МОРФОЛОГІЯ

DOI 10.29254/2077-4214-2018-1-1-142-261-264

УДК 611.018.46:(612.08:599.323.4)

Білаш С. М., Борута Н. В., Старченко І. І., Єрошенко Г. А., Лисаченко О. Д.

ВУГЛЕВОДНА СПЕЦИФІЧНІСТЬ КЛІТИННИХ ЕЛЕМЕНТІВ ЕРИТРОБЛАСТНОГО ОСТРІВЦЯ ЧЕРВОНОГО КІСТКОВОГО МОЗКУ У ЩУРІВ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЗАПАЛЕННЯ

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

boruta.nata@ukr.net

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є фрагментом науково-дослідної роботи ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» МОЗ України: «Експериментально-морфологічне вивчення дії трансплантатів кріоконсервованої плаценти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів», № державної реєстрації 0113U006185.

Вступ. Дослідження останнього десятиріччя довели, що сьогодні, найбільш поширеною формою патології є запалення, яке складає основу більшості хвороб людини. Їй належить провідне місце у всій історії вчення про хвороби. Незважаючи на глибоке і багатогранне вивчення цієї патології протягом століть, вона не втрачає своєї актуальності і в сучасній медицині [3].

Розповсюдженість захворювань органів кровотворення та імунного захисту є актуальною медико-біологічною проблемою, і потребує пошуку нових адекватних та доступних методів лікування. Але усі нові методи корекції патологічних процесів потребують доклінічних випробувань з використанням лабораторних тварин, а встановлення найбільш подібного до організму людини виду експериментальних тварин відкриває нові горизонти для розвитку порівняльної морфології [4].

Тенденція до широкого розповсюдження захворювань червоного кісткового мозку є стимулом до вдосконалення діагностики та розробки нових комплексних методів лікування захворювань, які характеризуються структурно-функціональними порушеннями викликаного запальним процесом з розвитком дефектів структурних елементів органів кровотворення у вигляді патологічних змін [5].

Серед літературних джерел є значна кількість повідомлень про морфофункціональні зміни структурних компонентів червоного кісткового мозку з використанням електронної і світлової мікроскопії, проте відсутні дані про вплив асептичного запалення на процеси еритропоезу з використанням лектинової гістохімії [3,8]. Разом із тим, численні публікації свідчать про важливу роль вуглеводів та вуглеводовмісних біополімерів, що є рецепторами лектинів, у гістофізіології як нормальних структур організму, так і залучення глікополімерів до механізмів розвитку різноманітних форм патології.

В основі біологічної активності лектинів лежить феномен зворотної взаємодії їх з вуглеводами, який визначає декілька типів біологічних реакцій – це транспорт і накопичення вуглеводів, які забезпечують специфічність міжмолекулярних взаємодій (процеси розпізнавання макромолекул і клітин), міжклітинні взаємодії [6,7].

На гістологічних препаратах, еритробластного острівця червоного кісткового мозку, вуглеводні залишки досліджували за допомогою лектинів: конканаваліну А (Con A, специфічного до αDMan, αDGlc); лектину виноградного слимака (HPA, специфічного до αGalNAc); лектину кори золотого дощу (LABA, специфічного до αLFuc); лектинарахису (PNA, специфічного до βDGal(β1–3)DGalNAc); лектину насіння сої (SBA, специфічного до DGalNAc); лектину бузини чорної (SNA, специфічного до Neu5Ac(α2–6)Gal/DGalNAc); лектину омели білої (VAA, специфічного до βDGal); лектину зародків пшениці (WGA, специфічного до DGlcNAc, NeuNAc), які були мічені пероксидазою хрону **(табл. 1)** [1,2].

Гістохімічні препарати забарвлювались від світло – до темно-коричневого кольору і двома незалежними один від одного дослідниками виставлялись у протоколи бали: 0 балів – відсутність реакції, 1 бал – слаба реакція, 2 бали – помірна реакція, 3 бали – сильна реакція, 4 бали – різко реакція.

