

В. П. Білаш

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВУГЛЕВОДНИХ ЗАЛИШКІВ НА СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТАХ КІНЦЕВИХ СЕКРЕТОРНИХ ВІДДІЛІВ ПІДНИЖНЬОЩЕЛЕПНИХ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЛЮДИНИ ТА ДЕЯКИХ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН

В роботі за допомогою лектиногістохімічного дослідження проведений порівняльний аналіз складу вуглеводних залишків на структурних компонентах кінцевих відділів піднижньощелепних слинних залоз людини та лабораторних тварин: собак, кролів, щурів, морської свинки. Встановлено, що розподіл вуглеводних залишків на структурних компонентах кінцевих відділів піднижньощелепних слинних залоз залежить від видового походження особини і має свої спорідненні і відмінні риси.

Ключові слова: піднижньощелепна слинна залоза, білкові ацинуси, змішані ацинуси, лектини.

Робота є фрагментом НДР «Вікові аспекти структурної організації органів імунної системи, залоз шлунково-кишкового тракту та сечо-статевої системи людини в нормі і патології» № державної реєстрації 0111U004192.

Вивчення морфології великих слинних залоз є актуальною медико-біологічною проблемою, особливо у порівняльному аспекті, враховуючи розповсюдженість їх захворювань і відповідно до доступних наукових досліджень відсутності в літературних джерел з питань порівняльної морфології слинних залоз людини і лабораторних тварин на яких проводяться клінічні та експериментальні дослідження. Морфологічні дослідження включають до свого арсеналу цілу низку способів, але традиційні методи, при високій вірогідності та великій різноманітності одержаної за допомогою них інформації, не позбавлені певних недоліків [5].

Нові горизонти для морфологічної науки відкрились у зв'язку з запровадженням для досліджень моноклональних антитіл і лектинів. Якщо імунногістохімічно можливо виявити і надати характеристику молекулярно-просторової організації як поліпептидних так і вуглеводних ланцюгів біополімерів, то лектинохімічно можливо диференціювати вуглеводні детермінанти біологічних макромолекул [1, 3].

Метою роботи було встановлення специфічності вуглеводних залишків на структурних компонентах кінцевих секреторних відділів піднижньощелепних слинних залоз людини та деяких лабораторних тварин до визначеної панелі лектинів з подальшим порівняльним аналізом складу їх вуглеводних детермінант.

Матеріал та методи дослідження. Для дослідження використовувались піднижньощелепні слинні залози людини (чоловічої статі), щурів, кролів, собак, морських свинок (самців). Забір піднижньощелепних слинних залоз лабораторних тварин проводився в умовах малої операційної віварію ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» згідно з «Правилами використання лабораторних експериментальних тварин» (2006, додаток 4) і Гельсінською декларацією про гуманне відношення до тварин. Під тіопенталових наркозом вилучалась ліва піднижньощелепна слинна залоза з метою подальшого збереження життя лабораторних тварин. Ліві піднижньощелепні слинні залози людини, для проведення дослідження, а потім порівняльного аналізу вилучались у трупів людей, які знаходились на зберіганні в архіві трупного матеріалу кафедри анатомії людини ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». Після забору матеріалу залози фіксували у 4% розчині нейтрального формаліну. Для отримання оглядових препаратів зрізи товщиною до 5 мкм фарбували гематоксиліном і еозином. В подальшому препарати обробляли з використанням стандартних наборів НПК «Лектинотест» м. Львів у розведенні лектинів 1:50 за методикою [4].

Специфічність лектинів до термінальних нередукованих моносахаридних залишків глюкоконюгатів наведена у відповідності з даними [2]. Вуглеводні детермінанти структурних компонентів кінцевих секреторних відділів піднижньощелепних слинних залоз досліджували за допомогою лектинів: конканаваліну А (Con A, специфічного до α DMan, α DGlc); лектину виноградного слимака (HPA, специфічного до α GalNAc); лектину кори золотого дощу (LBA, специфічного до α LFuc); лектин арахису (PNA, специфічного до β DGal(β 1-3)DGalNAc); лектину насіння сої (SBA, специфічного до DGalNAc); лектину бузини чорної (SNA, специфічного до Neu5Ac(α 2-6)Gal/ DGalNAc); лектину омели білої (VAA, специфічного до β DGal); лектину зародків пшениці (WGA, специфічного до DGlcNAc, NeuNAc), які були мічені пероксидазою хрому. Контроль реакції зв'язування лектинів проводили шляхом виключення діамінобензидину зі схеми обробки препаратів. Інтенсивність реакцій оцінювалась за ступенем забарвлювання

препарату від світло – до темно–коричневого кольору. Двома незалежними один від одного дослідниками результати заносились у протоколи по балах: 0, 1, 2, 3, 4 – відповідно: відсутність реакції, слабо позитивна, помірно позитивна, сильна і дуже сильна реакція.

Результати дослідження та їх обговорення. Дослідження оглядових гістологічних препаратів показало, що піднижньощелепні слинні залози це складні альвеолярно–трубчасті залози. Кінцеві секреторні відділи піднижньощелепних слинних залоз людини, собаки, кролів, морської свинки представлені білковими та змішаними ацинусами. У складі кінцевих секреторних відділів щурів білкові ацинуси відсутні і виявлялись лише змішані секреторні відділи. Білкові ацинуси типово були побудовані з серозних glanduloцитів, які мали видовжену, конусоподібну форму, а цитоплазма їх мала чітку полярність. Міоепітеліоцити розташовувались зовні сероцитів. Між білковими glanduloцитами візуалізувались міжклітинні каналці. Змішані секреторні відділи мали у своєму складі три типи клітин: сероцити, мукоцити і міоепітеліоцити. Цитотопоргафічно мукоцити візуалізувались в середині змішаного ацинусу, мали крупні розміри і менш інтенсивно забарвлювались основними фарбниками. По периферії змішаних кінцевих відділів знаходились білкові glanduloцити і міоепітеліоцити, які були вкриті базальною мембраною. Лектинохімічно дуже сильна реакція зв'язування, між вуглеводними залишками на структурних компонентах білкових ацинусів піднижньощелепної залози людини та лектином Con A встановлена з вуглеводними детермінантами секреторних гранул сероцитів та міоепітеліоцитів; з лектином LABA; на вуглеводних залишках секреторних гранул сероцитів; з лектином WGA з вуглеводними залишками міжклітинних каналців та базальною мембраною. З усіма іншими лектинами була встановлена сильна або помірна реакція (табл. 1). Також у змішаних кінцевих відділах на секреторних гранулах білкових glanduloцитів і міоепітеліоцитів спостерігалась дуже сильна реакція зв'язування з лектином Con A, але на відміну від білкових ацинусів на цитолемі сероцитів і на поверхні їх секреторних гранул спостерігалась дуже сильна реакція з лектином HPA. Паралельно з цим лектин WGA мав дуже сильну реакцію преципітації на базальній мембрані змішаних кінцевих відділів. З усіма іншими лектинами була встановлена помірна або слабо помірна реакція (табл. 1).

Таблиця 1

Розподіл рецепторів лектинів у структурних компонентах кінцевих секреторних відділів піднижньощелепної слинної залози людини

Лектин	Білкові ацинуси					Змішані ацинуси					
	Сероцити	Секреторні гранули сероцитів	Міжклітинні каналці	міоепітеліоцити	Базальна мембрана	Мукоцити	Секреторні гранули мукоцитів	Сероцити	Секреторні гранули сероцитів	Міоепітеліоцити	Базальна мембрана
Con A	3	4	3	4	3	2	2	3	4	4	3
HPA	3	3	3	3	3	3	3	4	4	3	3
LABA	3	4	3	2	2	2	2	3	4	2	2
PNA	2	2	3	3	2	2	2	2	2	3	2
SBA	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
SNA	2	2	2	2	2	2	2	3	3	2	2
VAA	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
WGA	3	3	4	3	4	3	3	3	3	3	4

Таблиця 2

Розподіл рецепторів лектинів у структурних компонентах кінцевих секреторних відділів піднижньощелепної слинної залози кролів

Лектин	Білкові ацинуси					Змішані ацинуси					
	Сероцити	Секреторні гранули сероцитів	Міжклітинні каналці	міоепітеліоцити	Базальна мембрана	Мукоцити	Секреторні гранули мукоцитів	Сероцити	Секреторні гранули сероцитів	Міоепітеліоцити	Базальна мембрана
Con A	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
HPA	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
LABA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
PNA	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
SBA	2	2	2	2	2	3	2	2	2	2	2
SNA	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
VAA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
WGA	1	0	0	1	2	0	1	2	1	1	2

На відміну від дуже сильної, сильної, помірно позитивної реакції лектинів з вуглеводними залишками піднижньощелепних слинних залоз людини у кролів спостерігалось помірно позитивна або слабо позитивна реакція на усіх структурних компонентах як білкових так і змішаних кінцевих відділів. Сильна реакція зв'язування спостерігалась лише на поверхні мукоцитів змішаних ацинусів з лектином SBA (табл. 2).

Лектинохімічні реакції з вуглеводними залишками структурних компонентів піднижньощелепної залози собаки встановили наступну послідовність: дуже сильна реакція спостерігалась з лектином SBA та вуглеводними залишками міоепітеліоцитів як білкових так і змішаних ацинусів; сильна реакція встановлена між лектинами LABA і PNA на базальних мембранах обох кінцевих відділів. Лектин SBA показав сильну реакцію з вуглеводними детермінантами глікокаліксу сероцитів, на поверхні їх секреторних гранул, на міжклітинних каналцях і базальній мембрані білкових ацинусів та на цитолемі сероцитів їх секреторних гранулах і базальній мембрані змішаних кінцевих відділів. Встановлено, що тільки лектин WGA виявив DGlcNAc, NeuNAc вуглеводспецифічні залишки на поверхні мукоцитів змішаних кінцевих відділів. З усіма іншими лектинами була встановлена слабо помірна або помірна реакція (табл. 3).

Таблиця 3

Розподіл рецепторів лектинів у структурних компонентах кінцевих секреторних відділів піднижньощелепної слинної залози собаки

Лектин	Білкові ацинуси					Змішані ацинуси					
	Сероцити	Секреторні гранули сероцитів	Міжклітинні каналці	міоепітеліоцити	Базальна мембрана	Мукоцити	Секреторні гранули мукоцитів	Сероцити	Секреторні гранули сероцитів	Міоепітеліоцити	Базальна мембрана
Con A	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
HPA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
LABA	2	2	2	2	3	2	2	2	2	2	3
PNA	2	2	2	2	3	2	2	2	2	2	3
SBA	3	3	3	4	3	2	2	3	3	4	3
SNA	2	3	1	2	1	1	1	1	1	1	1
VAA	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
WGA	3	3	2	2	3	3	3	3	3	2	3

Проаналізувавши характер зв'язування лектинів з структурними компонентами кінцевих секреторних відділів піднижньощелепної слинної залози щурів слід відмітити що білкові кінцеві відділи у цього виду тварин відсутні, що підтвердилось і на гістологічних препаратах при постановці лектинохімічних реакцій. У змішаних ацинусах дуже сильна і сильна реакція зв'язування спостерігалась з вуглеводними залишками розташованих на секреторних гранулах сероцитів і секреторних гранулах мукоцитів з лектином HPA. За допомогою лектину VAA і WGA встановлена сильна реакція з β DGal – специфічними та DGlcNAc, NeuNAc – специфічними вуглеводними залишками на цитолемі і повернях секреторних гранул білкових гландулоцитів. З іншими лектинами була встановлена слабо помірна або помірна реакція (табл. 4).

Таблиця 4

Розподіл рецепторів лектинів у структурних компонентах кінцевих секреторних відділів піднижньощелепної слинної залози щурів

Лектин	Білкові ацинуси					Змішані ацинуси					
	Сероцити	Секреторні гранули сероцитів	Міжклітинні каналці	Міоепітеліоцити	Базальна мембрана	Мукоцити	Секреторні гранули мукоцитів	Сероцити	Секреторні гранули сероцитів	Міоепітеліоцити	Базальна мембрана
Con A	-	-	-	-	-	1	1	1	1	2	1
HPA	-	-	-	-	-	2	3	2	4	2	2
LABA	-	-	-	-	-	1	1	1	1	2	1
PNA	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1
SBA	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1
SNA	-	-	-	-	-	1	1	2	2	1	1
VAA	-	-	-	-	-	2	2	3	3	2	2
WGA	-	-	-	-	-	2	2	3	3	2	2

Постановка лектинохімічних реакцій на гістологічних препаратах піднижньощелепних слинних залоз морської свинки виявила що майже уся панель використаних лектинів не показала дуже сильних або сильних реакцій зв'язувань окрім лектину НРА. Так вуглеводні залишки специфічні до α GalNAc виявили: дуже сильну реакцію на секреторних гранулах що містили сероцити обох кінцевих відділів; сильну реакцію на цитолемах сероцитів теж обох кінцевих відділів. З іншими лектинами була встановлена слабо помірною або помірною реакція (табл. 5).

Таблиця 5

Розподіл рецепторів лектинів у структурних компонентах кінцевих секреторних відділів піднижньощелепної слинної залози морської свинки

Лектин	Білкові ацинуси					Змішані ацинуси					
	Сероцити	Секреторні гранули сероцитів	Міжклітинні каналі	Міоепітеліоцити	Базальна мембрана	Мукоцити	Секреторні гранули мукоцитів	Сероцити	Секреторні гранули сероцитів	Міоепітеліоцити	Базальна мембрана
Con A	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
HPA	3	4	2	2	2	2	2	3	4	2	2
LABA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
PNA	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
SBA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
SNA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
VAA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
WGA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Висновки

1. Розподіл вуглеводних залишків на структурних компонентах кінцевих відділів піднижньощелепних слинних залоз залежить від видового походження особи.
2. Лектинохімічне дослідження піднижньощелепних залоз шурів підтвердило відсутність у складі кінцевих відділів білкових ацинусів і наявність змішаних ацинусів.
3. Порівняльний аналіз встановив що подібні до людини вуглеводні залишки у білкових кінцевих відділах виявлялись на: цитолемі сероцитів та їх секреторних гранулах морської свинки у вигляді α GalNAc – залишків; на цитолемі сероцитів, поверхні їх секреторних гранул і базальній мембрані у вигляді DGlcNAc, NeuNAc – залишків.
4. Подібні до людини вуглеводні залишки у змішаних кінцевих відділах виявлялись на: цитолемі мукоцитів, їх секреторних гранулах, на клітинній поверхні сероцитів та їх секреторних гранул і базальній мембрані собаки у вигляді DGlcNAc, NeuNAc – залишків; у шурів – на поверхні секреторних гранул сероцитів і мукоцитів у вигляді α GalNAc – залишків та на цитолемі сероцитів і їх секреторних гранулах та міоепітеліоцитах у вигляді DGlcNAc, NeuNAc – залишків; у морської свинки на: цитолемі сероцитів та їх секреторних гранулах у вигляді α GalNAc – залишків.

Перспективи подальших досліджень. В подальшій роботі планується встановити вуглеводну специфічність структурних компонентів протокової системи піднижньощелепних слинних залоз людини, собаки, шурів, кролів, морської свинки до панелі лектинів з подальшим порівняльним аналізом складу їх вуглеводних залишків.

Список літератури

1. Antonyuk V. A. Konyugirovanie lektiniv s peroksidazoy hrena: usovershenstvovanie metodiki / V. A. Antonyuk, A. M. Yaschenko // Klin. lab. Diagnostika.–1996.–No. 4.–S. 102–106.
2. Antonyuk V. O. Lektini ta yih sirovinni dzhherela /V. O. Antonyuk.–Lviv: PP «Kvart», - 2005.– 554 s.
3. Voloshin N. A. Ispolzovanie metodov lektinovy gistohimii v morfologii / N. A. Voloshin, E. A. Grigoreva, M. A. Dovbyish // Tavrich.mediko–biol.vesti.–2004.–T.7, No.4, ch. 1.– S. 40–41.
4. Lutsik A. D. Lektinyi v gistohimii / A. D. Lutsik, E. S. Detyuk, M. D. Lutsik // –Lvov.: Vischa shkola, - 1989.–139 s.
5. Ойунк Ю. И. Лектиногистохимична характеристика ембриотопографічних перетворен заградінної залози людини / Ю. И. Ойунк // Bukovinskiy medichniy visnik.–2006.– T.10, No.3.– S.128–132.

Рефераты

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УГЛЕВОДНЫХ ОСТАТКОВ НА СТРУКТУРНЫХ КОМПОНЕНТАХ КОНЦЕВЫХ СЕКРЕТОРНЫХ ОТДЕЛОВ ПОДНИЖНЕЧЕЛЮСТНЫХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ ЧЕЛОВЕКА И НЕКОТОРЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Билаш В.П.

В работе при помощи лектиногистохимического

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE CARBOHYDRATE RESIDUES ON THE STRUCTURAL COMPONENTS OF THE TERMINAL SECRETORY DEPARTMENTS OF THE SUBMANDIBULAR SALIVARY GLANDS OF MAN AND SOME LABORATORY ANIMALS

Bilash V. P.

Work with lectinocytochemical studies a comparative

исследования проведен сравнительный анализ состава углеводов остатков на структурных компонентах концевых отделов поднижнечелюстных слюнных желез человека и лабораторных животных: собаки, кролика, крысы, морские свинки. Установлено, что распределение углеводов остатков на структурных компонентах концевых отделов поднижнечелюстных слюнных желез зависит от видового происхождения особи и имеет свои сходные и различные признаки.

