УДК 636.932.3:611.611

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ТЕЛЯТ

Дилекова О.В.

ФГБОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет», Ставрополь, e-mail: Dilekova2009@yandex.ru

При исследовании морфологии и функциональной характеристики поджелудочной железы суточных телят выявлено, что железа в структурном аспекте как орган сформирована и представлена экзокринной и эндокринной частями. Имеет четкое разделение на строму и паренхиму. В железе наблюдаются интенсивные процессы пролиферации, дифференцировки и специализации клеток, на что указывает высокое содержание РНК и ДНК в ядрах клеток. Процессы дифференцировки наблюдаются также и в экзокринной части железы, в которой расположены обширные островки бластных форм клеток. В эндокринной части наблюдается высокая митотическая активность эндокриноцитов. Гистохимические реакции срезов указывают на высокое содержание в органе нейтральных и кислых гликозаминоликанов. Наблюдаются процессы как содержания, синтеза и накопления так и выделения ациноцитами железы профермента зимогена. В эндокринной части содержание гранул гормонов инсулина и глюкагона.

Ключевые слова: телята, поджелудочная железа, гистологическое строение, функциональная активность

MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTIC OF PANCREAS OF CALVES

Dilekova O.V.

Stavropol Stare Agrarian University, Stavropol, e-mail: Dilekova2009@yandex.ru

In the study of the morphology and functional characteristics of pancreatic 1-day-old calves, we found that the gland in the structural aspect, as the body is formed and presented to the exocrine and endocrine portions. Has a clear division into stroma and parenchyma. In iron exhibit intense processes of proliferation, differentiation and specialization of cells, as indicated by the high content of RNA and DNA in the cell nuclei. Differentiation processes are also observed in the exocrine glands, are also extensive islands of stem cells. In the endocrine part there is a high mitotic activity endocrinocytes. Histochemical reactions sections indicate a high content in the body of neutral and acidic glikozaminolikanov that allow us to draw conclusions about the full functional activity of the gland. Observe the process as content, synthesis and accumulation and allocation atsinotsitami proferementa zymogen. In endocrine granule contents of the hormone insulin and glucagon.

Keywords: calves, pancreas, histological structure and functional activity

В сложном комплексе систем организма, обеспечивающих обменные процессы, значительная роль принадлежит поджелудочной железе – органу, выполняющему одновременно экзокринную и эндокринную функции. Являясь производным двенадцатиперстной кишки, она как железа с внутрисекреторной функцией поставляет в последнюю панкреатический сок, а гормоны, секретируемые эндокринными островками, – в кровь, что способствует поддержанию определенного уровня гомеостаза в организме [1, с. 18; 3, с. 84; 6, с. 54]. Вместе с тем многие вопросы, касающиеся морфофункциональных особенностей поджелудочной железы в видовом и возрастном аспекте, отражающие адаптивную реакцию организма, до настоящего времени недостаточно изучены [2, с. 86; 7, с. 119; 8, p. 68].

Поджелудочная железа крупного рогатого скота является ценным сырьем для биотехнологической промышленности, поскольку содержит гидролитические ферменты, используемые в пищевой промышленности и медицине. Из поджелудочной железы вырабатывают гормоны: инсулин, липокаин, ангиотрофин, – а также ферментные препараты (трипсин, химотрипсин, дезоксирибонуклеазу и рибонуклеазу, эластазу и коллагеназу), а также медицинский и технический панкреатин. Области применения данных биологических активных веществ в настоящее время значительно расширяются за счет использования в пищевой, микробиологической промышленности, при производстве синтетических моющих средств, поэтому потребность в этих ферментных препаратах постоянно растет [9, p. 1127; 12, p. 24; 13, p. 286].

Изучение поджелудочной железы парнокопытных животных необходимо для понятия патогенеза многих незаразных заболеваний желудочно-кишечного тракта, в том числе панкреатита, сахарного диабета и многих других, а также необходимо для определения сроков функциональной и морфологической зрелости органа для использования в качестве ферментативно-эндокринного сырья [4, с. 56; 10, p. 373; 11, p. 454]. Одним из объективных методов изучения

развития морфологических структур, является качественный метод. Он позволяет сделать вывод о наличии определенной последовательности формирования и роста структур поджелудочной железы.

