

© Савельева Е.С., Процина А.Е., 2012
УДК 591.437:597

**ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
ЭНДОКРИННОЙ ТКАНИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЛУЧЕПЕРЫХ РЫБ (*Actinopterygii*)**

Е.С. Савельева, А.Е. Процина

ФГБУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека» РАМН, г. Москва

В работе исследована эндокринная ткань поджелудочной железы 10 видов лучеперых рыб (*Actinopterygii*). Инсулинсодержащие клетки у большинства изученных видов рыб (кроме *A. Anguilla*, *E. Lucius*, *C. Carpio*) имели сферическую форму. Глюкагонсодержащие и соматостатинсодержащие клетки у всех видов имели шиповидную форму с цитоплазматическими отростками, не встречающуюся у млекопитающих. Для большинства изученных видов рыб характерен плащевой (корковый) тип распределения клеток в островке, при котором инсулинсодержащие клетки – в центре, а глюкагонсодержащие – на периферии. У *A. ruthenus* в островках содержатся только инсулин-позитивные клетки; глюкагон- и соматостатин-позитивные клетки распределены вокруг островков, единичные клетки и небольшие кластеры рассеяны в ацинарной ткани. У *A. Anguilla* выявлены островки с лежащими на периферии инсулин-позитивными клетками и внутренней локализацией глюкагон-позитивных клеток. Обнаруженный полиморфизм островков и эндокринных клеток не могут быть объяснены биологией видов и типом питания.

Ключевые слова: рыбы, поджелудочная железа, иммуногистохимия, островки, эндокринные клетки.

Поджелудочная железа (ПЖ) исследована у относительно небольшого числа видов лучеперых рыб. В этой группе было выявлено большое разнообразие типов строения этого органа: от обособленной оформленной ПЖ до, так называемой, гепатопанкреаса, где ткань ПЖ диффузно расположена в печени и простирается вдоль ее протоков [1]. Исследования эндокринной ткани ПЖ у *Actinopterygii* позволило установить существование разнообразных по своей форме и цитоархитектонике островков с четырьмя основными типами эндокринных клеток [1; 13; 14].

До сих пор остается актуальным вопрос, по каким параметрам нужно сравнивать эндокринную ткань рыб. Уилсон и Ал-Махруки предположили, что следует изучать расположение, вариации размеров островков, степень ассоциации островковой и ацинарной ткани, а также расположение и форму

эндокринных клеток [13]. С учетом этого подхода мы провели иммуногистохимическое исследование для оценки эволюционно-адаптивных закономерностей перестройки ПЖ лучеперых рыб.

Материалы и методы

В работе нами были использованы 45 экземпляров следующих видов рыб: стерлядь (*A. ruthenus* L., 1758), угорь речной (*A. anguilla* L., 1758), радужная форель (*S. irideus* L., 1758), корюшка малоротая (*H. olidus* L., 1758), щука обыкновенная (*E. lucius* L., 1758), карп (*C. carpio* L., 1758), сазан (*C. carpio* L., 1758), обыкновенный сом (*S. glanis* L., 1758), пангасиус или акулий сом (*P. hypophthalmus* S., 1878), оринокский сом или краснохвостый фрактоцефалус (*P. hemiliop-terus* Bl. & S., 1801).

Эвтаназия животных проводилась согласно международным правилам [5]. Гистологические серийные срезы поджелудочной железы рыб (5-10 мкм) окрашивали по Маллори, гематоксилин-пикрофуксином (по Ван Гизону) и по Гроссо. При изучении эндокринных кле-

ток ПЖ было предпринято иммуногистохимическое исследование на смежных срезах, по выявлению моноклональными и поликлональными антителами инсулина, глюкагона и соматостатина. Список использованных антител и разведения представлен в таблице 1.

