МОРФОЛОГІЯ

УДК 611.12: 575.16 – 029.9

В.В. Кошарний

ВИКОРИСТАННЯ ЛЕКТИНІВ В ДОСЛІДЖЕННЯХ КАРДІОГЕНЕЗУ ЩУРІВ

Дніпропетровська державна медична академія (м. Дніпропетровськ)

Дослідження проведено у рамках договору про науково-технічну співпрацю між Дніпропетровською державною медичною академією та Львівським національним медичним університетом імені Данила Галицького.

Дане дослідження є фрагментом планової наукової роботи кафедри анатомії людини Дніпропетровської державної медичної академії «Морфогенез серця та судин після експериментальних втручань» (номер державної реєстрації 0106U012193).

Вступ. Різні патологічні стани тканин та клітин супроводжуються змінами вуглеводної частини глікоконьюгатів,що провокує порушення базових гістогенетичних процесів: проліферацію, зростання, диференціювання клітин. На думку більшості авторів, всі зазначені цитологічні процеси, а також механізми формування міжклітинних контактів відбуваються за участю надмембранного клітинного комплексу – глікокаліксу, у склад якого входять вуглеводні компоненти з різними біохімічними характеристиками [1-7,10]. Сучасними гістохімічними маркерами глікоконьюгатів клітин є лектини, котрі з високою вибірковостю зв'язуються з залишками глікополімерів, а також глікозаміноглікани та гомоглікани (глікоген) [1,2,3,11].

Вивчення процесів глікозування протягом морфологічних перетворень ембріональних структур, коли відбувається перерозподіл вуглеводних молекул та рецепторів лектинів на поверхні клітин в наш час стало актуальним для визначення нормального чи аномального напрямку розвитку тканини. В дослідженнях медичної ембріології, особливо при дослідженнях кардіогенезу, одним з найбільш показних характеристик клітин є схильність до адгезії, міграції, проліферації та апоптозу. Без цих процесів неможливо уявити ті зміни, які виникають при диференціюванні клітин в ембріональному серці та є гарантами нормального розвитку органа [6,7,8,10].

Лектин зародків пшениці (WGA) до кінцевих не редукованих залишків сіалової кислоти та N-ацетил-D-глюкозаміна та лектин золотого дощу (LABA) відіграють важливу роль в міжклітинних взаємодіях, вони опосередковують процеси міжклітинної адгезії, проліферацію та апоптоз клітин. На сьогодні відомо про існування прямого зв'язку між структурою глікопротеїнів та проліферативним індексом клітин. Структура вуглеводного компоненту мембран впливає на молекулярні механізми міжклітинної рецепції, які, в свою чергу, забезпечують імунний контроль, диференціювання клітин, механізми морфогенезу [4, 5].

Питання розподілу рецепторів до лектинів в ембріональних тканинах на різних етапах онтогенезу розглядалась в роботах вітчизняних і зарубіжних вчених [8,9,10], але тема далека від завершення. На послідовних етапах гісто- і морфогенезу в складі ембріональних тканин відбувається постійна перебудова лектин-рецепторних систем. Лектин-рецепторні системи високо видо- і тканиноспецифічні, є тонкими тестами на нормальність розвитку. Таким чином, застосування комплексного підходу із використанням гістологічного та імунохімічного досліджень з метою морфофункціональної характеристики тканин ембріонального серця є актуальним та доцільним.

Мета дослідження: визначення цитоморфологічної характеристики лектинових рецепторів зародків пшениці (WGA) золотого дощу (LABA) в тканинах серця ембріона щура.

Об'єкт і методи дослідження. Матеріалом дослідження стали 25 сердець ембріонів щура від 11до 18 доби ембріогенезу. Отримані серця фіксували нейтральним формаліном та заливали у парафінові блоки згідно загаль-

ноприйнятих методик. Серійні зрізи після депарафінізації занурювали в 96 градусний етанол, а потім для інактивації ендогенної пероксидази інкубували 20 хвилин в метанолі, що містить 0,3% перекису водню. Препарати обробляли із застосуванням стандартних наборів НПК "Лектинотест" м. Львів в розведенні лектину 1:50 за рекомендованною методикою (Луцик А. Д., Детюк Е. С., Луцик М. Д., 1989) [8].

Завдяки вибірковому зв'язку лектинів з різними клітинами маємо можливість диференціювати клітин та визначати їх схильність або потенцію до конкретних процесів (проліферація, апоптоз, диференціювання). В процесах запрограмованої загибелі клітин приймають участь рецептори лектинів, що є специфічні до N-ацетилглюкозаміну та сіалової кислоти, тому нами використовувалися лектини зародків пшениці (WGA). Рецептори, що виявляють специфічність до α-L-фукози визначалися завдяки використанню лектину кори золотого дощу -LABA. Інтенсивність забарвлювання зрізів різними лектинами оцінювалась в балах методом напівкількісної оцінки (ступінь накопичування +, ++, +++).

