

© Коллектив авторов, 2006
УДК 611.37.018:636.7

А.А. Пузырев, В.Ф. Иванова и С.В. Костюкевич

УЛЬТРАСТРУКТУРА ЭНДОКРИННЫХ КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ СОБАКИ

Отдел медико-биологических исследований (зав. — д-р мед. наук В.Ф.Иванова) Центральной научно-исследовательской лаборатории Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И.Мечникова

Методом электронной микроскопии изучали цитологический состав панкреатических островков собак. Выявлены 4 типа эндокринных клеток — А, В, D, PP. Преобладающей субпопуляцией островков являются В-клетки. Установлено, что различия в строении А- и В-клеток обусловлены фазами процесса синтеза гормонов. Показано, что в В-клетках секреторные гранулы, содержащие инсулин, имеют кристаллоидное строение, близкое по своей структуре к В-гранулам инсулинсодержащих В-клеток островков человека. В экзокринной паренхиме поджелудочной железы выявлены ацино-инсулярные клетки, содержащие в цитоплазме одновременно В-гранулы и зимоген, присутствие которых, вероятно, указывает на одно из направлений регенерации панкреатических островков.

Ключевые слова: панкреатические островки, эндокринные клетки, ультраструктура, собака.

Вопросы идентификации типов эндокринных клеток поджелудочной железы позвоночных, определения закономерностей их гистофизиологии и регенерации, несмотря на достигнутые успехи, остаются недостаточно разработанными. При этом наибольшее внимание привлекают инсулинпродуцирующие В-клетки, как элементы, играющие основную роль в регуляции инсулинзависимых процессов [1]. Большинство исследований, посвященных изучению панкреатических островков (ПО), выполнены с использованием иммуноцитохимических методов [14, 19], работы же, отражающие их строение на ультраструктурном уровне, сравнительно немногочисленны [2, 9, 10, 15–17]. На сегодняшний день, в связи с широким распространением диабета, именно В-клетки ПО являются наиболее важным объектом для экспериментального изучения проблем клинической эндокринологии [13, 20, 22]. Исходя из этого, целью данной работы явилось изучение цитологического состава ПО собаки, которое не нашло достаточного освещения в литературе, однако, именно эти животные широко используются в эксперименте при моделировании диабета.

Материал и методы. Исследована поджелудочная железа 4 беспородных собак массой 10–14 кг. У собак распределение типов эндокринных клеток тесно связано со строением протоковой системы [21]. В связи с этим под эфирным наркозом материал брали из тела железы, где располагаются все типы эндокриноцитов, фиксировали в 2,5% глутаральдегиде, обрабатывали 1% раствором четырехоксида осмия, заливали в аралдит М. Срезы, полученные на ультратоме LKB-3, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе JEM-100S. Диаметр секреторных гранул на электронных микрофото-

графиях измеряли в 10–15 клетках каждого типа и, исходя из увеличения микроскопа, рассчитывали истинный их размер.

Результаты исследования. В ПО у собак выявлены 4 типа эндокриноцитов (А, В, D, PP). При этом наибольшую часть составляют инсулинпродуцирующие В-клетки (рис. 1). Они содержат преимущественно одно удлиненной формы ядро, оболочка которого иногда образует умеренно выраженные инвагинации. Изредка встречаются и двудерные клетки. Значительная часть цитоплазмы В-клеток содержит эндокринные гранулы (диаметром от 219 до 422 нм), секреторный материал которых имеет палочковидную форму и окружен гладкой мембраной. Наряду с этим, в цитоплазме В-клеток выявляются немногочисленные гранулы с гомогенным секреторным материалом округлой формы. Для обоих видов гранул типичным является наличие электронно-прозрачного промежутка между секретом и окружающей мембраной. Гранулярная эндоплазматическая сеть (ГЭС) в виде коротких канальцев равномерно распределена по цитоплазме. Полиморфные митохондрии с кристами, не имеющими определенной ориентации, присутствуют в значительном количестве. Постоянными цитоплазматическими компонентами также являются полисомы, липидные капли и лизосомы.

