

**ЕКСПРЕСІЯ ГЛІКОПОЛІМЕРІВ ІЗ ВУГЛЕВОДНОЮ
ДЕТЕРМІНАНТОЮ ГАЛАКТОЗИ ПРИ РОЗВИТКУ ШКІРИ
У ЕМБРІОНІВ ЛЮДИНИ**

Т.А.КОЛОМОЄЦЬ, аспірант*
О.В.МАРТИНЮК,
О.Ю.ШАПОВАЛОВА, доктор медичних наук
ДУ «Кримський державний медичний університет
імені С.І.Георгієвського»

Дослідження виконане на 122 зародках і передплодах людини у віці від 21 доби до 12 тижнів внутріутробного розвитку, що розвивалися в матці за відсутності явно виражених ушкоджувальних чинників зовнішнього і внутрішнього середовища. Галактокон'югати виявляли обробляючи серійні зрізи лектинами арахісу і рицини, кон'югованих з пероксидазою хрину. Отримані дані про накопичення до 12-ти тижнів в епітеліальній і мезенхімній закладці шкіри рецепторів лектину арахісу і зниження кількості рецепторів лектину рицини, що пов'язане з незавершеністю до цього віку морфогенетичних перетворень, при яких процеси заважають адгезії.

Ембріональний гістогенез людини, глікополімери, лектини, органогенез, шкіра, адгезія.

Проблема ембріонального гістогенезу нині отримала подальший розвиток, ґрунтуючись на досягненнях молекулярної біології [4] і, зокрема, лектиногістохімії. Диференціація – це ряд послідовних змін, що зазнають клітини одного типу у ході їх спеціалізації [1]. При диференціації, разом з появою клітинної гетерогенності, відбувається ускладнення структурно-функціональної організації клітин у ході реалізації наявних потенцій [4], виразним проявом якої є зміна вуглеводних детермінант плазматичних мембран, секреторних включень і неклітинних структур. На послідовних етапах гісто- і морфогенезу у складі клітин і тканин різних видів тварин і людини відбувається постійна перебудова лектин-рецепторних систем [6, 9]. Лектин-рецепторні системи високоспецифічні і є тонкими тестами на нормальність розвитку і зміни морфо-функціонального стану органів і організму загалом [13].

Гістотопографія галактокон'югатів у шкірі людини у пренатальному онтогенезі вивчена недостатньо і фрагментарно, переважно, за допомогою лектину арахісу [16]. Відсутні повідомлення про динаміку

*Науковий керівник – доктор медичних наук, професор О.Ю.Шапвалова

перерозподілу цих сполук і взаємодію з іншими олігосахаридними залишками.

Мета дослідження – прослідкувати послідовність і характер зміни галактокон'югатів – рецепторів лектинів арахісу і рицини у ході розвитку і диференціювання епітеліальної і мезенхімної закладки шкіри ембріонів людини, що розвивалися в матці за відсутності явно виражених ушкоджувальних чинників зовнішнього і внутрішнього середовища.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження виконане на 122 зародках і передплодах людини у віці від 21 доби до 12 тижнів внутрішньоутробного розвитку. Це дало змогу вивчити зародки людини на стадіях послідовно від раннього періоду нервового жолобка до початку дефінітивного плодового періоду. Оглядові препарати фарбували гематоксиліном і еозином. Галактокон'югати виявляли обробляючи серійні зрізи лектинами арахісу і рицини, кон'югованих з пероксидазою хрину. Препарати обробляли із застосуванням стандартних наборів НПК «Лектинотест» м. Львів у розведенні лектину 1:50 за методикою, що рекомендувалася [5]. Візуалізацію місць зв'язування лектину проводили у системі діамінобензидин–перекис водню. Контроль специфічності реакції здійснювали виключенням зі схеми обробки препаратів діамінобензидину. Лектин арахісу (PNA), специфічний до кінцевих нередукуючих залишків бета-D-галактози глікополімерів; лектин рицини (RCA) специфічний до бета-D-галактози, екранованою сіаловою кислотою. Скорочене найменування лектинів наведено відповідно до міжнародної номенклатури лектинів [2]. Специфічність лектинів до термінальних нередукуючих моносахаридних залишків глікокон'югатів подана відповідно до [3, 10]. Інтенсивність фарбування зрізів різними лектинами оцінювалася в балах двома дослідниками незалежно один від одного. Бали 0, 1, 2, 3, 4 – відповідно відсутність, слабка, помірна, сильна і дуже сильна реакції.

