

DOI: 10.26693/jmbs02.05.064

УДК 636.087.73:[61/651.1+612.621]:616-031.25:615.256.52

Тополенко Т. А., Матвейшина Т. Н.

ИНТЕНСИВНОСТЬ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ РЕЦЕПТОРОВ К ЛЕКТИНУ ЗАВЯЗИ ПШЕНИЦЫ В ЯИЧКАХ КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ЖЕНСКИХ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ ВО ВТОРОМ И ТРЕТЬЕМ ПЕРИОДАХ БЕРЕМЕННОСТИ

Запорожский государственный медицинский университет

matveishyna_tn@meta.ua

Было изучено распределение рецепторов к лектинам завязи пшеницы яичек крыс с первых по девятые сутки жизни в норме и после интравaginaльного введения утрожестана во втором и третьем периодах беременности и установлено уменьшение плотности распределения WGA+—рецепторов в капсуле яичка, на цитоплазматической мембране фибробластов и фиброцитов, а также в составе базальной мембраны кровеносных сосудов с увеличением срока наблюдения. У экспериментальных животных, в отличие от контрольной группы, в интерстиции и в составе базальной мембраны семенных канальцев наблюдается стабильно низкий уровень экспрессии рецепторов к лектину завязи пшеницы на протяжении почти всего периода наблюдения.

Ключевые слова: яички, крысы, лектин завязи пшеницы, утрожестан.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Работа является фрагментом НИР кафедры анатомии человека, топографической анатомии и оперативной хирургии, и кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Запорожского государственного медицинского университета «Лектингистохимическая характеристика морфогенеза органов и тканей в раннем постнатальном периоде в норме и эксперименте», № гос. регистрации 0109U003986.

Введение. Гликоконъюгаты являются основными компонентами внешней поверхности животной клетки. Их углеводная структура меняется в процессе развития [1]. Лектины являются наиболее информативными молекулярными зондами, которые позволяют проводить идентификацию гликоконъюгатов клеток и тканей. Уровень экспрессии рецепторов к эндогенным лектинам позволяет оценивать функциональное состояние клеток, а также органа в целом [3]. Для выявления рецепторов к лектинам сегодня достаточно широко применяют лектины растительного происхождения, кото-

рые специфически связываются с углеводными остатками рецепторов животных клеток. В лектинах растительного происхождения селективность связывания с углеводными детерминантами очень высока, что позволяет применять их для оценки морфофункционального состояния органов и тканей путем анализа функционального состояния клеточной мембраны [7]. Лектины и их рецепторы обеспечивают межклеточные, клеточно-матриксные взаимодействия, регулируют процессы пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток [2, 4]. Факторы химической природы с эстрогенной активностью, применяемые во время беременности, приводят к изменениям гормонального баланса в материнском организме и возможному нарушению процессов сперматогенеза у потомства мужского пола. Лектингистохимическое исследование спермальных клеток позволяет диагностировать супружеское бесплодие, связанное с мужским фактором [5]. До настоящего времени вопрос распределения рецепторов к лектинам в структурах яичек крыс, полученного от самок, получавших утрожестан во время беременности, изучен недостаточно, поэтому является целесообразным и актуальным.

Цель исследования: установление особенностей распределения рецепторов к лектинам WGA в яичках крыс у потомства, полученного от беременных самок крыс после введения утрожестана.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования были яички 56 новорожденных белых крыс линии Вистар на 1, 5, 14, 30, 45, 60 и 90 сутки постнатальной жизни, полученных от крыс с датированным сроком беременности. В качестве женских половых гормонов использовали утрожестан, который вводили беременной самке интравaginaльно в дозе 100 мг. Крыс разделили на группы следующим образом: первая – интактные животные; вторая – контрольная, крысам интравaginaльно вводили физиологический раствор натрия, третья – животным вводили утрожестан

