

- s.-h. nauk, GNU Dal'ZNIVI, Min-vo sel. hoz.-va Amur. obl. – Blagoveshhensk, 2012. – S. 15–17.
5. Vydelenie i otbor vysokovirulentnykh kul'tur *Bacillus thuringiensis* var. *galleriae*: metod. rekomendacii / A.G. Kol'chevskij [i dr.]; VNI zashhity rastenij. – Leningrad, 1987. – 21 s.
 6. Izuchenie insekticidnoj aktivnosti preparata na osnove shtamma *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045 pri ispol'zovanii razlichnykh sposobov konservacii / V.A. Konopl'jov, A.V. Kurazeeva, L.A. Lavrushina [i dr.] // Vestnik KrasGAU. – 2015. – № 12 (10). – S. 191–194.
 7. Klochko R.T., Luganskij S.N., Kotova A.A. Bol'shaja voskovaja mol' // Pchelovodstvo. – 2012. – № 2. – S. 24–26.
 8. Konovalova T.V. Borites' s voskovoju mol'ju // Pchelovodstvo. – 1995. – № 1. – S. 25–26.
 9. Metodicheskie rekomendacii po izucheniju toksicheskogo dejstvija pesticidov i biopreparatov na pchel / V.F. Titov, N.A. Vas'kov, I.M. Stolbov [i dr.]. – M., 1989. – 21 s.
 10. Metodicheskie ukazanija po opredeleniju toksicheskikh svojstv preparatov, primenjaemykh v veterinarii i zhivotnovodstve. Veterinarnye preparaty: sprav. / sost. L.P. Malinin [i dr.]. – M.: Agropromizdat, 1988. – S. 239–289.
 11. Ocenka biologicheskoj aktivnosti nekotorykh kollekcionnykh shtammov *Bacillus thuringiensis* po otnosheniju k lichinkam cheshuekrylyh na model'nom ob'ekte *Galleria Mellonella* / M.V. Lozovskaja, I.I. Novikova, I.V. Bojkova [i dr.] // Estestvennye nauki. – 2014. – № 4 (49). – S. 95–100.
 12. Shtamm bakterij *Bacillus thuringiensis* dlja poluchenija bioinsekticida dlja bor'by s bol'shoju voskovoju mol'ju: pat. 2453595 Rossijskaja Federacija, MPK S12N 1/20 / N.E. Gorkovenko, Ju.A. Makarov, V.A. Serebrjakova; zajavitel' i patentoobladatel' Dal'nevostochnyj zon. nauch.-issled. veterinar. in-t. – № 2011110498/10; zajavl. 18.03.2011; opubl. 20.06.2012, Bjul. № 17. – 4 s.
 13. Jekologija medonosnoj pchely, *Apis mellifera* L. (vlijanie pesticidov i drugih antropogennykh faktorov): ucheb. posobie / L.A. Osinceva; Novosib. gos. agrar. un-t. – Novosibirsk, 1999. – 42 s.



УДК 636.2: 636:611.37

О.В. Дилекова, А.Н. Квочко

ЦИТОАРХИТЕКТОНИКА ЭНДОКРИНОЦИТОВ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ СВИНЕЙ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

О.В. Дилекова, А.Н. Квочко

CYTOARCHITECTONICS ENDOCRINOCYTES THE PANCREAS OF PIGS IN POSTNATAL ONTOGENESIS

Дилекова О.В. – канд. биол. наук, доц. каф. паразитологии и ветсанэкспертизы, анатомии и патанатомии им. проф. С.Н. Никольского Ставропольского государственного аграрного университета, г. Ставрополь. E-mail: Dilekova2009@yandex.ru

Dilekova O.V. – Cand. Biol. Sci., Assoc. Prof., Chair of Parasitology and Veterinary Sanitary Inspection, Anatomy and Pathological Anatomy named after Prof. S.N. Nikolsky, Stavropol State Agrarian University, Stavropol. E-mail: Dilekova2009@yandex.ru

Квочко А.Н. – д-р биол. наук, проф., зав. каф. физиологии, хирургии и акушерства Ставропольского государственного аграрного университета, г. Ставрополь. E-mail: kvochko@yandex.ru

