

результаті цього досягається регенерація і відновлення ендокриноцитів. Принципи трансплантації чоловічої статеві залози розширюють можливості існуючого лікування заповнення андрогенного дефіциту.

Ключові слова: ендокриноцити, трансплантація, сім'яник.
Стаття надійшла 5.09.2014 р.

result, achieved recovery and restoration of endocrine cells. We believe that the free transplantation of immature testis can be considered as one of the methods of filling androgen deficiency of the recipient.

Key words: Leydig cells, transplantation, testis.
Рецензент Шепітько В.І.

УДК 615.32:547.96

О.Г. Куп

Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя

ЛЕКТИНИ В ІМУНОМОРФОЛОГІЇ

В наш час відкривається і описується все більш нових лектинів, про що свідчать роботи вчених Львівської школи морфологів. В той же час лектинова характеристика визначає різні функції одного і того ж лектина або системи лектинів із одного і того ж джерела або однакові функції лектинів різного походження. Проте дослідження структурно-функціональних ознак подібностей і відмінностей лектинів поки ще не дозволяє створити чітку і ясну їх класифікацію. Проте дослідження структурно-функціональних ознак подібностей і відмінностей лектинів поки ще не дозволяє створити чітку і ясну їх класифікацію. Таким чином, запропонована класифікована і систематизована вибірка лектинів для дослідження клітин імунної системи.

Ключові слова: лектини, класифікація лектинів, імунокомпетентні клітини.

Робота є фрагментом НДР «Лектингістохімічна характеристика морфогенезу органів і тканин в ранньому постнатальному періоді в нормі і експерименті» (№ держреєстрації 0109U003986).

В наш час відбувається відновлення наукового інтересу до лектинів у зв'язку з дослідженням всіх вуглеводів які є в організмі, що дозволить розв'язати багато проблем різного науково напрямку, таких як: глікомікронабіопроекти; будова і функціонування біосенсорів; структура лектинів пробіотичних організмів; лектини, як новий клас деструкторів біоплівки патогенів; фізіологічно активні харчові лектини [27]. В Україні лектинологія є пріоритетний науковим напрямком в роботі Запорізької школи морфологів, яку очолює Заслужений діяч науки та техніки, професор М.А. Волошин. Лектингістохімічний метод широко застосовують в професійній діяльності науковці під керівництвом професорів Луцика О.Д., Шепітько В.І., Шаповалової, О.Ю. Черкасова В.Г.

В глікоімунології актуальною проблемою є вивчення механізмів конститутивного або вродженого імунітету і набутого або адаптивного імунітету. Детекція, контроль, захист і корекція взаємовідношень між гліканзв'язуючими білками, полісахаридами і глікокон'югантами відбувається при всіх біологічних процесах, таких як: запліднення, розвиток, міграція клітин, апоптоз та інше, тобто забезпечується цілісне існування багатоклітинного організму [18, 28].

Кожна наука, в тому числі і лектинологія починається з класифікації і номенклатури. В наш час відкривається і описується все більш нових лектинів, про що свідчать роботи вчених Львівської школи морфологів [1, 26]. В той же час лектинова характеристика визначає різні функції одного і того ж лектина або системи лектинів із одного і того ж джерела або однакові функції лектинів різного походження. Проте дослідження структурно-функціональних ознак подібностей і відмінностей лектинів поки ще не дозволяє створити чітку і ясну їх класифікацію [36].

Метою роботи було скласти класифікацію лектинів, що застосовується в практиці імуноморфологів для типування клітин імунної системи. При розробці класифікації лектинів враховувалися данні власних досліджень та інших науковців.

Матеріал та методи дослідження. Об'єктом дослідження стали шматочки плаценти щурів, людини; шматочки шкіри, ясен, лімфатичні вузли щурів. Матеріал плацент породіль забирався згідно забору патологоанатомічного матеріалу. Забір біологічного матеріалу здійснювали у декапітованих тварин, згідно законодавчим правилам про гуманне відношення до тварин. Виготовляли гістологічні препарати. Шматочки тканин фіксували в розчині Буена, заливали в парафін. Ставили лектингістохімічну реакцію для виявлення антигенпрезентуючих клітин, макрофагів, моноцитів, лімфоцитів, застосовуючи панель лектинів: конконоваліну А (Con A), з насіння сої (Glycine max), з насіння сочевиці (Lens culinaris), з насіння арахісу (Arachis hypogaea), виноградного слимака (Helix pomatia), кори бузини чорної (Sambucus nigra), віки посівної (Vicia sativa), лімської фасолі (Phaseolus limensis), лектину зародків пшениці (Triticum vulgare), проводячи візуалізацію бензидином. Для виявлення В1-лімфоцитів проводили

лектингістохімічну реакцію застосовуючи комбінацію з двох лектинів: з насіння сої і конконоваліну А і, відповідно та дві системи візуалізації.

Результати дослідження та їх обговорення. Зазвичай, найбільш не складною є класифікація лектинів за походженням. В залежності від джерела отримання розрізняють: вірусолектини, бактолектини, міколектини, фітолектини та зоолектини. Для дослідження імунокомпетентних клітин використовують, в основному, лектини рослинного походження і лектин тварин з класу безхребетних – лектин виноградного слимака.

Найбільш популярною є класифікація, що спирається на визначення структури кінцевих передуваних моносахаридних залишків олігосахаридних ланцюгів. Кінцевий моносахаридний залишок виконує роль триггеру, що регулює процеси міжклітинного розпізнавання, взаємодії клітин з їх мікрооточенням, внутріклітинний транспорт ферментів, тощо [26]. Наводимо перелік морфологічних ознак лектинів на який може посилатися той чи інший варіант класифікації лектинів для їх детекції. За характером прямого зв'язування вуглеводів і глікокон'югантів лектином з утворенням поліфункціонального лектинового комплексу-ансамблю, при якому враховується організація ділянки розпізнавання, просторове розташування таких ділянок; за дисоціацією комплексу вуглевод-лектин під дією зовнішнього фактору чи пептиду; за чутливістю лектину до присутності вуглевода, який може бути усуненим, модифікованим, замаскованим ферментами чи не ферментативно, наприклад, аутоантигенами при патології та віковій зрілості організму; за характером взаємодії лектина і вуглевода – епітопне (локально просторове) і паттернове (поліепітопне), враховуються валентності ліганда і лектинів (кількості розпізнаваних ділянок, антен гліканів, глікопептидних кластерів гліканів), бриджингової (мостової) здатності задіювати в розпізнаванні кількості мішень - дві чи більше (мозаїки) відносно віддалених одного від іншого ділянок (доменів) амінокислотних мотивів розпізнавання.

