

ОСОБЛИВОСТІ ГІСТОТОПОГРАФІЇ ФУКОЗОКОН'ЮГАТІВ В НОРМАЛЬНОМУ ЕМБРІОГЕНЕЗІ ПЕРВИННОЇ І ОСТАТОЧНОЇ НИРКИ

©С.В. Жарков, Е.Ю. Шаповалова, С.В. Харченко

Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгієвського

РЕЗЮМЕ. Вивчено 114 зародків людини у віці від 21 доби до 12 тижнів внутрішньоутробного розвитку на стадіях послідовно від раннього періоду нервового жолобка до початку дефінітивного плодового періоду. Альфа-L-фукозокон'югати виявляли шляхом обробки серійних зрізів лектином золотого дощу анагіролистного, кон'югованого з пероксидазою хрину. Закладка мезонефронів первинної нирки супроводжується помірним накопиченням глікополімерів з кінцевими нередукувальними залишками альфа-L-фукози. Регрес мезонефронів пов'язаний з редукцією фукозокон'югатів в типових місцях локалізації. В остаточній нирці закладка нефронів перших чотирьох генерацій супроводжується аналогічною експресією рецепторів лектину золотого дощу анагіролистного. На 10-й та 11-й тижні виявлено зниження концентрації LАВА-позитивних макромолекул описаної гістотопографії, що свідчить про регрес нефронів перших двох генерацій кінцевої нирки.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: лектини, первинна нирка, кінцева нирка.

Вступ. Лектини високоспецифічно зв'язуються з кінцевими нередукувальними залишками глікополімерів тканин і можуть бути тонкими маркерами різних етапів розвитку нирки та інших органів у людини [1, 2]. У доступній літературі дані із гістотопографії рецепторів лектинів при розвитку обох нирок у людини відсутні.

Важливу роль в низці морфогенезів системи виділення, що змінюють один одного, відіграє Вольфове тіло. Ініціаторним органом ембріогенетичних процесів розвитку систем виділення і статевої виступає пронефрос, але центральним елементом, що визначає морфогенетичні процеси цього комплексу, є Вольфове тіло. Якщо вивченню процесів закладки, росту і диференціювання постійної нирки та органів статевої системи в ембріогенезі людини приділяється достатньо уваги, то до цих пір мало відомо про способи диференціювання і регуляції в ході розвитку мезонефросу [3]. Робіт, що характеризують Вольфове тіло людини, недостатньо [4, 5]. Відсутні дані, що стосуються порівняльної оцінки ембріональних морфогенезів первинної і постійної нирок.

Метою роботи є вивчення репресії і дерепресії глікополімерів з кінцевими нередукувальними залишками альфа-L-фукози на поверхні і в цитоплазмі клітин паренхіми, строми і в тканинних екстрацелюлярних структурах первинної і остаточної нирки в процесі їх розвитку, розквіту і регресії у зародків людини, що розвивалися в матці за відсутності явно виражених ушкоджувальних чинників зовнішнього і внутрішнього середовища.

Матеріал і методи дослідження. Вивчено 114 зародків людини у віці від 21 доби до 12 тижнів внутрішньоутробного розвитку на стадіях послідовно від раннього періоду нервового жолобка до початку плодового періоду дефінітиву.

Оглядові препарати фарбували гематоксиліном і еозином. Альфа-L-фукозокон'югати виявляли шляхом обробки серійних зрізів лектином золотого дощу анагіролистного, кон'югованого з пероксидазою хрому. Препарати обробляли із застосуванням стандартних наборів НПК "Лектинотест" м. Львів в розведенні лектину 1:50 за методикою, що рекомендувалася [6]. Візуалізацію місць зв'язування лектину проводили в системі діамінобензидин - перекис водню. Контроль специфічності реакції здійснювали шляхом виключення з схеми обробки препаратів діамінобензидину. Лектин золотого дощу анагіролистного (LAVA), специфічний до кінцевих нередукувальних залишків альфа-L-фукози глікополімерів. Скорочене найменування лектинів приведене відповідно до міжнародної номенклатури лектинів [7]. Специфічність лектинів до термінальних нередукуючих моносахаридних залишків глікокон'югатів дана відповідно до даних [8]. 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 й обговорення. Глікополімери з кінцевими нередукувальними залишками альфа-L-фукози, що зв'язуються з лектином золотого дощу, присутні в закладках мезонефросу з найраніших стадій розвитку (зародки 35 діб, 6,5 мм довжини). Невелика кількість таких макромолекул виявляється на цитолемі і в цитоплазмі клітин мезонефральних тілець і каналців. Мезенхіма бідна на фукозокон'югати (таблиця 1). Диференціювання мезонефронів в краніальних відділах мезонефросу приводить до накопичення рецепторів даного лектину. LAVA-позитивні біополімери у зародків у віці 37-42 діб (9-12 мм довжини), коли мезонефрони краніальної