Материалы и методы исследования

В работе исследована поджелудочная железа крупного рогатого скота айширской породы. Для исследований было отобрано 5 голов клинически здоровых телят в суточном возрасте, которые были подвергнуты убою в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. От каждого животного проводился отбор целой поджелудочной железы, которую фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине. В области головки железы вырезали кусочки размером 1 $см^3$. Материал проводили через спирты возрастающей концентрации и ксилол, а затем заливали в гистологическую среду «Гистомикс» с использованием гистологического процессора замкнутого типа Tissue-Tek VIP™ 5 Jr и станции парафиновой заливки Tissue-Tek® TEC™ 5 фирмы Sakura (Япония). Из полученных блоков делали гистологические срезы толщиной 5–7 мкм, которые окрашивали красителями (Bio-Optica, Италия и Биовитрум, Россия) на автоматическом мультистейнере Prisma™. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Маллори. С целью изучения функциональных характеристик структур железы срезы окрашивали паральдегид-фуксином по Гомори – для выявления секреторных гранул в А- и В-клетках панкреатических островков, метиловым зеленым пиронином – для одновременного выявления ДНК и РНК в тканевых образцах, окрашивали альциановым синим pH 2,5 и Шифф реакцию проводили с целью выявления кислых и нейтральных гликозаминогликанов. Оценку интенсивности окрашивания включений в клетках оценивали по пятибалльной системе. Микроскопию срезов проводили на цифровом микроскопе Olympus BX45. С каждого препарата поджелудочной железы 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 и их обсуждение

У телят айширской породы в суточном возрасте поджелудочная железа покрыта капсулой из соединительной ткани, от которой отходят тяжи коллагеновых волокон, формируя соединительнотканный остов, состоящий из междольковой, межацинозной, параваскулярной, параганглионарной, парадуктулярной и островковой соединительнотканной прослоек [5, с. 49]. Соединительная ткань состоит в основном из клеток фибробластического ряда – малодифференцированных фибробластов и миофибробластов, в которых определяется значительное количество РНК (4 балла). В фибробластах, расположенных вокруг панкреатических островков, отмечается высокое содержание ДНК (4 балла). Нейтральные гликозаминогликаны имеют высокое содержание (4 балла). Кислые гликозаминогликаны визуализируются в незначительном количестве (1 балл). Паренхима поджелудочной железы представлена неправильной формы дольками, состоящими из панкреатических ацинусов и эндокринных островков. В дольках отмечается «трехступенчатое» разделение, характеризующееся врастанием соединительнотканных тяжей в паренхиму железы и делением ее на несколько крупных долек – I порядка, которые включают 7–9 долек – II порядка, разделившихся вышеописанным способом. Они в свою очередь только начинают деление на дольки III порядка, посредством расхождения в виде насечек от 7 до 9 на периферии долек, между которыми врастают коллагеновые волокна.

Экзокринная часть состоит из выводных протоков и панкреатических ацинусов. Основную их массу составляют вставочные протоки, дистальный конец которых вдвинут в полость ацинуса, остальные – это протоки, окруженные со всех сторон несколькими маленькими ацинусами.

Межацинозные, внутридольковые, междольковые выводные протоки выстланы кубическим эпителием. В каждой дольке II порядка протоки расположены дублировано. В междольковых эпителий становится призматическим, в нем просматриваются бокаловидные клетки. В главном протоке эпителий высокопризматический с большим количеством фигур митоза. Вокруг протоков просматривается густая сеть лимфатических сосудов, микроциркуляторного русла и нервные ганглии. Панкреатические ацинусы лежат группами и образуют палочковидные, подковообразные, округлые или неправильной формы образования, в центре которых имеется один вставочный проток. Иногда просматриваются картины «сшивания» соединительной тканью нескольких небольших ацинусов для формирования более крупных структур. В ацинусах насчитывается от 3 до 12 панкреатоцитов цилиндрической формы, прилегающие плотно друг к другу боковыми поверхностями, что приводит к стертости границ между клетками. Встречаются конусовидные формы панкреатоцитов имеющих округлую форму из 5–8 клеток (рис. 1).

В экзокринных панкреатоцитах отчетливо просматривается зимогенная зона, заполненная мелкозернистым оксифильным содержимым, и гомогенная зона имеющая крупное шаровидное ядро. Однако заполнение зимогенной зоны панкреатоцитов идет не повсеместно. Отмечаются ацинусы, в которых цитоплазма клеток полностью

или наполовину заполнена зимогеном, или с единичными гранулами профермента. Одновременно в железе имеются зоны, представленные отдельными панкреатическими ацинусами, группами ацинусов, панкреатические дольки, в которых отсутствуют гранулы зимогена.