В части В-клеток имеется уменьшенное содержание эндокринных гранул. В таких элементах наблюдается гиперплазия ГЭС, увеличение содержания полисом и гипертрофия комплекса Гольджи, в структурах которого выявляется мелкозернистый секреторный материал различной степени зрелости (см. рис. 1, б). В отдельных

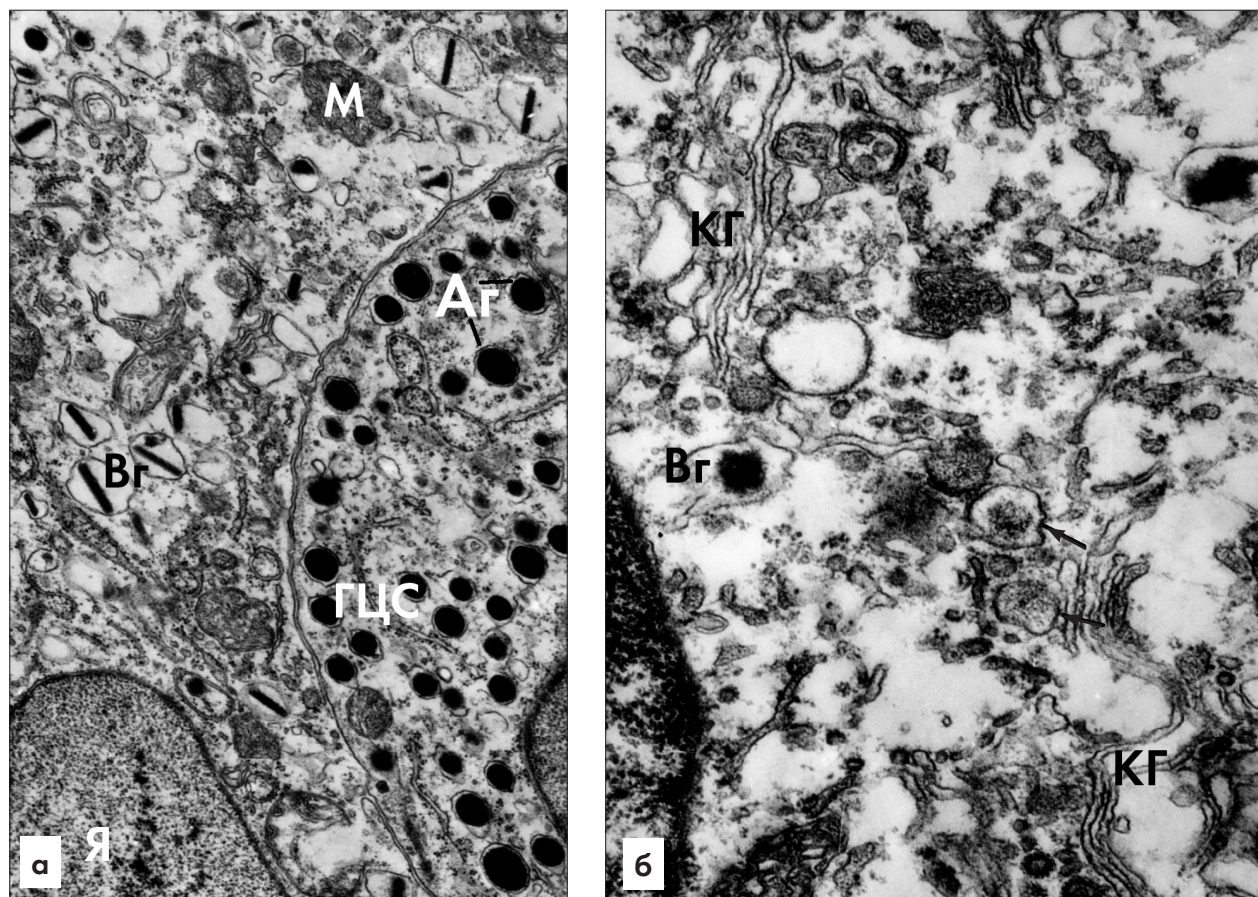


Рис. 1. Эндокринные В- и А-клетки в панкреатических островках собаки. Показано созревание секреторных гранул (стрелки) в элементах комплекса Гольджи В-клеток.

Я — ядро; Вг — В-гранула; Аг — А-гранула; М — митохондрия; КГ — комплекс Гольджи; ГЦС — гранулярная цитоплазматическая сеть. Ув.: а — 19 000; б — 36 000.

