

УДК 611.013.7/8 + 611 – 018 + 611.24 + 611.611

© Н.И. Майструк, 2012.

ОСОБЕННОСТИ СИНТЕЗА ФУКОЗОСОДЕРЖАЩИХ БИОПОЛИМЕРОВ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗОЙ ЧЕЛОВЕКА ПРИ НОРМАЛЬНОЙ И ТРУБНОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

Н.И. Майструк

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. кафедрой – проф. Е.Ю. Шаповалова), Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С. И. Георгиевского», г. Симферополь.

PECULARITIES OF FUCOSOCONJUGATES SYNTHESIS IN HUMAN PANCREAS EARLY HISTOGENESIS AT UTERUS AND TUBAL PREGNANCY

N.I. Mastruk

SUMMARY

At 122 human embryos in the age from 21 day to 12 weeks of the intrauterus development, which includes stage X - XXIII and beginning of the fetal period by classification of Carnegie institute and 42 embryos of tubal development to 8 weeks of gestation at absence of the obviously expressed damaging factors of external environment, regularity of fucosocojugates in pancreas epithelial and mesenchymal germs have been revealed. At uterus implantation receptors of lectin *Laburnum Anagyroides* are expressed on the basal surface and cytoplasm of pancreatic duct epithelium for embryos in age 39 days (11 mm of length). To 12 weeks (embryos 27-70 mm of length) such glycoconjugates appear on the apical surface of duct epitheliocytes and reduce in basal membrane. Lectins binding sites are depressed in cytoplasm of fibroblasts and are present on cells cytolemma. At tubal pregnancy the process of biosynthesis of fucosocojugates increase.

ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗА ФУКОЗОСОДЕРЖАЩИХ БІОПОЛІМЕРІВ ПІДШЛУНКОВОЮ ЗАЛОЗОЮ ЛЮДИНИ ПРИ НОРМАЛЬНІЙ І ТРУБНІЙ ВАГІТНІЙСТІ

M.I. Майструк

РЕЗЮМЕ

Вивчені 122 зародки людини у віці від 21 доби до 12 тижнів внутрішньоутробного розвитку при типовій імплантації на стадіях послідовно від раннього періоду нервового жолобка до початку дефінітивного плодного періоду та 42 зародків при атиповій імплантації до 8 тижнів розвитку. У епітеліальних закладках підшлункової залози при матковій імплантації фукозокон'югати виявляються, починаючи з 39 діб (зародки 11 мм довжини), в базальній мембрані епітеліа проток і в цитоплазмі епітеліоцитів. К 12 тижням (зародки 27-70 мм довжини) лектин-позитивні сайти з'являються на апікальній поверхні проток залози і редукуються в базальній мембрані. У мезенхімних закладках рецептори лектину бобовника анагіролистного з'являються на цитолемме кліток мезенхіми залози, починаючи з 41 доби пренатального онтогенезу (зародки 12 мм довжини). Рецептори лектина редукуються в цитоплазмі та присутні на цитолеме. При трубній імплантації біосинтез глікополімерів з вуглеводною детермінантою альфа-L-фукози істотно змінюється у бік збільшення.

Ключевые слова: эмбриональный гистогенез человека, трубная беременность, лектины, поджелудочная железа.

При дифференцировке, составляющей один из ключевых аспектов эмбрионального гистогенеза, наряду с появлением клеточной гетерогенности происходит усложнение структурно-функциональной организации клеток в ходе реализации имеющихся потенциалов [8], ярким проявлением которой служит изменение углеводных детерминант плазматических мембран, секреторных включений и неклеточных структур. Новым современным методологическим подходом к изучению гликополимеров, которыми являются гликопротеины и гликолипиды, в клетках и тканевых экстрацеллюлярных структурах, в частности в процессе эмбриональной дифференцировки, является лектиногистохимия [3, 4, 9]. Изменение генома эмбрионов человека, ведущее к различным уродствам [15], различные заболевания [2] или изменение условий имплантации [6] вызывают нарушение синтеза гликополимеров клеток и экстрацеллю-

лярных структур, что соответственно меняет гистотопографию рецепторов лектинов. Данные по вопросам изменения гистотопографии рецепторов лектинов во взрослой и развивающейся поджелудочной железе при маточной имплантации немногочисленны и кратки и получены зачастую на лабораторных животных [12, 13]. При трубной имплантации такие сведения отсутствуют.

