

УДК 611.161:516ю306] -018.74:547.96] – 08:616.379-008.64.

Л.В. Панкевич, А.М. Яценко

ЛЕКТИНОГІСТОХІМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЕНДОТЕЛІЮ СИНУСОЇДНИХ ГЕМОКАПІЛЯРІВ ПЕЧІНКИ НА ТЛІ СТРЕПТОЗОТОЦИН - ІНДУКОВАНОГО ДІАБЕТУ

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького (м. Львів)

Робота проведена відповідно до кафедральної теми: "Пошук нових препаратів лектинів із сировини Карпатського регіону та можливості їх застосування у біології та медицині", номер держреєстрації 01071001048.

Вступ. Упродовж останніх років інтенсивно вивчаються механізми інсулінової регуляції, етіологія і патогенез цукрового діабету, ведуться пошуки нових методів лікування, проте головним завданням досліджень є перехід від діагностики діабету до його передбачення і від лікування до профілактики [3,4]. На думку спеціалістів захворюваність на цукровий діабет, яка зростає з кожним роком, вимагає детального вивчення його перебігу [1,6]. За даними [7,12]. ЦД супроводжується дисфункцією ендотелію судин, які втрачають здатність до адекватного синтезу вазодилаторів. Підтримання нормальної швидкості кровоплину і стан тонусу судинної стінки координується декількома системами організму, в тому числі функцією ендотелію судин, який можна віднести до ендокриноподібних тканин організму, оскільки він є місцем утворення різних факторів, що беруть участь в певній мірі у підтриманні тонусу судин. Так, порушення функції судинного ендотелію супроводжується змінами в отриманні ендотелінів, фактора Віллебранда, тканинного активатора плазміногену і оксиду азоту (NO), які є сильними вазодилаторами. Показано, що при маніфестації ЦД 1-го типу пришвидшення кровоплину пов'язане з підвищенням вивільнення NO у відповідь на гіперглікемію [2,5,10]. Роль глікополімерів поверхні ендотелію судин у тому числі і синусоїдних гемокапілярів печінки, при ЦД на даний час є мало вивчена і є одним із актуальних питань.

Мета дослідження – дослідити глікополімери ендотеліоцитів синусоїдних гемокапілярів печінки за даними лектиногістохімії в нормі та при стрептозотозин-індукованому ЦД.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводили на 55 щурах-самцях лінії Вістар масою 110-120г, які були розділені на дві групи. Контрольна група включала 10 тварин, дослідна група - 45 щурів, яких утримували в стандартних умовах виварію. Експериментальний цукровий діабет викликали дочеревним введенням тваринам стрептозотозину фірми "Sigma" (США) з розрахунку 7 мг на 100 г маси тіла. Розвиток діабету контролювали за рівнем глюкози, яку визначали глюкооксидазним методом з використанням реактивів фірми "LaChema" (Чехія) відповідно до інструкції виробника. Утримання тварин та маніпуляції проводилися у відповідності до положень "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених І національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

На 14-й день експерименту, коли рівень глюкози у крові досягав в 10-18 мМоль/л, тварин забивали шляхом декапітації після передозування ефірного наркозу. Кусочки печінки фіксували у 4%-ному нейтральному формаліні з наступною заливкою у парафін за стандартною методикою. Зрізи товщиною 5-7 мкм фарбували гематоксиліном і еозином. Для електронної мікроскопії матеріал фіксували у 0,5 % глутаровому альдегіді з подальшою обробкою матеріалу для електронномікроскопічного дослідження. Вуглеводні детермінанти досліджували з використанням 3-ох лектинів: лектин виноградної слимаки (HPA, специфічний

до αDGaINAc), зав'язків пшениці (WGA, специфічний до DGlcNAc, NeuNAc), кори бузини (SNA, специфічний до Neu5Ac(α2-6)Gal / DGaINAc).

Використані лектини були очищені і мічені пероксидазою на кафедрі гістології ЛНМУ імені Данила Галицького д. фарм. н. В. Антонюком. Препарати аналізували з допомогою мікроскопа Carl Zeiss Jena Ng, для фотографування користувалися цифровою фотокамерою Canon IXUS 700, а також фотосистемою Olympus на базі мікроскопа BX-41.

