

выраженные в группе «П». Причем, если в группе «МП» и «М» преобладают изменения преимущественно у самок, то в группе «П» у самцов.

2. К последствиям родительского табакокурения следует отнести гипертрофию мышечных волокон, контрактурные изменения кардиомиоцитов, начальные склеротические изменения, нарушение обмена оксида азота с угнетением eNOS на фоне активации iNOS, активацию апоптотических процессов.

3. Выявленные нами нарушения морфофункционального состояния миокарда при родительском табакокурении могут лежать в основе развития синдрома сердечно-сосудистой дисадаптации новорожденного, раннего старения миокарда, возникновения в последующем онтогенезе сердечно-сосудистой патологии у таких детей.

Література

1. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии. М.: Медицина, 2002. – 240 с.
2. Отеллин В.А., Хожай Л.И., Гилерович О.Г., Коржевский Д.Е. и соавт. Повреждающие воздействия в критические периоды пренатального онтогенеза как фактор, модифицирующий структурное развитие головного мозга и поведенческие реакции после рождения // Вестник РАМН. – 2002, №12, - С. 32-35
3. Педиатрия: Учебник для медицинских вузов / Под ред. Н.П. Шабалова. – СПб.: СпецЛит, 2002. – 895 с.
4. Семченко В.В., Степанов С.С., Алексеевой Г.В. Постаноксическая энцефалопатия. Омск: Омская областная типография, 1999. – 446 с.
5. Скворцов И.А., Ермоленко Н.А. Развитие нервной системы у детей в норме и при патологии. – М.: Мед пресс-информ, 2003. – 368 с.
6. Филдз Д. Другая часть мозга // В мире науки. - №7, 2004. – С. 23-29.
9. Хэм А., Кормак Д. Гистология в пяти томах. – Том 3. – М.: Мир, 1983. – 237 с.
7. Rosenberg G.A. Ischemic brain edema // Prog. Cardiovasc. Dis. – 1999. – V.42, №3. – P. 209-216.

Перспектива дальнейших исследований состоит в разработке превентивных мероприятий по защите миокарда потомков, родители которых курят.

Реферати

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ МІОКАРДУ НАЩАДКІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ БАТЬКІВСЬКОМУ ТАБАКОКУРІННІ
Яковцова А.Ф., Гаргин В.В., Губіна-вакулік Г.І., Мірошніченко М.С.

Досліджений міокард щурів лінії Вістар, батьки яких «палили». За допомогою гістологічних, імуногістохімічних, морфометричних методик встановлені морфофункціональні зміни міокарду, які в майбутньому можуть привести до різної кардіальної патології у таких дітей.

Ключові слова: міокард, табакокуріння, нащадки.

MORPHOLOGICAL PECULIARITIES OF THE POSTERITY'S MYOCARDIUM DURING EXPERIMENTAL PARENTS SMOKING
Yakovtsova A.F., Gargin V.V., Gubina-Vakulik G.I., Myroshnychenko M.S.

This article devotes with study of myocardium of rats, whose parents are «smoking». The outcome of parents smoking could lead to appearance conditions for the development of cardiac pathology of their posterity in future, that was investigated with histological, immunohistochemical, morphometric methods.

Key words: myocardium, smoking, posterities.

УДК 611.611-019:616.379-008.64-092]-018:547.96

МАНОЗОГЛІКАНИ НИРКИ ЩУРА В ДИНАМІЦІ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗУ ТА ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ІНДУКОВАНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ

Н.О. Амбарова, Р.В. Антолюк, О.Д. Пуцик
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів

Робота є фрагментом планової науково-дослідної теми кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету (№ державної реєстрації 0107V001048).

З огляду на важливу роль лектинів як інструментів у розв'язанні проблем глікобіології та медицини [1, 3, 6, 7, 8, 13, 14, 19, 20], пошук, очистка та характеристика нових препаратів лектинів [10, 21], а також опрацювання перспектив їх практичного

використання [9, 16, 22, 23] продовжує залишатися актуальним завданням. У попередніх дослідженнях були розроблені умови очистки та проведена попередня характеристика вуглеводної специфічності нового лектину з плодів гриба Міцени чистої, для якого запропонована традиційна для лектинів скорочена назва MPFA (аббревіатура від *Musca pura fungus agglutinin*). У зв'язку з обмеженою доступністю сировини, швидкою зміною у ній активності лектинів, а також їх нестабільністю у процесі очистки, дотепер описана і застосовується незначна кількість лектинів, отриманих із представників підцарства справжніх грибів [1, 21]. З використанням методу пригнічення реакції гемаглютинації моно- та олігосахаридами, а також глікопротеїнами було встановлено, що лектин міцени належить до групи манозо/глюкозо (DMan/DGlc)-специфічних лектинів, наближаючись за цією властивістю до лектину гороху (PSA).

Для опису морфології нирки новонародженого щура використана термінологія [23].

Метою роботи було вивчення можливостей використання лектину MPFA у гістохімічних дослідженнях, а також у його порівнянні з іншими DMan/DGlc-специфічними лектинами – конканаваліном А, лектинами сочевиці та гороху; означені лектини були використані для дослідження перерозподілу манозо/глюкозо-гліканів у процесі постнатального розвитку, а також гістохімічних проявів метаболічного синдрому при цукровому діабеті.

