

© Федотченко А.В., 2012

УДК 611.728.2.08:[665.939.14:633.368]:612.65

РОЗПОДІЛ РЕЦЕПТОРІВ ДО ЛЕКТИНУ АРАХІСУ У СТРУКТУРАХ КУЛЬШОВОГО СУГЛОБА В НОРМІ ТА ПІСЛЯ АНТЕНАТАЛЬНОЇ ДІЇ АНТИГЕНУ

А.В.Федотченко

Кафедра анатомії людини, топографічної анатомії з курсом оперативної хірургії (зав. – проф. М.А.Волошин) Запорізького державного медичного університету

Резюме. Установлено, що розподіл рецепторів до лектину арахісу у структурах кульшового суглоба характеризується зональністю, відображає ступінь їх функціональної зрілості та різні властивості його компонентів. Після дії антигену спостерігається надлишок біосинтезу залишків β -D-галактози в ранньому постнатальному періоді з подальшим їх дефіцитом на 14-30 доби.

Ключові слова: капсула суглоба, перехідна частина, лектин арахісу, антигенний вплив.

Глікокон'югати – одні з основних компонентів клітин та волокон, їх структура динамічно змінюється в процесі розвитку. Найважливіші функції лектино-рецепторних систем у процесі гісто- та морфогенезу полягають у регулюванні агрегаційно-міграційних характеристик клітин, їх диференціації, формуванні структурних та морфофункціональних контактів [1, 2]. Тканинні компоненти ідентифікують за допомогою декількох груп лектинів, зокрема лектину арахісу (PNA), який виявляє вуглеводний залишок β -D-галактози, не взаємодіючи з N-ацетил-D-галактозаміном. У літературі [3] бракує даних про динаміку розподілу рецепторів до лектину арахісу в структурах суглоба, зокрема в капсулі суглоба після антенатальної дії антигенів.

Мета дослідження: вивчити динаміку розподілу рецепторів до лектину арахісу у структурах кульшового суглоба (КС) в постнатальному періоді в нормі та після антенатальної дії антигенів.

Матеріал і методи. Нами досліджений правий КС лабораторних щурів лінії "Вістар": перша група – інтактні щури; 2-га група – щури, яким за методом М.А.Волошина вводили імуноглобулін; 3-тя група (контрольна) – щури, яким вводили фізіологічний розчин [4, 5]. Забій тварин здійснювали на 1-шу, 7-му, 14-ту, 30-ту, 60-ту і 90-ту доби життя. Матеріал фіксували у рідині Буена, декальцинували, зневоднювали, заливали парафіновою сумішшю та виго-

товляли гістологічні зрізи. Виявлення вуглеводних залишків β -D-галактози проводили з використанням лектину арахісу за допомогою стандартизованих наборів PNA-HRP НВО "Лектинтест" (А.Д.Луцик и др., 1989). Контрольні зрізи інкубували у присутності 1% розчину H_2O_2 протягом 30 хв. Для блокування зв'язаних сіалових кислот до залишків β -D-галактози зрізи попередньо обробляли розчином пепсину. Візуалізацію вогнищ зв'язування лектину проводили в системі діамінобензидин-пероксиду водню. Досліджували розподіл рецепторів до лектину арахісу в капсулі КС, в поверхневій зоні суглобового хряща, в метаепіфізарному хрящі та окісті. Результати обчислювали напівкількісно: "++++" – дуже сильна реакція (темно-коричневе забарвлення); "+++ " – сильна реакція (коричневе забарвлення); "++ " – помірна реакція (жовто-коричневе забарвлення); "+" – слабка реакція (світло-коричневе забарвлення); "0" – відсутність реакції. При роботі зі щурами дотримувались міжнародних принципів Хельсинської декларації про гуманне ставлення до тварин.

Результати дослідження та їх аналіз. У капсулі КС можна виділити синовіальний, фіброзний шари та субсиновіальну основу. Синовіальний шар складається з вистеляючих клітин, базальної пластинки та міжклітинної речовини [3, 6]. У синовіальному шарі розрізняють парієтальну і вісцеральну частини. Субсиновіальна основа відповідає термінам "поверхневий та

глибокий колагеново-еластичний шар синовіальної оболонки" [6]. Також у суглобові описували перехідну частину, яка розташована з одного боку між парієтальною і вісцеральною частинами синовіального шару, а з другого – в ділянці вплітання волокон субсиновіальної основи в суглобовий хрящ [3, 6]. У перехідній частині, окрім синовіального шару, яким вона покрита, виділяють regio capsularis та regio cartilaginea.