Контроль реакції зв'язування лектинів проводили шляхом виключення діамінобензидину зі схеми обробки препаратів.

Метою роботи було визначення рецепторів – глікополімерів рослинного походження у клітинних елементів еритробластного острівця червоного кісткового мозку у щурів при моделюванні гострого асептичного запалення.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальне дослідження було виконане на 45 безпорідних білих щурах. Тваринам в кількості 45 особин, було змодельоване гостре асептичне запалення, шляхом введення внутрішньоочеревенно 5 мг λ-карагінену («Sigma», США) в 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію на 1-ну тварину.

З експерименту тварин виводили на 1-у, 2-у, 3-ю, 5-у, 7-у, 10-у, 14-у, 21-у та 30-у доби шляхом передозування тіопенталового наркозу. Дослідження червоного кісткового мозку здійснювалось відповід-

но до встановлених термінів експерименту.

Набір біологічного матеріалу для проведення досліджень проводився в умовах малої операційної віварію ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» згідно з «Правилами використання лабораторних експериментальних тварин» (2006, додаток 4) і Гельсінською декларацією про гуманне відношення до тварин. Для проведення дослідження використовували препарати червоного кісткового мозку у щурів.

Після забору, матеріал фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну з послідуючою декальцінацією у розчині етилендіамінтетрауксусної кислоти, з дотриманням ph 7,4. Для отримання оглядових препаратів зрізи товщиною до 5 мкм фарбували гематоксиліном і еозином. В подальшому препарати обробляли з використанням стандартних наборів НПК «Лектинотест» м. Львів у розведенні лектинів 1:50 за методикою.

Таблиця 1.

Характеристика специфічності лектинів

№ з/п	Лектин	Скорочена назва	Джерело отримання	Вуглеводна специфічність
1		Con A		
2	Лектин виноградного слимака	HPA	Helix pomatia	αGalNAc
3	Лектин кори золотого дощу	LABA	Laburnum anagyroides bark agglutinin	Fuc (Fucα1-2Gaβ1-4Glc)
4	Лектин арахису	PNA	Arachis hypogaea	Т-антиген (Galβ1-3GalNAc-)
5	Лектин насіння сої	SBA	Glicine max	αGalNAc
6	Лектин бузини чорної	SNA	Sambucus nigra	NeuNAc(α2-6) DGal /DGalNAc
7	Лектин омели білої	VAA	Viscum album	β-D-Gal
8	Лектин зародків пшениці	WGA	Triticum vulgare	NAcDGlc, NANA

Примітка. Man – маноза; Glc – глюкоза; GlcNAc – N-ацетил-глюкозамін; Gal – галактоза; GalNAc – N-ацетил-галактозамін; Fuc – фукоза; NeuNAc – N-ацетилнейрамінова (сіалова) кислота.

Результати дослідження та їх обговорення. При вивченні гістологічних препаратів червоного кісткового мозку встановлено, що строма кровотворного органу була представлена кістковими балками і ретикулярною тканиною в якій розміщувалась велика кількість кровоносних судин, в основному, синусоїдні капіляри без базальної мембрани але з порами в ендотелії. Паренхіма червоного кісткового мозку була представлена острівцями в яких виявлялись диферони гемопоетичних клітини на різних стадіях диференціювання. Еритробластний острівець червоного кісткового мозку являється структурно-функціональною одиницею органу, та був представлений клітинами еритробластного ряду, а саме: проеритробластами, базофільними, поліхроматофільними та ортохромним еритробластами, які розташовувались навколо макрофагів.

Постановка лектинохімічних реакцій на гістологічних препаратах червоного кісткового мозку щурів, при моделюванні гострого асептичного запалення, була відмічена різко сильна реакція зв'язування на клітинних поверхнях макрофагів та проеритробластів з лектинами HPA та WGA, сильну реакцію спостерігали з лектинами Con A, LABA, PNA та VAA. Помірно позитивна реакція була встановлена з лектинами SBA та SNA **(табл. 2).**

Аналіз інтенсивності лектинохімічних реакцій з вуглеводними залишками базофільних еритробластів, встановив сильну реакцію на клітинних поверхнях, з лектинами HPA, VAA, WGA, помірно позитивна реакція спостерігалася при зв'язуванні з лектинами Con A, LABA, PNA, SBA та слабо позитивна реакція була відмічена з лектином SNA.

