

УДК 616-097:616-091.8

DOI:10.24061/2413-0737/XXI.2.82.2.2017.52

*О.А. Григор'єва, М.А. Волошин***ОСОБЛИВОСТІ РОЗПОДІЛУ РЕЦЕПТОРІВ ДО ЛЕКТИНУ СОЇ (SBA)
У ТКАНИНАХ КОЛІННОГО СУГЛОБА ЩУРІВ**

Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя

Резюме. У роботі встановлено, що розподіл рецепторів до лектину сої у суглобовому хрящі характеризується зональністю та змінюється протягом перших місяців після народження. SBA⁺-сполуки входять до складу базальної пластинки синовіального шару (++), що вистеляє суглобову порожнину і що відмежовує суглобові хрящі кісток від суглобової порожнини. У

потомства щурів після введення гідрокортизону протягом третього періоду вагітності спостерігається зменшення інтенсивності розподілу SBA⁺-сполук у складі екстрацелюлярного матриксу суглобового хряща.

Ключові слова: суглобовий хрящ, лектин сої, агрекан, суглобова капсула, хондроцит.

Вступ. Не можна недооцінити роль протеогліканів у морфогенезі хряща. З їх основних функцій можна виділити наступні: зв'язування води, за рахунок чого створюється тургор тканини, участь у зборі і орієнтації колагенових волокон, забезпечення дифузії речовин у хрящі, вплив на диференціювання і мінералізацію хряща [3]. Суглобовий хрящ містить три основні класи протеогліканів, з яких на агрекан припадає 90 % [6]. Агрекан забезпечує міцність на тиск і особливо чутливий до змін синовіальної рідини [6]. Гіалуронова кислота зв'язує агрекан. Молекула агрекану складається із стрижневого (корового) білка і ланцюгів глікозаміногліканів, розташованих із боків і представлених переважно хондроїтин - і кератан-сульфатом. Сотні молекул агрекану зв'язуються з однією молекулою гіалуронової кислоти і формують структуру з молекулярною масою декілька мільйонів дальтон [7]. Формування великих агрегатів полегшує зв'язок протеогліканів з матриксом хряща. Набрякання хряща, зумовлене гідрофільністю молекул глікозаміногліканів і міцність на розрив, яка зумовлена колагеновою мережею, урівноважуються [7]. При компресії рідина може витікати з хряща, але цей процес обмежується молекулами агрекану, не здатними вільно зміщуватися в матриці [7]. Агрекан відіграє важливу роль у забезпеченні взаємодій між хондроцитами та екстрацелюлярним матриксом завдяки зв'язуванню з гіалуроновою кислотою [6]. У складі агрекану є вуглеводні залишки N-ацетилгалактозаміну (NacDGal), що, на нашу думку, дозволяє вивчити розподіл агрекану за допомогою використання лектингістохімічної реакції з лектином сої (SBA).

Мета дослідження. Вивчити розподіл рецепторів до лектину сої в тканинах колінного суглоба щурів у нормі та на тлі змін у системі мати-плацента-плід.

Матеріал і методи. Об'єктом експериментального дослідження стали колінні суглоби сингенних щурів (постачальник щурів «Біомодельсервіс» (м. Київ)) від народження до 120-ї доби життя. При роботі з експериментальними тваринами керувалися «Європейською конвенцією по захисту хребетних тварин, які вико-

ристовуються в експериментальних і інших наукових цілях» (Страсбург, 18.03.86). Догляд за тваринами здійснювали відповідно до норм і вимог, розроблених згідно з кодексом Ради Міжнародних медичних організацій «Міжнародні рекомендації для проведення медико-біологічних досліджень із використанням тварин». Вивчено п'ять груп тварин: перша – інтактні щури, щурам другої групи внутрішньоплідне введення імуноглобуліну в кількості 0,165 мг білка в 0,05 мл фізіологічного розчину здійснювали на 18-ту добу плодового періоду. Тваринам контрольної групи вводили фізіологічний розчин в еквівалентному об'ємі. Вагітним самкам четвертої групи тварин у третьому триместрі вагітності вводили гідрокортизон за методикою Павлової І.Г. (1989) у дозі 10 мг/кг [4]. Вагітним самкам п'ятої (контрольної) групи в третьому періоді вагітності вводили фізіологічний розчин. Тварин виводили з експерименту на 1-шу, 7-му, 11-ту, 14-ту, 21-шу, 30-ту, 45-ту, 60-ту, 90-ту, 120-ту доби після народження, проводили під ефірним наркозом у другій половині дня, з 13⁰⁰ до 14⁰⁰, дотримуючись наказу «Про заходи по подальшому вдосконаленню організаційних форм роботи з використанням експериментальних тварин». Проводили дослідження із застосуванням лектину сої (SBA⁺) з використанням стандартних наборів «Лектини». Лектингістохімічну реакцію вважали позитивною за наявності бензидинової мітки на поверхні цитоплазматичної мембрани. Інтенсивність відкладення бензидинової мітки оцінювали напівкількісно в (+) : +++ – інтенсивна реакція (коричневий колір); ++ – помірна реакція (жовто-коричневий колір); + – слабка реакція (світло-коричневий або золотисто-жовтий колір); 0 - відсутність реакції.