Результати досліджень та їх обговорення. Оглядові препарати показали, що печінка тварин контрольної групи (рис. 1А) має часточкову будову. У центрі часточок розташовані центральні вени, від яких відходять печінкові пластинки утворені гепатоцитами, що мають слабо оксифільну цитоплазму, окремі гепатоцити містять по два ядра, виявляються і гепатоцити з поліплоїдними ядрами. Синусоїдні гемокапіляри часто заповнені еритроцитами. Портальні тракти оточені сполучною тканиною зі значною кількістю клітинних елементів, серед яких переважають фіброласти.

Через два тижні після введення стрептозотозину у печінці щурів (рис. 1Б) нами виявлені зміни як розширення просвіту синусоїдних гемокапілярів і перисинусоїдного

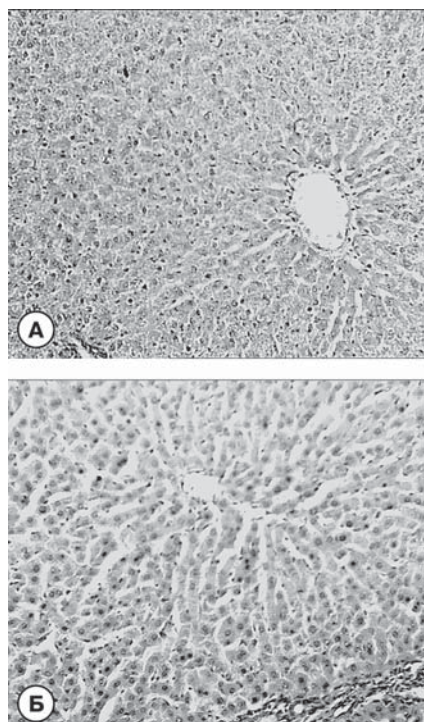


Рис. 1 (А,Б). Оглядові препарати печінки щура в нормі (А), та після введення стрептозотозину (Б), інфільтрація портальних трактів поліморфноядерними лейкоцитами, розширення стінки синусоїдних гемокапілярів і перисинусоїдного простору. Зафарбовування гематоксиліном і еозином. Зб.: Х об. 20, ок. 15

простору Діссе, інфільтрація лейкоцитами портальних трактів, внутрішньочасточкова інфільтрація лімфоцитами і плазмоцитами, зерниста та жирова дистрофія гепатоцитів, каріопікноз та відсутність ядер у окремих гепатоцитах, місцями ділянки некрозів. Також утворення лімфоцитарних інфільтратів всередині печінкових часточок, розширення центральних вен.

Електронно-мікроскопічні дослідження печінки щурів контрольної групи (**рис.2А**) показали, що основну масу печінкової часточки складають печінкові пластинки та синусоїдні гемокапіляри. Печінкові пластинки організовані гепатоцитами середньої електронної щільності, що мають оптимальне співвідношення цитоплазми та ядра.

Перисинусоїдний полюс цитоплазми гепатоцитів та його перисинусоїдна плазмолема контактують з простором Діссе, який з боку синусоїдних гемокапілярів обмежений в основному ендотеліальними клітинами.

Ендотеліоцити синусоїдних гемокапілярів видовженої форми з центрально розташованими ядрами. Навколо ядра виявляється компактно розташована зона органел – комплекс Гольджі, гранулярна ендоплазматична сітка і велика кількість мітохондрій. У периферійній частині цитоплазми є фенестри. При ЦД ендотеліоцити з ознаками набряку. У цитоплазмі виявляються вакуолі і мітохондрії з деструктивними кристами. У просвітах синусоїдних гемокапілярів локалізуються еритроцити зміненої форми як результат глюкозилювання гемоглобіну (**рис.2Б**).

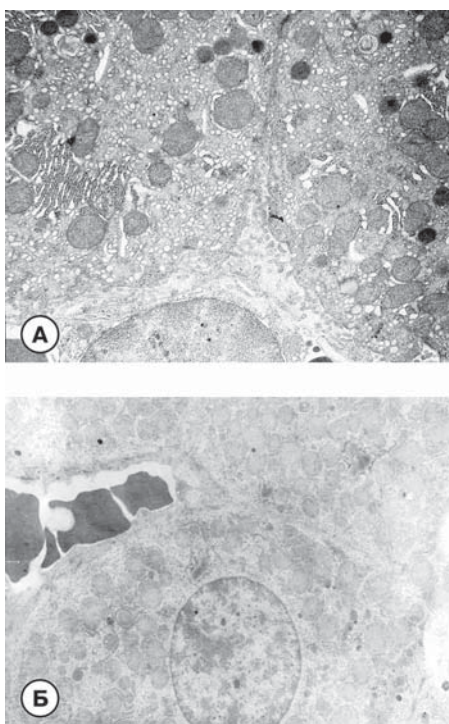


Рис.2. А- електронна мікрофотографія гепатоцитів щурів контрольної групи **васкулярна поверхня гепатоцитів простір Діссе, частина ендотеліоцита 3б.: X 3500;**
Б- Електронна мікрофотографія печінки щура через 14 днів після введення стрептозоточину: **васкулярна поверхня гепатоцита і синусоїдний гемокапіляр, у просвіті якого, групи еритроцитів зміненої форми, 3б.: X 3000.**