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, короткі повідомлення, замітки з практики

Таблиця 1. Кількісний вміст рецепторів лектину золотого дощу анагіролистного в епітеліальних і мезенхімних закладках первинної нирки*

Назва структури	Тім'яно-копчикова довжина зародків в мм																					
	3,2	5,5	6,5	9	10	11	12	13	14	16	17	18	20	21	23	25	27	30	32	45	56	70
<i>I</i>	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Проксимальні відділи																						
Клітини судинного клубочка цитолема	-	2	2	3	3	3	3	2	2	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
цитоплазма	-	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Клітини зовнішнього листка капсули																						
апикальна поверхня	-	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
цитоплазма	-	1	1	2	2	2	2	1	1	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
базальна поверхня	-	0	0	3	3	3	3	2	2	2	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Епітелій каналців																						
апикальна поверхня	-	2	2	3	3	3	3	3	3	2	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
базальна поверхня	-	0	0	3	3	3	3	3	3	2	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
цитоплазма	-	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Клітини мезенхіми або ембріональної сполучної тканини																						
цитолема	-	2	2	3	3	3	3	2	2	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
цитоплазма	-	1	1	2	2	2	2	1	1	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Середні відділи																						
Клітини судинного клубочка цитолема	-	-	-	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	2	2	0	0	0	-	-	-
цитоплазма	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1	-	-	-
Клітки зовнішнього листка капсули																						
апикальна поверхня	-	-	-	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-
цитоплазма	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	0	0	0	-	-	-
базальна поверхня	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	2	2	2	2	2	-	-	-
Епітелій каналців																						
апикальна поверхня	-	-	-	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	2	2	2	-	-	-
базальна поверхня	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	3	3	2	2	2	-	-	-
цитоплазма	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1	-	-	-
Клітини ембріональної сполучної тканини																						

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
цитолема	-	-	-	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	2	2	1	1	1	-	-	-
цитоплазма	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	0	0	0	-	-	-
Дистальні відділи																						
Клітини судинного клубочка цитолема	-	-	-	-	-	-	-	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	2
цитоплазма	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1
Клітини зовнішнього листка капсули																						
апикальна поверхня	-	-	-	-	-	-	-	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0
цитоплазма	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1
базальна поверхня	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	2
Епітелій каналців																						
апикальна поверхня	-	-	-	-	-	-	-	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3
базальна поверхня	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3
цитоплазма	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1
Клітини ембріональної сполучної тканини																						
цитолема	-	-	-	-	-	-	-	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	2
цитоплазма	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1

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

частини досягають розквіту, концентруються у великих кількостях на цитолемі клітин судинних клубочків і на базальній поверхні клітин зовнішнього листка капсули. Цитоплазма останніх клітин бідніша бензидиновою міткою, а на апікальній поверхні вона відсутня. Цитолема клітин ембріональної сполучної тканини навколо тілець мезонефронів проявляє високу спорідненість до лектин-рецепторної реакції. Продукти цієї реакції відкладаються і в цитоплазмі тих же клітин, але в меншій кількості. Волокнистий компонент ембріональної сполучної тканини ареагивний. Канальці мезонефронів експресують велику кількість фукозокон'югатів на апікальній і базальній поверхні епітеліального пласта. У цитоплазмі клітин їх помірна кількість.

Регрес мезонефронів в краніальній частині первинної нирки у зародків у віці 43-45 дб (зародки 13-16 мм довжини) пов'язаний із значним зменшенням кількості LAVA-позитивних макромолекул в цитоплазмі клітин судинних клубочків тілець при збереженні їх декілька

більшої кількості на цитолемі (див. табл. 1). Базальна поверхня клітин зовнішнього листка капсули тілець тривалий час зберігає присутність місць кріплення лектину золотого дощу, тоді як в цитоплазмі вони поступово репресуються. Апікальна і базальна поверхня епітелію каналців, що руйнуються, багата фукозокон'югатами. У цитоплазмі їх менше. Ембріональна сполучна тканина навколо мезонефронів повністю втрачає бензидинову мітку в цитоплазмі. Сліди її залишаються на цитолемі молодих фібробластів.

У зародків подальших термінів розвитку (47 дб - 12 тижнів, 18-70 мм довжини) в мезонефронах, що циклічно розвиваються, в середніх і каудальних відділах мезонефросу повторюється аналогічний процес накопичення глікополімерів з вуглеводною детермінантою альфа-L-фукози, що є рецепторами лектину золотого дощу (див. табл. 1). У стадії регресії концентрація таких з'єднань зменшується, переважно в клітинах судинних клубочків тілець, а потім і в канальцевій системі. Клітини ембріональної спо-

лучної тканини цих відділів тривало після зникнення мезонефронів зберігають LАВА-позитивний матеріал на своїй цитолемі.

