

*Э. Ю. Арзуманян*

**МОРФОГЕНЕЗ ЭНДОКРИННОГО АППАРАТА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ  
ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА НА РАННИХ ЭТАПАХ  
ПРЕНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ**

*Научные руководители: ассист. С. И. Белевцева, ст. преп. И. А. Мельников*

*Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии,*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

*E. Y. Arzumanian*

**MORPHOGENESIS OF THE HUMAN ENDOCRINE PANCREAS IN THE  
EARLY PRENATAL PERIOD**

*Tutors: assistant S. I. Belevtseva, senior lecturer I. A. Melnikov*

*Department of Histology, cytology and embryology,*

*Belarusian State Medical University, Minsk*

**Резюме.** Развитие эндокринного аппарата поджелудочной железы протекает задолго до становления экзокринной части органа. Отдельные эндокриноциты, деламинарующие из протоков формируют незрелые островки на 7-9 неделе эмбриогенеза, которые впоследствии сливаются друг с другом с формированием зрелого полигормонального островка.

**Ключевые слова:** поджелудочная железа, морфогенез, островки Лангерганса, развитие островка, эндокриноцит.

**Resume.** The development of the endocrine pancreas occurs long before the formation of exocrine part of the organ. Separate endocrinocytes, delaminating from the trunks, form the immature islets on the 7-9 wpc, which will fuse eventually, generating the mature polyhormonal islets.

**Keywords:** pancreas, morphogenesis, islets of Langerhans, isletogenesis, endocrinocyte.

**Актуальность.** Поджелудочная железа человека – это актуальный объект исследования, поскольку понимание точных механизмов ее развития может быть ключевым этапом на пути к разработке эффективных методов борьбы с сахарным диабетом – повсеместно распространенным заболеванием.

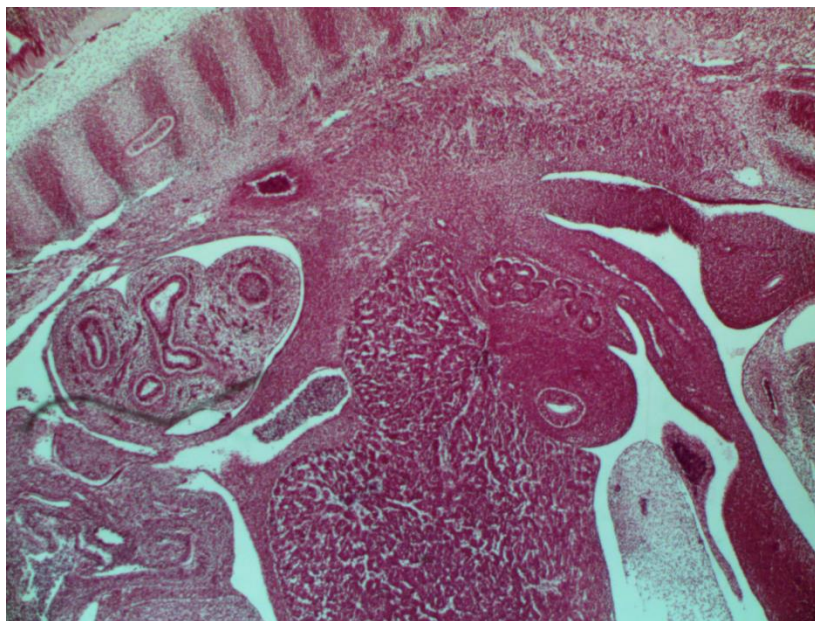
**Цель:** изучить морфогенез эндокринного аппарата поджелудочной железы человека с 4 по 12 неделю эмбриогенеза.

**Задачи:**

1. Проанализировать литературные данные на заданную тему.
2. Изучить поджелудочную железу человека на гистологических препаратах эмбрионов человека на ранних стадиях развития.
3. Изучить формирование эндокринного отдела и провести дифференцировку между альфа и бета клетками островков Лангерганса.

