

Шаповалова Е. Ю., Майструк Н. И.

ГИСТОТОПОГРАФИЯ ГЛИКОПОЛИМЕРОВ С УГЛЕВОДНЫМИ ДЕТЕРМИНАНТАМИ СИАЛОВЫХ КИСЛОТ И N-АЦЕТИЛ-D-ГЛЮКОЗАМИНА В РАННЕМ ГИСТОГЕНЕЗЕ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ТИПИЧНО ИМПЛАНТИРОВАННЫХ ЭМБРИОНОВ ЧЕЛОВЕКА

*Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (заведующий — проф. Е. Ю. Шаповалова)
Крымского государственного медицинского университета им. С. И. Георгиевского,
Симферополь, Украина*

Представлены результаты лектиногистохимических исследований, проведенных с целью идентификации гистотопографии и количества сиалоконъюгатов (рецепторы лектинов зародышей пшеницы и бузины черной) и N-ацетил-D-глюкозаминоконъюгатов (рецепторы лектинов клубней картофеля и зародышей пшеницы) в эпителиальных и мезенхимных закладках поджелудочной железы зародышей человека, развивавшихся в матке при отсутствии явно выраженных повреждающих факторов внешней и внутренней среды. Сиалоконъюгаты синтезируются и перераспределяются в течение всего изученного периода. Обнаружено, что к 11–12 неделям развития N-ацетил-D-глюкозаминоконъюгаты появляются на апикальной поверхности и цитолемме эпителиоцитов, а сиалоконъюгаты в клетках мезенхимных закладок редуцируются. Гликополимеры с терминальными остатками N-ацетил-D-глюкозамина, выявляемые лектином клубней картофеля, в тканях поджелудочной железы отсутствуют.

Ключевые слова: зародыши человека, поджелудочная железа, лектины.

Проблема эмбрионального гистогенеза в наши дни приобрела особое звучание в связи с достижениями молекулярной биологии, и в частности лектиногистохимии [3]. Дифференцировка — это ряд последовательных изменений, претерпеваемых клетками одного типа в процессе их специализации. При дифференцировке наряду с появлением клеточной гетерогенности происходит усложнение структурно-функциональной организации клеток в ходе реализации имеющихся потенциалов [3], ярким проявлением которой служит изменение углеводных детерминант плазматических мембран, секреторных включений и неклеточных структур. При этом синтез и последовательность появления гликоконъюгатов на поверхности клетки генетически детерминированы [13], так же как детерминированы синтез и последовательность включения в плазмолемму (или интернализации из нее) эндогенных лектинов.

Литературные данные по вопросам изменения гистотопографии рецепторов лектинов в развивающейся поджелудочной железе человеческих зародышей, особенно в первые три месяца внутриутробной жизни, немногочисленны и кратки [5, 6, 10]. Вместе с тем имеются сообщения, что в закладывающихся ацинусах и клетках протоков поджелудочной железы синтезируется ряд гликопротеинов [7].