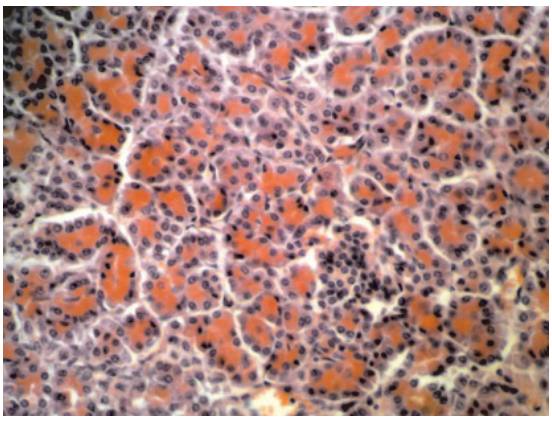

Рис. 1. Панкреатические ацинусы железы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х100

Одной из особенностей исследованных микропрепаратов поджелудочных желез суточных телят является наличие в экзокринной части островков, состоящих из кластеров гипохромных клеток округлой формы, которые врастают в сформированную часть железы. Располагаются они небольшими группами или образуют завихрения, формируя овальные фигуры. В клетках заметна высокая митотическая активность. Островки обильно васкуляризованы, между ними расположены единичные выводные протоки, состоящие из кубического эпителия (рис. 2). При окраске по Гомори было выявлено, что кластеры клеток интенсивно прокрасились базофильно, что является признаком инсулиноцитов. Между инсулиноцитами просматриваются единичные глюкагоноциты, которые имеют интенсивно оксифильное окрашивание (рис. 3).

Повсеместно просматриваются между панкреатическими ацинусами скопления от 3 до 5 крупных шаровидных клеток, с центрально расположенным шаровидным гипохромным ядром, и гомогенной оксифильной цитоплазмой, что характеризует их как бластные формы клеток. Вокруг них отмечается формирование тяжей из фибробластов.

При оценке гистохимических реакций в сформированных экзокринных панкреатоцитах отмечается равномерное распределение РНК и ДНК (4 балла). В островках, врастающих в экзокринную часть железы, визуализируется повышенное содержание РНК и ДНК (4–5 баллов). ШИК-положительные и нейтральные гликозаминогликаны не обнаружены. Кислые гликозаминогликаны выявляются в бокаловидных клетках, междольковых и главном выводном протоках (5 баллов) (рис. 4).

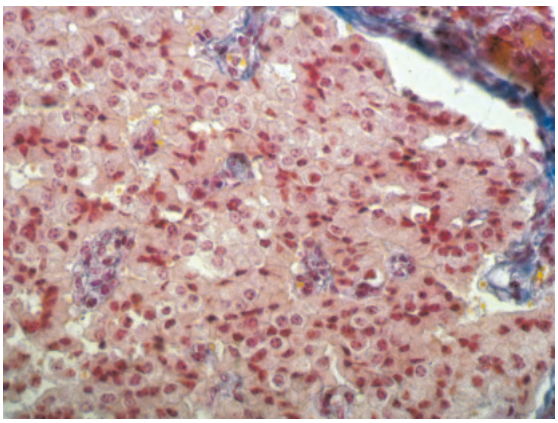

Рис. 2. Островок гипохромных бластных клеток в экзокринной части железы. Окраска по Маллори. Ув. х200

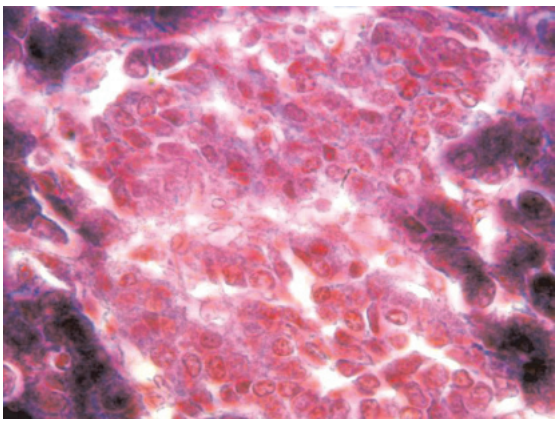

Рис. 3. Инсулиноциты в островковых кластерах. Окраска паральдегид-фуксином по Гомори. Ув. х200