Результати досліджень та їх обговорення. Рецептори LABA із специфічністю до α-L-фукози виявлені нами у ділянці тканин атріовентрикулярного каналу серця **(рис.1)**. Виявлені нами рецептори LABA (αL-Fuc) розташовані одночасно в досить різних тканинах зазначеної ділянки ембріонального серця, а саме: первинних стулках (рівень накопичення визначали як +++), сухожилкових струнах (+++) та соскоподібних м'язах(++). Як відомо, ці структури мають досить різне походження, різний клітинний склад та підлягають вираженим морфогенетичним змінам під час кардіогенезу. Первинні стулки передсердно-шлуночкових клапанів складаються з залишків мезенхіми ендокардіальних подушок та вкриті шаром ендокарду. Первинна сухожилкові струна є результатом процесу делямінації (розшарування стінки шлуночку) і складається з міокардіальних клітин та тонкого шару ендокарду. Первинний соскоподібний м'яз є частиною міокарду шлуночку, яка відокремлена внаслідок делямінації. Спільним у цих структур є тільки функція та недостатнє кровопостачання на ранніх етапах кардіогенезу.

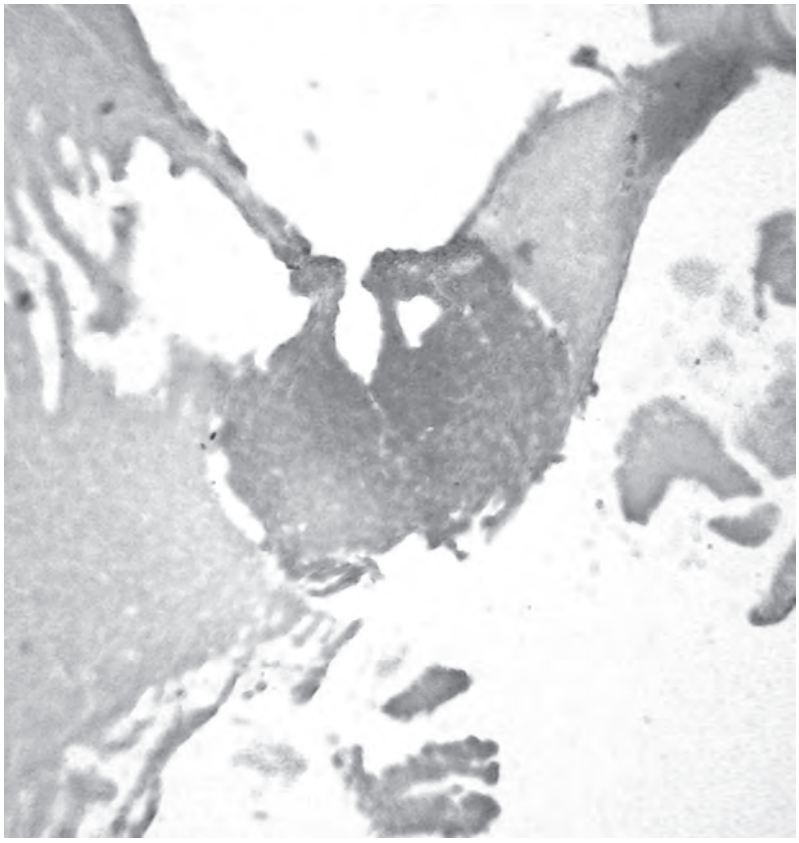

Рис.1. Зріз атріовентрикулярного каналу серця ембріона щура 13 доби розвитку. Інтенсивний колір накопичують ділянки тканин, що виявляють рецептори до α-L-фукози (лектин LABA) золотого дощу. Збільшення: ок.8 Х об.10.

В дослідженнях виявлення рецепторів до N-ацетілглюкозаміногликанів лектину зародків пшениці (WGA) визначена гетерогенність зв'язування даного лектину в серці ембріонів щурів. Характерною була наявність значної кількості рівномірно розташованих рецепторів до WGA на плазматичних мембранах багатьох клітин міокарду. Найбільший ступінь накопичення (+++) спостерігався в ендотелії судин (як сформованих так і таких, що закладаються), ендокарді та епікарді **(рис.2)**.

