

УДК 616.681-092.9:615.849.11:615.322:616-091.8:591.04:634.58:612.396

О.М. Шарапова*Кафедра урології, оперативної хірургії та топографічної анатомії**(зав. – проф. В.П. Стусь) ДЗ “Дніпропетровська державна медична академія МОЗ України”*

РОЗПОДІЛ РЕЦЕПТОРІВ ДО ЛЕКТИНУ АРАХІСУ ЗЕМЛЯНОГО В ГІСТОХІМІЧНІЙ ХАРАКТЕРИСТИЦІ ЯЄЧОК ЩУРІВ ПІСЛЯ ОПРОМІНЕННЯ ЇХ ЕЛЕКТРОМАГНІТНИМ ПОЛЕМ ТА ВЖИВАННЯ НАСТОЯНКИ ЕХІНАЦЕЇ ПУРПУРОВОЇ

Резюме. В проведеному науковому дослідженні визначені деякі дані щодо накопичення PNA+-рецепторів до лектину арахісу земляного в структурах яєчок щурів, які опромінювались електромагнітним полем високої напруги низької частоти з наступною імуностимуляцією 7% спиртовою настоянкою ехінацеї пурпурової. Експериментально доведено, що вплив ехінацеї пурпурової викликає в сім'яниках опромінених щурів активацію процесу сперматогенезу.

Ключові слова: лектин арахісу земляного, яєчко, щур, електромагнітне поле, ехінацея пурпурова.

Лектини, як гістохімічні маркери органів і тканин, визнані найбільш інформативними молекулярними зондами, що дозволяють проводити ідентифікацію глікокон'югатів клітин та тканин, вивчити їх динаміку у фізіологічних і патологічних умовах, що дозволяє поглибити розуміння молекулярних особливостей морфогенезу тканин і органів, що було описано в роботах М.А. Волошина [1]. Лектини та їх рецептори забезпечують міжклітинні, клітинно-матриксні взаємодії, беруть участь у регуляції процесів проліферації, диференціювання і апоптозу клітин [2].

За даними G. Gheri et al. [3] найбільш інтенсивно рецептори до лектину зародків пшениці накопичують цитоплазма клітин Лейдига та Сертолі, ядра сперматогоній, волокна інтерстицію та ендотелій судин яєчка.

У складі міжклітинної речовини інтерстицію яєчка визначаються низько- і високосульфатовані глікозаміноглікани, які перешкоджають клітинній адгезії та міграції клітин через базальну мембрану звивистих сім'яних трубочок при судинній інвазії, що описано в роботах A. Readler [4]. При виявленні глікозаміногліканів у паренхімі яєчка інтактних та контрольних тварин встановлено, що максимальна альціанофілія характерна для базальної мембрани звивистих сім'яних трубочок, капсули яєчка та гранул тучних клітин.

Наявність PNA+-лімфоцитів в інтерстиції яєчка щурів відображають закономірність постійної присутності лімфоцитів в неімунних органах для здійснення моніторингу генетичного гомеостазу і підтримку структурної й імунологічної цілісності організму [5].

За даними Yoko Sato et al. [6] рецептори до лектину арахісу експресуються на структурах внутрішнього безклітинного шару власної пластинки звивистих сім'яних трубочок при її потовщенні. Визначається високий рівень позитивної кореляції між її товщиною і рівнем експресії PNA+-рецепторів і рецепторів до прогестерону. Тобто, потовщення власної пластинки обумовлено із накопиченням глікокон'югатів, до складу яких входять рецептори до лектину арахісу (вуглеводні залишки 3D-галактози). Отже, інтенсивність накопичення PNA+-рецепторів у власній пластинці сім'яних трубочок можуть слугувати попереднім критерієм порушення сперматогенезу в яєчках.

Мета дослідження: з'ясувати розподіл рецепторів до лектину арахісу земляного в структурах яєчок щурів після опромінення їх електромагнітним полем та вживання 7% спиртової настоянки ехінацеї пурпурової.