Ключевые слова: поднижнечелюстная слюнная железа, белковые ацинусы, смешанные ацинусы, лектины.

analysis of the composition of carbohydrate residues on the structural components of the end divisions of the submandibular salivary glands of man and involving laboratory animals: dog, rabbit, rat, Guinea pig. Established that the distribution of carbohydrate residues on the structural components of the end divisions of the submandibular salivary glands depends on the species of origin of an individual and has their similar and different characteristics.

Key words: submandibular salivary gland, protein acini, acini smeshannye, lectins.

Стаття надійшла 6.03.2017 р.

Рецензент Єрошенко Г.А.

УДК 575.16+616.36+616-092.9+616.379-008.64

Ю. В. Боднарчук, О. Я. Жураківська, В. М. Церинович, В. А. Міський, В. М. Жураківський, З. Р. Кочерга
Івано-Франківський національний медичний університет, м. Івано-Франківськ

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ДІАБЕТУ

В експерименті досліджено функціональні зміни печінки статевозрілих щурів на різних термінах розвитку і перебігу стрептозотоцинового цукрового діабету. Дослідження проведено на 12-місячних щурах-самцях лінії Вістар. Цукровий діабет моделювали шляхом одноразово внутрішньоочеревинного введення стрептозотоцину в дозі 6 мг на 100 г маси тіла розведеного в 0,1М цитратному буфері (рН 4,5). Встановлено, що при стрептозотоциновому діабеті, на тлі гіперглікемії та підвищеного рівня глікозильованого гемоглобіну, спостерігається збільшення рівня печінкових трансаміназ в сироватці крові та печінкових гомогенатах із переважанням аланінамінотрансферази, підвищення коефіцієнту Рітіса, що вказує на порушення функціонального стану печінки за рахунок деструктивних змін гепатоцитів.

Ключові слова: печінка, печінкові трансамінази, стрептозотоциновий діабет.

Робота є фрагментом НДР "Оптимізація комплексного лікування морфологічних ушкоджень травної, ендокринної та сечостатевої систем при цукровому діабеті" (номер держреєстрації 0113U000769) та "Вікові особливості патоморфогенезу деяких органів нейроендокринної, серцево-судинної, травної та дихальної систем при цукровому діабеті" (номер держреєстрації 0116U003598).

Цукровий діабет (ЦД) являється одним із найпоширеніших та найважчих ендокринних захворювань в усьому світі, і є наслідком серйозних метаболічних порушень у цілому. Саме ЦД є передумовою більшості захворювань печінки. Число діабетичних пацієнтів в усьому світі збільшується, що веде до збільшення кількості випадків уражень печінки при ЦД. Внаслідок змін функціональної активності печінки, порушується регуляція обміну багатьох речовин: білків, вуглеводів, вітамінів, гормонів, холестерину та інших речовин [3, 5, 7, 9, 10].

Враховуючи вищезазначене актуальним на сьогоднішній день є вивчення функціональних та морфологічних особливостей перебудови печінки при ЦД, що послужить теоретичним підґрунтям для удосконалення існуючих та розробки нових методів лікування діабетичної гепатопатії.

Метою роботи було встановити функціональний стан печінки на основі змін біохімічних показників щурів на різних термінах розвитку експериментального цукрового діабету (ЕЦД).

Матеріал та методи дослідження. Дослідження проведено на 45-ти 12-міс. щурах-самцях лінії Вістар. Тварин було поділено на 3 групи: інтактну (5 тварин), контрольну (по 3 тварин на кожен термін експерименту) та експериментальну (по 5 тварин на кожен термін експерименту). Моделювання ЦД здійснювали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення стрептозотоцину фірми "Sigma" (США) у дозі бмг на 100 г маси тіла, розведеного в 0,1 М цитратному буфері (рН 4,5) [4]. Тваринам контрольної групи внутрішньоочеревинного вводили еквівалентну дозу 0,1 М цитратного буферу (рН 4,5). Забір матеріалу проводили на 14-у, 28-у, 42-у, 56-у та 70-у доби ЕЦД.

Декапітацію тварин проводили під тіопенталовим наркозом та забирали кров і печінку для дослідження. Рівень глюкози визначали щоденно натще в краплі крові хвостової вени за допомогою тест-смужок на глюкометрі фірми "Accu-Chec" (Німеччина).

Для оцінки функціональних змін печінки вивчали рівні печінкових трансаміназ: аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ) у сироватці крові та в