Матеріал та методи дослідження. В якості тест-об'єкта використана нирка щура у динаміці постнатального онтогенезу, а також у процесі розвитку експериментального стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету. Для вивчення перерозподілу глікополімерів було використано 9 груп щурів лінії Вістар (по 3 особини у кожній групі, разом 27 тварин): на 1, 20, 60, 120 добу після народження, та на 14, 30, 40, 60, 80 добу після доочередного введення стрептозотину (Sigma, США) з розрахунку 70 мг/ кг маси тіла тварини. Розвиток діабету контролювали за рівнем глюкози, яку визначали глюкооксидазним методом з використанням реактивів фірми LaChema (Чехія) відповідно до інструкцій виробника. Свідченням розвитку цукрового діабету був рівень глюкози в крові у межах 10-18 ммоль/л. Утримання тварин та маніпуляції з ними проводилися у відповідності до положень “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених І Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Щурів окремих вікових груп або термінів розвитку стрептозотоцинового діабету забивали шляхом декапітації після передозування ефірного наркозу. Гістологічні проби нирки фіксували у 4% нейтральному формаліні з наступною заливкою у парафін за стандартною методикою. Для отримання оглядових препаратів зрізи товщиною 5-7 мкм фарбували гематоксиліном і еозином. Вуглеводні детермінанти досліджували з використанням DMan/DGlc-специфічних лектинів канавалії (Con A), сочевиці (LCA), гороху (PSA), а також міцени (MPFA), що були очищені та кон'юговані з пероксидазою хрому в лабораторії “Лектинотест” доктором фарм. наук В. Антонюком [1]. Візуалізацію рецепторів лектинів здійснювали діамінобензидину тетрагідрохлоридом (Sigma, США) в присутності перекису водню як описано раніше [6].

У попередніх дослідженнях було виявлено високу афінність лектину міцени до лужної фосфатази, молекули якої містять значну кількість детермінант D-манози та N-ацетил-D-глюкозаміну (DGlcNAc). Для перевірки селективності зв'язування лектину MPFA з лужною фосфатазою у складі структурних компонентів нирки, порівнювали гістотопографію рецепторів цього лектину з розподілом активності лужної фосфатази, яку визначали в криостатних нефіксованих зрізах нирки за рекомендаціями [4]: інкубаційна суміш включала 10 мг нафтолу AS-MX фосфату (Sigma, США), 10 мг стійкого синього РР (Fluka, Німеччина) в 10 мл 0,08 М TRIS-HCl буферу рН 9,2; інкубацію проводили під контролем мікроскопа до появи гранул синього кольору (5-10 хв), після чого зрізи промивали у дистильованій воді і заключали в желатин-гліцерин.

Мікроскопію і фотографування препаратів здійснювали з використанням фотомікроскопа МБИ-15-2.

Результати дослідження та їх обговорення. У нирці новонароджених щурів виявлено експресію рецепторів конканаваліну А на люменальній поверхні та у складі апікальної частини епітеліоцитів кінцевих ампул, S-подібних тілець збірних ниркових проток на фоні практично повної ареаактивності клубочків та метанефрогенної мезенхіми

(рис.1А). Нефроцити основних сегментів збірних проток демонстрували інтенсивну реактивність перинуклеарних ділянок, що може бути обумовлене приєднанням залишків DMan/ DGlc до олігосахаридних ланцюгів глікополімерів у складі комплексу Гольджі. Для сосочкових сегментів збірних проток характерним було контурування виключно їх люменальної поверхні. Упродовж постнатального онтогенезу на фоні помірної реактивності цитоплазматичних глікокон'югатів нефроцитів проксимальних та дистальних сегментів нефронів, контурування люменальної поверхні петлі Генле, часткової редукції реактивності поверхневих зон кіркової речовини нирки та структурних компонентів мозкових пірамід, задокументовано поступове накопичення рецепторів Con A в складі ядер подоцитів, мезангіоцитів ниркових тілець, нефроцитів ниркових трубочок та ендотеліоцитів судинної системи нирки (рис.1Б, В). Це спостереження узгоджується з даними літератури щодо афінності конканаваліну А до низки ядерних структур, зокрема, гетерохроматину та ядерцевого апарату [18].

Розвиток стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету супроводжувався редукцією рецепторів Con A в цитоплазмі і ядрах клітин ниркових трубочок, ядрах подоцитів, мезангіоцитів та ендотеліоцитів з одночасним підсиленням контурування базальної поверхні проксимальних та дистальних трубочок, висхідної частини петлі Генле, збірних ниркових проток (рис.1Г). Ці спостереження виявилися дещо несподіваними з огляду на дані літератури щодо афінності конканаваліну А до глікогену [18, 22], накопичення якого у клітинах паренхіми нирки (т.зв. глікогеновий нефроз) вважається однією з патогномонічних ознак розвитку цукрового діабету [2, 5], у тому числі і стрептозотоцинового [11, 12]. За таких умов розвиток стрептозотоцин-індукованої діабетичної нефропатії повинен супроводжуватися зростанням реактивності нефроцитів з конканаваліном А, що і було задокументовано низкою авторів [11, 17], однак у наших дослідженнях виявлено не було. Навпаки, по мірі прогресії цукрового діабету спостерігалася поступова редукція зв'язування Con A зі структурними компонентами нирки.