Kvochko A.N. – Dr. Biol. Sci., Prof., Head, Chair of Physiology, Surgery and Obstetrics, Stavropol State Agrarian University, Stavropol. E-mail: kvochko@yandex.ru

При иммуногистохимическом исследовании поджелудочной железы свиней от рождения до 3 лет постнатального онтогенеза было выяв-

лено, что в железе происходят структурные перестройки. В эндокринных островках β -эндокриноциты в первые сутки после рожде-

ния животного формируют гетероцеллюлярную зону. В 3 месяца часть островков состоит из гемоцеллюлярной зоны β -эндокриноцитов⁺ в виде сплошной массы. Остальная часть островков остается с гетероцеллюлярной зоной клеток. В 3 года клетки расположены только в гемоцеллюлярной зоне, что приводит к образованию островков плащевого типа. α -эндокриноциты⁺ с рождения до 3 месяцев жизни в эндокринных островках имеют мозаичное расположение. С 6 месяцев до 3 лет δ -эндокриноциты⁺ и PP-эндокриноциты⁺ лежат только на периферии островков и имеют одинаковое передвижение в островках. С рождения до 1 года жизни животного δ -эндокриноциты⁺ и PP-эндокриноциты⁺ расположены только на периферии островков. С 1 года постнатального онтогенеза в некоторых островках происходит перемещение клеток в центр, что приводит к формированию островков двух типов к 3 годам жизни животного. Первый тип – это островки с мозаичным расположением δ - и PP-эндокриноцитов⁺; второй – островки с периферической зоной расположения δ -, PP-эндокриноцитов⁺. Кроме эндокринных островков β - α - δ - и PP-эндокриноциты⁺ визуализируются в экзокринной части поджелудочной железы и расположены в рыхлой соединительной ткани между панкреатическими ацинусами, в выводных протоках железы. Единичные β - и α -эндокриноциты⁺ расположены среди экзокринных панкреатоцитов, формируя ациноинсулярные клетки.

Ключевые слова: свинья, постнатальный онтогенез, поджелудочная железа, эндокринные островки, α -эндокриноциты, β -эндокриноциты, δ -эндокриноциты, PP-эндокриноциты.

In immunohistochemical research of pigs' pancreas from the birth till 3 years of post-natal ontogenesis it was revealed that in the glands there were restructurings. In endocrine islets β -endocrinocytes⁺ form a heterocellular zone in the first day after an animal's birth. In 3 months the part of islets consists of hemocellular zone β -endocrinocytes⁺ in the form of continuous weight. The other part of islets is with heterocellular zone. In 3 years the cells are located only in hemocellular zone that leads to the formation of mantle type islets. In 3 years the cells are located only in

hemocellular zone that leads to the formation of mosaic islets. From 6 months to 3 years δ -endocrinocytes⁺ and PP-endocrinocytes⁺ lie only on the periphery of islets and have identical movement in islets. Since the birth till 1 year of life of an animal δ -endocrinocytes⁺ and PP-endocrinocytes⁺ are located only in the periphery of islets and have identical movement in islets. Since a year of post-natal ontogenesis in some islets there is a moving of cells to the center leading to the formation of islets of two types by 3 years of life of an animal. The first type is the islets with a mosaic arrangement of δ - and PP-endocrinocytes⁺, the second type is the islets of peripheral area of the δ - and PP-endocrinocytes⁺. In addition to endocrine islets β - α - δ - and PP-endocrinocytes⁺ visualized in the exocrine pancreas and were located in the loose connective tissue between the pancreatic acini, excretory ducts of gland. Isolated β - and α -endocrinocytes⁺ were located among exocrine pancreatic cells, forming acinoinsulin cells.

Keywords: pig, postnatal ontogenesis, pancreas, endocrine islets, α -endocrinocytes, β -endocrinocytes, δ -endocrinocytes, PP-endocrinocytes.

