

Реферати

**СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МОЗЖЕЧКА
ПЛОДОВ ЧЕЛОВЕКА 11-12 НЕДЕЛЬ
ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ**

Школьников В. С., Залевский Л. Л.

В ходе исследования установлены макрометрические параметры полушарий и червя мозжечка плодов человека 11-12 недель, а также структурная организация, морфометрические параметры структур мозжечка и морфология радиальной глии.

Ключевые слова: полушария мозжечка, червь мозжечка, морфометрические параметры, внутриутробное развитие, радиальная глиа.

Стаття надійшла 12.01.2017 р.

**STRUCTURAL ORGANIZATION OF THE
CEREBELLUM OF HUMAN FETUSES OF 11-12
WEEKS OF INTRAUTERINE DEVELOPMENT**

Shkolnikov V. S., Zalevskiy L. L.

The study established micrometrical parameters of the hemispheres and of the worm of cerebellum human fetuses of 11-12 weeks, as well as structural organization, morphometric parameters of the structures of the cerebellum and the morphology of radial glia.

Key words: cerebellar hemispheres, the worm of the cerebellum, morphometric parameters, fetal development, radial glia

Рецензент Чайковський Ю.Б.

УДК 611.844+[611-018:547.96]:616.441-008.64-092.9

М. Б. Щур, Х. І. Струс, А. М. Яценко, О. Д. Луцик

Львівський національний медичний університет ім. Д. Галицького, м. Львів

**ОСОБЛИВОСТИ ГЛІКОМУ ОЧНОГО ЯБЛУКА НА ТЛІ МЕРКАЗОЛІЛ-ІНДУКОВАНОГО
ГІПОТИРОЗУ ЗА ДАНИМИ ЛЕКТИНОВОЇ ГІСТОХІМІЇ**

З використанням рутинних гістологічних методів та 6 лектинів різної вуглеводної специфічності (PNA, HPA, SNA, LABA, WGA та CNFA), досліджували вплив мерказоліл-індукованого гіпотирозу на морфологічні особливості та вуглеводні детермінанти очного яблука щура. Встановлено, що на тлі гіпотирозу розвиваються ознаки кератинізації і локального відшарування поверхневих шарів переднього епітелію рогівки, лімфоцитарна інфільтрація простору навколо розширених венозних синусів, локальні відшарування епітелію передньої камери, дегенеративні зміни нейронів внутрішнього ядерного шару сітківки. Методи лектинової гістохімії продемонстрували підвищене експонування рецепторів WGA, CNFA, LABA у поєднанні з редукцією HPA- та SNA-реактивних вуглеводних детермінант у складі фотосенсорного шару сітківки; порушення експонування рецепторів лектину CNFA у зовнішньому та внутрішньому сітчастих шарах; накопичення рецепторів лектину LABA в перикаріонах амакринних та гангліонарних нейронів. У структурних компонентах рогівки за умов експериментального гіпотирозу спостерігалася редукція рецепторів лектинів HPA та CNFA у передньому епітелії на тлі посилення їхнього експонування у кератоцитах та колагенових волокнах строми. Виявлені морфофункціональні зміни та модифікація глікому структурних компонентів очного яблука віддзеркалюють альтерацію фотосенсорної та провідних функцій сітківки, а також порушення адгезивних властивостей епітелію та прозорості строми рогівки.

Ключові слова: лектинова гістохімія, очне яблуко щура, мерказоліл-індукований гіпотироз.

Робота є фрагментом НДР "Лектино- та імуногістохімічний аналіз вуглеводних детермінант нормальних та патологічно змінених клітин і тканин" № державної реєстрації 0113U000207.

Поширеність ендокринної офтальмопатії і особливості її проявів в Україні констатувати досить складно у зв'язку з відсутністю проспективних досліджень у цьому напрямку. Разом із тим відомо, що після подій на ЧАЕС спостерігається ріст захворювань щитоподібної залози, що може індукувати приріст ендокринних офтальмопатій [7].

Лектини тісно зв'язані з дослідженням структури і функції клітинних мембран, цитоплазматичних глікокон'югатів та вуглеводних детермінант екстрацелюлярних структур, які зазнають виражених змін як при різноманітних фізіологічних станах, так і в умовах патології (порушеннях клітинного метаболізму, злоскісній трансформації клітин, аглютинації вірусів та мікроорганізмів тощо) [3, 4]. Зокрема, з використанням методів лектинової гістохімії показана особливість зв'язування лектинів різної вуглеводної специфічності зі структурними компонентами очного яблука статевозрілих тварин (савців) в нормі [18, 19].

Задокументована роль ендогенних лектинів у процесах розвитку очного яблука [13]. Охарактеризована експресія та розподіл рецепторів лектинів у сітківці щура в нормі, показана специфічність зв'язування окремих лектинів з пігментним епітелієм та їх роль у процесах адгезії пігментного і фотосенсорного шарів сітківки, продемонстрована специфічність зв'язування з нейронами та нейроглією сітківки [12].

Разом із тим, у доступній науковій літературі відсутні результати досліджень модифікації та перерозподілу глікокон'югатів очного яблука на тлі експериментального гіпотирозу.

Метою роботи було дослідити морфологічні особливості, цитотопографію рецепторів лектинів та особливості глікому функціональних апаратів очного яблука щурів за умов експериментального мерказоліл-індукованого гіпотирозу.

Матеріал та методи дослідження. Досліди проводили на 35 статевозрілих щурах самця лінії Вістар масою 180-240 г (10 контрольних і 25 дослідних). При проведенні досліджень дотримувались міжнародних правил та принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та з іншою науковою метою» (Страсбург, 1986) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001) та Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21.02.2006.