интравагинально течение второго (с 8 по 14 день) и четвертая группа – утрожестан вводили в течение третьего периода беременности (с 15 по 21 день). Материал фиксировали в жидкости Буэна, обезвоживали, заливали в парафин-воск-каучук (20:1:1) и изготавливали гистологические срезы. Выявление углеводных остатков N-ацетил-D-глюкозамина и сиаловой кислоты проводили с использованием лектина завязей пшеницы по стандартной методике с помощью стандартизованных наборов WGA-HRP НВО «Лектинтест» (Львов) [5]. Визуализацию очагов связывания лектина проводили в системе диаминобензидин-пероксид водорода. Исследовали распределение рецепторов к лектину завязи пшеницы в капсуле яичка, мембране семенных канальцев, стенке и соединительной ткани интерстиция. Результаты вычисляли полуколичественно: +++ – сильная реакция (темно-коричневая окраска), ++ – умеренная реакция (коричневая), + – слабая реакция (светло-коричневая), ± – очень слабая реакция (бежевая), 0 – отсутствие реакции.

Содержание животных и эксперименты проводились согласно положений «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментов и других научных целей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», утвержденных Пятым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2013).

Результаты исследования и их обсуждение.

На первые сутки постнатальной жизни более интенсивное содержание рецепторов к WGA наблюдается в капсуле яичка интактной и контрольной групп животных, которая окрашивается в темно-коричневый цвет (+++) (табл.). Что касается других исследуемых структур: соединительной ткани интерстиция, стенки сосудов, тучных клеток, лимфоцитов, фибробластов и фиброцитов, то в данных группах животных они окрашиваются с примерно одинаковой интенсивностью в коричневый цвет (++) в базальной мембране извитых семенных канальцев всех групп животных рецепторы к лектину завязи пшеницы определяются умеренно (+). Капсула яичка у потомства животных, получавших утрожестан течение второго периода беременности окрашивается в промежуточный оттенок между темно-коричневым и коричневым (+++/++).

Другие структуры, которые исследовались в этой группе животных также обнаруживают уменьшение содержания рецепторов к лектину WGA: тучные клетки, лимфоциты и интерстиций (+); фиброциты и фибробласты (±); стенка сосудов (++/+) (табл.). У животных четвертой экспериментальной группы аналогичные изменения выявлены в окра-

ске тучных клеток, лимфоцитов, интерстиция, фиброцитов, фибробластов и стенки сосудов.

Капсула яичек крыс этой группы несет на себе значительно меньшее количество WGA + – рецепторов – светло-коричневый цвет (+).

На 5-е сутки постнатального периода жизни у животных третьей экспериментальной группы по сравнению с интактными и контрольными крысами, определяется уменьшение количества WGA + – рецепторов во всех исследуемых структурах, особенно выраженное в базальной мембране извитых семенных канальцев обеих экспериментальных групп и в соединительной ткани интерстиция потомства животных, получавших утрожестан во втором периоде беременности (табл.).

На 14-е сутки жизни у животных обеих экспериментальных групп капсула яичка, базальная мембрана извитых семенных канальцев, фибробласты, фиброциты, тучные клетки и соединительная ткань интерстиция экспрессируют меньшее количество WGA + – рецепторов по сравнению с интактными и контрольными животными и сохраняются на уровне предыдущих суток наблюдения экспериментальных крыс. При этом капсула яичка животных четвертой группы, базальная мембрана извитых семенных канальцев крыс третьей группы и стенка сосудов у животных обеих экспериментальных групп окрашиваются менее интенсивно чем на пятые сутки (табл.).

На 30-е сутки постнатальной жизни у экспериментальных крыс обеих групп изменения в интенсивности окраски исследуемых структур остаются на уровне четырнадцатых суток. Кроме капсулы яичка животных четвертой группы, которая несет на себе значительно меньшее количество WGA + – рецепторов. Также наблюдается незначительное уменьшение интенсивности окраски тучных клеток и лимфоцитов до бежевого цвета в обеих экспериментальных группах.

