

УДК: 615.03:591.339+591.392.1:615.9:611.611+611.2

**Е.Ю. Шаповалова**

д. мед. н.

**С.В. Харченко**

аспирант

**Л.С. Георгиевская**

к. мед. н.

**Т.И. Забашта**

к. мед. н.

Крымский государственный медицинский университет

### ГИСТОПОГРАФИЯ УГЛЕВОДСОДЕРЖАЩИХ БИОПОЛИМЕРОВ В ЖЕЛЕЗИСТОЙ СТАДИИ РАЗВИТИЯ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ У КРЫС

*Изучено 9 зародышей крыс в возрасте 13 суток (16 стадия) и 15 суток (18 стадия) внутриутробного развития. Срезы обрабатывали набором из шести лектинов, конъюгированных с пероксидазой хрена. Железистая стадия развития легких у крыс сопровождается закономерной перестройкой лектин-рецепторных систем. В структурах дыхательной системы у зародышей крыс на стадиях 16 и 18 дискретно встречаются гликополимеры – рецепторы лектинов бузины черной, зародышей пшеницы, арахиса, клещевины, сои и чечевицы.*

#### Постановка проблемы

Гликополимерные соединения лежат в основе структурной организации клеток и тканей живого организма, формируют специфический гликокаликс клеток, плазматические клеточные мембраны, входят в состав мембранных органелл клеток, регулируют трансмембранный и внутриклеточный транспорт, выполняют рецепторную функцию и обеспечивают механизмы межклеточного узнавания. Они способны регулировать дифференцировку клеток и тканей. На сегодняшний день лектины являются наиболее информативным классом реагентов таких соединений, т.е. рецепторы лектинов – это гликополимеры. Эти биополимеры являются тонкими маркерами нормальности развития органов и тканей. Лектины могут быть молекулярными зондами, обнаруживающими патологические отклонения дифференцировки клеток [2, 3, 4]. В нашей лаборатории изучалась перестройка лектин-рецепторных систем в процессе гистогенеза дыхательной системы у человека в норме и при атипической имплантации [5]. Сведения об аналогичных перестройках в эмбриогистогенезе дыхательной системы крыс и других млекопитающих в научной литературе немногочисленны и редки [6, 7].

Целью и задачей нашего исследования явилось изучение репрессии и депрессии гликополимеров – рецепторов лектинов SNA, WGA, PNA, RCA, SBA, LCA–на поверхности и в цитоплазме клеток паренхимы, стромы и в тканевых экстрацеллюлярных структурах дыхательной системы у эмбрионов крыс.

© Е.Ю. Шаповалова, С.В. Харченко, Л.С. Георгиевская, Т.И. Забашта

**Объекты и методика исследований**

Изучены 9 зародышей крыс в возрасте 13 суток (16-я стадия) и 15 суток (18-я стадия) эмбрионального развития. Обзорные препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Рецепторы лектинов выявляли путём обработки серийных срезов лектинами бузины чёрной, зародышей пшеницы, арахиса, клещевины, сои и чечевицы, конъюгированных с пероксидазой хрена. Препараты обрабатывали с применением стандартных наборов НПК "Лектинотест" (Львов) в разведении лектина 1:50 по рекомендуемой методике [4]. Визуализацию мест связывания лектинов проводили в системе диаминобензидин – перекись водорода. Контроль специфичности реакции осуществляли путём исключения из схемы обработки препаратов диаминобензидина. Лектин зародышей пшеницы (WGA) специфичен к концевым нередуцирующим остаткам N-ацетил-D-глюкозамину и сиаловой кислоте, лектин арахиса (PNA) – к  $\beta$ -D-галактозе, лектин клещевины (RCA) – к  $\beta$ -D-галактозе, экранированной сиаловой кислотой, лектин сои (SBA) – к N-ацетил-D-галактозамину, лектин чечевицы (LCA) – к  $\alpha$ -D-маннозе, лектин бузины чёрной (SNA) – к сиаловой кислоте. Сокращённые наименования лектинов представлены в соответствии с международной номенклатурой лектинов [1, 8]. Специфичность лектина к терминальным нередуцирующим моносахаридным остаткам гликоконъюгатов приведена в соответствии с данными [1]. Интенсивность окрашивания срезов различными лектинами оценивалась в баллах. Баллы 0, 1, 2, 3, 4 – отсутствие реакции, слабая, умеренная, сильная и очень сильная.