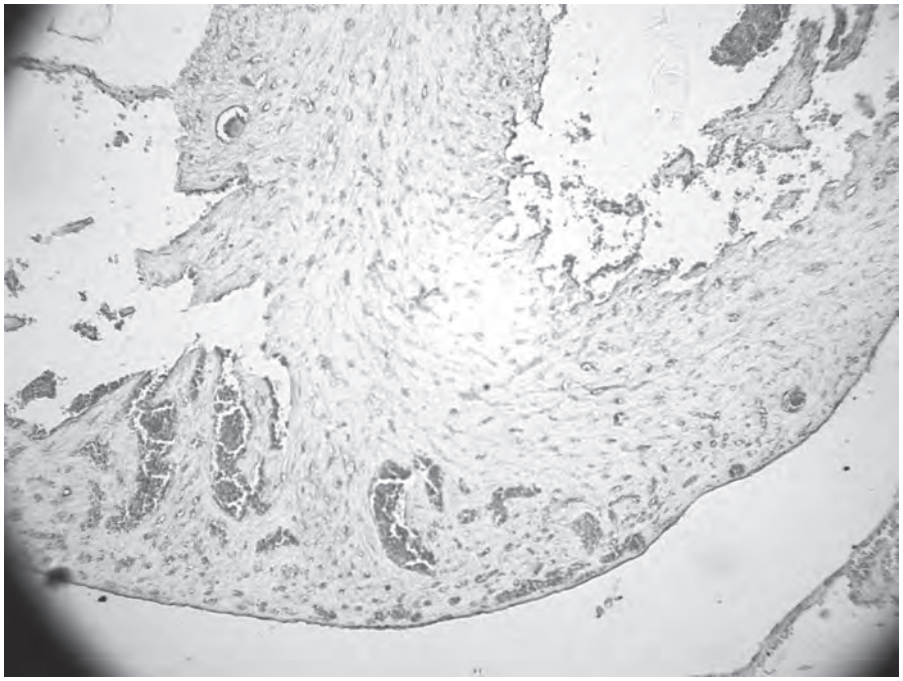

Рис.2. Зріз міжшлуночкової перегородки та шлуночку серця ембріона щура 14 доби розвитку. Виявлення рецепторів до N-ацетіл-глюкозаміногликанів лектину зародків пшениці (лектин WGA). Збільшення: ок.8 Х об.10.

Висновки. Визначена гетерогенність зв'язування лектину зародків пшениці (WGA) та лектину золотого дощу (LABA) в тканинах різних відділків ембріонального серця щура в період від 11 до 17 доби ембріогенезу. Специфічна локалізація різних рецепторів лектинів свідчить про їх функціональну значущість в процесах кардіогенезу. Еспресія рецепторів лектинів LABA (залишків αL-Fuc) найбільшою визначалась в ділянці тканин атріовентрикулярного каналу серця. Накопичення лектинів зародків пшениці (WGA) відбувається саме в тих ділянках тканин, де протікають активно гістогенетичні процеси.

Перспективи подальших досліджень. Перспективними, на наш погляд, є дослідження накопичення рецепторів зв'язування зародків пшениці (WGA) та лектину золотого дощу (LABA)в кардіогенезі та спостереження за процесами диференціювання клітин в хронологічному аспекті.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Васильев Ю.М. Социальное поведение нормальных клеток и антисоциальное поведение опухолевых клеток / Ю.М. Васильев // Соровский образовательный журнал.- 1997, № 5.- С. 20-25.
2. Волошин Н.А. Лектины животного и растительного происхождения: роль в процессах морфогенеза // Н.А.Волошин, Е.А.Григорьева / Теоретична медицина.- 2005, Т.11, № 2.- С.223-237.
3. Ермакова И.И. Выделение и характеристика протеогиканов культуры миобластов крысы L 6 J 1/ Ермакова И.И., Мокрушин А.Л., Черткова Е.Ф., Сакута Г.А., Романюк А.В., Морозов В.И. // Биохимия. 2007. - Т.72, Вып.4. –С.560 – 567.
4. Ермакова И.И. Протеогликаны внеклеточного матрикса миобластов L 6 J 1. Характеристика и влияние на адгезию / И.И.Ермакова, Е.Ф.Черткова, Л.А.Мокрушин, А.В.Романюк, Г.А.Сакута, В.И. Морозов // Цитология. - 2008. - Т.50, №8. - С.692 – 699.
5. Катина И.Е. Молекулярные механизмы лиганд-рецепторного связывания. Стэкинг-взаимодействие ароматических колец в связывании клонидина / И.Е.Катина, Р.С.Хрусталева, Б.Ф. Щеголев // Физиологическое общество им И.П.Павлова. Съезд XX , 4-8 июня 2007 г .,Москва: Тезисы докл.– М.: Издат. дом «Русский врач», 2007. - С.259-260.
6. Лутай Н.В. Распределение рецепторов лектинов в эмбриональных тканях курицы в период с 3 по 8 день пренатального развития / Н.В. Лутай, М.А. Машталир, А.З. Бразалук // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2004. - Т. 1, Вип. 12.- С. 84-89.
7. Лутай Н.В. Гистотопография рецепторов лектинов в тканях 10-недельного эмбриона человека / Н.В.Лутай, М.А.Машталир, А.З.Бразалук, И.В. Твердохлеб // Вісник проблем біології і медицини.- 2004.- № 3.- С.104-107.
8. Луцик А.Д. Лектины в гистохимии / А.Д.Луцик, Е.С.Детюк, М.Д.Луцик. - Львов: Вища школа, 1989.- 140 с.