Таблица 1

Иммунореактивность к антителам различных видов рыб

Вид \ Название рыб \ антител	Антитела к инсулину			Антитела к глюкагону		Антитела к соматостатину кролик поликл. Abcam (1:750)
	Мышь монокл. Lab Vision (1:400)	Кролик поликл. Sigma (1:100)	Морск. Свинки Sigma (1:300)	Мышь монокл. Sigma (1:100)	Кролик поликл. Lab Vision (1:100)	
стерлядь <i>A.ruthenus</i>	+	+	+	–	+	+
угорь <i>A.Anguilla</i>	–	–	+	–	+	+
форель <i>S.irideus</i>	–	+	+	–	+	+
корюшка <i>H. olidus</i>	–	–	+	–	+	+
щука <i>E. Lucius</i>	–	+	+	–	+	+
каarp <i>C. carpio carpio</i>	–	–	+	–	+	+
сазан <i>C.carpio</i>	–	–	+	–	+	+
сом <i>S. Glanis</i>	–	+	+	+	+	+
пангасиус <i>P.hypophthalmus</i>	–	+	+	–	+	+
сом <i>P.hemiliopterus</i>	–	+	+	–	+	+

Результаты и их обсуждение

Хрящевые ганоиды (*Chondrostei*) и ангвиллоидные (*Anguillomorpha*), являются наиболее филогенетически древними группами среди *Actinopterygii*. ПЖ стерляди и угря как по нашим, так и по литера-

турным данным образует компактный оформленный орган. Экзокринная ткань представлена ацинусами характерного для млекопитающих строения. Эндокринная ткань представлена в виде хорошо васкуляризованных скоплений эпителиальных

клеток, рассеянных в толще железы [3; 4; 6]. Такие островки у стерляди отделены от экзокринной ткани небольшим количеством фибробластов, не образующих настоящей капсулы. В отличие от хрящевых ганоидов, у угря соединительная ткань формирует капсулу вокруг островков. Островки в ПЖ у стерляди небольшого размера (до 170 мкм диаметром). Принято считать, что у угря нет ни основных островков, ни островковых скоплений (телец Брокмана) в отличие от более прогрессивных рыб [7]. Тем не менее, мы обнаружили островки различного размера: крупные (до 300 мкм диаметром), которые являются, по всей видимости, основными островками; более мелкие, добавочные островки; единичные эндокринные клетки и небольшие кластеры. В эндокринных клетках, как хрящевых ганоидов, так и ангвиллоидных рыб была выявлена позитивная реакция на все три исследуемых гормона. Клетки, иммунопозитивные к инсулину у стерляди, имеют эллипсоидную форму, организованы в шнуры или дольки расположенные по всему островку. Глюкагон- и соматостатин-позитивные клетки сконцентрированы вокруг островков. Эти клетки имеют неправильную форму и часто отростки. Были выявлены единичные инсулин-, глюкагон- и соматостатин-содержащие клетки и небольшие кластеры, рассеянные в ацинарной ткани. У угря инсулин-позитивные клетки в отличие от стерляди имеют неправильную форму и сгруппированы в тяжи, которые лежат в толще островка и превалируют в периферических зонах. В тяжи группируются и глюкагон- и соматостатин-позитивные клетки, однако они распределены по всему объему островка (Рис. 1 – 3, А, В).

По литературным данным считается, что промежуточные ступени в эволюции основных островков костных рыб можно наблюдать у лососеобразных [1]. В исследованиях Винсента и Буке [2; 10] указывается на компактную форму ПЖ щуки и описано распределение В-клеток, по всей площади островков.

