в лізосоми), а також молекулярні

механізми міжклітинного розпізнавання. Останні відіграють важливу роль у дозріванні й диференціації клітин, гісто- і органогенезі, контактному гальмуванні проліферації, забезпеченні імунного нагляду; вони лежать в основі проявів злоякісного росту [Яценко з співавт., 2003].

У переважній більшості досліджень [Сырцов, 1990; Дегтярьова з співавт., 2000; Яценко, 2001; Стойка з співавт., 2003; Яценко з співавт., 2003] вивчення гістотопографії рецепторів лектинів здійснювалося за умов наявності чи відсутності патології окремих органів і систем у дорослих людей та тварин. Дані літератури з питань вивчення зміни вуглеводного складу тканин у перші місяці пренатального онтогенезу людини нечисленні та короткі [Шаповалова, Луцик, 2000 а, б; Бибик, 2005], а стосовно вуглеводного складу тканин у процесі раннього ембріонального гістогенезу ЗЗ людини - відсутні.

Метою дослідження було вивчення змін вуглеводного складу тканин у процесі раннього ембріонального гістогенезу ЗЗ людини.

Матеріали та методи

Досліджено 96 зародків і передплідів людини віком від 21 доби до 12 тижнів внутрішньоутробного розвитку 2,5-70,0 мм тім'яно-куприкової довжини (ТКД) (згідно за періодизацією Г.А.Шмідта) на стадіях від раннього періоду зрілого нервового жолобка і незрілих сомітів до початку плодового періоду (що відповідає X-XII рівням розвитку за Стрітером та 9-23 стадіям, які прийняті в інституті Карнегі). Для дослідження використовували ембріональний матеріал, який розвивався в матці за умови відсутності шкідливих впливів факторів

Таблиця 1. Характеристика вуглеводної специфічності лектинів, використаних у дослідженні раннього пренатального онтогенезу 33 людини.

Назва лектину	Вуглеводна специфічність
Лектин сої (SBA)	N-ацетил-D-галактозамін
Лектин зав'язі пшениці (WGA)	N-ацетилнейрамінова (сіалова) кислота і в меншій мірі N-ацетил-D-глюкозамін
Лектин бузини чорної (SNA)	N-ацетилнейрамінова (сіалова) кислота і в меншій мірі β-D-галактоза
Лектин арахісу (PNA)	β-D-галактоза
Лектин сочевиці (LCA)	α-D-маноза
Лектин кори золотого дощу (LABA)	α-L-фукоза
Лектин бульб картоплі (STA)	N-ацетил-хітотріозамін
Лектин виноградного слимака (HPA)	N-ацетил-2-дезоксигалактозамін

зовнішнього середовища. Фарбування оглядових препаратів здійснювали гематоксилином і еозином. Глікополімери клітин і позаклітинних тканинних структур виявляли шляхом обробки серійних зрізів лектинами сої (SBA), бульб картоплі (STA), виноградного слимака (HPA), зав'язі пшениці (WGA), бузини чорної (SNA), арахісу (PNA), сочевиці (LCA), золотого дощу (LABA), кон'юго-

ваними з пероксидазою хрому. Скорочене найменування лектинів приведено у відповідності до міжнародної номенклатури лектинів [Vog-Hansen, Spengler, 1983]. Препарати обробляли з використанням стандартних наборів НВП "Лектинотест" (м.Львів) у розведенні лектину 1:50 за рекомендованою методикою [Луцик з співавт., 1989]. Візуалізацію місць зв'язування лектину проводили в системі "діамінобензидин - H₂O₂" [Луцик з співавт., 1989]. Інтенсивність реакції, що розвивається, оцінювали за забарвленням: від світло- до темно-коричневого. Контроль специфічності реакції здійснювали шляхом виключення діамінобензидину зі схеми обробки препаратів (вуглеводну специфічність лектинів - табл. 1).

Інтенсивність зафарбовування зрізів різними лектинами оцінювали в балах двома дослідниками незалежно один від одного. Бали: 0, 1, 2, 3, 4 - відповідно:

відсутність реакції, слабо позитивна, помірно позитивна, сильна і дуже сильна реакція.

