

УДК 576.3/7:591.147.3:599.323.41:533.6.013.8

© Г. А. Мороз, 2013

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ РЕЦЕПТОРОВ ЛЕКТИНОВ В ЛИМФОЦИТАХ ТИМУСА КРЫС

Г. А. Мороз

Кафедра лечебной физкультуры и спортивной медицины, физиотерапии с курсом физвоспитания (зав. – д. мед. н., доц. Г. А. Мороз), ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С. И. Георгиевского». 95006 Украина, г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7. e-mail: moroz062@yandex.ua

AGE FEATURES OF DISTRIBUTION OF THE LECTIN RECEPTORS ON THE LYMPHOCYTES OF THE RAT'S THYMUS

G. A. Moroz

SUMMARY

Features of the distribution of the lectin receptors PNA, RCA, SNA and SBA on the lymphocytes of the intact male rat's thymus were studied. Experiment was carried out on the juvenile and mature rats. Using comparative analysis of the expression of the abovementioned lectin receptors, there was revealed that on the lymphocytes of the subcapsular area of the thymus cortex expression of the N-acetylgalactosamine receptors (PNA) is reduced with age. It testifies decreasing of the lymphocyte's adhesive properties. In addition, content of the sialic-acid conjugates (RCA) on the lymphocytes of the thymus cortico-medullary region and medulla also was reduced, that reflects decreasing of the lymphocyte's migration ability. Such changes in the distribution of the lectin receptors could be considered as explicable and concerned with an age involution of the lymphoid tissue of the thymus and decreasing of its immune status.

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ РОЗПОДІЛУ РЕЦЕПТОРІВ ЛЕКТИНІВ В ЛІМФОЦИТАХ ТИМУСА ЩУРІВ

Г. О. Мороз

РЕЗЮМЕ

Вивчені особливості розподілу рецепторів лектинів PNA, RCA, SNA і SBA в лімфоцитах тимуса інтактних щурів-самців лінії Вистар ювенільного і зрілого віку. При порівняльному аналізі експресії рецепторів застосованих лектинів виявлено, що з віком у щурів в субкапсулярній ділянці кіркової речовини тимуса в лімфоцитах зменшується вміст галактозамінокон'югатів (PNA), що свідчить про зниження їх адгезивних властивостей. При цьому в кортико-медулярній зоні і мозковій речовині в лімфоцитах зменшується вміст сіалокон'югатів (RCA), що відображає зниження міграційних можливостей тимоцитів. Такі зміни в розподілі рецепторів лектинів можна вважати закономірними і пов'язаними з віковою інволюцією лімфоїдної тканини тимуса і зниженням його імунного статусу.

Ключевые слова: морфология, тимус, крыса, возраст, лектины.

Одну из ключевых ролей в процессах морфогенеза играют углеводные остатки, входящие в состав гликопротеинов клетки и обеспечивающие межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия. Изменение углеводного компонента мембранного и цитоплазматического рецепторного аппарата клеток может приводить к необратимым морфофункциональным нарушениям [1, 2, 5]. Не являются исключением и клетки иммунных органов, в частности – тимуса. Изучение процессов гликозилирования и выяснение причин их нарушения позволяет судить не только о морфологии и степени дифференцировки иммунокомпетентных клеток, но и об уровне их функциональной активности и способности к миграции, а значит, и о иммунологической резистентности организма в целом [4, 6, 7]. На сегодняшний день мы не встретили в литературе данных о закономерностях экспрессии гликополимеров в лимфоцитах тимуса с учетом возрастных инволютивных изменений органа, что и послужило поводом для проведения нашего исследования.

Цель исследования. Изучить в сравнительном аспекте экспрессию гликополимеров – рецепторов лектинов PNA, SNA, SBA и RCA на поверхности и в цитоплазме лимфоцитов тимуса крыс ювенільного и зрелого возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 12 интактных крысах-самцах линии Вистар ювенільного (2-месячные, с массой тела 120–130 г) и зрелого (12-месячные, с массой тела 260–280 г) возраста. Изучали изменение состава и локализации отдельных углеводных детерминант на клеточных мембранах и в цитоплазме лимфоцитов разных морфофункциональных зон тимуса (субкапсулярная – СК, собственно кора – К, кортико-медулярная – КМ и мозговое вещество – МВ). Эксперимент был выполнен с соблюдением действующих биоэтических норм.

