



В.К. Сырцов, Е.Г. Алиева, Е.И. Потоцкая, Г.А. Зидрашко, И.В. Сидорова, М.Л. Таврог, Т.С. Громоковская

Лектин-гистохимическое исследование периферических органов иммунной системы человека в пренатальном периоде онтогенеза

Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: периферичні органи імунної системи, пренатальний онтогенез, лектини.

Ключевые слова: периферические органы иммунной системы, пренатальный онтогенез, лектины.

Key words: peripheral immune organs, prenatal ontogenesis, lectins.

Вивчено розподіл рецепторів до лектинів PNA, SBA та LAL у периферичних органах імунної системи людини, таких як лімфоїдні утворення дихальних шляхів і легень, апендикс та брижовий лімфатичний вузол у пренатальному періоді онтогенезу. Досліджено 40 плодів людини віком від 13 до 40 тижнів внутрішньоутробного розвитку. Встановлено, що в клітинах і неклітинних структурах лімфоїдних органів, що розвиваються, містяться глікополімери – рецептори до лектинів PNA, SBA та LAL. Неоднакова щільність і динаміка їх розподілу вказує на відмінності в диференціюванні й реалізації функцій різних популяцій клітин фетальних периферичних імунних органів.

Исучено распределение рецепторов к лектинам PNA, SBA и LAL в периферических органах иммунной системы человека, таких как лимфоидные образования дыхательных путей и легких, аппендикс и брыжеечный лимфатический узел в пренатальном периоде онтогенеза. Исследовано 40 плодов человека в возрасте от 13 до 40 недель внутриутробного развития. Установлено, что в клетках и неклоточных структурах развивающихся лимфоидных органов содержатся гликополимеры – рецепторы к лектинам PNA, SBA и LAL. Неодинаковая плотность и динамика их распределения указывает на различия в дифференцировке и реализации функций разных популяций клеток фетальных периферических иммунных органов.

The distribution of the lectin – receptors for PNA, SBA and LAL in the peripheral organs of human immune system as lymphoid structures of the respiratory ways, lungs, appendix and mesenteric lymph node was studied in this work. 40 human fetuses in the age from 13 to 40 weeks of the intrauterine life were investigated. It is established, that cells and noncellular structures of developing lymphoid organs contain glycopolymers – receptors for PNA, SBA and LAL. The differences in the density and dynamic of lectin receptors distribution indicate that differentiation and realization of functions differs in the various cell populations in fetal peripheral immune organs.

Лектиновая гистохимия в настоящее время является перспективным направлением в изучении закономерностей гистогенеза и определении функционального состояния различных компонентов тканей. Лектины – это обширный класс белков, обладающих общим свойством обратимо и избирательно связывать углеводы и углеводные детерминанты биополимеров без изменения их ковалентной структуры [1,7]. Основными преимуществами метода лектиновой гистохимии, в сравнении с традиционными гистохимическими методиками, является высокая чувствительность, селективность и информативность в идентификации гликоконъюгатов в клетках и тканях. Благодаря избирательности связывания лектинов со структурами различных типов клеток, можно дифференцировать отдельные субпопуляции морфологически и иммуногистохимически однородных клеток. Известно, что в процессе развития, функциональных изменений клеток синтез и накопление различных гликоконъюгатов в клеточных и неклоточных структурах тканей последовательно изменяется и перераспределяется. Гистогенез лимфоидных структур предусматривает реализацию лимфоидными и антигенпредставляющими клетками миграционного, адгезивного и пролиферативного потенциалов [6]. Изучение в динамике распределения гликоконъюгатов в клеточных и неклоточных структурах способствует более глубокому пониманию гистогенети-

ческих процессов, хронологии клеточных реакций при формировании лимфоидных органов и становлении их функций.

Применение лектинов арахиса и сои в качестве селективных гистохимических маркеров мембран клеток лимфоидных и нелимфоидных органов в раннем постнатальном периоде онтогенеза определяет функционально незрелые структуры. Рецепторы к лектину бобовника, представленные остатками α -L-фукозы, как предполагается, выполняют функции информационных молекул на поверхности клеток и выявляются на цитолемме функционально активных и мигрирующих клеток [1]. Данные специальной литературы по вопросам распределения рецепторов к лектинам в периферических иммунных органах человека (лимфоидные образования воздухоносных путей и легких, аппендикс, брыжеечный лимфоузел) в пренатальном периоде онтогенеза отсутствуют.

Цель работы

Изучение распределения лектин-позитивных структур в лимфоидных образованиях нижних дыхательных путей, аппендикса и брыжеечного лимфатического узла человека в пренатальном периоде онтогенеза.

