

© О. В. Зайцева, 2019
УДК 594.3:591.88:591.43

О. В. Зайцева

ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ ДИСПЕРСНОЙ ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА

Лаборатория эволюционной морфологии (зав. — доц. О. В. Зайцева), ФГБУН «Зоологический институт Российской академии наук», кафедра гистологии и эмбриологии им. проф. А. Г. Кнорре (зав. — доц. В. Г. Кожухарь), ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России

Цель — изучение эндокриноподобных клеток в пищеварительной системе брюхоногих моллюсков.

Материал и методы. Исследован пищеварительный тракт 9 представителей видов гастропод из разных систематических групп. Используются методы импрегнации AgNO_3 по Гольджи—Колонье и электронной микроскопии.

Результаты. Показано, что в эпителии всех отделов пищеварительного тракта, кроме типичных нейроноподобных клеток с длинными отростками, присутствуют значительное количество аргентофильных эндокриноподобных клеток с короткими расширенными в базальном отделе выростами цитоплазмы, а также «смешанные» — не целиком аргентофильные, экзо-эндокринные клетки. В цитоплазме последних, помимо имеющихся в экзокриноцитах секреторных вакуолей, присутствуют характерные для эндокриноцитов гранулы. Содержимое этих гранул выделяется либо в базальном отделе и далее через базальную мембрану (паракринная секреция), либо через апикальную поверхность в просвет тракта.

Выводы. Учитывая, что подобные смешанные клетки были выявлены ранее в пищеварительном тракте у ряда позвоночных, можно говорить о широком распространении этого явления в эволюции и справедливости основного положения гипотезы о местном энтодермальном происхождении эндокриноцитов в пищеварительной системе.

Ключевые слова: дисперсная эндокринная система (ДЭС), эндокриноциты, пищеварительная система, брюхоногие моллюски

Введение. Клетки энтероэндокринной системы были обнаружены у позвоночных животных и человека еще в конце позапрошлого века. Они были отнесены к дисперсной эндокринной системе (ДЭС) — комплексу гормонпродуцирующих клеток, основная масса которых располагается в эпителиальных пластах органов пищеварительной, дыхательной, мочевой систем и кожи [2, 5, 7]. Показано, что многие из клеток ДЭС имеют сродство к солям серебра. Секретируемые ими вещества (разнообразные пептиды и моноамины) играют важную роль в регуляции функций соответствующих органов и контролируют процессы обмена с внешней средой [3, 5, 7, 8]. Однако сложившиеся представления об эндокриноцитах пищеварительной системы основаны преимущественно на данных, полученных на позвоночных животных и человеке. Эволюционные аспекты становления и развития энтеральной эндокринной системы исследованы мало. Нет устоявшегося мнения и о происхождении клеток ДЭС даже у высших животных и человека [4–6]. Изучение структурной организации и функционирования регуляторных систем желудочно-кишечного тракта продолжает оставаться актуальной проблемой современной нейробиологии

и медицины. Понимание закономерностей развития и эволюции этих систем в филогенезе разных по уровню организации, систематическому положению, образу жизни и типу питания животных могло бы способствовать выявлению фундаментальных основ формирования компенсаторно-приспособительных механизмов, лежащих в основе регуляции работы пищеварительной системы высших животных и человека.

Цель настоящей работы — выявление и сравнительное морфологическое исследование эндокриноцитов пищеварительной системы представителей брюхоногих моллюсков — классических модельных объектов современной нейробиологии.

Материал и методы. Объектами исследования были половозрелые особи представителей 9 видов брюхоногих моллюсков из разных филогенетических групп: подкласса Caenogastropoda — морские *Littorina littorea*, *Cyprionatica clausa* (отр. Mesogastropoda), *Buccinum undatum* (отр. Stenoglossa); подкласса Opisthobranchia — морские *Cadlina laevis* (отр. Doridida), *Dendronotus frondosus* и *Coryphella verrucosa* (отр. Nudibranchia), подкласса Pulmonata — наземные улитки *Achatina fulica* и слизни *Deroceras reticulatum* и *Arion silvaticus* (отр. Stylommatophora). Морские виды были получены из Чупинской губы Белого моря, слизни собраны в Ленинградской области, а улитки *A. fulica* взяты из коллекции ЗИН РАН. Все

Сведения об авторах:

Зайцева Ольга Викторовна (e-mail: ovzaitseva@inbox.ru), лаборатория эволюционной морфологии, ФГБУН «Зоологический институт Российской академии наук», 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 1

манипуляции с животными проведены в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ от 19.06.2003 г. № 267).