Експериментальний гіпотироз викликали щоденним згодовуванням з їжею мерказолілу («Здоров'я», Харків) з розрахунку 5 мг/кг маси тіла впродовж двох тижнів. Досліджуваний матеріал (щитоподібні залози і очні яблука) забирали після евтаназії тварин шляхом передозування ефірного наркозу; фіксували у розчині Буена. Оглядові препарати зафарбовували гематоксилином та еозином. Лектиногістохімічні дослідження проводили з використанням панелі з 6 лектинів різної вуглеводної специфічності (табл.1).

Візуалізацію рецепторів лектинів здійснювали у системі 3,3'-діамінобензидину тетрагідрохлориду в присутності H_2O_2 . Для контролю специфічності гістохімічних реакцій було використано вилучення лектин-пероксидазних кон'югатів з протоколу зафарбовування. Контроль функції щитоподібної залози здійснювали шляхом вивчення морфології тироцитів та колоїду. Огляд та фотографування гістологічних препаратів проводився на мікроскопі «Granum», обладнаним камерою «Echo-Imager 502000» з використанням програми «TopView 3.2».

Таблиця 1

Лектини та їхня вуглеводна специфічність

Назва лектину	Джерело його отримання	Вуглеводна специфічність
PNA	Насіння арахісу (<i>Arachis hypogaea</i>)	β DGal > DGalNAc-DGal
HPA	Статева залоза виноградного слимака (<i>Helix pomatia</i>)	α DGalNAc
SNA	Кора бузини чорної (<i>Sambucus nigra</i>)	NeuNAc(α 2-6)DGal
LABA	Кора золотого дощу (<i>Laburnum anagyroides</i>)	α LFuc
WGA	Зав'язки пшениці (<i>Triticum vulgare</i>)	DGlcNAc > NeuNAc
CNFA	Гриб грузлик димчастий (<i>Clitocybe nebularis</i>)	GalNAc β 1-4GlcNAc

Статистичну обробку даних проводили за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Office Excel 2003 та STATISTICA.6 (USA) [1] з визначенням «М» та середньої похибки «m», які представлено у таблицях та графіках. У роботі використовували три рівні достовірності: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Результати дослідження та їх обговорення. Дослідження щитоподібних залоз контрольних та експериментальних тварин показало, що у щурів дослідної групи макроскопічно щитоподібні залози були збільшеними у 2-3 рази порівняно з контрольної групою. Мікроскопічно тироїдні фолікули набували неправильної складчастої форми, не містили колоїду або ж він був присутній у малих кількостях; кубічний епітелій тироїдних фолікулів контрольної групи тварин набував циліндричної форми на тлі гіпотирозу. Так, у щурів контрольної групи висота тироцитів була у межах $9,31 \pm 0,49$ мкм, тоді як у дослідних тварин висота цих клітин дорівнювала $13,29 \pm 0,29$ мкм, $p < 0,001$; спостерігалась також гіперплазія тироцитів та гіперемія органа. Подібні зміни морфології щитоподібної залози в нормі та при експериментальному гіпотиреозі, що був індукований введенням 5мг/кг мерказолілу, спостерігали також Луцик С.О., Яценко А.М., 2012 [5]. При дослідженні структур очного яблука щурів з експериментальним гіпотирозом за допомогою рутинних гістологічних методів, найбільш виражені морфологічні зміни були ідентифіковані у рогівці і проявлялися кератинізацією і локальним відшаруванням поверхневих шарів переднього епітелію, набряком та інфільтрацією лімфоцитами просторів навколо розширених венозних синусів, локальними відшаруваннями ендотелію передньої камери. Спостерігалася також незначна інфільтрація лімфоцитами війкового тіла, дегенеративні зміни нейронів внутрішнього ядерного шару сітківки. Подібні зміни в ядерних шарах сітківки щурів при стрептозотоциновому діабеті описані також іншими авторами [2]. Поряд із вищезазначеним, спостерігалися зміни у асоційованих структурах очного яблука, а саме, спостерігалась інтенсивна лейкоцитарна інфільтрація гардерової залози. Остання, за даними George A Parker, 2016 [16], продукує у щурів ліпіди, мелатонін, порфірин, має фотопротекторну дію та служить джерелом феромонів.

Зміни у функціональних апаратах очного яблука, правдоподібно, обумовлені тим, що при гіпотирозі пригнічуються всі види обмінів, порушується утилізація кисню тканинами, гальмуються окиснювальні реакції і знижується активність низки ферментних систем. Так, порушення білкового обміну призводить до уповільнення розпаду і синтезу білка, порушень

обміну жиру, накопичення в тканинах глікопротеїнів, муцину, гіалуронової кислоти та хондроїтин-сульфатів [6, 8]. Їх надлишок змінює колоїдну структуру сполучної тканини, підсилює її гідрофільність і утримує натрій, що в умовах сповільненого лімфовідтоку призводить до формування мікседеми. На механізм затримки в тканинах води і натрію може впливати також надлишок вазопресину, продукція якого у фізіологічних умовах гальмується тиреоїдними гормонами [8]. Лектиногістохімічні дослідження функціональних апаратів очного яблука показали специфічність зв'язування лектинів з структурними компонентами рогівки (табл. 2) та сітківки (табл. 3). Інтенсивність гістохімічної реакції оцінена напівкількісним методом двома незалежними спостерігачами: + + + інтенсивне зв'язування; + + помірне зв'язування; + слабе зв'язування; - зв'язування відсутнє. Використані аббревіатури: БМ – базальна мембрана; БШ – базальний шар; ПШ – поверхневий шар; КВ – колагенові волокна; КЦ – кератоцити.