Результати дослідження та їх обговорення. Волокна синовіального шару суглобової капсули містять вуглеводні залишки NacDGal, що є рецепторами до лектину сої (SBA). Товсті колагенові волокна відрізняються помірною (++) експресією SBA⁺-структур, тоді як тонкі, звиті – містять велику кількість (+++) NacDGal. Волокна фіброзного шару капсули більшою мірою представлені товстими, впорядковано розташованими колагеновими волокнами і характеризуються менш ін-

тенсивним рівнем відкладення бензидинової мітки порівняно з волокнами синовіального шару. У товщі синовіального шару розташовані кровоносні судини (артерії, вени), ендотелій і адвентиційна оболонка яких слабо SBA⁺, у складі структур м'язової оболонки практично не визначаються вуглеводні залишки NacDGal. У цитоплазмі синовіоцитів синовіального шару визначаються досить інтенсивні (+++) SBA⁺ – внутрішньоцитоплазматичні включення. На мембрані синовіоцитів також експресуються рецептори, до складу яких входить NacDGal. У синовіальному шарі капсули колінного суглоба упродовж усього періоду спостереження (від моменту народження до 120-ї доби життя) виявляються SBA⁺ – клітини, локалізовані переважно в місцях прикріплення капсули до кісток, навколо кровоносних судин синовіального шару. Серед SBA⁺ – клітин виявляються лімфоцити, макрофаги і дендритні клітини. Вміст SBA⁺ – клітин хвилеподібно змінюється протягом чотирьох місяців після народження. Найбільший вміст SBA⁺ – клітин визначається на 14-ту добу життя. Динаміка зміни абсолютної кількості SBA⁺ – клітин багато в чому збігається з динамікою зміни макрофагів перехідної зони капсули. У потомства щурів після введення гідрокортизону самкам у третьому періоді вагітності визначається достовірне зменшення вмісту SBA⁺ – клітин і макрофагів упродовж двох тижнів після народження, тоді як у антигенпремійованих щурів достовірних, порівняно з контролем, змін у вмісті як макрофагів, так і SBA⁺ – клітин у цілому впродовж усього терміну спостереження не виявлено.

У новонароджених щурів усіх груп вуглеводні залишки NacDGal визначаються у складі базальної пластинки синовіального шару (++), що вистеляє суглобову порожнину і що відмежовує епіфізарні хрящі кісток від суглобової порожнини. У складі міжклітинної речовини синовіального шару щільність розподілу рецепторів до лектину сої нижча (+), ніж у базальній пластинці. У ділянках синовіального шару, прилеглих до перехідної зони бензидинова мітка відкладається інтенсивніше. Вуглеводні залишки NacDGal входять до складу внутрішньоцитоплазматичних включень клітин пери-, про- і метахондральної зони. На цитоплазматичній мембрані клітин хряща рецептори до лектину сої не виявляються. Вуглеводні залишки NacDGal також визначаються у складі міжклітинної речовини пери- і прохондральної зони.

На 7-му добу після народження змін у розподілі рецепторів до лектину сої в синовіальному шарі, порівняно з новонародженими щурами, не виявлено. В епіфізарних хрящах усіх груп щурів виявляються вростаючі з перехідної зони кровоносні судини, стінка яких містить вуглеводні залишки NacDGal. У стінках вростаючих судин виявляються SBA⁺ – клітини, серед яких визначаються лімфоцити і макрофаги. Судини вистелені SBA⁺ – ендотеліоцитами. У хондроцитах пери- і прохондральної зони епіфізарних хрящів інтакт-

