

УДК 611.611: 611–018+611–013. 7/8+611.24+618.31

© Е. Ю. Шаповалова, Н. И. Майструк, Т. А. Бойко, 2013

ИЗМЕНЕНИЕ АДГЕЗИВНЫХ СВОЙСТВ КЛЕТОК ЛЕГКИХ И ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЭМБРИОНОВ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ТРУБНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ

Е. Ю. Шаповалова, Н. И. Майструк, Т. А. Бойко

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. – проф. Е. Ю. Шаповалова) ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С. И. Георгиевского». 95006 Ураина, г. Симферополь, бул. Ленина 5/7. E-mail: Shapovalova_L@mail.ru

CHANGE OF ADHESIVE PROPERTIES OF THE LUNG AND PANCREAS CELLS IN HUMAN EMBRYOS AT TUBAL PREGNANCY

Ye.Yu. Shapovalova, N. I. Maistruck, T. A. Boiko

SUMMARY

In 122 embryos at the age of 21 days to 12 weeks of the intrauterine development, which correspond to IX–XXIII stages and beginning of the fetal period according to classification of Carnegie Institute, and in 49 embryos of tubal pregnancy, the effect of redistribution of the peanut lectin (PNA) receptors in the epithelial and mesenchymal germs of the respiratory system and pancreas have been revealed. At tubal implantation the peanut lectin receptors in the respiratory system first appear in the embryos at the age of 46 days (17 mm in length), in the epithelial germs pancreas – in the embryos at the age of 11 weeks (45–56 mm in length). In the mesenchymal germs of gland the peanut lectin receptors are not determined. Their quantity is the greatest in proximal germs. At tubal implantation the peanut lectin receptors in the epithelial and mesenchymal germs of the respiratory system and pancreas are not synthesized that testifies to considerable disturbance of adhesion processes.

ЗМІНА АДГЕЗИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КЛІТИН ЛЕГЕНІВ І ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЕМБРІОНІВ ЛЮДИНИ В УМОВАХ ТРУБНОЇ ІМПЛАНТАЦІЇ

О. Ю. Шаповалова, М. І. Майструк, Т. А. Бойко

РЕЗЮМЕ

У 122 зародків людини у віці від 21 доби до 12 тижнів внутріутробного розвитку при типовій імплантації і 42 зародків при атипичній імплантації на стадіях послідовно від раннього періоду нервового жолобка до початку дефінітивного плодового періоду по класифікації інститута Карнегі з'ясовано закономірне перерозподілення глікополімерів – рецепторів лектину арахіса в епітеліальних і мезенхімних закладках дихальної системи і підшлункової залози. У дихальній системі при матковій імплантації рецептори лектину арахісу вперше з'являються у зародків у віці 46 діб (17 мм довжини), а в епітеліальних закладках підшлункової залози – у зародків у віці 11 тижнів (45–56 мм довжини). У мезенхімних закладках залози рецептори лектину арахісу не виявляються. Їх кількість найбільш велика в проксимальних закладках. При трубній імплантації рецептори лектину арахісу в епітеліальних і мезенхімних закладках не синтезується, що свідчить про значне порушення процесів адгезії.

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

Морфологические исследования свидетельствуют о существовании существенных различий в строении стенки матки и яйцевода [4]. Кровеносная и лимфатическая система фаллопиевых труб построена по типу трубчатого органа с брыжейкой и не приспособлена для образования материнской части плаценты [2]. Имплантация эмбриона в стенку маточной трубы приводит к формированию неполноценного плацентарного барьера, в результате чего эктопическая беременность создает предпосылки и условия для патологического эмбриогенеза [5, 7].

Гликополимерные соединения составляют структурную и функциональную основу клеток и тканей живого организма, являются сигнальными и рецепторными молекулами, определяют межклеточные контакты, адгезию и миграцию клеток, возможно, могут запускать или тормозить процессы апоптоза [3]. Существование в организме в онтогенезе распознавания и связывания таких гликополимеров

эндогенными лектинами, именуемое лектин-рецепторными взаимодействиями, может запускать лектинзависимые регуляции клеточных функций и клеточные ответы, обуславливающие дифференцировку тканей и их структурных компонентов [9]. Однако распределение гликополимеров, являющихся рецепторами лектинов, в тканях развивающейся дыхательной системы и поджелудочной железы при маточной имплантации у человека изучено крайне недостаточно, а при трубной беременности отсутствуют вообще.

