

## РЕЦЕПТОРИ ЛЕКТИНІВ СОЇ ТА ВИНОГРАДНОГО СЛИМАКА ЗУМОВЛЮЮТЬ РАННІЙ ГІСТОГЕНЕЗ ШКІРИ ЛЮДИНИ

*Ю.Г.Барановський, Л.С.Георгієвська, К.Л.Лазарєв*

**Резюме.** У 122 зародків і передплідів людини віком від 21 доби до 12 тижнів в епітеліальному і мезенхімальному зачатках шкіри на послідовних стадіях вивчена гістотопографія N-ацетил-D-галактозамінокон'югатів, які є рецепторами лектинів сої та виноградного слимака. В епітеліальному зачатку рецептори лектинів присутні з найранніших етапів диференціювання, а в мезенхімальному зачатку біосинтез SBA і HPA-позитивного матеріалу починається у зародків віком 39 діб (11 мм довжини). До 12 тижнів розвитку фібробласти ембріональної сполучної тканини втрачають N-ацетил-D-галактозамінокон'югати, а епідермоцити їх зберігають переважно в місцях міжклітинних контактів.

**Ключові слова:** ембріональний гістогенез людини, глікополімери, лектини, шкіра.

## SOY BEAN AND HELIX POMATIA LECTINS BINDING SITES CAUSE EARLY HISTOGENESIS OF HUMAN SKIN

*Yu.G.Baranovsky, L.S.Georgievskaya, K.L.Lazariev*

**Abstract.** The authors have studied the histotopography of N-acetyl-D-galactosaminoconjugates in the epithelial and mesenchymal anlagen of the skin at the consecutive stages. The receptors of the studied lectins are present in the epithelial anlage at the earliest stages of differentiation, whereas the biosynthesis of SBA and HPA-positive material begins in embryos aged 39 days (11 mm in length). By the 12th week of the development the fibroblasts of the embryonal connective tissue lose N-acetyl-D-galactoconjugates and epidermocytes preserve them, predominantly on the sites of intercellular contacts.

**Key words:** human embryonal histogenesis, glycopolymers, lectins, skin.

S.I.Georgievsky Crimean State Medical University (Simferopol)

Надійшла в редакцію 25.05.2004 р.

© Демьяненко И.А., Шаповалова Е.Ю.

УДК 611-018+611.013.7/8+611.24+618.31

## ГИСТОТОПОГРАФИЯ СИАЛО- И N-АЦЕТИЛ-D-ГЛЮКОЗАМИНОКОНЬЮГАТОВ В РАННЕМ ГИСТОГЕНЕЗЕ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ У ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ТИПИЧЕСКОЙ И АТИПИЧЕСКОЙ ИМПЛАНТАЦИИ

*И.А.Демьяненко, Е.Ю.Шаповалова*

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

Развитие эмбрионов человека при атипической имплантации (АИ) в маточной трубе изучено мало, а имеющиеся данные противоречивы. Морфологические исследования свидетельствуют о существовании различий в строении стенки матки и яйцевода. Кровеносная и лимфатическая система фаллопиевых труб построена по типу трубчатого органа с брыжейкой и не приспособлена для образования материнской части

плаценты. Имплантация эмбриона в стенку маточной трубы приводит к формированию неполноценного плацентарного барьера, в результате чего эктопическая беременность создает предпосылки и условия для патологического эмбриогистогенеза.

