

УДК 611.37: 612.65

ОСНОВНЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ СТАНОВЛЕНИЯ ЭКЗОКРИННОГО ОТДЕЛА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Л. А. Можейко

Гродненский государственный медицинский университет



МОЖЕЙКО Лариса Андреевна - кандидат медицинских наук, доцент кафедры гистологии ГГМУ. Область научных интересов: гистология, гистохимия, электронная микроскопия.

Морфологическими, гистохимическими и морфометрическими методами изучалась динамика структурно-метаболических изменений экзокринного отдела поджелудочной железы кроликов в различные периоды онтогенеза. Анализ полученных данных показал, что структурные и гистохимические параметры новорожденных кроликов далеки от дефинитивных. Постнатальная дифференцировка их продолжительна и завершается, в основном, с наступлением половой зрелости. Установлено, что она связана не только с онтогенетическими периодами, но и с адаптацией к пищевым факторам.

Ключевые слова: структурно-метаболические изменения, экзокринная часть поджелудочной железы, постнатальная дифференцировка, онтогенетический период.

The dynamics of the structural and metabolic changes of exocrine pancreas was studied by histological, histochemical and morphometrical methods in experimental rabbits during different ontogenetic periods. The analysis of the data obtained has shown that structural and histochemical parameters in newborn rabbits are poorly definite. The postnatal differentiation lasts long and generally completes with the beginning of puberty. It is associated not only with ontogenetic periods but also with the adaptation to nutritional factors.

Key words: structural and metabolic changes, exocrine pancreas, postnatal differentiation, ontogenetic period.

Исследования закономерностей онтогенетического развития живых организмов имеют важное теоретическое и прикладное значение. Между тем, наиболее значительные работы по динамике становления структурной и химической организации различных органов, в том числе поджелудочной железы, посвящены преимущественно антенатальному онтогенезу [4, 5]. Многие аспекты развития и, особенно, функционального созревания на протяжении постнатального периода остаются спорными или недостаточно изученными. Одним из наиболее сложных является вопрос регуляции и регулирующих систем. Последовательное включение ряда регулирующих факторов в процессе морфогенеза определяет направление морфогенетических процессов. Большинство авторов окончательное формирование органов до дефинитивного состояния связывается с изменением уровня нейрорегуляторной регуляции [2, 7].

Целью настоящего исследования явилось изучение закономерностей становления экзокринного отдела поджелудочной железы на протяжении постнатального онтогенеза и роли пищевого фактора.

Материал и методы

В эксперименте использованы 120 кроликов обоего пола породы Шиншилла, входящих в 12 возрастных групп от рождения до 1 года. Сроки исследования согласованы с общепризнанным подразделением возрастных периодов у кроликов, предложенным Западнюком И.П. и соавт. [6]. В соответствии с ним группы животных были распределены следующим образом:

I. Период молочного кормления: 1. Возраст новорожденный 1-7 дней (1-я группа – 1 день, 2-я группа – 7 дней); 2. Возраст подсосный 8-30 дней (3-я группа – 14 дней, 4-я группа – 21 день, 5-я группа – 30 дней).

II. Период неполовозрелый: 3. Возраст инфантильный 31-90 дней (6-я группа – 60 дней, 7-я группа – 90 дней); 4. Возраст предслучный (ювенильный) 4-6 мес. (8-я группа – 4 мес., 9-я группа – 5 мес., 10-я группа – 6 мес.).

III. Период репродуктивный: 5. Возраст молодой 7-10 мес. (11 группа – 10 мес.); 6. Возраст зрелый 12-30 мес. (12-я группа – 12 мес.).

Работа с экспериментальными животными проводилась в соответствии с «Правилами проведения

работ с использованием лабораторных животных». В последний день опытного срока животных усыпляли и после предварительного взвешивания брали материал для исследования из поджелудочной железы. Пробы ткани фиксировали в жидком азоте. В криостатных срезах изучали активность ферментов: сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и дегидрогеназы восстановленного никотинамиддинуклеотида (НАДН-ДГ) по Нахласу и соавт., лактатдегидрогеназы (ЛДГ) по Гесс и соавт., кислой фосфатазы (КФ) по Гомори [11]. Этот же материал обрабатывали для выявления фосфолипидов по Беккеру. Пробы ткани, фиксированные в охлажденном ацетоне и жидкости Карнуа, в последующем заливали в парафин. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также выявляли РНК по методу Браше и щелочную фосфатазу (ЩФ) по методу Гомори. Реакции на ферменты сопровождалась бессубстратными контролями. Производили визуальную количественную оценку изучаемых веществ на гистологических препаратах, а также цитофотометрию на микроскоп-флюориметре МФТХ-2М и морфометрию (диаметр ацинусов, высота ацинарных клеток и их секреторных зон, объем ядер). Доли железистых и соединительнотканых компонентов железы определялись с помощью окулярной измерительной сетки Автандилова А.А. Весь полученный цифровой материал обрабатывался по общепринятым критериям вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента [1].