Введение. Для млекопитающих характерно присутствие четырех типов эндокриноцитов в панкреатических островках поджелудочной железы. Самые многочисленные клетки – β -эндокриноциты призматической формы и продуцирующие инсулин. Значительно меньшее количество занимают α -эндокриноциты треугольной или эллипсоидной формы, синтезирующие глюкагон. В единичном количестве присутствуют δ -эндокриноциты, продуцирующие соматостатин без определенной формы, и PP-эндокриноциты, синтезирующие панкреатический полипептид [2, 7].

Использование иммуногистохимических методов идентификации соотношения, цитоархитектуры и клеточного состава эндокриноцитов в поджелудочной железе и внутри панкреатических островков человека, приматов, мышей и свиней позволило выявить не только межвидовые, но и возрастные их различия у особей [9–12]. Данных по цитоархитектонике и клеточному составу эндокриноцитов в эндокринной части поджелудочной железы у свиней в научной литературе недостаточно, а имеющиеся сведения единичны.

Цель работы. Иммуногистохимическое исследование структуры панкреатических островков, а также выявление эндокриноцитов в поджелудочной железе свиней в постнатальном онтогенезе.

Материал и методы. В работе была исследована поджелудочная железа свиней крупной белой породы. Для исследований было отобрано 60 голов клинически здоровых самцов в разные периоды постнатального онтогенеза: 1-суточные; 1-, 3-, 6-месячные; 1 год и 3 года (по 10 животных в каждой возрастной группе). Убой животных проводился в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях, от 22 сентября 2010 года.

У каждого животного проводили отбор целой поджелудочной железы, которую фиксировали в 10%-м нейтральном забуференном формалине. В области головки железы вырезали кусочки размером 1 см³. Материал проводили с использованием гистологического процессора замкнутого типа Tissue-Tek VIP™ 5 Jr (Sakura, Япония), а затем заливали в гистологическую среду «Гистомикс» (БиоВитрум, Россия) на станции парафиновой заливки Tissue-Tek® TEC™ 5 (Sakura, Япония). Из полученных блоков делали гистологические срезы толщиной 5–7 мкм.

Для иммуногистохимических реакций использовали антитела к гормонам поджелудочной железы: моноклональные мышинные антитела к инсулину, клон K36aC10 (Diagnostic BioSystems, Нидерланды 1:25–1:50); поликлональные кроличьи антитела к глюкагону (SpringBioScience, США); поликлональные кроличьи антитела к соматостатину (MONOSAN, Нидерланды) и кроличьи поликлональные антитела к панкреатическому полипептиду (DCS, Германия 1:25–1:50). Негативным контролем служили реакции с заменой первых антител раствором для разведения (SpringBioScience, США).

При проведении иммуногистохимических реакций депарафинированные и гидратированные срезы обрабатывали 3%-м раствором H₂O₂ в течение 10 мин для блокирования эндогенной пероксидазы [1]. Затем срезы подвергали высокотемпературной обработке в 0,01M цитратном буфере (pH 6,0) в течение 40 мин. Инкубацию

срезов с первичными антителами на инсулин, глюкагон и соматостатин проводили во влажной камере при температуре 27°C в течение 24 часов. Со вторыми козьими антителами инкубацию проводили в течение 60 минут во влажной камере при температуре 27°C. После инкубации применяли высокочувствительную систему визуализации Reveal biotin-free polyvalent DAB (SpringBioScience, США).

Интенсивность экспрессии иммунореактивного материала в эндокриноцитах поджелудочной железы оценивалась полуквантитативным методом по интенсивности окрашивания: 0 – реакция отсутствует; 1 – слабая экспрессия; 2 – реакция умеренная; 3 – реакция интенсивная.

Микроскопию срезов проводили на световом микроскопе Olympus BX45 со встроенным фотоаппаратом С 300 (Япония). Для микроскопии были использованы окуляры x10, объективы x4, x10, x20, x40, x100.

С каждого препарата поджелудочной железы, окрашенного позитивно на гормоны эндокринных островков, выполняли по 10 цифровых снимков (в формате jpg, размером 3136×2352 пикселей в палитре 24 бит) случайно выбранных полей зрения при увеличении x100, x200, x400 и x1000.