Материалы и методы исследования

Материал исследования – гортань, трахея, легкие, аппендикс и центральный брыжеечный лимфоузел (ЦБЛУ) 40 плодов человека в возрасте от 13 до 40 недель

пренатального развития, полученные в ходе медицинских аборт, произведенных у здоровых женщин и в результате спонтанных абортов от практически здоровых матерей. Отбор материала производили по методу Автандилова (1980), фиксировали в 10% нейтральном формалине. На серийных парафиновых срезах проводили гистохимическое определение рецепторов к лектинам по методике А.Д. Луцика (1989) [1]. Для визуализации результатов реакции применяли диаминобензидин. Использованы лектины арахиса (PNA), специфично связывающиеся с остатками β -D-галактозы, лектин сои (SBA), специфичный к остаткам N-ацетил-D-галактозамина и лектин бобовника (LAL), специфично взаимодействующий с остатками α -L-фукозы.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с учетом индивидуальной изменчивости признака в пределах организма.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что динамика и характер распределения лектин-позитивных структур на 3–4 месяце внутриутробного развития человека в исследованных органах в целом имеют общие тенденции с некоторыми особенностями органоспецифичности. В воздухоносных путях и легких PNA-рецепторы накапливаются в эпителиальных клетках бронхов, на цитолемме клеток эмбриональной соединительной ткани. В этот период в небольшом количестве уже определяются диффузно расположенные лимфоидные клетки в виде рассеянных одиночных лимфоидных клеток без участков скопления, среди которых отмечается наличие лимфоидных клеток, несущих на своей поверхности рецепторы к лектинам арахиса и сои. PNA+-лимфоциты локализуются около развивающихся эпителиальных структур, а SBA+-лимфоциты – среди мезенхимальных клеток. Количество PNA+ и SBA+-лимфоцитов не превышает 5% от общего количества лимфоцитов и достоверно не различается. В аппендиксе в период 3–4 месяцев внутриутробного развития лимфоциты возле формирующихся крипт образуют скопления, которые в конце 4 месяца преобразуются в первые лимфоидные узелки. В аппендиксе количество выявленных PNA+ и SBA+-лимфоцитов достоверно выше, чем в органах дыхательной системы. В закладках ЦБЛУ, образование которых регистрируется в конце 3 месяца внутриутробного развития, количество SBA+-лимфоцитов является максимальным для исследуемых органов, а PNA+лимфоциты выявляются единично.

В период 5–6 месяца внутриутробного развития в воздухоносных путях и легких повышается содержание лимфоцитов, имеющих рецепторы к лектинам арахиса и сои (в 5 раз – PNA+-лимфоцитов и в 2 раза – SBA+-лимфоцитов). Большинство PNA+-лимфоцитов располагается в непосредственной близости к эпителию каналов, а нередко и в просвете эпителиальных трубок. Эпителиоциты и соединительнотканые клетки снижают активность синтеза PNA+-соединений. В аппендиксе увеличивается сродство к SBA в криптах,

соединительной ткани собственной пластинки слизистой оболочки, а количество лектин-позитивных лимфоцитов существенно не изменяется. В ЦБЛУ SBA+-лимфоциты встречаются чаще, чем в предыдущий период. Впервые обнаруживаются бензидиновые метки в цитоплазме макрофагов.

В развитии лимфоидного аппарата органов дыхания в период 7–8 месяцев содержание лимфоцитов с рецепторами к лектину арахиса является максимальным для всех периодов онтогенеза человека и составляет $18,25 \pm 7\%$. Единично выявлялись PNA+-лимфоциты между эпителиальными клетками бронхов. Содержание SBA+-лимфоцитов относительно предыдущего периода снижается в 2 раза. PNA+-соединения в этот период практически не выявляются в эпителиоцитах и соединительнотканых клетках, однако увеличивается их количество во внеклеточном матриксе и волокнах. Содержание рецепторов к SBA, наоборот, свидетельствует о накоплении их в фибробластах, клетках желез и бокаловидных клетках. Тенденции снижения количества лектин-позитивных лимфоцитов отмечается также в аппендиксе и ЦБЛУ. SBA+-лимфоциты встречаются только в корковом веществе. Рецепторы к лектинам PNA, SBA и LAL обнаруживаются в цитоплазме эндотелиальных клеток сосудов.

На 9 месяце внутриутробного развития в динамике лектин-позитивных лимфоцитов органов дыхания и аппендиксе наблюдается снижение количества как PNA+ так и SBA+-лимфоцитов (в 1,6 и в 1,8 раз соответственно). В ЦБЛУ общий процент PNA+-лимфоцитов уменьшается, но в корковом веществе их количество незначительно увеличивается. На поверхности некоторых лимфоцитов отмечается накопление α -L-фукозы. Достоверно чаще встречаются лектин-позитивные макрофаги. Отмечается увеличение SBA+-веществ в эндотелии сосудов во всех исследованных органах.

Проведенные исследования показывают, что в формирующихся периферических органах иммунной системы в пренатальном периоде онтогенеза присутствуют α -L-фукозо-, β -D-галактозо- и N-ацетил-D-галактозамин-содержащие соединения. В процессе морфо- и гистогенеза происходят постепенные изменения в синтезе и накоплении этих веществ различными тканевыми и клеточными структурами.