В-клетках отмечено накопление и созревание секреторного продукта не только в элементах комплекса Гольджи, но и в цистернах и пузырьках ГЭС. При умеренной концентрации секрета в пузырьках ГЭС, на мембранах еще сохраняются связанные с ними рибосомы, а при повышении степени зрелости их содержимого наблюдается уменьшение числа связанных рибосом и увеличение электронной плотности отдельных участков мембраны, формирующейся гранулы.

Второй цитотип ПО составляют А-клетки (см. рис. 1, а). Ультраструктура их также характеризуется различным сочетанием числа секреторных гранул, элементов ГЭС, комплекса Гольджи, митохондрий и полисом. А-клетки находятся на различных стадиях функциональной активности. Умеренная дегрануляция в них сочетается с усиленной перестройкой ГЭС, цистерны которой расширены и удлинены. В отдельных клетках виден секреторный материал различной электронной плотности. А-гранулы имеют округлую форму, гомогенное осмиофильное содержимое, окружены гладкой мембраной. Электронно-прозрачная зона

между сердцевинной гранулы и мембраной значительно уже, чем в гранулах В-клеток. Диаметр А-гранул составляет 164–274 нм. Ядра А-клеток нередко имеют подковообразную форму. Ядерная оболочка образует глубокие инвагинации. Иногда видна связь ее наружной мембраны с цистернами ГЭС.

При дегрануляции А-клеток наблюдается гипертрофия комплекса Гольджи. В его многочисленных цистернах и вакуолях часто содержится секреторный материал различной электронной плотности. В таких клетках можно наблюдать переход цистерн ГЭС в элементы комплекса Гольджи. В цитоплазме многих А-клеток выявляются липидные капли и лизосомы.

Инкреторные D-клетки являются третьим типом эндокринных элементов ПО (рис. 2, а). Так же, как и два предыдущих цитотипа, они хорошо идентифицируются по строению секреторных гранул (их диаметр 219–274 нм), которые имеют в D-клетках овальную форму и содержат мелкогранулированный материал невысокой электронной плотности, окруженный тесно прилегающей

