

**ЭКСПРЕССИЯ СИАЛО- И N-АЦЕТИЛ-D-ГЛЮКОЗАМИНОКОНЬЮГАТОВ В
РАННЕМ ГИСТОГЕНЕЗЕ КОЖИ ТУЛОВИЩА ЭМБРИОНОВ ЧЕЛОВЕКА****ГУ «Крымский государственный медицинский университет
им. С. И. Георгиевского» (г. Симферополь)**

Работа выполнена согласно общему плану научных исследований ГУ «КГМУ имени С.И. Георгиевского» и является фрагментом комплексной плановой темы «Закономерности пренатального и постнатального гисто- и органогенеза при типической и атипической имплантации и под влиянием медикаментозных препаратов. Номер государственной регистрации 0109U008095. Шифр работы 03.

Вступление. Углеводсодержащим рецепторам клеточной поверхности и цитомембран принадлежит важная роль в обеспечении основных проявлений жизнедеятельности клетки как в норме, так и в условиях патологии [1, 3, 4]. Исключительно ценны в исследовании гликоконьюгатов клеток и тканей лектины, обладающие способностью к избирательному устойчивому связыванию с концевыми нередуцирующими моно- или дисахаридными остатками в составе углеводсодержащих биополимеров поверхности клетки, цитомембран, секреторных компонентов, неклеточных тканевых структур [2].

Гисто- и морфогенез зародыша протекает при участии лектин-рецепторных систем в регуляции агрегации и миграции клеток, в образовании структурных и функциональных контактов между отдельными группами клеток [11, 13], а также некоторые факторы роста клеток имеют структурное и функциональное сходство с растворимыми лектинами [7]. Изменение гистотопографии и состава связывающих лектины гликоконьюгатов в пренатальном онтогенезе отражает последовательность включения различных механизмов, обеспечивающих дифференциацию и нормальное функционирование органов [9, 10]. Неопластическая трансформация и злокачественная прогрессия кожи сопровождается зачастую экспрессией эмбриональных углеводных антигенов, являющихся рецепторами лектинов [3, 6, 8].

Единичные исследования посвящены проблеме гистотопографии рецепторов лектинов в эмбриональном развитии кожи лабораторных животных [12] и человека [15].

Цель и задачи исследования. С помощью набора лектинов с углеводной специфичностью к сиало- и N-ацетил-D-глюкозаминоконьюгатам, присутствующим в гликополимерах кожи человека, проследить последовательные этапы морфогенетических преобразований эпителиального и мезенхимного зачатка кожи у зародышей человека, развивавшихся в матке при отсутствии повреждающих факторов внешней и внутренней среды.

Объект и методы исследования. Результаты работы базируются на 122 зародышах и предплодах человека в возрасте от 21 суток до 12 недель внутриутробного развития. Это дало возможность изучить зародыши человека на стадиях последовательно от раннего периода нервного желобка до начала дефинитивного плодного периода, что соответствует уровням развития по Стритеру от X до XXIII и началу плодного периода и стадиям, принятым сейчас в Институте Карнеги от 9 до 23. Набор использованных лектинов включал: лектин зародышей пшеницы (WGA) (специфичен к N-ацетилнейраминовой кислоте и к N-ацетил-D-глюкозамину), лектин бузины черной (SNA) (специфичен к N-ацетилнейраминовой кислоте), лектин клубней картофеля (STA) (специфичен к N-ацетил-D-глюкозамину). Проявляли в системе диаминобензидин - перекись водорода [5]. Контроль специфичности реакции осуществляли путем исключения из схемы обработки препаратов диаминобензидина. Интенсивность окрашивания срезов различными лектинами 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 исследований и их обсуждение. В конце первого и начале второго месяца внутриутробной жизни эпителиоциты наружного покрова зародыша нарастающе синтезируют гликополимеры, являющиеся рецепторами лектина зародышей пшеницы (**табл.**). Первоначально такие соединения имеются на апикальной поверхности и диффузно заполняют цитоплазму клеток. В более старшем возрасте бензидиновая метка откладывается в значительном количестве на базальной мембране, апикальной поверхности и в цитоплазматических включениях, окруженных мембраной. В конце второго месяца и на третьем месяце эмбриогенеза (зародыши 23-70 мм длины) в эпидермоцитах происходит дальнейшее изменение биосинтеза гликополимеров, связанное с дифференцировкой. Оно проявляется редукцией и перераспределением рецепторов лектина зародышей пшеницы. В эпителиоцитах в конце второго месяца WGA+ гликополимеры присутствуют в значительных количествах на апикальной поверхности, в базальной мембране и в плазматических мембранах цитоплазматических включений. К концу третьего месяца (зародыши 57-70 мм длины) WGA-положительные соединения