них, контрольних щурів і потомства щурів після введення гідрокортизону самкам у третьому періоді вагітності визначаються SBA⁺ – внутрішньоцитоплазматичні включення. В антигенпремійованих щурів диференціюються поверхнева і проміжна зона, характерні для ювенільного суглобового хряща, SBA⁺ – внутрішньоцитоплазматичні включення виявляються в хондроцитах поверхневої зони і меншою мірою в проміжній зоні. Змін у розподілі вуглеводних залишків NacDGal в міжклітинній речовині епіфізарних хрящів щурів усіх груп практично не виявлено порівняно з новонародженими. У проміжній зоні виявлено слабе відкладення бензидинової мітки в територіальній матриці. Хондроцити базальної зони не експресують рецептори, що містять вуглеводні залишки NacDGal. Поверхня менісків (++), матрикс менісків (+), волокна менісків (++) орієнтовані на периферії переважно перпендикулярно суглобовій поверхні. У хондроцитах меніска визначаються SBA⁺ – внутрішньоцитоплазматичні включення (+++).

Надалі, при утворенні субхондральної кістки (на 11-ту добу в антигенпремійованих щурів, на 14-ту добу в контролі і в інтактних щурів, на 21-шу добу в щурів після дії гідрокортизону) у суглобовому хрящі диференціюються зони, характерні для ювенільного суглобового хряща: поверхнева, проміжна і глибока. Вуглеводні залишки NacDGal визначаються у складі базальної пластинки синовіального шару суглобового хряща (++), у складі внутрішньоцитоплазматичних гранул вистеляючих клітин (++), у складі міжклітинної речовини синовіального шару щільність розподілу рецепторів до лектину сої нижча (+), ніж у базальній пластинці. У ділянках синовіального шару перехідної зони капсули бензидинова мітка відкладається інтенсивніше. Рецептори до лектину сої визначаються у складі внутрішньоцитоплазматичних включень хондроцитів поверхневої зони і, меншою мірою, у складі внутрішньоцитоплазматичних включень хондроцитів проміжної зони. На цитоплазматичній мембрані хондроцитів усіх морфофункціональних зон SBA⁺ – рецептори не визначаються. У міжтериторіальному матриці перехідної зони щільність розподілу SBA⁺ – рецепторів візуально вища, ніж у міжклітинній речовині поверхневої і проміжної зон суглобового хряща. У проміжній зоні рецептори до лектину сої визначаються у складі територіального матриксу (+). У міжтериторіальному матриці глибокої зони рецептори до лектину сої практично не виявляються. На 120-ту добу в суглобовому хрящі усіх груп щурів формується демаркаційна лінія (tidemark), до складу якої входять вуглеводні залишки.

Таким чином, глікокон'югати – основні компоненти зовнішньої поверхні тваринної клітини. Їх вуглеводна структура беззворотно змінюється в процесі розвитку [1]. Вивчення розподілу і динаміки рецепторів до лектинів у суглобовому хрящі після народження відіграє важливу роль у

розумінні процесів морфогенезу, що дозволяє поглибити розуміння молекулярних особливостей розвитку і реактивності тканин і органів [2].

У фетальному хрящі у складі внутрішньоцитоплазматичних включень клітин перихондральної та прохондральної зони епіфізарного хряща новонароджених щурів визначаються SBA^+ -з'єднання, що свідчить про наявність у складі внутрішньоцитоплазматичних гранул агрекану. У метахондральній зоні клітини порівняно з пери- і прохондральними зонами збільшені в розмірах переважно за рахунок збільшення об'єму цитоплазми, але розміри ядер також збільшуються, з'являються клітини з вакуолізованою цитоплазмою. Виявляються дрібнодисперсні SBA^+ внутрішньоцитоплазматичні включення. У міжклітинній речовині також виявляються речовини, що містять вуглеводні залишки NacDGal. В ювенільному хрящі, найбільш висока концентрація SBA^+ -сполук визначається у складі внутрішньоцитоплазматичних гранул поверхневої та проміжної зони. Щодо екстрацелюлярного матриксу поверхневої зони та наваколо вростаючих кровоносних судин, або вторинного осередку окостеніння. У потомства тварин після введення гідрокортизону вагітним протягом третього періоду вагітності спостерігається зменшення інтенсивності накопичення SBA^+ -сполук у складі екстрацелюлярного матриксу суглобового хряща, що свідчить про зміни фізико-хімічних властивостей хряща та формує умови для розвитку дистрофічно-дегенеративних захворювань у суглобі. Отримані дані за аналізом розподілу SBA^+ -рецепторів у суглобовому хрящі збігаються з даними розподілу агрекану в тканині суглобового хряща [5], що дозволяє використовувати лектин сої для аналізу розподілу цього протеоглікану в складі тканин.