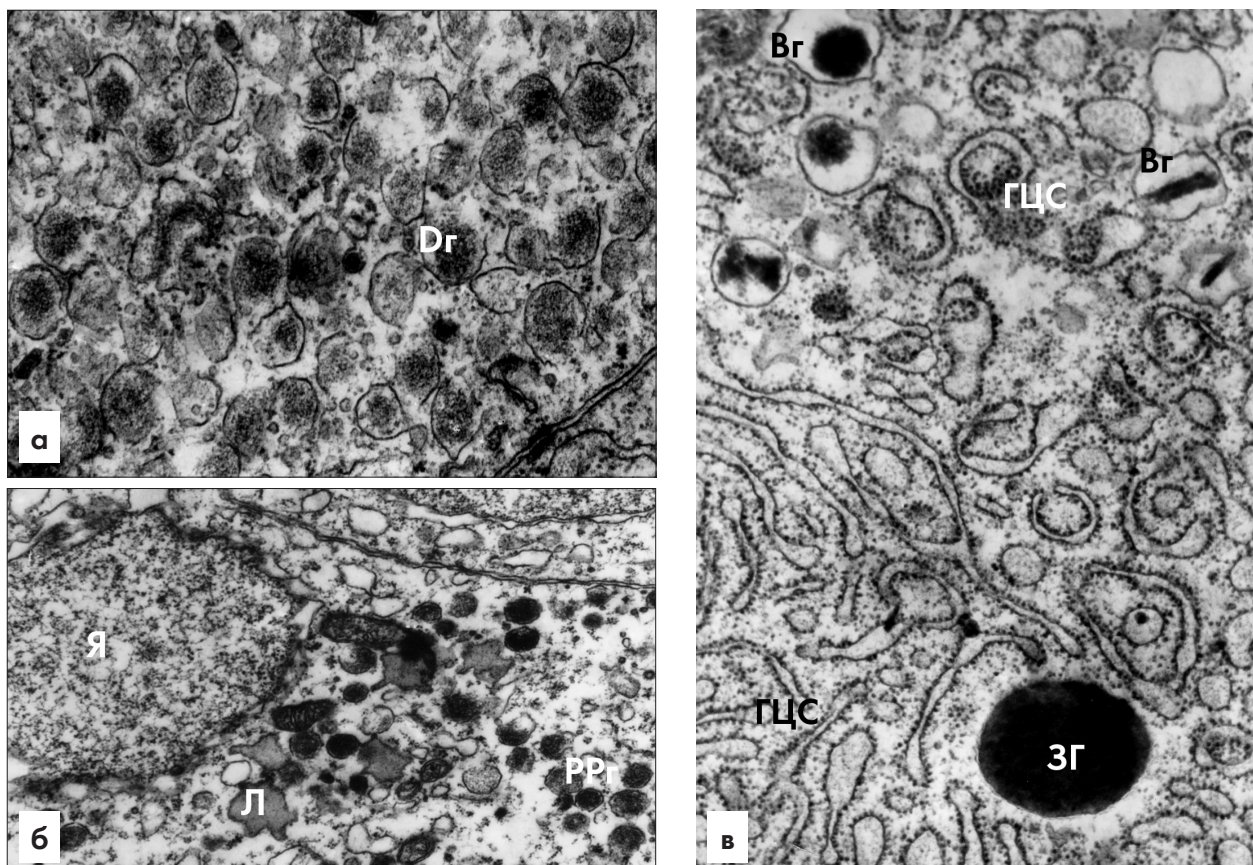


Рис. 2. Эндокринные D- (а), PP- (б) и ацино-инсулярная (в) клетки поджелудочной железы собаки.

Dг — D-гранула; PPг — PP-гранула; ЗГ — гранула зимогена; л — липидная капля. Остальные обозначения те же, что на рис. 1. Ув.: а — 34 000; б — 19 000, в — 33 000.

к нему гладкой мембраной. Немногочисленные органеллы располагаются чаще всего в около-ядерной зоне цитоплазмы. В этих клетках не выражены признаки дегрануляции, характерной для клеток типов В и А.

В некоторых ПО и среди экзокринной паренхимы наблюдаются PP-клетки (см. рис. 2, б). Они определяются по мелким (68–123 нм) округлым гранулам, имеющим умеренную электронную плотность. Мелкозернистый секреторный материал окружен плотно прилегающей к нему гладкой мембраной. Ядра клеток овальной формы с неровными контурами ядерной оболочки. ГЭС представлена расширенными короткими цистернами и пузырьками. Митохондрии немногочисленны, овальной формы с поперечно расположенными кристами. Полисомы равномерно распределены по цитоплазме. Комплекс Гольджи выявляется редко. Количество секреторных гранул в PP-клетках различно, однако, их значительно меньше, чем в других типах эндокриноцитов.

В экзокринной паренхиме, прилежащей к ПО, наблюдались ацино-инсулярные клетки, в цитоплазме которых одновременно выявляются зимогенные и эндокринные В-гранулы (см. рис. 2, в).

Эти клетки различаются по ультрамикроскопической организации. Одни ацино-инсулярные элементы содержат значительное число эндокринных В-гранул и единичные гранулы зимогена. ГЭС в этих элементах такая же, как в эндокриноцитах. В расширениях ее цистерн наблюдается секреторный материал. Комплекс Гольджи содержит формирующийся секреторный продукт. Такие клетки по своей структуре сходны с островковыми В-клетками. В других ацино-инсулярных клетках ГЭС и митохондрии по строению и размерам близки к соответствующим органеллам ацинарных клеток. Эндокринные В-гранулы, секреторный материал которых имеет кристаллоидную форму, располагаются в цитоплазме либо вблизи гранул зимогена, либо обособленно от них, образуя небольшие скопления. В таких участках ГЭС редуцирована и имеет вакуолярные расширения.