Результати гістохімічних досліджень виявили специфіку зв'язування лектинів із структурними компонентами печінки. Зокрема, рецептори лектину НРА в нормі виявлялися у складі цитоплазми гепатоцитів, ретикулярних волокон перисинусоїдного простору Діссе, ендотеліоцитів

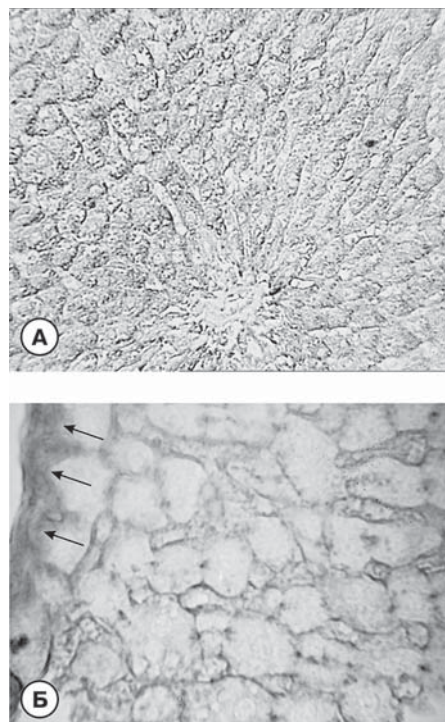


Рис.3. А - гістопографія рецепторів лектину НРА у печінці тварин контрольної групи; 3б.:X об. 15 ок.20;
Б - при стрептозоточин-індукованому цукровому діабеті. Редуція цитоплазматичної зернистості гепатоцитів. 3б.: X об. 15 ок.40.

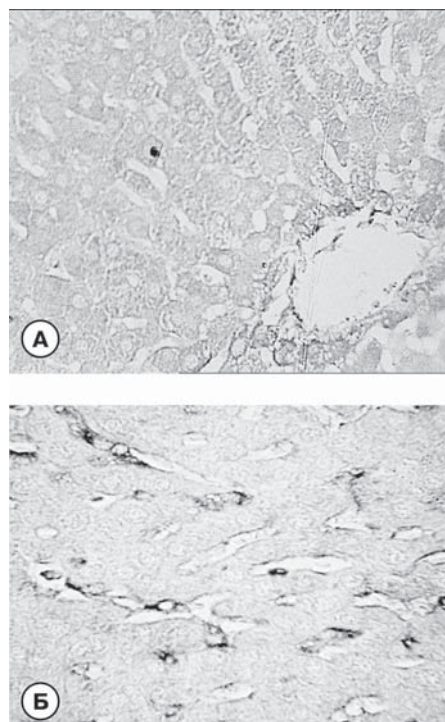


Рис.4. А- рецептори лектину SNA **у печінці щурів контрольної групи. 3б.: X об. 40, ок. 15;**
Б- гістопографія рецепторів лектину SNA **при цукровому діабеті: експресія SNA-реактивних глікополімерів у цитоплазмі клітин Купфера синусоїдних гемокапілярів. 3б.: X об.90, ок.10.**

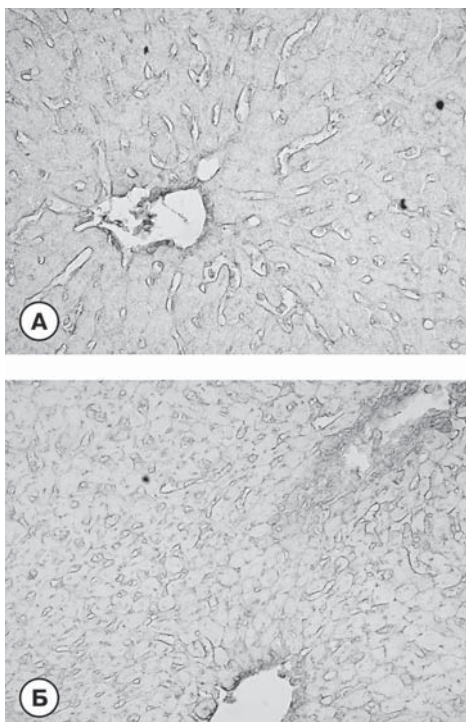


Рис. 5 А,Б. Реактивність структурних компонентів печінки щура з лектином WGA: контурування ендотелію синусоїдних гемокапілярів, центральної вени, судин портальних трактів.

