

**Н.И.Майструк
Е.Ю.Шаповалова**

Крымский государственный
медицинский университет
им. С.И.Георгиевского

Ключевые слова: эмбриональный гистогенез человека, трубная беременность, лектины, поджелудочная железа.

Надійшла: 02.09.2009

Прийнята: 28.09.2009

УДК 611.013.7/8+611-018+611.24+611.611

ВЛИЯНИЕ ЭКТОПИЧЕСКОЙ ИМПЛАНТАЦИИ ЗАРОДЫШЕЙ ЧЕЛОВЕКА НА ОСОБЕННОСТИ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ КЛЕТОК ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ И МЕЗЕНХИМНЫХ ЗАКЛАДОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской темы «Закономерности пренатального и постнатального гисто- и органогенеза при типической и атипической имплантации» (номер государственной регистрации 0104U009463).

Резюме. Изучены 122 зародыша человека в возрасте от 21 суток до 12 недель внутриутробного развития при типичной имплантации и 42 зародыша при эктопической имплантации на стадиях последовательно от раннего периода нервного желобка до начала дефинитивного плодного периода. Маннозосоединения клеток и экстрацеллюлярных структур поджелудочной железы выявляли путем обработки серийных срезов лектином чечевицы, конъюгированного с пероксидазой хрена. Маннозосодержащие гликоконъюгаты (рецепторы лектина чечевицы) исполняют большую роль в специфическом распознавании клеткой мишеней и в повышении межклеточной адгезии. При атипичной имплантации имеет место нарушение процессов адгезии, которые проявляются снижением биосинтеза маннозосоединений (рецепторы лектина чечевицы).

Морфологія. – 2009. – Т. III, № 3. – С. 70-74.

© Н.И.Майструк, Е.Ю.Шаповалова, 2009

Majstruk N.I., Shapovalova E.Yu. Influence of human embryos ectopic implantation on intercellular adhesion formation of epithelium and mesenchyme germ cells of pancreas.

Summary. In 122 human embryos in the age from 21 day to 12 weeks of the intrauterus development at absence of the obviously expressed damaging factors of external environment, which includes stage X - XXIII and beginning of the fetal period by classification of Carnegie institute and in 42 embryos of tubal pregnancy, regularity of glycopolymers redistribution in pancreas epithelial and mesenchymal germs have been revealed. Manosoconjugates of the cells and extracellular matrix have been identified by lectin of *Lens culinaris*. At typical implantation manosoconjugates are connected to cell to cell adhesion. At tubal implantation the process of adhesion changes. It is correlated with decreasing of manosoconjugates biosynthesis.

Key words: human embryonic histogenesis, pancreas, tubal pregnancy, lectins.

Введение

Имплантация эмбриона в стенку маточной трубы, в силу несоответствия кровеносной и лимфатической системы трубы и матки, приводит к формированию неполноценного плацентарного барьера (Глуховец Б.И., Ухов Ю.И., 1980; Radaelli T., et al., 2003), в результате чего эктопическая беременность создает предпосылки и условия для патологического эмбриогистогенеза. Известно, что имеется взаимосвязь между морфологическими изменениями в плаценте и причинами антенатальной смерти плода (Орел Ю.М., 2004). При задержке внутриутробного развития регистрируются нарушение созревания ворсин, воспалительная инфильтрация и увеличение дистрофических процессов (Решетникова

О.С., Кононенко О.В., 2004).

Анализ мировой литературы показывает, что самые незначительные нарушения в жизнедеятельности клеток неизбежно изменяют состав и характер распределения гликополимеров – рецепторов лектинов в клеточных мембранах и тканевых экстрацеллюлярных структурах, что служит одним из наиболее ранних и объективных признаков развивающейся патологии (Чемоданова Е.И. и соавт., 2003). Литературные данные по вопросам изменения гистотопографии рецепторов лектинов в легких человека на псевдожелудистой стадии развития в условиях атипической имплантации нами не обнаружены, в то время как при нормальной плацентации такие данные имеются, преимущественно выполнен-

ные в нашей лаборатории (Шаповалова Е.Ю., Луцик А.Д., 2000).

Целью работы явилось изучение репрессии и дерепрессии гликополимеров с концевыми нередуцирующими остатками α -D-маннозы на поверхности и в цитоплазме клеток паренхимы, стромы и в тканевых экстрацеллюлярных структурах поджелудочной железы в процессе становления ее органной специфичности у зародышей человека, развивавшихся в матке и в маточных трубах при отсутствии явно выраженных повреждающих факторов внешней и внутренней среды.