За наявністю імуноглобулінових доменів, враховується здатність лектинів впливати на різні етапи метаболізму (здатність проявляти властивості метаболітиків); За характером розпізнавання і зв'язування вуглеводів: родина лектинів С-типу і родина лектинів S-типу (галектини).

За участю іонів кальцію у функціонуванні лектинів – група С-лектинів (маннанзв'язуючий лектин, лектикани, асіалоглікопротеїни, колектини, селектини, рецептори NK-клітин, ендоцитозні рецептори, група Reg, хондролектин, леїлін, тетранектин, поліцистин, аттрактин, основний білок еозинофілів, DGCR2, тромбомодулін, бімлек, SEEC, CBSP/Frem1/QBRICK).

Для експериментального підходу щодо визначення структури лектину, його складової організації на сьогодні застосовують наступні методи: атомно-силову діагностику, біорозподіл лектин-лігандів, хімічне відтворення, круговий дихроїзм, цитофлюорометрію, флюоросцентну фільтрацію, гель-фільтрацію, постановку гемаглютинації, ізометричне калориметричне титрування, різницю передачі накопичення ЯМР спектроскопії, визначення малого кута нейтронів / розсіяння рентгенівських променів, визначення поверхневого плазмонного резонансу, проведення ядерного парамагнітного резонансу спектроскопії, ультрацентрифугування, рентгенівську кристалографію і лектин цито-і гистохімію [35]. Для вирішення поставленої мети дослідження нами використано метод лектинової гістохімії, тому що: по-перше, метод дозволяє в повному обсязі визначати ти чи інші клітини імунної системи; по друге, в своїх дослідженнях ми використовуємо вітчизняні реактиви – кон'югати лектинів з пероксидазою хрому, за що дуже вдячні д. фарм. н., професору Львівського Національного медичного університету імені Данила Галицького Володимирі Олександровичу Антонюку. Враховуючи існуючі класифікації, нами пропонується новітня класифікація лектинів, що використовуються для ідентифікації імунокомпетентних клітин (табл. 1).

Для дослідження антигенпрезентуючих клітин нами використано лектин арахісу. Структура антигенрозпізнавальних рецепторів має складну будову. Враховуючи загальнобіологічну закономірність і результати власних досліджень та результати інших авторів, витікає висновок, що до антигенрозпізнавальних рецепторів належать залишки D-галактози і манози [11, 32]. Вивільнення залишків D-галактози (PNA) шляхом десіалування на поверхні цитоплазматичної мембрани осідлих антигенпрезентуючих клітин після їх хомінг-міграції лежить в основі молекулярного механізму розпізнавання ендogenous галактозними лектинами чужорідних антигенів. Наявність рецепторів на поверхні цитоплазматичної мембрани з вуглеводними залишками β D-галактози, що є лігандами до лектину арахісу вказує на зростання адгезивних властивостей цих клітин до лімфоцитів, що дозволяє ідентифікувати PNA+-дендритні клітини як дозрілі антигенпрезентуючі клітини, які готові до презентації зв'язаних з ними

антигенів. Положення підтверджуються виявленням PNA+-клітин Лангерганса у шкірі та фолікулярних дендритних клітин у лімфатичному вузлі [13, 22].

Таблиця 1

Лектини в імуноморфології

Джерело сировини	Родина	Тип	Назва лектину	Міжнародна абривіатура лектинів	Кінцевий вуглеводний залишок	Клітини	Посилання на ідентифікацію
Plant	C-family Lectins	L-Type Lectins	Wheat Germ Agglutinin	WGA	ClcNac	цитотоксичні лімфоцити	Хомутовський О.А., 1986 [31]
Invertebrate			Helix pomatia (snail) Lectin	HPA	α NacDGal	цитотоксичні лімфоцити інтердигтуючі клітини	Paffaro et al., 1999 [42] Волошин М.А. та ін., 1998 [15] Куц О. та ін., 2014 [23]
Plant Legume Lectins			Jack Bean Lectin	ConA	α Man>Dgal	макрофаги, антигенпрезентуючі клітини	Kato M. et al., 2000 [40] Волошин М.А. та ін., 2008 [11]
			Soy Bean Agglutinin	SBA	NacDGal	B1- і B2-лімфоцити	Reisner Y. et al., 1980 [31] Волошин М.А. і др., 1986 [31]
			Peanut Agglutinin	PNA	β -D-Gal3Dgal NacDGal	Імунологічно-зрілі лімфоцити, клітини Лангерганса, фолікулярні дендритні клітини	Reisner et al., 1980; [44] Волошин М.А. та ін., 1999 [5] Волошин М.А., та ін., 1999 [4] Sherbini E. H. et al., 2000 [45] Куц О.Г. та ін., 1212 [21]
			Phaseolus lunatus (lima) Lectin	PLA	β 1,6-GlcNac	CD4+-лімфоцити	Clark S. J. et al., 1987 [33] Куц О.Г., Волошин, 2010 [20]
			Lens culinaris	LCA	α Man> α Clc	антигенпрезентуючі клітини	Волошин М.А. та ін., 2008 [12]
			Vicia villosa	VVA	NacDGal	цитотоксичні лімфоцити	Kimura et al., 1979 [41]
			Vicia sativa	VSA	NacDGal	цитотоксичні лімфоцити	Волошин М.А. та ін., 2009 [15]
			Jack Bean Lectin + Soy Bean Agglutinin	ConA + SBA	α Man>Dgal + NacDGal	B1-лімфоцити	Куц О.Г. та ін., 2014 [17]
Plant	R-Type	Sambucus nigra	SNA	Neu5AC/2→6Gal	B1- і B2-лімфоцити	Волошин М.А. та ін., 2006 [14]	

