

МОРФОЛОГІЯ

© Т.А. Тополенко

УДК 636.087.73: [61/.651.1 +612.621]:616-031.25:615.256.52

Т.А. Тополенко

ІНТЕНСИВНІСТЬ РОЗПОДІЛУ РЕЦЕПТОРІВ ДО ЛЕКТИНУ ЗАРОДКІВ ПШЕНИЦІ В ЯЄЧКАХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ ЖІНОЧИХ СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ У ДРУГОМУ ТА ТРЕТЬОМУ ПЕРІОДАХ ВАГІТНОСТІ

Запорізький державний медичний університет (м. Запоріжжя)

Робота є фрагментом НДР кафедри анатомії людини, топографічної анатомії та оперативної хірургії та кафедри гістології, цитології та ембріології Запорізького державного медичного університету "Лектингістохімічна характеристика морфогенезу органів і тканин в ранньому постнатальному періоді в нормі і експерименті" (2008-2012, № держ. реєстрації 0109U003986).

Вступ. Гліокон'югати є основними компонентами зовнішньої поверхні тваринної клітини. Їхня вуглеводна структура незворотно змінюється у процесі розвитку [1]. Лектиниявляються найбільш інформативними молекулярними зондами, які дозволяють проводити ідентифікацію гліокон'югатів клітин та тканин. Рівень експресії рецепторів до ендогенних лектинів дозволяє оцінювати функціональний стан клітин, а також органа в цілому [3]. Для виявлення рецепторів до лектинів сьогодні достатньо широко застосовують лектини рослинного походження, які специфічно зв'язуються з вуглеводними залишками рецепторів тваринних клітин. У лектинів рослинного походження селективність зв'язування з вуглеводними детермінантами дуже висока, що дозволяє застосовувати їх для оцінки морфо-функціонального стану органів та тканин шляхом аналізу функціонального стану клітинної мембрани [7]. Лектини та їх рецептори забезпечують міжклітинні, клітинно-матриксні взаємодії, регулюють процеси проліферації, диференціювання та апоптозу клітин [2,4]. Чинники хімічної природи з естрогенною активністю, що були застосовані під час вагітності, призводять до змін гормонального балансу в материнському організмі та можливого порушення процесів сперматогенезу у потомства чоловічої статі. Лектингістохімічне дослідження спермальних клітин дозволяє діагностувати подружнє непліддя, пов'язане з чоловічим фактором [5]. До теперішнього часу питання розподілу лектинів в структурах яєчка щурів, отриманого від самок, що отримували утробестан під час вагітності, вивчено недостатньо, тому являється доцільним та актуальним.

Мета дослідження полягала у встановленні особливостей розподілу лектинів WGA в яєчках щурів у потомства, отриманого від вагітних самок щурів після введення утробестану.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом дослідження були яєчки 56 новонароджених білих щурів лінії Вістар на 1-у, 5-у, 14-у, 30-у, 45-у, 60-у та 90-у добу післянатального життя, отриманих від щурів з датованим терміном вагітності. В якості жіночих

статевих гормонів використовували утробестан, який вводили вагітній самці інтравагінально у дозі 100 мг. Щурів розподілили на групи наступним чином: перша – інтактні тварини; друга -- контрольна, щурів вводили фізіологічний розчин натрію; третя – тваринам вводили утробестан протягом другого (з 8-ї по 14-у добу) та четверта група – утробестан вводили протягом третього періоду вагітності (з 15-ї по 21-у добу). Матеріал фіксували у рідині Буена, зневоднювали, заливали у віск-парафін-каучук та виготовляли гістологічні зразки. Виявлення вуглеводних залишків ацтіл-D-глюкозаміну та сіалової кислоти проводили з використанням лектину зародків пшениці за стандартною методикою з використанням стандартизованих наборів WGA-HRP HBO «Лектінвест» (м.Львів) [5]. Контрольні зразки обробляли 0,4% розчином лактози, для блокування зв'язаних сіалових кислот зразки попередньо обробляли розчином пепсину. Візуалізацію вогнищ зв'язування лектину проводили в системі діаміnobензидин-пероксид водню. Досліджували розподіл рецепторів до лектину зародків пшениці у капсулі яєчка, мембрани сім'яних каналців, судинній стінці та сполучній тканині інтерстицію. Результати обчислювали напівкількісно: +++ - сильна реакція (темно-коричневе забарвлення); ++ - помірна реакція (коричневе); + - слабка реакція (світло-коричневе); ± - дуже слабка реакція (бежеве); 0 - відсутність реакції.