Результаты и обсуждение

Результаты гистологических и гистохимических исследований с использованием количественных критериев оценки позволили установить, что экзокринный отдел поджелудочной железы проходит ряд последовательных этапов дифференцировки клеток, формирования органных субъединиц и проявления функциональной активности, которые связаны не только с возрастными периодами, но и с адаптацией к пищевым факторам.

К моменту рождения в целом поджелудочная железа сформирована и имеет дольчатую альвеолярную структуру, свойственную дефинитивному состоянию, однако становление ее как системы, способной к адекватному функционированию, еще не завершено. Об этом свидетельствуют несколько показателей функциональной зрелости. Одним из них является соотношение стромы и паренхимы органа [3, 12]. По нашим данным, при рождении отмечается наибольшая доля стромы, которая достигает 29,7% (табл. 1). На гистологических препаратах дольки небольших размеров. Про-

слойки нежнволокнистой соединительной ткани широкие и выражены не только между дольками, но и внутри них, вследствие чего ацинусы располагаются рыхло. Размер концевых отделов и составляющих их экзокриноцитов уменьшен (табл. 1). Ядра клеток крупные, занимают почти всю базальную зону цитоплазмы, имеют овальную или неправильную форму. Хроматин расположен как в маргинальной, так и в центральной областях ядра. В ацинарных клетках у родившихся крольчат довольно часты фигуры митоза. Зоны, характерные для железистых клеток ацинусов зрелых животных, здесь слабо различимы. Хотя синтетическая активность панкреатитов регистрируется, согласно литературным данным, еще во внутриутробном периоде [12], после рождения уровень секреторной активности невысок. Гранулы зимогена в апикальной части клеток располагаются неплотно. В некоторых клетках обнаруживаются вакуоли, и цитоплазма приобретает ячеистый характер. Встречаются концевые отделы из мелких клеток, не содержащих гранул фермента.

Функциональная активность панкреатитов тесно связана с клеточным метаболизмом. Гистохимически более низкое содержание в большинстве секреторных клеток этих животных РНК, фосфолипидов, по сравнению с последующими сроками, соответствует более слабой степени развития гранулярной эндоплазматической сети, пластинчатого комплекса [9]. Активность СДГ и НАДН-ДГ – ферментов гексозофосфатного пути и цикла Кребса – также не достигает уровня, характерного для взрослого организма, однако довольно значительна, что свидетельствует о высоком уровне окислительных процессов в митохондриях (рис.1). Очевидно, это связано с рождением, являющимся одним из критических периодов развития, и высокими метаболическими требованиями новорожденных животных. Возможно, этим же объясняется обильная васкуляризация железы. Активность ЛДГ

Таблица 1. Возрастные изменения морфометрических показателей поджелудочной железы (М±m).

Возраст животных	Площадь стромы (%)	Площадь паренхимы (%)	Диаметр ацинусов (мкм)	Ацинарные клетки	
				Высота (мкм)	Объем ядра (мкм ³)
Новорожденный	29,7±1,2	70,3±0,9	24,5±1,0	10,87±0,07	82,41±2,65
7 суток	18,2±0,7*	81,8±1,3*	29,4±1,4*	13,02±0,07*	83,30±1,73
14 суток	17,8±0,5*	82,2±1,0*	29,9±1,3*	13,10±0,08*	81,95±1,10
21 сутки	17,1±1,0*	82,9±1,5*	30,3±1,5*	13,30±0,06*	78,53±1,12
30 суток	16,1±0,8*	83,9±1,1*	30,5±1,6*	13,85±0,09*	77,60±1,57
60 суток	15,7±0,4*	84,3±1,3*	31,1±1,4*	13,89±0,10*	76,61±2,56
90 суток	15,0±0,6*	85,0±0,9*	31,6±1,7*	13,92±0,08*	75,42±2,29
120 суток	14,9±0,3*	85,1±1,4*	31,9±1,3*	13,92±0,07*	73,50±1,57*
360 суток	15,2±0,4*	84,8±1,2*	31,8±1,2*	14,26±0,08*	65,37±2,03*

Примечание: * - различия показателей достоверны по сравнению с исходным уровнем у новорожденных (p < 0,05).