Антигенпрезентуючі клітини розпізнають маркери «свого», загальні для всього організму і такими маркерами є найбільш архаїчні молекули міжклітинної адгезії – кадгерини. Кадгерини - трансмембранні глікопротеїни. Кадгерини опосередковують гомотипічну і гетеротипічну адгезію, тому як антигенрозпізнаючі рецептори вони еволюційно закріпилися і збереглися на антигенпрезентуючих клітинах. Так відомо, що в шкірі, плаценті, лімфатичних вузлах антигенпрезентуючі клітини мають на цитоплазматичній мембрані рецептори з вуглеводними залишками (D-Gal) і виявляють спорідненість до лектину арахісу (PNA).

Функція протокадгеринів тісно пов'язана з функцією протеосом. Протеосоми – мультікаталітичні високомолекулярні ендпротеази, які відіграють провідну роль у процесінгу антигенів. Засіб процесування детермінується спектром протеаз і тим самим специфічним типом рецептора, активація якого ініціює синтез протеаз для презентації розпізаного імуногена. Рецептори-активатори функціонують паралельно з молекулами головного комплексу гістосумісності та з протеосомним апаратом.

Контроль над процесом підтримки постійності внутрішнього середовища багатоклітинного організму відбувається в наслідок процесування сингенів або гомоаллогенів на протеосомах (ендогенним шляхом) в антигенпрезентуючих клітинах. Процесування антигенів сингенного або гомоаллогеного походження призводить до утворення супрамолекулярних комплексів – частково розщеплених антигенів з молекулами I класу головного комплексу. Рецептори головного комплексу гістосумісності мають в своєму складі вуглеводну частину. Якщо вуглеводний ланцюг не редукований, він закінчується фукозою і сіаловою кислотою, які завжди знаходяться в дистальному положенні до поліпептидного ланцюга, в той час як ацетилгалактозамін і галактоза – в проксимальному положенні і часто утворюють зв'язок з амінокислотами в молекулах білків, в першу чергу з аспарагіном, серином, тріоніном, гідроксилізином і гідроксипроліном. Найбільша концентрація рецепторів головного комплексу гістосумісності відмічається на цитоплазматичній

поверхні антигенпрезентуючих клітин, тому виявлення вуглеводних залишків галактози до і після десіалування можна вважати реакцією специфічною [37, 43, 49]. Крім того, до біологічної ролі рецепторів із залишками β D-галактози із родини галектинів належить формування та регуляція імунного гомеостазу організму, а саме контроль за апоптозом Т-лімфоцитів і дозріванням В-лімфоцитів [35]. Галектини регулюють вроджений і надбаний імунітет [46, 49, 50], експресуючись за потребою на дендритних клітинах, макрофагах, тучних клітинах, НК-клітинах, $\delta\gamma$ -Т-лімфоцитах і В1-лімфоцитах, а також активованих В- і Т-лімфоцитах [20, 39].

У антигенпрезентуючих клітин (макрофаги, дендритні клітини) до складу антигенрозпізнавальних рецептрів входять залишки занози, що було доведено при вивченні лімфоїдної тканини, асоційованою з плацентою [12].

Манозний рецептор антигенрозпізнаючих клітин є трансмембранним білком I-го типу, N-кінцева частина якого локалізована позаклітинно, з коротким (45 кислотних залишків) цитоплазматичним фрагментом. Позаклітинна частина, що приймає участь в детекції залишків термінально локалізованих манноз представлена восьмома доменами, характерними для лектинів С-типу, короткого N-кінцевого фрагменту, збагаченого цистеїном і фібронектиновим повтором II типу [47]. Фібронектинова частина має вуглеводну частину (Cal β 1-CalNac α), яка є спорідненою до лектину арахісу (PNA). Маннозозв'язуючий лектин зв'язує залишки D-маннози, D-N-ацетилглюкозаміна, L-фукози, D-N-ацетилманнозоаміна, які входять до складу чужорідних антигенів. Слабше він взаємодіє з кінцевими залишками D-глюкози. Специфічне зв'язування вуглеводних залишків визначається наявністю у останніх двох екваторіально розташованих гідроксильних груп в положеннях 3 і 4, що формують водневі зв'язки з парою амінокислот. Кожна з гідроксильних груп пов'язана з Ca $^{2+}$, що відіграє ключову роль в стабілізації ліганд-білкового комплексу. Галактоза, що має гідроксильну групу OH в четвертому аксіальному положенні, не здатна утворювати подібні комплекси. Саме ця обставина перешкоджає зв'язуванню маннозозв'язуючого лектину з глікопротеїнами клітин своїх же клітин, термінальне положення в якій займають галактоза, сіалові кислоти та їх похідні. Тому в нормі, при відсутності чужорідного антигену залишки маннози на антигенрозпізнаючих клітинах екрановані, наприклад сіаловою кислотою, що є основою дискримінації «своє-чуже», а антигенрозпізнаючі клітини перебувають в анергічному стані [42].

Для виявлення антигенпрезентуючих клітин, макрофагів і моноцитів також застосовують лектин сочевиці (LCA) [9, 34, 48]. Антигенрозпізнавальний рецептор має складну будову, за механізмом розпізнаючий не тільки не відсутність свого (за наявністю рецепторів до Cal β 1-CalNac α (PNA+), а також, одночасно, і наявність чужого через манозний рецептор (Man+). Для більш детального і ефективного виявлення антигенпрезентуючих клітин доцільно проводити лектингістохімічну реакцію застосовуючи комбінацію з двох лектинів і, відповідно, дві системи візуалізації. Комбінація лектинів підбиралась емпіричним і теоретичним шляхом. Спираючись на власні дослідження і данні інших науковців, була підібрана найбільш вдала комбінація лектинів для вивчення антигенпрезентуючих клітин – соя і конконовалін А та арахіс і конконовалін А [25].

Також емпіричним шляхом було підібрано лектин, що специфічно виявляє інтердигітуючі клітини паракортикальної зони лімфатичного вузла. Ним виявився лектин виноградного слимака (HPA), що є лігандом до залишків α NAcDGal [16]. Глікокалікс виявлених HPA+-антигенпрезентуючих клітин утримує в собі кінцеві залишки N-ацетил-D-галактози (DGalNAc), що може бути основою молекулярного механізму розпізнавання чужорідних макромолекул, як циркулюючих ізольовано в складі тканинної рідини, так і пов'язаних з поверхнею лімфоцитів. Відомо, що лектин виноградного слимака зв'язується O-зв'язком з α -GalNAc, а також розпізнає галактозу (β 1-3) Gal і α -GlcNAc, тобто моноцитарні антигенпрезентуючі клітини, як і класичні антигенпрезентуючі клітини, здатні презентувати два типи білків – глікозильовані і неглікозильовані, представляти інформацію CD8+- CD4+-лімфоцитам у відповідь на антигену ліпополісахаридну стимуляцію [24]. Розпізнавання «свого-несвого» через галактозу і манозу є найбільш архаїчним механізмом підтримки цілосності внутрішнього середовища організму. Тому контроль за гомеостазом через перелічені глікопротеїди зберігся макрофагами, дендритними клітинами, $\gamma\delta$ -Т-лімфоцитами та В1-лімфоцитами.

На момент появи $\gamma\delta$ -Т-лімфоцитів у філогенезі вже відбулося розходження лімфоцитів на дві (Т і В) ланки імунітету. Тому у $\gamma\delta$ -Т-лімфоцитів і В1-лімфоцитів з'являється нова форма антигенрозпізнавального рецептору - за походженням імуноглобулінової природи.

За філогенетичним аналізом встановлено, що найбільш еволюційно раннім у високоорганізованих організмів є антигенрозпізнаючий рецептор комбінаторного типу $\gamma\delta$ TKP [28].

Підтвердженням цього є морфо-функціональні особливості $\gamma\delta$ -Т-лімфоцитів. Їх рецептори, як і імуноглобуліни здатні неопосередковано зв'язуватися з антигеном, $\gamma\delta$ -Т-лімфоцити складають переважну частину лімфоцитів, що синтезують молекули родини імуноглобулінової природи (IRS). Синтез пептидів - рецепторів імуноглобулінової природи відбувається в ендоплазматичному ретикульомі. До амінокислотних послідовностей – серін, тріонин, приєднується О-глікозильований нередукований вуглеводний ланцюг, у якого термінальним вуглеводним залишком є – NacDGal. Данний глікопротеїд експортується на поверхню цитоплазматичної мембрани $\gamma\delta$ -Т-лімфоцитів шляхом зворотнього піноцитозу. Таким чином, активовані $\gamma\lambda$ -Т-лімфоцити експресують ТКР-V-рецептор, до складу якого входить корецептор вуглеводної природи NacDGal, що є лігандом до лектину сої (SBA) [38].

Таким чином, можливо передбачити, що в філогенезі попередньо виникла однорідна популяція лімфоцитів, яка пізніше розділилася на Т- і В-ланки. Щоб розрізнити $\gamma\lambda$ -Т-SBA+-лімфоцити і $\gamma\lambda$ -B1-SBA+-лімфоцити, яким також притаманні антигенрозпізнаючі функції, необхідно врахувати топографію лімфоцитів різних субпопуляцій. $\gamma\lambda$ -Т-SBA+-лімфоцити належать до внутрішньоепітеліальних лімфоцитів – їх виявляють, переважно, в епідермісі шкіри, серед ентероцитів, в складі ендометріальних залоз [3, 7, 23]. $\gamma\lambda$ -B1-SBA+-лімфоцити також виявляють в епітеліальній тканині. Тому кращім способом виявити B1-лімфоцити є постановка лектингістохімічної реакції з комбінуванням двох лектинів – сої і конконоваліну, для виявлення їх імуноглобулінових і антигенрозпізнаючих рецепторів [17].

Зазвичай SBA+-лектингістохімічний маркер застосовується для виявлення взагалі всіх В-лімфоцитів (і B1- і B2-лімфоцитів). Лектин сої (SBA) – фенотипічний маркер В-лімфоцитів. Лектин сої (SBA) приєднується до проліл-тріонінових і проліл-серінових амінокислотних послідовностей важких ланцюгів імуноглобулінових рецепторів цих лімфоцитів [45].

Емпіричним шляхом нами було підібрано лектин – лектин кори бузини чорної, що дозволяє диференціювати В-лімфоцити. Виявлення В-лімфоцитів в гістологічних препаратах даним лектином відрізняється тим, що на поверхні цитоплазматичної мембрани В-лімфоцитів виявляються високо специфічні рецептори, що мають вуглеводні залишки Siaa2-6Gal β 1-4GlcNAc β 1, які є лігандами для лектину кори бузини чорної (SNA) [14].

Імунологічно незрілі лімфоцити можливо виявляти за допомогою лектину земляного горіха (PNA). Даний лектин специфічно з'єднується із залишками галактози, приєднаної до N-ацетилгалактозаміна (D-галактоза- β (1-3)-N-ацетилгалактозамін) [2]. В наших дослідженнях ми виявляли імунологічно незрілі PNA+-лімфоцити в епідермісі шкіри, серед епітеліальних клітин мезометральних залоз децидуальної оболонки матки і в плодовій частині плаценти [4, 6]. Стимулом дозрівання імунологічно незрілих PNA+- $\gamma\delta$ -Т-лімфоцитів є глюкопротеїд 60 – білок теплового шоку, який продукується епітеліальними клітинами, та взагалі для всіх Т-лімфоцитів активаторами дозрівання є біологічні активні речовини, що продукуються епітеліальними клітинами [31]. Незрілі лімфоцити мають поверхневі глікопротеїни, що не сіалізовані. Протягом дозрівання лімфоцитів залишки D-галактози екрануються сіаловими кислотами.