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етических принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Результати досліджень та їх обговорення. На першу добу післянатального періоду більш інтенсивний вміст рецепторів до WGA спостерігається в капсулі яєчка, яка забарвлюється в темно-коричневий колір у інтактній та контрольній групах тварин. Стосовно інших досліджуваних структур: сполучній тканині інтерстицію, стінки судин, тучних клітин, лімфоцитів, фібробластів та фіброцитів, то у даних групах тварин вони забарвлюються з приблизно однаковою інтенсивністю у коричневий колір. У базальній мембрani звивистих сім'яних трубочок усіх груп тварин рецептори до лектину зародків пшениці визначаються на +. Капсула яєчка у потомства тварин, які отримували утробестан протягом другого

МОРФОЛОГІЯ

Таблиця

Інтенсивність розподілу рецепторів до лектину WGA в яєчках щурів

Доба життя	Групи тварин	Капсула яєчка	Базальна мембрана трубочок	Тучні клітини	Фібробласти	Фіброцити	Лімфоцити	Стінка судин	Інтерстицій
1	1	+++	+	++	++	++	++	++	++
	2	+++	+	++	++	++	++	++	++
	3	+++/++	+	+	±	±	+	++/+	+
	4	+	+	±	+	+	+	++/+	+
5	1	+++	+++/++	++	++/+	++/+	++	++	++/+
	2	+++	+++/++	++	++/+	++/+	++	++	++/+
	3	++	+	+	±	±	+	+	±
	4	++/+	+/±	+/±	+	+	+	++/+	+
14	1	+++	+++/++	++	++/+	+	++	+++/++	++
	2	+++	+++/++	++	++/+	+	++	+++/++	++
	3	++	±	+	±	±	+	+	±
	4	++/+	+/±	+	±	±	+	+	+
30	1	+++	++	++	+	+	++	+++	++
	2	+++	++	++	+	+	++	+++	++
	3	++/+	±	±	+	+	±	+	+
	4	+	±	±	±	±	±	+	+
45	1	++/+	++	+	±	+	+	+++/++	++
	2	++/+	++	+	±	+	+	+++/++	++
	3	++/+	+/±	+	+	+	+	++/+	+
	4	++/+	+/±	+	±	±	+	++/+	±
60	1	+++/++	++	++	++/+	++	++	+++	+++/++
	2	+++/++	++	++	++/+	++	++	+++	+++/++
	3	+	±	+	±	±	+	+	++
	4	+	+/±	+	±	±	+	±	+/±
90	1	+++	+++/++	+	+	+	+	+	±
	2	+++	+++/++	+	+	+	+	+	±
	3	+	±	±	±	±	±	±	+
	4	+	±	±	±	±	±	±	+

Примітка: 1-а група – інтактні тварини, 2-а – контрольна, 3-я – тварини, яким вводили утрожестан протягом II періоду вагітності, 4-а – утрожестан вводили у III періоді вагітності.

періоду вагітності забарвлюється у проміжний відтінок між темно-коричневим та коричневим.

Інші структури, що досліджувались у цій групі тварин також виявляють зменшення рецепторів до лектину WGA: тучні клітини, лімфоцити та інтерстицій на +; фіброцити та фібробласти на ±; стінка судин на ++/. У тварин четвертої експериментальної групи аналогічні зміни у забарвленні тучних клітин, лімфоцитів, інтерстицію, фіброцитів, фібробластів

та стінки судин. Капсула яєчок щурів цієї групи несе на собі значно меншу кількість WGA+-рецепторів, які за допомогою бензидинової мітки забарвлюються у світло-коричневий колір. Далі по тексту дані по контрольній групі наводиться не будуть, тому що вони співпадають з даними інтактної групи тварин.

На п'ятудобу післянатального періоду у тварин третьої експериментальної групи порівняно з інтактними, визначається зменшення кількості WGA+-рецепторів

МОРФОЛОГІЯ

у всіх досліджуваних структурах, особливо виражене у базальній мембрани звивистих сім'яних трубочок обох експериментальних груп і в сполучній тканині інтерстицію потомства тварин, які отримували утрожестан у другому періоді вагітності (**табл.**).

На чотирнадцяту добу життя у тварин обох експериментальних груп капсула яєчка, базальна мембрана звивистих сім'яних трубочок, фібробласти, фіброцити, тучні клітини та сполучна тканина інтерстицію виявляють меншу кількість WGA+-рецепторів у порівнянні з інтактними тваринами та зберігаються на рівні попередньої доби експериментальних щурів. При цьому капсула яєчка тварин четвертої групи, базальна мембрana звивистих сім'яних трубочок щурів третьої групи та стінка судин у тварин обох експериментальних груп забарвлюються менш інтенсивно ніж на п'яту добу (**табл.**).