На клітинних поверхнях поліхроматофільних еритробластів була встановлена сильна реакція з лектином WGA, помірно позитивна реакція спостерігалася з лектинами Con A, HPA, PNA та VAA. Слабо

Таблиця 2.

Лектинохімічна характеристика структурних елементів еритробластного острівця при експериментальному запаленні

Лектини	Макрофаги	Еритробластний острівець			
		Проеритробласти	Базофільні еритробласти	Поліхроматофільні еритробласти	Ацидофільні (ортохромні) еритробласти
Con A	3	3	2	2	1
HPA	4	4	3	2	2
LABA	3	3	2	1	1
PNA	3	3	2	2	1
SBA	2	2	2	1	0
SNA	2	2	1	0	0
VAA	3	3	3	2	2
WGA	4	4	3	3	2

позитивна реакція була відмічена з лектинами LABA, SBA та відсутність реакції зв'язування клітинних поверхонь поліхроматофільних еритробластів, встановлені з лектином SNA.

В результаті лектинохімічних реакцій з вуглеводними залишками ортохромних еритробластів еритробластного острівця, була виявлена помірно позитивна реакція з лектинами HPA, VAA та WGA, слабо позитивну реакцію спостерігали з лектинами Con A, LABA, PNA, а з лектинами SBA, SNA, реакція була відсутня.

Висновки. Встановлено підвищення експресії рецепторів лектину виноградного слимака та зародків пшениці на клітинних поверхнях макрофагів та проеритробластів, що може бути використано, як селективний маркер. Базофільні еритробласти давали посилену реакцію зв'язування з лектином виноградного слимака, омели білої та лектином зародків пшениці. На клітинних поверхнях поліхроматофільних еритробластів спостерігали посилення зв'язування з лектином зародків пшениці. Встановлено, що в поліхроматофільних та ортохромних еритробластах, візуалізується зменшення частоти зв'язування з лектинами виноградного слимака та омели білої. Доведено, що в ортохромних еритробластах еритробластного острівця реакція була відсутня з лектинами насіння сої та бузини чорної.

Перспективи подальших досліджень. Планується вивчення вуглеводної специфічності структурних елементів еритробластного острівця червоного кісткового мозку при введенні кріоконсервованої плаценти на тлі експериментального запалення.

Література

1. Antonyuk VA. Kon'yugirovaniye lektinov s peroksidazoy khrena: usovershenstvovaniye metodiki. Klin. lab. diagnostika. 1996;4:102-6. [in Russian].
2. Antonyuk VO. Lektini ta їkh sirovinní dzherela. L'vív: PP «Kvart»; 2005. 554 s. [in Ukrainian].
3. Bílash SM. Lektinova aktivníst' vuglevodnikh determínant strukturnikh komponentív vorotarnogo víddílu shlunku pri gostromu yeksperimental'nomu gastrití ta vvedenní kríokonservovanoї platsenti. Vísnik problem bíologíї í meditsini. 2014;4;4:212-6. [in Ukrainian].
4. Bílash VP. Lektinokhímíchna kharakteristika protokovoї sistemi pídnizhn'oshchelepnikh slinnikh zaloz lyudini ta deyakikh laboratornikh tvarin u porívnyal'nomu aspektí. Vísnik Vínnits'kogo natsíonal'nogo medichnogo uníversitetu. 2017;1(2):231-4. [in Ukrainian].
5. Bílash SM, Boruta NV, Starchenko ÍÍ. Lektinokhímíchna kharakteristika klítinnikh yelementív yeritroblastnogo ostrívtsya chervonogo kístkovogo mozku u shchurív pri vvedení kríokonservovanoї platsenti. Svít meditsini ta bíologíї. 2017;3(61):83-5. [in Ukrainian].
6. Bílash SM, Boruta NV, Lisachenko OD. Lektinokhímíchna kharakteristika klítinnikh yelementív yeitroblastnogo ostrívtsya chervonogo kístkovogo mozku u shchurív. Naukovo-praktichna konferentsíya «Prikladní aspekti morfologíї»; 2017 Ver 21-22; s. 35-36. [in Ukrainian].
7. Lutsik AD. Lektiny v gistokhimii. Vishcha shkola; 1989. 139 s. [in Russian].
8. Lakhtin MV, Karaulov AV, Lakhtin VM. Lektin-glikokon»yugantnyye sistemy v organizme cheloveka. Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya. 2012;1:27-36. [in Russian].