Агглютинин омара (LAgl), що специфічно взаємодіє з сіаловою кислотою (N-ацетилнейрамінова кислота), може бути використаний для виявлення імунологічнозрілих лімфоцитів. Сіалові кислоти виконують роль маркерів диференціювання, а також відіграють рецепторну роль. На шляху диференціювання, в процесі зростання активності сіалотрансферази і кількості сіалових кислот лімфоцити отримують сигнал о міграції в окремий орган, тобто сіалова кислота у складі поверхневих антигенів лімфоцитів сприяє екотаксису [29]. В наших дослідженнях імунологічно незрілі PNA+- $\gamma\delta$ -Т-лімфоцити виявлялися в епідермісі шкіри, в плодовій і материнській частині плаценти [5, 6].

Універсальним маркером всіх популяцій цитотоксичних лімфоцитів є рецептор, що проявляє спорідненість до лектину слимака (HPA) [8, 10, 41, 44], лектину горошку обволоченого [26], лектину зародків пшениці [30]. Цитотоксичні лімфоцити на цитоплазматичній мембрані мають селективний глікопротеїн T134, що проявляє спорідненість до лектинів, для яких лігандами є глікоконьюгат D-GalNAc. Синтез і накопичення D-GalNAc протікає в гранулах цитотоксичних лімфоцитів, але подальшої елонгації оліговуглеводного ланцюга не спостерігається. Концентруючись у великій кількості на поверхні цитоплазматичної мембрани цитотоксичних лімфоцитів D-GalNAc-залишки приймають участь у зв'язуванні та розщепленні ядерної ДНК, опсонізації бактерій і апоптозних клітин, приймають участь в протипухлинному імунітеті.

Експериментальним шляхом нами встановлено, що для виявлення цитотоксичних лімфоцитів можливо також застосовувати лектин *Vicia sativa*, який виявляє специфічний мембраноасоційований глікопротеїд T 145 [15].

Для виявлення лімфоцитів-хелперів в плаценті ставили лектингістохімічну реакцію по виявленню рецепторів на поверхні цитоплазматичної мембрани клітин до лектину лімської квасолі (*Phaseolus lunatus* L. - PLA). Візуалізацію реакції проводили по наявності відкладань часточок бензидину на поверхні цитоплазматичної мембрани клітин. CD4 (W3/25) рецептор – трансмембранний поліпептид з цитоплазматичними і позаклітинними доменами. До зовнішнього фрагменту рецептору приєднані вуглеводні залишки імуноглобулінової природи, до яких в свою чергу приєднані олігосахариди - β 1,6-N-ацетилглюкозамін (β 1,6-GlcNAc, N-гліканового типу), отриманий з *Phaseolus vulgaris* (PHA) [33]. Лектин лімської квасолі та квасолі звичайної мають східні вуглеводні залишки, що є лігандами до вуглеводної частини CD4-рецептора. Крім того, для виявлення рецепторів CD4 можливо використовувати лейкоцитарний еритроаглютинин-лектин (L-PHA), що є фрагментом лектину з *Phaseolus vulgaris* (PHA) [21].

Насумок

Запропоновано класифіковану і систематизовану вибірку лектинів для дослідження клітин імунної системи.

Перспективи подальших досліджень у даному напрямку. Мета -поповнювати вибірку лектинів для подальшого дослідження імунокомпетентних клітин.