Анализ литературы показывает, что самые незначительные нарушения в жизнедеятельности клеток неизбежно изменяют состав и ха-

Таблица

Количественное содержание рецепторов лектинов зародышей пшеницы, бузины черной и клубней картофеля в эпителиальных и мезенхимных зачатках трахеи и легких\*

Название структуры	Теменно-копчиковая длина зародышей (мм)																					
	5,5	5,5	6,5	9	10	11	12	13	14	16	17	18	20	21	23	25	27	30	32	45	56	70
Лектин зародышей пшеницы																						
Эпителий крупных бронхов апикальная поверхность	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
базальная поверхность	3	3	3	3	3	3	4	4	4	3	3	2	2	2	2	1	1	1	0	0	0	0
внутрицитоплазматические включения	1	1	1	1	1	1	2	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
М и ЭСТ крупных бронхов цитолемма	0	0	0	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	2
цитоплазма	3	3	3	3	3	3	2	3	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	0	0	0
Лектин бузины черной																						
Эпителий крупных бронхов апикальная поверхность	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3
базальная поверхность	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
внутрицитоплазматические включения	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	0	0
М и ЭСТ крупных бронхов цитолемма	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	1	1
цитоплазма	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	0	0
Лектин клубней картофеля																						
Эпителий крупных бронхов апикальная поверхность	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4
базальная поверхность	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1
внутрицитоплазматические включения	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
М и ЭСТ крупных бронхов цитолемма	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	1	0	0	0	0	0	0
цитоплазма	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0

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

\*\* М – мезенхима, ЭСТ – эмбриональная соединительная ткань.

рактиер распределения гликополимеров – рецепторов лектинов в клеточных мембранах и тканевых экстрацеллюлярных структурах, что служит одним из наиболее ранних и объективных признаков развивающейся патологии [1]. Данные литературы по вопросам изменения гисто-

топографии рецепторов лектинов в легких человека на псевдожелезистой стадии развития в условиях АИ нами не обнаружены, в то время как при нормальной плацентации такие данные имеются, преимущественно выполненные в нашей лаборатории [2].

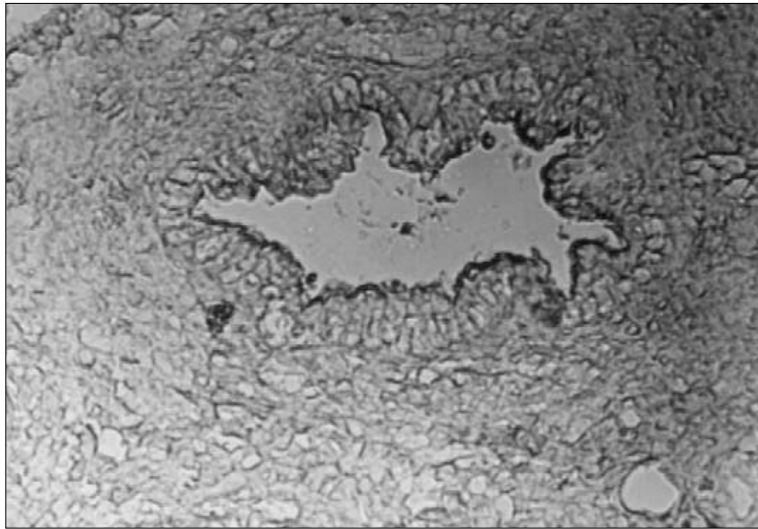


Рис. Передплод в возрасте 12 недель (70 мм теменно-копчиковой длины). Бронхи четвертого-шестого порядка и эмбриональная соединительная ткань легких. Обработка конъюгатом летины зародышей пшеницы с пероксидазой хрена. Проявление в системе "диаминобензидин – перекись водорода". Ок. x20, об. x15.

**Цель исследования.** Изучить репрессии и дерепрессии гликополимеров с концевыми нередуцирующими остатками N-ацетилнейраминовой кислоты и N-ацетил-D-глюкозамина на поверхности и в цитоплазме клеток паренхимы, стромы и в тканевых экстрацеллюлярных структурах дыхательной системы (ДС) в процессе становления ее органной специфичности у зародышей человека.