МОРФОЛОГИЯ

Таблица 1

Количественное содержание рецепторов лектинов в коже

Название структуры	Теменно-копчиковая длина зародышей в мм																					
	5,5	5,5	6,5	9	10	11	12	13	14	16	17	18	20	21	23	25	27	30	32	45	56	70
Лектин зародышей пшеницы																						
Эпидермис																						
апикальная поверхность	2	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
базальная поверхность	2	3	3	4	4	4	4	4	4	3	3	2	2	2	2	2	2	1	0	0	0	0
М и ЭСТ кожи																						
цитолемма	0	0	0	0	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	
цитоплазма	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	1	1	1	1	0	0	
Лектин бузины черной																						
Эпидермис																						
апикальная поверхность	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	2	2	
базальная поверхность	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Внутрицито-плазматические включения	1	1	1	2	2	2	2	2	3	3	3	2	2	2	2	2	2	1	1	1	0	0
М и ЭСТ кожи																						
цитолемма	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	2	0
цитоплазма	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	3	3	2	1	0	0
Лектин клубней картофеля																						
Эпидермис																						
апикальная поверхность	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
базальная поверхность	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1
внутрицито-плазматические включения	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
цитолемма									4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3
цитоплазма									3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	1	1	0
М и ЭСТ кожи																						
цитолемма	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	0	0
цитоплазма	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0

Примечание: *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.

присутствуют только на апикальной поверхности и на цитолемме эпидермальных эпителиоцитов.

На ранних этапах развития (зародыши 24-37 суток, 3,2-9 мм) мезенхимные элементы под эпителиоцитами наружного покрова обладают одинаковой способностью диффузно концентрировать в цитоплазме клеток в значительных количествах гликополимеры с концевыми нередуцирующими остатками N-ацетил-D-глюкозамина и N-ацетилнейраминовой кислоты. Межклеточное вещество свободно от таких соединений. Дальнейшая дифференцировка мезенхимы в течение первой половины второго месяца (зародыш 38-46 суток, 10-17 мм длины) связана с перемещением и преимущественным накоплением гликополимеров, тропных к лектину зародышей пшеницы, на цитолемме клеток периепителиальной мезенхимы и в меньшей степени – в цитоплазме. Дифференцировка клеток периепителиальной мезенхимы в молодые фибробласты, начало синтеза ими аргирофильных волокон сопровождается постепенной редукцией рецепторов лектина зародышей пшеницы в цитоплазме. Этот процесс не затрагивает цитолемму.

В конце первого и начале второго месяца развития (зародыши 24-45 суток, 3,2-16 мм длины) эпидермоциты богаты лектин-позитивными соединениями, которые плотно лежат на апикальной поверхности и образуют включения в клетках верхних слоев пласта (**табл.**). Базальная мембрана от них свободна.

В течение третьего месяца внутриутробной жизни (зародыши 27-70 мм длины) дифференцировка эпителиоцитов сопровождается постепенной редукцией гликоконъюгатов с терминальными остатками сиаловых кислот на апикальной поверхности вплоть до полного их исчезновения из цитоплазмы клеток. Базальная мембрана SNA-отрицательна.