Эндокринная часть поджелудочной железы представлена островками. В дольках I порядка насчитывается от 7 до 12 островков, состоящих из 12–15 эндокриноцитов. Визуализируются островки, в которых расположено 5–7, а иногда до 50 эндокриноцитов. Эндокриноциты расположены в виде клеточных скоплений, в которых наблюдаются единичные фигуры митоза, в основном глюкагоноцитов. Визуализируются картины отхождения единичных клеток друг от друга, но при этом они связаны между собой небольшими цитоплазматическими отростками.

Основную массу занимают инсулиноциты, расположенные по периферии

островка. Клетки округлой формы с центрально расположенным шаровидным ядром и широким оксифильным ободком цитоплазмы и базофильной грануляцией, выявленной при окраске по Гомори. В центре островка лежат глюкагоноциты. Клетки имеют овальное ядро, расположенное по центру, узкий гипохромно-базофильный ободок цитоплазмы и редкую оксифильную грануляцию. В обоих типах клеток отмечается высокое содержание РНК (4–5 баллов).

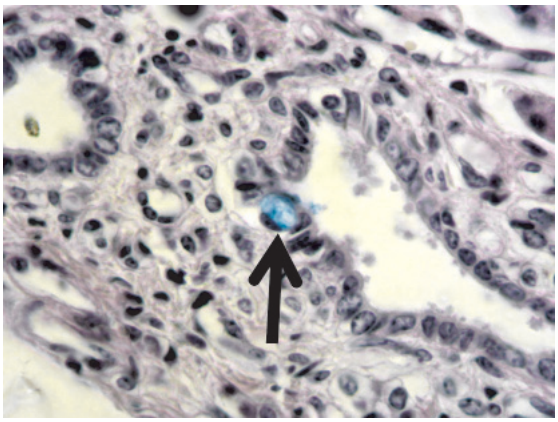

Рис. 4. Бокаловидные клетки междолькового выводного протока. Окраска альциановый синий pH 2,5 и Шифф реакция. Ув. х400

Результаты исследований поджелудочной железы суточных телят айширской породы показывают, что железа в структурно-организованном аспекте как орган сформирована. Имеет четкое разделение на строму и паренхиму, которая представлена экзокринной и эндокринной частями. В железе продолжаются интенсивные процессы пролиферации, дифференцировки и специализации клеток, на что указывает высокое содержание РНК и ДНК в ядрах клеток. Активные процессы дифференцировки наблюдаются в экзокринной части железы, в которой расположены обширные островки бластных форм клеток. В эндокринной части отмечается высокая митотическая активность. Гистохимические реакции срезов позволяют нам сделать выводы о полноценной функциональной деятельности железы, что проявляется в 4–5 балльной оценке содержания в органе нейтральных и кислых гликозаминогликанов, в экзокринной части железы выявление клеток на стадии накопления, выделения и содержания гранул зимогена. В эндокринной части содержание гранул гормонов инсулина и глюкагона. Вышеописанные наблюдения указывают на то, что при рождении поджелудочная железа как орган сформирована, способна проявлять свою физиологическую функцию, однако ее полное морфологическое становление происходит на более поздних этапах постнатального развития крупного рогатого скота.

Таким образом, поджелудочную железу здоровых животных в первые сутки после рождения можно использовать как источник бластных культур для исследований в лабораториях для ксенотрансплантации при незаразной патологии поджелудочной железы. Однако для использования в качестве ферментативно-эндокринного сырья использовать железу не рекомендуется, так как она по морфологическим характеристикам еще не оформлена как полноценный орган.

Список литературы

1. Зирук И.В. Морфология печени подсвинков при добавлении в рацион нового минерального комплекса // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – 2013.– № 4.– С. 18–19.

2. Глущенко И.Л., Пантелеев С.М., Вихарева Л.В. Особенности органогенеза поджелудочной железы человека в эмбриональном периоде // Актуальные проблемы эволюционной и популяционной физиологии человека: мат. Всерос. конф. – Тюмень, 2001.– С. 86–87.

3. Романова И.С., Шпыгова В.М., Внутристеночные артерии двенадцатиперстной кишки телят черно-пестрой породы месячного возраста // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2008. – Т.4, № 20–1. – С. 84–85.

