

УДК 616.3

ЕЛЕКТРОННОМІКРОСКОПІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСУ УТВОРЕННЯ СЕКРЕТОРНИХ ГРАНУЛ ЗОВНІШНЬОЇ СЕКРЕЦІЇ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ПІД ВПЛИВОМ СЕКРЕТИНУ

М. І. Шульга, П. Г. Богач, В. Ю. Соколова

Інститут фізіології Київського університету

Починаючи з минулого століття, підшлункову залозу вважають класичним об'єктом для вивчення процесу секреторної діяльності клітин. Деякі автори [2] гадали, що в утворенні секрету беруть участь ядра клітин. Електронномікроскопічні дослідження Вейса [21] показали, що велике значення в синтезі секрету підшлункової залози має гранулярна ендоплазматична сітка. Ці дані Вейса були доповнені працями багатьох авторів [9, 14, 16—18], в яких були використані методи авторадіографії, електронної мікроскопії і біохімії. За цими даними, радіоактивність виявляється передусім в гіалоплазмі. Тут, як вважають автори, за участю вільних рибосом, що мають РНК, відбуваються найважливіші процеси синтезу ензиму або його попередників. Через 4—10 хв радіоактивність виявляється на поверхні або в середині рибосом, а також і на мембранах ендоплазматичної гранулярної сітки. Первинний секреторний продукт, синтезований на рибосомах, проникає в порожнину каналців ендоплазматичної сітки і тут накопичується. Потім відбувається відшнування частини ендоплазматичних каналців в цитоплазму у вигляді сферичних тілець, які в міру віддалення від місця відшнування збільшуються, накопичуючи електроннощільну речовину, і стають гранулами, що мають у своєму складі ферменти. З наведених даних видно, що синтез білкового секрету підшлункової залози починається в гіалоплазмі і відбувається лише в цитоплазмі на рибосомах та в ендоплазматичних каналцях підшлункової залози. Основна роль у цьому синтезі належить РНК, що є на рибосомах, які оточують каналці і сферичні тілця.

Дальші дослідження були спрямовані на вивчення кількісних змін РНК в цитоплазмі клітини до і після секреції, але це питання досі залишалось нерозв'язаним. Водночас, в літературі є немало даних про участь ядра в секретотворенні і перехід речовини ядра і ядерця в цитоплазму секреторних клітин [1, 3, 4—7, 11, 16]. Ряд авторів приходять до висновку, що утворення первинного секрету може відбуватись також у ядрі, а потім цей первинний секреторний продукт переходить у цитоплазму, де остаточно формується у вигляді секрету [1, 7].

Методика досліджень

Підшлункову залозу для дослідження брали від дорослих білих щурів вагою близько 200 г, яким вводили витяжку секретину в хвостову вену в кількості 0,2—0,3 мл. Секретин, точніше витяжку секретину, виготовляли за загальноприйнятими прописами [8]. Декапітація першої партії тварин проведена через 15—20 хв, а дру-

гої — через 30—35 хв після введення підшлункової залози були взяті в дошквареному буфері (рН 7,2) з додаванням розчину NaCl або сахарозі 0—4°С протягом 45—50 хв. Органи з різних концентрацій від 40% до метакрилатом у відношенні 8:1. У досліджували в електронному мікроскопі становило 3500—20000.

Резу

При електронномікроскопічному дослідженні підшлункової залози, що фіксували в організм витяжки секретину, чуючі його ділянки цитоплазми, завдяки дуже різній формі, різної величини на його поверхні від ядер і знаходяться безпосередньо поділене на дві частини і о-



Рис. 1. Утворення ядерної оболонки

ції. Характерно, що зернистість спрямовується до осередку різної величини і формувана мембранами ядерної оболонки на вигляд, як і в нуклеоплазмі видно пунктирні лінії, у зернистості. В цитоплазмі зернистості.

У підшлунковій залозі цитоплазма ядра секреторних клітин того ж типу, як і біля ядерця, оточеною ядерною оболонкою і розміщена в місцях поздовжня вісь зере-

гої — через 30—35 хв після введення витяжки секретину. Зразу ж шматочки підшлункової залози були взяті в дослід і зафіксовані 2%-ним розчином OSO_4 на ацетатверналовому буфері (рН 7,2—7,4). Ізотонічність фіксуєчого розчину досягали додаванням розчину NaCl або сахарози [10]. Фіксування провадилося при температурі 0—4°С протягом 45—50 хв. Матеріал збезводнювався етиловим спиртом зростаючих концентрацій від 40% до абсолютного. Шматочки залози заливали бутілметакрилатом у відношенні 8:1. Ультратонкі зрізи, виготовлені на мікротомі Reichert, досліджували в електронному мікроскопі ІЕМ-7. Електронномікроскопічне збільшення становило 3500—20000.