На тридцяту добу післянатального життя у експериментальних щурів зміни у інтенсивності забарвлення досліджуваних структур залишаються на рівні чотирнадцятої доби. Окрім капсули яєчка тварин четвертої групи, що несе на собі значно меншу кількість WGA+-рецепторів, які за допомогою бензидинової мітки забарвлюються у світло-коричневий колір. Також спостерігається незначне зменшення інтенсивності забарвлення тучних клітин та лімфоцитів до бежевого кольору в обох експериментальних групах.

На сорок п'яту добу життя у потомства тварин, які отримували утрожестан протягом вагітності, у порівнянні з інтактною групою щурів кількість WGA+-рецепторів є нижчою у базальній мембрани звивистих сім'яних трубочок, стінці судин, на фібробластах і сполучній тканині інтерстицію та одночасно дещо вищою на фіброцитах. У порівнянні з попередньою добою у капсулі яєчка, базальній мембрани сім'яних трубочок, стінці судин та на тучних клітинах кількість рецепторів до лектину зародків пшениці збільшується, а у сполучній тканині інтерстицію четвертої групи досліджуваних тварин – зменшується (**табл.**).

На шестидесяту добу післянатального життя всі досліджувані структури для експериментальних груп тварин забарвлюються з меншою інтенсивністю, ніж аналогічні структури у інтактних тварин (**табл.**). Особливо це виражено для капсули яєчка, стінки судин обох груп та базальної мембрани сім'яних трубочок третьої групи і сполучної тканини інтерстицію четвертої експериментальної групи. Відносно попередньої доби спостереження, то зменшення кількості рецепторів до лектину WGA спостерігається у капсулі яєчка та стінці судин, а їх збільшення – у сполучній тканині інтерстицію, особливо у третій групі щурів.

На дев'яносту добу життя у експериментальних тварин порівняно з інтактними рецептори до лектину WGA у значно менший кількості визначаються у капсулі яєчка і на мембрани сім'яних трубочок. Також їхня кількість незначно менша на мембрани усіх досліджуваних клітин та стінки судин та більша у сполучній тканині інтерстицію. У порівнянні з попередньою добою у потомства щурів, отриманих після введення утрожестану під час вагітності, то

відмінності визначаються лише у забарвленні стінки кровоносних судин, яка знижує свою інтенсивність до світло-коричневого кольору (**табл.**).

Таким чином, розподіл рецепторів до лектину зародків пшениці у потомства тварин, які отримували утрожестан у період вагітності має наступний вигляд. Для експериментальних тварин обох груп з 1-ї по 30-у добу у капсулі яєчка спостерігається зменшення WGA+-рецепторів, особливо виражене для четвертої групи. На 45-у добу їхній рівень залишається стабільним, а потім знову досить значно зменшується на 60-у та 90-у добу. На базальній мембрани звивистих сім'яних трубочок у потомства щурів, отриманих після введення утрожестану під час вагітності, спостерігається стабільно низький рівень рецепторів до лектину WGA протягом усього періоду спостереження, особливо на 15-у, 60-у та 90-у добу життя. У експериментальних тварин протягом від 1-ї по 90-у добу включно, кількість рецепторів до лектину зародків пшениці на тучних клітинах та лімфоцитах є досить низькою та коливається від + до ±. На фібробластах рецептори до лектину WGA визначаються наступним чином: зменшуються зі збільшенням строку спостереження, що є особливо вираженим на 45-у та 90-у добу. Стосовно фіброцитів то у третій та четвертій групах щурів показники майже повністю співпадають із показниками, характерними для фібробластів. На базальній мембрани судинної стінки у експериментальних тварин спостерігається тенденція зменшення кількості рецепторів до лектину зі збільшенням WGA строку спостереження, особливо виражена на 30-у та 60-у добу. У потомства тварин, отриманих після введення утрожестану під час вагітності, у інтерстиції спостерігається стабільно низький рівень рецепторів до лектину WGA протягом усього періоду спостереження, який становить від ± до +. Отримані результати підтверджуються отриманими раніше даними про відставання розмірів сім'яних канальців щурів експериментальної групи на пізніх строках спостереження [6], в зв'язку з чим розподіл рецепторів до лектину WGA в яєчках щурів може використовуватись для оцінки морфо-функціонального стану органу.

Висновки.

1. Інтенсивність розподілу рецепторів до лектину зародків пшениці у експериментальних щурів у всіх досліджуваних структурах є нижчою порівняно з інтактною групою.