Таблиця 2

Специфічність зв'язування лектинів зі структурними компонентами рогівки в нормі та за умов експериментального гіпотирозу

Лектин	Група тварин	Рогівка				
		Передній епітелій	Передня межава пластинка	Строма рогівки	Задня межава пластинка	Ендотелій
SNA	К	+ + ПШ - БШ	+	+ + КВ + КЦ	+	-
	Д	+ + + ПШ + БШ + БМ	+	+ КВ + КЦ	+	-
WGA	К	+ + +	-	+ КВ + КЦ	-	+
	Д	+ + +	+	+ + КВ + + КЦ	+	+
LABA	К	+ ПШ	+	+ КВ + КЦ	+	+
	Д	+ + ПШ	+	+ + КВ + + КЦ	+	+
CNFA	К	+ + +	+ +	+ + КВ + + КЦ	+ +	+
	Д	+	+	+	+	+
HRA	К	+ + +	+	+ КВ + КЦ	+	+
	Д	+	+	+ + КВ + + КЦ	+ +	+
PNA	К	+ ПШ	+	+	+	+
	Д	+ + ПШ	+	+ КВ + КЦ	+	+

Таблиця 3

Специфічність зв'язування лектинів зі структурними компонентами сітківки в нормі та за умов експериментального гіпотирозу

Лектин	Сітківка									
	Пігментний епітелій	Фотосенсорний шар	Зовнішня межава перетинка	Зовнішній ядерний шар	Зовнішній частий шар	Внутрішній ядерний шар	Внутрішній частий шар	Гангліонарний шар	Шар нервових волокон	Внутрішня ядра перетинка
SNA		+ + + ВС		+	+	+	+	+	+	+
	+	+ + ВС + ЗС		+	+	+	+	+	+	+ +
WGA	+	+ + +		+	+ +	+	+ +	+	-	-
	+ +	+ + +	+ +	+ + ПГ	+ + СК	+ +	+ + С К	+ +	+ +	+ + +
LABA	+	+		+	+	+	+	+ + ПК	+	+
	+ +	+ + +		+	+	+ + + АК	+ +	+ + + ПК	+	+ + +
CNFA	+ +	+ + +		+	+ +	+	+ +	+	+	+
	+ +	+ + +	+	+ ПГ	+ + ЕС	+	+ +	+	+	+ +
HRA		+		+	+	+	+	+	+	+
		-		+	+	+	+	+	+	+
PNA		+ +		+	+	+	+	+ +	+	+ +
		+		+	+	+	+	+	+	+ + +

Інтенсивність гістохімічної реакції оцінена напівкількісним методом двома незалежними спостерігачами: + + + інтенсивне зв'язування; + + помірне зв'язування; + слабе зв'язування; - зв'язування відсутнє. Використані аббревіатури: ВС – внутрішній сегмент паличок; ЗС – зовнішній сегмент паличок; ПГ – променевий гліоцит; ГК – горизонтальні клітини; ЕС – ендотелій судин; ПК – перикарион; АК – амакринні клітини; СК – синаптичний контакт; К – контрольна група; Д – дослідна група.

Лектин CNFA. У контрольних тварин експонування рецепторів лектину спостерігалася у всіх шарах переднього епітелію рогівки та у кератоцитах і колагенових волокнах строми (рис. 1А). На тлі гіпотирозу виявлено зниження реактивності з означеним лектином як переднього епітелію, так і строми рогівки (рис. 1Б). У сітківці контрольних тварин найвища афінність лектину CNFA була задокументована стосовно епітеліоцитів пігментного шару, а також паличок і колбочок фотосенсорного шару (рис. 1В). На тлі гіпотирозу підвищувалась інтенсивність зв'язування лектину з променевими гліоцитами та з зовнішньою і внутрішньою межовими перетинками. Позитивна реакція відслідковувалась з ендотелієм судин сітківки. В ділянці синаптичних контактів у зовнішньому та внутрішньому сітчастих шарах експонування рецепторів лектину CNFA підвищувалось (рис. 1Г). У гардеровій залозі рецептори лектину CNFA виявлялися у складі секреторних гранул над'ядерної зони окремих гландулоцитів, що правдоподібно, залежить від фази секреторного циклу останніх.

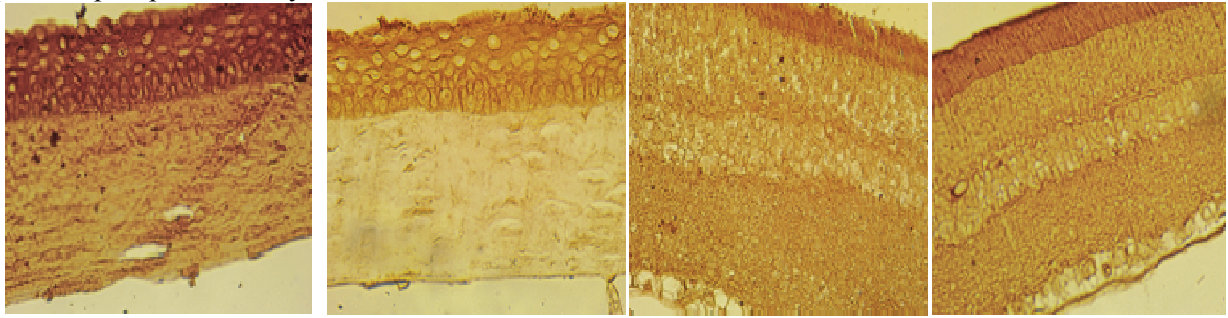


Рис.1. Цитопографія рецепторів лектину CNFA у структурних компонентах очного яблука. А – рогівка контроль, Б – рогівка дослід; В – сітківка контроль, Г – сітківка дослід. 36.х280.