Материалы и методы

Изучены 122 зародыша человека в возрасте от 21 суток до 12 недель внутриутробного развития при типической имплантации и 42 зародыша при атипической имплантации на стадиях последовательно от раннего периода нервного желобка до начала дефинитивного плодного периода. Обзорные препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Маннозоконъюгаты выявляли путем обработки серийных срезов лектином чечевицы конъюгированного с пероксидазой хрена. Препараты обрабатывали с применением стандартных наборов НПК «Лектинотест» г. Львов в разведении лектина 1:50 по рекомендуемой методике (Луцик А.Д. и соав., 1989). Визуализацию мест связывания лектина проводили в системе диаминобензидин-перекись водорода. Контроль специфичности реакции осуществляли путем исключения из схемы обработки препаратов диаминобензидина. Лектин чечевицы (LCA), специфичен к концевым нередуцирующим остаткам α -D-маннозы. Специфичность лектина к терминальным нередуцирующим моносахаридным остаткам гликоконъюгатов дана в соответствии с данными (Антонюк В.О., 2005). Интенсивность окрашивания срезов лектином оценивалась в баллах двумя исследователями независимо друг от друга. Баллы 0, 1, 2, 3, 4 – соответственно отсутствие, слабая, умеренная, сильная и очень сильная реакции.

Результаты и их обсуждение

Первое неяркое цветное проявление присутствия гликополимеров с концевыми нередуцирующими остатками альфа-D-маннозы (рецепторы лектина чечевицы) в эпителиальных закладках поджелудочной железы у зародышей развивавшихся при имплантации в стенку матки наблюдается на свободной апикальной поверхности эпителия протоков железы у зародышей в возрасте 43 суток (14 мм длины) (табл. 1). Цитолемма эпителиоцитов также имеет минимальное количество таких рецепторов. На протяжении второй половины второго месяца развития (зародыши 16-27 мм длины) прослеживается незначительное усиление биосинтеза и накопление α -D-маннозосодержащих биополимеров в местах локализации, характерных для более ранних зародышей.

В цитоплазме эпителиоцитов характер связывания лектина равномерный недифференцированный, что свидетельствует о диффузном распределении небольшого количества соответствующих лектину чечевицы биополимеров. В течение третьего месяца пренатального онтогенеза (зародыши 30-70 мм длины) происходит дальнейшая интенсификация продукции и накопления лектин-позитивного материала. Рецепторы LCA появляются на базальной мембране эпителия протоков и ацинусов и увеличивают свое присутствие на апикальной поверхности. На фоне ярко реактивных апикальной и базальной поверхностей цитоплазма эпителиоцитов содержит менее интенсивную бензидиновую метку.

На самых ранних стадиях развития мезенхимный синцитий брыжейки, в которую врастают эпителиальные закладки поджелудочной железы, альфа-D-маннозоконъюгаты не синтезируются. Первые признаки присутствия таких молекул обнаруживаются в виде неяркой бензидиновой метки на цитолемме элементов мезенхимы у зародышей в возрасте 42 суток (13мм длины) (табл. 1). Цитоплазма клеток ареактивна. Интенсивность метки более высокая в клетках мезенхимы, не имеющей непосредственного контакта с эпителиальными закладками. Для второй половины второго месяца развития (зародыши 14-27мм длины) характерно некоторое усиление биосинтеза лектин-положительного материала и обогащение им цитолеммы клеток мезенхимы. В цитоплазме также появляется лектин-позитивные соединения. Наиболее выражен процесс концентрации рецепторов лектина чечевицы в клетках менее дифференцированной мезенхимы, не контактирующей с эпителием протоков. На третьем месяце эмбриогенеза (зародыши 30-70 мм длины) закономерная трансформация клеток мезенхимы в молодые фибробласты эмбриональной соединительной ткани сопровождается снижением содержания LCA⁺ соединений на цитолемме и в цитоплазме клеток. К 12 неделе (зародыши 70 мм длины) перипрителиальные фибробласты освобождаются от лектин-положительного материала, в то время как фибробласты, не контактирующие с эпителиальными закладками, сохраняют такие биополимеры на цитолемме. Фибриллярные структуры эмбриональной соединительной ткани остаются без альфа-D-маннозоконъюгатов в течение всего наблюдательного периода.