Результати. Обговорення

Вивчали зміну вуглеводного складу тканин у процесі раннього ембріонального гістогенезу 33 людини, досліджуючи епітеліальну закладку 33 та прилеглу до неї мезенхіму. Вміст рецепторів лектинів цитолеми та цитоплазми клітин подано у діаграмах 1 і 2 (рис. 1, 2). Відсутність рецепторів лектину відповідає 5-ти умовним одиницям (у.о.). Вміст в "1 бал" - відповідає 10 у.о., вміст "2 бали" - відповідає 15 у.о., вміст "3

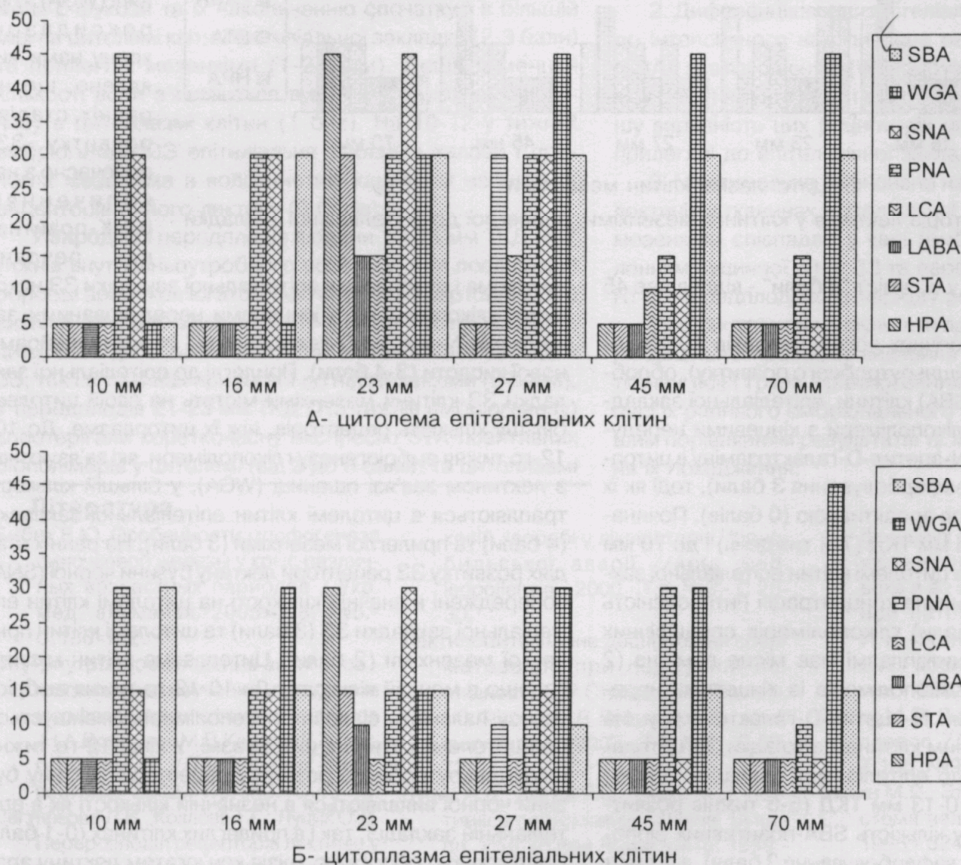


Рис. 1. Вміст рецепторів лектинів клітин епітеліальної закладки за груднинної залози.