Матеріал і методи. Проводили гістохімічне визначення PNA+-рецепторів до лектину арахісу земляного в структурах яєчка щурів, які були опромінені електромагнітним полем (ЕМП) напругою 750 кВ частотою 50 Гц на електропідстанції “Дніпропетровська” м. Дніпропетровська. Обробку зрізів проводили кон'югатом лектину арахісу – пероксидаза хрину (PNA-HRP), з використанням стандартизованих наборів “Лектинтест” (м. Львів) упродовж 45 хвилин при температурі +37°C в темряві після попередньої інактивації ендогенної пероксидази. Контрольні зрізи обробляли розчинами відповідних вуглеводів (лактози, манози та ін.).

Реакції з кон'югатами лектинів проводили на-

півкількісно при імерсійному збільшенні мікроскопу (об. 10, ок. 7): +++ – сильна реакція (темно-коричневе забарвлення); ++ – помірна реакція (коричневе забарвлення); + – слабка реакція (світло-коричневе забарвлення); ± – дуже слабка реакція (бежеве забарвлення); 0 – відсутність реакції.

Результати дослідження та їх обговорення.

Кінцевим залишком рецепторів до лектину арахісу є Galβ 1-3 Gal NAc. Він є одним з небагатьох відомих лектинів, який взаємодіючи з D-галактозою, не взаємодіє при цьому з N-ацетил-D-галактозаміном.

У контрольній групі рецептори до лектину арахісу земляного виявляються з найбільшою інтенсивністю в капсулі яєчка, що обумовлює забарвленість капсули яєчка у перехідний відтінок між коричневим та світло-коричневим кольором. В експериментальній групі тварин, які опромінювались ЕМП, а потім вживали настойку ехінацеї пурпурової, спостерігається підвищення інтенсивності відкладення бензидинової мітки у капсулі яєчка до +++.

Базальна мембрана звивистих сім'яних каналців щурів після введення настойки ехінацеї пурпурової також виявляє більшу інтенсивність розподілу рецепторів до лектину PNA і становить +++.

Стінка кровоносних судин та волокна і міжклітинна речовина інтерстицію яєчок контрольних тварин забарвлюються у бежевий колір ±.

На цитоплазматичних мембранах фібробластів, фіброцитів, лімфоцитів та тучних клітин контрольних щурів рецептори до лектину арахісу земляного не виявляються. Поодинокі PNA+-лімфоцити діаметром 5-8 мкм локалізуються переважно навколо кровоносних судин, під капсулою та в інтерстиції яєчка. Також виявляються подвійні PNA+-лімфоцити.

На 14-ту добу після опромінення ЕМП капсула яєчка та базальна мембрана звивистих сім'яних каналців у тварин цієї групи забарвлюються з однаковою інтенсивністю – у коричневий колір, стінка кровоносних судин та волокна і міжклітинна речовина інтерстицію – у бежевий колір. У тварин опроміненої групи накопичення бензидинових міток у всіх досліджуваних структурах є більш інтенсивним порівняно з контрольною групою. Ця тенденція більш виражена для тварин, що отримували імуномодулятор. Навколо кровоносних судин виявляються поодинокі PNA+-лімфоцити. Інтенсивність забарвлення цитоплазматичної мембрани фібробластів, фіброцитів та тучних клітин менша ніж в опроміненій групі тварин.

На 30-ту добу після опромінення тварин ЕМП капсула сім'яника виявляє більшу щільність розподілу рецепторів до лектину арахісу земляного порівняно з 14-ю добою. Для тварин, які опромінювались ЕМП і отримували ехінацею пурпурову, цей показник залишається на рівні попередньої доби.

У міжклітинній речовині інтерстицію, стінці

кровоносних судин щурів опроміненої групи спостерігається незначне підвищення інтенсивності відкладення бензидинової мітки порівняно із 14-ю добою дії ЕМП.