Результаты исследований. Интенсивность экспрессии иммунореактивного материала на протяжении всего изучаемого возрастного периода постнатального онтогенеза свиней составила: инсулин – 3 балла; глюкагон – 3 балла; соматостатин – 3 балла, панкреатический полипептид – 3 балла.

По расположению β-эндокриноциты⁺ в островках в течение возрастного периода, от рождения до морфофункциональной зрелости, претерпевают изменения. Так, от 1-суточного до 1-месячного возраста клеточная композиция β-эндокриноцитов⁺ представлена периферическим их расположением по всему периметру островков в виде цепочки.

В 3-месячном возрасте регистрируется перераспределение клеток в островках. Часть их представлена центральным расположением β-эндокриноцитов⁺ в виде сплошной массы. Остальная часть островков остается с периферическим расположением β-эндокриноцитов⁺.

С 6 месяцев до 3 лет постнатального онтогенеза свиней в островках устанавливается еди-

ная цитоархитектоника β -эндокриноцитов⁺ – они расположены только в центральной части островка в виде скоплений клеток.

Кроме островкового расположения β -эндокриноциты⁺ формируют небольшие округлые клеточные скопления в количестве 5–7 клеток, в виде островков. Позитивная реакция на глюкагон⁺, соматостатин⁺ и панкреатический полипептид⁺ в них отсутствует. Располагаются они между волокнами рыхлой соединительной ткани, окружающей междольковые выводные протоки.

Расположение α -эндокриноцитов⁺ от 1-суточного до 3-месячного возраста отмечается по всей площади островков в виде множества одиночных клеток, что придает островкам мозаичное строение. Однако к 6-месячному возрасту и до 3 лет происходит перераспределение α -эндокриноцитов⁺ в островках, и они визуализируются только на их периферии по всему периметру, занимая расположение на границе с экзокринной частью железы (рис. 1).

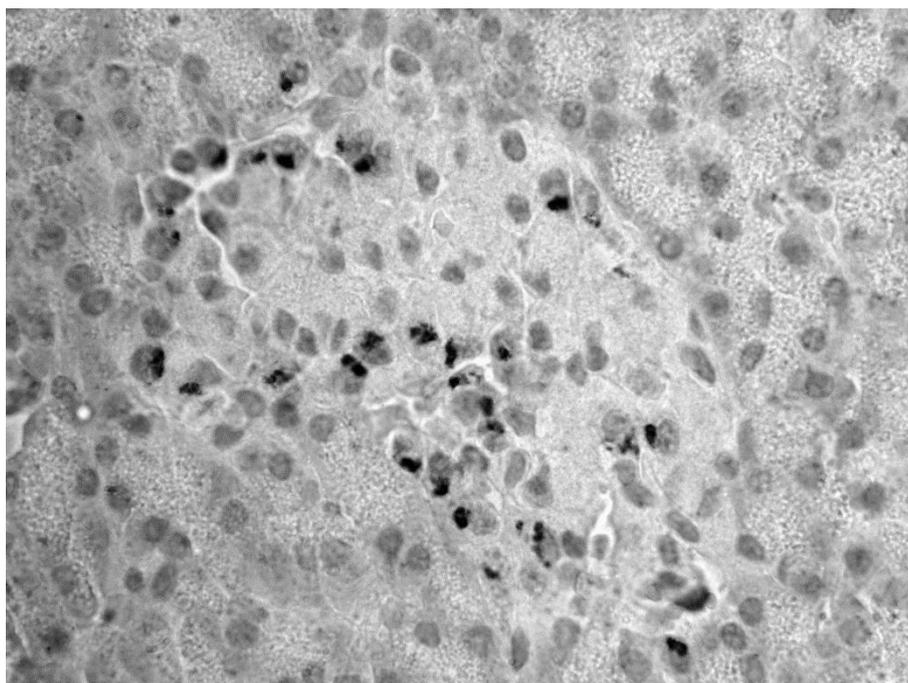


Рис. 1. α -эндокриноциты в эндокринном островке. Самец 3 года. ИГХ на глюкагон. Продукт реакции коричневого цвета, $\times 1000$

Локализация δ -эндокриноцитов⁺ от 1-суточного до 6-месячного возраста у животных регистрируется по всему периметру островков на границе с экзокринной частью железы.