Выявление регуляторных клеточных элементов в пищеварительной системе моллюсков проводили с помощью метода импрегнации азотнокислым серебром по Гольджи — Колонье на светооптическом уровне с помощью микроскопа Leica DMR IW (Германия) с камерой Nikon Coolpix 4500. Для этого у анестезированных в парах эфира животных выделяли пищевод, желудок, печень и кишку. После фиксации в смеси глутаральдегида с раствором бихромата калия и импрегнации AgNO_3 материал заключали в целлоидин и делали серийные срезы толщиной 40–100 мкм. Отдельные участки перечисленных отделов пищеварительной системы *L. littorea* и *V. undatum* фиксировали для электронно-микроскопического исследования в 1,5% глутаральдегиде (G5882, Sigma-Aldrich, США) на какодилатном буфере с pH 7,6 в течение 2–72 ч. После дополнительной фиксации в 1% растворе OsO_4 на какодилатном буфере материал промывали, обезвоживали в спиртах и ацетоне и заливали в эпон или эпон-аралдит. Ультратонкие срезы, контрастированные уранил-ацетатом и цитратом свинца, исследовали при увеличении от 3000 до 30 000 с помощью электронного микроскопа Morgagni 268D (FEI Company, США) центра коллективного пользования «Таксон» ЗИН РАН (<http://www.ckp-rf.ru/ckp/3038/>).

Результаты исследования. Импрегнация по Гольджи—Колонье показала, что в эпителии всех отделов пищеварительного тракта у исследованных моллюсков, наряду с описанными ранее нейроноподобными клетками открытого и закрытого типа, длинные отростки которых образуют интра- и субэпителиальное нервные сплетения [10–12], присутствует значительное количество эндокриноподобных клеток. Эти клетки имеют короткие базальные отростки или «лапковидные» выросты цитоплазмы, часто расширенные у базальной мембраны (рис. 1).

Большая часть выявленных эндокриноподобных клеток в пищеводе, желудке и средней кишке моллюсков относятся к открытому типу; в печени чаще встречаются клетки закрытого типа. Эндокриноциты открытого типа по форме похожи на окружающие их эпителиальные клетки. Их апикальная часть обращена в просвет тракта (см. рис. 1). Только у *A. fulica* встречаются отдельные более дифференцированные эндокриноциты открытого типа. Они имеют вытянутую апикальную часть и хорошо выраженную расширенную ядродержащую базальную часть, что придает им грушевидную форму. У *A. fulica* наблюдаются и сильно вытянутые веретеновидные клетки с расширенной в средней области эпителия ядродержащей частью. Эндокриноциты закрытого типа у всех моллюсков имеют, как правило, округлую или овальную форму и локализуются у базальной мембраны. Эндокриноциты располагаются во всех отделах пищеварительного тракта у моллюсков диффузно. Встречаются как отдельные эндокриноциты, так и небольшие их скопления. Кроме этого, во всех отделах пищеварительного тракта моллюсков обнаруживается относительно небольшое количество особых аргентофильных клеток, в цитоплазме которых присутствуют разные по величине не импрегнирующиеся серебром вакуоли (см. рис. 1, б). Эти клетки по форме, базальным выростам и положению в эпителиальном пласте не отличаются от эндокриноцитов открытого типа и не выглядят как дегенерирующие клетки. Однако у некоторых из них наблюдается булавовидное расширение апикальных частей, в котором присутствует вакуолизированный аргентофобный секреторный продукт. Обнаруживаются и клетки, у которых