Список літератури

1. Antonyuk V.O. Lektyny ta yih syrovynnyi dzherela / V.O. Antonyuk // – Lviv, - 2005.- 554 s.
2. Bronz B. D. T-limfotsity i ih retseptory v immunologicheskomo raspoznavanii / B. D. Bronz // – M. : Nauka, -1987. – 470 s.
3. Voloshin N. A. Vliyanie vnutritrobnoy antigennoy stimulyatsii na stanovlenie epidermisa kozhi krysa v postnatalnom periode / N.A. Voloshin, O. G. Kusch //Aktualni pytannya farmatsevtichnoyi ta medichnoyi nauky ta praktyky: zb. nauk. st. Zaporizhzhya.- 1998. - Vyp. II. - T.2. - S.48-5.
4. Voloshin N. A. Stanovlenie limfoidnoy tkani, assotsirovannoy s kozhey, u krysa v techenie pervogo mesyatsa zhizni / N. A. Voloshin, O. G. Kusch // Mater. nauk. konf. «Teoretichni ta klinichni aspekti limfologii». – Kyiv, - 1999. S. 9-10.
5. Voloshin N. A. Dinamika limfotsitov s retseptorami k lektinu arahisa v organah novorozhdennykh belykh krysa posle vnutritrobnoho vvedeniya antigena / N.A. Voloshin, M.E. Ivanov, O.G. Kusch [i dr.] / International journal on immunorehabilitation. – 1999. - No12. –126.
6. Voloshin M. A. Dinamika kilkosti imunologichno nezrilykh PNA –limfotsitiv u labirintnomu viddili platsenti v normi i pislya imunizatsiyi tvarin stafilokokovim anatoksinom / M. A. Voloshin, O. G. Kusch // Visn. Zaporizkogo Nats.–tu. Biologichni nauki. – 2006. – No 1. – 168 s.
7. Voloshin M. A. Osoblivosti rozpodilu V–limfotsitiv v detsidualniy obolontsi matki protyagom tretogo periodu vagitnosti v normi ta pislya imunizatsiyi vagitnih stafilokokovim anatoksinom / M. A. Voloshin, O. G. Kusch // Svit meditsini ta biologiyi. – 2006. – No 1. – S. 11–13.
8. Voloshin M.A. Dinamika HPA -tsitotoksichnih limfotsitiv u matkovo-platsentarnomu interfeysi protyagom tretogo misyatsya vagitnosti // M.A. Voloshin, O.G. Kusch // Problemy, dostizheniya i perspektivy razvitiya mediko-biologicheskikh nauk i prakticheskogo zdorovhareniya : tr. Krymskogo gos. med. un-ta im. S.I. Georgievskogo. – 2006. – T. 142, ch.1. – S. 10-13.
9. Voloshin M. A. Dinamika kilkosti makrofagiv v detsidualniy tkanini matki protyagom tretogo periodu vagitnosti v normi ta pri imunizatsiyi vagitnih stafilokokovim anatoksinom / M.A. Voloshin, O.G. Kusch // Visnyk problem biologiyi ta meditsini. - 2006. – Vyp. 2. – S. 232-234.
10. Voloshin M. A. Dinamika kilkosti tsitotoksichnih limfotsitiv u platsenti protyagom tretogo periodu vagitnosti v eksperimenti / M. A. Voloshin, O. G. Kusch / Klinichna anatomiya ta operativna hirurhiya – 2006-T.5.- No2.- S. 23-24.
11. Voloshin M. A. Osoblivosti budovi limfoidnoyi tkanini asotsiyovanoi z platsentoyu u porodil pri fiziologichno perebigayuchiy vagitnosti ta pri zmineniy imunologichniy reaktivnosti materinskogo ta plodovogo organizmiv / M. A. Voloshin, O. G. Kusch // Ukrainskiy medichniy almanah.-2008.- T. 6, No1.- S. 64-67.
12. Voloshin M. A. Limfoidna tkanina asotsiyovana z platsentoyu / M. A. Voloshin, O. G. Kusch // Tavricheskiy mediko-biologicheskij vestnik – 2008. No 3, Ch. 3.- S. 24-27.
13. Voloshin M. A. Vzayemozvyazok mIzh morfofunktionalnim stanom limfoidnoyi tkanini shkiri novonarozhdzenogo ta platsentoyu / M.A. Voloshin, O.G. Kusch// Svit meditsiny ta biologiyi. -No 3, Ch. II.- 2009.- S.92-94.
14. Deklaratsiyinyy patent na korisnu model No 13282 Ukrayina, MPK (2006) G 01N 21/00. Sposib viyavleniya V-limfotsitiv v gistologichnih preparatah / Voloshin M.A., Kusch O.G.; zayavnyk i patentovlasnyk Zaporizkiy derzhavniy medichniy universitet. – No u 2005 09959 ; zayavl. 24.10.2005 ; opubl. 15.03.2006, Byul. No 3.
15. Deklaratsiyinyy patent na korisnu model No 16752 Ukrayina, MPK (2006) G 01N 23/00. Sposib viyavleniya tsitotoksichnih limfotsitiv v gistologichnih preparatah / Voloshin M.A., Kusch O.G.; zayavnyk i patentovlasnyk Zaporizkiy derzhavniy medichniy universitet. - No u 4567 09934 ; zayavl. 15.03.2009 ; opubl. 20.09.2009, Byul. No 5.
16. Deklaratsiyinyy patent na korisnu model No 85720 Ukrayina, MPK (2013.01) G 01N 21/00. Sposib viyavleniya antigenprezentuyuchih klitin v parakortikalniy zoni limfatichnogo vuzla / Kusch O.G., Voloshin M.A., Vasylychuk N.G.; zayavnyk i patentovlasnyk Zaporizkiy derzhavniy medichniy universitet. - No u 2013 07666 ; zayavl. 17.06.2013; opubl. 25.11.2013, Byul. No 22.
17. Deklaratsiyinyy patent na korisnu model No 89088 Ukrayina, MPK (2014.01) G 01N 21/00. Sposib diferentsiyovanogo viyavleniya V1-limfotsitiv v gistologichnih preparatah / Kusch O.G., Voloshin M.A., Varakuta O.A.; zayavnyk i patentovlasnyk Zaporizkiy derzhavniy medichniy universitet. - No u 2013 12976 ; zayavl. 08.11.2013 ; opubl. 10.04.2014, Byul. No 7.
18. Kokryakov V.N. Ocherki o vrozhdennom immunitete / V.N. Kokryakov / Spb.: Nauka, - 2006.-261 s.