На 1-шу добу життя в інтактних групах на люменальній поверхні вистіляючих клітин синовіального шару візуалізується смужка на кшталт обідка зі значною експресією (++++) залишків β -D-галактози. Цитоплазма вистіляючих клітин містить сліди вуглеводних включень. Інтенсивність відкладення бензидинової мітки на базальній пластинці була досить значною (++++). Міжклітинна речовина розміщена або під базальною пластинкою, або оточувала її і виявляла незначну (+) спорідненість до лектину арахісу. Парієтальна частина синовіального шару містила меншу кількість залишків β -D-галактози: обідок на люменальній поверхні вистіляючих клітин відсутній, на значному проміжку синовіального шару вистіляючі клітини візуалізувалися дуже погано. Базальна пластинка на парієтальній частині тонша, ніж на вісцеральній. Волокниста сполучна тканина, що входить до складу lig. capitis femoris та fossa acetabuli, а також субсиновіальна основа в межах шийки стегнової кістки вкриті синовіальним шаром, який за будовою та рівнем афінності до лектину арахісу подібний до парієтальної частини синовіального шару, а синовіальний шар у ділянці перехідної частини – до вісцеральної частини синовіального шару. Динаміка експресії даного глікокон'югату протягом експерименту суттєво не змінювалася. Матрикс субсиновіальної основи практично не виявляє спорідненості з лектином арахісу. Інтенсивність відкладення бензидинової мітки у фіброзному шарі була слабкою (+). Волокнистий шар окістя на відміну від фіброзного шару, в якій останній безпосередньо вплітається, не містив залишків β -D-галактози з 1-ої доби і протягом всього експерименту. У капсулі КС можна розрізнити фібробласти, фіброцити, адипоцити, макрофаги, тучні клітини, певний відсоток лімфоцитів та дендритні клітини, які містять рецептори до лектину арахісу. Інтенсивність відкладення бен-

зидинової мітки у стінках судин капсули була найбільшою щодо інтими та адвентиції.

У хрящовому зачатку голівки стегнової кістки безпосередньо під вісцеральною частиною синовіального шару візуалізується невеликий поверхневий прошарок суглобового хряща, який майже не містить рецепторів до лектину арахісу, на відміну від хряща, розташованого глибше.

На 1-шу добу в перехідній частині залишків β -D-галактози практично не спостерігалось. Regio cartilaginea перехідної частини за рівнем розподілу рецепторів до лектину арахісу була немов продовженням вищеописаного прошарку суглобового хряща безпосередньо під вісцеральною частиною синовіального шару. Динаміка розподілу рецепторів до лектину арахісу у компонентах КС між інтактними та контрольними групами тварин протягом експерименту суттєво не відрізнялася. У субсиновіальній основі, фіброзному шарі, суглобовому хрящі та в regio capsularis перехідної частини рівень експресії залишків β -D-галактози вищий, ніж в інтактних тварин. В regio cartilaginea перехідної частини галактокон'югати практично відсутні.

На 7-му добу в інтактних тварин зростає насиченість залишками β -D-галактози волокнистих шарів капсули. В субсиновіальній основі візуалізується поверхневий та глибокий шар клітин і матриксу з різним ступенем афінності до лектину арахісу. Інтенсивність відкладення бензидинової мітки у структурах волокон вища, ніж в основній проміжній речовині. У капсулі КС визначаються тоненькі різноспрямовані PNA+ волокна до 1 мкм завтовшки і від 15 до 30-40 мкм завдовжки зі значним (++++) вмістом залишків β -D-галактози, які найкраще виявляються з 14-ї та, особливо, з 30-ї доби. Інтенсивність розподілу рецепторів до лектину арахісу в суглобовому хрящі суттєво не відрізняється від 1-ї доби, а в перехідній частині – аналогічна до попереднього терміну антигенпремійованих груп.

В антигенпремійованих тварин насиченість практично всіх структур КС залишками β -D-галактози суттєво не відрізняється від інтактних. Але в regio cartilaginea перехідної частини спостерігається вогнище з вираженою (від "++++" до "++++") інтенсивністю відкладення бензидинової мітки (рисунок). Насиченість рецепторами до лектину арахісу у структурах КС в інтактних