**Результаты исследований**

Результаты исследования и их обсуждение. У зародышей крыс в возрасте 13 суток (стадия 16) дыхательная система представлена трахеей и бронхами первого порядка ветвления. Хорошо различается бифуркация трахеи, от которой отходят правая и левая закладки крупных бронхов, слепо заканчивающихся в окружающей мезенхиме. Мезенхима, окружающая легкие, образует два ясно выраженных мешка, отграниченных с поверхности спланхноплеврой. Клетки эпителия, образующие трахею и бронхи, имеют призматическую форму. В просвет обращена узкая безъядерная полоска оксифильной цитоплазмы.

У зародышей крыс в возрасте 15 суток (стадия 18) легкие переместились в каудальном направлении. Дыхательная трубка удлилась и появились бронхи второго порядка ветвления. Доли еще не полностью отделены друг от друга. В правом легком их четыре, а в левом – одна. На срезах бронхи имеют овальную или круглую форму. В эпителии бронхов ядра расположены на разных уровнях, образуют 3–4 ряда и занимают в клетках апикальное положение. Цитоплазма клеток оксифильная. Мезенхимные клетки имеют звездчатую форму и отростки, соединяющие соседние клетки в широкопетлистый синцитий.

У зародыша крыс в возрасте 13 суток (стадия 16) рецепторы лектина бузины черной, которыми являются гликополимеры с концевыми

нередуцирующими остатками сиаловой кислоты, обнаруживаются в умеренных количествах на апикальной поверхности эпителия бронхов (табл. 1). Базальная поверхность и цитоплазма эпителиальных клеток ареактивны, цитолемма содержит малое количество сиалоконъюгатов. Мезенхима, окружающая бронхи, имеет умеренное количество рецепторов на цитолемме и малое количество в цитоплазме. Однако в возрасте 15 суток (стадия 18) наблюдается увеличение содержания рецепторов лектина бузины черной на апикальной поверхности эпителия бронхов (табл. 1), тогда как количество и гистопонография таких биополимеров на остальных структурах развивающегося легкого аналогичны таковым в структурах зародыша в возрасте 13 суток (стадия 16).

Рецепторы лектина завязей пшеницы, которые представлены гликополимерами с концевыми нередуцирующими остатками N-ацетил-D-глюкозамина и сиаловой кислоты, у зародышей крыс в возрасте 13 суток (стадия 16) присутствуют на апикальной поверхности эпителия бронхов в умеренных количествах (табл. 1). Базальная поверхность и цитолемма ареактивны. Цитоплазма описанных клеток содержит гликополимеры с углеводной детерминантой N-ацетил-D-глюкозамина в малых количествах. При этом становится ясно, что количественное содержание рецепторов лектина SNA и WGA в эпителиальных закладках лёгкого у 13-суточного зародыша одинаково. Но в клетках мезенхимы происходит увеличение WGA – позитивных макромолекул по сравнению с количеством SNA-позитивных макромолекул в этом же возрасте. В последующем сроке развития 15 суток (стадия 18) количество мест связывания лектина завязей пшеницы увеличивается на апикальной поверхности эпителиальных клеток бронхов, при этом мезенхиоциты имеют меньше рецепторов лектина WGA, чем на более раннем сроке 13 суток (стадия 16).

Рецепторы лектина арахиса являются гликополимерами с концевыми нередуцирующими остатками  $\beta$ -D-галактозы (табл. 1). У 13 суточного (16 стадия) зародыша крыс апикальная, базальная поверхности и цитолемма эпителия бронхов полностью ареактивны, цитоплазма клеток имеет малое содержание галактозоконъюгатов. У 15 суточного зародыша наблюдается значительное содержание гликополимеров с углеводной детерминантой  $\beta$ -D-галактозы на апикальной поверхности эпителиальных клеток и умеренное накопление этих макромолекул в цитоплазме. При этом базальная поверхность и цитолемма эпителия остаются ареактивными. Клетки мезенхимы имеют одинаковое количество рецепторов лектина арахиса в 13 и 15 суточном возрасте.

В возрасте 13 суток у зародыша крыс рецепторы лектина клещевины, которыми являются гликополимеры с концевыми нередуцирующими остатками  $\beta$ -D-галактозы, экранированной сиаловой кислотой, обнаруживаются в небольших количествах на апикальной поверхности эпителия бронхов (табл. 1). Характеристика базальной поверхности и цитолеммы клеток эпителия полностью повторяют описание вышеуказанных структур с количественным содержанием рецепторов лектинов SNA и WGA.