19. Korotyayev A.I. Meditsinskaya mikrobiologiya, immunologiya i virusologiya : uchebnyk dlya med. vuzov / A. I. Korotyayev, S. A. Babichev // – Spb.: SpetsLit, - 2008.- 4-e izd., ispr. i dop. - 767 s.
20. Kusch O.G. Metodyka vyvchennya populyatsiyi $\gamma\delta$ -T- limfotsitiv iz vikoristanniam paneli lektyniv / O.G. Kusch, M.A. Voloshin // Visnyk morfologiyi. - No16 (1).- 2010. S. – 76-81.
21. Kusch O.G. Doslidzhennya PLA+-limfotsitiv-helperiv v detsidualnyy tkanini matki porodil / O.G. Kusch, M.A. Voloshin // Ukrayinskiy morfologichnyy almanah. - No 2, T 8. – 2010. – S. 118-120.
22. Kusch O.G. Morfofunktsionalna charakteristika PNA+- antigenprezentuyuchih klitin mediastynalnogo limfotichnogo vuzla schuriv v rannomu pislyankatalnomu periodi v normi ta pisly vnutrivshnplidnoyi diyi antigenu / O.G. Kusch, N.G. Vasilchuk // Ukrayinskiy medichnyy almanah – 2012.- T. 15, No 5 (dodatok) – S. 164-167.
23. Kusch O.G. Charakteristika limfotsitiv, scho mayut retseptori do lektynu soyi v detsidualnyy obolontsi matki v I i II periodah vagitnosti v normi i pisly samovilnogo vikidnya / O.G. Kusch, O.V. Zlobina//. Ukrayinskiy zhurnal ekstremalnoyi meditsyny - 2013. T.14, No3 –S. 71-74.
24. Kusch O.G. Lektinretseptorniy aparat interdigituyuchih klitin parakortikalnoyi zoni limfatichnogo vuzla / O.G. Kusch // Zdobutki naukovih i eksperymentalnih doslidzhen.- No 2. – S. 23-27.
25. Kusch O.G. Vuglevodnyy kod antigenprezentuyuchih klityn platsenty / O.G. Kusch // Medichna himiya. – 2014.- No2.- S. 17-21.
26. Lutsik A. D. / Lektyny v gistohimii / A.D. Lutsik, E.S. Detyuk, M.D. Lutsik // Vyscha shkola.- Lvov.- 1989. – 109 s.
27. Lahtin M. V. Lektin-glikokonyugantnyie sistemy v organizme cheloveka / M.V. Lahtin, A.V. Karaulov, V.M. Lahtin [i dr.] // Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya. – 2012. - No1. – S. 27-36.
28. Polevshikov A.V. Lektyny v zaschitnyh reaktsiyah hordovyih zhivotnyih/A.V. Polevshikov/Immunologiya.-1996.- No 1.-S. 48-56.
29. Robinson M.V. Morfologiya i metabolizm limfotsitiv / M.V. Robinson, L.B. Toporkova, V. A. Trufakin // - Novosibirsk : Nauka, - 1986.- 127s.
30. Homutovskiy O. A. Elektronnyaya gistohimiya retseptorov kletochnyih membran / O. A. Homutovskiy, O. F. Perederni, A. D. Lutsik // Kiev : Naukova dumka, - 1986. -167 s.
31. Hlystova Z. S. Posledovatelnost vstraivaniya limfoidnyih organov v razvivayuschuyusya immunnuyu sistemu ploda cheloveka i ee znachenie v perinatalnoy patologii / Z. S. Hlystova, I. I. Kalinina, S. P. Shmeleva [i dr.] // Arhiv patologii. – 2002. – T. 64, No 2. – S. 16–19.
32. Yakobysyak M. Immunologiya / V. V. Chopyak // – Vinnytsya: NOVA KNYGA, -2004. – 672 s.
33. Clark S. J. Peptide and nucleotide sequences of rat CD4 (W3/25) antigen: evidence for derivation from a structure with four immunoglobulin-related domains // S. J. Clark, W. A. Jefferies, A. N. Barclay [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.- 1987. - № 84(6).- P. 1649–1653.
34. Dunn W. Phagocytosis stimulates alternative glycosylation of macrofialin (mouse CD68), a macrophage-specific endosomal protein // Biochem. J. -1999. -№ 338.- P. 687–694.
35. Dam T. K. Effects of clustered epitopes in multivalent ligand-receptorinteractions / T.K. Dam, C.F. Brewer // Biochemistry - 2008. - Vol. 47. - P.8476-8485.
36. D'Adamo P. / Fundamentals of Generative Medicine / P. D'Adamo // Drum Hill Publishing. - Wulton CT.- 2011.- 230 p.
37. El H. Sherbini Lectin ligands on human dendritic cells and identification of a peanut agglutinin positive subset in blood / El H. Sherbini, B. Hock, D. Fearnley [et. al.] // Cell Immunol. – 2000. - Vol. 25; 200 (1). - P. 36-44.
38. Horner A. A. $\gamma\delta$ -T lymphocytes express CD40 ligand and induce isotype switching of B lymphocytes / A. A. Horner, H. Jabara, N. Ramesch, R. Geha // J. Exp. Med. –1995. - Vol. 181. – P. 1239–1244.
39. Human galectin-1, -2, and -4 induce surface exposure of phosphatidylserine in activated human neutrophils but not in activated T cells / S. R. Stowell, S. Karmakar S., C.J. Stowell [et. al.] // Blood. – 2007. - Vol. 109. - P 227-235.
40. Gabius H.-J. From lectin structure to functional glycomics: principles of the sugar code / H.-J.Gabius, S. Andre, J. s Jimenez-Barbero [et. al.] // Cell. - 2011. - Vol. 36, No. 6. – P. 298-313.
41. Kimura A. Selective affinity fractionation of murine cytotoxic T lymphocytes (CTL). Unique lectin specific binding of the CTL associated surface glycoprotein / A. Kimura, H. Wigzell, G. Holmquist [et al.] // J. of Experimental Medicine. – 1979. – Vol. 149. – P. 473–484.
42. Kato M. Expression of multilectin receptors and comparative FITS–dextran uptake by human dendritic cells / M. Kato, K. T. Neil, D. Fearnley [et al.] //International Immunology. – 2000. – Vol. 12, № 11. – P. 1511–1519.
43. Kadowaki N. Subsets of human dendritic cell precursors express different toll-like receptors and respond to different microbial antigens / N. Kadowaki, S. Ho [et al.] // J. Exp. Med. – 2001.- Vol. 194.- P. 863-869.
44. Paffaro V. A. Glycoconjugates containing N–acetyl–galactosamine expressed by mouse natural killer used as selective cell marker / V. A. Paffaro, M. Celina, Haraguchi [et al.] //8th Meeting of European Placental Group. –IFPA. – 1999. – P.345–350.
45. Reisner Y. Separation of antibody helper and antibody suppressor human T cells by using soybean agglutinin / Y. Reisner, J.W. Chiao, N. Sharon // J. Natl. Acad. Sci USA.- 1980.- Vol. 77, № 11.- P. 6778-6782.
46. Rabinovich G.A. Functions of cell surfacegalectin-glycoprotein lattices // G.A. Rabinovich, M.A. Toscano, S.S. Jackson [et. al.] / Curr Opin. Struct. Biol. - 2007b. - Vol. 17. P. 520-564.
47. Stahl P. D. The mannose receptor is a pattern recognition receptor involved in host defense / P. D. Stahl, R. A. Ezekowitz // Curr. Opin. Immunol. – 1998.- Vol. 10. - P. 50-55.
48. Su Y. Glycosylation Influences the Lectin Activities of the Macrophage Mannose Receptor / Y. Su, T. Bakker, J. Harris. [et al.] // J. Biol. Chem. - 2005.- Vol. 280.- P. 32811-32820.
49. Vasta G. R. Roles of galectins in infection / G. R. Vasta // Nat Rev Microbiol. – 2009. - Vol. 7. P. 424-437.
50. Van Die I. Glycan gimmickry by parasitic helminths: a strategy for modulating the host immune response? / I. Van Die, R.D. Cummings // Glycobiology. - 2010. Vol. 20. - P 2-18.