– ключевого показателя гликолиза – и лизосомального фермента – кислой фосфатазы – невелика. Активность щелочной фосфатазы определяется только в эндотелиальных клетках кровеносных капилляров и выводных протоках. Междольковые и внутридольковые выводные протоки более многочисленны, чем у половозрелых животных, с выраженным просветом, выстланы однослойным кубическим эпителием.

В процессе дальнейшего онтогенеза поджелудочная железа претерпевает значительные морфофункциональные сдвиги, обусловленные адаптацией новорожденных животных к новым условиям существования. Абсолютная масса органа нарастает. При этом отмечаются корреляционные изменения соотношений стромы и паренхимы: доля стромы прогрессивно уменьшается, а паренхимы – нарастает (табл. 1). В последней получают дальнейшую дифференцировку специфические структуры органа, обеспечивающие выполнение его секреторной функции – ацинусы. На ранних этапах онтогенеза в процессе функционального созревания ацинусов выявлено важное значение алиментарного фактора. В периоде молочного кормления уже у 7-суточных кроликов дольки значительно укрупняются. Это происходит как за счет увеличения ацинарных клеток, так и их новообразования (табл. 1). Пролиферация ациноцитов и дифференцировка протоковых клеток способствуют формированию новых ацинусов. В работе ацинарной ткани появляется гетерогенность. Вероятно, у новорожденных кроликов до акта кормления происходит преимущественно депонирование секрета, а кормление стимулирует и его выделение, что морфологически выражается различным содержанием зимогенных гранул в железистом эпителии. В большинстве ацинусов становятся отчетливо выраженными зимогенная и гомогенная зоны.

У 2-х и 3-х недельных кроликов рост и дифференцировка поджелудочной железы продолжают. Несмотря на то, что абсолютные объемы ядер панкреатитов изменяются незначительно (табл. 1), увеличение размеров этих клеток приводит к снижению ядерно-цитоплазматического отношения. Гистохимические изменения ацинарных клеток свидетельствуют в пользу усиления секреторной активности. Объем секреторной зернистости в апикальной зоне цитоплазмы нарастает. Отмечается увеличение содержания РНК, фосфолипидов в базальной зоне. К концу периода молочного кормления в популяции одноядерных панкреатитов всё чаще появляются двуядерные ацинарные клетки.

Переход к смешанному, а затем дефинитивному питанию вызывает повышение степени гете-

рогенности поджелудочной железы на тканевом и клеточном уровнях. Активность НАДН-ДГ увеличивается на 23 % по сравнению с исходной, СДГ – на 26 %, ЛДГ – на 20 % ($p < 0,05$) (рис. 1). Насыщение панкреатитов высокоактивными ферментными системами позволяет обеспечить полноценный эффекторный секреторный ответ. При завершении неполовозрелого периода развития количество митотически делящихся панкреатитов и новообразованных ацинусов резко сокращается, интенсивность роста поджелудочной железы замедляется. Размеры ацинарных клеток и объемы их ядер не увеличиваются (табл. 1). Отмечается сближение минимального и максимального диаметров ядер – они становятся более однородными по форме и величине. Ядерно-цитоплазматические отношения становятся почти постоянными. Уровень РНК снижается и, так же как активность изучаемых ферментных систем, в дальнейшем изменяется незначительно.

К периоду полового созревания стабилизируется соотношение долей стромы и паренхимы органа, завершается дифференцировка эпителия концевых отделов и выводных протоков. Наши данные полностью согласуются с данными литературы в том, что поджелудочная железа относится к числу органов, у которых с возрастом резко тормозится митотическое деление клеток и физиологическая регенерация осуществляется путем образования полиплоидных и двуядерных клеток [10]. В 10-12 месяцев постнатального онтогенеза структурно-метаболическая характеристика поджелудочной железы кроликов полностью соответствует дефинитивному состоянию.