Забор материала и приготовление гистологических препаратов выполняли согласно общепринятым методикам работы с лимфоидными

органами. Готовили серийные срезы толщиной 4–6 мкм. Обзорные препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Гликополимеры лимфоцитов выявляли путем обработки срезов лектинами: арахиса (PNA), специфичного к β -D-галактозе; бузины черной (SNA), специфичного к концевым нередуцирующим остаткам N-ацетилнейраминовой кислоты гликополимеров; сои (SBA), специфичного к N-ацетил-D-галактозамину; клещевины (RCA), специфичного к β -D-галактозе, экранированной сиаловой кислотой; конъюгированных с пероксидазой хрена. Препараты обрабатывали с применением стандартных наборов НПК «Лектинотест» (г. Львов) в разведении лектина 1:50 по методике [3]. Визуализацию мест связывания лектина проводили в системе «диаминобензидин-перекись водорода». Контроль специфичности реакции осуществляли путем исключения из схемы обработки препаратов диаминобензидина. Интенсивность окрашивания срезов различными лектинами (отложение бензидиновой метки) оценивалась полуколичественным методом в баллах: 0 баллов – отсутствие реакции, 1 балл – слабая реакция, 2 балла – умеренная реакция, 3 балла – сильная реакция и 4 балла – очень сильная реакция.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Лимфоциты поверхностных слоев коры тимуса крыс ювенильного возраста экспрессируют на своей цитолемме большое количество (сильная реакция) галактозаминоконъюгатов (рецепторов лектина арахиса, обеспечивающих высокие адгезивные свойства лимфоцитов) и умеренное их количество в цитоплазме. Сиалоконъюгаты, являющиеся рецепторами лектинов клещевины и бузины черной и обуславливающие миграционную активность лимфоцитов, одинаково в умеренном количестве присутствуют на цитолемме, а в цитоплазме клеток – их меньше (слабая реакция). При этом лимфоциты образуют высоко упорядоченные структуры с микроокружением, что подтверждается экспрессией на их цитолемме большого количе-

ства N-ацетил-D-галактозаминоконъюгатов – рецепторов лектина сои. В цитоплазме клеток таких биополимеров меньше (табл.).

Лимфоциты глубокой коры также экспрессировали на цитолемме большое количество галактозаминоконъюгатов и умеренное количество в цитоплазме. При этом, сиалоконъюгатов, в сравнении с поверхностными слоями коры, на цитолемме выявляли большое количество, а в цитоплазме – умеренное (рис. 1), что свидетельствовало о большей миграционной способности клеток.

Лимфоциты кортико-медуллярной зоны тимуса оказались неспособными образовывать стабильные структуры с микроокружением, что подтверждается слабой экспрессией рецепторов лектина сои как на цитолемме, так и в цитоплазме клеток. Тимоциты мозгового вещества характеризуются низкими адгезивными свойствами, что подтверждается умеренным количеством рецепторов лектина арахиса на цитолемме и малым количеством в цитоплазме. При этом на цитолемме

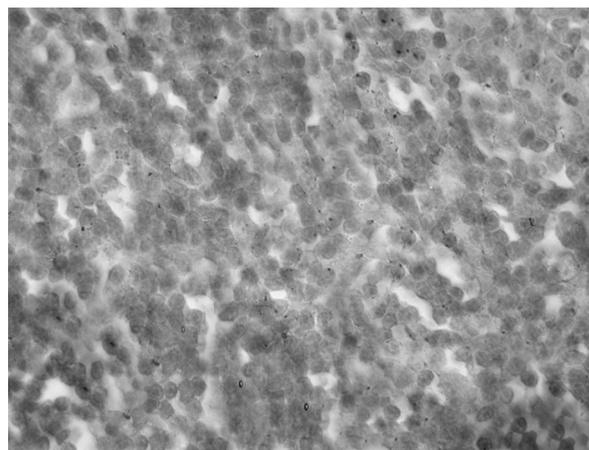


Рис. 1. Срез внутренней коры тимуса крысы ювенильного возраста. Высокая экспрессия рецепторов RCA на цитолемме лимфоцитов и умеренная – в цитоплазме. Об. 100х, ок. 10х