На 45-е сутки жизни у потомства животных обеих экспериментальных групп по сравнению с интактной и контрольной группами крыс количество WGA + – рецепторов ниже в базальной мембране извитых семенных канальцев, стенке сосудов, на фибробластах и в соединительной ткани интерстиция и одновременно несколько выше на фиброцитах. По сравнению с предыдущими сутками в капсуле яичка, базальной мембране семенных канальцев, стенке сосудов и на тучных клетках количество рецепторов к лектину завязи пшеницы увеличивается, а в соединительной ткани интерстиция четвертой группы исследуемых животных – уменьшается (табл.).

На 60-е сутки постнатальной жизни все исследуемые структуры у экспериментальных групп

животных окрашиваются с меньшей интенсивностью, чем аналогичные структуры у интактных и контрольных животных (табл.). Это особенно характерно для стенки сосудов, капсулы яичка крыс обеих экспериментальных групп, базальной мембраны семенных канальцев третьей группы и соединительной ткани интерстиция четвертой экспериментальной группы животных. Относительно предыдущих суток наблюдения, то уменьшение количества рецепторов к лектину WGA наблюдается в капсуле яичка и стенке сосудов, а их увеличение – в соединительной ткани интерстиция (табл.).

На 90-е сутки жизни у экспериментальных животных по сравнению с интактными и контрольными рецепторы к лектину WGA в значительно меньшем количестве определяются в капсуле яичка и

на мембране семенных канальцев. Также их количество незначительно меньше на мембране всех исследуемых клеток и в стенке сосудов и больше в соединительной ткани интерстиция. По сравнению с предыдущими сутками у потомства экспериментальных крыс различия определяются только в окраске стенки кровеносных сосудов, которая снижает свою интенсивность до светло-коричневого цвета (табл.).

Полученные результаты подтверждаются полученными ранее данными об отставании размеров семенных канальцев крыс экспериментальной группы на поздних сроках наблюдения [6], в связи с чем распределение рецепторов к лектину WGA в яичках крыс может использоваться для оценки морфо-функционального состояния органа.

Таблица – Интенсивность распределения рецепторов к лектину WGA в структурах яичек крыс

Сутки жизни	Группы животных	Капсула яичка	Базальная мембрана канальцев	Тучные клетки	Фибробласты	Фиброциты	Лимфоциты	Стенка сосудов	Интерстиций
1	1	+++	+	++	++	++	++/ +	++	++
	2	+++	+	++	++	++	++/+	++	++
	3	+++/>++	+	+	±	±	+	++/+	+
	4	+	+	+	+	+	+	++/+	+
5	1	+++	+++/>++	++	++/>+	++/>+	++/>+	++	++/>+
	2	+++	+++/>++	++	++/>+	++/>+	++/>+	++	++/>+
	3	++	+	+	±	±	+	+	±
	4	++/>+	+/>±	+	+	+	+	++/>+	+
14	1	+++	+++/>++	++	++/>+	+	++/>+	+++/>++	++
	2	+++	+++/>++	++	++/>+	+	++/>+	+++/>++	++
	3	++	±	+	±	±	+	+	±
	4	++/>+	+/>±	+	±	±	+	+	+
30	1	+++	++	++	+	+	++/>+	+++	++
	2	+++	++	++	+	+	++/>+	+++	++
	3	++/>+	±	+	+	+	+	+	+
	4	+	±	+	±	±	+	+	+
45	1	++/>+	++	+	±	+	++/>+	+++/>++	++
	2	++/>+	++	+	±	+	++/>+	+++/>++	++
	3	++/>+	+/>±	+	+	+	+	++/>+	+
	4	++/>+	+/>±	+	±	±	+	++/>+	±
60	1	+++/>++	++	+	++/>+	++	++/>+	+++	+++/>++
	2	+++/>++	++	+	++/>+	++	++/>+	+++	+++/>++
	3	+	±	+	±	±	+	+	++
	4	+	+/>±	+	±	±	+	±	+/>±
90	1	+++	+++/>++	+	+	+	++/>+	+	±
	2	+++	+++/>++	+	+	+	++/>+	+	±
	3	+	±	+	±	±	+	±	+
	4	+	±	+	±	±	+	±	+

Примечания: первая группа – интактные животные, вторая – контрольная, третья – животные, которым интравагинально вводили утрожестан в течение II периода беременности, четвертая – утрожестан вводили в III периоде беременности.