У тварин експериментальної групи, опромінені ЕМП і, які вживали настойку ехінацеї пурпурової, показники інтенсивності розподілу рецепторів до лектину PNA в судинах та інтерстиції знижуються порівняно із попереднім терміном спостереження та наближуються до рівня контролю.

На 45-ту добу після опромінення ЕМП і ведення ехінацеї пурпурової капсула яєчка у щурів стає товщою. Відмічається найбільш інтенсивне її забарвлення у темно-коричневий колір. Інтенсивність накопичення рецепторів до лектину арахісу на базальній мембрані звивистих сім'яних трубочок експериментальних тварин залишається ідентичною попередньому строку спостереження. Починаючи з цього терміну спостереження, у щурів, що тільки опромінювались ЕМП, визначаються PNA+-рецептори на мембранах тучних клітин, лімфоцитів, фібробластів та фіброцитів. Інтенсивність відкладення бензидинової мітки у стінці кровоносних судин залишається на рівні чотирнадцятої доби опромінення. У складі волокон та екстрацелюлярного матриксу інтерстицію опромінених тварин, які отримували настойку ехінацеї пурпурової, відзначається менша інтенсивність розподілу рецепторів до лектину PNA порівняно з 30-ю добою спостереження (рисунок).

На 90-ту добу після опромінення ЕМП і ведення ехінацеї пурпурової у експериментальних щурів після опромінення ЕМП забарвлення яєчкової капсули не вирізняється від показників попереднього строку спостереження. Щодо тварин, які отримували імуномодулятор, то ці показники залишаються сталими порівняно із іншими термінами спостереження. Забарвлення базальної мембрани звивистих сім'яних трубочок у тварин цієї групи знижується порівняно із попередньою добою спостереження.

Інтенсивність відкладення бензидинової мітки

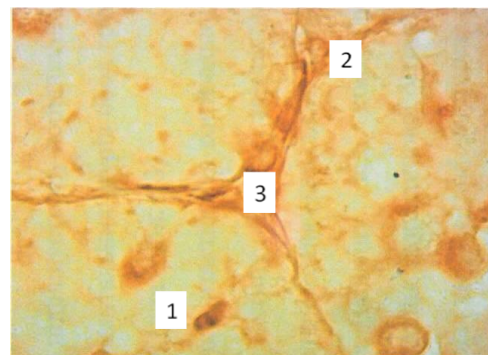


Рисунок. Розподіл рецепторів до лектину арахісу земляного в яєчку щура на 45-ту добу опромінення ЕМП та вживання ехінацеї пурпурової. Збільшення ×1000. 1 – звивисті сім'яні каналці, 2 – інтерстицій, 3 – судина

на цитоплазматичній мембрані лімфоцитів, тучних клітин, фібробластів, фіброцитів та у складі волокон і міжклітинної речовини інтерстицію у всіх групах досліджуваних тварин є ідентичним попередньому терміну спостереження. У стінці кровоносних судин тварин опроміненої групи інтенсивність розподілу PNA+-рецепторів підвищується порівняно із попереднім терміном спостереження.

Висновки. 1. PNA+-рецептори у складі волокон та міжклітинної речовини інтерстицію яєчка в експериментальній групі тварин підвищується з 30-ї доби до 90-ї доби після опромінення та вживання розчину імуномодулятора. 2. У експериментальних тварин інтенсивність накопичення бензидиновітми мітки в товщі капсули яєчка є максимальною на 30-у добу, а потім починає знижуватись до 90-ї доби опромінення включно. 3. Накопичення PNA+-реце-

пторів на цитоплазматичних мембранах фібробластів та фіброцитів починаючи з 30-ї доби спостереження, відбувається в помірній кількості. Невеликий виняток становить 90-та доба, коли ці клітини забарвлюються більш інтенсивно – у світло-коричневий колір. 4. Накопичення PNA+-рецепторів в структурах яєчок експериментальних тварин підтверджують наукову гіпотезу про те, що використання ехінацеї пурпурової призводить до уповільнення автоімунного процесу в яєчках щурів і відновлення процесу сперматогенезу.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується визначення розподілу PNA+-рецепторів у всіх структурах яєчка неопромінених щурів, які отримували 7% спиртову настойку ехінацеї пурпурової, для з'ясування ефекту безпосередньої дії ехінацеї пурпурової як імуномодельного препарату.