Начиная с 1 года до 3 лет наблюдается диффузное перемещение δ -эндокриноцитов⁺, что приводит к их мозаичному расположению в части островков, однако островки в периферическим расположением соматостатина⁺ клеток также просматриваются.

Расположение PP-эндокриноцитов⁺ в островках от 1-суточного возраста до 1 года жизни свиней регистрируется по периферии островков в зоне соединения их с экзокринной частью железы в виде единичных клеток.

В возрасте 1 года и до морфофункционального становления организма животных в части островков происходит перемещение PP-эндокриноцитов⁺, что приводит к их мозаичному расположению в эндокринных островках. Таким образом, в 3 года в поджелудочной железе свиней имеются островки как с периферической, так и с мозаичной картиной расположения клеток, содержащих панкреатический полипептид.

Наряду с островковым расположением популяции β - α - δ - и PP-эндокриноцитов визуализируются в экзокринной части поджелудочной железы.

Так, на протяжении всего изучаемого постнатального онтогенеза свиней эндокриноциты

обязательно расположены по всей площади среза (при увеличении $\times 200$), в рыхлой соединительной ткани между панкреатическими ацинасами.

Кроме того, все типы эндокриноцитов были выявлены в протоковом дереве железы, в эпи-

телиальном слое между эпителиоцитами, но в разном возрасте, что связано, по нашему мнению, с физиологической сменой эндокриноцитов за счет стволового компартмента протоков железы (рис. 2).

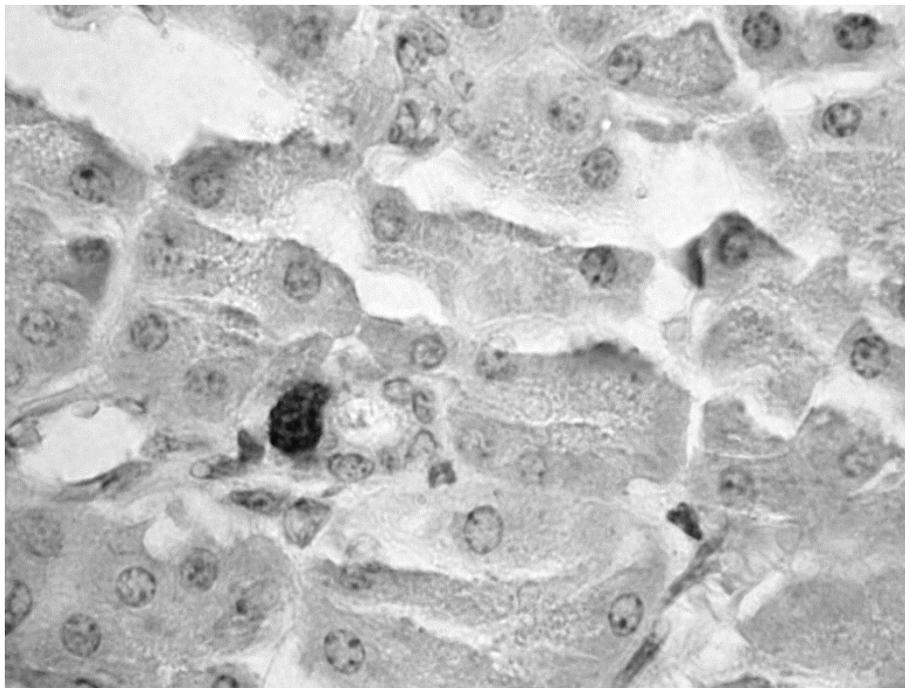


Рис. 2. РР-эндокриноцит в межацинарном выводном протоке. Самец 3 года. ИГХ на панкреатический полипептид. Продукт реакции коричневого цвета, $\times 1000$

Так, β -эндокриноциты⁺ просматриваются только в 3-месячном возрасте; α -эндокриноциты⁺ были выявлены как в 1-суточном, 1-месячном возрастах, так и в 1 год; δ -эндокриноциты⁺ появляются в 3-месячном, а затем в 6-месячном возрасте; РР-эндокриноциты⁺ регистрируются только в возрасте 1 месяца и 3 лет постнатальной жизни свиней.