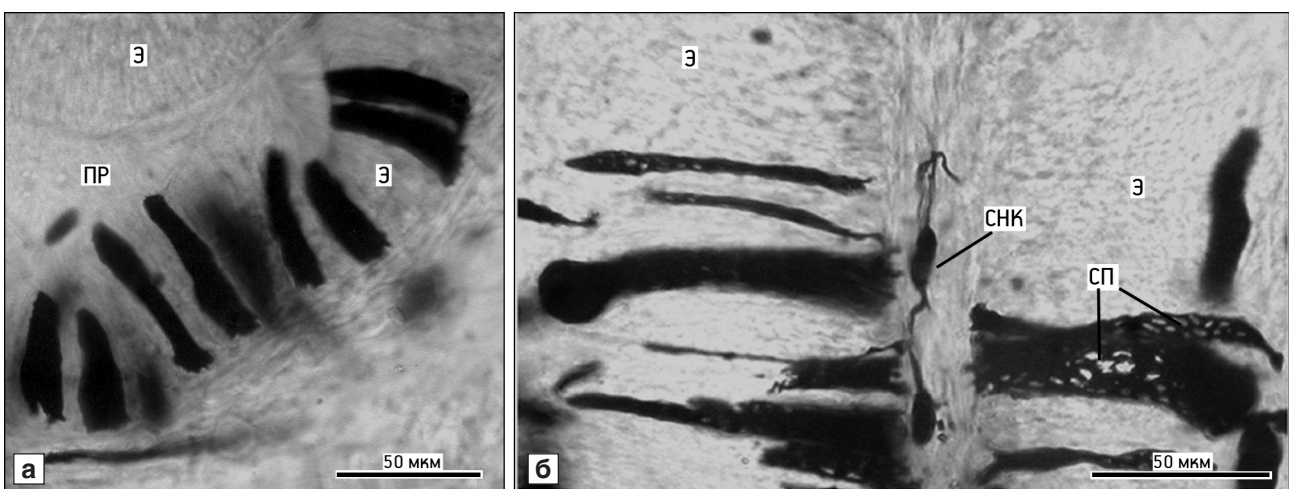


Рис. 1. Аргентофильные эндокриноподобные (а) и «смешанные» экзо-эндокринные клетки (б), содержащие дополнительно светлые вакуоли с аргентофобным секретом (СП) в эпителии желудка моллюска *C. verucosa*.

Э — эпителий; ПР — просвет пищеварительного тракта; СНК — субэпителиальные нервные клетки. Импрегнация азотнокислым серебром по Гольджи—Колонье. Об. 40, ок. 25

расширенные апикальные части отрываются в просвет пищеварительного канала. Следует отметить, что в тех отделах пищеварительного тракта моллюсков, где обнаруживается присутствие значительного количества пищи, число клеток с расширенными апикальными частями существенно больше. Отсутствие пищи в том или ином отделе пищеварительного тракта коррелирует с отсутствием расширенных апикальных частей описанных клеток. Полученные данные указывают на участие этих клеток в процессе пищеварения и позволяют рассматривать их как особый, «смешанный», тип экзо-эндокринных клеток.

Электронно-микроскопическое исследование подтверждает это предположение. И у *L. litorea*, и у *V. undatum* в эпителии всех исследованных отделов пищеварительного тракта, помимо основных типов эпителиальных клеток (абсорбирующих, бокаловидных и секреторных, типа зимогенных), встречаются 2 типа «регуляторных» клеточных элементов. Первый тип — «светлые» нейроноподобные клетки с длинными отростками был описан нами ранее [12]. Второй тип — клетки открытого и закрытого типов, содержащие в цитоплазме значительные скопления электронно-плотных гранул диаметром от 100 до 240 нм с «галом» и без него. Такие гранулы считаются характерными для пептидергических нейронов и эндокринных клеток позвоночных и беспозвоночных животных. У обоих видов моллюсков в клетках с электронно-плотными гранулами хорошо развиты гранулярная эндоплазматическая сеть и аппарат Гольджи (рис. 2, а).

Скопления электронно-плотных гранул наблюдались в апикальных частях клеток у просвета пищеварительного канала, а также в базальных частях и их выростах, обращенных к базальной пластинке (см. рис. 2, б). Это позволяет предположить, что биологически активные вещества (содержимое гранул) выделяются как в просвет пищеварительного тракта, так и посредством паракринной секреции в подлежащие эпителий ткани. Наряду с типичными эндокриноцитами и одноклеточными экзокринными железами, были выявлены еще 2 типа «смешанных» клеток. В цитоплазме клеток первого, «смешанного» типа, наряду с типичным зимогенным секретом, присутствовали характерные для эндокринных клеток электронно-плотные гранулы (см. рис. 2, в). В цитоплазме клеток второго типа мелкие электронно-плотные эндокринные гранулы располагались вместе с секреторным продуктом, характерным для бокаловидных (слизистых) клеток (см. рис. 2, г). Причем электронно-плотные гранулы образовывали в смешанных клетках скопления

в базальной и апикальной частях, как и в эндокринных клетках, а основной секреторный продукт (зимогенный или слизистый) занимал в клетках такое же положение, как и в соответствующих экзокринных железах.