Клетки мезенхимы зачатка кожи зародышей конца первого и начала второго месяца внутриутробной жизни (3,2-14 мм длины) активно синтезируют и диффузно накапливают в цитоплазме гликополимеры с концевыми нередуцирующими остатками N-ацетилнейраминовой кислоты. Наиболее интенсивно бензидиновая метка откладывается в цитоплазме клеток периепителиальной мезенхимы. В конце второго месяца (зародыши 45-57 суток, 16-27 мм длины) сохраняется диффузный характер распределения лектин-связывающихся гликоконъюгатов в клетках мезенхимы и эмбриональной соединительной ткани, преимущественно имеющих контакт с эпителием. На третьем месяце эмбриогенеза (зародыши 30-70 мм длины) плотность расположения и степень экспрессии SNA-рецепторов в цитоплазме молодых фибробластов постепенно уменьшается вплоть до полной редукции к 12 неделям.

У зародышей в возрасте 43 суток (14 мм длины) впервые фиксируется скопление гликоконъюгатов с концевыми остатками N-ацетил-D-глюкозамина на апикальной поверхности эпителиального пласта эпидермиса кожи (**табл.**). Небольшое количество таких биополимеров лежит в базальной мембране.

Динамика изменения биологически важных макромолекул, реагирующих с лектином клубней картофеля, на протяжении конца второго и начала третьего месяца развития (зародыши 16-45 мм длины) выражается в усиленном накоплении их на апикальной поверхности и в цитоплазме клеток в виде включений, лежащих в поверхностных клетках пласта. В базальной мембране присутствуют следы таких соединений. На 11-12 неделе эмбриогенеза (зародыши 46-70 мм длины) концентрация и гистотопография рецепторов лектина клубней картофеля в эпидермоцитах сохраняется на достигнутом ранее уровне.

Мезенхимная закладка кожи впервые синтезирует углеводсодержащие полимеры – рецепторы клубней картофеля – в возрасте 43 суток (зародыши 14 мм длины). Повышенное содержание этих рецепторов лектинов имеется в течение второй половины второго месяца на цитолемме клеток периепителиальной мезенхимы и меньшее – в цитоплазме. Наиболее выраженное перераспределение гликоконъюгатов с концевыми нередуцирующими остатками N-ацетил-D-глюкозамина отмечается на протяжении третьего месяца внутриутробного развития. Клетки периепителиальной мезенхимы, дифференцируясь в фибробласты, теряют рецепторы лектинов. Клетки мезенхимы, не имеющие непосредственного контакта с эпидермисом, сохраняют гистотопографию рецепторов лектина, характерную для клеток периепителиальной мезенхимы второго месяца развития.

Таким образом, на ранних этапах развития кожи ее закладки синтезируют значительное количество сиалированных гликополимеров и гликополимеров с терминальными остатками N-ацетил-D-глюкозамина. К концу изученного периода просматривается постепенная редукция обоих гликополимеров. Наиболее значительна редукция сиалированных гликоконъюгатов, присутствие которых многие авторы связывают с усилением миграционных свойств клеток и в случае злокачественных новообразований – с усилением метастазирования и инвазивности опухолевых клеток [8, 14].

Выводы.

1. Эпителиоциты кожи на этапах своего развития имеют большое количество гликополимеров с концевыми нередуцирующими остатками N-ацетил-D-глюкозамина и в меньшей степени – N-ацетилнейраминовой кислоты. Развитие и рост зародыша ведет к полной редукции рецепторов лектина зародышей пшеницы на базальной мембране эпидермиса.

2. Малодифференцированная мезенхима зачатка кожи имеет много WGA-позитивного материала в цитоплазме и цитолемме клеток. Дифференцировка мезенхимы ведет к постепенной редукции рецепторов лектина в цитоплазме и сохранению их в значительном количестве на цитолемме.

3. Клетки эпидермиса накапливают заметное количество рецепторов лектина бузины черной на самых ранних стадиях развития на апикальной

поверхности эпителиального пласта и в цитоплазматических включениях. В конце третьего месяца цитоплазма эпителиоцитов освобождается от рецепторов лектина при уменьшении их количества на апикальной поверхности.

4. Мезенхима кожи в начале развития имеет умеренное количество сиалирированных гликоконъюгатов, обнаруживаемых лектином бузины черной, в цитоплазме клеток. Дифференцировка клеток мезенхимы в молодые фибробласты к 12-ти неделям развития заключается в потере SNA-положительного материала.