Также единичные β - и α -эндокриноциты были выявлены среди экзокринных панкреатоцитов, формируя ацино-инсулярные клетки, и в рыхлой соединительной ткани, окружающей междольковые выводные протоки.

Выводы. Оценивая цитоархитектонику эндокринных островков поджелудочной железы свиней крупной белой породы от 1-суточного до 3-летнего возраста постнатального онтогенеза, можно констатировать, что в железе происходят структурные перестройки, которые захватывают

большие временные промежутки между возрастными периодами животных.

Основные критические процессы перестройки в органе наблюдаются в возрасте от 1-суточного до 6-месячного, а также к периоду морфофункциональной зрелости железы – от 1 года до 3 лет, что является доказательством, что поджелудочная железа – динамически активный орган даже после рождения.

По результатам исследования было выявлено, что при рождении островки еще не имеют определенный тип строения, так как все клетки, кроме α -эндокриноцитов, имеют гетероцеллюлярное расположение. Однако с возрастом отмечается структурная перепланировка клеток. Из гетероцеллюлярной зоны в гемоцеллюлярную полностью перемещаются β -эндокриноциты, что приводит к становлению в возрасте морфофункциональной зрелости животных островков плащевой типа. Плащевой тип остров-

ков у многих млекопитающих в своих работах описывали В.В. Яглов (1977), Ю.С. Кривова с соавт. (2009). По мнению Л.А. Можейко (2004, 2011), плащевой тип эндокринных островков встречается только у грызунов и кроликов, причем расположение β -эндокриноцитов центральное, сгруппированы они в инсулиновое ядро.

В отношении α -эндокриноцитов, δ -эндокриноцитов и РР-эндокриноцитов просматривается одинаковое передвижение клеток, которое приводит к формированию островков двух типов к 3 годам жизни животного. Первый тип – островки с мозаичным расположением δ - и РР-эндокриноцитов, второй тип – это островки с гетероцеллюлярной зоной расположения δ -, РР- и α -эндокриноцитов. А.Е. Прощина с соавт. (2013) констатируют, что у человека глюкагон- и соматостатинсодержащие клетки расположены на периферии островков в виде мантии, то есть похожи на островки грызунов.

Таким образом, изменения цитоархитектоники эндокринных островков на различных этапах постнатального онтогенеза могут рассматриваться как адаптивные в связи с совершенствованием существующих структур для реализации возможности полноценного функционирования органа.

Литература

1. Выявление микроглии в препаратах головного мозга, длительное время хранившихся в растворе формалина / Е.Г. Сухорукова [и др.] // Морфология. – 2012. – № 5. – Т. 142. – С. 68–70.
2. Иванова В.Ф., Костюкевич С.В. D-клетки гастроэнтеропанкреатической системы: развитие, строение, функция, регенерация (история и современное состояние вопроса) // Морфология. – 2015. – № 1. – Т. 147. – С. 83–92.
3. Можейко Л.А. Цитофункциональные параметры эндокринного аппарата поджелудочной железы в возрастном аспекте // Журн. Гроднен. гос. мед. ун-та. – 2004. – № 4 (8). – С. 7–11.
4. Можейко Л.А., Беленинова А.С. Морфофункциональная оценка эндокринного аппарата поджелудочной железы потомства крыс, родившихся в условиях холестаза //