4. Рядинская Н.И. Гистологическая и гистохимическая характеристика поджелудочной железы оленевых Алтая // Цитология. – 2008. – № 8. – С. 56–62.

5. Рядинская Н.И., Морфология выводных протоков поджелудочной железы лосей и косуль // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2005. – Т. 19. – № 3. – С. 49–50.

6. Слинько М.С., Криворучко А.Ю., Квочко А.Н., Беляев В.А., Гистологические показатели печени нутрий в постнатальном онтогенезе // Международный вестник ветеринарии. – 2011. – № 1. – С. 54–56.

7. Стрельцов В.А., Ткачева Н.С. Возрастная морфология и гистология поджелудочной железы яичных кур // Вестник Казанского ГАУ. – 2012. – № 2 (24).– С. 119–123.

8. Baron J.H. The pancreas // Mount Sinai J. Med. – 2000. – Vol. 67, № 1. – P. 68–75.

9. Cicalese Ll., Sahai A., Sileri P., Rastellini C., Subbotin V., Ford H., Lee K. Acute pancreatitis and bacterial translocation // Digestive Diseases and Sciences. – 2001. – Vol.46, № 5.– P. 1127–1132.

10. Hod M., Jovanovic L., Renzo G.C. Textbook of Diabetes and Pregnancy. London.: Martin Dunitz, 2003. – 373 p.

11. Lifshitz F. Pediatric Endocrinology. – London.: Martin Dunitz, 2007. – 454 p.

12. Miller S.T. The rat pancreas: diet-induced alterations in the cholecystokinin signaling pathway: dis. … cand. Biol, Sciences. – USA Arkansas.. 2001. – P. 24–26.

13. Sumi S., Tamura K. Frontiers of pancreas regeneration // Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery. – 2000. – Vol. 7, № 3. – P. 286–294.

References

1. Ziruk, I.V., *Rossijskij veterinarnyj zhurnal. Sel'skohozjajstvennye zhivotnye*, 2013, no. 4, pp. 18–19.

2. Glushhenko I.L., Panteleev S.M., Vihareva L.V. *Aktual'nye problemy jevoljucionnoj i populjacionnoj fiziologii cheloveka* (Mat. Vseros. conf «Actual problems of evolutionary and population physiology»). Tyumen, 2001, pp. 86–87.

3. Romanova, I.S., Shpygova, V.M., *Izvestija Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2008, Vol. 4, no. 20–1, pp. 84–85.

4. Rjadinskaja, N.I., *Citologija,* 2008, no. 8, pp. 56–62.

5. Rjadinskaja, N.I., *Vestnik Altajskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta,* 2005, Vol.19, no. 3, pp. 49–50.

6. Slinko, M.S., Krivoruchko, A.Ju., Kvochko, A.N., Beljaev V.A., *Mezhdunarodnyj vestnik veterinarii*, 2011, no. 1, pp. 54–56.

7. Strelcov, V.A., Tkacheva, N.S. *Vestnik Kazanskogo GAU*, 2012, no. 2 (24), pp. 119–123.

8. Baron, J.H., *Mount Sinai J. Med*, 2000, Vol. 67, no. 1, pp. 68–75.

9. Cicalese, Ll., Sahai, A., Sileri, P., Rastellini, C., Subbotin, V., Ford, H., Lee, K., *Digestive Diseases and Sciences*, 2001, Vol.46, no. 5, pp. 1127–1132.

10. Hod M., Jovanovic L., Renzo G.C. *Textbook of Diabetes and Pregnancy*. London, Martin Dunitz., 2003. 373 p.

11. Lifshitz F. *Pediatric Endocrinology*. London, Martin Dunitz., 2007. 454 p.

12. Miller S. T. *The rat pancreas: diet-induced alterations in the cholecystokinin signaling pathway*: dis.… kand. biol. Sciences. USA Arkansas., 2001. pp. 24–26.

13. Sumi S., Tamura K. *Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery*, 2000, Vol. 7, no. 3, pp. 286–294.

Рецензенты:

Квочко А.Н., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой физиологии, хирургии и акушерства, ФГБОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет», г. Ставрополь;

Криворучко А.Ю., д.б.н., руководитель научно-диагностического и лечебно-ветеринарного центра, ФГБОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет», г. Ставрополь.

Работа поступила в редакцию 26.12.2014.