Лектин WGA демонстрував подібну до CNFA специфічність зв'язування зі структурними компонентами рогівки. На тлі гіпотирозу виявлено посилення експонування рецепторів цього лектину, особливо, у ділянках контактів між клітинами базального та проміжного шарів переднього епітелію, на поверхні кератоцитів та колагенових волокон строми рогівки (рис. 2А, Б). У сітківці на тлі гіпотирозу також спостерігалось посилення реактивності лектину WGA у пігментному та фотосенсорному шарах, з променевими гліоцитами, внутрішньою та зовнішньою межовими перетинками, у ділянках синаптичних контактів між відростками нейронів у зовнішньому та внутрішньому сітчастих шарах (рис. 2Г).

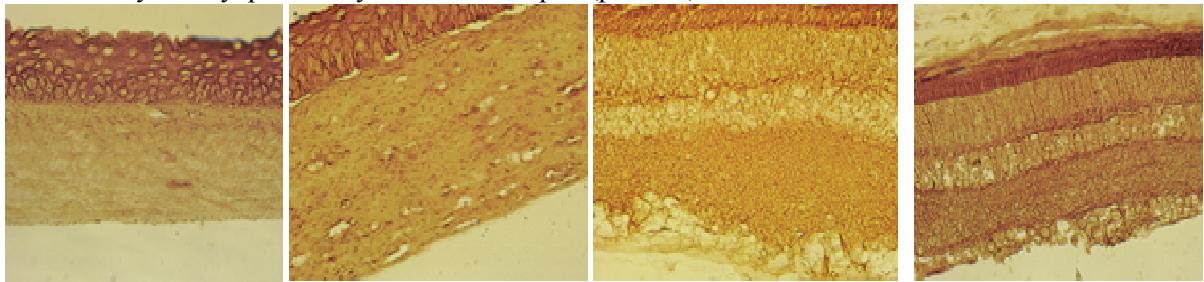


Рис. 2. Рецептори лектину WGA у структурних компонентах очного яблука. А – рогівка контроль; Б – рогівка дослід; В – сітківка контроль; Г – сітківка дослід. 36. х280.

Модифікація рецепторів лектину WGA у місцях локалізації відростків променевих гліоцитів може бути обумовлена їхньою активацією при ендокринній офтальмопатії. За даними [11, 26] клітинам Мюллера належить провідна роль у підтриманні ретинального компоненту, метаболізму і захисті завдяки продукції нейротрофних факторів, видаленні продуктів метаболізму, регуляції об'єму екстрацелюлярного простору, водного та іонного гомеостазу; означені клітини виділяють нейротрансмітери, регулюють функцію ендотеліального бар'єру, модулюють імунні та запальні відповіді.

Клітини Мюллера також відіграють роль у реактивному гліозі – процесі, який включає морфологічні, біохімічні і фізіологічні зміни під впливом патологічних чинників, служать джерелом патологічного фактору ангиогенезу-VEGF при ретинальній неоваскуляризації за умов діабетичної гіпоксії. Наші попередні дослідження виявили збільшення кількості судин у сітківці при тироїдній офтальмопатії, індукованій введенням L-тироксину [10]. Радіальні гліоцити сітківки служать також мішенню для судинних ускладнень при діабетичній ретинопатії [11, 26]. Цікавим є

той факт, що ці клітини також можуть потребувати VEGF для їхнього виживання під дією патологічних чинників [23].

Лектин LABA. У рогівці контрольних тварин незначне експонування рецепторів фукозоспецифічного лектину LABA констатували у стромі рогівки та у поверхневих шарах переднього епітелію на тлі зниженої реактивності цього лектину з клітинами парабазального та проміжного шарів (рис. 3А). За умов гіпотирозу експонування фукозогліканів підвищувалось у у поверхневих шарах переднього епітелію, кератоцитах і колагенових волокнах строми рогівки (рис. 3Б). У сітківці на тлі гіпотирозу також спостерігалось посилення реактивності з лектином LABA внутрішньої межевої перетинки, фотосенсорного шару, перикаріонів амакринних та гангліонарних нейронів, що може свідчити про зміни їхньої функціональної активності (рис. 3Г).

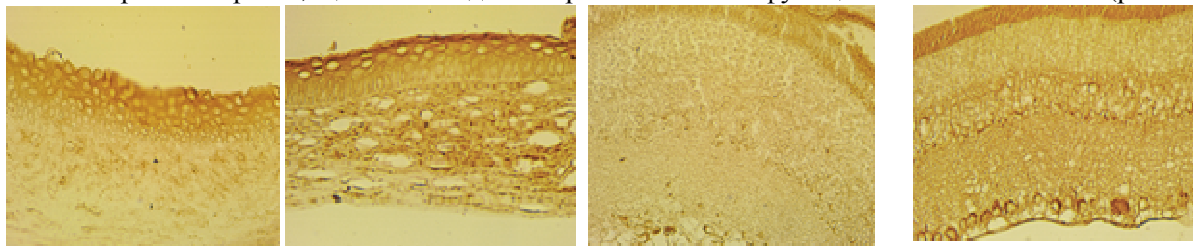


Рис. 3. Рецептори лектину LABA у структурних компонентах очного яблука. А – рогівка контроль; Б – рогівка дослід; В – сітківка контроль; Г – сітківка дослід. Зб. x280.

Лектин НРА виявляв значну афінність до поверхневих шарів переднього епітелію рогівки контрольних тварин на тлі ареактивності клітин базального та парабазального шарів (рис. 4А). За умов гіпотирозу спостерігалась редукція вуглеводних детермінант DGalNAc у поверхневих шарах переднього епітелію та у базальній мембрані, що, правдоподібно, служило причиною порушень адгезії між епітелієм та базальною мембраною в окремих ділянках рогівки. Рівночасно задокументовано посилення експонування рецепторів цього лектину в структурних компонентах строми рогівки – кератоцитах та колагенових волокнах (рис. 4Б). Зв'язування лектину НРА зі структурними компонентами сітківки було гомогенним як в умовах контролю, так і досліді (рис. 4В, Г).