Целью работы явилось изучение репрессии и дерепрессии гликополимеров с концевыми нередуцирующими остатками бета-D-галактозы на поверхности и в цитоплазме клеток паренхимы, стромы и в тканевых экстрацеллюлярных структурах дыхательной системы и поджелудочной железы в процессе становления ее органной специфичности у зародышей человека, развивавшихся в матке и в ма-

точных 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 [8]. Галактоконъюгаты выявляли путем обработки серийных срезов лектином арахиса, конъюгированного с пероксидазой хрена. Препараты обрабатывали с применением стандартных наборов НПК «Лектинотест» г. Львов в разведении лектина 1:50 по рекомендуемой методике [6]. Визуализацию мест связывания лектина проводили в системе диаминобензидин – перекись водорода. Контроль специфичности реакции осуществляли путем исключения из схемы обработки

препаратов диаминобензидина. Лектин арахиса (PNA), специфичен к концевым нередуцирующим остаткам бета-D-галактозы. Специфичность лектина к терминальным нередуцирующим моносахаридным остаткам гликоконъюгатов дана в соответствии с данными [1]. 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

Из литературных источников известно, что созревание клеток, прочно контактирующих между собой, сопровождается возрастанием содержания на их поверхности остатков D-галактозы [11]. По нашим данным у зародышей, имплантированных в матку, гликоконъюгаты, содержащие концевые нередуцирующие остатки бета-D-галактозы, определяемые PNA, впервые встречаются в эпителиальных закладках ды-

Таблица 1
Количественное содержание рецепторов лектина арахиса (PNA) в эпителии, мезенхиме и ЭСТ дыхательной системы при маточной имплантации*

Название структуры	Теменно-копчиковая длина зародышей в мм																						
	3,2	5,5	6,5	9	10	11	12	13	14	16	17	18	20	21	23	25	27	30	32	45	56	70	
Эпителий крупных бронхов																							
апикальная поверхность	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2	2	2	2	3	3	3	3	3	
базальная мембрана	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	
цитоплазма	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	
Эпителий мелких бронхов																							
апикальная поверхность																		2	2	2	3	3	3
базальная мембрана																		1	1	1	1	1	1
внутрицитоплазматические включения																		1	1	1	1	1	0
Мезенхима и ЭСТ крупных бронхов																							
цитолемма	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	3	3	3	4	4	
цитоплазма	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	

*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.

Количественное содержание рецепторов лектина арахиса (PNA) в эпителии, мезенхиме и ЭСТ поджелудочной железы при маточной имплантации *																						Таблица 2	
Название структуры	Теменно-копчиковая длина зародышей в мм																						
	3,2	5,5	6,5	9	10	11	12	13	14	16	17	18	20	21	23	25	27	30	32	45	56	70	
Эпителий крупных протоков поджелудочной железы																							
апикальная поверхность	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
базальная мембрана	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
цитоплазма	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Мезенхима или ЭСТ крупных протоков поджелудочной железы																							
цитолемма	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
цитоплазма	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

*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.

хательной системы у зародышей в возрасте 46 суток (17 мм длины) (табл. 1). В эпителиоцитах дыхательной системы бета-D-галактоконъюгаты концентрируются на апикальной поверхности и во внутрицитоплазматических включениях. Их количество с возрастом нарастает. Имеющиеся первоначально такие биополимеры в базальной мембране постепенно исчезают. Между закладками бронхов крупного и мелкого калибра существует разница в характере перераспределения рецепторов лектина арахиса. Эпителиоциты трахеи и крупных бронхов, где процессы адгезии клеток наиболее важны, накапливают бета-D-галактоконъюгаты на апикальной поверхности и в цитоплазматических включениях в апикальной части клеток. В мелких бронхах значительное сродство к лектину проявляет только апикальная поверхность эпителиального пласта и очень слабое – базальная мембрана. В цитоплазме включения отсутствуют.

В мезенхимных закладках дыхательной системы рецепторы лектина арахиса экспрессируются диффузно в цитоплазме клеток мезенхимы у зародышей, начиная с возраста 46 суток (17 мм длины). Дифференцировка клеток мезенхимы в молодые фибробласты первоначально в областях, где миграционная способность клеток, связанная с их ветвлением, снижается, сопровождается постепенным обогащением цитолеммы клеток и в меньшей степени цитоплазмы бета-D-галактоконъюгатами не зависимо от контакта клеток с эпителиальными закладками.

Полученные нами сведения о накоплении к 12-ти неделям развития плодов в матке в эпителиальных и мезенхимных закладках дыхательной системы рецепторов лектина арахиса обусловлены незавершенностью к этому возрасту процессов ветвления органа и связанными с этим процессом адгезии клеток. Вместе с тем эпителиоциты трахеи и бронхов никуда не выселяются, поэтому процессы адгезии преобладают.