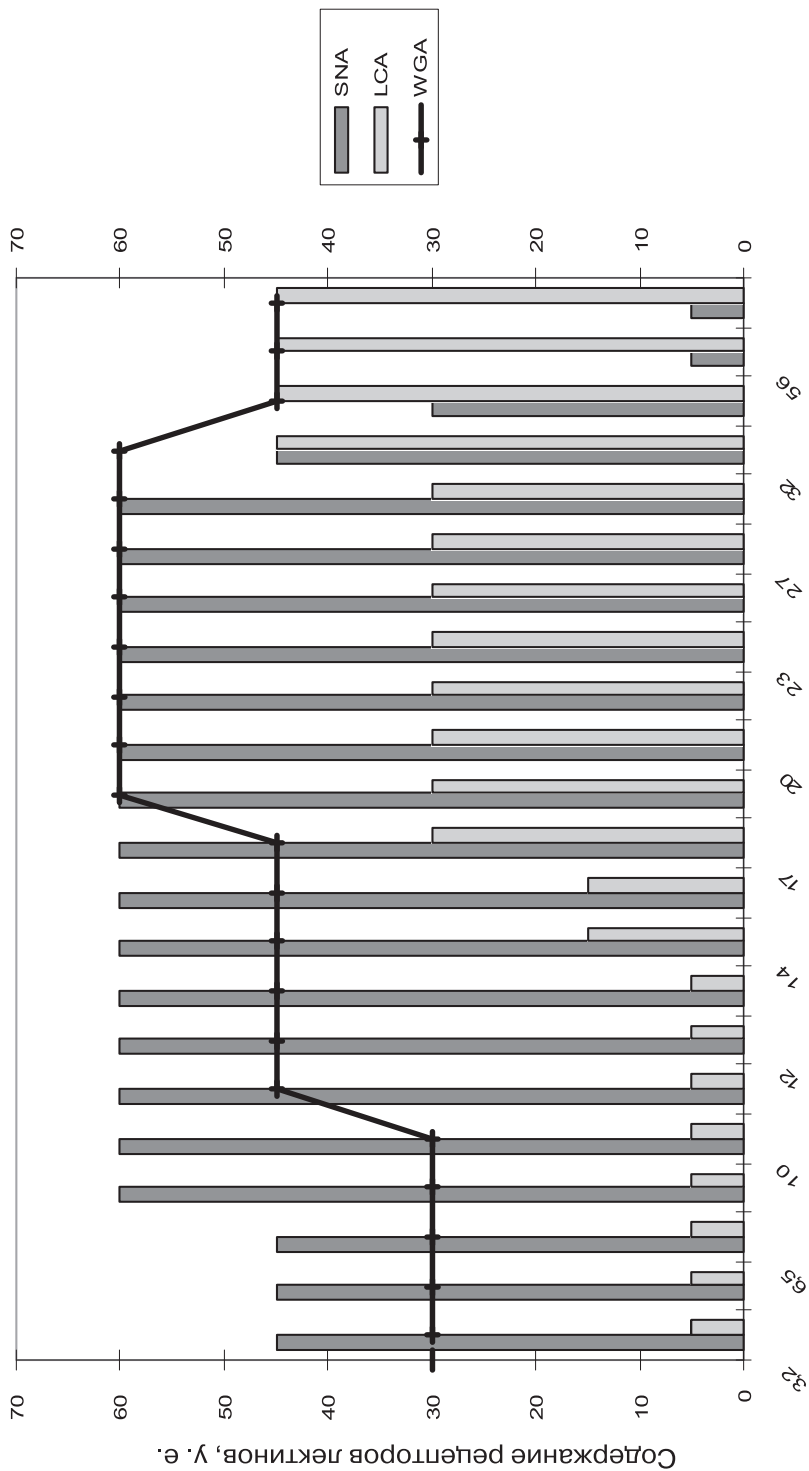
Целью работы явилось изучение репрессии и дерепрессии гликополимеров с концевыми нередуцирующими остатками сиаловых кислот и N-ацетил-D-глюкозамина на поверхности и в цитоплазме клеток паренхимы, стромы и в тканевых экстрацеллюлярных структурах поджелудочной железы в процессе становления ее органной специфичности у зародышей человека, развивавшихся в матке при отсутствии явно выраженных повреждающих факторов внешней и внутренней среды.

Материал и методы. Изучены 122 зародыша человека в возрасте от 21 сут. до 12 нед. внутриутробного развития при типичной имплантации на стадиях последовательно от раннего периода нервного желобка до начала дефинитивного плодного периода. Обзорные препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Сиа-локонъюгаты и N-ацетил-D-глюкозаминоконъюгаты выявляли путем обработки серийных срезов лектинами зародышей пшеницы, бузины черной и клубней картофеля, конъюгированных с пероксидазой хрена. Препараты обрабатывали с применением стандартных наборов НПК «Лектинотест» (г. Львов) в разведении лектина 1 : 50 по рекомендуемой методике [4]. Визуализацию мест связывания лектина проводили в системе «диаминобензидин — перекись водорода». Контроль специфичности реакции осуществляли путем исключения из схемы обработки препаратов диаминобензидина. Лектин зародышей пшеницы (WGA) специфичен к концевым нередуцирующим остаткам сиаловой кислоты и N-ацетил-D-глюкозамина; лектин бузины черной (SNA) специфичен к углеводному остатку сиаловой кислоты; лектин клубней картофеля (STA) специфичен к углеводному остатку N-ацетил-D-глюкозамина. Сокращенное наименование лектинов приведено в соответствии с международной номенклатурой лектинов [11]. Специфичность лектина к терминальным нередуцирующим моносахаридным остаткам гликоконъюгатов дана в соответствии с данными [1]. Интенсивность окрашивания срезов 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 исследования. На начальных этапах развития поджелудочной железы небольшое количество WGA-положительных гликополимеров (с терминальными моносахаридными остатками N-ацетил-D-глюкозамина и в меньшей степени — N-ацетилнейраминовой кислоты) обнаруживаются только на апикальной поверхности эпителиоцитов протоков (рис. 1). По мере роста, ветвления железы рецепторы лектина зародышей пшеницы концентрируются в значительных количествах на апикальной поверхности клеток крупных протоков, в то время как вновь образованные мелкие протоки их не имеют. Дифференцировка эпителиоцитов к концу изученного отрезка эмбриогенеза связана с накоплением WGA⁺ гликополимеров на апикальной поверхности эпителиоцитов и появлением их в небольшом количестве на всей цитолемме клеток. Недифференцированная мезенхима ранних этапов развития органа, а затем таковая, не контактирующая с эпителиальными закладками, имеет в небольшом количестве рецепторы лектина зародышей пшеницы на цитолемме (рис. 2). В цитоплазме их нет. Дифференцировка мезенхимы связана с потерей рецепторов на цитолемме и перемещением соответствующих им соединений в цитоплазму. Трансформация мезенхимоцитов в клетки эмбриональной соединительной ткани ведет к редукции в клетках рецепторов лектина зародышей пшеницы.