УДК 616.3

ДЖЕННЯ ГРАНУЛ ЗАЛОЗИ

ова

залозу вважають. ої діяльності клі- ту беруть участь. Вейса [21] пока- кової залози має були доповнені використані ме- мії. За цими да- оплазми. Тут, як ють РНК, відбу- ого попередників. рхні або в сере- нної гранулярної і на рибосомах, ітки і тут нако- ендоплазматич- дець, які в міру копичуючи елек- у своєму складі лкового секрету бувається лише альцях підшлун- РНК, що є на

кількісних змін це питання досі мало даних про дра і ядра в ад авторів при- може відбува- продукт пере- і секрету [1, 7].

ілих шурів вагою в кількості 0,2— агальноприйнятими 15—20 хв, а дру-

Результати досліджень

При електронномікроскопічному дослідженні ацинарних клітин підшлункової залози, що фіксувалась через 15—20 хв після введення в організм витяжки секретину, було добре видно ядро, ядро і оточуючі його ділянки цитоплазми. Звичайне ядро мало неправильну форму, завдяки дуже різних його конфігурацій і наявності випинів різної величини на його поверхні. Деякі з випинів відокремлюються від ядер і знаходяться безпосередньо в нуклеоплазмі. Частіше ядро поділене на дві частини і оточене щільним шаром зернистої субстан-

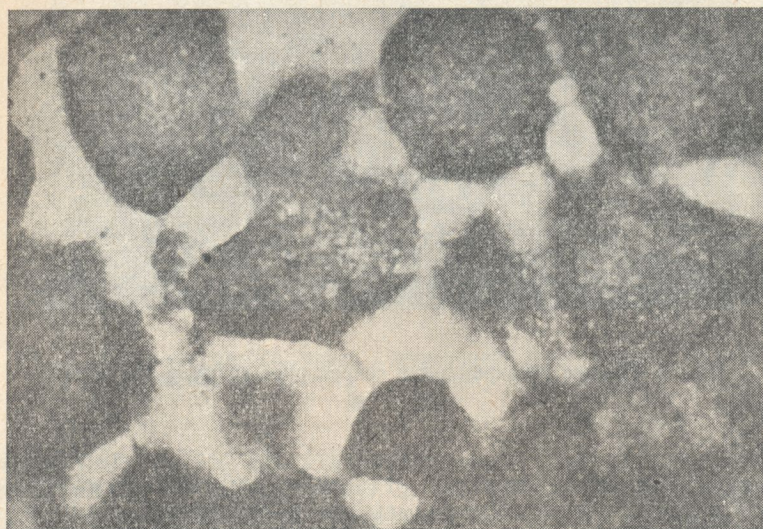


Рис. 1. Утворення секреторних гранул у вигляді випинів ядерної субстанції в цитоплазмі.

36. $\times 12800$.

ції. Характерно, що зерниста субстанція ядра відокремлюється і тяжами спрямовується до оболонки ядра, утворюючи під нею скупчення різної величини і форми. Іноді між зовнішньою і внутрішньою мембранами ядерної оболонки трапляються окремі дрібні зерна, такі ж на вигляд, як і в нуклеоплазмі. Від них у бік нуклеоплазми і цитоплазми видно пунктирні лінії, утворені відповідним розміщенням такої ж зернистості. В цитоплазмі також є велика кількість зазначеної зернистості.

У підшлунковій залозі тварин, забитих через 30—35 хв, нуклеоплазма ядра секреторних клітин заповнена дрібною зернистістю такого ж типу, як і біля ядра. Зернистість нуклеоплазми скупчена під ядерною оболонкою і розміщується тут по-різному (рис. 1). В одних місцях поздовжня вісь зерен спрямована приблизно перпендикулярно

до ядерної оболонки (ці місця більш ясні на фото), а друга — менша частина зернистості має вісь, спрямовану паралельно до поверхні оболонки ядра. Ці зерна прилягають одне до одного боковими поверхнями, приблизно так, як червонокривці в кровоносних капілярах, і виглядають більш темними широкими лініями. В цитоплазмі цієї клітини (рис. 1) є велика кількість секреторних гранул, частина яких ще не втратила зв'язку з ядром. Секреторні гранули в цитоплазмі складаються з дрібної зернистості. Характерною особливістю тут є зв'язок ядра з секреторними гранулами, що відокремлюються від нього. Одна з них (ліва, в центрі, рис. 1) зв'язана з ядром звуженою основою, а

мітних з'єднань між оболонкою гранули.