9. Машталір М.А. Вплив етанолу та ретиноєвої кислоти на лектин-гістохімічні властивості клітинної поверхні в серці мишачих зародків / М.А. Машталір // Вісник проблем біології і медицини.- 2005.- № 4.- С.147-150.
10. Lectin histochemistry of the chick embryo during embryonic days 3-8 / M.Mashtalir, N.Lutay, A.Brazaluck, I.Tverdokchleb // Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska.- Lublin, Polonia, 2004.- Vol. XVII, № 2, section DDD.- P. 269-271.

УДК 611.12: 575.16 – 029.9

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛЕКТИНОВ В ИССЛЕДОВАНИЯХ КАРДИОГЕНЕЗА КРЫС

Кошарный В.В.

Резюме. Для изучения углеводной специфичности клеточных мембран в сердце эмбрионов крыс изучали распределение рецепторов к лектинам завязей пшеницы (WGA) и лектина золотого дождя (LABA). Исследование проведено на 25 препаратах сердца эмбрионов крысы от 11 до 18 дней эмбриогенеза. Подготовку срезов и этапы реакции проводили по общепринятым методикам. Определенная гетерогенность связывания лектинов WGA и LABA в тканях разных участков эмбрионального сердца, демонстрирует основные гистогенетические процессы клеток разных тканей. Специфическая локализация разных рецепторов лектинов свидетельствует об их функциональной значимости в процессах формообразования сердца как органа. В атриовентрикулярном канале определяются массивы клеток, которые имеют большее количество рецепторов LABA со специфичностью к α-L-фукозе.

Ключевые слова: кардиогенез, лектины, гистотопография.

UDC 611.12: 575.16 – 029.9

The USE of LECTINS is in RESEARCHES of CARDOIGENESIS RATS

Kosharnyy V.V

Summary. For the study of carbohydrate specificity of cellular membranes in the heart of embryos of rats studied distributing of receptors to lectins ovaries of wheat (WGA) and lectin of gold rain (LABA). Research is conducted on 25 preparations of heart of embryos of rat from 11 to 18 days of embryogenesis. Preparation of cuts and stages of reaction was conducted on the generally accepted methods. Certain heterogeneity of fastening of lectins WGA and LABA is in fabrics of different areas of embryonic heart, demonstrates the basic hystogenetik processes of cages of different fabrics. Specific localization of different receptors of lectins testifies to their functional meaningfulness in the processes of formation of heart as an organ. Are the arrays of cages which have a greater amount of receptors of LABA with specificity to determined in a atrioventricular channel α-L-fucos.

Key words: cardoigenesis, lectins, histotopography.

Стаття надійшла 19.04.2010 р.

УДК 611.12: 575.16 – 029.9

О.О. Савенкова, В.Ф. Шаторна, Л.В. Абдул-Огли

ГІСТОТОПОГРАФІЯ РЕЦЕПТОРІВ ДО ЛЕКТИНІВ В ЕМБРІОНАЛЬНОМУ СЕРЦІ

Дніпропетровська державна медична академія (м. Дніпропетровськ)

Дане дослідження є фрагментом планової наукової роботи кафедри анатомії людини Дніпропетровської державної медичної академії «Морфогенез серця та судин після експериментальних втручань» (номер державної реєстрації 0106U012193).

Дослідження проведено у рамках договору про науково-технічну співпрацю між Дніпропетровською державною медичною академією та Львівським національним медичним університетом імені Данила Галицького

Вступ. Сучасне дослідження процесів проліферації, росту, диференціювання, міграції ембріональних клітин неможливе без застосування таких методик як гістохімічні та імуногістохімічні. Всі зазначені цитологічні процеси, а також механізми формування міжклітинних контактів та епітеліально-