ВУГЛЕВОДНА СПЕЦИФІЧНІСТЬ КЛІТИННИХ ЕЛЕМЕНТІВ ЕРИТРОБЛАСТНОГО ОСТРІВЦЯ ЧЕРВОНОГО КІСТКОВОГО МОЗКУ У ЩУРІВ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЗАПАЛЕННЯ

Білаш С. М., Борута Н. В., Старченко І. І., Єрошенко Г. А., Лисаченко О. Д.

Резюме. Основою методу дослідження вуглеводної специфічності є застосування лектинів, що дозволяє деталізувати морфофункціональні зміни в структурних елементах у щурів в умовах експериментального запалення, за рахунок зв'язування лектинів з глюкоконьюгатами які знаходяться на поверхні клітин. Доведено, що вуглеводні залишки, на клітинних елементах еритробластного острівця, періодично змінюють інтенсивність накопичення рецепторів до того чи іншого лектину, визначають різні функції одного і того ж лектину або системи лектинів.

Ключові слова: експериментальне запалення, еритробластний острівець, вуглеводні залишки, лектини.

УГЛЕВОДНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ КЛЕТОЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ЭРИТРОБЛАСТНОГО ОСТРОВКА КРАСНОГО КОСТНОГО МОЗГА У КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВОСПАЛЕНИЯ

Билаш С. М., Борута Н. В., Старченко И. И., Ерошенко Г. А., Лисаченко О. Д.

Резюме. В основе метода исследования углеводной специфичности применяют лектины, которые позволяют детализировать морфофункциональные изменения в структурных элементах у крыс в условиях экспериментального воспаления, за счет связывания лектинов с глюкоконьюгатами которые в свою очередь находятся на поверхности клеток. Доказано, что углеводные остатки, на клеточных элементах эритробластного островка, периодически меняют интенсивность накопления рецепторов к тому или иному лектину, определяют различные функции одного и того же лектина или системы лектинов.

Ключевые слова: экспериментальное воспаление, эритробластный островок, углеводные остатки, лектины.

CARBOHYDRATE SPECIFICITY OF CELLULAR ELEMENTS OF THE RED BONE ERYTHROBLAST ISLET IN RATS WHEN MODELING EXPERIMENTAL INFLAMMATION

Bilash S. M., Boruta N. V., Starchenko I. I., Eroshenko G. A., Lysachenko O. D.

Abstract. *The purpose of the work* was to determine the receptors – glycopolymers of plant origin in the cellular elements of the erythroblast islet of a red bone marrow in rats when modeling an aseptic inflammation.

Object and methods of the research. An experimental study was performed on 50 mongrel white rats. An acute aseptic inflammation was simulated in 45 animals by intraperitoneal injection of 5 mg of λ-carrageenan ("Sigma", USA) in 1 ml of isotonic sodium chloride solution per 1 animal.

The animals were withdrawn from the experiment on the 1st, 2nd, 3rd, 5th, 7th, 10th, 14th, 21st and 30th day by an overdose of thiopental anesthesia. The study of red bone marrow was carried out in accordance with the established terms of the experiment.

A set of biological material for conducting research was conducted under conditions of a small operating vivarium of the HSEEU "Ukrainian Medical Stomatological Academy" in accordance with the "Rules for the Use of Laboratory Experimental Animals" (2006, Annex 4) and the Helsinki Declaration on the Humane Approach to Animals. For the study, preparations of red bone marrow in rats were used.