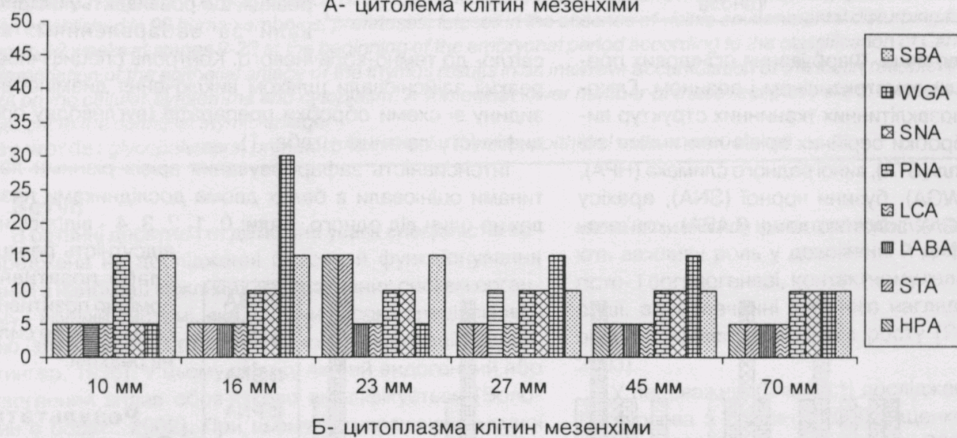


Рис. 2. Вміст рецепторів лектинів у клітинах мезенхіми, прилеглої до епітеліальної закладки за груднинної залози.

бали" - відповідає 30 у.о., вміст "4 бали" - відповідає 45 у.о.

У серійних гістологічних зрізах зародків 10-13 мм ТКД (5-6 тижнів внутрішньоутробного розвитку), оброблених лектином сої (SBA) клітини, епітеліальної закладки ЗЗ накопичують глікополімери з кінцевими нередукуючими залишками N-ацетил-D-галактозаміну в цитоплазмі (інтенсивність зафарбовування 3 бали), тоді як їх цитолема залишається ареативною (0 балів). Починаючи з передплодів 16 мм ТКД (7-й тиждень) і до 70 мм ТКД (12-й тиждень) на цитолемі клітин епітеліальної закладки ЗЗ виявлена сильна концентрація (інтенсивність зафарбовування 3 бали) глікополімерів специфічних до лектину сої, а в цитоплазмі має місце помірна (2 бали) концентрація глікополімерів із кінцевими нередукуючими залишками N-ацетил-D-галактозаміну. На противагу епітеліальним клітинам закладки ЗЗ цитолема клітин прилеглої до епітеліальної закладки ЗЗ мезенхіми, у зародків 10-13 мм ТКД (5-6 тижнів розвитку), експресує велику кількість SBA-позитивних біополімерів (інтенсивність зафарбовування 3 бали), а їх вміст у цитоплазмі клітин мезенхіми помірно позитивний

цитолема і цитоплазма епітеліальної закладки ЗЗ накопичує глікополімери з кінцевими нередукованими залишками N-ацетил-D-глюкозаміну і N-ацетилнейрамінової кислоти (3-4 бали). Прилегли до епітеліальної закладки ЗЗ клітини мезенхіми містять на своїй цитолемі більшу кількість рецепторів, ніж їх цитоплазма. До 10-12-го тижня ембріогенезу глікополімери, які зв'язуються з лектином зав'язі пшениці (WGA), у більшій кількості трапляються в цитолемі клітин епітеліальної закладки (4 бали) та прилеглої мезенхіми (3 бали). На ранніх стадіях розвитку ЗЗ рецептори лектину бузини чорної (SNA) зосереджені в значній кількості на цитолемі клітин епітеліальної закладки ЗЗ (3 бали) та цитолемі клітин прилеглої мезенхіми (2 бали). Цитоплазма клітин містить їх дещо в меншій кількості. До 10-12-го тижня ембріогенезу наявність сіалових глікополімерів зменшується і на цитолемі клітин і в цитоплазмі. У кінці 12-го тижня внутрішньоутробного розвитку рецептори лектину бузини чорної виявляються в незначній кількості як в епітеліальній закладці, так і в прилеглих клітинах (0-1 бал). Послідовною обробкою зрізів кон'югатом лектину арахісу (PNA) з пероксидазою хрому виявлено стійку на-

(інтенсивність зафарбовування 2 бали). У передплодів 16-70 мм ТКД (7-12 тижнів ембріогенезу) клітини прилеглої до епітеліальної закладки ЗЗ мезенхіми як у цитолемі (2 бали), так і в цитоплазмі (1 бал) знижують експресію сполук, які специфічно зв'язуються з SBA.