**Материал и методы.** Предметом исследования является кафедральная коллекция гистологических препаратов эмбрионов человека с 4 по 12 недели эмбриогенеза, 66 сагиттальных парафиновых срезов, окрашенные гематоксилином и эозином, а также 4 препарата, окрашенных по Ван Гизону. Для изучения препаратов использовалась световая микроскопия, снимки делали при помощи цифровой камеры Levenhuk с разрешением 2048x1536. Для обработки кадров использовалась программа TourView64.

**Результаты и их обсуждение.** Развитие поджелудочной железы начинается на 3-4 неделе эмбриогенеза (рисунок 1). Зачатки органа представлены двумя, а по некоторым источникам, тремя, выростами первичной кишки (презюмтивной двенадцатиперстной кишки).



**Рис. 1** - Гистологический препарат продольного среза эмбриона человека на 4,5-5 неделе эмбриогенеза (КТД=5-6 мм). Окраска Г&Э. Увеличение  $\times 4$

Исследователи еще в начале 20-го века сошлись на том, что первоначально формируется дорсальный зачаток поджелудочной. Такой вывод был сделан, поскольку несколько ученых независимо друг от друга обнаружили лишь дорсальные выросты кишки у эмбрионов с КТД 3-4 мм.

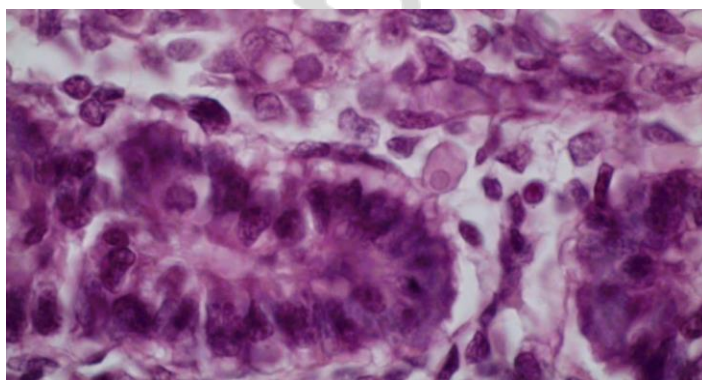
Критическую роль в индукции дорсальной закладки играет сигнальный путь Shh: экспрессия белка селективно репрессируется в препанкреатической области [6]. Происходит это благодаря близкому расположению презюмтивной дорсальной закладки к нотохорду, клетки которого секретируют activin- $\beta$ B и FGF2. Нарушения в процессе могут привести к эктопии или агенезу закладки. Исключение Shh ведет к экспрессии Pdx1 - pancreaticoduodenal homeobox 1 [3]. Индукция вентральной закладки имеет значительное отличие: она формируется по дефолту [4]. Идея «дефолтного развития» появилась, когда все клетки изолированной культуры вентральной первичной кишки показали высокий уровень экспрессии Pdx1. Маркеры печени не были обнаружены, поскольку для индукции печени необходимы внешние сигналы из сердечной мезодермы.

В результате неравномерного роста и вращения кишки зачатки сближаются. Это происходит на стадии 8 мм эмбриона. Они начинают сливаться, окончательное слияние происходит по различным данным на стадии от 12 мм до 14-16 мм эмбриона – примерно на 6,5-7,5 неделях эмбриогенеза.

На 30-33 сутки панкреатические клетки-предшественники формируют многослойный эпителий. Внешне закладки представляют собой эпителиальные массы, выступающие в окружающую мезенхиму. Клетки активно пролиферируют, что вызывает изменение формы и размеров панкреатических закладок, кроме того начина-

ются процессы ветвления. Эти явления были названы первичной трансформацией. На 7 неделе начинается процесс вторичной трансформации, первый его этап - «tip-trunk сегрегация». Орган до этого момента представлял собой скопление мультипотентных стволовых клеток, теперь же происходит формирование двух различных клеточных линий. Как оказалось, ведущую роль в определении судьбы МСК играет сигнальная система Notch. Notch репрессируют экспрессию гена Ngn3, а те клетки, где влияние Notch ослабляется и начинает нарабатываться Ngn3, образуют собственную популяцию – «клетки стволиков» (trunkcells). Остальные клетки носят название «клетки концов» (tipcells).