After gathering, the material was fixed in a 10% solution of neutral formalin with subsequent decalcification in a solution of ethylenediaminetetraacetic acid, with keeping to ph 7.4. For gaining observation preparations, sections with thickness up to 5 micrometer were stained with hematoxylin and eosin. Subsequently, the preparations were treated using standard sets of NPK "Lektinoest" (Lviv) in the development of lectins 1:50 by the method.

Results of the research and their discussion. In the study of histological preparations of the red bone marrow, it was found that the stroma of the hematopoietic organ was represented by trabecula of bone and reticulum tissue in which a large number of blood vessels were located, mainly sinusoidal capillaries without a basement membrane, but with pores in the endothelium.

Parenchyma of the red bone marrow was represented by islets in which the programed differentiation of hemopoietic cells were detected at different stages of it. The erythroblastic islet of the red bone marrow is a structural-functional unit of the organ, and was presented by the cells of the erythroblast series, namely: proerythroblast, basophilic, polychromatophilic, and orthochromic erythroblasts, which were located around macrophages.

The basis of the method of carbohydrate specificity study is the use of lectins, which allows to elaborate morphofunctional changes in the structural elements in rats under conditions of experimental inflammation, due to the binding of lectins to glucoconjugates that are on the cell surface. It is proved that carbohydrate residues on cellular elements of the erythroblast islet periodically change the intensity of accumulation of receptors to one or another lectin, determine the different functions of the same lectin or system of lectins.

Key words: experimental inflammation, erythroblast islet, carbohydrate residues, lectins.

Рецензент – проф. Проніна О. М.

Стаття надійшла 25.01.2018 року

DOI 10.29254/2077-4214-2018-1-1-142-264-269

УДК 591.185.6

Булик Р. Є., Бурачик А. І., Булик Т. С., Кривчанська М. І., Власова К. В.

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ПЕРЕТВОРЕННЯ В НЕЙРОНАХ СУПРАХІАЗМАТИЧНИХ ЯДЕР ГІПОТАЛАМУСА ЩУРІВ НА ФОНІ РІЗНОЇ ТРИВАЛОСТІ ОСВІТЛЕННЯ І ПРИ КОРЕКЦІЇ МЕЛАТОНІНОМ

Вищий державний навчальний заклад України

«Буковинський державний медичний університет» (м. Чернівці)

bulyk@bsmu.edu.ua

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є фрагментом НДР «Стрес-індуковані морфофункціональні та біохімічні зміни структур хроноперіодичної і гепато-ренальної систем у ссавців» (№ державної реєстрації 0114 U002472).

Вступ. Невід'ємною і фундаментальною властивістю живої матерії є ритмічні коливання. Поміж інших параметрів середовища фотоперіод – найнадійніший і найстабільніший синхронізувальний чинник для гомойотермних тварин, у т. ч. для людини [2,6]. Світловий сигнал сприймається сітківкою ока, звідки по ретиногіпоталамічному шляху надходить у супрахіазматичні ядра (СХЯ) гіпоталамуса [3]. Цим ядрам відводять роль основного водія (пейсмекера) циркадіанних ритмів у головному мозку ссавців [4,10,11]. Від СХЯ інформація про освітленість поширюється до шишкоподібної залози (епіфіза мозку) [2,9]. Залоза є частиною системи, яка здатна сприймати зміни рівня освітленості навколишнього середовища і забезпечувати циркадіанні ритми функціонування організму, зокрема шляхом синтезу її провідного індолу – мелатоніну [1,5]. Показано, що секреція мелатоніну підпорядкована чітким добовим варіаціям з мінімальним значенням вдень і максимумом близько 02.00 год [8]. Пригнічення синтезу мелатоніну світлом використовується як експериментальна модель гіпопінеалізму і характеризується перш за все мелатоніновою недостатністю [3,7].

Незважаючи на підвищену зацікавленість науковців до вивчення ритмічної діяльності біологічних органів та систем, багато питань щодо морфофункціональної характеристики структур головного