Рецепторы лектина клубней картофеля, являющиеся гликополимерами с терминальными остатками N-ацетил-D-глюкозамина, в тканях поджелудочной железы в первые 12 нед. эмбриогенеза отсутствуют.

На ранних стадиях органогенеза клетки эпителиальных закладок поджелудочной железы синтезируют много гликополимеров с концевыми нередуцирующими остатками N-ацетилнейтраминовой кислоты, выявляемыми лектином бузины черной, которые сосредоточены на апикальной поверхности эпителиоцитов (см. рис. 1) и в меньшем количестве — на базальной поверхности. Миграция клеток при ветвлении эпителиальных тяжей закладок протоков железы связана с накоплением сииалированных гликополимеров на базальной и апикальной поверхности, а также



Теменно-копчиковая длина зародышей, мм

Рис. 1. Содержание рецепторов лектинов на апикальной поверхности эпителия крупных выводных протоков поджелудочной железы в первые 12 недель эмбриогенеза

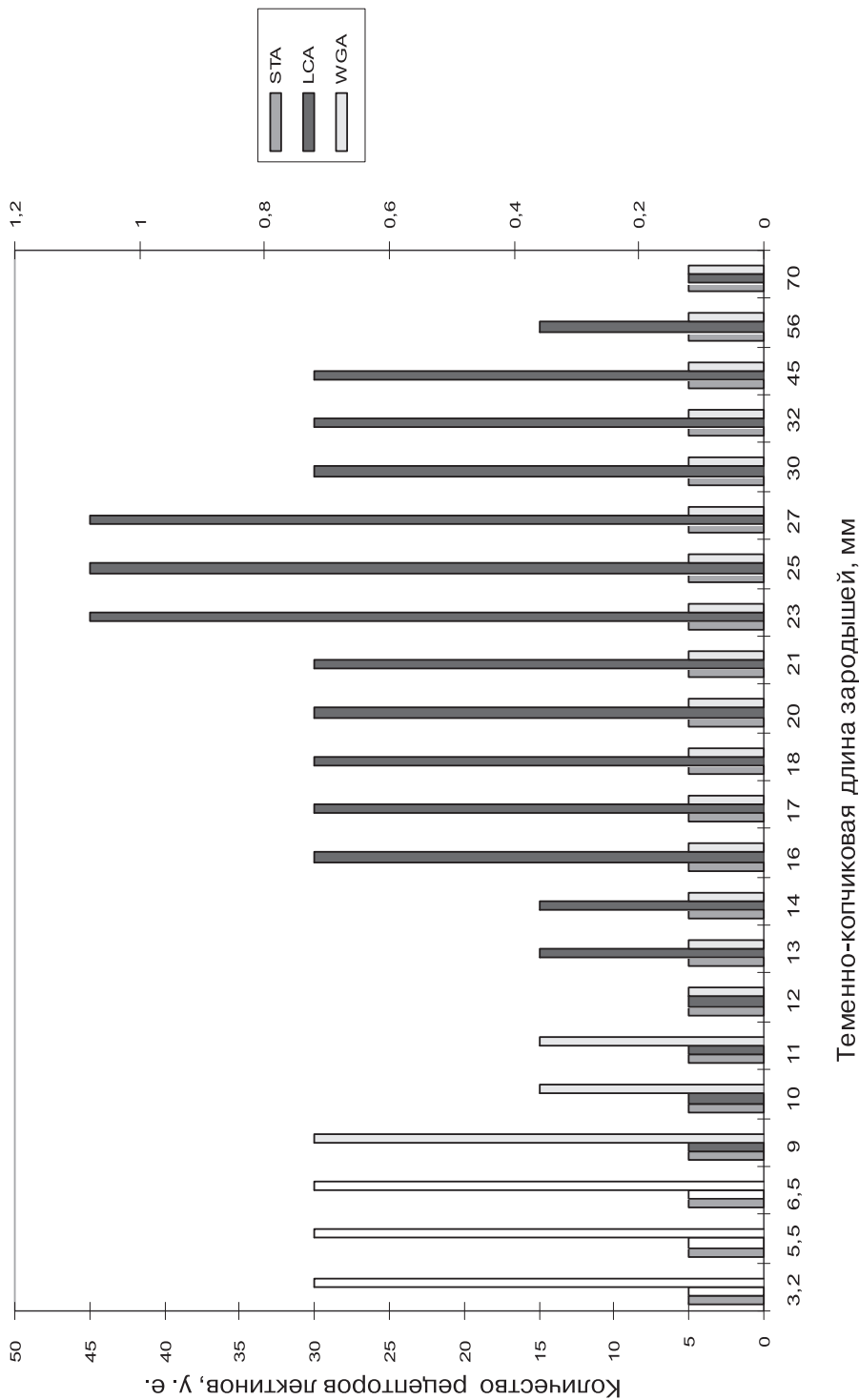


Рис. 2. Содержание рецепторов лектинов на цитолемме клеток перипителиальной мезенхимы и эмбриональной соединительной ткани крупных выводных протоков поджелудочной железы в первые 12 недель эмбриогенеза

в цитоплазме. В крупных протоках дифференцирующиеся эпителиоциты сохраняют эти соединения только на апикальной поверхности. К концу принципиального ветвления — к 12 нед. эмбриогенеза рецепторы лектина бузины черной подвергаются редукции и неплотно лежат только в цитоплазме клеток ацинусов и ответвлений протоков 4-го порядка. На ранних этапах развития мезенхима, контактирующая с энтодермальным эпителием закладок поджелудочной железы, имеет большое количество сialiрированных гликополимеров, выявляемых лектином SNA на цитолемме клеток (см. рис. 2). В цитоплазме таких соединений значительно меньше. Тот же процесс наблюдается в клетках мезенхимы, не прилежащих к эпителиальным закладкам, которые вначале содержали рецепторы лектина в цитоплазме. По мере развития поджелудочной железы к 12 нед. эмбриогенеза фибробласты эмбриональной соединительной ткани теряют рецепторы лектина.

Обсуждение полученных данных. Изменение гистотопографии и состава связывающих лектины гликоконъюгатов в пренатальном онтогенезе, по-видимому, отражает последовательность включения различных механизмов, обеспечивающих дифференциацию и нормальное функционирование структур различных органов [2, 8].