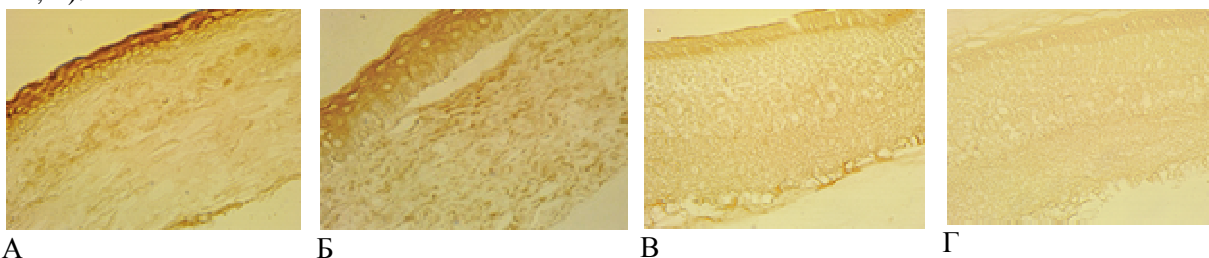


Рис. 4. Рецептори лектину НРА у структурних компонентах очного яблука. А – рогівка контроль; Б – рогівка дослід; В – сітківка контроль; Г – сітківка дослід. Зб. x280.

Лектин SNA. Сіалоспецифічний лектин SNA у рогівці виявив високу спорідненість до поверхневих шарів переднього епітелію і дещо нижчу – до базального та парабазального шарів (рис. 5А). На тлі гіпотирозу спостерігалось посилення експонування рецепторів цього лектину у базальній мембрані, ділянках міжклітинних контактів базального і парабазального шарів та зниження реактивності кератоцитів та колагенових волокон строми рогівки (рис. 5Б). У сітківці контрольних тварин інтенсивне зв'язування лектину SNA була виявлена у внутрішніх сегментах паличок та колбочок; на тлі гіпотирозу задокументовано зниження експонування рецепторів цього лектину вищезазначеними структурами у поєднанні з підвищенням їхнього експонування у шарі нервових волокон (рис. 5В, Г).

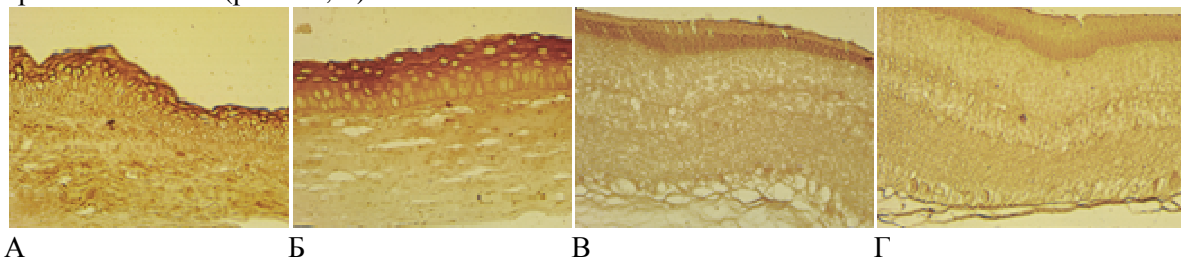


Рис. 5. Специфічність зв'язування лектину SNA зі структурними компонентами очного яблука. А – рогівка контроль; Б – рогівка дослід; В – сітківка контроль; Г – сітківка дослід. Зб. x280.

Лектин PNA. У рогівці контрольних тварин β DGal-специфічний лектин PNA виявляв незначну спорідненість до поверхневих шарів переднього епітелію та строми рогівки. На тлі гіпотирозу спостерігалось підвищення реактивності поверхневих шарів переднього епітелію рогівки. У сітківці контрольних тварин лектин PNA демонстрував помірну реактивність з усіма шарами; на тлі гіпотирозу виявлено посилення експонування вуглеводних детермінант DGal у шарі нервових волокон та внутрішній межовій перетинці.

Таким чином, у рогівці тварин контрольної групи ідентифіковано значний вміст глікополімерів з вуглеводними детермінантами DGlcNAc, DGal(β 1-4)DGlcNA, NeuNAc(α 2-6)DGal (рецепторів лектинів WGA, CNFA, SNA) у всіх шарах переднього епітелію, тоді як термінальні залишки α DGalNAc та α LFuc (рецептори лектинів HPA та LABA), в більшості випадків, були локалізовані у поверхневих шарах переднього епітелію. За умов експериментального гіпотирозу спостерігалась редукція рецепторів HPA та CNFA у передньому епітелії у поєднанні з посиленням їхнього експонування у кератоцитах та колагенових волокнах строми рогівки. Нагромадження останніх може впливати на процеси адгезії епітелію з базальною мембраною та прозорість рогівки, яка пов'язана з продукцією кератоцитами кристалінів та кератансульфату. Правдоподібно, зміна структури глікому кератоцитів віддзеркалює порушення синтезу рогівкових кристалінів та кератансульфату, що, у свою чергу, впливає на прозорість рогівки.

За даними [22] неактивні кератоцити синтезують рогівкові кристаліни, які, аналогічно до кришталікових, допомагають підтримувати прозорість рогівки і забезпечувати оптимальну рефракцію [17]. Вони також є частиною антиоксидантного захисту рогівки [21]. У людини кристаліни представлені ALDH1A1, ALDH3A1, ALDH2 та TKT [17, 20]. Для більшості ссавців характерні інші панелі кристалінів, як от BCP54/ALDH3A1, глутатіон-S-трансфераза, а також актин для мишей та риб [17]. Вважають, що кератансульфат, який синтезується кератоцитами, допомагає підтримувати оптимальну гідратацію рогівки; генетичні порушення синтезу кератансульфату призводять до розвитку плямистої дистрофії рогівки [15].