При послідовній обробці зрізів кон'югатом лектину зав'язі пшениці (WGA) з пероксидазою хрому нами виявлено, що на ранніх стадіях розвитку ЗЗ, одночасно з накопиченням ШИК-позитивних речовин

явність практично впродовж всього досліджуваного періоду глікополімерів з кінцевими нередукованими залишками β -D-галактози як на поверхні, так і в цитоплазмі клітин епітеліальної закладки та прилеглої мезенхіми (3 і 2 бали відповідно). На кінець 12-го тижня ембріогенезу 33 дещо зменшується кількість рецепторів до даного лектину в цитоплазмі клітин прилеглої до епітеліальної закладки мезенхіми та молодих колагенових волокон (1-2 бали).

Досліджуваний період ембріогенезу 33 характеризується короткочасною незначною появою рецепторів до лектину сочевиці (LCA) з кінцевими нередукованими залишками α -D-манози в передплоді 23-45 мм ТКД (52 доби - 10 тижнів внутрішньоутробного розвитку) тільки на поверхні клітин епітеліальної закладки 33 (2 бали) та прилеглої до неї мезенхіми (1 бал). Цитоплазма епітеліальних клітин і прилеглої мезенхіми залишається ареактивною (0 балів).

У ранніх зародків людини в закладці 33 відсутні (0 балів) рецептори лектину золотого дощу (LABA). У процесі ембріогенезу диференціювання епітеліальної закладки 33 призводить у передплоді 23-27 мм ТКД (52-57 доби внутрішньоутробного розвитку) до синтезу глікополімерів з кінцевими нередукованими залишками α -L-фукози та їх накопиченню спочатку і в більшій мірі на цитолемі клітин епітеліальної закладки (2-3 бали) та прилеглої мезенхіми (1-2 бали). Дещо в меншій кількості вони з'являються в цей же період ембріогенезу в цитоплазмі клітин (1 бал). На 10-12-у тижнях ембріогенезу 33 епітеліальна закладка залози і прилегла мезенхіма з волокнистим каркасом не містить рецепторів даного лектину (0 балів).

У зародків і передплоді людини 10-18 мм ТКД (5-7 тижнів внутрішньоутробного розвитку) при послідовній обробці зрізів кон'югатом лектину бульб картоплі (STA) виявлена повна відсутність N-ацетил-хітотріозаміну в цитолемі і цитоплазмі як клітин епітеліальної закладки 33, так і в клітинах прилеглої до неї мезенхіми (0 балів). У передплоді 21-23 мм ТКД (7,5 тижнів ембріогенезу) спостерігали короткочасну експресію STA-позитивних біополімерів у цитолемі (від 3 до 0 балів) та цитоплазмі

(2-3 бали) клітин епітеліальної закладки 33 і цитолемі (0-3 бали) та цитоплазмі (2-4 бали) прилеглих до епітеліальної закладки 33 клітин мезенхіми. На 8-12 тижнях ембріогенезу (передплоді 27-70 мм ТКД) клітини епітеліальної закладки 33 і прилеглої до неї мезенхіми були STA-ареактивними.

У ході пренатального онтогенезу 33 людини при обробці серійних гістологічних зрізів лектином виноградного слимака (HPA) виявлено короткочасну появу HPA-позитивних біополімерів з кінцевими нередукованими залишками N-ацетил-2-дезоксигалактози-2-аміно-D-глюкопіранози у передплоді 21-23 мм ТКД (7-й тиждень внутрішньоутробного розвитку) на цитолемі клітин епітеліальної закладки 33 (4 бали) та їх цитоплазмі (3 бали). Цитолема клітин прилеглої до неї мезенхіми ареактивна, а цитоплазма містить незначну кількість (2 бали) HPA-позитивних сполук.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Упродовж раннього ембріонального гістогенезу за груднинної залози людини спостерігається закономірна зміна вуглеводного складу тканин епітеліальної закладки органа та прилеглої до неї мезенхіми.

2. Диференціювання епітеліальної закладки 33 веде до інтенсивного накопичення рецепторів лектинів сої (SBA), зав'язі пшениці (WGA), бузини чорної (SNA), арахісу (PNA) на цитолемі і в цитоплазмі клітин. Дещо меншу виразність цих рецепторів спостерігали в клітинах прилеглої до епітеліальної закладки 33 мезенхіми.

3. Максимально інтенсивне накопичення рецепторів лектинів у тканинах епітеліальної закладки та прилеглої мезенхіми співпадає у часі (ембріогенезу) із становленням судинної сітки 33 та переходом від зародкового до передплодового періоду розвитку.