**Материал и методы.** Изучены 122 зародыша человека в возрасте от 21 суток до 12 недель при типической имплантации и 10 зародышей при АИ на стадиях от раннего периода нервного желобка до начала дефинитивного плодного периода. Обзорные препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Сиало- и N-ацетил-D-глюкозаминоконъюгаты выявляли путем обработки серийных срезов лектинами зародышей пшеницы (WGA), бузины черной (SNA) и клубней картофеля (STA), конъюгированных с пероксидазой хрена. Сокращенное наименование лектинов приведено в соответствии с международной номенклатурой лектинов (1983). Препараты обрабатывали с применением стандартных наборов НПК "Лектинотест" (Львов) в разведении лектина 1:50 по рекомендуемой методике (А.Д.Луцик и др., 1989). Визуализацию мест связывания лектина проводили в системе "диаминобензидин – перекись водорода". Контроль специфичности реакции осуществляли путем исключения из схемы обработки препаратов диаминобензидина. SNA специфичен к концевым нередуцирующим остаткам N-ацетилнейраминовой (сиаловой) кислоты гликополимеров; STA – к N-ацетил-D-глюкозамину; WGA – к N-ацетилнейраминовой кислоте и в меньшей степени к N-ацетил-D-глюкоза-

мину. Интенсивность окрашивания срезов различными лектинами оценивали 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 и их обсуждение.** При ТИ на самых ранних стадиях эмбриогенеза у зародышей в возрасте 24-37 суток (3,2-9 мм длины) клетки эпителиальной выстилки трахеопульмонального зачатка накапливают значительное количество гликоконъюгатов с концевыми нередуцирующими остатками N-ацетил-D-глюкозамина и N-ацетилнейраминовой кислоты (таблица). Интенсивность бензидиновой метки сравнительно велика в базальной мембране и на апикальной поверхности эпителия.

У зародышей 38-42 суток (10-13 мм длины) рост и дихотомическое ветвление бронхиального дерева до бронхов 2-го порядка характеризуется прогрессией интенсивности бензидиновой метки в тех же зонах локализации. После 43 суток эмбриогенеза (зародыши 14 мм длины) количество рецепторов WGA в эпителиоцитах трахеи и бронхов всех порядков ветвления принципиально имеет одну и ту же тенденцию: плотность концевых нередуцирующих остатков N-ацетил-D-глюкозамина и N-ацетилнейраминовой кислоты на апикальной и базальной поверхностях клеток эпителия прогрессивно снижается. К 12 неделям (предплоды 57-70 мм длины) WGA-положительные гликополимеры сохраняются в умеренном количестве на апикальной поверхности эпителия бронхов всех порядков ветвления и в цитолемме эпителиоцитов (рисунок).

Ранний период развития (зародыши 24-41 суток, 3,2-12 мм длины) с его слабой анатомической и гистохимической дифференцировкой мезенхимных элементов обращает на себя внимание равномерным интенсивным недифференцированным распределением бензидиновой метки по цитоплазме клеток мезенхимы. По мере дифференцировки мезенхимы ДС, начиная с возраста 42 суток (зародыши 13 мм длины), происходит постепенное перераспределение и уменьшение количества лектин-связывающихся гликоконъюгатов прежде всего в цитоплазме

клеток уплотненной периепителиальной мезенхимы. Менее дифференцированная мезенхима между зачатками бронхов значительно богаче WGA-положительным материалом. На протяжении III месяца эмбриогенеза (предплоды 30-70 мм длины) прослеживается отчетливо выраженная тропность, хотя и в небольших количествах, WGA к цитолемме молодых фибробластов. Их постепенная дифференцировка сопровождается полной потерей в цитоплазме гликополимеров с концевыми нередуцирующимися остатками N-ацетил-D-глюкозамина и N-ацетилнейраминовой кислоты.

Динамика экспрессии и редукции сиалосодержащих гликоконъюгатов, выявляемых SNA, в эпителиальных зачатках трахеи и легких при имплантации в стенку матки заключается в биосинтезе и накоплении заметного количества этих биополимеров на самых ранних стадиях развития на апикальной поверхности эпителиального пласта и в цитоплазматических включениях. В течение II и в начале III месяцев концентрация этих соединений сохраняется на высоком уровне в тех же зонах локализации. В конце III месяца цитоплазма эпителиоцитов освобождается от рецепторов лектина при уменьшении их количества на апикальной поверхности.

