

Иммуногистохимическое исследование наиболее крупных островков поджелудочной железы человека при старении и при сахарном диабете 1 и 2 типов, перспективы для трансплантации

Прощина А.Е., Кривова Ю.С., Барабанов В.М., Савельев С.В.

ФБГУ НИИ морфологии человека, Москва
(директор — член-корр. РАМН Л.В. Кактурский)

Цель. Изучить распределение и клеточную архитектуру наиболее крупных панкреатических островков человека (диаметром больше 200 мкм) в процессе старения и при сахарном диабете 1 и 2 типов.

Материалы и методы. Иммуногистохимическими методами при помощи антител к инсулину, глюкагону, соматостатину и нейронспецифической енолазе (НСЕ) были исследованы образцы аутопсийной ткани поджелудочной железы лиц с сахарным диабетом 1 типа (СД1) и 2 типа (СД2), а также — 2 возрастных групп (лиц до и после 50 лет), не страдавших заболеваниями поджелудочной железы и нарушениями углеводного обмена.

Результаты. Количество островков диаметром больше 200 мкм возрастает как при старении, так и при сахарном диабете обоих типов. Их число достигает в некоторых случаях 15% (и выше в случаях СД) от общего количества островков. Эти островки по сравнению с другими наиболее хорошо васкуляризованы. Глюкагон- и соматостатинсодержащие клетки обнаруживаются в таких островках как на периферии, так и внутри них в непосредственной близости от капилляров, образуя в некоторых случаях «барьер» между ними и инсулинсодержащими клетками. Часто количество глюкагонсодержащих клеток в таких островках повышено, а инсулинсодержащие клетки обнаруживают признаки деструкции.

Заключение. Наиболее крупные островки поджелудочной железы могут не подходить для трансплантации, ввиду высокой степени васкуляризации, повышенного содержания в них глюкагонсодержащих клеток, и, в ряде случаев, ограниченной функциональности инсулинсодержащих клеток.

Ключевые слова: островки; сахарный диабет; старение; инсулин; глюкагон; соматостатин; нейронспецифическая енолаза; НСЕ; трансплантация

Immunohistochemical study of the largest islets of human pancreas in aging and diabetes mellitus: perspectives for the transplantation

Proshchina A.E., Barabanov V.M., Krivova Yu.S., Savelyev S.V.

FBGI SRI of Human Morphology, Moscow, Russian Federation

Aim. To study the distribution and cellular architecture of the largest human pancreatic islets (with a diameter of more than 200 micron) in aging and diabetes mellitus types 1 and 2.

Materials and methods. Antibodies to insulin, glucagon, somatostatin and neuron-specific enolase were applied. The autopsy samples of the pancreatic tissue of patients with diabetes mellitus type 1 (DMT1) and type 2 (DMT2) and 2 age groups (up to 50 years old (control) and after 50 (aging control)), not suffering from diseases of the pancreas and carbohydrate metabolism malfunction were investigated.

Results. The number of islets with diameter more than 200 mkm compared to control group increased both in aging and diabetes groups. Their number reaches in some cases 15% (and higher in DM) of the total number of islets. These islets compared to the other are rich-vascularized. It was shown that glucagon and somatostatin-containing cells are found both on the periphery of the large islets, and inside them only in the immediate proximity of the capillaries. Insulin-containing cells form clusters, surrounded by the capillaries and the α - and δ -cells, while the inner part of such clusters has no direct contact with the capillaries. In the large islets the number of glucagon-containing cells is often increased, and insulin-containing cells show signs of degradation.

Conclusion. The largest of the pancreatic islets may be useless for the transplantation, because of the high content of glucagon-containing cells, the rich vascularization and, in some cases, the limited functionality of β -cells.

Key words: islets; diabetes mellitus; aging; insulin; glucagon; somatostatin; neuron-specific enolase; NSE; transplantation

DOI: 10.14341/DM2013438-43

Сахарный диабет (СД) является одним из самых распространенных заболеваний в мире. Эффективный контроль течения этого заболевания может свести до минимума или предотвратить многие его осложнения. Однако инсулиновая терапия не вылечивает СД, а лишь восполняет дефицит гормона, сохраняя пациенту жизнь. При этом достаточно высоким остается риск развития вторичных осложнений, таких как ангиопатия, нейропатия, нефро- и ретинопатия [1, 2]. Поэтому сейчас ведется разработка методов лечения СД при помощи пересадки поджелудочной железы (ПЖ), островков или β -клеток островков поджелудочной железы или конструкций, функционирующих на принципах гормональной регуляции углеводного обмена [3].