Обсуждение полученных данных. Результаты настоящей работы и наших предыдущих исследований показали, что у всех исследованных представителей беспозвоночных (брюхоногих моллюсков, немертин и приапулид), несмотря на хорошо развитую иннервацию пищеварительного тракта, в составе его эпителия присутствуют довольно многочисленные дисперсно локализованные «регуляторные клетки» [9–15]. К ним, в отличие от позвоночных животных [1–7], наряду с разнообразными эндокриноподобными клетками, можно отнести многочисленные нейроны, отростки которых образуют интра- и субэпителиальное нервное сплетение [9–15]. Большая часть эндокриноподобных и нервных клеток относятся к открытому типу и, по всей видимости, являются хемо- и механорецепторами. С помощью иммуногистохимических и гистохимических методов среди регуляторных клеток пищеварительного тракта беспозвоночных обнаружены, как и у высших животных, разнообразные моноамин- и пептидсодержащие элементы [9–15]. Выявленные в эпителии различных отделов пищеварительной системы беспозвоночных смешанные экзо-эндокринные клетки присущи и позвоночным животным [1–7]. Однако у беспозвоночных они обнаруживаются в стабильных условиях функционирования пищеварительной системы, а у позвоночных — преимущественно в условиях регенерации и некоторых патологических состояниях [5, 6]. Возможно, что такие клетки являются промежуточными формами, отражающими преобразование экзокринных эпителиальных клеток в эндокринные. Такое преобразование считается закономерностью для цитогенеза эндокриноцитов всей пищеварительной системы позвоночных [5, 6].

Заключение. Наличие сходных смешанных клеток у разных по уровню организации, систематическому положению, среде обитания и образу жизни беспозвоночных подтверждает широкое распространение и универсальность этих процессов в эволюции. С другой стороны — возможность трансформации экзокринных клеток в эндокринные свидетельствует в пользу существования общего источника развития экзо- и эндокринных клеток и их местного, энтодермального, происхождения у позвоночных и беспозвоночных животных.