У радужной форели описаны панкреатические островки, некоторые из ко-

торых достигают размера основных, собранные в конгломераты и окруженные экзокринными ацинусами [9; 11; 12]. Островки встречаются в жировой ткани, окружающей пилорические выросты и селезенку. Это скопление островков называют островковым органом [11] или основным тельцем [12]. По нашим данным, у форели и корюшки эндокринная ткань представлена отдельными мелкими островками и конгломератами ткани имеющей общую оболочку. Конгломераты значительного размера (до 1170 мкм), лежат компактно, а экзокринная ткань может внедряться с периферии островкоподобных структур в их центральные зоны. Инсулин-позитивные клетки округлой формы с редко встречающимися отростками локализованы в центре островкоподобных конгломератов заполняя островки практически целиком. Глюкагон-позитивные клетки неправильной формы отростчатые, расположены по периферии конгломератов. В небольших островках глюкагон-позитивные клетки наблюдаются по всей площади островков. Соматостатин-позитивные клетки неправильной формы, располагаются преимущественно по периферии островков и конгломератов. Образованный ими корковый слой значительно шире зоны глюкагон-позитивных клеток. Соматостатин-позитивные как и глюкагон-позитивные клетки встречаются и в центре островков образуя тяжи (Рис. 1 – 3, Г).

У отрядов Карпообразные Cypriniformes и Сомообразные Siluriformes, наблюдается еще более рассеянное расположение островковой ткани, чем у лососеобразных. Эндокринная ткань представлена крупными островками (у карпа до 370 мкм; у сазана до 580 мкм диаметром) с единой соединительнотканной капсулой, а также островками меньшего размера. Инсулин-позитивные клетки у карпа и сазана расположены в центре островков, тогда как глюкагон-позитивные по периферии островка и лишь в некоторых случаях встречаются в центре; соматостатин-позитивные клетки располагаются в центре островков [8].