На цитолемме иммунологически незрелых Т-лимфоцитов присутствуют β -D-галактозосодержащие соединения [4,5], являющиеся рецепторами к лектину арахиса. Присутствие в изученных органах плодов лимфоцитов с рецепторами к лектину арахиса позволяет предположить, что в них постоянно протекают процессы дифференцировки Т-лимфоцитов. Этот факт подтверждается данными З.С. Хлыстовой и соавт. (1987) [3] о способности эпителиоцитов воздухоносных путей плода продуцировать гормональные тимические факторы. Появление PNA+-лимфоцитов в аппендиксе и ЦБЛУ характеризует усиление процесса миграции Т-лимфоцитов из тимуса

в периферические иммунные органы. Рецепторы к лектину сои [1] содержатся на цитолемме стволовых кроветворных клеток и В-лимфоцитов, не прошедших окончательной дифференцировки. Данные о динамике лимфоцитов с рецепторами к лектину сои в органах дыхания подтверждаются работами Л.К. Романов и соавт. [2], которые установили наличие в эмбриональном легком стволовых колониеобразующих кроветворных клеток, колониеобразующая способность которых снижается по мере увеличения срока эмбриогенеза. В ЦБЛУ высокие показатели SBA+ лимфоцитов характеризуют смену процессов гемоцитопоэза (3–4 мес.) на лимфоцитопоэз (с 4 мес.). Гистогенетические формообразовательные процессы в исследованных периферических органах иммунной системы характеризуются неравномерным биосинтезом и распределением углеводсодержащих соединений – постепенным накоплением для SBA+ и LAL+-веществ и волнообразным для PNA+-углеводов.

Выводы

1. В исследованных периферических органах иммунной системы человека в пренатальном периоде онтогенеза выявляются α -L-фукозо-, β -D-галактозо- и N-ацетил-D-галактозамин-содержащие соединения (рецепторы к лектинам LAL, SBA и PNA соответственно).

2. Интенсивность накопления биополимеров с олигосахаридными остатками, специфичными к лектинам арахиса, сои и бобовника, а также общие и органоспецифичные перестройки лектин-рецепторных характеризуют процессы дифференцировки лимфоидных и нелимфоидных элементов в развитии и становлении системы иммунитета.

Перспективы дальнейших исследований

Сравнительное изучение развития периферических лимфоидных органов лектин-гистохимическими и иммуногистохимическими методами с применением CD-маркеров соответствующей специфичности.

Литература

1. Луцук А.Д. Лектины в гистохимии / Луцук А.Д., Детюк Е.С., Луцук М.Д. – Львов: Выща шк. Изд-во при Львов ун-те, 1989. – 144 с.
2. Романова Л.К. Колониеобразующие кроветворные клетки в эмбриональном легком мыши / Романова Л.К., Тимошук О.А., Куликова Г.В. // Бюл. экспер. биол. и мед. – 1990. – Т. СХ, №12. – С. 647–649.
3. Хлыстова З.С. Становление системы иммуногенеза плода человека / Хлыстова З.С. – М.: Медицина, 1987. – 256 с.
4. Codegone M. Selective binding of peanut lectin by T lineage lymphocytes in paraffin sections / Codegone M., Bussolati G., Spinnato M., Stramignoli A. // Basis Appl. Histochem. – 1983. Vol. 27, №3. – P. 177–182.
5. De Dios I. Quantification of lektin receptors in B T T and T lymphocytes. 2. PNA., SBA, DBA, Tetragonolobus purpureus (Lotus) / De Dios I., Mauro M., Leon V., Lopes-Borraska A. // Rev. Exp. Physiol. – 1984. – Vol. 40, №3. – P. 265–270.
6. Poirier F. Cell surface carbohydrates and lectins in early development / Poirier F., Kimber S. // Mol. Human Reprod. – 1997. – Vol. 3, №10. – P. 907–918.
7. Roth J. The lektins. Molecular probes in cell biology and membrane research / Roth J. // Exp. Patol. – 1978. – Suppl. 3. – 253 p.

Сведения об авторах:

Сырцов В.К., д. мед. н., профессор каф. гистологии, цитологии и эмбриологии ЗГМУ.

Алиева Е.Г., к. биол. н., доцент каф. гистологии, цитологии и эмбриологии ЗГМУ.

Потоцкая Е.И., к. биол. н., ст. преподаватель каф. гистологии, цитологии и эмбриологии ЗГМУ.

Зидрашко Г.А., к. мед. н., доцент каф. стоматологии ЗГМУ.

Сидорова И.В., к. мед. н., ст. преподаватель каф. гистологии, цитологии и эмбриологии ЗГМУ.

Таврог М.Л., ассистент каф. гистологии, цитологии и эмбриологии ЗГМУ.

Громоковська Т.С., ассистент каф. гистологии, цитологии и эмбриологии ЗГМУ.

Адрес для переписки:

Алиева Е.Г., 69035, г. Запорожье, пр-т Маяковского, 26, каф. гистологии, цитологии и эмбриологии ЗГМУ.

Тел.: (0612) 33 33 74.