Таблица

Экспрессия (в баллах) рецепторов лектинов в лимфоцитах тимуса интактных крыс

Лектин	Локализация рецепторов	Ювенильный возраст				Зрелый возраст			
		СК	К	КМ	М	СК	К	КМ	М
PNA	цитолемма	3	3	3	2	3	4	2	3
	цитоплазма	2	2	2	1	2	3	1	2
RCA	цитолемма	2	2	3	4	3	3	3	2
	цитоплазма	1	1	2	3	2	2	2	1
SNA	цитолемма	2	2	3	4	3	3	3	2
	цитоплазма	1	1	2	3	2	2	2	1
SBA	цитолемма	3	3	1	0	1	2	2	2
	цитоплазма	2	2	1	0	0	1	1	1

и в цитоплазме лимфоцитов имеется очень много мест связывания рецепторов лектинов клещевины и бузины черной, тогда как по отношению к лектину сои лимфоциты проявляют ареактивность.

У крыс зрелого возраста лимфоциты субкапсулярной зоны тимуса имеют умеренные адгезивные и миграционные свойства. В цитоплазме клеток присутствует умеренное количество галактозаминоконъюгатов и сиалоконъюгатов. На их цитолемме рецепторов таких лектинов выявляется несколько больше. Способность образовывать упорядоченные структуры с микроокружением у лимфоцитов крайне низкая, что подтверждается очень слабой экспрессией N-ацетил-D-галактозаминоконъюгатов (рис. 2).

В лимфоцитах внутренней коры рецепторы адгезии (PNA) содержатся в очень высокой концентрации на цитолемме и высокой – в цитоплазме. Рецепторы RCA и SNA экспрессируется в умеренном количестве в цитоплазме лимфоцитов и несколько в большем – на цитолемме. При этом клетки имеют слабую способность образовывать упорядоченные

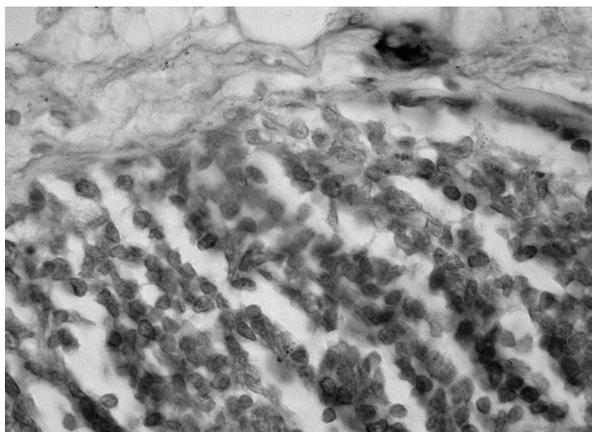


Рис. 2. Очень слабая экспрессия рецепторов SBA в лимфоцитах субкапсулярной зоны тимуса крысы зрелого возраста. Об. 100х, ок. 10х

структуры с микроокружением (экспрессия рецепторов SBA умеренная на цитолемме и очень слабая в цитоплазме). В свою очередь, в кортико-медуллярной зоне лимфоциты экспрессируют малое количество галактозаминоконъюгатов и N-ацетил-D-галактозаминоконъюгатов (яркость бензидиновой метки умеренная на цитолемме и слабая в цитоплазме). При этом миграционные способности лимфоцитов умеренные, что подтверждается небольшим количеством сиалоконъюгатов в цитоплазме клеток. Мест связывания лектина сои на цитолемме несколько больше. Лимфоциты мозгового вещества характеризуются достаточно высокой адгезивной способностью. В цитоплазме клеток выявляется умеренное количество рецепторов лектина арахиса,

на цитолемме их больше. При этом умеренное количество мест связывания лектинов клещевины, бузины черной и сои на цитолемме и малое количество в цитоплазме клеток свидетельствует об ограниченных возможностях лимфоцитов к миграции и снижению потенциала к образованию упорядоченных структур с микроокружением (см. табл.).