На рис. 3 наведена апікальна ацинарного відділу, секреторні гранули в цитоплазмі клітини в свою чергу з досить великою кількістю зерен ацинуса є лише зерна, що заповнюють цитоплазму ацинуса. Гранули мають форму сплюснених кулястих тіл, а ацинарну порожнину поодинокі

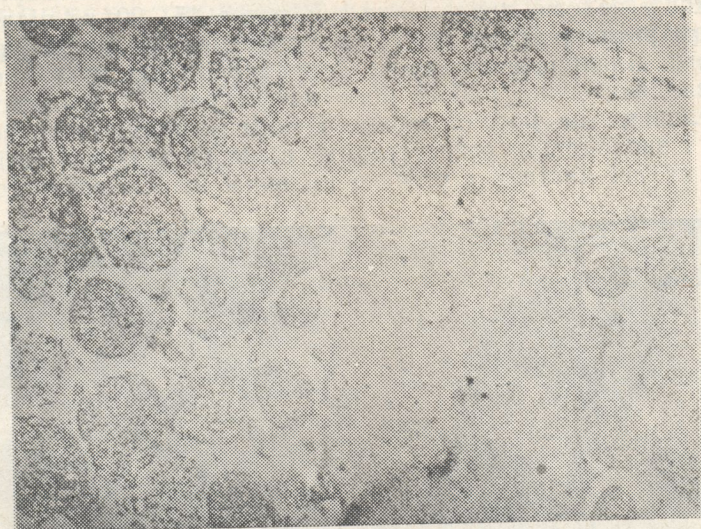


Рис. 2. Процес відокремлення секреторної гранули від ядра.
36. $\times 6500$.

друга, крайня права — широкою. Гранули, що відокремлюються від ядра, як і ті, що уже відокремились від нього, мають таку ж зернистість, що заповнює і нуклеоплазму ядра. Наші дослідження показують, що секреторні гранули не утворюються в ендоплазматичній ретикулярній сітці, як це вважають деякі дослідники [12]. Льове [13] вводив білим щурам актиноміцин С, внаслідок чого виникала фрагментація мембран ендоплазматичної ретикулярної сітки і злиття міжмембранних просторів. Незважаючи на це, всі ацинарні клітини мали нормально побудовані зимогенні гранули.

На рис. 2 можна бачити інший процес формування і відокремлення секреторної гранули. Тут спостерігається не тільки вип'ячування ядерної субстанції, але в основі її помітна ясна щілина, що відокремлює гранулу від ядра. Характерним тут є й те, що оболонка ядра не переривається, подовжується і з'єднана з боковими поверхнями цієї гранули. Такий процес утворення секреторних гранул у цей період трапляється дуже часто. Як видно з рис. 2, права поверхня ядра і верхній полюс його мають жолобкуваті вп'ячування. Відповідно до вп'ячувань і близько біля них розташовані секреторні гранули. Вп'ячування ці виникали внаслідок відшнуровування від ядра його субстанції, що утворила нову гранулу. Це доводиться наявністю слабких, ледве по-



Рис. 3. Вихід секреторної гранули з мембрани ядра.

зерна нагадують диски, що прилягають до оболонки ядра (рис. 1) і зерна нуклеоплазми. Зараз секреторна зернистість складається з дрібних зерен секреторної гранули.

Обговорення

Одержані результати дослідження секреторних клітин підшлункової залози свідчать про те, що секреторні гранули складаються з двох частин і оточені мембраною. Зовнішня частина цього кільця зернистість, що прилягає до оболонки ядра, скупчується в основі гранули. Задані Сікевітц і Паладе секреторні гранули складаються з двох частин і оточені мембраною. Задані Сікевітц і Паладе секреторні гранули складаються з двох частин і оточені мембраною. Задані Сікевітц і Паладе секреторні гранули складаються з двох частин і оточені мембраною.

уга — менша
поверхні обо-
ни поверхня-
рах, і вигля-
ції клітини
яких ще не
змі склада-
т є зв'язок
нього. Одна
основою, а

мітних з'єднань між оболонкою ядра і поверхнею відокремленої гранули.