Гистогенетические формообразовательные процессы, связанные с миграцией эпителиоцитов протоков, в раннем развитии поджелудочной железы коррелируются с биосинтезом и перераспределением сиалоконъюгатов в эпителиальных и мезенхимных закладках. К 11–12 нед. развития N-ацетил-D-глюкозаминоконъюгаты появляются на апикальной поверхности и цитолемме эпителиоцитов, а сиалоконъюгаты в клетках мезенхимных закладок редуцируются, сохраняясь в небольшом количестве в цитоплазме эпителиоцитов дистальных отделов ветвления. Гистотопография и характер распределения рецепторов лектина бузины черной в эпителиальных и мезенхимных закладках поджелудочной железы имеют незначительное сходство с гистотопографией и перераспределением рецепторов лектина WGA в тех же закладках, несмотря на некоторую схожесть углеводной специфичности лектина. В то же время гликополимеры с концевыми нередуцирующими остатками N-ацетил-D-глюкозамина, выявляемые лектином клубней картофеля, в тканях поджелудочной железы отсутствуют.

Приведенные результаты исследования о гистотопографии и количестве рецепторов лектина зародышей пшеницы согласуются с данными, полученными на взрослой железе человека [9] и, на эмбриональной железе млекопитающих [12], и расходятся с исследованиями, выполненными на эмбриональной железе человека [10], когда связывание с данным лектином происходило только после предварительной обработки нейраминидазой.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Антонюк В. О.* Лектины та їх сировинні джерела. — Львів: ПП Кварт, 2005.
2. *Жарков С. В., Шаповалова Е. Ю., Харченко С. В.* Маннозоконъюгаты в нормальном эмбриогенезе первичной и окончательной почки // Вісник морфології. 2007. № 2 (13). С. 319–323.
3. *Клишов А. А.* Гистогенез и регенерация тканей. — Л.: Медицина, 1984.
4. *Луцик А. Д., Детюк Е. С., Луцик М. Д.* Лектины в гистохимии. — Львов: Вища школа, 1989.
5. *Шаповалова Е. Ю., Луцик А. Д.* Изменение углеводного состава тканей в процессе раннего эмбрионального гистогенеза поджелудочной железы у человека // Таврический медико-биологический вестник. 2000. № 3–4. С. 193–197.