Результати дослідження та їх обговорення. Відповідні лектину арахісу глікокон'югати виявляються в ектодермальній закладці шкіри у зародків, починаючи з віку 45 діб (16 мм завдовжки). Апікальна і базальні поверхні епітеліального пласта містять мінімальну кількість рецепторів цього лектину. У цитоплазмі епітеліоцитів присутні включення з невеликим вмістом PNA-позитивних біополімерів (табл. 1). У кінці другого місяця і на третьому місяці внутрішньоутробного розвитку (зародки 16–70 мм завдовжки) глікополімери з кінцевими нередукуючими залишками бета-D-галактози накопичуються в тих же зонах, за винятком базальної мембрани. Такі біополімери в базальній мембрані поступово зникають. Мезенхімні клітини з дифузною реакцією цитоплазми на глікокон'югати вперше з'являються також у зародків у віці 45 діб (16 мм завдовжки). Диференціювання клітин мезенхіми на молоді фібробласти в кінці другого місяця і на третьому місяці розвитку (зародки 17–70 мм завдовжки) супроводжується поступовим збагаченням цитолемі клітин і меншою мірою цитоплазми бета-D-галактокон'югатами незалежно від контакту клітин з епідермісом.

*Інтенсивність розвинутої реакції оцінювали в балах: 0 – відсутність реакції; 1 бал – слабка реакція; 2 бали – помірна реакція; 3 бали – сильна реакція; 4 бали – дуже сильна реакція

Протягом першого і у першій половині другого місяця ембріогенезу (зародки 3,2–18 мм завдовжки) мезенхіма шкірного покриву накопичує велику кількість лектин-позитивних з'єднань. Поверхня мезенхімних клітин збагачена продуктом лектин-рецепторних взаємодій набагато більше, ніж цитоплазма клітин. У кінці другого і на третьому місяці розвитку (зародки 20–70 мм завдовжки) диференціювання клітин мезенхіми на фіброласти ембріональної сполучної тканини, почалася, передусім, у навколоепітеліальних зонах, супроводжується значною редукцією RCA-позитивних глікополімерів.

З літературних джерел відомо, що у міру дозрівання ембріональних тканин простежується тенденція до зменшення вмісту глікокон'югатів з кінцевими нередукуючими залишками бета-D-галактози (рецептори лектину арахісу) і збільшення вмісту сіалокон'югатів [7, 12]. У основі цього феномену найчастіше лежить механізм маскування кінцевих залишків бета-D-галактози сіаловою кислотою [15]. Сіалювання залишків D-галактози пов'язане з підвищенням міграційних характеристик клітин [11]. Разом з тим дозрівання клітин, що міцно контактують між собою, супроводжується збільшенням вмісту на їх поверхні залишків D-галактози [14]. Співвідношення D-галактоза/сіалова кислота на поверхні клітин може бути регулятором рівноважної системи адгезія-міграція у складі ранніх зародків [8]. Отримані нами відомості про накопичення до 12-ти тижнів в епітеліальній і мезенхімній закладках шкіри рецепторів лектину PNA і зниження кількості рецепторів лектину RCA пов'язані з незавершеністю до цього віку морфогенетичних процесів. Разом з тим, епідермоцити до цього віку вже нікуди не виселяються, тому процеси адгезії переважають.

Висновки

1. Глікокон'югати, що містять кінцеві нередуковані залишки бета-D-галактози, визначувані PNA, вперше трапляються в епідермісі шкіри у зародків у віці 45 діб (16 мм завдовжки). Їх кількість з віком зростає, а біополімери, що спочатку були у базальній мембрані поступово зникають.

2. У мезенхімній закладці шкіри рецептори лектину арахісу експресуються дифузно в цитоплазмі мезенхімоцитів починаючи з 45 діб (зародки 16 мм завдовжки). Диференціювання молодих фіброblastів супроводжується поступовим збагаченням цитолемі клітин і меншою мірою цитоплазми бета-D-галактокон'югатами.

3. До середини другого місяця розвитку (зародки 16 мм завдовжки) епідерміс багатий на RCA-позитивні глікокон'югати. Впродовж всього періоду розвитку до 12 тижнів спостерігається їх послідовна редукція в цитоплазмі клітин і на базальній мембрані. На апікальній поверхні вони зберігаються у значній кількості.

4. Перший місяць і перша половина другого місяця розвитку (зародки 3,2–18 мм завдовжки) характеризуються посиленням біосинтезом рецепторів лектину рицини і збагаченням ними цитолемми і меншою мірою цитоплазми мезенхімоцитів. Диференціювання фібробластів супроводжується значною редуцією рецепторів лектину RCA.