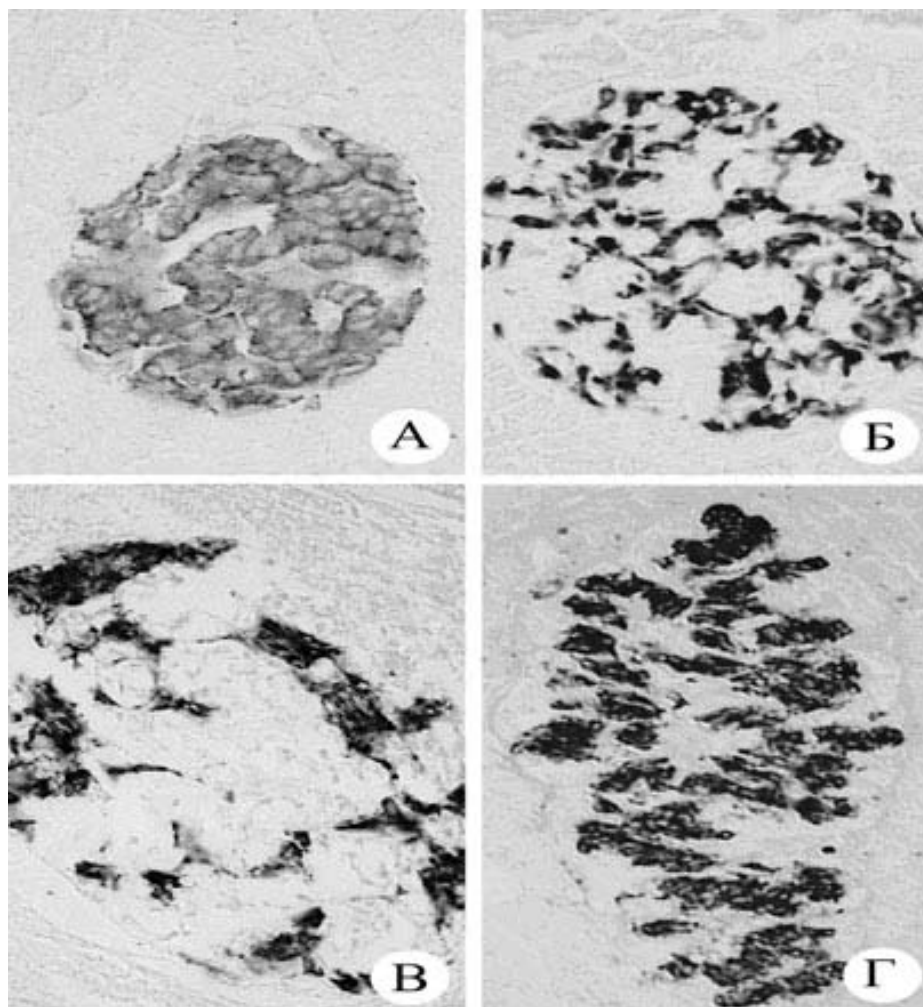


Рис. 1. Распределение инсулин-позитивных клеток в островках поджелудочной железы: А – стерляди (*A. ruthenus*), х40; Б – щуки обыкновенной (*E. Lucius*), х40; В – угря речного (*A. Anguilla*), х40; Г – радужная форель (*S. irideus*), х20.

Островки щуки преимущественно большого (до 1260 мкм диаметром) размера окружены соединительнотканной капсулой. Крупные островки могут иметь включения экзокринной ткани. В таких островках инсулин-позитивные клетки распределены по всему объему равномерно, а в небольших – сконцентрированы в центре островка. Глю-

кагон-позитивные клетки также расположены по всему островку, но их скопления преобладают на периферии. Соматостатин-позитивные клетки распределены диффузно. Следовательно у щуки выявлена тенденция формирования островков плащевого (коркового) типа, при котором глюкагон-содержащие клетки расположены на периферии, а инсулин – в центре (Рис. 1 – 3, Б).