А - контроль, Б - дослід.

Зб.:Х (А) об.10, ок.20; Зб.: Х (Б); об.10, ок.40.

центральної вени. При цукровому діабеті ця реактивність посилювалась, рецептори лектину HPA додатково з'являлись в складі ендотеліоцитів портальних трактів, і синусоїдних гемокапілярів (**рис.3 А,Б**).

Рецептори лектину SNA в печінці інтактних тварин локалізувалися переважно в складі цитоплазматичної зернистості гепатоцитів, у меншій мірі - у складі ендотеліоцитів центральної вени (**рис.4А**). Ці дані співпадають з результатами [9,11]. При ЦД виявлена додаткова експресія SNA-реактивних глікокон'югатів у цитоплазмі клітин Купфера, що, правдоподібно, пов'язано з їх сіалізацією, і підвищеною реактивністю (**рис.4Б**).

Експресія рецепторів лектину WGA у печінці тварин контрольної групи була рівномірною у межах часточок, тоді як при ЦД простежувалася редукція його реактивності в напрямі від центральної вени до периферії часточок: найвищу реактивність виявляли гепатоцити навколо центральної вени, глікополімери судинного ендотелію синусоїдних гемокапілярів, портальних трактів, центральної вени (**рис.5А,Б**). На те, що гіперглікемія може викликати гострі функціональні і морфологічні зміни ендотелію судин вказує [11].

Висновки. Отже, при експериментальному цукровому діабеті ми констатували не тільки морфологічні зміни у гепатоцитах але і посилення експресії рецепторів використаних нами лектинів HPA (α DGalNAc), WGA (DGlcNAc, NeuNAc), SNA, (Neu5Ac(α 2-6)Gal / DGalNAc) на поверхні ендотеліоцитів судин портальних трактів і синусоїдних гемокапілярів печінки, що може підсилювати адгезивні властивості ендотелію до клітин кров та проникність стінки судин.

Перспективи подальших досліджень. У перспективі планується більш детальне вивчення ендотелію синусоїдних гемокапілярів печінки у більш віддалені терміни перебігу цукрового діабету з використанням ширшої панелі лектинів.

Список літератури

1. Балаболкин М.И. Генетические аспекты сахарного диабета / М.И. Балаболкин, И.И. Дедов // Сахарный диабет. - 2000. - №1. - С. 2-11
2. Баранов В.Г. Экспериментальный сахарный диабет / В.Г. Баранов. - М.: Медицина, 1983. - 220 с.
3. Дорошенко О.М. Обґрунтування ефективності застосування ангіопротектора ізодину для лікування генералізованого парадонтиту у щурів в умовах експериментального діабету / О.М. Дорошенко // Одеський мед. журн. - 2006. - Т.97, №5. - С. 11-14.
4. Зилов А.В. Печень при метаболическом синдроме и инсулино - резистентности: взгляд эндокринолога / А.В. Зилов // Клин. перспект. гастроэнтерол. гепатол. - 2005. - № 5. - С. 14-18.
5. Люта М.Я., Кулачковський О.Р., Барська М.Р., Сибірна Н.О. Поверхнева архітектура еритроцитів щурів за умов експериментального цукрового діабету при введенні L-аргініну та інгібіторів NO-синтази // Лабор. Діагностика. -2007. - Т.2. -С.63-69.
6. МакДермотт М.Т. // Секреты эндокринологии / 2-е изд. — М.: Бином, 2001. — С.39.
7. Cohen R. // Circulation. — 1993. — V.87. — P. V67—V76.
8. Complement activation trough the lectin pathway in patient with Henoch – schonlein purpura nephritis / M. Endo, H. Ohi, L. Ohsawa [et al.] // Amer. S. Kidney Dis. — 2000. - V. 35. — P. 401-407.
9. Expression of Gal-beta1,4GlcNAc alpha2,6-sialyltransferase and alpha2,6-linked sialoglycoconjugates in normal human and rat tissues / Kaneko Y., Yamamoto H., Colley K.J., Moskal J.R. // J. Histochem. Cytochem. - 1995. - V.43, № 9. - P. 945-954.
10. Knudson P., Eriksson J., Lahdenpera S. et al. // Diabetologia. — 1995. — V. 38. — P. 344 — 350.
11. Merritts textbook of neurology / P. Lewis. — Baltimore, Philadelphia, etc., 1995. — P.237—245.
12. Poston L. // Diabetologia. — 1997. — V. 40, Suppl. 2. — P. S113 — S114.