Виявлена нами на тлі гіпотирозу модифікація глікому переднього епітелію та кератоцитів рогівки може бути одним із пускових механізмів апоптозу, зменшення кількості кератоцитів і одним із патогенетичних механізмів виникнення кератоконусу. У непошкодженій рогівці кератоцити знаходяться в неактивному стані і активуються при пошкодженні чи запаленні різного генезу [25]. Задokumentована нами при експериментальному гіпотирозі поліморфноядерна лейкоцитарна інфільтрація строми рогівки свідчить про наявність запального процесу, який може викликати пошкодження рогівки та кератоцитів, що розташовані у цьому регіоні і стимулювати апоптоз, на що, зокрема, вказують [25]. Будь-який збій в високоорганізованому процесі загоєння може призвести до помутніння рогівки. Надмірний апоптоз кератоцитів може бути частиною патологічного процесу, який лежить в основі розвитку кератоконуса. З іншого боку, лейкоцитарна інфільтрація рогівки стимулює апоптоз кератоцитів, який викликається дією сигнальних молекул синтезованих верхніми шарами рогівки, таких як: інтерлексин 1-альфа (ІІ-1-альфа) та фактор некрозу пухлин-альфа (ФНП-альфа). Інші сусідні кератоцити під дією тих же сигнальних молекул активуються, проліферують і починають синтезувати матриксні металопротеїнази, останні сприяють ремоделюванню тканини [24, 25].

У сітківці інтактних щурів виявлено підвищену реактивність лектинів WGA, CNFA, SNA (накопичення вуглеводних детермінант DGlcNAc, DGal(β 1-4)DGlcNA та NeuNAc(α 2-6)DGal) у складі пігментного епітелію та дендритів фотосенсорних нейронів. Подібна селективність взаємодії паличок і колбочок сітківки осла з лектином WGA була продемонстрована в роботі [18]. Натомість α LFuc-специфічний лектин LABA та специфічний до залишків α DGalNAc лектин HPA виявляли низьку спорідненість з означеними структурами. Решта шарів сітківки демонстрували незначну реактивність з використаними лектинами.

На тлі гіпотирозу спостерігалось підвищене зв'язування лектинів WGA, CNFA, LABA з паличками і колбочками фотосенсорного шару у поєднанні з редукцією рецепторів лектинів HPA та SNA. Одночасно було ідентифіковано посилене експонування лектину CNFA в ділянках синаптичних контактів у зовнішньому та внутрішньому сітчастих шарах. Окрім того, задokumentовано високий рівень експонування фукозогліканів у перикаріонах амакринних та гангліонарних нейронів. Ми пов'язуємо високий рівень експонування зовнішніми сегментами паличок і колбочок рецепторів лектинів WGA та CNFA з тим фактом, що родопсин та йодопсин є глікопротеїнами. За даними [14, 27] родопсин людини містить вуглеводні детермінанти DGlcNAc та DGal, тоді як для йодопсину курей характерні залишки DGalNAc. Накопичення вуглеводних детермінант DGlcNAc, DGal(β 1-4)DGlcNA та α LFuc у зовнішніх сегментах фотосенсорних

нейронів на тлі гіпотирозу може бути обумовлено зниженням метаболічних процесів реутилізації родопсину та йодопсину, що свідчить про дегенеративні зміни фотосенсорних нейронів. Підвищена реактивність α Lfuc-специфічного лектину LABA з перикаріонами гангліонарних нейронів сітківки на тлі гіпотирозу, правдоподібно, обумовлена зміною їхньої функціональної активності з наступною дегенерацією окремих нейронів, що підтверджується попередньо проведеними нами дослідженнями препаратів, зафарбованих гематоксиліном та еозином [9].

Висновки

1. Морфологічні дослідження очного яблука виявили негативний вплив експериментального гіпотирозу на структурні компоненти рогівки, що проявлялося кератинізацією і локальним відшаруванням поверхневих шарів переднього епітелію, набряком та лімфоцитарною інфільтрацією простору навколо розширених венозних синусів, локальним відшаруванням ендотелію передньої камери. Поряд із вищезазначеним, спостерігалась незначна інфільтрація лейкоцитами війкового тіла, дегенеративні зміни нейронів внутрішнього ядерного шару сітківки та асоційованих структур очного яблука, а саме, гландулоцитів гардерової залози, її інтенсивна лейкоцитарна інфільтрація.
2. На тлі мерказоліл-індукованої ендокринної офтальмопатії спостерігалася підвищена реактивність паличок і колбочок фотосенсорного шару сітківки з лектинами WGA, CNFA та LABA (вуглеводних детермінант DGlcNAc, DGal(β 1-4)DGlcNA та α Lfuc відповідно) у поєднанні з редукцією рецепторів лектинів HPA та SNA (термінальних залишків NeuNAc(α 2-6)DGal та α DGalNAc). Паралельно констатували посилення експонування рецепторів лектину CNFA в ділянках синаптичних контактів у зовнішньому та внутрішньому сітчастих шарах. Задokumentовано підвищену реактивність перикаріонів амакринних та гангліонарних нейронів з лектином LABA. Виявлена перебудова рецепторів лектинів та зміна глікому структурних компонентів сітківки на тлі гіпотирозу може свідчити про зміну функціональної активності нейронів та впливати на проведення нервових імпульсів.
3. У передньому епітелії рогівки на тлі експериментального гіпотирозу спостерігалася редукція рецепторів лектинів HPA та CNFA (термінальних залишків α DGalNAc та DGal(β 1-4)DGlcNA) у поєднанні з посиленням їхнього експонування у кератоцитах та колагенових волокнах строми. Зміна вуглеводних детермінант глікополімерів може впливати на процеси адгезії епітелію з базальною мембраною та прозорість рогівки, яка пов'язана з продукцією кератоцитами кристалінів та кератансульфату.
4. Лектини WGA і CNFA можна рекомендувати для використання у якості селективних гістохімічних маркерів паличок і колбочок фотосенсорного шару сітківки та маркерів кератоцитів рогівки. Лектин LABA - як маркер гангліонарних нейронів сітківки. Лектин CNFA можна вважати молекулярним зондом для відстеження фаз секреторного циклу гландулоцитів гардерової залози.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні вуглеводних детермінант структурних компонентів очного яблука з використанням ширшої панелі лектинів за умов експериментального гіпотирозу.