Целью работы явилось изучение репрессии и дерепрессии гликополимеров с концевыми нередуцируемыми остатками альфа-L-фукозы на поверхности и в цитоплазме клеток паренхимы, стромы и в тканевых экстрацеллюлярных структурах поджелудочной железы в процессе становления ее органной специфичности у зародышей человека, развивавшихся в матке и в маточных трубах при отсутствии явно выраженных повреждающих факторов внешней и внутренней среды.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучены 122 зародыша человека в возрасте от 21 суток до 12 недель внутриутробного развития на стадиях последовательно от раннего периода нервного желобка до начала дефинитивного плодного периода при типической имплантации и 42 зародыша при атипической имплантации в возрасте до 8-ми недель. Обзорные препараты окрашивали гематоксилином и эозином [5]. Фукозоконъюгаты выявляли путем обработки серийных срезов лектином бобовника анагирилистного, конъюгированного с пероксидазой хрена. Препараты обрабатывали с применением стандартных наборов НПК «Лектинотест» г. Львов в разведении лектина 1:50 по рекомендуемой методике [10]. Визуализацию мест связывания лектина проводили в системе диаминобензидин – перекись водорода. Контроль специфичности реакции осуществляли путем исключения из схемы обработки препаратов диаминобензидина. Лектин бобовника анагирилистного (LABA), специфичен к конечным нередуцирующим остаткам альфа-L-фукозы. Сокращенное наименование лектина и специфичность его к терминальным нередуцирующим моносахаридным остаткам гликоконъюгатов дано в соответствии с данными [1]. 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 И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Конкретную функцию фукозоконъюгатов в пренатальном онтогенезе по данным литературы проследить не удастся. Динамика этих рецепторов зависит от конкретного вида ткани или органа [7, 11]. При раке поджелудочной железы их количество резко возрастает [14]. На самых ранних стадиях развития (зародыши 24-38 суток, 6,5-10 мм длины) при маточной имплантации в эпителиальных закладках протоков поджелудочной железы рецепторы лектина бобовника анагирилистного отсутствуют. В течение второй половины второго месяца пренатального онтогенеза (зародыши 11-25 мм длины) наблюдается постепенное интенсивное избирательное накопление продукта лектин-рецепторных взаимодействий на базальной мембране эпителия протоков (таблица 1). Цитоплазма эпителиоцитов содержит следы бензидиновой метки. В некоторых клетках эпителиального пласта встречаются включения, оболочка которых богата лектин-положительными соединениями. На верхушках внедряющихся в мезенхиму брыжейки эпителиальных тяжей – активно ветвящейся в этом возрасте протоковой системы железы – базальная мембрана свободна от LABA рецепторов.

Девятая и десятая недели развития (зародыши 27-45 мм длины) сопровождается значительной перестройкой локализации мест связывания лектина. Лектин-положительные сайты появляются на апикальной поверхности эпителия протоков и уменьшаются

Таблица 1

Количественное содержание рецепторов лектина бобовника анагирилистного (LABA) в эпителии, мезенхиме и ЭСТ поджелудочной железы при маточной имплантации*

Название структуры	Теменно-копчиковая длина зародышей в мм																							
	3,2	5,5	6,5	9	10	11	12	13	14	16	17	18	20	21	22	23	25	27	30	32	35	40	45	
Эпителий крупных протоков поджелудочной железы	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
апикальная поверхность	0	0	0	0	2	2	2	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	3	3	2	2	2	2	2
базальная мембрана	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
цитоплазма	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	2
внутрицитоплазматические включения	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Мезенхима или ЭСТ крупных протоков поджелудочной железы																								
цитолемма	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2	2	2	2	3	3	4	4	4	4	3	2	2
цитоплазма	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1	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.

количественно на базальной мембране. Альфа-L-фукозоконъюгаты в небольшом количестве заполняют цитоплазму эпителиоцитов. В некоторых клетках присутствуют лектин-положительные включения, окруженные мембраной.

В конце третьего месяца эмбриогенеза (зародыши 46-70 мм длины) локализация и концентрация рецепторов лектина LАВА в эпителии протоков остается на достигнутом ранее уровне. Выделившиеся в этом возрасте клетки зачатков ацинусов содержат концевые остатки альфа-L-фукозы в углеводородных соединениях цитоплазмы. В базальной части клеток имеются включения свободные от рецепторов лектина, в то время как их оболочка богата такими рецепторами. Базальная и апикальная поверхности ареактивны.