Список літератури

1. Авцын А.П. Ультраструктурные основы патологии клетки / А.П.Авцын, В.А.Шахламов. – М.: Медицина, 1979. – 328 с.
2. Антонюк В.О. Лектины та їх сировинні джерела / Антонюк В.О. – Львів: ПП „Кварт”, 2005. – 458 с.
3. Волошин Н.А. Лектины животного и растительного происхождения: роль в процессах морфогенеза / Н.А.Волошин, Е.А.Григорьева // Теоретична медицина. Журн. АМН України. – 2005. – Т. 11, № 2. – С. 223–237.
4. Клишов А.А. Гистогенез и регенерация тканей / Клишов А.А. – Л.: Медицина, 1984. – 232 с.
5. Луцик А.Д. Лектины в гистохимии / Луцик А.Д., Детюк Е.С., Луцик М.Д. – Львов: Вища шк., 1989. – 139 с.
6. Шаповалова Е.Ю. Изменение углеводного состава тканей в процессе раннего эмбрионального гистогенеза дыхательной системы у человека / Е.Ю.Шаповалова, А.Д.Луцик // Таврический медико-биологический вестник. – 2000. – № 1–2. – С. 175–178.
7. Coarman R. Peanut lectin binding sites in human fetal colon / R.Coarman, H.Cooper // Arch. Pathol. Lab. Med. – 1986. – Vol. 110, N 2. – P.124–127.
8. De Simone D.W. Concanavalin A and wheat germ agglutinin binding to sea urchin embryo basal laminae / D.W. De Simone, M. Spiegel // Roux's Arch. Dev. Biol. – 1986. – Vol. 195, N 7. – P. 433–444.
9. Eggens I. A role of carbohydrate – carbohydrate interaction in the process of specific cell recognition during embryogenesis and organogenesis. A preliminary note / I.Eggens, B.Fenderson, T.To yokumi // Bioch.-Bioph. Res. Comm. – 1989. – Vol.158, N 3. – P. 913–920.
10. Goldstein I. The lectin: carbohydrate binding proteins of plants and animals / I.Goldstein, C.E.Gayes // Adv. Carbohydr. Chem. Bioch. – New-York, 1978. – P.127–340.
11. Milos N. Cell surface carbohydrate involvement in controlling the adhesion and morphology of neural crest cells and melanophores of *Xenopus laevis* / N.Milos, H.C.Wilson // J. Exp. Zool. – 1986. – Vol.238, N 2. – P. 211–224.
12. Momoi T. Peanut agglutinin receptor is a marker of myelin in rat brain. Developmental changes in its distribution / T.Momoi, M.Y.Momoi, T.Kurata // J.Neurichem. – 1986. – Vol.46, N 1. – P. 229–234.
13. Quondamatteo F. Extensive glycosylation changes revealed by lectin histochemistry in morphologically normal prenatal tissues of the mouse mutant undulated (un/un) / F.Quondamatteo, J.Zieger, W.Gotz // Anat. Rec. – 2000. – Vol.258, N 3. – P. 243–251.
14. Reano A. Con A-and PNA-binding glycoproteins of human epidermis / A.Reano, P.W.Ledger, J.-Y.Bonnefoy // J. Invest. Dermatol. – 1984. – Vol. 83, N 3. – P. 202–205.
15. Van der Valk M.A. Distribution of lectin receptors in neonatal, embryonic and neoplastic mouse tissue / M.A. Van der Valk, P. Hageman // Lectin biol., biochem., clinical biochem. (ed. T.C. Bog-Hansen), Proc. IV lectin meeting, Berlin. – 1982. – Vol. 2. – P. 221–241.

16. Watt F.M. Onset of expression of peanut lectin-binding glycoproteins is correlated with stratification of keratinocytes during human epidermal development in vivo and in vitro / F.M.Watt, S.Keeble, Ch.Fisher // J Cell Sci. – 1989. – Vol. 94, N 2. – P. 355–359.

Исследование выполнено на 122 зародышах и предплодах человека в возрасте от 21 суток до 12 недель внутриутробного развития, развивавшихся в матке при отсутствии явно выраженных повреждающих факторов внешней и внутренней среды. Галактоконъюгаты выявляли путем обработки серийных срезов лектинами арахиса и клещевины, конъюгированных с пероксидазой хрена. Получены данные о накоплении к 12-ти неделям в эпителиальной и мезенхимной закладках кожи рецепторов лектина арахиса и снижении количества рецепторов лектина клещевины, что связано с незавершенностью к этому возрасту морфогенетических преобразований, при которых процессы адгезии преобладают.

Эмбриональный гистогенез человека, гликополимеры, лектины, органогенез, кожа, адгезия.

The research is based on 122 human embryos in the age from 21 day till 12 weeks of the intrauterus development at absence of the obviously expressed damaging factors of external and internal environment. Galactoconjugates revealed by processing serial cuttings by lectins from Peanut and Recinus communis. The data on accumulation in skin epithelial and mesenchymal germs Peanut lectin binding sites to 12-th weeks of pregnancy and reduction of amount of Recinus communis lectin binding sites are received. It is connected to incompleteness of morphogenetical transformations to this age. The adhesion processes are prevail.

Human embryonal histogenesis, glycopolymers, lectins, organogenesis, skin, adhesion.