Выводы и перспективы дальнейших исследований

1. Интенсивность распределения рецепторов к лектину завязи пшеницы у экспериментальных крыс во всех исследуемых структурах ниже по сравнению с интактной и контрольной группами.
2. В яичках новорожденных, полученных от беременных после введения утрожестана наблюдается уменьшение интенсивности накопления WGA + – рецепторов в капсуле, интерстиции яичка и на мембране извитых семенных канальцев.
3. На базальной мембране сосудистой стенки у экспериментальных животных наблюдается тенденция к уменьшению количества рецепторов к лектину завязи пшеницы с увеличением срока наблюдения, особенно выраженная на тридцатые и шестидесятые сутки.
Полученные данные в дальнейшем будут дополнены изучением интенсивности распределения в структурах яичек крыс рецепторов лектинов арахиса, сои и конканавалина-А.

References

1. Antonyuk VO. *Lektyny ta yikh syrovynni dzherela*. Lviv: PP «Kvart», 2005. 554 s. [Ukrainian].
2. Voloshin NA, Grigoreva EA. Lektyny zhivotnogo i rastitelnogo proiskhozhdeniya: rol v protsesakh morfogeneza. *Zhurnal AMN Ukrainy*. 2005; 11 (2): 233-7. [Russian].
3. Lutsik AD, Detyuk ES, Lutsik MD. *Lektyny v gistokhimii*. Lvov: Vishcha shkola, 1989. 140 s. [Russian].
4. Lutsik AD. *Retseptory lektiniv v morfogistokhimicheskoy kharakteristike organiv i tkaney*: avtoref. dis. ... kand. med. nauk, Abstr. PhD. (Med.). Moskva; 1989. 31 s. [Russian].
5. Stoyka BR, Yashchenko AM, Fito YuS, Lutsyk OD. Lektynhistokhimichne doslidzhennya spermalnykh klityn pry podruzhnomu neplidii. *Acta medica leopolinesia*. 2003; 9 (2): 69-73. [Ukrainian].
6. Topolenko TA. Osoblyvosti rozmiriv sim'yanykh kanaltsiv shchuriv u normi ta pislya vvedennya zhinochykh statevykh hormoniv u tretomu trymestri vahitnosti. *Visnyk morfologiyi*. 2010; 16 (2): 419-21. [Ukrainian].
7. Miosge N, Drespe W, Herken R, Miosge N. Ultrastructural localization of binding sites for the lectins RCA-1 and WGA in the preimplantation mouse embryo. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1997; 45: 447-54.

УДК 636.087.73:[61/651.1+612.621]:616-031.25:615.256.52

ОСОБЛИВОСТІ ДИНАМІКИ РОЗПОДІЛУ РЕЦЕПТОРІВ ДО ЛЕКТИНУ ЗАРОДКІВ ПШЕНИЦІ В СТРУКТУРАХ ЯЄЧКА ЩУРІВ ВІД НАРОДЖЕННЯ ДО ДЕВ'ЯНОСТОЇ ДОБИ ЖИТТЯ В НОРМІ ТА ПІСЛЯ ДІЇ ЖІНОЧИХ СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ

Тополєнко Т. А., Матвєйшина Т. М.

Резюме. Було вивчено розподіл рецепторів до лектину зародків пшениці в структурах яєчка щурів з першої до дев'яностої доби життя включно у нормі та після інтравагінального введення утрожестану у другому та третьому періодах вагітності та встановлено зменшення щільності розподілу WGA+–рецепторів у капсулі яєчка, на цитоплазматичній мембрані фібробластів та фіброцитів, а також у складі базальної мембрани кровеносних судин зі збільшенням строку спостереження. У експериментальних тварин, на відміну від контрольної групи, у інтерстиції та у складі базальної мембрани сім'яних трубочок спостерігається стабільно низький рівень експресії рецепторів до лектину зародків пшениці протягом майже усього періоду спостереження.