Використовуючи результати проведеного дослідження доцільно провести вивчення вуглеводного складу тканин всієї групи бранхіогенних залоз людини в процесі їх раннього ембріонального гістогенезу, з подальшим порівнянням результатів та можливістю трактування їх походження.

Література

- Бибик Е.Ю. Особенности морфогенеза вилочковой железы у крыс различных возрастных периодов // Укр. мед. альманах. - 2005. - Т.8, №5. - С.180-182.
- Внутриутробное введение антигенов - модель для изучения процессов морфогенеза лимфоидных органов / Н.А.Волошин, М.В.Карзов, Е.А.Григорьева и др. // Таврич. мед.-биол. вестник. - 2002. - Т.5, №3. - С.43-46.
- Дегтярнова Л.В., Козлова Т.Г., Луцик О.Д. Перерозподіл рецепторів лектинів у слизовій оболонці шлунка та дванадцятипалої кишки при виразковій хворобі у ліквідаторів Чорнобильської аварії // Acta med. leopoliensia. - 2000. - Т.6, №3. - С.23-30.
- Лектиноцитохімічне дослідження сперматозоїдів при подружній неплідності / Б.Р.Стойка, А.М.Яценко, І.С.Фітьо, О.Д.Луцик // Acta med. leopoliensia. - 2003. - Т.9, №2. - С.69-72.
- Луцик А.Д., Детюк Е.С., Луцик М.Д. Лектини в гистохимии. - Львов: Выща шк. Изд-во при Львов.ун-те, 1989. - 144с.
- Последовательность встраивания лимфоидных органов в развивающуюся иммунную систему плода человека и ее значение в перинатальной патологии // З.С.Хлыстова, И.И.Калинина, С.П.Шмелева, Е.Л.Работникова // Архив патологии. - 2002. - №2. - С.16-19.
- Сапин М.Р. Лимфоидные структуры и стресс // Морфология. - 1993. - Т.105, №9-10. - С.146-147.
- Сапин М.Р., Этингер Л.Е. Иммунная система человека. - М.: Медицина, 1996. - 324с.
- Сырцов В.К. Морфофункциональные особенности эпителиальных эле-

- ментов трахеи и бронхов человека и животных в онтогенезе //Актуал. вопр. морфологии: Тезисы докладов III съезда АГЭ и топографоанатомов Украины.- Черновцы, 1990.- С.309.
- Хлыстова З.С., Шмелева С.П., Калинина И.И. Карта заселения органов иммунной системы эмбриона и плода человека Т- и В-лимфоцитами и начало эндокринной функции тимуса //Иммунология.- 2002.- №2.- С.80-82.
- Шаповалова Е.Ю., Луцик А.Д. Изменение углеводного состава тканей в процессе раннего эмбрионального гистогенеза дыхательной системы у человека //Таврич. мед.-биол. вестник.- 2000а.- Т.3, №1-2.- С.135-138.
- Шаповалова Е.Ю., Луцик А.Д. Изменение углеводного состава тканей в процессе раннего эмбрионального гистогенеза поджелудочной железы у человека //Таврич. мед.-биол. вестник.- 2000б.- Т.4, №3-4.- С.169-173.
- Яценко А.М., Дудок В.В., Смолькова О.В. Селективность зв'язування фукозоспецифічних лектинів зі структурними компонентами деяких органів //Експерим. та клін. фізіол. і біохімія.- 2003.- №2.- С.37-40.
- Яценко А.М., Смольникова О.В., Луцик О.Д. Рецептори фукозоспецифічних лектинів в структурних компонентах окремих органів //Таврич. мед.-биол. вестник.- 2003.- Т.5, №3.- С.174-176.
- Яценко Л.М. Цитохімічні та ультраструктурні прояви ушкодження децидуальної оболонки і плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних // Експерим. та клін. фізіол. і біохімія.- 2001.- №2.- С.49-52.
- Lectin biology, biochemistry, clinical biochemistry /eds. T.C.Bog-Hansen & G.A.Spengler //Proc.V lectin meeting.- Berlin, 1983.- Vol.3.- P.87-415.