Клетки стволиков являются бипотентными предшественниками выстилки протоков и эндокриноцитов. В их детерминации также принимает участие Notch, механизм подобен вышеизложенному. Клетки, в которых определяется наличие Ngn3, являются унипотентными предшественниками эндокринных, которым предстоит сформировать 5 различных колоний: глюкагон-секретирующие альфа-клетки, инсулин-секретирующие бета-клетки и др. Ngn3+ клетки характерны своей грушеобразной формой, которая впоследствии напоминает бутылку. Эндокринные предшественники деламинируют из эпителиальных тяжей (протоков)[2], мигрируют в мезенхиму (рисунок 2), где агрегируют с образованием кластеров из нескольких типов эндокриноцитов – островков Лангерганса. После деламинациинескольких коммитированных в эндокринном направлении клеток они представляют собой вытянутый кластер (т.н. «бусы на нитке»), который расположен рядом с эпителием протоков.



**Рис. 2** - Гистологический препарат продольного среза эмбриона человека на 7 неделе эмбриогенеза (КТД=17 мм). Окрашка Г&Э. Увеличение x40

Морфология зрелого панкреатического островка изучена еще в прошлом столетии, однако объяснить, как мы приходим к такой структуре с точной архитектурой, пока не удается. Остаются без ответа вопросы о хронологии и датировке развития островков, данные значительно отличаются у разных групп исследователей. Это, в первую очередь, связано с трудностями в изучении эндокринного аппарата человека – дифференцировку и «взросление» эндокриноцитов мы можем наблюдать только *in vitro*, в связи с этическими аспектами, либо экстраполировать данные, полученные у грызунов/свиней.

Для описания развития островка используется поэтапная схема, предложенная Vocian-Sobkowska et al. [1], измененная и дополненная с учетом нашего исследования динамики морфологии эндокринного аппарата pancreas.

1. Стадия рассеянных клеток.

В стенке стволиков (будущих протоков) визуализируются клетки с более крупными округлыми ядрами, деламинарующие клетки. Это предшественники всех линий эндокриноцитов.

2. Стадия кластерного скопления

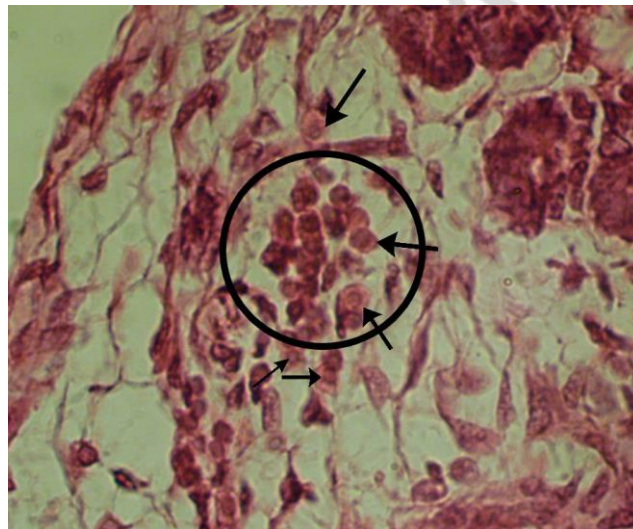
Ngn3<sup>+</sup> клетки, покидающие эпителиальный слой, образуют скопления, которые пока нельзя называть собственно островками – это временные кластеры.

3. Стадия незрелого моногормонального островка

Ряд исследований сообщают о любопытном наблюдении – первоначально формируются островки состоящие только из бета-клеток и островки, включающий альфа и дельта клетки. Впоследствии такие островки сливаются и приобретают характерную для 4 стадии архитектуру.

4. Стадия зрелого полиморфного островка

Характеризуется наличием всех типов эндокринных клеток, синтезирующих определенный гормон, с присущей им морфологией. Ядро представлено инсулин-секретирующими клетками, мантия – преимущественно альфа-клетками.