Заключение. Анализ экспрессии гликополимеров на цитоплазматической мембране и в составе внутрицитоплазматических включений лимфоцитов тимуса интактных крыс разных возрастных периодов выявил определенные закономерности в их распределении. Так, исследование содержания рецепторов изученных лектинов в лимфоцитах тимуса крыс ювенильного возраста, в целом, показало, что в субкапсулярной зоне железы преобладают функционально незрелые клетки с высокими адгезивными свойствами, способные образовывать высокоупорядоченные структуры с микроокружением. По мере приближения к мозговому веществу спектр биополимерных молекул с углеводными детерминантами лимфоцитов изменяется. Лимфоциты экспрессируют меньше рецепторов лектина арахиса и больше – сиалоконъюгатов, что свидетельствует о завершении процессов дифференцировки иммуноцитов и увеличении их миграционных свойств. Наибольшими миграционными потенциалами обладают лимфоциты кортико-медуллярной зоны. При этом клетки мозгового вещества экспрессируют наименьшее количество галактозаминоконъюгатов и значительное содержание сиалоконъюгатов, демонстрируя при этом слабые возможности образовывать упорядоченные структуры с микроокружением. Такая палитра распределения гликополимеров в структурно-функциональных зонах тимуса, на наш взгляд, свидетельствует о сбалансированности лимфопоэтических механизмов.

При анализе экспрессии рецепторов примененных лектинов в тимусе крыс зрелого возраста в сравнении с данными ювенильных крыс обнаружили уменьшение содержания галактозаминоконъюгатов в лимфоцитах субкапсулярной области коркового вещества, что свидетельствует о снижении их адгезивных свойств. При этом во внутренней коре лимфоциты экспрессируют максимальное количество рецепторов лектина арахиса. В мозговом веществе существенных изменений в экспрессии лимфоцитами рецепторов лектина арахиса не наблюдается. Наряду с этим, распределение сиалоконъюгатов свидетельствует о значительном снижении миграционных возможностей лимфоцитов тимуса крыс зрелого возраста. Прежде всего, это касается клеток глубоких слоев коры и мозгового вещества, но при этом связь тимоцитов с микроокружением сохраняется. Такие изменения в распределении рецепторов лектинов, на наш взгляд, можно считать закономерными

и связанными с возрастной инволюцией лимфоидной ткани тимуса, снижающей его лидирующую роль в поддержании иммунного статуса организма.

В дальнейшем планируется проведение лектиногистохимических исследований не только тимуса, но и селезенки крыс разного возраста.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волошин Н. А. Использование методов лектиновой гистохимии в морфологии/Н. А. Волошин, Е. А. Григорьева, М. А. Довбыш//Таврич. медико-биол. вестн. – 2004. – Т. 7, № 4, ч. 1. – С. 40–41.
2. Куш О. Г., Волошин М. А. Методика вивчення популяції $\gamma\delta$ -Т-лімфоцитів із використанням панелі лектинів/О. Г. Куш, М. А. Волошин//Вісник морфології. 2010. – Т. 16, № 1. – С. 76–80.
3. Луцик А. Д. Лектины в гистохимии/А. Д. Луцик, Е. С. Детюк, М. Д. Луцик. – Львов: Вища школа. – 1989. – 140 с.
4. Ященко А. М. Цитотопографія рецепторів лектинів у структурних компонентах органів імуногенезу/А. М. Ященко, В. О. Антонюк, О. В. Наконечна [та інш.]//Львівський медичний часопис. – 2005. – Т. 11, № 3. – С. 96–100.
5. Ященко А. М. Рецептори фукозоспецифічних лектинів в структурних компонентах окремих органів/А. М. Ященко, О. В. Смольникова, О. Д. Луцик//Таврич. медико-биол. вестн. – 2002. – Т. 5, № 3. – С. 174–176.
6. Sasseti C. Identification of Podocalyx [in-like protein as a high endothelial venule ligand for L-selectin: parallels to CD 34/C. Sasseti, K. Tangemann, M. S. Singer//J. Exp. Med. – 1998. – Vol. 187, N 12. – P. 1965–1975.
7. Steinman R. M. Dendritic cells in the T-cell areas of lymphoid organs/R. M. Steinman, M. Pack, K. Inaba//Immunol Rev. – 1997. – Vol. 156. – P. 25–37.