2. В яєчках новонароджених, отриманих від вагітних після введення утрожестану спостерігається зменшення інтенсивності накопичення WGA+-рецепторів у капсулі, інтерстиції яєчка та на мембрани звивистих сім'яних трубочок.

3. На базальній мембрани судинної стінки у експериментальних тварин спостерігається тенденція зменшення кількості рецепторів до лектину зародків пшениці зі збільшенням строку спостереження, особливо виражена на 30-у та 60-у добу.

Перспективи подальших досліджень. Отримані дані в подальшому будуть доповненні вивченням інтенсивності розподілу в структурах яєчка щурів рецепторів до лектинів арахісу, сої та конканаваліну-А.

МОРФОЛОГІЯ

Список літератури

1. Антонюк В.О. Лектины та їх сировинні джерела / В.О. Антонюк // Львів: ПП »Кварт», 2005.- 554с.
2. Волошин Н.А. Лектины животного и растительного происхождения: роль в процессах морфогенеза / Н.А. Волошин, Е.А. Григорьева //Журн. АМН України. - 2005. - Т.11, № 2. – С.233-237.
3. Луцик А.Д. Лектины в гистохимии / А.Д. Луцик., Е.С. Детюк., М.Д. Луцик // Львов: Вища школа, 1989.- 140с.
4. Луцик А.Д. Рецепторы лектинов в морфогистохимической характеристике органов и тканей / А.Д. Луцик // Автореферат.- Москва, - 1989 г.- С.6-31.
5. Стойка Б.Р. Лектингістохімічне дослідження спермальних клітин при подружньому неплідді / Б.Р. Стойка, А.М. Ященко, Ю.С.Фітьо, О.Д.Луцик// Acta medica leopolinesia.- 2003.- Т.9, № 2. - С.69-73.
6. Тополенко Т.А. Особливості розмірів сім'яних канальців щурів у нормі та після введення жіночих статевих гормонів у третьому триместрі вагітності / Т.А. Тополенко // Вісник морфології.- 2010.- Т.16, №2.- С.419-421.
7. Miosge N. Ultrastructural localization of binding sites for the lectins RCA-1 and WGA in the preimplantation mouse embryo / N. Miosge, W. Dresp, R.Herken // Journal of Histochemistry and Cytochemistry.-1997.- Vol.45.- P.447-454.

УДК 636.087.73: [61/.651.1 +612.621]:616-031.25:615.256.52

ИНТЕНСИВНОСТЬ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ РЕЦЕПТОРОВ К ЛЕКТИНУ ЗАВЯЗИ ПШЕНИЦЫ В ЯИЧКАХ КРЫС В ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ЖЕНСКИХ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ ВО ВТОРОМ И ТРЕТЬЕМ ПЕРИОДАХ БЕРЕМЕННОСТИ

Тополенко Т.А.

Резюме. В результате изучения распределения рецепторов к лектину завязи пшеницы в структурах яичек крыс, которым вводили утробестан во втором и третьем периодах беременности, выявлено уменьшение их накопления во всех исследуемых структурах в сравнении с интактной группой.

Ключевые слова: яички, крысы, лектины WGA, утробестан.

УДК 636.087.73: [61/.651.1 +612.621]:616-031.25:615.256.52

ІНТЕНСИВНІСТЬ РОЗПОДІЛУ РЕЦЕПТОРІВ ДО ЛЕКТИНУ ЗАРОДКІВ ПШЕНИЦІ В ЯЄЧКАХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ ЖІНОЧИХ СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ У ДРУГОМУ ТА ТРЕТЬОМУ ПЕРІОДАХ ВАГІТНОСТІ

Тополенко Т.А.

Резюме. У результаті вивчення розподілу рецепторів до лектину зародків пшениці в структурах яєчок щурів, яким вводили утробестан у другому та третьому періодах вагітності, спостерігається зменшення їх накопичення у всіх досліджуваних структурах порівняно з інтактною групою.

Ключові слова: яечки, щури, лектины WGA, утробестан.

UDC 636.087.73: [61/.651.1 +612.621]:616-031.25:615.256.52

Distribution Of Lectins WGA In The Testicles Of Rats After Introduction Of Female Sexual Hormones In The Second And Third Period Of Pregnancy

Topolenko T.A.

Summary. Distribution of lectins WGA in the structures of the testicles of rats after introduction of utrogestan in the second and third periods of pregnancy causes its reduction in all structures which were studied.

Key words: testes, rats, lectins WGA, utrogestan.

Стаття надійшла 29.07.2011 р.