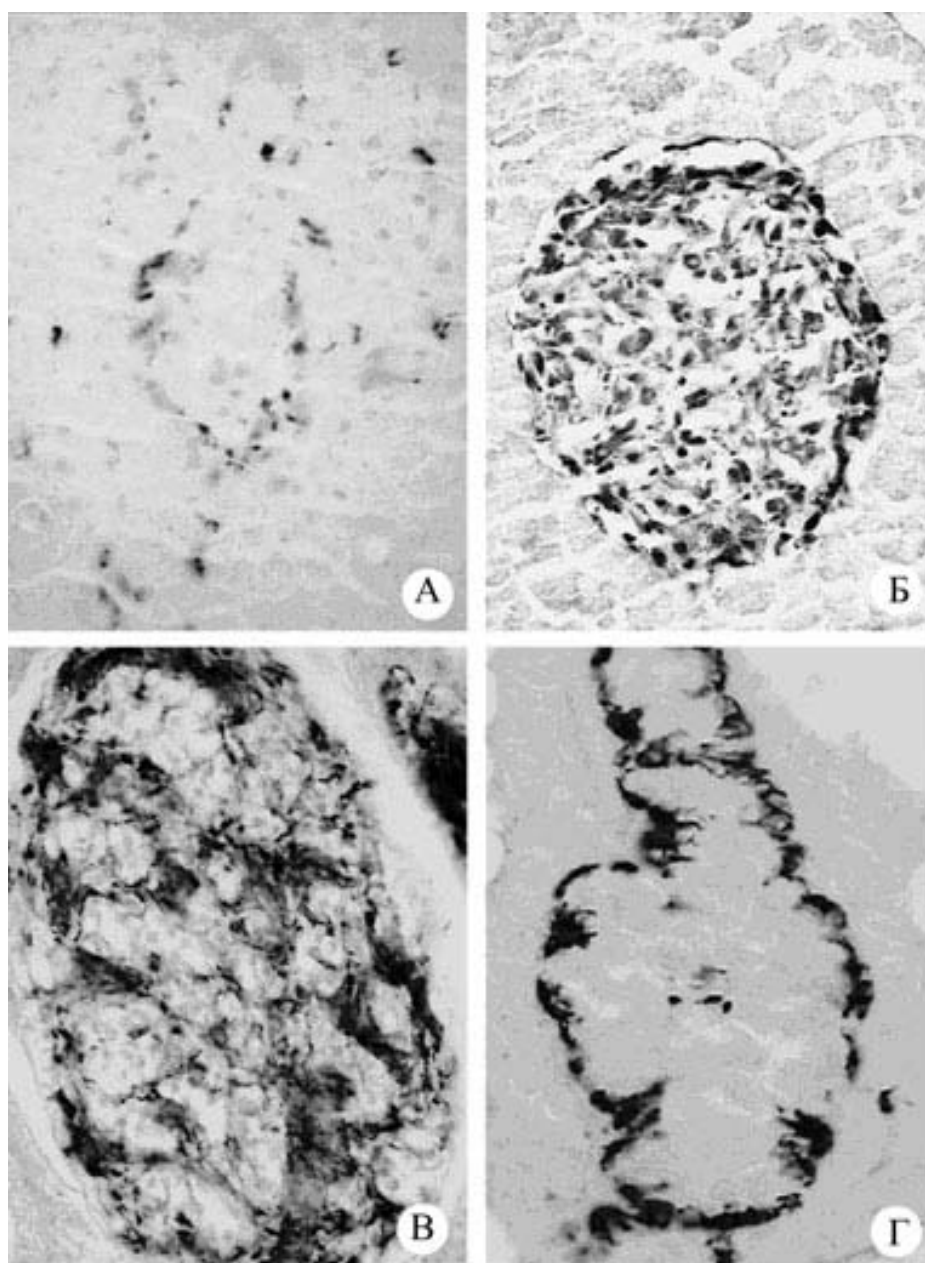


Рис. 2. Распределение глюкагон-позитивных клеток в островках поджелудочной железы: А – стерляди (*A. ruthenus*), х40; Б – щуки обыкновенной (*E. Lucius*), х40; В – угря речного (*A. Anguilla*), х40; Г – радужная форель (*S. irideus*), х20.