Виявлений феномен ми пояснюємо кількома ймовірними механізмами: втратою глікогену нефроцитами внаслідок використання у нашій роботі фіксації гістологічних проб у 4% нейтральному формаліні, тоді як вищенаведеними авторами [11, 12, 17] застосовувалась складні фіксуючі суміші; вимиванням глікозаміногліканів, зокрема, гепаран-сульфатів, з протеогліканових комплексів нирки при цукровому діабеті, на що вказують, зокрема [2, 5]; незавершеністю глікозування (неприєднанням залишків DMan/DGlc до синтезованих нефроцитами біополімерів) як наслідку метаболічного синдрому при розвитку цукрового діабету; набряком тканин нирки та розвитком гіаліново-крапельної дистрофії нефроцитів [5]. Останні з вищезначених патоморфологічних змін були ідентифіковані нами у препаратах, зафарбованих гематоксиліном і еозином (рис.2А, В, Г).

При цьому зауважимо, що на 14-у добу після введення стрептозотоцину структура нирки була практично не зміненою; на 30-у добу досліду на фоні загальної гіпертрофії та набряків нефроцитів виявлені ділянки деструкції окремих нефронів (рис.2Г); на 60-80-у добу розвитку експериментального цукрового діабету набряк паренхіми нирки, окремі ділянки геморагій поєднувалися з везикулярною дистрофією подоцитів та мезангіоцитів ниркових тілець, нефроцитів ниркових трубочок. Порівняння методів лектинової гістохімії з загальноморфологічними методами показало, що перші є чутливішими і дозволяють раніше – вже на 14-у добу після введення стрептозотоцину - ідентифікувати морфологічні зміни у нирці.

Зв'язування лектинів LCA та PSA зі структурними компонентами нирки новонародженого щура загалом було подібним до характеру розподілу рецепторів конканаваліну А. Починаючи від 20-ї постнатальної доби та у старших вікових групах рецептори означених лектинів концентрувалися в цитоплазмі нефроцитів збірних проток, виявлялися у складі ядер нефроцитів, подоцитів та ендотеліоцитів ниркових тілець та контурували щіточкову облямівку люменальної поверхні проксимальних та дистальних трубочок. Розвиток цукрового діабету супроводжувався редукцією рецепторів лектинів LCA та PSA у складі цитоплазми та ядер нефроцитів з одночасним посиленням контурування люменальної поверхні проксимальних та дистальних трубочок, висхідної частини петлі Генле, а також збірних ниркових проток, що нагадувало перерозподіл при цукровому діабеті рецепторів конканаваліну А.