Вышеизложенное позволяет сделать следующее заключение. Рост и становление поджелудочной железы к моменту рождения не завершены. В от-

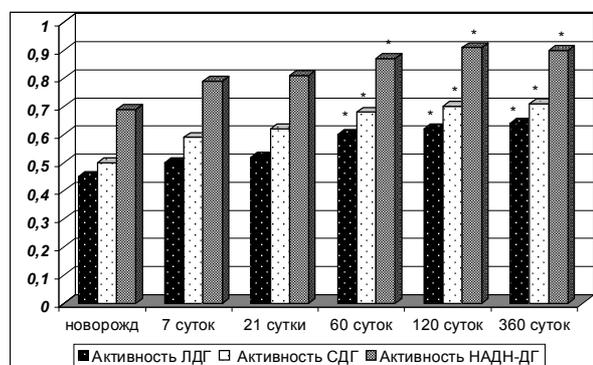


Рис. 1 Активность СДГ, ЛДГ и НАДН-ДГ в экзокринных панкреоцитах кроликов различного возраста (ед. оп. пл.).

Примечание: * - различия показателей достоверны по сравнению с исходным уровнем у новорожденных ($p < 0,05$).

личие от эмбриональной, постнатальная дифференцировка более продолжительна. Характер и степень ее выраженности определяются как возрастным фактором (нейрогормональная регуляция), так и пищевым режимом. Причем изменения изучаемых качественных и количественных параметров отмечаются на всех уровнях структурной организации (органном, тканевом, клеточном, субклеточном). На органном уровне они проявляются сдвигами в соотношении тканевых компонентов (паренхима, строма, сосуды), на тканевом – изменениями ацинусов, на клеточном и субклеточном – изменениями ацинарных клеток и их внутриклеточных структур (ядер, ядрышек, органелл). Данные количественной и качественной характеристики структур органа на различных уровнях организации, полученные при исследовании возрастной динамики процессов структурно-функциональной дифференцировки, отражают уровень морфофункционального развития поджелудочной железы и могут быть использованы для изучения возрастной гистофизиологической нормы.

Литература:

1. Автандилов Г.Г., Яблучанский Н.И., Губенко В.Г. Системная стереометрия в изучении патологического процесса.—М.: Медицина, 1981.— 192 с.
2. Акмаев И.Г. Современные представления о взаимодействиях гипоталамической нейросекреторной и вегетативной нервной систем в регуляции эндокринной и гомеостатической функций // Морфология.— 1992.— т. 102, № 3.— С. 5-39.
3. Бойко Ю.Г., Прокопчик Н.М. Возрастная морфометрическая характеристика поджелудочной железы человека // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии.— 1987.— № 12.— С. 79-81.
4. Волкова О.В., Пекарский М.И. Эмбриогенез и возрастная гистология внутренних органов человека.— М.: Медицина, 1976.— 415с.
5. Давыденко Л. М. Морфогенез поджелудочной железы человека в антенатальном периоде // Морфология.— 1993.— т. 105, № 9-10.— С. 69-70.
6. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. Лабораторные животные.—М.: Медицина, 1983.— С.21-26.
7. Мицкевич М.С. Гормональные регуляции в онтогенезе животных.— М.: Наука, 1978.— 224 с.
8. Садыков Б.А. Изменения ферментативной активности поджелудочной железы и тонкой кишки у крысят при переходе от молочного на дефинитивное питание // Физиол. ж. им. И.М.Сеченова.— 1992.— т. 78, № 8.— С. 171-177.
9. Grant J., Dorward P.M., Bardocz S., Pusztai A. Pancreas enlargement induced in rats by longterm consumption of dietary legume proteins / Pros. Nutr. Soc. – 1993. – Vol. 52, №2. – P. 137-139.
10. Oates Ph.S., Morgan R.G.H. Gell proliferation in the exocrine pancreas during development // J. Anat. – 1989. - №167. – P. 235-242.
11. Pearse G. Histochemistry.— London: Curchillztd, 1960.— 962 p.
12. Wormsley K.G. Pancreatic secretion: physiological control // Sci. Basic. Gastroenterol. – Edinburgh e. a., 1977. – P. 199-248.

Resume

Resume

MAIN PRINCIPLES OF DEVELOPMENT OF THE EXOCRINE PANCREAS DURING POSTNATAL ONTOGENESIS

Mozheyko L.A.

Grodno State Medical University

We have studied the dynamics of morphofunctional changes of the exocrine pancreas with age. We have found that the pancreatic structural and morphological as well as histochemical parameters in newborn rabbits are poorly definite. Feeding is obviously a triggering mechanism for the pancreatic activity. More advanced age is accompanied by changes both in structure and in cytochemical properties of pancreatic epithelial cells. The correlation of the parameters studied with the ontogenetic periods and adaptation to nutritional factors have been determined.