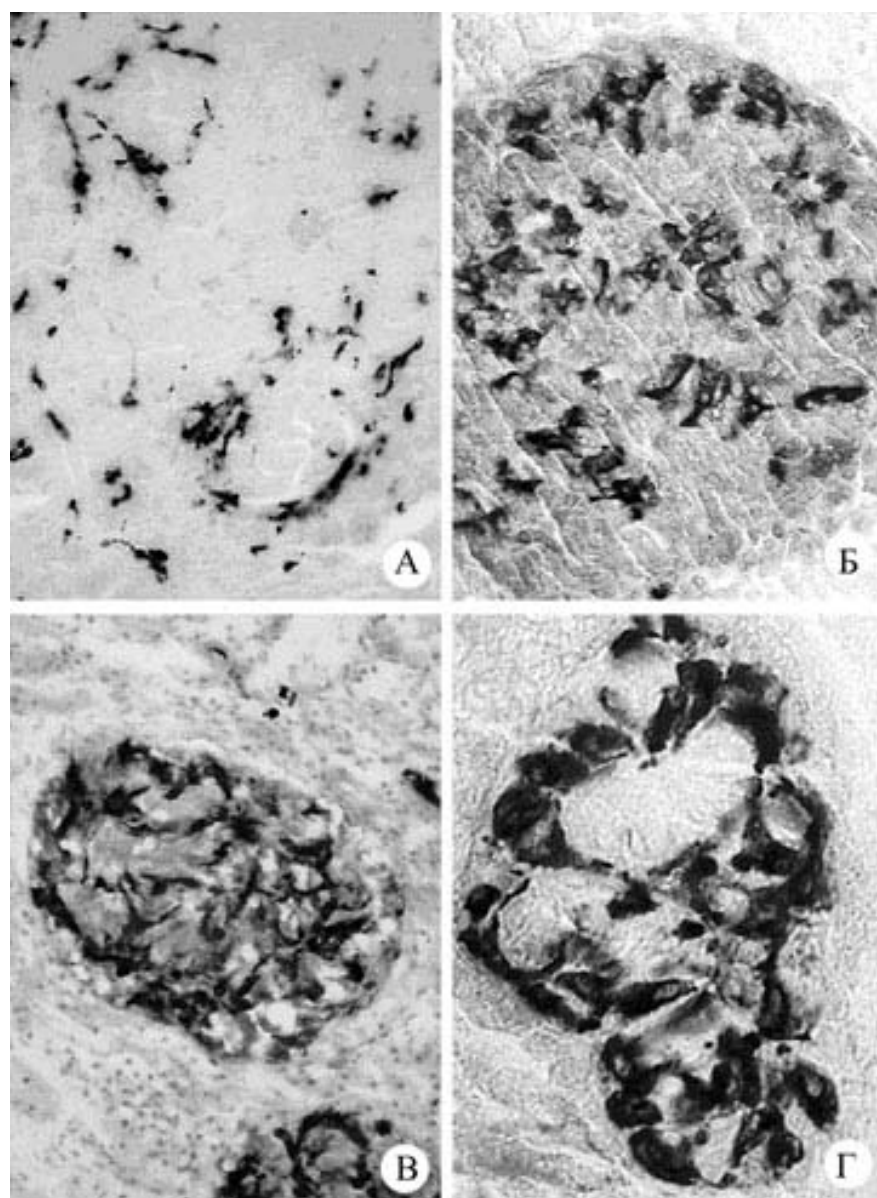


Рис. 3. Распределение соматостатин-позитивных клеток в островках поджелудочной железы: А – стерляди (*A. ruthenus*), х20; Б – щуки обыкновенной (*E. Lucius*), х40; В – угря речного (*A. Anguilla*), х40; Г – радужная форель (*S. irideus*), х40.

В группе сомовые silurids в эндокринной ткани ПЖ встречаются крупные островки, полностью или частично окруженные тонким слоем экзокринной ткани. Островки сома достигают 930 мкм в диаметре, у оринокского сома до 200 мкм, у пангасиуса до 180 мкм. Эндокринные клетки всех типов эллипсоидной формы, у сома, помимо этого имеют единственный отросток. В этой же группе островки, как и у исследованных карпообразных, имеют плащевой тип строения.

Выводы

Изученные нами лучеперые рыбы различаются как по экологии (морские, пресноводные и проходные), так и по типу питания (хищники, всеядные и растительноядные). Однако нам, как и другим авторам, не удалось выявить связи между строением эндокринной части ПЖ и образом жизни рыб. У наиболее примитивных рыб таких как осетры (*Acipenser*), угреобразные (*Anguillomorpha*) и щуки (*Esociformes*) обнаружено диффузное распространение островков различного размера в экзокринной ткани, при этом не образуется скоплений. Радужная форель (*Salmo irideus*) и корюшка малоротая (*Hypomesus olidus*), представляющие более высокоразвитых рыб, обладают островками, собранными в особой области экзокринной ПЖ (островковом органе) предшественнике тельца Брокмана. Маленькие островки рассеяны внутри ПЖ. Подобную модель можно увидеть и у более эволюционно продвинутых карповых (*Cyprinidae*) и сомовых (*Siluridae*).

Обнаруженный полиморфизм расположения островков и формы эндокринных клеток не могут быть объяснены биологией видов и типом питания. Учитывая то,

что основная функция эндокринной части ПЖ – регуляция углеводного обмена, этот вопрос требует дополнительных исследований.

Литература

1. Яглов В.В. Морфология эндокринной части поджелудочной железы костистых рыб / В.В. Яглов // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1978. – Т. 74, №1. – С. 111-115.
2. Bucke D. The anatomy and histology of the alimentary tract of the carnivorous fish the pike *Esox lucius* L. / D. Bucke // Journal of Fish Biology. – 1971. – Vol. 3, Is. 4 – P. 421-431.
3. Eppler A.E. Islet histophysiology: Evolutionary correlations / A.E. Eppler, J. Brinn // General and Comparative Endocrinology. – 1975. – Vol. 27. – P. 320-349.
4. Eppler A. The Comparative Physiology of the Pancreatic Islets / A. Eppler, J.E. Brinn. – Heidelberg: Springer-Verlag, 1987. – 223 p.
5. Hampson J. Law relation to animal experimentation / J. Hampson // Laboratory animals: an introduction for new experimenters / ed.: A. A. Tuffery. – Chichester, UK: J.Wiley and Sons Ltd, 1990. – P. 21-52.
6. Gastroenteropancreatic Hormones (Insulin, Glucagon, Somatostatin, and Multiple Forms of PYY) from the Pallid Sturgeon, *Scaphirhynchus albus* (Acipenseriformes) / J.B. Kim [et al.] // General and Comparative Endocrinology. – 2000. – Vol. 120, Is. 3. – P. 353-363.
7. Kobayashi K. Fine structure of Langerhans' islet cells in a marine teleost Conger japonicus Bleeker / K. Kobayashi, Y. Takahashi // General and Comparative Endocrinology. – 1974. – Vol. 23. – P. 1-18.