Список використаної літератури

1. Волошин Н.А. Лектины животного и растительного происхождения: роль в процессах морфогенеза / Н.А. Волошин, Е.А. Григорьева // Ж. Акад. мед. наук Украины. – 2005. – Т. 11, № 2. – С. 233-237.
2. Яценко А.М. Лектины как гистохимические маркеры в норме и у патологии: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук: спец. 14.03.09 “Гістологія, цитологія, ембріологія” / А.М. Яценко. – К., 2004. – 35 с.
3. Gheri G. Distributional map of the terminal and subterminal sugar residues of the glycoconjugates in the prepubertal and postpubertal testis of a subject affected by complete androgen insensitivity syndrome: Lectine histochemical study / G. Gheri, G.B. Vannelli, M. Marini // *Histol & Histopathol.* – 2014. – V. 19. – P. 1-8.
4. Readler A. The use of lectins to study normal differentiation and malignancy transformation / A. Readler, E. Readler // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* – 2007. – Vol. 109, № 3. – P. 245-251.
5. Гистотопография рецепторов лектинов в некоторых эмбриональных структурах кур и человека / Н.В. Лутай, М.А. Маиталир, А.З. Бразалук, [и др.] // *Морфологія.* – 2007. – Т. 1, № 3. – С. 42-49.
6. Yoko S. Glicocogjugats recognized by peanut Agglutinin lectin in the inner acellular layer of the lamina propria of seminiferous tubules in human testes showing impaired spermatogenesis / S. Yoko, N. Spiari, Y. Miki // *Human Reproduction.* – 2012. – V. 27(2). – P. 143-148.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ РЕЦЕПТОРОВ ЛЕКТИНА АРАХИСА ПОДЗЕМНОГО В ГИСТОХИМИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКЕ ЯИЧЕК КРЫС ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ИХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫМ ПОЛЕМ И ПРИМЕНЕНИЯ НАСТОЙКИ ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ

Резюме. В проведенном научном исследовании определены некоторые данные относительно накопления PNA+-рецепторів к лектину арахиса земляного в структурах яичек крыс, которые облучались электромагнитным полем высокого напряжения низкой частоты с последующей иммуностимуляцией 7% спиртовой настойкой эхинацеи пурпурной. Экспериментально доказано, что действие эхинацеи пурпурной вызывает в семенниках облученных крыс активацию процесса сперматогенеза.

Ключевые слова: лектин арахиса земляного, яичко, крыса, электромагнитное поле, эхинацея пурпурная.

DISTRIBUTION OF LECTIN RECEPTORS OF PEANUT (ARACHIS HYPOGAEA) IN HISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF TESTICLES IN RATS AFTER THEIR EXPOSURE TO ELECTROMAGNETIC FIELD AND THE USE OF ECHINACEA PURPUREA TINCTURE

Abstract. The performed scientist research determined certain data concerning accumulating of PNA+receptors to peanut (*Arachis hypogaea*) lectin in the structures of rat testicles, which were irradiated by electromagnetic field of high voltage and low frequency with following immune stimulation by 7% alcohol tincture of *Echinacea purpurea*. The influence of *Echinacea purpurea* was found to cause activation of spermatogenesis process in testicles of irradiated rats.

Key words: peanut (*Arachis hypogaea*) lectin, testicle, rat, electromagnetic field, *Echinacea purpurea*.

Dnipropetrovsk Medical Academy (Dnipropetrovsk)

Надійшла 27.03.2015 р.
Рецензент – проф. Олійник І.Ю. (Чернівці)