Список літератури

1. Gumetskiy R. Ya. Matematichni metodi v biologiyi: teoretichni vidomosti, programovaniy praktikum, kompyuterni testi / R. Ya. Gumetskiy, B. M. Palyanitsya, M. E. Chaban // – Lviv: Vischa shkola, -2004. – 111 s.
2. Demin Yu.A. Patomorfologicheskie izmeneniya setchatki kryis pri streptozototsinovom diabete 2 tipa posle vvedeniya kriokonservirovannykh mezenhimalnykh stvolovykh kletok platsenty / Yu.A. Demin, M.Yu. Demina // Svit meditsina ta biologiyi. – 2015. – No.4(54). – S.117-120.
3. Korsun V.D. Fitolektynyi. Rukovodstvo po klinicheskoy fitoterapii / V.D. Korsun, V.M. Lahtin, E.V. Korsun // – M.: Prakticheskaya meditsina, 2007. – 286 s.
4. Lutsik A.D. Lektynyi v gistohimii / A.D. Lutsik, E.S. Detyuk, M.D. Lutsik // – Lviv: Vischa shkola, - 1989. – 144 s.
5. Lutsik S.O. Eksperimentalnyy gipotiroidizm obumovlyue posilene eksponuvannya vuglevodnih determinant α Lfuc, β DGal ta DGalNAc u nadnirkovih zalozzah schuriv / S.O. Lutsik, A.M. Yaschenko // Svit meditsini ta biologiyi. – 2012. – No. 2. – S. 123 – 127.
6. Pankiv V.I. Praktichna tireoyidologiya / V.I. Pankiv // - Donetsk - 2011. - 224 s.
7. Polyakova S. I. Vstrechaemost i rannie proyavleniya endokrinnoy oftalmopatii po dannym obraschaemosti v GU «Institut glaznykh bolezney i tkanevoy terapii im. V.P.Filatova NAMN Ukrainyi» / S. I. Polyakova, Avis Kayali // Tavricheskii mediko-biologicheskii vestnik. – 2012. - T.15, No.3. – Ch. 3 (59). – S. 137-141.
8. Pristupyuk O. M. Gipotireoz: ushkodzhennya organiv ta sistem / O. M. Pristupyuk // Mezhdunarodnyy endokrinologicheskii zhurnal. – 2011. – No.4(36). – S. 104-109.
9. Schur M.B. Morfologichni aspekti funktsionalnih aparativ ochного yabluka na tli ekzogenного gipotirodu, indukovanого merkazolilom / M.B. Schur, A.M. Yaschenko // Morfologiya. – 2016. – T.10, No.3. – S. 336-341.
10. Schur M. B. Morfologichni osoblivosti strukturnih komponentiv ochного yabluka pid vplyvom L-tiroksinu / M.B. Schur, H.I. Strus, A.M. Yaschenko // Visnik problem biologiyi i meditsini. – 2016. – No.2 (3). – S. 279-283.
11. Bai Y. Muller cell-derived VEGF is a significant contributor to retinal neovascularization / Y. Bai, J.X. Ma, J. Guo // J Pathol. – 2009. - Vol. 219(4). – P. 446–454.

12. Cho E.Y. Expression pattern of Glycoconjugates in Rat Retina as Analysed by Lectin Histochemistry / E.Y. Cho, H.L. Choi, F.L. Chan // *The Histochemical Journal*. – 2003. – Vol. 34. Issue 11. – P. 589–560.
13. Ebrahimi V. Histochemical study of retinal photoreceptors development during pre- and postnatal period and their association with retinal pigment epithelium / V. Ebrahimi, E. Vojoudi, A. Fazel [et al.] // *Iran J Basic Med Sci*. – 2014. – Vol.17(7). – P. 483–489.
14. Fujita S. Structural studies of the N-linked sugar chains of human rhodopsin / S. Fujita, T. Endo, J. Ju // *Glycobiology*. – 1994. – Vol. 4. – P. 633–640.
15. Funderburgh J.L. Keratan sulfate: structure, biosynthesis, and function / J.L. Funderburgh // *Glycobiology*. – 2000. – Vol.10 (10). – P. 951–958.
16. George A Parker *Picut-Atlas of Histology of the Juvenile Rat* / Parker A George, A. Catherine. – Academic Press, – 2016. – 439 p.
17. Jester J. V. Corneal crystallins and the development of cellular transparency / V. J. Jester // *Semin Cell Dev Biol*. – 2008. – Vol. 19(2). – P. 82–93.
18. Khaled Aly Glycohistochemical, Immunohistochemical and Electron Microscopic Examination of the Bovine Eyeball / Aly Khaled. – Munich, -2003. – 206 p.
19. Khaled Aly Lectin binding in normal donkey eyeball / Aly Khaled // *Veterinary Science Development*. – 2013. – Vol. 7. – P. 39–46.
20. Lassen N. Antioxidant function of corneal ALDH3A1 in cultured stromal fibroblasts / N. Lassen, A. Pappa, W.J. Black // *Free Radic. Biol. Med*. – 2006. – Vol.41 (9). – P.1459–1469.
21. Lassen N. The role of corneal crystallins in the cellular defense mechanisms against oxidative stress / N. Lassen, W.J. Black, T. Estey // *Semin Cell Dev Biol*. – 2008. – Vol.19 (2). – P.100–112.
22. Müller L.J. Novel aspects of the ultrastructural organization of human corneal keratocytes / L.J. Müller, L. Pels, G.F. Vrensen // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. – 1995. – Vol.36 (13). – P. 2557–2567.
23. Saint-Geniez M. Endogenous VEGF is required for visual function: evidence for a survival role on muller cells and photoreceptors / M. Saint-Geniez, A.R. Maharaj, T.E. Walshe // *PLoS ONE*. – 2008. – Vol. 3(11). – P. e3554.
24. West-Mays J.A. The keratocyte: Corneal stromal cell with variable repair phenotypes / J.A. West-Mays, D.J. Dwivedi // *Int J Biochem Cell Biol*. – 2006. – Vol. 38(10). – P. 1625–1631.
25. Wilson S.E. Apoptosis in the initiation, modulation and termination of the corneal wound healing response / S.E. Wilson, S.S. Chaurasia, F.W. Medeiros // *Exp. Eye Res*. – 2006. – Vol. 85 (3). – P. 305–311.
26. Wang J. Muller cell-derived VEGF is essential for diabetes-induced retinal inflammation and vascular leakage / J. Wang, X. Xu, M.H. Elliott // *Diabetes*. – 2010. – Vol.59. – P. 2297–2305.
27. Yvonne D'Souza B. Comparison of lectin binding of drusen, RPE, Bruch's membrane, and photoreceptors / B. D'Souza Yvonne, J.P. Jones, R.E. Bonshek // *Molecular Vision*. – 2009. – Vol.15. – P. 906–911.