Наиболее богата местами связывания лектина клещевины цитолемма клеток мезенхимы. Их концентрация несколько меньше в цитоплазме названных клеток. Однако в возрасте 15 суток количество рецепторов лектина клещевины возрастает до значительного на апикальной поверхности эпителия. При этом наблюдается слабое накопление гликополимеров с углеводной детерминантой  $\beta$ -D-галактозы на базальной поверхности клеток эпителия, хотя на более раннем сроке (13 суток) эта структура являлась ареактивной. Кроме того, в возрасте 15 суток (18-я стадия) выявляется экспрессия большого количества рецепторов лектина клещевины в цитоплазме эпителиоцитов бронхов. Изменения затрагивают и клетки мезенхимы, на цитолемме которых концентрация RCA-позитивных макромолекул становится меньше. Цитоплазма остается без изменений.

Гистотопография и количество рецепторов лектинов сои и чечевицы аналогичны, таковым, описанным для лектина бузины черной (табл. 1).

Таблица 1. Количественное содержание рецепторов лектинов в эпителиальных и мезенхимных закладках лёгких\*

Название структуры	Название лектина					
	SNA	WGA	PNA	RCA	SBA	LCA
13-е сутки (16-я стадия)						
Эпителий бронхов						
апикальная поверхность	2	2	0	1	2	2
базальная поверхность	0	0	0	0	0	0
Клетки эпителия						
цитолемма	0	0	0	0	0	0
цитоплазма	1	1	1	1	1	1
Мезенхима						
цитолемма	2	3	2	3	2	2
цитоплазма	1	2	1	2	1	1
15-е сутки (18-я стадия)						
Эпителий бронхов						
апикальная поверхность	3	3	3	3	3	3
базальная поверхность	0	0	0	1	0	0
Клетки эпителия						
цитолемма	0	0	0	0	0	0
цитоплазма	1	1	2	3	1	1
Мезенхима						
цитолемма	2	2	2	2	2	2
цитоплазма	1	1	1	2	1	1

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

### Выводы

1. Железистая стадия развития легких у крыс сопровождается закономерной перестройкой лектин-рецепторных систем.
2. В структурах дыхательной системы у зародышей крыс на стадиях 16 и 18

дискретно встречаются гликополимеры – рецепторы лектинов бузины черной, зародышей пшеницы, арахиса, клещевины, сои и чечевицы.

3. Цитолемма клеток эпителия бронхов не содержит сиало-, N-ацетил-D-глюкозамино-, бета- D-галактозо-, N-ацетил-D-галактозамино- и альфа-D-маннозоконъюгаты на 16 и 18 стадиях развития эмбрионов.

#### Перспективы дальнейших исследований

Сравнительное изучение особенностей становления углеводного обмена в структурах дыхательной системы эмбрионов крыс, использование лектинов как структурно-функциональных зондов способствует выяснению значения и характера трансформации углеводных детерминант клеточных мембран и неклеточных тканевых структур под влиянием нестероидных противовоспалительных препаратов.

#### Литература

1. Антонюк В.О. Лектины та їх сировинні джерела. – Львів: ПП «Кварт», 2005. – 554 с.
2. Волошин Н. А., Григорьева Е. А. Лектины животного и растительного происхождения: роль в процессах морфогенеза // Теоретична медицина. Журн. АМН України. – 2005. – Т. 11. – № 2. – С. 223 – 237.
3. Лектинова гістохімія при щитоподібних залоз у віковому аспекті. О.Р. Джура, А.М. Яценко, В.О. Антонюк, О.Д. Луцик // Acta Medica Leopoliensia. – 2006. – Vol. 12. – № 1. – Р. 12–17.
4. Луцик А.Д., Детюк Е.С., Луцик М.Д. Лектины в гистохимии. – Львов.: Вища школа, 1989. – 139 с.
5. Шаповалова Е.Ю., Демьяненко И.А. Перераспределение гликоконъюгатов в раннем гистогенезе эпителиальных складок трахеи и легких у человека при маточной и трубной беременности // Таврический медико-биологический вестник. – 2006. – Т. 9. – № 3. – Ч. 3. – С. 215–219.
6. Cerza R.F., Haywood-Reid P.L., Barandes S.H. Endogenous mammalian lectin localized extracellularly in lung elastic fibers // G. CM. Biol. – 1984. – Vol.98. – № 4. – P. 1580–1589.
7. Kresch M.G., Lwebuga-Mukasa G., Wilson C.M. Comparison of maclura pomifera lectin-binding glycoprotein in late fetal and adult rat lung // Lung. – 1991. – Vol. 169. – № 3. – P. 139–151.
8. Lectin biology, biochemistry, clinical biochemistry (eds. T.C. Bog-Hansen and G.A. Spengler) // Proc. V lectin meeting. – Berlin, 1983. – Vol. 3. – P. 87–415.