На рис. 3 наведена апікальна частина ацинарної клітини і порожнина ацинарного відділу, куди виділяються секреторні зерна. Секреторні гранули в цитоплазмі клітин з'єднані перемичками і складаються в свою чергу з досить великої кількості дрібних зерен. В порожнині ацинуса є лише зерна, що входили до складу секреторних гранул, які заповнюють цитоплазму ацинарних клітин. Ці дрібні секреторні зерна мають форму сплюснених кульок (дисків) і виходять з цитоплазми в ацинарну порожнину поодиноці. Формою і розмірами ці секреторні

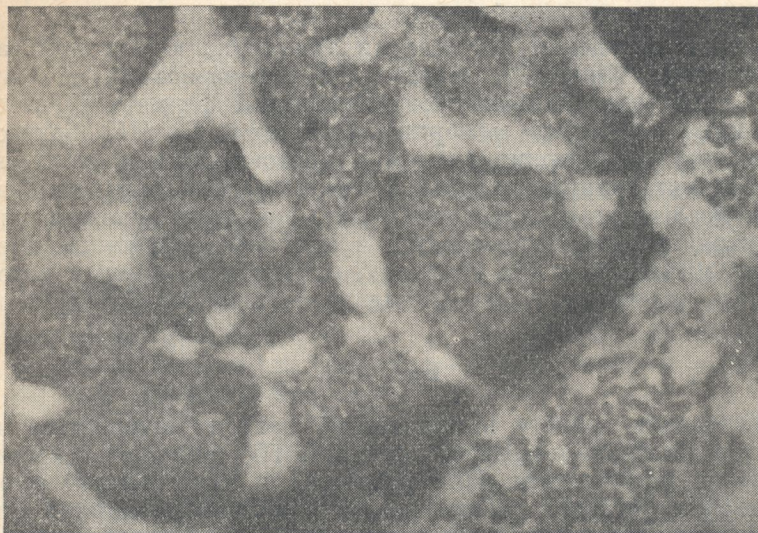


Рис. 3. Вихід секреторних зерен з секреторних гранул крізь апікальну мембрану клітини в ацинарну порожнину.

36. $\times 12800$.

зерна нагадують диски, що утворюють темні широкі лінії під оболонкою ядра (рис. 1) і зерна гранул в цитоплазмі. В ацинарній порожнині секреторна зернистість розміщується у вигляді пухких кругів. Кількість дрібних зерен секрету тут досить велика.

Обговорення результатів досліджень

Одержані результати свідчать про те, що під час секреції в ацинарних клітинах підшлункової залози ядерце здебільшого поділене на дві частини і оточене щільним кільцем осмофільної зернистості. Від цього кільця зернистість окремими потоками спрямовується до оболонки ядра, скупчується тут і частково проникає в цитоплазму. За даними Сікевітц і Паладе [18] та інших авторів, секрет підшлункової залози синтезується на рибосомах тільки при наявності на них РНК, що утворюється в ядрі. Перші сліди включення мічених попередників РНК спостерігаються в ядерці, і тільки через деякий час мітка з'являється в цитоплазмі [20]. В наших дослідях через 30—35 хв після введення секретину зернистість (характеру приядерцевої) заповнює щільною масою всю нуклеоплазму до самої оболонки. В цитоплазмі знаходиться така велика кількість секреторних гранул різної величини і форми, контакт яких з апаратом Гольджі спостерігати не вдалося. Але

наші дані переконливо свідчать, що процес утворення зерен секрету починається в ядрі. Мабуть, важлива роль у цьому належить поверхні ядерця або навколядерцевій субстанції. Під впливом секретину на поверхні ядра утворюється значна кількість випинів, які відшнуровуються від нього і стають секреторними гранулами в цитоплазмі. Подібний процес утворення секреторних гранул на поверхні ядра клітин підшлункової залози спостерігав Кларк [11]. Отже, субстанція ядра є основним джерелом утворення секреторних гранул, але спосіб утворення їх, напевне, залежить від стану організму, від його реактивності та інших причин. Можливо, що при дії секретину первинні секреторні зерна в ядрі не встигають перейти в цитоплазму крізь ядерну оболонку, і тому виникає описаний процес.

Механізм виведення секретину з ацинарних клітин досі залишається невідомим. Хірш [12] вважає, що від нервового, або хімічного імпульсу секреторні гранули розчиняються, і фермент їх виходить з клітини крізь апікальну мембрану. Полікар і Бо [15] підкреслюють, що виведення секреторних гранул в протоки неможливе. Тільки активний продукт гранул виходить з цитоплазми в секреторні каналці. В наших дослідженнях добре видно, що секреторні гранули цитоплазми не виходять самі безпосередньо в ацинарну порожнину, але дрібні зерна, що містяться в цих гранулах, виходять поодиночці з цитоплазми в ацинарну порожнину крізь апікальну частину мембрани клітини.