Обсуждение полученных данных. Проведенное исследование показало, что как и у других представителей позвоночных, ПО собак состоят из 4 типов эндокриноцитов — В, А, D, PP. Основным цитотипом являются инсулинобразующие В-клетки. Часть PP-клеток присутст-

вует не только в ПО, но и в составе экзокринной паренхимы, располагаясь преимущественно одиночно. Ультрамикроскопическое строение гранул А-, D- и PP-клеток является более консервативным в сравнительном ряду позвоночных, чем ультраструктура В-гранул. Выявленная в последних кристаллоидная форма инсулина становится характерной для В-клеток, начиная с низших позвоночных [3, 11, 12, 14, 18]. Кроме того, у различных представителей кристаллоиды в В-клетках различаются формой. Имеющиеся различия формы кристаллоидов, скорее всего, обусловлены вариациями в структуре молекул инсулина [6]. В связи с этим наличие в цитоплазме В-клеток собак не только кристаллоидных, но и немногочисленных гомогенных гранул представляет собой иллюстрацию одной из фаз секреторного процесса, что подтверждается и соответствующим этапом внутриклеточной перестройки. Внимание исследователей к структуре В-гранул и насыщенности ими цитоплазмы клеток является вполне естественным и необходимым не только для типирования инсулинсодержащих компонентов, но и понимания их перестройки в процессе секреции гормона. Наряду с данными иммуноцитохимии и определения в сыворотке крови содержания инсулина, вполне оправданным является и стремление при проведении изучения экспериментального диабета учитывать данные о строении В-гранул [8, 9].

Развиваемая сегодня точка зрения на присутствие в поджелудочной железе единой стволовой клетки для ее эндокринной и экзокринной паренхимы [7] открывает новые возможности использования ткани поджелудочной железы в условиях трансплантации. В частности, показано успешное применение переживающего биологическую смерть материала железы [4] для клеточной трансплантации в условиях эксперимента и клиники [5]. В этой связи обнаруженные в данной работе в поджелудочной железе интактных собак ацино-инсулярные клетки, имеющие в цитоплазме одновременно зимоген и эндокринные гранулы, являются еще одним звеном в пользу современной теории генеза панкреатических островков.

ЛИТЕРАТУРА

- Алексанян М.Г., Казарян А.А., Саакян С.С. и др. Иммуноморфологические показатели при ксенотрансплантации неклонированной культуры эндокринной части поджелудочной железы плодов человека. Журн. эксперим. и клин. мед. АН АрмССР, 1986, т. 24, № 3, с. 223–227.
- Елецкий Ю.К. и Яглов В.В. Эволюция структурной организации эндокринной части поджелудочной железы позвоночных. М., Наука, 1978.
- Иванова В.Ф. и Пузырев А.А. Ультраструктура эндокриноцитов поджелудочной железы плодов человека при посмертном аутолизе. Морфология, 1993, т. 105, вып. 7–8, с. 7–15.
- Комисаренко В.П., Турчин И.С., Ефимов А.С. и др. Трансплантация культуры островковых клеток поджелудочной железы плодов человека и животных как метод лечения сахарного диабета. Врач. дело, 1983, № 4, с. 52–57.
- Плисецкая Э.М. Гормональная регуляция углеводного обмена у низших позвоночных. Л., Наука, 1975.
- Пузырев А.А. О типах секреторных клеток в панкреатических островках некоторых позвоночных. Арх. анат., 1975, т. 69, вып. 9, с. 73–77.
- Пузырев А.А. и Иванова В.Ф. Электронно-микроскопическое изучение островков Лангерганса поджелудочной железы человека. Арх. пат., 1974, т. 36, № 7, с. 42–47.
- Пузырев А.А., Иванова В.Ф. и Костюкевич С.В. Закономерности цитогенеза эндокринной гастроэнтеропанкреатической системы позвоночных. Морфология, 2003, т. 124, вып. 4, с. 11–19.
- Пузырев А.А., Иванова В.Ф. и Рейсканен А.В. Электронно-микроскопическое изучение эндокринных и ацино-инсулярных клеток в поджелудочной железе аксолотля. Цитология, 1974, т. 16, № 5, с. 559–563.
- Утехин В.И. Ультраструктурная характеристика «светлых» и «темных» В-клеток в панкреатических островках крыс. Цитология, 1979, т. 21, № 1, с. 21–24.
- Яглов В.В. Морфология эндокринной части поджелудочной железы амфибии. Арх. анат., 1976, т. 70, вып. 3, с. 73–78.
- Яглов В.В. Морфология эндокринной части поджелудочной железы рептилий. Арх. анат., 1976, т. 71, вып. 11, с. 89–92.
- Calafiore R., Basta G., Luca G. et al. Grfts of microencapsulated islet cells for the therapy of diabetes mellitus in nonimmunosuppressed animals. Biotechnol. Appl. Biochem., 2004, v. 39, № 2, p. 159–164.
- Erlandsen S.L. Types of pancreatic islet cells and their immunocytochemical identification. Monogr. Pathol., 1980, v. 21, p. 140–155.
- Govendir M., Canfield P.J. and Church D.B. Morphometric study of the beta-cell volume of the canine pancreas with consideration on the axis of tissue transaction. J. Vet. Med. Sci., 1999, v. 61, № 7, p. 737–742.
- Hammel L. and Alvor J. The effect of lysosomal storage diseases on secretory cells: an ultrastructural study of pancreas as an example. J. Submicroscopic. Cytol. Pathol., 1995, v. 27, № 2, p. 143–160.
- Hellman J. and Loppnow H. Hyperplasia of somatostatin and pancreatic polypeptide immunoreactive in dogs with idiopathic atrophy of the exocrine pancreas. Zbl. Veterinarmed., 1991, v. 38, № 2, p. 80–90.
- Jonung M., Berlatzky Y., Chen M.N. et al. Appraisal of endocrine function of segmental autotransplanted pancreas in dog. Acta Endocrinol., 1984, v. 105, № 1, p. 72–77.
- Maake C. and Reniecke M. Immunohistochemical localization of insulin-like growth factor 1 and 2 in the endocrine pancreas of rat, dog, man and their coexistence with classical islet hormones. Cell Tissue Res., 1993, v. 273, № 2, p. 249–259.
- Motojima K., Kohara N., Maeda J. et al. A comparison of endocrine function after pancreatic fragment autotransplantation into splenic pulp, portal vein, and hepatic parenchyma. Transplantation, 1992, v. 53, № 3, p. 527–532.