УДК 611.161:516:306] -018.74:547.96] – 08:616.379-008.64.

ЛЕКТИНОГИСТОХІМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЕНДОТЕЛІЮ СИНУСОЇДНИХ ГЕМОКАПІЛЯРІВ ПЕЧІНКИ НА ТЛІ СТРЕПТОЗОТОЦИН - ІНДУКОВАНОГО ДІАБЕТУ

Панкевич Л.В., Яценко А.М.

Резюме. З допомогою загальногістологічних, електронно-мікроскопічних та лектиногістохімічних методів досліджень вивчали морфологічні особливості та глікополімери ендотеліоцитів печінки в нормі та на 14-й день перебігу експериментального цукрового діабету. При експериментальному стрептозотин - індукованому цукровому діабеті спостерігаються не тільки морфологічні зміни у гепатоцитах, але і посилення експресії рецепторів використаних нами лектинів HPA (α DGalNAc), WGA (DGlcNAc, NeuNAc), SNA, (Neu5Ac(α 2-6)Gal / DGalNAc) на поверхні ендотеліоцитів судин портальних трактів і синусоїдних гемокапілярів печінки, що може підсилювати адгезивні властивості ендотелію до клітин крові та проникність через стінку судин.

Ключові слова: експериментальний діабет, ендотелій, печінка, лектиногістохімія.

УДК 611.161:516:306] -018.74:547.96] – 08:616.379-008.64.

ЛЕКТИНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭНДОТЕЛИЯ СИНУСОИДНЫХ ГЕМОКАПИЛЛЯРОВ ПЕЧЕНИ НА ФОНЕ СТРЕПТОЗОТИЦИН-ИНДУЦИРОВАННОГО ДИАБЕТА

ПАНКЕВИЧ Л.В., ЯЦЕНКО А.М.

Резюме. С помощью общегистологических, электронномикроскопических и лектиногистохимических методов исследований изучали морфологические особенности и гликополимеры эндотелиоцитов печени в норме и на 14-ый

день експериментального сахарного діабета. При експериментальному стрептозототин-індуцированому сахарному діабеті спостерігаються не тільки морфологічні зміни в гепатоцитах, але й посилення експресії рецепторів використаних нами лектинів HPA (α DGalNAc), WGA (DGlcNAc, NeuNAc), SNA, (Neu5Ac(α 2-6)Gal / DGalNAc) на поверхні ендотеліоцитів судин портальних трактов і синусоїдних гемокапілярів печінки, що може посилювати адгезивні властивості ендотелію до кліток крові і проникнення крізь стінку судин.

Ключевые слова: експериментальний діабет, ендотелій, печінка, лектинова гістохімія.

UDC 611.161:516.0306]-018.74:547.96]-08:616.379-008.64.

LECTIN HISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF THE ENDOTHELIUM OF SINUSOIDAL HEMOCAPILLARIES AT THE BACKGROUND OF STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS

Pankevych L.V., Yashchenko A.M.

Summary. By means of general histological, electronic microscopy and lectin histochemical methods, there were studied morphological peculiarities and glycoproteins of the endothelial cells of liver in the norm and on the 14th day of the course of experimental diabetes mellitus. Lectins used in the research encompassed HPA (α NAcDGal); SNA (Neu Gal/NAcGal); and WGA (NAcDGlcNAc). In experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus there were observed not only morphological changes in the hepatocytes but also increased expression of the receptors of these lectins on the surface of endothelial cells of the vessels of portal tracts and sinusoidal hemocapillaries of liver that can potentiate adhesive properties of endothelium to the blood cells and increase permeability of their vascular wall.

Key words: experimental diabetes mellitus, endothelium, liver, lectin histochemistry.

Стаття надійшла 4.04.2011 р.