Реферати

ЛЕКТИНИ В ИМУНОМОРФОЛОГИИ

Куш О. Г.

В наше время открываются и описываются все больше

LECTINS IN IMUNOMORFOLOHIYI

Kusch A. G.

In Our Time otkryvayutsya and opysyvayutsya all

новых лектинов, свидетельством чего являются работы ученых Львовской школы морфологов. В тоже время лектиновые свойства определяют разные функции одного и того же лектина или системы лектинов из одного и того же источника или одинаковые функции лектинов единого происхождения. Вместе с тем исследования структурно-функциональных признаков подобности и отличий лектинов на данный момент не привели к созданию четких и ясных основ классификации. Таким образом, предложена классификация и систематизирована выборка лектинов для изучения клеток иммунной системы.

Ключевые слова: лектины, классификация лектинов, иммунокомпетентные клетки.

Стаття надійшла 5.09.2014 р.

bolshe novyh lectin, Testimony cheho javljajutsja work uchennyh Lvovskoy morfolohov schools. In ôîââ TIME lektynovye properties opredelyayut Different functions of one and the same lectin lectin ili system of one and the same function of the source ili odynakovye lectin unique origin. Together with the topics of the study of structural and funktsyonalnyh pryznakov podobnosti and otychyuy lectin Data on the time of the creation of no avail k Rosary and yasnyh bases classification. Thus, proposals Classification and systematizyrovana vyboroka lectin for Study ymmunnoy cell system.

Key words: lectins, lectin classification, immunokompetentnye cells

Рецензент Волошин М.А.

УДК 611.428.018.1 – 053.31+[618.29+618.33]-097.1

О. Г. Куц, Н. Г. Васильчук

Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя

ОСОБЛИВОСТИ АНАТОМІЇ ТА КЛІТИННИЙ СКЛАД ПАРЕНХІМИ МЕДІАСТИНАЛЬНОГО ЛІМФОВУЗЛА У НОРМІ ТА ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОПЛІДНОГО ВВЕДЕННЯ СПЛІТ-ВАКЦИНИ

Описано кількість лімфоцитів в паренхімі вузла в нормі та під впливом вірусного антигену. Встановлено, що в ранньому постнатальному онтогенезі вірусна вакцина «Ваксігріп» прискорює формування окремих структур медіастинального лімфатичного вузла та впливає на становлення популяції лімфоцитів В-залежної зони.

Ключові слова: медіастинальний лімфатичний вузол, лімфоцит, антиген, вакцина.

Розширення спектру морфологічних та імунологічних методів дослідження, а також необмеженість патологічних та реактивних станів органів імунної системи в останній час сприяє виникненню інтересу до вивчення лімфоцитів у спеціалістів різних галузей медицини та біології. Згідно літературних джерел, питання резервної можливості лімфоїдних органів в області імунного гомеостазу організму залишаються відкритими, у зв'язку з неповними відомостями про їх кількість, топографію та морфологічну характеристику в цілому [9].

Надзвичайно важливим є з'ясування ролі в розвитку патології плода, респіраторних вірусів у зв'язку з їх широкою розповсюдженістю. Особливо це стосується вірусу грипу, який внаслідок мінливості здатний викликати епідемії і пандемії [11]. Є дані про використання вакцини у вагітних без вказівок на можливість негативного впливу вакцинації на плід і організм жінки. Вакцинація може проводитися починаючи з другого, третього триместру вагітності відповідно до розділу 4 Календаря профілактичних щеплень, затверджених МОЗ України від 03.02.2006 року №48 (згідно інструкції препарату). Спліт - вакцина «Ваксігріп» містить всі вірусні білки: гемаглютинін і нейрамінідазу, білки нуклеопротеїду вірусу. Наявність у вакцини внутрішніх антигенів вірусу (нуклеокапсиду і матричного білка), на думку винахідників вакцина захищає не тільки від щорічних штамів вірусу грипу, а частково і від усіх можливих різновидів вірусу, оскільки внутрішні антигени не особливо схильні до мутацій. Імуногенність вакцини безпосередньо пов'язана з її ефективністю за рахунок наявності внутрішніх антигенів вірусу.

Але в даний час доведена можливість проникнення вірусу грипу через плаценту, причому в різні терміни вагітності. Зареєстровані випадки переривання вагітності, загибелі плоду, аномалії його розвитку. В результаті інфекції можливе народження недоношених і функціонально незрілих дітей, а також дітей з недостатньою масою тіла. Вплив вірусу грипу при внутрішньоутробній інфекції обумовлено дією збудників на плаценту і плід, а також вираженою інтоксикацією, підвищеною температурою тіла, порушенням матково-плацентарного кровообігу з розвитком в подальшому гіпоксії плода [7].

Структурний елемент лімфоїдної тканини -- лімфоцит, є функціонально імунокомпетентною одиницею в реакціях гіперчутливості уповільненого типу, трансплантаційного імунітету, а також попередником антитілопродукуючої клітини та носієм імунологічної пам'яті. Крім того, він виділяє ряд медіаторів, що включають до імунної відповіді імунокомпетентні та допоміжні клітини [5, 12]. У структурних компонентах паренхіми лімфатичних вузлів постійно відбуваються процеси міграції, диференціювання та проліферації субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів, тому виникла необхідність дослідити зміни клітинного складу структурних компонентів медіастинального