**Рис. 3** - Гистологический препарат продольного среза эмбриона человека на 10 неделе эмбриогенеза (КТД = 52 мм). Окраска Г&Э. Увеличение x40

Самые примитивные, молодые островки, в которых присутствуют как альфа, так и бета-клетки обнаруживаются на 10 неделе эмбрионального развития (рисунок 3, стрелочками отмечены альфа-клетки), в это же время островки васкуляризируются[8]. На 12-13 неделе островки содержат все типы клеток[3,7]. Более подробного рассмотрения заслуживает 3 стадия развития островка – стадия слияния бета и альфа (преимущественно) моногормональных островков. Как результат слияния, у зрелых островков отмечалось наличие двух четко визуализирующихся полюсов, а после применения иммуногистохимических методов исследования было обнаружено, что на каждом полюсе преобладает один тип эндокриноцитов – альфа или бета.

Исчерпывающее подтверждение данной гипотезе было сделано в 2016 году: в своей статье Leeetal.[5] продемонстрировали формирование моногормональных ост-

ровков двух типов и их последующее слияния с использованием иммуногистохимии.

Такие незрелые островки сильно варьируют в размерах – от небольших скоплений в 10-12 клеток до агрегатов диаметром в 200 мкм. Бета-островки строго глобулярные, в то время как альфа/дельта островки могут иметь неправильную или вытянутую форму. Бета-островки состоят из крупных клеток с обильной бледной цитоплазмой, а клетки альфа/дельта островков имеют гиперхроматические ядра и компактную цитоплазму. В процессе развития островки контактируют и сливаются, альфа/дельта клетки распределяются по периферии. В образовании зрелого островка могут также участвовать одиночные эндокриноциты, однако, как справедливо замечают авторы: «судьба планеты не детерминируется случайно пролетающими мимо кометами, а лишь слиянием с другой планетой».

**Выводы:** полученные результаты позволяют дать заключение о темпах и характере процессов структурно-функциональной дифференцировки поджелудочной железы человека на ранних этапах эмбрионального развития.

#### Литература

1. JBocian-Sobkowska. Polyhormonal aspect of the endocrine cells of the human fetal pancreas / Joanna Bocian-Sobkowska, Maciej Zabel Witold Wozniak, Joanna Surdyk-Zasada //Histochem Cell Biol. – 1999. - №112. – p.147–153.
2. MGouzi. Neurogenin3 Initiates Stepwise Delamination of Differentiating Endocrine Cells During Pancreas Development / Mathieu Gouzi, Yung Hae Kim, Keiichi Katsumoto et al. // Developmental dynamics. – 2011. - № 240. – p.589–604.
3. Jennings RE. Human pancreas development /Jennings R E, Berry A A, Strutt J Pet et al. //Development. – 2015. – №142. - p. 3126-3137.
4. HL Larsen. The molecular and morphogenetic basis of pancreas organogenesis /Hjalte List Larsen, Anne Grapin-Botton//Seminars in Cell & Developmental Biology. – 2017. - № 66. – p.51–68.
5. I Lee. Human pancreatic islets develop through fusion of distinct b and a/d islets / Inchul Lee // Develop. Growth Differ. – 2016.
6. FC Pan. Pancreas development in humans / Fong Cheng Pan, Marcela Brissova //Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, - 2014. - № 21. – p.77–82.
7. K Piper. Beta cell differentiation during early human pancreas development / K Piper, S Brickwood, LW Turnpenny et al. // Journal of Endocrinology. – 2004. - № 181. – p.11–23
8. Ульяновская С. А. Пренатальный и ранний постнатальный морфогенез поджелудочной железы человека/ Ульяновская С. А. // Фундаментальные исследования. – 2013. - № 9 (часть 3).– с. 530-534.
9. Пэттен Б. М. Эмбриология человека /Б. М. Пэттен- М.: Медицина, 1959. – 800 с.