УДК 611.316.5-018.7-08

Л.Б. Пелипенко, Г.А. Єрошенко, О.Б. Тумакова

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОСТОРОВОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ ЕПІТЕЛІАЛЬНИХ КОМПЛЕКСІВ ТА СУДИН ГЕМОМІКРОЦИР-КУЛЯТОРНОГО РУСЛА В МЕЖАХ ЧАСТОЧОК ПІДШЛУНКОВОЇ ТА ПРИВУШНИХ ЗАЛОЗ ЛЮДИНИ

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)

Робота є фрагментом науково-дослідної теми ВДНЗ України "Українська медична стоматологічна академія" "Вивчення закономірностей структурної організації внутрішніх органів у нормі та при патології", номер держреєстрації 0106U003236.

Вступ. Залози травної системи відіграють провідну роль у забезпеченні адекватного процесу травлення [1, 2, 10]. Тому патологічні процеси, які порушують секреторну функцію травних залоз, призводять до серйозних уражень та деструктивних змін тканин шлунково-кишкового тракту [3, 4, 6].

В сучасній літературі термін структурно-функціональна одиниця означає специфічним чином орієнтований у тривимірному просторі мінімальний комплекс різнохарактерних тканинних структур (ефекторні клітини, кровоносні та лімфатичні мікросудини, сполучнотканинні та нервові елементи), який втілює в собі функцію даного органа [5, 7]. Інтегративною ланкою в системі забезпечення функціональної діяльності структурно-функціональної одиниці є окремі сегменти кровоносних мікросудин (резистивні, обмінні та емнісні мікросудини), які перебувають у межових співвідношеннях у просторі з ефекторними структурами.

Метою дослідження було вивчення та порівняння конструктивного принципу, що лежить в основі забезпечення секреторної діяльності підшлункової та привушних залоз людини в контексті уявлення про закономірність стереоморфологічних взаємовідношень між епітеліальними структурами та функціональними ланками гемомікроциркуляторного русла вищезначених залоз.

Об'єкт і методи дослідження. Матеріалом дослідження послужили 10 препаратів привушних залоз дорослих людей у віці 25-40 років і 10 препаратів підшлункової залози людей зрілого віку I періоду (від 22 до 35 років), причина смерті яких не була пов'язана з захворюваннями шлунково-кишкового тракту і при відсутності у них цих захворювань в анамнезі. Матеріал фіксували в 4% розчині глутарового альдегіду на фосфатному буфері при рН 7,4 і вміщували в ЕПОН-812 згідно з вимогами до приготування гістологічного матеріалу для ультрамікроскопічного дослідження. Серійні

напівтонкі зрізи одержували на ультрамікромомі УМТП-7. За допомогою методу двовимірної реконструкції з мікрофотонімків серійних напівтонких гістологічних зрізів підшлункової та привушних залоз виготовляли серії мікрофотокарт, які використовували для гістологічного, цитологічного та морфологічного аналізу, а також для виготовлення об'ємних моделей методом багатощарової пластичної реконструкції.

Ультратонкі зрізи одержували на ультратомі УМТП-4 методом прицільного мікротомування і досліджували в електронному мікроскопі ПЕМ-100 при прискорюючій нарузі 75 кВ.

Результати досліджень та їх обговорення. Одержані результати гістологічного аналізу, при співставленні їх з даними літератури [5, 6, 7, 10], дозволяють зробити висновок, що підшлункова та привушна залози людини за цитологічними ознаками і сукупністю епітеліальних структур, які входять до їх складу (ацинуса, вставні та внутрішньочасточкові протоки), належать до складних розгалужених утворень, що виробляють секрет білкового характеру [11 - 13]. При їх вивченні ми виявили деякі морфологічні ознаки, які відрізняють ці залози, але разом з тим, спільного в будові підшлункової та привушних залоз набагато більше, що підкреслює вищевикладений висновок.

Гістологічні дослідження підтверджують, що стінки кінцевих відділів в привушних залозах людини утворені двома шарами високоспеціалізованих епітеліальних клітин, одні з яких в процесі диференціювання перетворились на секреторні, а другі набули скоротливих властивостей (міоепітеліальні клітини) і зайняли, щодо перших, базальне положення. В процесі дослідження було підтверджено, що стінки кінцевих відділів підшлункової залози складаються з одного шару високоспеціалізованих клітин, що виробляють білковий секрет. Ацинарні гландулоцити підшлункової та привушних залоз за своєю загальною ультраструктурною організацією істотно нічим не відрізняються від інших клітин з подібним типом секреції, докладний опис яких представлений в літературі [8, 9].

Залози, що досліджуються, являють собою складну багаторівневу полімерну функціональну систему, що