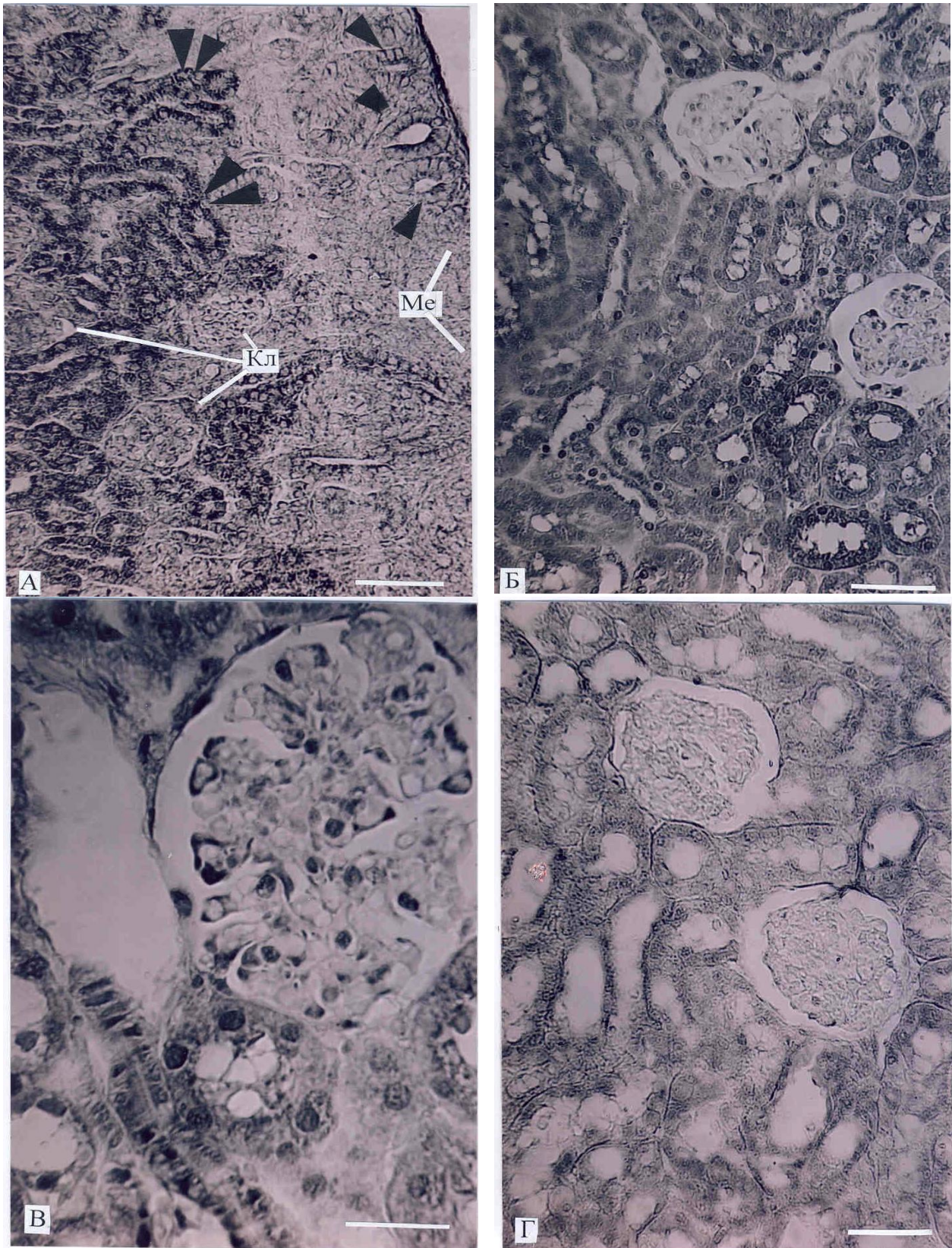


Рис.1. Зв'язування конканаваліну А зі структурними компонентами нирки щура. А. 1-й постнатальний день: реактивність люменальної поверхні кінцевих ампул (стрілки), перинуклеарних зон нефроцитів S-подібних тілець (подвійні стрілки), та основних сегментів збірних проток; метанефрогенна мезенхіма (Me), клубочки (Кл), ядра нефроцитів ареаактивні. Б, В. 120-а доба розвитку: інтенсивна реакція цитоплазматичних глікокон'югатів клітин проксимальних і дистальних трубочок, петлі Генле, ядер подоцитів, мезангіоцитів, ендотеліоцитів. Г. Через 40 днів після ін'єкції стрептозотоцину: на фоні зменшення реактивності цитоплазматичних та ядерних глікополімерів контурування базальних мембран ниркових трубочок. Масштабний відрізок – 50 мкм (А, Б, Г) та 25 мкм (В).