Висновки

1. Розподіл рецепторів до лектину сої в суглобовому хрящі характеризується зональністю та

змінюється протягом перших місяців після народження.

2. SBA^+ – сполуки входять до складу базальної пластинки синовіального шару (++)), що вистеляє суглобову порожнину і що відмежовує епіфізарні хрящі кісток від суглобової порожнини.

3. У потомства щурів після введення гідрокортизону протягом третього періоду вагітності спостерігається зменшення інтенсивності розподілу SBA^+ – сполук у складі екстрацелюлярного матриксу суглобового хряща.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому буде вивчено розподіл рецепторів до лектину зародків пшениці у структурах колінного суглоба та в субхондральній кістці щурів у нормі та експерименті.

Література

1. Антонюк В.О. Лектини та їх сировинні джерела / В.О. Антонюк. – Львів: ПП “Кварт”, 2005. – 554 с.
2. Волошин Н.А. Лектины животного и растительного происхождения: роль в процессах морфогенеза / Н.А. Волошин, Е.А. Григорьева // Ж. АМН України. – 2005. – Т. 11, № 2. – С. 223-237.
3. Житников А.Я. Структурно-метаболические взаимодействия клеток и матрикса в зонах замещения растущих костей при избытке у животных гидрокортизона / А.Я. Житников // Таврич. мед.-биол. вестник. – 2004. – Т. 7, № 4. – С. 163-167.
4. Павлова И.Г. Влияние измененного гормонального фона в системе мать-плацента-плод на массу тела, надпочечников, тимуса и на лейкоцитарный состав периферической крови у потомства / И.Г.Павлова // Архив АГЭ. – 1989. – Т. 97, № 9. – С. 60-64.
5. The Organization of Aggrecan in Human Articular Cartilage: Evidence For Age-Related Changes In The Rate Of Aggregation Of Newly Synthesized Molecules / Michael T. Bayliss, Sarah Howat, Catherine Davidson, Jayesh Dudhia // The Journal of Biological Chemistry. – 2000. – Vol. 275. – P. 6321-6327.
6. Structure and function of aggrecan. / C. Kiani, L. Chen, Y.J. Wu [et al.] // Cell Res. – 2002. – № 12 (1). – P. 19-32.
7. Sandell L.J. Articular cartilage and changes in arthritis. An introduction: cell biology of osteoarthritis / L.J. Sandell, T. Aigner // Arthritis research. – 2001. – Vol. 3, № 2. – P. 342 - 347.

ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ РЕЦЕПТОРОВ К ЛЕКТИНУ СОИ В ТКАНЯХ КОЛЕННОГО СУСТАВА

Е.А. Григорьева, Н.А. Волошин

Резюме. В работе установлено, что локализация SBA^+ – соединений в суставном хряще характеризуется зональностью и динамически изменяется на протяжении первых четырех месяцев после рождения. Углеводные остатки NacDGal определяются в составе базальной пластинки синовиального слоя суставной капсулы, выстилающего суставную полость и отделяющего суставной хрящ от суставной полости. У потомства крыс после введения гидрокортизона в течение третьего периода беременности определяется уменьшение интенсивности распределения SBA^+ – соединений в составе экстрацелюлярного матрикса суставного хряща.

Ключевые слова: суставной хрящ, лектин сои, агрекан, суставная капсула, хондроцит.

PECULIARITIES OF SBA+ RECEPTORS DISTRIBUTION IN THE KNEE JOINT

O.A. Grygorieva, M.A. Voloshyn

Abstract. It has been established that SBA+-substances in the articular cartilage are distributed according to the morphological zone of the cartilage. The distribution of SBA+- receptors in joint structures changes from a moment of birth up to 120-th day of life. SBA+- receptors are revealed in the content of the basal layer which underlays synovial membrane and divides articular cartilage from articular cavity. It has been found that the density of SBA+- receptors distribution in articular cartilage in rats after hydrocortisone administration is lower in comparison with the other groups. SBA+ macrophages and lymphocytes are located in synovial membrane, especially in transitional zone of joint capsule.

Key words: articular cartilage, soya bean agglutinin, aggrecan, joint capsule, chondrocytes.

State Medical University (Zaporizhzhia)

Рецензент – проф. О.М. Слободян

Buk. Med. Herald. – 2017. – Vol. 21, № 2 (82), part 2. – P. 35-38

Надійшла до редакції 11.05.2017 року