5. В эпидермисе кожи STA-положительный материал локализуется на апикальной поверхности пласта и в меньшей степени – в базальной мембране и внутрицитоплазматические включения. Содержание таких биополимеров в течение второго и

третьего месяца пренатального онтогенеза изменяется незначительно.

6. В мезенхиме STA-позитивный материал интенсивно накапливается на цитолемме и в меньшей степени – в цитоплазме. Молодые фибробласты, дифференцируясь из клеток мезенхимы, теряют рецепторы этого лектина.

Перспективы дальнейших исследований.

Возможное появление эмбриональных рецепторов лектинов эктодермального и мезенхимного зачатков кожи при злокачественной опухолевой патологии может послужить ранним диагностическим тестом на малигнизацию процесса, что создает объективную основу для обоснования объема оперативного вмешательства и последующих лечебных мероприятий.

Список литературы

1. Вагин Д. В. Выявление перераспределения гликоконъюгатов – рецепторов к лектинам при аллергическом и гнойном воспалении по сравнению с нормой / Д. В. Вагин, Е. Ю. Шаповалова, А. Г. Балабанцев // ЖУНГБ. -2003. -№ 2. - С.40.
2. Волошин Н. А. Лектины животного и растительного происхождения: роль в процессах морфогенеза / Н.А. Волошин, Е.А. Григорьева // Теоретична медицина. Журнал АМН України. – 2005. – Т. 11, № 2. – С. 223-237.
3. Галич И. П. Изменение гликозилирования при онкогенезе и развитии других патологических процессов / И. П. Галич, Н. В. Евтушенко // Онкология. – 2003. – Т. 5, №1. – С. 4-9.
4. Королев Н.П. Функции лектинов в клетке / Н.П. Королев // Итоги науки и техники. Сер. Общие проблемы физиологии, химии и биологии. – 1984. – С.1-7.
5. Луцик А. Д. Лектины в гистохимии / А. Д. Луцик, Е. С. Детюк, М. Д. Луцик. – Львов.: Вища школа, 1989. – 139 с.
6. Ariano M.C. Peanut lectin receptor, and carcinoembryonic antigen distribution in keratoacanthomas, squamous dysplasias, and carcinomas of skin / M. C. Ariano, E. L. Wiley, Ariano L. H. // J Dermatol Surg Oncol. – 1985. – Vol. 11, №11. – P. 1076-1083.
7. Caron M. Cell growth factor and soluble lectins / M. Caron, R. Joubert, D. Bladier // TIBS. – 1986. – №11. – P.319.
8. Dennis J. W. Glycoprotein glycosylation and cancer progression / J. W. Dennis, M. Granovsky, C. E. Warren // Biochim. Biophys. Acta. – 1999. – Vol. 1473, №1. – P. 21-34.
9. Franceschini V. Histochemical study by lectin binding of surface glycoconjugates in the developing olfactory system of rat / V. Franceschini, M. Lazzari, K. P. Revoltella // Int. J. Dev. Neurosci. – 1994. – Vol.12, №3. – P. 197-206.
10. Franceschini V. Histochemical study by lectin binding of surface glycoconjugates in the developing olfactory system of rat / V. Franceschini, M. Lazzari, K. P. Revoltella // Int. J. Dev. Neurosci. – 1994. – Vol.12, №3. – P. 197-206.
11. Harrison F.L. Endogenous B-galactoside-specific lectins in rabbit tissues / F. L. Harrison, J. E. Fitzgerald, J. W. Catt // J. Cell Sci. – 1984. – Vol.72. – P.147-162.
12. Kitamura K. The changes in lectin activity during the development of embryonic chick skin / K. Kitamura // J Embryol Exp Morphol. – 1980. – № 59. – P. 59-69.
13. Regan L.J. Selective expression of endogenous lactose-binding lectins and lactoseries glycoconjugates in subsets of rat sensory neurons / L. J. Regan, J. Dodd, H. Barondes // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1986. – Vol.83, №7. – P. 2248-2252.
14. Takano R. Sialylation and malignant potential in tumour cell glycosylation mutants / R. Takano, E. Muchmore, J. W. Dennis // Glycobiology. – 1994. – Vol. 4, №5. – P. 665-674.
15. Watt F.M. Onset of expression of peanut lectin-binding glycoproteins is correlated with stratification of keratinocytes during human epidermal development in vivo and in vitro / F. M. Watt, S. Keeble, Ch. Fisher // J Cell Sci. – 1989. – Vol. 94, №2. – P. 355-359.