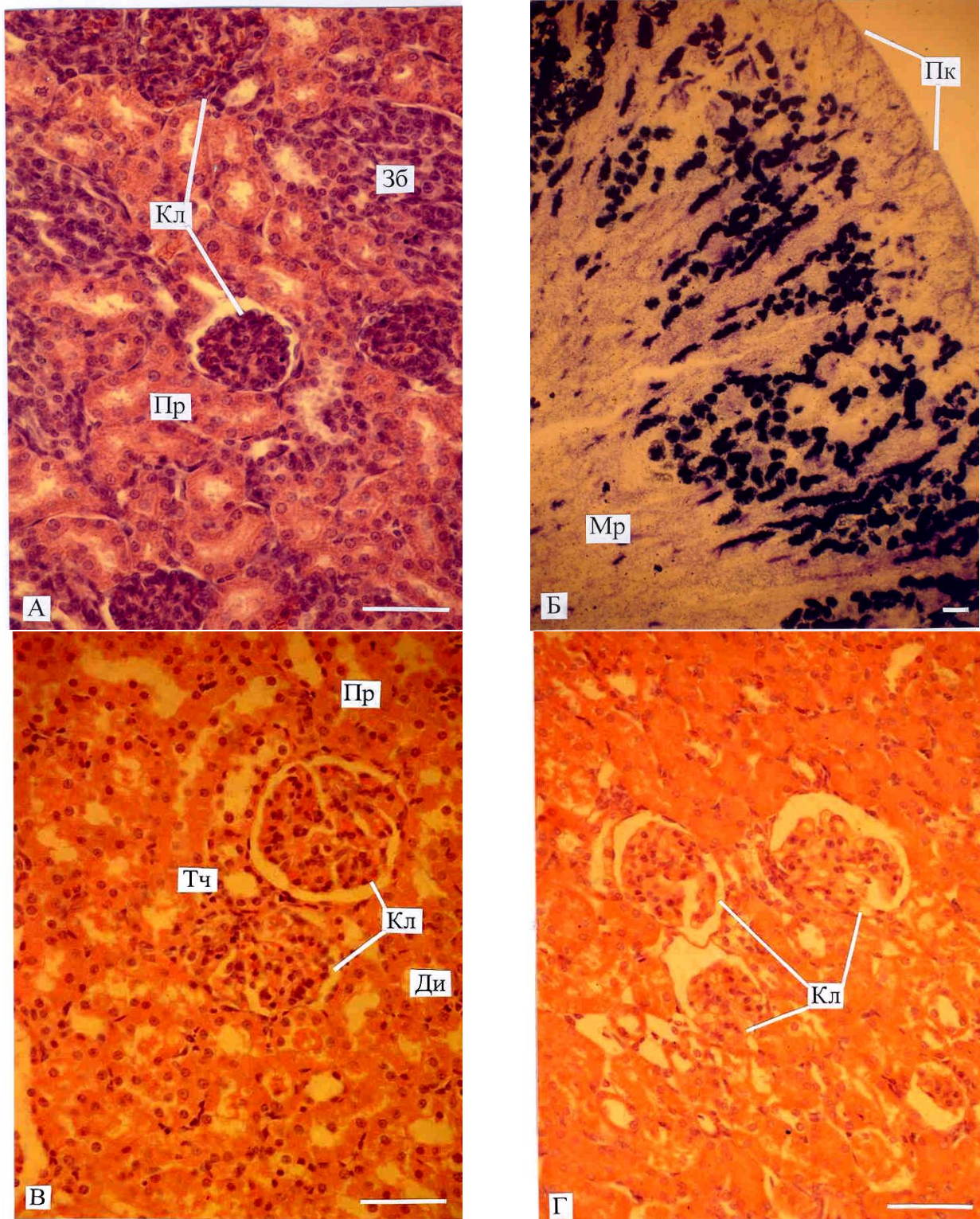


Рис.2. Морфологія нирки щурів різних дослідних груп після зафарбовування гематоксиліном і еозином (А, В, Г) та стійким синім для визначення активності лужної фосфатази (Б). А. 1-й постнатальний день: Кл – клубочки, Пр – проксимальні трубочки, Зб – збірні ниркові протоки. Б. Локалізація активності лужної фосфатази у складі щіткової облямівки проксимальних та дистальних трубочок; ареактивність клубочків, кінцевих ампул, S-подібних тілець, нефроцитів основних сегментів збірних проток; Пк – поверхня кіркової речовини, Мр – мозкова речовина нирки. В. Нирка інтактного щура 120-и діб розвитку: Кл – клубочки, Пр – проксимальні трубочки, Ди – дистальні трубочки, Тч – тонка частина петлі Генле. Г. Нирка щура на 30-у добу після ін'єкції стрептозотозину: набряк нефроцитів, звуження просвіту ниркових трубочок, порушення структури ниркових клубочків (Кл). Масштабний відрізок – 50 мкм.

Загалом відмінності між реактивністю лектинів Con A, LCA та PSA зі структурними компонентами нирки в усіх досліджених групах тварин були мінімальними і стосувалися переважно поверхневих зон кіркової речовини нирки дорослого щура, які не взаємодіяли з

конканаваліном А, але давали позитивну реакцію з лектинами LCA та PSA, а також більш вираженого контурування лектином сочевиці люменальної поверхні ниркових трубочок після ін'єкції стрептозоточину (рис.3Г).