8. Immunohistochemical study of the endocrine cells in the pancreas of the carp, *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) / H.S. Kong [et al.] // Journal of Veterinary Science. – 2002. – Vol. 3. – P. 303-314.
9. Different cellular distributions of two somatostatins in brain and pancreas of salmonids, and their associations with insulin- and glucagon-secreting cells / M. Nozaki [et al.] // General and Comparative Endocrinology. – 1988. – Vol. 69. – P. 267-280.
10. Vincent S. The pancreas of teleostean fishes and the source of insulin / S. Vincent, E.C. Dodds, F. Dickens // Experimental Physiology. – 1925. – Vol. 15, N. 3-4. – P. 313-317.
11. Wagner G.F. Immunocytochemical localization of hormone-producing cells within the pancreatic islets of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) / G.F. Wagner, B.A. McKeown // Cell Tissue Research. – 1981. – Vol. 221. – P. 181-192.
12. Immunocytochemical study of the pancreatic islets of the Pacific salmon, *Oncorhynchus kisutch* / Y.-Q. Wang [et al.] // Zoology Science. – 1986. – Vol. 3. – P. 123-129.
13. The fish endocrine pancreas: Review, new data, and future research directions in ontogeny and phylogeny / J.H. Youson [et al.] // General and Comparative Endocrinology. – 2006. – Vol. 148, Is. 2. – P. 105-115.
14. Youson J.H. Ontogenetic and Phylogenetic Development of the Endocrine Pancreas (Islet Organ) in Fishes / J.H. Youson, A.A. Al-Mahrouki // General and Comparative Endocrinology. – 1999. – Vol. 116. – P. 303-335.

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF THE ENDOCRINE CELLS IN THE PANCREAS OF THE ACTINOPTERYGIAN FISHES (*ACTINOPTERIGII*)

E.S. Savelieva, A.E. Proshchina

The endocrine tissue in the pancreas of 10 actinopterygian fishes (*Actinopterygii*) species was investigated in present study. Insulin-immunoreactive cells in the most of the studied species (except *A. Anguilla*, *E. Lucius*, *C. Carpio*) had the spherical shape. Glucagon-immunoreactive and somatostatin-immunoreactive cells had the spindle shape with cytoplasmic processes in all species. Insulin-immunoreactive cells were located in the central region of the pancreatic islets; glucagon-immunoreactive cells were located on islet periphery in the most of these species. In *A. ruthenus* the islets contained only insulin-positive cells. In this case glucagon- and somatostatin-positive cells were distributed around the islets, single cells and small clusters were scattered throughout the pancreas. In the islets of *A. Anguilla*, insulin-immunoreactive cells were found in the peripheral region, glucagon-immunoreactive cells were located in the central region. The observed polymorphism of the islets and endocrine cells can not be explained by feeding habits of fishes.

Key words: *fishes, pancreas, immunohistochemistry, islets, endocrine cells.*

Савельева Екатерина Сергеевна – научный сотрудник лаборатории развития нервной системы НИИ Морфологии Человека РАМН.

117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3.

E-mail: eslielsizoo@mail.ru.

Прошина Александра Евгеньевна – к.б.н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории развития нервной системы НИИ Морфологии Человека РАМН.

117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3.