УДК 611-018

ЕКСПРЕСІЯ СІАЛО- ТА N-АЦЕТИЛ-D-ГЛЮКОЗАМІНОКОН'ЮГАТИВ В РАНЬОМУ ГІСТОГЕНЕЗІ ШКІРИ ТУЛУБА ЕМБРІОНІВ ЛЮДИНИ

Шаповалова О. Ю., Коломоец Т. А.

Резюме. У 122 ембріонів людини, розвинених у матці при відсутності явних пошкоджуючих факторів зовнішнього середовища, у віці від 21 доби до 12 тижнів на стадіях Х - XXIII та початку плодного періоду за класифікацією інститута Карнегі виявлено закономірне переросподілення глікополімерів в епітеліальних і мезенхімних закладках шкіри. На ранніх етапах розвитку шкіри її закладки накопичують велику кількість сіалірованих глікополімерів та глікополімерів з кінцевими нередуцуючими залишками N-ацетил-D-глюкозамина, які є рецепторами лектину бузины чорної, клубнів картоплі та зародків пшениці. До кінця вивченого періоду розвитку виявляється поступова редукція обох глікополімерів. Найбільш значна редукція сіалірованих глікополімерів.

Ключові слова: ембріональний гістогенез людини, глікополімери, лектини, шкіра.

УДК 611-018

ЭКСПРЕССИЯ СИАЛО- И N-АЦЕТИЛ-D-ГЛЮКОЗАМИНОКОНЬЮГАТОВ В РАННЕМ ГИСТОГЕНЕЗЕ КОЖИ ТУЛОВИЩА ЭМБРИОНОВ ЧЕЛОВЕКА

Шаповалова Е. Ю., Коломоец Т. А.

Резюме. У 122 эмбрионов человека, развивавшихся в матке при отсутствии явно выраженных повреждающих факторов внешней среды, в возрасте от 21 суток до 12 недель на стадиях X - XXIII и начала плодного периода по классификации института Карнеги выявлено закономерное перераспределение гликополимеров в эпителиальных и мезенхимных закладках кожи. На ранних этапах развития кожи ее закладки накапливают большое количество сиалированных гликополимеров и гликополимеров с коцевыми нередуцирующими остатками N-ацетил-D-глюкозамина, которые являются рецепторами лектина бузины черной, клубней картофеля и зародышей пшеницы. До конца изученного периода развития выявляется постепенная редукция обоих гликополимеров. Наиболее значительна редукция сиалированных гликополимеров.

Ключевые слова: эмбриональный гистогенез человека, гликополимеры, лектины, кожа.

UDC 611-018

Expression Of Sialo- And N-Acetyl-D-Glycosaminoconjugates In Human Embryos Early Histogenesis Of Trunk Skin

Shapovalova Ye. Yu., Kolomoyetz T. A.

Summary. In 122 human embryos in the age from 21 day to 12 weeks of the intrauterus development at absence of the obviously expressed damaging factors of external environment, which includes stage X - XXIII and beginning of the fetal period by classification of Carnegie institute, regularity of glycopolymers redistribution in skin epithelial and mesenchymal germs have been revealed. On the early stages of skin development it epithelial and mesenchyme derivates provides accumulation of sialic glycopolymers and glycopolymers with N-acetyl-D-glycosamine terminal nonreduced residues (*Sumbucus nigra*, *Weat germ* and *Solanum tuberosum* lectin binding sites). To the end of studied period of time these glycopolymers slightly reduce. The reduction of sialic glycopolymers are more active.

Key words: human embryonic histogenesis, glycopolymers, lectins, skin.

Стаття надійшла 19.07.2011 р.