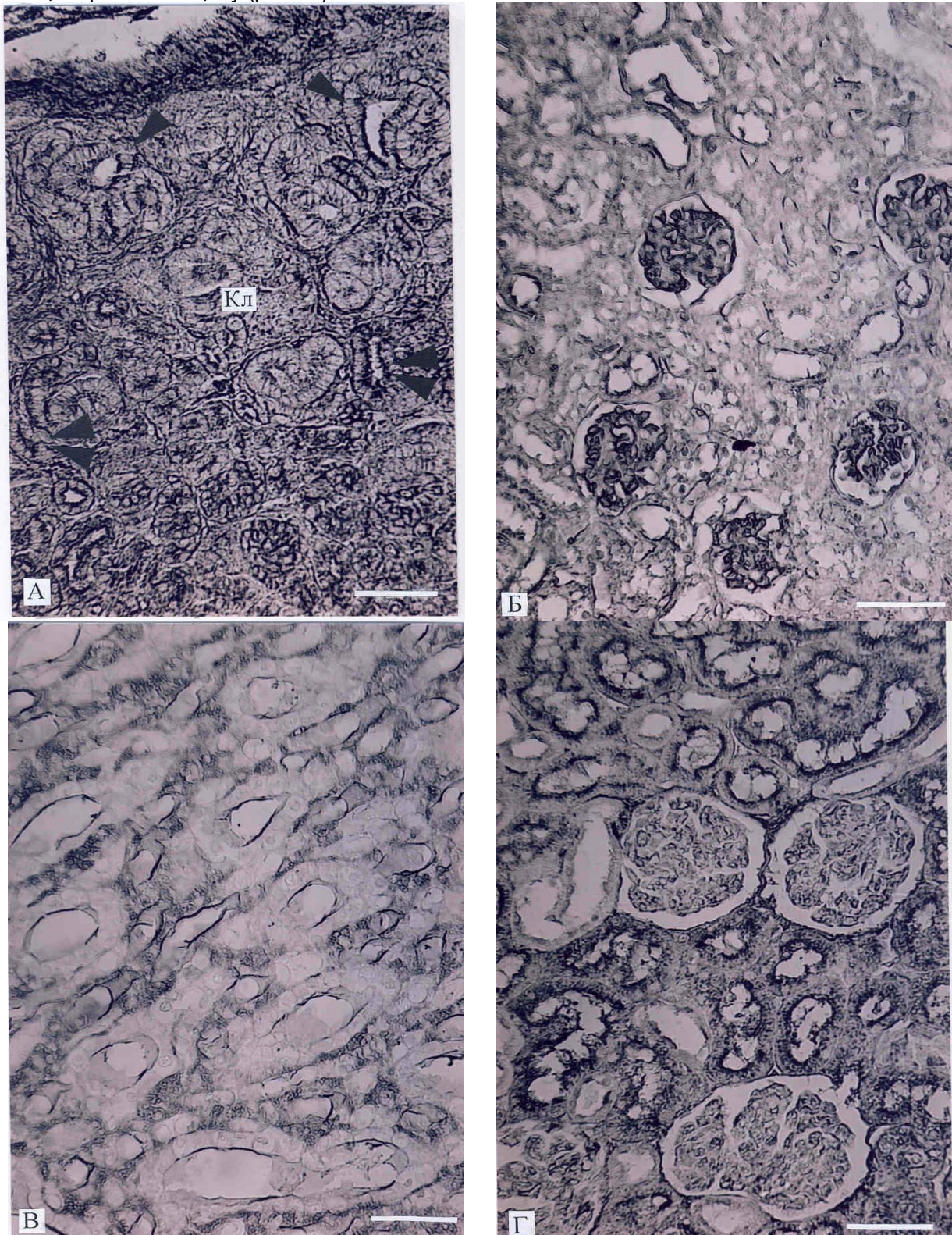


Рис.3. Глікополімери нирки щурів оброблених лектинами міцени (А, Б, В) та сочевиці (Г). А. Нирка новонародженого щура: експресія рецепторів лектину міцени на люменальній поверхні кінцевих ампул (стрілки), S-подібних тілець (подвійні стрілки), ареакивність клубочків (Кл). Б. Нирка на 20-у постнатальну добу: інтенсивна взаємодія лектину міцени з цитоплазматичними глікокон'югатами подоцитів, мезангіоцитів, фільтраційної базальної мембрани. В. Мозкова речовина нирки на 60-у добу після ін'єкції стрептозоточину: переривчасте контурування люменальної поверхні збірних проток, інтенсивна реакція цитоплазматичних глікополімерів клітин інтерстицію. Г. Нирка щура через 80 діб після введення стрептозоточину: посилення реактивності люменальної поверхні проксимальних і дистальних трубочок з лектином сочевиці, помірна реактивність ниркових клубочків. Масштабний відрізок – 50 мкм.

Рецептори MPFA у нирці новонароджених щурів локалізувалися у цитоплазмі нефроцитів з тенденцією до накопичення в апікальній частині та на люменальній поверхні клітин кінцевих ампул, S-подібних тілець та основних частин збірних ниркових проток (рис.3А). На 20-у постнатальну добу на фоні загального зменшення реактивності паренхіми нирки рецептори лектину міцни вперше виявлялися у складі цитотрабекул подоцитів, мезангіоцитів і базальних мембран ниркових тілець (рис.3Б), що може свідчити як про важливу роль MPFA-афінних глікополімерів у формуванні фільтраційного бар'єру, так і про досягнення якісно нового стану зрілості нирки щура у проміжку між 1-ю та 20-ю добою постнатального онтогенезу. Це спостереження добре погоджується з даними інших авторів, які засвідчують зникнення в нирці щура між 1-ю та 20-ю добою після народження S-подібних тілець, формуванні зрілих ниркових тілець, набуття спектром екстрактивних білків нирки ознак, наближених до зрілого організму [23]. Інтенсивна реактивність ниркових тілець з лектином міцни зберігалася і на подальших етапах онтогенезу, включаючи дорослих тварин, а також при цукровому діабеті.

Окрім того, на 20-й постнатальний день задокументовано зв'язування лектину MPFA з глікополімерами ядер нефроцитів мозкових пірамід, а також, у меншій мірі, проксимальних і дистальних трубочок (рис.3Б). У подальшому мала місце тенденція до редукції реактивності цитоплазматичних глікокон'югатів нефроцитів з лектином міцни і накопичення рецепторів цього лектину на люменальній поверхні клітин, а також у ядрах нефроцитів. В цілому, при порівнянні гістотопографії та характеру перерозподілу рецепторів MPFA з 14 іншими лектинами різної вуглеводної специфічності встановлено найбільшу подібність гістотопографії місць зв'язування лектину міцни до місць зв'язування лектину зародків пшениці (WGA), афінність якого спрямована головним чином до залишків DGlcNAc [1, 6]. Таким чином, судячи з характеру гістохімічних реакцій, визначальним чинником зв'язування лектину міцни з тканинними глікополімерами є кінцеві моносахаридні залишки DGlcNAc у поєднанні з залишками DMan/DGlc.

З використанням лектину міцни була також ідентифікована гетерогенність нефроцитів збірних проток (рис.3В), що погоджується з даними інших авторів [14, 15, 19, 23], отриманих з використанням лектинів іншої вуглеводної специфічності. У процесі розвитку експериментального цукрового діабету якісних відмінностей у зв'язуванні лектину MPFA виявлено не було, хоча мала місце тенденція до редукції рецепторів цього лектину в цитоплазмі та ядрах нефроцитів з одночасним їх накопиченням на люменальній поверхні ниркових трубочок та у складі цитоплазматичних глікополімерів клітин інтерстицію мозкової речовини нирки (рис.3В). Експресію рецепторів лектину міцни можна розцінити як гістохімічну ознаку зміни характеру глікозування синтезованих клітинами інтерстицію глікополімерів внаслідок розвитку метаболічного синдрому при цукровому діабеті, на що, зокрема, вказують [5]. Виявлений нами феномен посилення контурування усіма використаними у роботі лектинами люменальної поверхні ниркових трубочок і збірних проток при цукровому діабеті, правдоподібно, може бути пов'язаний з посиленням транспортування через цю поверхню та наступним виведенням з сечею глікополімерів з кінцевими залишками DMan/DGlc та DGlcNAc, що також погоджується з даними [2, 5].

У попередніх дослідженнях було задокументовано високу афінність лектину MPFA до молекул лужної фосфатази, що містять у своєму складі значну кількість детермінант DMan та DGlcNAc. У цьому дослідженні активність лужної фосфатази ідентифікована нами у складі щіточкової облямівки проксимальних ниркових трубочок новонароджених щурів (див. рис.2Б), тоді як рецептори лектину міцни були локалізовані у цитоплазмі ширшої популяції нефроцитів з тенденцією до їх накопичення в апікальній частині та на люменальній поверхні клітин кінцевих ампул, S-подібних тілець та основних частин збірних ниркових проток. Отже, отримані нами дані можуть свідчити про те, що субстрат для зв'язування лектину MPFA є ширшим, аніж може бути обумовлено лише вуглеводними детермінантами лужної фосфатази і представлений у нирці також іншими глікокон'югатами складної будови з кінцевими залишками DMan/DGlc та DGlcNAc, у тому числі і глікогеном.