21. Muranishi T., Takehana K., Hiratsuka T. et al. An investigation of the relationship between duct A cell-rich and PP cell-rich pancreatic islets in the canine pancreas. *J. Vet. Med. Sci.*, 1999, v. 61, № 7, p. 737–742.
22. Pfister K., Rossi G.L., Freudiger U. et al. Morphological studies in dogs with chronic pancreatic insufficiency. *Virch. Arch. Abt. Pathol. Anat.*, 1980, v. 386, № 1, p. 91–105.

Поступила в редакцию 22.12.2005 г.

Получена после доработки 10.03.2006 г.

THE ULTRASTRUCTURE OF ENDOCRINE CELLS IN DOG PANCREAS

A.A. Puzyryov, V.F. Ivanova and S.V. Kostyukevich

Electron microscopy was used to study the cellular composition of dog pancreatic islets. Four types of endocrine cells were

detected: A, B, D and PP. B cells were the predominant population within the islets. Differences in cellular organization of A and B cells were shown to be caused by the phases of the process of hormone synthesis. Insulin-containing secretory granules in B cells had a crystalloid structure, similar to that in B granules of insulin-containing cells in human pancreatic islets. In the exocrine portion of the pancreas, acino-insular cells were detected that simultaneously contained B granules and zymogen granules in their cytoplasm. It is suggested, that their presence is indicative of one of possible directions of pancreatic islet regeneration.

Key words: *pancreatic islets, endocrine cells, ultrastructure, dog.*

Department of Medical-Biological Research, Central Scientific Research Laboratory. I.I. Mechnikov State Medical Academy, St. Petersburg.

От редакции:

В журнале «Морфология» № 3 за 2006 год в статье В.М.Петренко «Новые представления о структурной организации активного лимфооттока» на стр. 83 (1-я колонка, нижний абзац) допущена опечатка. Текст следует читать так:

По моему мнению, концепция имеет существенные недостатки: 1) граница между лимфангионами проводится перед входным клапаном очередного (проксимального) сегмента ЛС, поскольку в основании входного клапана лимфангиона миоциты отсутствуют или малочисленны [16, 35] — морфологическая основа для раздельного сокращения соседних лимфангионов (их раздельных мышечных манжеток).