Первые признаки присутствия таких гликополимеров в мезенхимных закладках поджелудочной железы обнаруживаются у зародышей в возрасте 41 суток (12 мм длины) на цитолемме клеток мезенхимы. Цитоплазма этих клеток остается ареактивной (см. табл. 1). В течение второй половины второго месяца эмбриогенеза (зародыши 13-25 мм длины) происходит постепенное обогащение преимущественно периепителиальной мезенхимы элементов железы альфа-L-фукозоконъюгатами, которые локализируются в основном на цитолемме и в меньшем количестве – в цитоплазме клеток. Дифференцировка клеток мезенхимы в молодые фибробласты и син-

тез последними ретикулярных волокон или коллагеновых волокон третьего типа на последующих этапах эмбриогенеза (зародыши в возрасте 9-11 недель, 30-56 мм длины) также сопровождается экспрессией рецепторов лектина бобовника анагирилистного. Лектин-связывающиеся гликоконъюгаты в значительном количестве присутствуют на ретикулярных волокнах и на цитолемме клеток ЭСТ. В цитоплазме таких макромолекул не много.

В течение 12-й недели внутриутробной жизни (зародыши 57-70 мм длины) происходит существенная перестройка биосинтеза гликополимерных молекул. Рецепторы лектина подвергаются редукции и сохраняются в небольшом количестве на цитолемме фибробластов. Синтез коллагеновых волокон первого и второго типа также сопровождается исчезновением гликополимеров с терминальными остатками альфа-L-фукозы.

При трубной имплантации биосинтез и накопление в клетках выводных протоков первого и второго порядка ветвления поджелудочной железы бензидиновой метки, свидетельствующей о присутствии макромолекул, содержащих концевые нередуцирующие остатки а-L-фукозы, соединяющихся с лектином бобовника анагирилистного, фиксируется у зародышей в возрасте 43 суток (9 мм длины) (таблица 2). До 47 суток (зародыши 13 мм длины) наиболее богата LАВА-положительными биополимерами базальная поверхность эпителиального пласта. Цитоплазма про-

Таблица 2

Количественное содержание рецепторов лектина бобовника анагирилистного (LАВА) в эпителии, мезенхиме и ЭСТ поджелудочной железы при трубной имплантации*

Название структуры	Теменно-копчиковая длина зародышей в мм									
	9	11	12	13	20	21	22	23	24	26
Эпителий крупных выводных протоков апикальная поверхность	2	2	2	2	4	4	4	4	4	3
базальная мембрана	3	3	3	3	1	1	1	0	0	0
цитоплазма	1	1	1	1	3	3	3	3	3	3
внутрицитоплазматические включения	2	2	2	2	4	4	4	4	4	4
Мезенхима и ЭСТ крупных выводных протоков										
цитолемма	1	1	1	2	4	4	4	4	4	4
цитоплазма	0	0	1	1	4	4	4	3	3	3

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.

являет слабое сродство к данному лектину. На апикальной поверхности и во внутрицитоплазматических включениях имеется слабая лектин-положительная реакция. С 53 до 60 суток (зародыши 20-26 мм длины) характер связывания лектина бобовника анагирилистного эпителиальными закладками поджелудочной железы принципиально имеет одну и ту же тенденцию: плотность концевых остатков альфа-L-фукозы резко увеличивается до максимальных показателей на апикальной поверхности эпителия и во включениях. Также увеличивается интенсивность бензидиновой метки в цитоплазме эпителиоцитов. Базальная мембрана постепенно теряет лектин-положительный материал.

Элементы мезенхимы начальных стадий развития поджелудочной железы при трубной имплантации бедны LАВА-положительными соединениями. Они присутствуют в малых количествах только на цитолемме мезенхиоцитов и несколько увеличивают свое содержание на цитолемме. С 53 суток (зародыши 20 мм длины) прослеживается значительное накопление до высоких показателей альфа-L-фукозосконъюгатов в цитоплазме и на цитолемме клеток мезенхимы, сохраняющееся до конца изученного периода эмбриогенеза и захватывающая дифференцировку клеток мезенхимы в молодые фибробласты (см. табл. 2). Ретикулярные волокна ареактивны. Имеющаяся в данный период пренатального онтогенеза неравномерность развития мезенхимы проявляется неравномерностью экспрессии рецепторов лектина бобовника анагирилистного. Периепителиальная мезенхима активнее накапливает рецепторы лектина. В клетках менее дифференцированной мезенхимы, не имеющей непосредственного контакта с эпителием, рецепторы лектина встречаются только на цитолемме.