Нами установлено, что в эпителиальных зачатках поджелудочной железы, развивающейся по единой с дыхательной системой модели, основанной на эпителио-мезенхимных взаимоотношениях, гликополимеры с концевыми нередуцирующими остатками бета-D-галактозы, являющиеся рецепторами лектина PNA, впервые появляются значительно позднее, чем в железе, в 11 недель эмбриогенеза (зародыши 46–56 мм длины) (табл. 2). Лектин-позитивные соединения в очень небольших количествах определяются в базальной мембране и на апикальной поверхности крупных выводных протоков поджелудочной железы, т.е. в тех областях, в которых ветвление и связанная с этим миграция клеток заканчивается. В мезенхимных закладках поджелудочной железы гликополимеры с концевыми нередуцирующими остатками бета-D-галактозы, соединяющиеся с лектином PNA, в первые три месяца эмбриогенеза отсутствуют. Эти данные согласуются с исследованиями [10], выполненными на эмбрионах мыши. После преинкубации в растворе ней-

раминидазы рецепторы лектина PNA появлялись, что позволило автору высказать предположение о сиалировании b-D-галактоконъюгатов поджелудочной железы.

При трубной беременности выраженная в норме корреляция рецепторов лектина PNA изменяется, нарушая процессы адгезии клеток. Галактозаминоконъюгаты, выявляемые лектином арахиса, у самого старшего из изученных зародышей при трубной беременности в возрасте 60 суток (26 мм длины) в эпителиальных и мезенхимных закладках поджелудочной железы и дыхательной системы отсутствуют, что свидетельствует о нарушении процессов адгезии и дезинтеграции равновесной системы адгезия-миграция.

ВЫВОДЫ

1. В эпителиальных и мезенхимных закладках дыхательной системы при маточной имплантации рецепторы лектина арахиса впервые появляются у зародышей в возрасте 46 суток (17 мм длины). Их количество наиболее велико в трахее и в крупных бронхах (табл. 2).

2. В эпителиальных закладках поджелудочной железы при маточной имплантации рецепторы лектина арахиса впервые появляются у зародышей в возрасте 11 недель (45–56 мм длины). Их количество дискретно в крупных и мелких протоках развивающегося органа. В мезенхимных закладках железы рецепторы лектина арахиса не обнаруживаются.

3. При трубной имплантации рецепторы лектина арахиса в эпителиальных и мезенхимных закладках дыхательной системы и поджелудочной железы не синтезируются, что свидетельствует о значительном нарушении процессов адгезии.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонюк В. О. Лектини та їх сировинні джерела / В. О. Антонюк. – Львів: ПП «Кварт», 2005. – 554 с.
2. Викалюк Л. М. Кровеносное русло маточной трубы человека / Л. М. Викалюк, В. Л. Земяк, Е. П. Мельман // Архив анат. – 1988. – № 2. – С. 86–93.
3. Волошин Н. А. Лектины животного и растительного происхождения: роль в процессах морфогенеза / Н. А. Волошин, Е. А. Григорьева // Теоретична медицина. Журн. АМН України. – 2005. – Т. 11, № 2. – С. 223–237.
4. Глуховец Б. И. Морфологические проявления иммунных реакций при нарушенной трубной беременности / Б. И. Глуховец, Ю. И. Ухов // Архив анат. – 1980. – № 12. – С. 99–101.
5. Демьяненко И. А. Органные особенности раннего гистогенеза дыхательной системы человека в условиях маточной и трубной имплантации / И. А. Демьяненко, Е. Ю. Шаповалова // Морфология – 2007. Т. – 131, № 3. – С. 92–93.
6. Луцик А. Д. Лектины в гистохимии / А. Д. Луцик, Е. С. Детюк, М. Д. Луцик. – Львов.: Вища школа, 1989. – 139 с.
7. Орел Ю. М. Патоморфологія плаценти при антенатальній загибелі плода / Ю. М. Орел // Ужгородський медичний вісник. – 2004. – Т. 8, № 3–4. – С. 319.
8. Семченко В. В. Гистологическая техника / В. В. Семченко, С. А. Барашкова, В. И. Ноздрин. – Омск, 2006. – 289 с.
9. Сілкіна Ю. В. Лектиногістохімічні характеристики клітин провідної системи ембріонального серця людини / Ю. В. Сілкіна // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2009. – Т. 2, № 2. – С. 36–41.
10. Imdahl A. Lectin histochemical investigations of fetal cultivated pancreatic tissue / A. Imdahl, O. Kisker, G. Kirste // J. of Surgical Research. – 1992. – Vol. 53, N2. – P. 123–127.
11. Ookusa Y. Distribution of glycoconjugates in normal human skin using biotinyl lectins and avidin horseradish peroxidase / Y. Ookusa, K. Takata, M. Nagashima // Histochemistry. – 1983. – Vol. 79, N1. – P. 1–7.