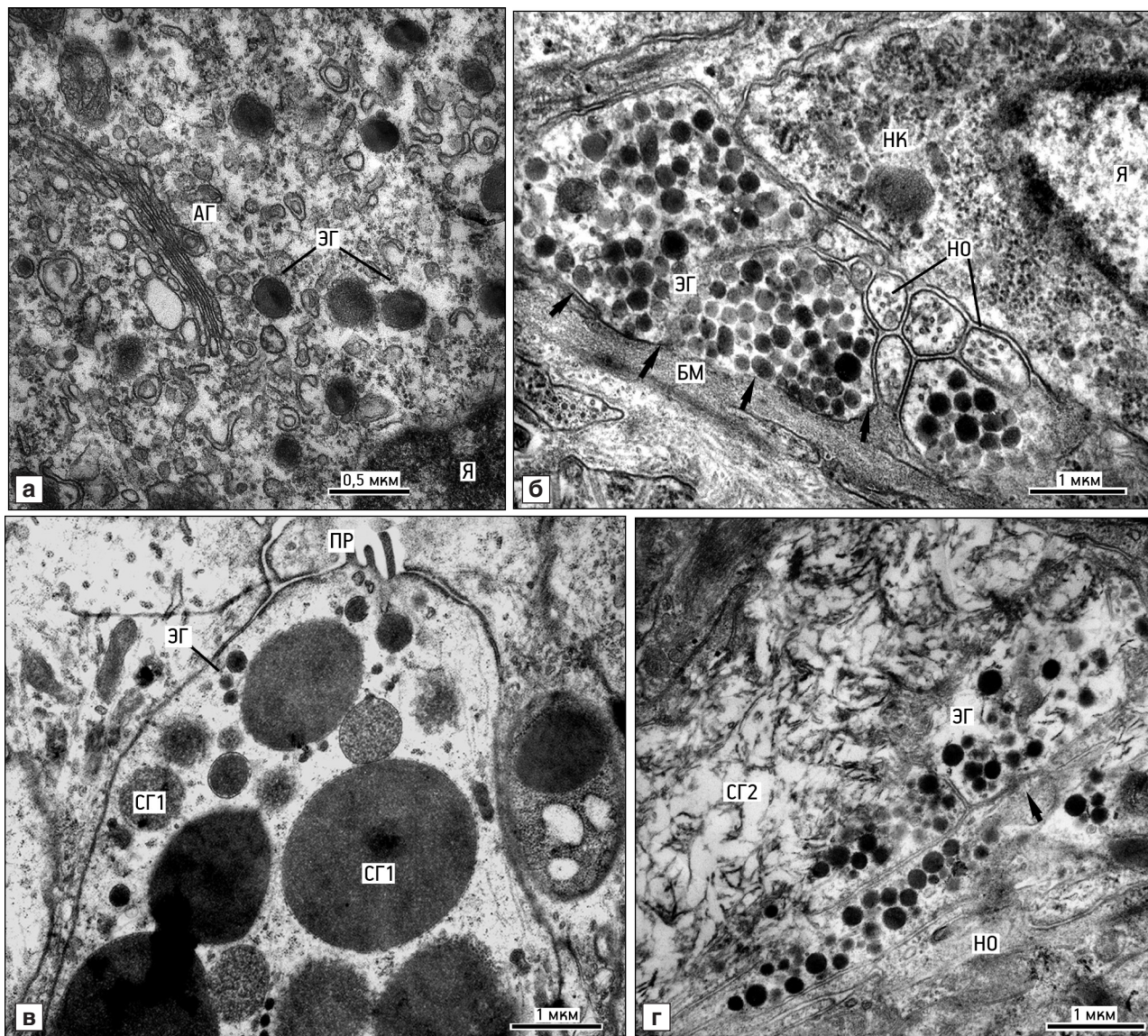


Рис. 2. Ультраструктура интраэпителиальных эндокринопоподобных (а, б) и «смешанных» экзо-эндокринных клеток первого (в) и второго (г) типа в пищеварительном тракте *L.littorea*.

ЭГ — «эндокринные» гранулы; АГ — аппарат Гольджи; Я — ядро клетки; НК — интраэпителиальная нервная клетка; НО — отростки нервных клеток; БМ — базальная мембрана; СГ1 и СГ2 — секреторный продукт первого и второго типа соответственно. Головки стрелок — места возможного паракринного выделения секреторного продукта эндокринных гранул. Остальные обозначения те же, что на рис. 1. Ув.: а — 30 000; в — 16 000; б, г — 20 000

Работа выполнена по теме государственного задания АААА-А19-119020690076-7.

Автор сообщает об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Иванова О.В., Пузырев А.А. Цитогенез и дифференцировка эндокриноцитов эпителия толстой кишки кур и крыс в онтогенезе // Морфология. 1996. Т. 110, вып. 6. С. 106–111 [Ivanova O.V., Puzyrev A.A. Cytogenesis and differentiation of endocrinocytes in the epithelium of the large intestine in the course of development of chicken and rats // *Morfologiya*. 1996. Vol. 110, № 6. P. 106–111. In Russ.].
- Костюкевич С.В., Пузырев А.А., Иванова В.Ф. Эндокринный аппарат эпителия слизистой оболочки червеобразного отростка человека (червеобразный отросток — эндокринная железа, функционирующая в эмбриональный период?) // Морфология. 1998. Т. 113, вып. 2. С. 21–35 [Kostukevics S.V., Puzyrev A.A., Ivanova V.F. Endocrine apparatus of the mucosal epithelium of the human appendix (is the appendix an endocrine gland that functions during the embryonic period?) // *Morfologiya*. 1998. Vol. 113, № 2. P. 21–35. In Russ.].
- Овсянников В.И. Нейромедиаторы и гормоны в желудочно-кишечном тракте. СПб., 2005. 136 с. [Ovsyinnikov V.I. Neurotransmitters and hormones in the gastrointestinal tract. SPb., 2005. 136 p. In Russ.].
- Пузырев А.В., Иванова В.Ф. Гастропанкреатическая система (развитие, строение, регенерация) // Морфология. 1992. Т. 102, вып. 1. С. 5–28 [Puzyrev A.V., Ivanova V.F. Gastropancreatic system (development, structure, regeneration) // *Morfologiya*. 1992. Vol. 102, № 1. P. 5–28. In Russ.].