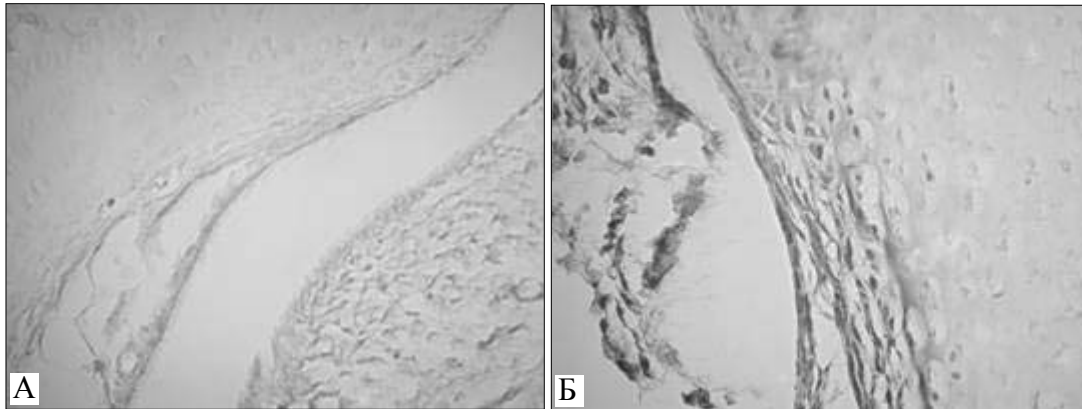


Рис. Мікропрепарати кульшового суглоба інтактного (А) та антигенпреміюваного (Б) щура, 7-ма доба життя, гістохімічна реакція з лектином арахісу. Ок. 10, об. 40 (пояснення в тексті).

тварин на 14-ту добу суттєво не відрізняється від попереднього терміну, а в антигенпреміюваних – майже подібна до інтактних. Але з 14-ї по 90-ту добу включно в інтактних групах в regio cartilaginea перехідної частини та в невеликому прошарку суглобового хряща, що міститься безпосередньо під вісцеральною частиною синовіального шару, простежується майже суцільне вогнище значної (від "++" до "+++") експресії залишків β -D-галактози, в антигенпреміюваних подібні явища відсутні з 14-ї по 30-ту добу.

З 30-ї доби і до кінця експерименту у тварин всіх груп спостерігається зниження інтенсивності відкладення бензидинової мітки у волокнистих шарах капсули, особливо поблизу перехідної частини. В regio capsularis перехідної частини глікокон'югати представлені в асоціації з волокнистими структурами. У складі основної проміжної речовини вони одиничні: трапляються у вигляді незначних дрібнодисперсних включень. В regio capsularis перехідної частини можна чітко диференціювати лімфокапіляри, щільність розподілу яких більша, ніж в субсиновіальній основі під парієтальною частиною синовіального шару. Навколо цих лімфокапілярів розрізняється вогнище значної (+++) експресії залишків β -D-галактози. В цей період чітко диференціюються зони суглобового хряща. Зона метаепіфізарного хряща в цей період має помірний (++) рівень експресії рецепторів до лектину арахісу.

З 60-ї доби і до кінця експерименту різниця у розподілі рецепторів до лектину арахісу у структурах КС між інтактними та антигенпреміюваними тваринами нівелюється. Інтенсивність відкладення бензидинової мітки у струк-

турах КС вища позаду від lig. capitis femoris, ніж спереду. В інтактних тварин після попередньої обробки зрізів розчином пепсину протягом всього експерименту спостерігається незначне (від "0/+" до "+") рівномірне зниження інтенсивності відкладення бензидинової мітки у структурах КС. При цьому експресії вуглеводних залишків на люменальній поверхні вистеляючих клітин, у поверхневій зоні суглобового хряща та в regio cartilaginea перехідної частини, в ділянці метаепіфізарного хряща, а також на периферії лімфокапілярів не визначається. По всій товщі капсули можна розрізнити невеликі різноспрямовані пепсиностабільні гострикоподібні PNA+ волокна, товщиною до 0,5-1 мкм, довжиною до 10-15 мкм, топографія яких відрізняється від топографії пепсинолабільних PNA+ волокон. У тварин всіх груп рівень експресії залишків β -D-галактози на клітинах, окрім дендритних, суттєво не змінюється.

В антигенпреміюваних тварин з 1-ї по 14-ту добу після попередньої обробки зрізів розчином пепсину структури капсули знижують своє забарвлення інтенсивніше, на відміну від інтактних. З 30-ї доби відмінності між інтенсивністю відкладення бензидинової мітки після постановки пепсинового контролю у структурах КС між інтактними та антигенпреміюваними групами відсутні.

Отже, лектино-гістохімічно визначається чітка різниця у будові та інтенсивності відкладення бензидинової мітки між вісцеральною та парієтальною частинами синовіального шару, що дозволяє диференціювати ці структури і вказує на різне їх функціональне призначення. Синовіальний шар виконує роль природженого бар'єру між суглобовим хрящем і волокнистими

шарами капсули, з одного боку, та агресивною синовіальною рідиною, з другого [3, 6].

Фіброзний шар виконує опорну і механічну роль, відмежовуючи компоненти суглобу від прилеглих тканин. Субсиновіальна основа є зв'язуючою ланкою між двома суглобовими хрящами, її структури формують *regio capsularis* перехідної частини, вплітаючись у хрящ та змінюючи його архітектоніку. Застосування гістохімічного дослідження з лектином арахісу дозволяє встановити в суглобові топографію біополімерів, що містять залишки β -D-галактози, прослідкувати розвиток перехідної частини, а також поверхневого та глибокого колагеново-еластичних шарів. Наявність лімфоцитів, зокрема PNA-позитивних у капсулі суглоба підтверджує концепцію про постійну присутність лімфоїдних клітин в неімунних органах з метою забезпечення нормального перебігу морфогенетичних процесів [3-5]. Відмінності у щільності розподілу рецепторів до лектину арахісу спереду та позаду від *lig. caritae femoris* можна пояснити різницею у біомеханічному навантаженні на окремі ділянки КС. Зниження інтенсивності відкладення бензидинової мітки у волокнистих структурах капсули після 30-ї доби, ймовірно, пов'язане із сіалізацією кінцевих вуглеводних залишків (А.Д.Луцик и др., 1989), що, можливо, захищає капсулу суглоба від руйнівних чинників імунобіологічної природи, забезпечуючи механізм формування неспецифічного імунобіологічного бар'єру [5]. Зниження інтенсивності відкладення бензидинової мітки після постановки пепсинового контролю дозволяє встановити наявність розчинної фракції фібронектину в капсулі суглоба, а також чіткіше деталізувати клітини капсули.

Перехідна частина є ключовою структурою, що забезпечує цілісність суглоба як органа [3]. З 1-ої по 7-му добу насиченість глікокон'югатами *regio capsularis* перехідної частини практично тотожна з суміжною зоною капсули. Тоді ж формується зона хряща, в якій практично відсутні залишки β -D-галактози – *regio cartilaginea*, яка відіграє роль своєрідного бар'єру, розмежовуючи суміжну зону суглобового хряща і матрикс капсули. З 14-ої доби, і, особливо, з 30-ї, коли в *regio capsularis* перехідної частини спостерігається зниження вмісту цих залишків, навпаки, відбувається збільшення щільності розподілу залишків β -D-галактози. Така зміна дина-

міки розподілу рецепторів до лектину арахісу в структурах перехідної частини в різні періоди розвитку суглоба, на нашу думку, має пристосувальний характер для перешкоджання подальшій інвазії матриксу капсули в суглобовий хрящ. Перехідна частина – це одна з найвразливіших структур суглоба і більшість патологічних процесів починаються саме з неї. Тому, якщо б насиченість *regio capsularis* перехідної частини даними біосполуками була подібною до капсули в цілому, то будь-які, навіть незначні впливи могли б викликати суттєві порушення міжклітинних та клітинно-матриксних взаємодій, порушення обміну речовин і, як наслідок, виникнення захворювання. Мінімальний рівень залишків β -D-галактози в *regio capsularis* перехідної частини з одного боку унеможлиблює "активізацію" міжклітинних та клітинно-матриксних взаємодій з метою "вторгнення" тканини капсули в хрящ, але цілком забезпечує необхідний рівень фізіологічних процесів для забезпечення нормального функціонування суглоба. В серозних порожнинах трансудація відбувається через парієтальний листок, а резорбція – через вісцеральний. У суглобі резорбція рідини крізь вісцеральну частину синовіального шару в суглобовий хрящ відбуватися не може, оскільки ці структури не мають лімфатичних судин. Трансудація відбувається крізь парієтальну частину синовіального шару, а резорбція – крізь парієтальну та вісцеральну частину синовіального шару в *regio capsularis*. Значна експресія залишків β -D-галактози, зокрема, фібронектину в наступних структурах: люменальна поверхня вистіляючих клітин, базальна пластинка, *regio cartilaginea* перехідної частини та зона довкола лімфокапілярів, на нашу думку, відіграє роль неспецифічного імунного захисту на кшталт імунобіологічного бар'єру, подібного до плаценти [5], оскільки фібронектин є адгезином для активованих лімфоцитів і макрофагів.

Аntenатальна дія антигенів призводить до масової міграції незрілих PNA+ лімфоцитів на периферію [3-5], зокрема, і в тканини суглоба [3] і, як наслідок, до змін у клітинних популяціях та біосинтетичних процесах. Рання гіперекспресія залишків β -D-галактози в межах *regio cartilaginea* перехідної частини може свідчити про прискорений розвиток кісткової тканини шийки стегнової кістки з функціонально незрілого хряща, оскільки відомо (А.Д.Луцик и др.,

1989), що ці вуглеводні залишки у великій кількості містяться в незрілих тканинах. Збільшення вмісту фібронектину в міжклітинній речовині антигенпремійованих тварин, особливо в перехідній частині, можна розцінювати як компенсаторний механізм. Зменшення експресії фібронектину в антигенпремійованих групах з 14-ї по 45-ту добу також може свідчити про порушення неспецифічного імунобіологічного бар'єру між капсулою і хрящем. Ці явища можна кваліфікувати як фактори ризику виникнення патологій суглоба.

Висновки та перспективи наукового пошуку. 1. Розподіл глікокон'югатів у структурах КС характеризується зональністю, відображає

ступінь їх функціональної зрілості та властивості його компонентів. 2. Вісцеральна та парієтальна частини синовіального шару мають різне функціональне значення. 3. Зміна динаміки розподілу глікокон'югатів у перехідній частині має пристосувальний характер, перешкоджаючи подальшому вторгненню матриксу капсули в хрящ і забезпечуючи цілісність суглоба як органа. 4. Одним з механізмів неспецифічного захисту компонентів КС є фібронектиновий бар'єр, зміна динаміки його експресії після дії антигену свідчить про напруження імунобіологічного бар'єру між капсулою і хрящем. 5. В подальшому важливо дослідити динаміку змін популяції клітин і волокон капсули суглоба.

Література

1. Антонюк В.О. Лектини та їх сировинні джерела / Антонюк В.О. – 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. Григор'єва О.А. Закономірності морфогенезу і реактивності колінного суглоба після антигенного та гормонального впливу: автореф. дис. на здобуття наук. ст. д. мед. н.: спец. 14.03.01 "Нормальна анатомія" / О.А.Григор'єва. – К., 2011. – 31 с.
4. Внутритрубная антигенная стимуляция как модель для изучения симптомокомплекса висцеромегалии / Н.А.Волошин, Е.А. Григорьева, М.С.Щербаков [и др.] // Тавр. мед.-биол. вестник. – 2006. – Т. 9, № 4. – С. 57-59.
5. Куц О.Г. Закономірності будови плаценти і лімфоїдної тканини, асоційованої з нею, протягом третього періоду вагітності: автореф. дис. на здобуття наук. ст. д. біол. н.: спец. 14.03.01 "Нормальна анатомія" / О.Г.Куц. – Тернопіль, 2008. – 35 с.
6. Волошин М.А. Сучасний погляд на будову та класифікацію структур суглоба / М.А.Волошин, О.А.Григор'єва // Вісн. пробл. біол. і мед. – 2011. – Вип. 2, т. 1. – С. 56-59.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ РЕЦЕПТОРОВ К ЛЕКТИНУ АРАХИСА В СТРУКТУРАХ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА В НОРМЕ И ПОСЛЕ АНТЕНАТАЛЬНОГО ВЛИЯНИЯ АНТИГЕНА

Резюме. Установлено, что распределение рецепторов к лектину арахиса в структурах тазобедренного сустава характеризуется зональностью, отображает уровень их функциональной зрелости и разные свойства его компонентов. После действия антигена наблюдается избыток биосинтеза остатков β -D-галактозы в раннем постнатальном периоде с дальнейшим их дефицитом на 14-30 сутки.

Ключевые слова: капсула сустава, переходная часть, лектин арахиса, антигенное влияние.

THE DISTRIBUTION OF RECEPTORS TO PEANUT LECTIN IN THE STRUCTURES OF THE COXAL JOINT IN HEALTH AND AFTER THE ANTENATAL ACTION OF AN ANTIGEN

Abstract. It has been established that the distribution of receptors to peanut lectin in the structures of the coxal joint is characterized by zonality, reflects the degree of its functional maturity and different properties of its components. An excess of biosynthesis β -D-galactose remains is observed at an early stage of the postnatal period due to the action of an antigen with their further deficiency on days 14-30.

Key words: joint capsulae, intermediate part, peanut lectin, antigen influence.

State Medical University (Zaporizhzhia)

Надійшла 30.01.2012 р.
Рецензент – проф. К.С.Волков (Тернопіль)