ВЫВОДЫ

1. В эпителиальных закладках поджелудочной железы при маточной имплантации фукозосконъюгаты обнаруживаются, начиная с 39 суток (зародыши 11 мм длины), в базальной мембране эпителии протоков и в незначительном количестве – в цитоплазме эпителиоцитов. Во второй половине второго месяца (зародыши 12-25 мм длины) количество таких макромолекул нарастает. На третьем месяце эмбриогенеза (зародыши 27-70 мм длины) лектин-положительные сайты появляются на апикальной поверхности протоков железы и почти полностью редуцируются в базальной мембране.

2. В мезенхимных закладках при типической имплантации рецепторы лектина бобовника анагирилистного появляются на цитолемме клеток мезенхимы железы, начиная с 41 суток пренатального онтогенеза (зародыши 12 мм длины). В конце второго и первой половине третьего месяца (зародыши 13-56 мм длины) одновременно с дифференцировкой фибробластов ЭСТ происходит постепенное обогащение

цитолеммы и цитоплазмы клеток лектин-позитивным материалом. На 12-й неделе развития (зародыши 57-70 мм длины) прослеживается резкое понижение способности фибробластов ЭСТ связывать LАВА.

3. При трубной имплантации биосинтез гликополимеры с углеводной детерминантой альфа-L-фукозы (рецепторы лектина бобовника анагирилистного) в эпителиальных и мезенхимных закладках поджелудочной железы существенно меняются в сторону увеличения. LАВА-положительные макромолекулы активно накапливаются до высоких показателей в тех местах, где в норме их нет.

Перспективы дальнейших исследований. Использование лектинов как структурно-функциональных зондов поможет выяснению значения и характера трансформации углеводных детерминант клеточных мембран и неклеточных тканевых структур поджелудочной железы эмбрионов человека, развивавшихся в условиях атипической имплантации, что в сравнении с нормальным гисто- и органогенезом поджелудочной железы может способствовать выработке объективных критериев оценки биологической полноценности органов формирующихся при трубной беременности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонюк В.О. Лектини та їх сировинні джерела / В. О. Антонюк. Львів., ПП „Кварт», 2005.
2. 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.
3. Волошин Н. А. Лектины животного и растительного происхождения: роль в процессах морфогенеза / Н. А. Волошин, Е. А. Григорьева // Теоретична медицина. Журн. АМН України. – 2005. – Т. 11, № 2. – С. 223-237.
4. 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.
5. Горальський Л. П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології / Л. П. Горальський, В.Т. Хомич, О. І. Кононський. – Житомир «Полісся», 2011. – 215 с.
6. Демьяненко И. А. Органые особенности раннего гистогенеза дыхательной системы человека в условиях маточной и трубной имплантации / И. А. Демьяненко, Е. Ю. Шаповалова // Морфология –2007. Т- 131, №3. – С. 92-93.
7. Жарков С. В. Маннозосконъюгаты в нормальном эмбриогенезе первичной и окончательной почки / С. В. Жарков, Е. Ю. Шаповалова, С. В. Харченко / Вісник морфології. – 2007. – Т. 13, № 2. – С. 319-323.
8. Клишов А. А. Гистогенез и регенерация тканей / А. А. Клишов. – Л.: Медицина, 1984. – 232 с.
9. 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.

10. Луцик А. Д. Лектины в гистохимии / Луцик А. Д., Е. С. Детюк, М. Д. Луцик. – Львов.: Вища школа, 1989. – 139 с.

11. Луцик О. Д. Гетерогенність деяких клітинних популяцій щура виявлена методами лектиногістохімії / О. Д. Луцик, П. В. Бенкстон // Львівський медичний часопис. – 1997. – Т. 3, № 1-2. – С. 70-79.

12. Barresi G. Peanut lectin binding sites in human foetal and neonatal pancreas / G. Barresi, S. Vitarelli, M. Grosso // European J. of Histochem. – 1993. – Vol.37, N4. – P. 329-334.

13. De Dios I. Heterogeneous distribution of plasma membrane glycoconjugates in pancreatic acinar cells / I. De Dios, A. Urnuela, S. Sevillano // Biochem. Biophys. Acta. – 2000. – Vol. 1509, N 1-2. – P. 292-298.

14. Raedler A. Lectin – defined cell surface glycoconjugates of pancreatic cancer cells and their nonmalignant counterparts / A. Raedler, E. Schmiegel, R. Raedler // Expl. Cell Biol. – 1983. – Vol.51. – P. 19-28.

15. Quondamatteo F. Extensive glycosylation changes revealed by lectin histochemistry in morphologically normal prenatal tissues of the mouse mutant undulated (un/un) / F. Quondamatteo, J. Zieger, W. Gotz // Anat. Rec. – 2000. – Vol.258, N3. – P.243-251.