Известно, что в эмбриональном периоде маннозосодержащие гликоконъюгаты (рецепторы лектина чечевицы) играют роль в специфическом узнавании клеткой ее мишеней и в повышении межклеточной адгезии (Hart C.E., Wood J.G., 1985; Brysk M.M. et al., 1986). В связи с этим формирование плотных межклеточных контактов между клетками эпителиального пласта трахеи и ветвящихся бронхов сопровождается

ся накоплением маннозосодержащих биополимеров, а дифференцировка мезенхиоцитов в

молодые фибробласты ведет к дерепрессии таких соединений.

Таблица 1

Количественное содержание рецепторов лектина чечевицы в эпителиальных и мезенхимных закладках поджелудочной железы при типической имплантации*

Теменно-копчиковая длина зародышей, в мм	Название структуры				
	Эпителий крупных протоков			Мезенхима или эмбриональная соединительная ткань крупных протоков поджелудочной железы	
	Апикальная поверхность	Базальная мембрана	Цитоплазма	Цитолемма	Цитоплазма
3,2	0	0	0	0	0
5,5	0	0	0	0	0
6,5	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0
13	0	0	0	1	0
14	1	0	0	1	0
16	1	0	0	2	0
17	2	0	1	2	1
18	2	0	1	2	1
20	2	0	1	0	1
21	2	0	1	2	1
23	2	0	1	3	1
25	2	0	1	3	1
27	2	1	1	3	1
30	2	3	1	0	1
32	3	3	2	2	1
45	3	3	2	2	0
56	3	4	2	1	0
70	3	4	2	0	0

Примечание: * - интенсивность развившейся реакции оценивали в баллах: 0 – отсутствие реакции, 1 балл – очень слабая реакция, 2 балла – слабая реакция, 3 балла – умеренная реакция, 4 балла – сильная реакция.

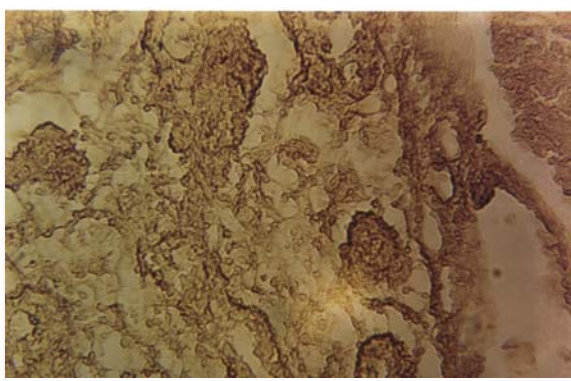


Рис. 1. Зародыш в возрасте 62 суток (32 мм ТКД). Обработка конъюгатом лектина чечевицы с пероксидазой хрена. Проявление в системе диаминобензидин-перекись водорода закладки протоков третьего и четвертого порядка и окружающая мезенхима поджелудочной железы. ×240.

При эктопической имплантации в маточную трубу прослеживается общее замедление развития эмбрионов. Размеры зародышей не соответствуют срокам беременности. Биосинтез гликополимеров с концевыми нередуцирующими остатками альфа-D-маннозы (рецепторы лектина чечевицы) в эпителиальных и мезенхимных закладках поджелудочной железы существенно меняется в сторону уменьшения при тех же размерах эмбрионов, что и при типической имплантации. У самого старшего из изученных зародышей при трубной беременности в возрасте 60 суток (25 мм длиной) в эпителиальных закладках железы рецепторы лектина чечевицы присутствуют в небольших количествах только на апикальной поверхности эпителия и в цитоплазме периепителиальных мезенхиоцитов, что свидетельствует о нарушении процессов адгезии.

Выводы

1. Проведенное исследование содержания

рецепторов лектина чечевицы в эпителиальных закладках поджелудочной железы при имплантации в стенку матки позволило выявить, что лектин-положительные соединения, появляясь впервые у зародышей в возрасте 43 суток (14 мм длины) на апикальной поверхности и цитолемме клеток пласта, до конца второго месяца эмбриогенеза сохраняются на одном уровне. В течение третьего месяца развития (зародыши 30-70 мм длины) они накапливаются на апикальной поверхности и появляются на базальной мембране эпителия и в меньшем количестве – в цитоплазме эпителиоцитов.

2. В мезенхимных закладках поджелудочной железы гликополимеры с концевыми нередуцируемыми остатками альфа-D-маннозы, соединяющиеся с лектином чечевицы, впервые появляются на цитолемме периепителиальных клеток у зародышей в возрасте 42 суток (13 мм длины) и в большем количестве на цитолемме клеток мезенхимы, не имеющей непосредственного контакта с эпителиальными закладками протоков. Во второй половине второго месяца (зародыши 14-27 мм длины) лектин-положительный материал увеличивается на цитолемме и появляется в

цитоплазме клеточных элементов мезенхимы. Дифференцировка клеток периепителиальной мезенхимы в молодые фибробласты на третьем месяце эмбриогенеза железы (зародыш 30-70 мм длины) сопровождается полной редукцией рецепторов лектина чечевицы.