Висновки

1. Утворення секрету підшлункової залози починається в ядрі, особливо в навколядерцевому просторі. Під впливом секретину цей процес різко посилюється. Нагромаджена в нуклеоплазмі зернистість випинається в багатьох місцях разом з оболонкою ядра в бік цитоплазми і, відокремлюючись від нього, утворює секреторні гранули, що переходять в цитоплазму.

2. Секреторні гранули підшлункової залози складаються з великої кількості дрібних зерен сплющено-шаровидної форми, які в складі гранул рухаються в бік апікального кінця клітини і, досягнувши його мембрани, виходять поодиночці крізь мембрану в ацинарну порожнину.

Література

1. Бродский В. Я.— ДАН СССР, 1964, 157, 171.
2. (Лавдовский М.) Lawdovski M.— Arch. mikr. Anat., 1877, 13, 281.
3. Поленов А. Л.— В сб.: Нейросекреторные элементы и их значение в организме, М.— Л., 1964, 6.
4. Шубникова Е. А.— Гистол. и цитохим. исслед. шелкоотделительных желез китайского дубового шелкопряда, Автореф. канд. дисс., М., 1952.
5. Шубникова Е. А.— Успехи совр. биол., 1954, 38, 57.
6. Шубникова Е. А.— Секреторная клетка, М., 1961.
7. Шубникова Е. А.— Руководство по цитологии, М.— Л., 1966, 2, 91.
8. Ярослав С. Ю.— Практикум з фізіол. людини і тварин, К., 1957.
9. Caro H., Palade G.— J. Cell. biol., 1957, 20, 473.
10. Caulfield I.— J. Biophys. Biochem. Cytol., 1957, 3, 827.
11. Clark W.— J. Biophys. Biochem. Cytol., 1960, 7, 345.
12. Hirsch G.— In: Biol. structure and function. London—N. Y., 1961, 155.
13. Löwe H.— Acta biol. et med. Germ., 1968, 20, 5, 655.
14. Palade G.— In: Electron microscopy in anatomy. London, 1961.
15. (Policard A., Boud C.) Поликар А., Бо Ш.— Субмикроскопические структуры клеток и тканей в норме и патологии. Медгиз, Л., 1962.
16. Sengun A.— Semaine hopitaux Paris. Pathol. et Biol., 1962, 10, 1701.
17. Siekewitz P.— Exper. Cell. Res., Suppl., 1959, 7, 90.
18. Siekewitz P., Palade G.— J. Biophys. Biochem. Cytol., 1958, 4, 203.

19. Siekewitz P., Palade G.— J. Cell. Biol., 1958, 1, 1.
20. Sirlin J., Kato K.— Exper. Cell. Res., 1959, 1, 1.
21. Weis J.— J. Exper. Med., 1958, 110, 1.

ELECTRON-MICROSCOPIC STUDY OF SECRETORY GRANULES IN THE PANCREAS

M. I. Shulga,

Institute of

The formation of pancreas nucleolus. Gradually the quantity of nucleolus increases and occupies the whole nucleoplasmic space. It can be observed that the nucleolus has a structure but of finer dimensions. Some of the nucleolus protrude from the membrane to the cytoplasm side by their basis narrowing or by their apical protrusion. Such protrusions are formed by a greater amount of fine granular material. The nucleolus moves to the side of apical end of the cell and passes through the membrane into the

19. Siekewitz P., Palade G.—J. Biophys. Biochem. Cytol., 1960, 7, 631.
20. Sirlin J., Kato K.—Exper. Cell. Res., 1962, 27, 355.
21. Weis J.—J. Exper. Med., 1953, 98, 607.

Надійшла до редакції
22.IV 1971 р.

ELECTRON-MICROSCOPIC STUDY OF THE FORMATION PROCESS OF SECRETORY GRAINS OF PANCREAS EXTERNAL SECRETION UNDER EFFECT OF SECRETIN

M. I. Shulga, P. G. Bogach, V. Yu. Sokolova

Institute of Physiology, State University, Kiev

Summary

The formation of pancreas secret begins in nucleus or rather in the domain of nucleolus. Gradually the quantity of granularity near the nucleolus increases and it occupies the whole nucleoplasm locating under nucleus membrane by separate accumulations. It can be observed that granularity possesses the form of mammal erythrocytes but of finer dimensions. Some accumulations of these granularity protrude the nucleus membrane to the cytoplasm side. These protrusions begin separate from the nucleus by their basis narrowing or by appearance of slit among granularity near the protrusion basis. Such protrusions are transformed into grains. Secretory grains consist of greater amount of fine granularity of diskoid form, which in the composition of grains move to the side of apical end of cell and reaching its membrane go out by one through the membrane into acinar cavity.