Порівняння специфічності зв'язування лектинів Con A, LCA, PSA та MPFA зі структурними компонентами нирки показало, що лектин міцни може служити найбільш раннім маркером зрілості ниркових тілець, оскільки негативна реакція останніх з цим

лектином на 1-й постнатальний день змінювалася виражено позитивною реакцією на 20-й постнатальний день.

Висновки

1. Виявлений перерозподіл місць зв'язування лектину міцени (MPFA) у динаміці постнатального морфогенезу нирки щура свідчить про можливість і доцільність використання цього новоочищеного лектину для морфо-гістохімічного вивчення закономірностей становлення органних систем в онтогенезі.
2. Появу рецепторів лектину міцени в цитоплазмі подоцитів, мезангіоцитів та у складі фільтраційної базальної мембрани на 20-у постнатальну добу можна розцінювати як гістохімічну ознаку завершення функціонального дозрівання нирки щура у проміжку між 1-ю та 20-ю добою, а також про важливу роль глікополімерів з детермінантами DMan/DGlc та DGlcNAc у становленні фільтраційного бар'єру.
3. Розвиток стрептозотоксин-індукованої діабетичної нефропатії супроводжувався редукцією рецепторів Con A, LCA, PSA, MPFA у складі ниркових тілець, цитоплазми нефроцитів, що можна пояснити підвищеним вимиванням глікогену та глікозаміногліканів, зокрема, гепаран-сульфатів, незавершеністю кінцевих етапів глікозування біополімерів внаслідок метаболічних зрушень в організмі, а також загальним набряком і розвитком гіаліново-крапельної дистрофії клітин паренхіми нирки.
4. Виявлені відмінності у зв'язуванні лектинів Con A, LCA, PSA та лектину MPFA: останній виявився селективним гістохімічним маркером подоцитів, мезангіоцитів та фільтраційної базальної мембрани ниркових тілець починаючи від 20-го постнатального дня і упродовж наступних вікових періодів, тоді як лектини Con A, LCA, PSA такої афінності не виявляли.
5. Спектр гістохімічної реактивності лектину MPFA у нирці щура виявився ширшим, аніж гістотопографія активності лужної фосфатази, детермінанти DMan та DGlcNAc якої, а також інших глікополімерів складної будови (у тому числі і глікогену) можуть слугувати місцями зв'язування цього лектину.

Перспективи подальших досліджень. *Більш детальна характеристика тонкої вуглеводної специфічності лектину міцени, вивчення можливостей його застосування як селективного гістохімічного маркера інших клітинних популяцій, а також використання у лектиновому блотингу, ізолюванні біологічно важливих глікополімерів.*

Література

1. Антонюк В.О. Лектини та їх сировинні джерела. - Львів. - Кварт. - 2005.
2. Бондарь И.А., Климонтов В.В. Гликозаминогликаны и диабетическая нефропатия. Пробл. Эндокринологии. - 2004. - №2. - С. 29-34.
3. Волошин Н.А., Григорьева Е.А., Довбыш М.А. Использование лектиновой гистохимии в морфологии. Таврич. Мед. Биол. Вестн. - 2004. - №4. - С. 40-41.
4. Глузман Д.Ф., Складенко Л.М., Надгорная В.А. и др. Иммуноцитохимическая диагностика опухолей кроветворной и лимфоидной тканей у детей. - Київ. - ДИА. - 2005. - С. 178-179.
5. Дедов И.И., Шестакова М.В. Диабетическая нефропатия. - Москва. - Универсум Паблишинг. - 2000.
6. Луцик А.Д., Детюк Е.С., Луцик М.Д. Лектины в гистохимии. - Львов. - Вища школа. - 1989.
7. Луцик М.Д., Панасюк Е.Н., Луцик А.Д. Лектины. - Львов. - Вища школа. - 1980.
8. Хомутовский О.А., Луцик М.Д., Передерей О.Ф. Электронная гистохимия рецепторов клеточных мембран. - Київ. - Наукова думка. - 1986.
9. Balcan E., Tuglu I., Sahin M. et al. Cell surface glycosylation diversity of embryonic thymic tissues. - Acta Histochem. - 2008. - Vol. 110. - P. 14-25.
10. Fischer E., Wagner M., Bertsch T. Cepea hortensis agglutinin-I, specific for O-glycosidically linked sialic acids, selectively labels endothelial cells of distinct vascular beds. - Histochem J. - 2000. - Vol. 32. - P. 105-109.
11. Hennigar R.A., Mayfield R.K., Harvey J.N. et al. Lectin detection of renal glycogen in rats with short-term streptozotocin-diabetes. - Diabetologia. - 1987. - Vol. 30. - P. 804-811.
12. Holck P., Rasch R. Structure and segmental localization of glycogen in the diabetic rat kidney. - Diabetologia. - 1993. - Vol. 42. - P. 891-900.
13. Holthofer H. Lectin-binding sites in kidney. A comparative study of 14 animal species. - J. Histochem. Cytochem. - 1983. - Vol. 31. - P. 531-537.
14. Holthofer H. Cell type-specific glycoconjugates of collecting duct cells during maturation of the rat kidney. - Cell Tissue Res. - 1988. - Vol. 253. - P. 305-309.
15. LeHir M., Dubach U.C. The cellular specificity of lectin binding in the kidney I. A light microscopical study in the rat. - Histochemistry. - 1982. - Vol. 74. - P. 521-530.