Начальные этапы развития мезенхимы ДС (зародыши 24-37 суток, 3,2-9 мм длины) характеризуются присутствием гликополимеров с N-ацетилнейраминовой кислотой в качестве терминальной углеводной детерминанты, распыленных по цитоплазме клеток. Биосинтез таких соединений усиливается и они накапливаются в цитоплазме клеток периепителиальной мезенхимы дистальных отделов ветвления. Дифференцировка клеток мезенхимы в молодые фибробласты к 12 неделям развития заключается в потере SNA-положительного материала.

Рецепторы лектина картофеля в составе эпителиальных зачатков ДС впервые появляются у зародышей в возрасте 46 суток (17 мм длины), когда происходит резкое скачкообразное обогащение апикальной поверхности эпителиального пласта, покрывающего трахею и бронхи, лектин-положительными соединениями. Базальная мембрана содержит минимальное количество рецепторов этого лектина. В цитоплазме эпителиоцитов накапливаются STA-положительные включения. У предплодов 47-77 суток (18-45 мм длины) ветвление эпителиальной ос-

новы бронхов и дифференцировка составляющих их эпителиальных клеток проявляется в усиленном обнажении на апикальной поверхности N-ацетил-D-глюкозаминсодержащих гликоконъюгатов, а также в выработке и встраивании их в цитоплазму клеток и плазмолемму внутрицитоплазматических включений. Базальная мембрана ареактивна. На III месяце прослеживается отчетливая коррелятивная зависимость между калибром бронхов и степенью экспрессии рецепторов STA. В трахее и крупных бронхах интенсивность бензидиновой метки значительно выше, чем в мелких бронхах. Она повторяет гистотопографию, описанную у предыдущих зародышей. В мелких бронхах местом специфической локализации значительного количества рецепторов лектина остается только апикальная поверхность эпителиального пласта.

Мезенхимные зачатки ДС начинают проявлять некоторое сродство к STA в первой половине II месяца развития. N-ацетил-D-глюкозаминсодержащие гликополимеры максимально локализируются на цитолемме и в меньшей степени в цитоплазме клеток периепителиальной мезенхимы. Клетки мезенхимы, не контактирующие с эпителиальными зачатками, встраивают STA-положительные макромолекулы диффузно в цитоплазму. В процессе дальнейшего развития ДС на III месяце эмбриогенеза отмеченные выше особенности биосинтеза и расположения STA-положительного материала сохраняются. Более дифференцированные периепителиальные фибробласты и волокнистые структуры эмбриональной соединительной ткани лишены рецепторов STA независимо от калибра прилежащего бронха.

Динамика экспрессии и редукции сиалосодержащих гликоконъюгатов, выявляемых SNA, в эпителиальных зачатках органов ДС при АИ заключается в биосинтезе и накоплении заметного количества этих биополимеров на самых ранних стадиях развития на апикальной поверхности эпителиального пласта и во включениях в цитоплазме, что напоминает гистотопографию рецепторов лектина WGA, являющихся N-ацетил-D-глюкозаминоконъюгатами. В течение II и в начале III месяцев концентрация сиалоконъюгатов сохраняется на высоком уровне в тех же зонах локализации. В конце III месяца цитоплазма эпителиоцитов освобождается от рецепторов лектина при уменьшении их коли-

чества на апикальной поверхности. Мезенхима и эмбриональная соединительная ткань ДС в начале развития имеет умеренное количество сиалированных гликоконъюгатов, обнаруживаемых SNA, в цитоплазме клеток. Когда ветвление бронхиального дерева ускоряется, биосинтез таких соединений усиливается и они накапливаются в цитоплазме клеток периепителиальной мезенхимы дистальных отделов ветвления. Наши результаты соответствуют данным R.Sharma, U.Shumacher (1992) и расходятся с исследованиями В.С.Gallaher (1986), выполненными на эмбрионах цыпленка.