Реферати

ОСОБЕННОСТИ ГЛИКОМА ГЛАЗНОГО ЯБЛОКА НА ФОНЕ МЕРКАЗОЛИЛ-ИНДУЦИРОВАННОГО ГИПОТИРЕОЗА ПО ДАННЫМ ЛЕКТИНОГИСТОХИМИИ Щур М.Б., Струс Х.И., Ященко А.М., Луцки А.Д.

С использованием рутинных гистологических методов и 6 лектинов различной углеводной специфичности (PNA, HPA, SNA, LABA, WGA и CNFA), исследовали влияние мерказолил-индуцированного гипотиреоза на морфологические особенности и углеводные детерминанты глазного яблока крыс. Установлено, что на фоне гипотиреоза развиваются признаки кератинизации и локального отслоения поверхностных слоев переднего эпителия роговицы, лимфоцитарная инфильтрация пространства вокруг расширенных венозных синусов, локальные отслоения эпителия передней камеры, дегенеративные изменения нейронов внутреннего ядерного слоя сетчатки. Методы лектинової гистохимии продемонстрировали повышенное экспонирование рецепторов WGA, CNFA, LABA в сочетании с редукцией HPA- и SNA-реактивных углеводных детерминант в составе фоторецепторного слоя сетчатки; нарушение экспонирования рецепторов лектина CNFA во внешнем и внутреннем сетчатых слоях; накопление рецепторов лектина LABA в перикарионах амакринных и ганглионарных нейронов. В структурных компонентах роговицы в условиях экспериментального гипотиреоза наблюдалась редукция рецепторов лектинов HPA и CNFA в переднем эпителии на фоне усиления их экспонирования в кератоцитах и коллагеновых волокнах стромы. Выявленные морфофункциональные изменения и модификации гликома структурных компонентов глазного яблока, отражают альтерацию фотосенсорной и проводниковых функций сетчатки, нарушения адгезивных свойств эпителия и прозрачности стромы роговицы.

Ключевые слова: лектиновая гистохимия, глазное яблоко крысы, мерказолил-индуцированный гипотиреоз.

Статья надійшла 2.02.2017 р.

PECULIARITIES OF GLYCOME OF THE EYEBALL ON THE BACKGROUND OF MERCZOLILE-INDUCED HYPOTHYROIDOSIS BY LECTINOGLISTOCHEMISTRY DATA Shchur M. B., Strus Kh. I., Yashchenko A. M., Lutsyk A. D.

The lectin panel included PNA, HPA, SNA, LABA, WGA and CNFA, conjugated to horseradish peroxidase. Lectin receptor sites were visualized with 3,3'-diaminobenzidine in the presence of H₂O₂. For routine histological examination sections were stained haematoxylin and eosin. These modifications in rods and cones lectin labeling were supplemented with the increased CNFA binding in the areas of synaptic contacts in the outer and inner reticular layers, as well as with enhanced exposure of LABA receptor sites (α LFuc) in pericarions of amacrine and ganglionic neurons of retina. In the cornea under experimental hypothyroidism it was detected reduction of HPA and CNFA labeling (α DGalNAc and GalNAc(β 1-4)GlcNAc determinants) in the anterior epithelium, which was accompanied with the increased reactivity of these same lectins with stromal keratocytes and collagen fibers. Reported drift in corneal lectin binding apparently indicates negative influence of hypothyroidism on epithelial adhesion to Bowman's membrane and corneal transparency conditions, the latter depending on crystallins and keratan sulphates produced by keratocytes. Detected rearrangements in carbohydrate determinants of retinal compartments presumably reflect alterations in the functional activity of neurons and subsequent disturbances in nerve impulses transduction. Lectins WGA, CNFA, LABA and HPA can be recommended for selective histochemical labeling of structural components of the rat eyeball.

Key words: lectin histochemistry, rat eyeball, mercazolil-induced hypothyroidism.

Рецензент Єрошенко Г.А.