3. При атипической имплантации происходит нарушение процессов адгезии, проявляющееся снижением биосинтеза маннозоконъюгатов (рецепторы лектина чечевицы) в эпителиальных и мезенхимных закладках поджелудочной железы.

Перспективы дальнейших исследований

Использование лектинов как структурно-функциональных зондов поможет выяснению значения и характера трансформации углеводных детерминант клеточных мембран и неклеточных тканевых структур поджелудочной железы эмбрионов человека, развивавшихся в условиях атипической имплантации, что, в сравнении с нормальным гисто- и органогенезом железы, может способствовать выработке объективных критериев оценки биологической полноценности органов формирующихся при трубной беременности.

Литературные источники

Антонюк В. О. Лектини та їх сировинні джерела / В. О. Антонюк. – Львів : Кварт, 2005. – 554 с.

Глуховец Б. И. Морфологические проявления иммунных реакций при нарушенной трубной беременности / Б. И. Глуховец, Ю. И. Ухов // Архив анат. – 1980. - № 12. – С. 99-101.

Луцик А. Д. Лектины в гистохимии / А. Д. Луцик, Е. С. Детюк, М. Д. Луцик. – Львов : Вища школа, 1989. – 139 с.

Орел Ю. М. Патоморфологія плаценти при антенатальній загибелі длода / Ю. М. Орел // Ужгородський медичний вісник. – 2004. – Т. 8, № 3-4. – С. 319.

Решетнікова О. С. Морфофункціональні особливості системи „мати-плацента-плід” під час затримки внутрішньоутробного розвитку плода у терміні гестації 26-27 тижнів / О. С. Решетнікова, О. В. Кононенко // Буковинський медичний вісник. – 2004. – Т. 8, № 3-4. – С. 201-204.

Чемоданова Е. И. Метод лектиногистохимии в дифференциальной диагностике красной вол-

чанки / Е. И. Чемоданова, О. А. Притуло, Е. Ю. Шаповалова // Таврический медико-биологический вестник. - 2003. – Т. 6, № 3. - С. 132 -133.

Шаповалова Е. Ю. Изменение углеводного состава тканей в процессе раннего эмбрионального гистогенеза поджелудочной железы у человека / Е. Ю. Шаповалова, А. Д. Луцик // Таврический медико-биологический вестник. – 2000. - № 3-4. – С. 193-197.

Brysk M. M. Endogenous lectin from terminally differentiated epidermal cells / M. M. Brysk, S. Rajaraman, P. Penn // Differentiation. – 1986. – Vol. 32, № 3. – P. 230-237.

Hart C. E. A comparative study of the intracellular lectin binding sites of neurons in culture with neurons in situ / C. E. Hart, J. G. Wood // J. Comp. Neurol. – 1985. – Vol. 239, № 2. – P. 155-162.

Radaelli T. Advanced tubal pregnancy associated with severe fetal growth restriction: a case report / T. Radaelli, G. Bulfamante, I. Cetin // J. Matern. Fetal. Neonatal. Med. – 2003. – Vol. 13, № 6. – P. 422-425.

Майструк Н.І., Шаповалова Е.Ю. Вплив екотопічної імплантації зародків людини на особливості міжклітинної адгезії клітин епітеліальних та мезенхімних закладок підшлункової залози.

Резюме. Вивчені 122 зародки людини у віці від 21 доби до 12 тижнів внутрішньоутробного розвитку при типовій імплантації та 42 зародка при екотопічній імплантації на стадіях послідовно від раннього періоду нервового жолобка до початку дефінітивного плодного періоду. Манозокон'югати клітин та екст-

рацелюлярних структур підшлункової залози виявляли шляхом обробки серійних зрізів лектином сочевиці, кон'югованого з пероксидазою хрому. Манозовмістні глікокон'югати (рецептори лектина сочевиці) відіграють велику роль в специфічному впізнаванні клітиною мішеней та в підвищенні міжклітинної адгезії. При атиповій імплантації має місце порушення процесів адгезії, які проявляються зниженням біосинтезу манозокон'югатів (рецептори лектина сочевиці).

Ключові слова: ембріональний гістогенез людини, трубна вагітність, лектини, підшлункова залоза.