**Выводы.** 1. Исследование содержания рецепторов лектинов WGA, SNA и STA в эпителиальных и мезенхимных зачатках дыхательной системы при имплантации в стенку матки позволило выявить, что гистогенетические формообразовательные процессы, связанные с миграцией и дифференцировкой эпителиоцитов, коррелируются с биосинтезом и перераспределением

сиалококонъюгатов и N-ацетил-D-глюкозаминоконъюгатов. 2. При атипической имплантации происходит дезинтеграция биосинтетических процессов, проявляющаяся изменением сроков перестройки лектин-рецепторных систем и уменьшением количества рецепторов лектинов зародышей пшеницы, бузины черной и клубней картофеля в типичных местах.

**Перспективы научного поиска.** Использование лектинов как структурно-функциональных зондов поможет выяснению значения и характера трансформации углеводных детерминант клеточных мембран и неклеточных тканевых структур дыхательной системы эмбрионов человека, развивавшихся в условиях атипической имплантации, что в сравнении с нормальным гисто- и органогенезом дыхательной системы может способствовать выработке объективных критериев оценки биологической полноценности органов, формирующихся при трубной беременности.

#### Литература

1. Вагин Д.В., Шаповалова Е.Ю., Балабанцев А.Г. Выявление перераспределения гликоконъюгатов – рецепторов к лектинам при аллергическом и гнойном воспалении по сравнению с нормой // ЖУНГБ. – 2003. – № 2. – С. 40.
2. Шаповалова Е.Ю., Луцук А.Д. Изменение углеводного состава тканей в процессе раннего эмбрионального гистогенеза дыхательной системы у человека // Таврич. медико-биол. вестник. – 2000. – № 1-2. – С. 175-178.

#### ГИСТОТОПОГРАФІЯ СІАЛО- ТА N-АЦЕТИЛ-D-ГЛЮКОЗАМІНОКОН'ЮГАТИВ У РАНЬОМУ ГІСТОГЕНЕЗІ ДИХАЛЬНОЇ СИСТЕМИ В ЛЮДИНИ ПРИ ТИПОВІЙ ТА АТИПОВІЙ ІМПЛАНТАЦІЇ

*І.А.Дем'яненко, О.Ю.Шаповалова*

**Резюме.** Вивчені 122 зародки людини віком від 21 доби до 12 тижнів при типовій імплантації та 10 зародків при атиповій імплантації. Сіало- та N-ацетил-D-глюкозамінокон'югати клітин та екстрацелюлярних структур дихальної системи виявляли за допомогою обробки серійних зрізів лектинами зародків пшениці, бузины чорної і бульб картоплі, кон'югованих з пероксидазою хрому. Гістогенетичні формоутворювальні процеси при типовій імплантації корелюють з біосинтезом і перерозподілом сіалококон'югатів та N-ацетил-D-глюкозамінокон'югатів. При атиповій імплантації процес сіалування глікополімерів змінюється.

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

#### HISTOTOPOGRAPHY OF SIALO- AND N-ACETYL-D-GLYCOSAMINOCONJUGATES IN EARLY HISTOGENESIS OF THE HUMAN RESPIRATORY SYSTEM AND CONDITIONS OF TYPICAL AND ATYPICAL IMPLANTATION

*I.O.Demianenko, O.Yu.Shapovalova*

**Abstract.** The authors have studied 122 human embryos aged from 21 days to 12 weeks with the typical implantation and 10 embryos with atypical implantation. Sialo- and N-acetyl-D-glycosaminocjugates of the cells and extracellular structures of the respiratory system were detected by means of treating serial sections with the lectins of wheat germs, sambucus nigra and solanum tuberosum conjugated with horse-radish peroxidase. Histogenetic forming processes correlate with the biosynthesis and redistribution of sialoconjugates and N-acetyl-D-glycosaminocjugates. In case of the atypical implantation the process of sializing glycopolymers changes.

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

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

Надійшла в редакцію 25.05.2004 р.