- Журн. Гроднен. гос. мед. ун-та. – 2011. – № 1 (33). – С. 46–48.
5. Нейроэндокринные комплексы в поджелудочной железе нутрии (*Myocastor coypus*) (иммуногистохимическое исследование) / Ю.С. Кривова [и др.] // Морфология. – 2009. – № 3. – Т.135. – С. 59–62.
 6. Прощина А.Е., Савельев С.В. Иммуногистохимическое исследование распределения α - и β -клеток в разных типах островков Ларгенганса поджелудочной железы человека // Бюл. экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – № 6. – Т. 155. – С. 763–767.
 7. Пузырев А.А., Иванова В.Ф., Костюкевич С.В. Закономерности цитогенеза эндокринной гастроэнтеропанкреатической системы позвоночных // Морфология. – 2003. – № 4. – Т. 124. – С. 11–19.
 8. Яглов В.В. К сравнительной морфологии эндокринной части поджелудочной железы млекопитающих // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1977. – № 4. – Т. LXXII. – С. 83–87.
 9. Assessment of human pancreatic islet architecture and composition by laser scanning confocal microscopy / M. Brissova [et. al.] // Histochem Cytochem. – 2005. – № 9. – V. 53. – P. 87–97.
 10. Beta cell differentiation during early human pancreas development / Piper K. [et. al.] // Endocrinol. – 2004. – № 1. – V. 181. – P.11–23.
 11. Glucagon is essential for alpha cell transdifferentiation and beta cell neogenesis / Ye. Lihua [et. al.] // Development. – 2015. – V. 142. – P. 1407–1417.
 12. Maake C., 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. – № 2. – V. 273. – P. 249–259.

Literatura

1. Vyjavlenie mikroglie v preparatah golovnoho mozga, dlitel'noe vremja hranivshijsja v rastvore formalina / E.G. Suhorukova [i dr.] //

- Morfologija. – 2012. – № 5. – Т. 142. – С. 68–70.
2. *Ivanova V.F., Kostjukevich S.V.* D-kletki gastrojenteropankreaticheskoj sistemy: razvitie, stroenie, funkcija, regeneracija (istorija i sovremennoe sostojanie voprosa) // Morfologija. – 2015. – № 1. – Т. 147. – С. 83–92.
 3. *Mozhejko L.A.* Citofunkcional'nye parametry jendokrinnogo apparata podzheludochnoj zhelezy v vozrastnom aspekte // Zhurn. Grodnen. gos. med. un-ta. – 2004. – № 4 (8). – С. 7–11.
 4. *Mozhejko L.A., Beleninova A.S.* Morfofunkcional'naja ocenka jendokrinnogo apparata podzheludochnoj zhelezy potomstva krys, rodivshih v uslovijah holestaza // Zhurn. Grodnen. gos. med. un-ta. – 2011. – № 1 (33). – С. 46–48.
 5. Nejrojendokrinnye komplekсы v podzheludochnoj zheleze nutrii (*Myocastor coypus*) (immunogistohimicheskoe issledovanie) / *Ju.S. Krivova* [i dr.] // Morfologija. – 2009. – № 3. – Т.135. – С. 59–62.
 6. *Proshhina A.E., Savel'ev S.V.* Immunogistohimicheskoe issledovanie raspredelenija α - i β -kletok v raznyh tipah ostrovkov Largengansa podzheludochnoj zhelezy cheloveka // Bjul. jeksperimental'noj biologii i mediciny. – 2013. – № 6. – Т. 155. – С. 763–767.
 7. *Puzyrev A.A., Ivanova V.F., Kostjukevich S.V.* Zakonomernosti citogeneza jendokrinnoj gastrojenteropankreaticheskoj sistemy pozvonochnyh // Morfologija. – 2003. – № 4. – Т. 124. – С. 11–19.
 8. *Jaglov V.V.* K sravnitel'noj morfologii jendokrinnoj chasti podzheludochnoj zhelezy mlekipitajushhih // Arhiv anatomii, gistologii i jembriologii. – 1977. – № 4. – Т. LXXII. – С. 83–87.
 9. Assessment of human pancreatic islet architecture and composition by laser scanning confocal microscopy / *M. Brissova* [et. al.] // Histochem Cytochem. – 2005. – № 9. – V. 53. – P. 87–97.
 10. Beta cell differentiation during early human pancreas development / *Piper K.* [et. al.] // Endocrinol. – 2004. – № 1. – V. 181. – P.11–23.
 11. Glucagon is essential for alph cell transdifferentiation and beta cell neogenesis / *Ye. Lihua* [et. al.] // Development. – 2015. – V. 142. – P. 1407–1417.
 12. *Maake C., 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. – № 2. – V. 273. – P. 249–259.