Ключові слова: яєчки, щури, лектин зародків пшениці, утрожестан.

UDC 636.087.73:[61/651.1+612.621]:616-031.25:615.256.52

Specifics of Wga Lectin Receptor Distributions in Rats in Normal Conditions and after Intranatal Introduction of Female Hormones in Second and Third Periods of Pregnancy

Topolenko T., Matvieishyna T.

Abstract. Structural features of WGA lectins' receptors distribution in rats' testes after intrauterine introduction of utrogestan were examined. WGA lectin distribution of receptors is as follows: the testicular capsule of intact and control rats at all observation periods, except the period from forty to fifteen to sixty days, has a maximum content of the carbohydrate residues of NAc DGlc and sialic acid. From the forty-fifth to sixty days of life, the content of carbohydrate residues to the lectin receptors of wheat germs in the testicle capsule decreases, which is manifested by the decrease in the intensity of the deposition of the benzidine tag in this structures. Experimental animals of both groups from the first to the thirtieth day showed a decrease in the distribution of WGA + receptors in the capsule of the testicle was observed, which is especially pronounced for the offspring of animals receiving utrogestan during the third period of pregnancy. By the forty-fifth day of life, the level of WGA receptors distribution to lectin of wheat remains stable, and then again significantly decreases during the third

month of life. The basement membrane of the vaginal semen tubes of the intact and control groups of the studied groups of animals, starting from the fifth day of observation, is colored in an intermediate shade between dark brown and brown color, somewhat reducing the degree of coloration during the period of the thirties-sixtieth day after birth and returns to the previous level on the ninety days of life. In the offspring of rats received after the introduction of the urethra during pregnancy, there is a steady low level WGA receptors distribution in the basement membrane of the seminal tubules throughout the observation period, especially at the fourteenth, sixtieth and ninetieth day of life.

The cytoplasmic membrane and intracytoplasmic inclusion of mast cells and lymphocytes in intact and control groups of animals from the first to the nineteenth life day will include a moderate distribution density of WGA + – receptors (++ / +). In experimental animals, during the entire observation period, the density of WGA receptors distribution on these structures is low (+/-). In the cytoplasmic membrane of the inbred and control animals fibroblasts, the dynamics of receptor expression for lectin in wheat germs is determined as follows: the WGA + – receptors distribution decreases with an increase in the observation period, which is particularly pronounced on the forty fifth and ninth day of life. In experimental animals of both groups, these indices are lower compared to control (\pm), but the overall tendency is maintained. Regarding fibrocytes: for intact and control animals, the WGA + receptors distribution on the cytoplasmic fibroblasts decreases from fifth to forty fifth day and then increases until the ninety days of observation. In both experimental rats, the WGA + receptors expression on cytoplasmic membranes of fibrocytes almost completely coincides with those characteristic for fibroblasts in these groups. The intensity of the coloration of the basal membrane of the testicular wall in the intact and control groups of the animals under study, from the fourteenth to the sixtieth day inclusive, the intensity of the color rises from ++ to +++, and then sharply decreases to + in the ninety days of life. In experimental animals of both groups there is a tendency to decrease the density of WGA distribution receptor as part of the basement membrane of blood vessels with an increase in the period of observation, especially expressed in the thirtieth and sixtieth day of life. Fibers and intercellular intestinal interstitial testis of intact and control rats from birth up to forty-fifth day are coloring approximately with the same intensity in brown color. On the sixtieth day of life, a slight increase in the intensity of the color is determined and then on the ninth day the color of these structures is reduced to a light brown color. In the animals offspring obtained after the introduction of a period of gestation during pregnancy, in contrast to interstitial control, there is a consistently low expression of WGA receptors for almost the entire observation period (\pm / +).

Keywords: testes, rats, WGA receptors, utrogestan.

Стаття надійшла 29.09.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування