

© Демьяненко И.А., 2013

УДК 611-018+611.013.7/8+611.24+618.31

## ГИСТОТОПОГРАФИЯ ЛЕКТИНА ЧЕЧЕВИЦЫ В ЗАЧАТКАХ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ЧЕЛОВЕКА ПРИ МАТОЧНОЙ И ТРУБНОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

*И.А.Демьяненко**Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. – проф. Е.Ю.Шаповалова) Крымского государственного медицинского университета им. С.И.Георгиевского, г. Симферополь*

### ГИСТОТОПОГРАФИЯ ЛЕКТИНУ СОЧЕВИЦІ В ЗАЧАТКАХ ДИХАЛЬНОЇ СИСТЕМИ ЛЮДИНИ ПРИ МАТКОВІЙ І ТРУБНІЙ ВАГІТНОСТІ

**Резюме.** При матковій і трубній імплантації ембріонів виявлено ефект поступової зміни глікокон'югатів, які є рецепторами сочевиці, на поверхні і в цитоплазмі клітин у процесі їх диференціації та органної спеціалізації. При матковій імплантації найпомітніші перебудови лектин-рецепторних систем в органах дихальної системи відбуваються в другій половині другого місяця пренатального онтогенезу. При трубній імплантації відбувається дезінтеграція біосинтетичних процесів, що виражається зміною термінів перебудови лектин-рецепторних систем.

**Ключові слова:** ембріогенез людини, дихальна система, лектини, трубна вагітність.

В процессе гистогенеза дыхательной системы человека существуют определенные закономерности перераспределения гликополимеров, являющихся рецепторами лектинов. Гликополимеры составляют структурную и функциональную основу клеток и тканей, входят в состав плазмолеммы, внутриклеточных структур, компонентов межклеточного вещества. Углеводные детерминанты являются сигнальными и рецепторными молекулами, определяют межклеточные контакты, адгезию и миграцию клеток, и вероятно, могут запускать или тормозить процессы апоптоза. Существующие в организме процессы распознавания и связывания таких гликополимерных соединений лектинами, так называемые лектин-рецепторные взаимодействия, могут запускать лектинзависимые регуляции клеточных функций и клеточные ответы, обуславливающие дифференцировку тканей. Однако распределение гликополимеров, являющихся рецепторами лектинов, в тканях развивающейся дыхательной системы человека еще недостаточно изучено, хотя степень их накопления и характер распределения могут служить критерием нормы или патологии при развитии зародышей в случае атипической имплантации.

**Цель исследования:** изучить уровень ре-

прессии и дерепрессии гликополимеров-рецепторов лектина чечевицы (LCA) в эпителиальных и мезенхимных зачатках дыхательной системы у человека при маточной и трубной имплантации при отсутствии явно выраженных повреждающих факторов.

**Материал и методы.** Результаты работы базируются на изучении 121 зародыша человека в возрасте от 21 суток до 12 недель при типической имплантации и 49 зародышей человека при атипической имплантации. Это дало возможность изучить зародыши человека на стадиях от раннего периода нервного желобка до начала дефинитивного плодного периода, что соответствует уровням развития по Стритеру от X до XIII и началу плодного периода и стадиям, принятым сейчас в Институте Карнеги (от 9 до 23). Из полученного материала были изготовлены серийные срезы. Обзорные препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Соединение рецепторов к лектинам LCA определяли с помощью гистохимических реакций. Препараты обрабатывали с применением стандартных наборов НПК «Лектинотест» (Украина) в разведении лектина по рекомендуемой методике [1]. Визуализацию мест связывания лектина проводили в системе диаминобензидин/перекись

водорода. Контроль специфичности реакции осуществляли путем исключения из схемы обработки препаратов диаминобензидина. Лектин чечевицы специфичен к концевым нередуцирующим остаткам на  $\alpha$ -D-маннозе. Специфичность лектинов к терминальным нередуцирующим моносахаридным остаткам гликоконъюгатов дана в соответствии с T.C.Vog-Hansen, G.A.Spengler [2]. Интенсивность окраски оценивалась в баллах: 0 – отсутствие реакции; 1 – слабая реакция; 2 – средняя реакция; 3 – сильная реакция; 4 – очень сильная реакция.

#### Результаты исследования и их анализ.

При проведении лектиногистохимического исследования с помощью лектина чечевицы нами прослежены последовательные этапы морфогенетических преобразований эпителиальных зачатков дыхательной системы. Полярность и различия в строении апикальной и базальной поверхности эпителия определена, начиная с самых ранних стадий развития изученных органов. Известно, что полярность клеток является отличительным признаком эпителия и заключается в различии строения и функции мембран в апикальной и базальной частях клеток [3]. Полярность – генетически запрограммированный процесс, вероятно, регулируемый клеточными липидами [4].

При маточной имплантации в эпителиоцитах дыхательной системы на ранних стадиях развития содержится большое количество гликополимеров с концевыми нередуцирующими остатками  $\alpha$ -D-маннозы. Одновременно с накоплением ШИК-положительных веществ количество таких гликоконъюгатов увеличивается, особенно на апикальной поверхности клеток. Это соответствует данным R.Sharma, U.Schumacher [5] в отличие от результатов B.C.Gallagher [6], полученных на куриных эмбрионах. Известно [7], что в эмбриональном периоде при маточной имплантации маннозосодержащие гликоконъюгаты (рецепторы лектина чечевицы) играют важную роль в специфическом узнавании клеткой ее мишеней и в повышении межклеточной адгезии.

В эпителиальных зачатках дыхательной системы гликополимеры, взаимодействующие с лектином чечевицы, присутствуют с первых изученных нами стадий эмбриогенеза. Лектин-положительный материал у зародыша до 49 суток (3,2-20 мм длины) лежит по апикальной поверхности эпителия, покрывающего трахею и бронхи, вне зависимости от порядка ветвления бронхов. Цитоплазма эпителиоцитов ареактивна. На 8-12 неделях развития (зародыш 21-70 мм длины)  $\alpha$ -D-маннозконъюгаты, сохраняясь на

достигнутом ранее уровне на апикальной поверхности, появляются в небольших количествах на базальной мембране эпителия и на цитолемме эпителиоцитов. К концу 12-й недели количественное и пространственное расположение гликоконъюгатов с терминальными остатками  $\alpha$ -D-маннозы остается стабильным и мало изменяется по сравнению с таковым в начале 8-й недели.

Лектинсвязывающиеся сайты в мезенхиме присутствуют в небольшом количестве в цитоплазме клеток мезенхимы вокруг трахеопульмонального зачатка, начиная с 24 суток эмбриогенеза (зародыш 3,2 мм длины). Интенсивность бензидиновой метки в местах локализации концевых остатков  $\alpha$ -D-маннозы в цитоплазме клеток периепителиальной мезенхимы существенно не меняется до 45 суток (зародыш 16 мм длины).

В конце второго и начале третьего месяца внутриутробной жизни (зародыш 17-45 мм длины) яркость окраски клеток мезенхимы и эмбриональной соединительной ткани трахеи и бронхов несколько усиливается. Наиболее интенсивное связывание лектина чечевицы наблюдается у цитолеммы клеток мезенхимы между зачатками бронхов. Фибриллогенез аргирофильных волокон эмбриональной соединительной ткани остается лектин-негативным. На 11-12 неделях (зародыш 46-70 мм длины) дифференцирующиеся околоэпителиальные молодые фибробласты изменяют степень связывания лектина чечевицы цитолеммой в сторону увеличения, а цитоплазмой – в сторону уменьшения. Клетки мезенхимы и эмбриональной соединительной ткани, не контактирующие с эпителиальными зачатками, сохраняют  $\alpha$ -D-маннозконъюгаты на достигнутом ранее уровне. Коллагеновые волокна остаются ареактивными.

Таким образом, при маточной имплантации у зародыша в первые 12 недель наблюдается закономерное перераспределение гликополимеров, являющихся рецепторами лектина чечевицы, в эпителиальные и мезенхимные зачатки трахеи и легких.

При эктопической имплантации в маточную трубу прослеживается общее замедление развития эмбрионов. Размеры зародышей не соответствуют срокам беременности. В эмбриональных зачатках дыхательной системы гликополимеры, взаимодействующие с лектином чечевицы, присутствуют в малых количествах у первых изученных нами эмбрионов при внематочной беременности (зародыш 43-54 суток, 9-20 мм длины). Лектин-положительный материал лежит по апикальной поверхности эпителиального пласта, покрывающего трахею и бронхи, вне зависимо-

Таблиця

**Количественное содержание рецепторов лектина чечевицы в эпителии, мезенхиме и эмбриональной соединительной ткани дыхательной системы при трубной имплантации\***

Название структуры	Теменно-копчиковая длина зародышей (мм)									
	9	11	12	13	20	21	22	23	24	26
Эпителий крупных бронхов, апикальная поверхность	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2
- базальная мембрана	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
- цитоплазма	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
- цитолемма	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
Мезенхима крупных бронхов, цитолемма	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
- цитоплазма	0	0	0	0	1	2	2	2	2	1

\*Интенсивность развившейся реакции в баллах: 0 – отсутствие реакции; 1 – очень слабая реакция; 2 – слабая реакция; 3 – умеренная реакция; 4 – сильная реакция.

сти от порядка ветвления бронхов. Цитоплазма и базальная мембрана эпителиоцитов ареактивны (таблица).

На 54-60 сутки развития (зародыш 21-26 мм длины) эпителиоциты обогащают до невысоких показателей  $\alpha$ -D-маннозоконъюгатами апикальной поверхности, цитоплазмы и базальной мембраны. Однако к 60 суткам такие соединения редуцируются в цитоплазме и на цитолемме клеток эпителиального пласта (рисунок). Следы лектин-связывающихся сайтов в мезенхимных зачатках

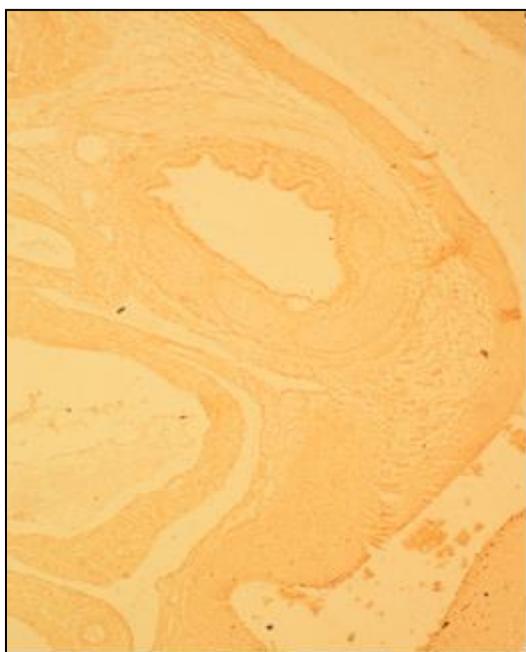


Рис. Зачаток бронха первого порядка у зародыша 60 суток (26 мм длины). Обработка конъюгатом лектина чечевицы с пероксидазой хрена. Проявление в системе диаминобензидин –  $H_2O_2$ . Микрорепарат. Об. 20, ок. 10.

дыхательной системы появляются у зародыша в возрасте 54 суток (20 мм длины) в цитоплазме клеток периепителиальной мезенхимы трахеи и бронхов трех порядков ветвления. Интенсивность бензидиновой метки в местах локализации концевых остатков  $\alpha$ -D-маннозы в цитоплазме клеток мезенхимы и молодых фибробластов увеличивается до небольших количеств (зародыш 54-58 суток, 21-24 мм длины), а затем возвращается к исходному уровню. Цитолемма остается свободной от рецепторов лектина чечевицы. Ретикулярные волокна ареактивны.

Таким образом, при трубной имплантации у зародышей в первые 60 суток наблюдается своеобразное перераспределение гликополимеров, являющихся рецепторами лектинов, в эпителиальные и мезенхимные зачатки трахеи и легких.

**Выводы и перспективы дальнейших исследований.** 1. При маточной и трубной имплантации обнаружен эффект постепенного изменения экспрессии и редукции углеводных детерминант на поверхности и в цитоплазме клеток в процессе их дифференцировки и органной специализации. 2. При маточной имплантации эмбрионов наиболее заметные перестройки лектин-рецепторных систем в органах дыхательной системы происходят во второй половине второго месяца пренатального онтогенеза. 3. При трубной имплантации происходит дезинтеграция биосинтетических процессов, проявляющаяся изменением сроков перестройки лектин-рецепторных систем. 4. Использование методов гистохимии углеводов и лектинов поможет выяснению значения и характера трансформации углеводных детерминант клеточных мембран и неклочных тканевых структур дыхательной системы эмбрионов человека, развивавшихся в условиях

атипической имплантации, что в сравнении с нормальным гисто- и органогенезом дыхательной системы может способствовать

объективных критериев оценки биологической полноценности органов, формирующихся при трубной беременности.

#### Список использованной литературы

1. Луцук А.Д. Лектины в гистохимии / Луцук А.Д., Детюк Е.С., Луцук М.Д. – Львов: Вища школа, 1989. – 139 с.
2. *Lectin biology, biochemistry, clinical biochemistry* / eds. T.C.Bog-Hansen, G.A.Spengler // *Proc. V lectin meeting*. – 1983. – Vol. 3. – P. 87-415.
3. Katsuyama T. *The surface characteristics of the plasma membrane of the exocrine pancreas* / T.Katsuyama, S.S.Spicer // *Am. J. Anat.* – 1977. – Vol. 148. – P. 535-554.
4. Halder J.S. , Alto P. *Overview of epithelial polarity* // *Ann. Rev. Physiol.* – 1989. – Vol. 51. – P. 729-740.
5. Sharma R. *Histochemical characterization of carbohydrate residues during the morphogenesis of gastrointestinal and respiratory system of Caretta Caretta* / R.Sharma, U.Schumacher // *Acta Histicheica*. – 1992. – Vol. 93, № 2. – P. 411-432.
6. Gallagher B.C. *Basal laminar thinning is branching morphogenesis of the chick lung as demonstrated by lectin probes* / B.C.Gallagher // *J. Embryol. & Exp. Morphol.* – 1986. – Vol. 94. – P. 173-188.
7. Brysk M.M. *Endogenous lectin from terminally differentiated epidermal cells* / M.M.Brysk, S.Rajaraman, P.Penn // *Differentiation*. – 1986. – Vol. 32, № 3. – P. 230-237.

#### ГИСТОТОПОГРАФИЯ ЛЕКТИНА ЧЕЧЕВИЦЫ В ЗАЧАТКАХ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ЧЕЛОВЕКА ПРИ МАТОЧНОЙ И ТРУБНОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

**Резюме.** При маточной и трубной имплантации эмбрионов выявлен эффект постепенного изменения гликоконъюгатов, которые являются рецепторами лектина чечевицы, на поверхности и в цитоплазме клеток в процессе их дифференциации и органной специализации. При маточной имплантации наиболее заметные перестройки лектин-рецепторных систем в органах дыхательной системы происходят во второй половине второго месяца пренатального онтогенеза. При трубной имплантации происходит дезинтеграция биосинтетических процессов, проявляющаяся изменением сроков перестройки лектин-рецепторных систем.

**Ключевые слова:** эмбриогенез человека, дыхательная система, лектины, трубная беременность.

#### HISTOTOPOGRAPHY OF LENTIL LECTIN IN GERMS OF THE HUMAN RESPIRATORY SYSTEM UNDER THE CONDITIONS OF UTERINE AND TUBAL PREGNANCY

**Abstract.** In case of uterine and tubal implantation of embryos the effect of a gradual change of glycoconjugates, being the receptors of lentil on the surface and in the cytoplasm of cells in the process of their differentiation and organ specialization, has been detected. In case of uterine implantation the most evident rearrangements of the lectin-receptor systems in the organs of the respiratory system occur in the second half of the second month of prenatal ontogenesis. A disintegration of the biosynthetic processes with tubal implantation occurs that is manifested by a change of the terms of a rearrangement of the lectin-receptor systems.

**Key words:** human embryogenesis, respiratory system, lectins, tubal pregnancy.

Crimean State Medical University Named after S.I.Georgiievskiyi (Simferopol)

Надійшла 17.12.2012 р.

Рецензент – проф. К.С.Волков (Тернопіль)