16. Lyons T.J., Stoddart R.W., McClure S.F. et al. Lectin and other histochemical studies of the articular cartilage and the chondro-osseous junction of the normal human knee joint. -J.Mol.Hist.-2007.-Vol.38.-P.13-23.
17. Rosenquist T.H., Huff T. Lectin binding in the diabetic rat kidney. -Histochemistry.-1985.-Vol.83.-P.279-284.
18. Roth J. Application of lectin-gold complexes for electron microscopic localization of glycoconjugates on thin sections. -J.Histochem.Cytochem.-1983.-Vol.31.-P.987-999.
19. Roth J., Taatjes D. Glycocalyx heterogeneity of rat kidney urinary tubule: demonstration with a lectin-gold technique specific for sialic acid. -Eur.J.Cell.Biol.-1985.-Vol.39.-P.449-457.
20. Schulte B.A., Spicer S.S. Histochemical evaluation of mouse and rat kidneys with lectin-horseradish peroxidase conjugates. -Am.J.Anat.-1983.-Vol.168.-P.345-356.
21. Toma V., Zuber C., Winter H.C. et al. Application of a lectin from the mushroom *Polyporus squamosus* for the histochemical detection of the NeuAc alpha 2,6Gal beta 1,4Glc/GlcNAc sequence of N-linked oligosaccharides: a comparison with the *Sambucus nigra* lectin. -Histochem.Cell.Biol.-2001.-Vol.116.-P.183-193.
22. Zlotowski P., Gimeno E.J., Diaz A. et al. Lectin histochemistry: glycogenesis in cattle. -Veterinary Res.Comm.-2006.-Vol.30.-P.369-377.
23. Zuber C., Paulson J.C., Toma V. et al. Spatiotemporal expression patterns of sialoglycoconjugates during nephron morphogenesis and their regional and cell type-specific distribution in adult rat kidney. -Histochem.Cell.Biol.-2003.-Vol.120.-P.143-160.

Резюме

МАННОЗОГЛИКАНЫ ПОЧКИ КРЫСЫ В ДИНАМИКЕ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА И ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ИНДУЦИРОВАННОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Амбарова Н.О., Антонюк Р.В., Луцик А.Д.

4 лектина (Con A, LCA, PSA, MPFA, – новоочищенный агглютинин грибка *Mycena pura*) использовались для гистохимического исследования гликоконъюгатов почки у крыс на протяжении постнатального онтогенеза и при стрептозотцин-индуцированном сахарном диабете. Карбогидратные детерминанты были обработаны лектин-пероксидазой с последующей визуализацией при помощи диаминобензадина. Обнаруженная экспрессия MPFA рецепторов в Мальпигиевых тельцах на 20-ый день в сравнении с их отсутствием на 1-ый день, мы считаем доказательством завершения созревания почек крыс между 1-м и 20-м днями, также как и важной роли DMan/DGlc и DglcNAc в становлении фильтрационного барьера. Стрептозотцин-индуцированная нефропатия сопровождалась сокращением Con, LCA, PSA и MPFA реактивности нефроцитов с одновременным увеличением на поверхности почечных канальцев и цитоплазматических гликоконъюгатов интерстициальных клеток. Полученные результаты демонстрируют возможности для будущего применения новоочищенного лектина MPFA как гистохимического реактива.

Ключевые слова: лектиновая гистохимия, почка крысы, постнатальный онтогенез, стрептозотцин-индуцированная нефропатия, агглютинин грибка *Mycena pura* (MPFA).

RAT KIDNEY MANNOSGLYCANS REDISTRIBUTION DURING POSTNATAL ONTOGENESIS AND IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES

Ambarova N.O., Antonyuk V.O., Lutsyk A.D.

4 lectins (Con A, LCA, PSA, MPFA – a newly purified agglutinin from mushroom *Mycena pura*) were used for the histochemical investigation of rat kidney glycoconjugates during postnatal ontogenesis and in streptozotocin-induced diabetes mellitus. Carbohydrate determinants were subjected to lectin-peroxidase conjugates with subsequent visualization by diaminobenzidine. Detected expression of MPFA receptor sites in Malpighian corpuscles on day 20-th in comparison with their negative label on day 1-st we consider as a proof of completed rat kidney maturation in between postnatal days 1-st and 20-th, as well as of important role of DMan/DGlc and DGlcNAc, directing this lectin binding, during formation of the filtration barrier. Streptozotocin-induced nephropatia was accompanied with the reduction of Con A, LCA, PSA and MPFA reactivity of nephrocytes with simultaneous enhanced labelling of luminal surfaces of uriniferous tubules and cytoplasmic glycoconjugates of interstitial cells. The obtained data demonstrates possibilities for future application of newly purified MPFA lectin as a prospective histochemical reagent.

Key words: lectin histochemistry, rat kidney, postnatal ontogenesis, streptozotocin-induced nephropatia, *Mycena pura* fungus agglutinin (MPFA).