В метанефросі, що розвивається, у зародків у віці 49-52 діб, (20-23 мм довжини) вперше з'являються сформовані нефрони першої генерації. Фукозокон'югати зустрічаються в невеликій кількості на цитолемі клітин судинних клубочків. У цитоплазмі їх дуже мало. Базальна поверхня епітеліоцитів зовнішнього листка капсули ниркових тілець проявляє високу спорідненість до бензидинової мітки. Апікальна поверхня повністю ареактивна. У цитоплазмі виявляються сліди мітки. У каналцевій системі рецептори лектину LАВА у високій концентрації є на базальній поверхні і в дещо меншій кількості - на апікальній поверхні. У цитоплазмі їх мало. Періепітеліальна ембріональна сполучна тканина виявляє фукозокон'югати в помірній кількості на цитолемі молодих фібробластів. У цитоплазмі їх мало. Волокна повністю ареактивні.

Під час подальшого ембріогенезу (зародки у віці 55-60 діб, 25-30 мм довжини) метанефрони постійної нирки продовжують збільшувати біосинтез LАВА-позитивних біополімерів. На подальших до 12 тижнів етапах розвитку (зародки 32-70 мм довжини) утворення нефронів чотирьох генерацій супроводжується накопиченням рецепторів лектину золотого дощу, що циклічно повторюється, в описаних раніше місцях локалізації. У віці 10 тижнів (зародки 45 мм довжини) в нефронах першої генерації виявляється зниження концентрації фукозокон'югатів в місцях їх присутності. У зародків у віці 11 тижнів (47 мм довжини) таке зниження LАВА-позитивного матеріалу спостерігається в нефронах другої генерації остаточної нирки.

ЛІТЕРАТУРА

1. Демьяненко И.А., Шаповалова Е.Ю. Особенности углеводного обмена в закладках дыхательной системы у типично и атипично имплантированных эмбрионов человека // Світ медицини та біології. – 2005. – № 3. – С. 104-109.

2. Шаповалова Е. Ю., Луцик А. Д. Изменение углеводного состава тканей в процессе раннего эмбрионального гистогенеза дыхательной системы у человека // Таврический медико-биологический вестник. – 2000. – № 1-2. – С. 175-178.

3. Sainio K., Hellstedt P., Kreidberg J.A. Differential regulation of two sets mesonephric tubules by WT-1// Development. – 1997. – V. 124, N 7. – P. 1293-1299.

Висновки. 1. Закладка мезонефронів первинної нирки супроводжується помірним накопиченням глікополімерів з кінцевими нередуковальними залишками альфа-L-фукози на цитолемі клітин клубочків. У цитоплазмі цих клітин таких з'єднань менше. Яскрава бензидинова мітка визначається на базальній поверхні клітин зовнішнього листка капсули тілець. На апікальній поверхні міток немає, а в цитоплазмі виявляються слабо. Клітини ембріональної сполучної тканини мають фукозокон'югати у великій кількості на цитолемі. У цитоплазмі їх небагато. У каналцях рецептори лектину більше всього на апікальній поверхні епітеліального пласту і в цитоплазмі. Базальна поверхня слабо експресує такі рецептори.

2. Регрес мезонефронів пов'язаний з редукцією фукозокон'югатів в типових місцях локалізації.

3. У остаточної нирці закладка нефронів перших чотирьох генерацій супроводжується аналогічною експресією рецепторів лектину золотого дощу анагіролистного.

4. На 10-му і 11-му тижнях виявлено зниження концентрації LАВА-позитивних макромолекул описаної гістотопографії, що свідчить про регрес нефронів перших двох генерацій остаточної нирки.

Перспективи подальших досліджень. Порівняльне вивчення особливостей становлення вуглеводного обміну, використання лектинів як структурно-функціональних зондів сприяє з'ясуванню значення і характеру трансформації вуглеводних детермінант клітинних мембран і неклітинних тканинних структур в процесі нефрогенезу первинної і остаточної нирки як єдиної органної системи і допоможе розкрити закономірності нормальної заміни одного органа на інший, що порушується при різній патології.

4. Martino C. de, Zamboni L, Accinni I. Fine morphology of regressing human mesonephric nephrons // Exp. Mol. Pathol. – 1977. – V. 26, N 2. – P. 169-183.

5. Pelliniemi I., Kellokumpu-I. ehtinen P., Hoffer A. Glycogen accumulations in differentiating mesonephric ducts and tubuli in mate human embryos // Anat. Embryol. (Berl.). – 1983. – V. 168, N 3. – P. 445-453.

6. Луцик А. Д., Детюк Е.С., Луцик М.Д. Лектины в гистохимии. – Львов: Вища школа, 1989. – 139 с.

7. Lectin biology, biochemistry, clinical biochemistry (eds. T.C. Bog-Hansen & G.A. Spengler) // Proc. V lectin meeting. – Berlin, 1983. – Vol.3. – P. 87-415.

8. Антонюк В.О. Лектини та їх сировинні джерела. – Львів: ПП "Кварт", 2005. – 554 с.