5. Пузырев А. А., Иванова В. Ф. Эндокринная гастроэнтеропанкреатическая система позвоночных животных и человека. Фундаментальные и прикладные аспекты // Вопросы морфологии XXI века. Сборник научных трудов. 2008. Вып. 1. С. 254–258 [Puzyrev A. A., Ivanova V. F. Endocrine gastroenteropancreatic system of vertebrates and humans. Fundamental and applied aspects // Voprosy morfologii XXI veka. Sbornik nauchnykh trudov. 2008. № 1. P. 254–258. In Russ.].
6. Пузырев А. А., Иванова В. Ф., Костюкевич С. Ф. Закономерности цитогенеза гастроэнтеропанкреатической системы позвоночных // Морфология. 2003. Т. 124, вып. 4. С. 11–19 [Puzyrev A. A., Ivanova V. F., Kostukevics S. F. Patterns of cytogenesis in the vertebrate gastroenteropancreatic system // Morfologiya. 2003. Vol. 124, № 4. P. 11–19. In Russ.].
7. Яглов В. В., Ломоносова Г. А. Диффузная эндокринная система. Итоги и перспективы исследования // Успехи современной биологии. 1985. Т. 99, вып. 2. С. 264–276 [Yaglov V. V., Lomonosova G. A. Diffuse endocrine system. Study results and future prospects // Uspekhi sovremennoi biologii. 1985. Vol. 99, № 2. P. 264–276. In Russ.].
8. Adriaensen D., Scheuermann D. W. Neuroendocrine cells and nerves of the lung // *Anatom. Rec.* 1993. Vol. 236, № 1. P. 70–85.
9. Markosova T. G., Zaitseva O. V., Smirnov R. V. Monoamine- and peptide- containing elements in the nemertine digestive tract // *Zh. Evol. Biokhim. Fiziol.* 2007. Vol. 43, № 1. P. 69–79.
10. Zaitseva O. V. Nerve cells in the digestive tract epithelium of Gastropods // *Dokl. Biol. Sci.* 2006. Vol. 408. P. 220–222.
11. Zaitseva O. V., Marcosova T. G., Smirnov R. V., Soboleva V. V. Investigation of cell composition of the intestinal nervous system in Gastropods, Nemertins and Priapulids // *Proc. Zool. Inst. Russ. Acad. Sci. St. Petersburg.* 2004. Vol. 300. P. 175–184.
12. Zaitseva O. V., Filimonova S. A. Nerve cell and nerve plexus ultrastructure in the digestive tract epithelium of Gastropoda // *Dokl. Biol. Sci.* 2006. Vol. 40, № 1. P. 308–310.
13. Zaitseva O. V., Petrov S. A. Biogenic Amines in the Nervous System of Nemerteans // *Dokl. Biol. Sci.* 2013. Vol. 451. P. 228–230.
14. Zaitseva O. V., Shumeev A. N. Distribution of monoamines and neuropeptides in the digestive system of juvenile *Cadlina laevis* (Nudibranchia) // *Invertebrate Zoology.* 2017. Vol. 14, № 2. P. 226–233.
15. Zaitseva O. V., Shumeev A. N., Petrov S. A. Common and Distinctive Features in the Organization of Catecholamine-Containing Systems in Gastropods and Nemerteans: Evolutionary Aspects // *Biology Bulletin.* 2019. Vol. 46, № 1. P. 3–13.

Поступила в редакцию 12.07.2019

Получена после доработки 01.08.2019

EVOLUTIONARY ASPECTS OF THE FORMATION OF THE DISPERSED ENDOCRINE SYSTEM IN THE DIGESTIVE TRACT

O. V. Zaitseva

Objective — to examine endocrine-like cells in the digestive system of gastropods mollusks.

Material and methods. The digestive tract was examined in 9 species of gastropods from different taxonomic groups. The animals were studied using the Golgi-Colonnier silver impregnation method and electron microscopy.

Results. It was shown that in addition to the typical neuron-like cells with long processes, the epithelium of all regions of the digestive tract contains a large number of argentophilic endocrine-like cells with short, paw-shaped cytoplasmic extensions enlarged at the basal lamina, and «mixed», only partially argentophilic exo-endocrine cells. The cytoplasm of the exo-endocrine cells in addition to the secretory vacuoles present in the exocrinocytes contains granules typical for the endocrinocytes. The contents of these granules, like those in the endocrinocytes, are released either by paracrine secretion across the basal lamina or from the apical surface into the lumen of the tract.

Conclusions. Given that similar mixed cells have previously been found in the digestive tract in a number of vertebrates, it can be concluded that this phenomenon is common in evolution and that the hypothesis of local endodermal origin of endocrinocytes in the digestive system is correct.

Key words: *dispersed endocrine system, endocrine cells, digestive system, gastropod molluscs*

Laboratory of Evolution Morphology, Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences (ZIN RAS), 1 Universitetskaya Emb., St. Petersburg 199034; Department of Histology and Embryology n.a. prof. A. G. Knorre, St. Petersburg State Pediatric Medical University, 2 Litovskaya St., St. Petersburg 194100