С 1999 г. по настоящее время были достигнуты определенные успехи в области трансплантации свежесодержимых островков ПЖ: после их введения пациенты перестают нуждаться в инсулине. Однако этот результат сохранялся по истечении 1 года только у 44% пациентов, а в течение 5 лет – меньше чем у 10% [2]. Причины потери трансплантантом своих функций изучены недостаточно. При этом данные о клеточной архитектуре островков во многом противоречивы [4–7], а динамика возрастных морфологических изменений эндокринной части ПЖ до сих пор изучена недостаточно [8].

Целью нашей работы было сравнительное исследование морфологических и иммуногистохимических изменений в распределении и клеточном составе островков ПЖ у здоровых лиц разных возрастных групп, а также у пациентов с СД1 и СД2. Особое внимание мы уделили наиболее крупным островкам ПЖ (диаметр больше 200 мкм).

Материалы и методы

В работе был использован аутопсийный материал, собранный в 2007–2012 гг. в больницах г. Москвы

и из коллекции лаборатории развития нервной системы ФГБУ НИИ морфологии человека РАМН. Нами были исследованы образцы ткани ПЖ четырех лиц, страдавших, по данным клинического диагноза, СД1 (возраст от 27 до 41 года, средний возраст – 37,5), и 16 лиц – с диагнозом СД2 (возраст от 52 до 82 лет, средний возраст – 69,4). В качестве контроля мы исследовали ткань ПЖ людей, не страдавших нарушениями углеводного обмена. Разница в возрасте в группах наблюдений с СД неизбежна, поскольку СД2 чаще диагностируется в пожилом и старческом возрасте, в то время как СД1 более характерен для лиц молодого возраста [8]. Для учета этих изменений мы разделили материал в контроле на 2 группы: лица до 50 лет – 7 случаев (от 24 до 50 лет, средний возраст – 38) и лица старше 50 лет – 14 случаев (от 50 до 85 лет, средний возраст – 71 год). Работа была одобрена локальным этическим комитетом.

Образцы ткани брали из хвостового отдела ПЖ. Материал был зафиксирован в 10% кислом формалине, нейтральном формалине (4% параформальдегид на 0,1М фосфатном буфере, pH 7,5) или жидкости Буэна, обезвожен в спиртах восходящей концентрации и диоксане и залит в парафин. Для всех образцов ткани ПЖ готовили серийные срезы, толщиной 5 или 10 мкм. На серийных срезах было проведено двойное иммуногистохимическое окрашивание в реакциях на инсулин (мышинные моноклональные антитела, ThermoScientific, 1:400, кроличьи поликлональные антитела, Santa Cruz, 1:1000), глюкагон (кроличьи поликлональные антитела, ThermoScientific, 1:100), соматостатин (кроличьи поликлональные антитела, ThermoScientific, 1:100) и НСЕ (мышинные моноклональные антитела, клон А27, ThermoScientific, 1:200) во всех возможных сочетаниях. Для выявления указанных антигенов использована система детекции MultiVision Polymer Detection System: MultiVision anti-rabbit/HRP + anti-mouse/AP polymers (ThermoScientific). Полученные препараты оценивали визуально с помощью микроскопа

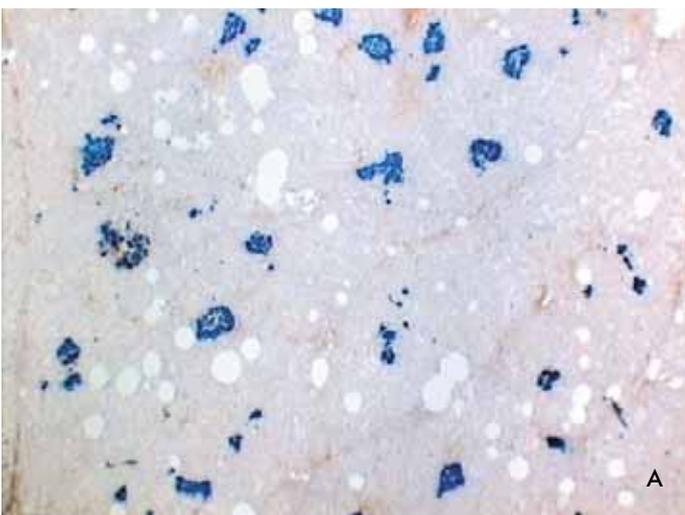


Рис. 1. А. Различные типы островков в ПЖ (м., 60 лет, контроль), двойная окраска на инсулин (синий) и глюкагон (красный), увеличение объектива $\times 4$.

Б. Крупный островок Лангерганса при СД1 (м., 41 год), реакция на инсулин отсутствует, двойная окраска на инсулин (синий) и глюкагон (красный), увеличение объектива $\times 40$.

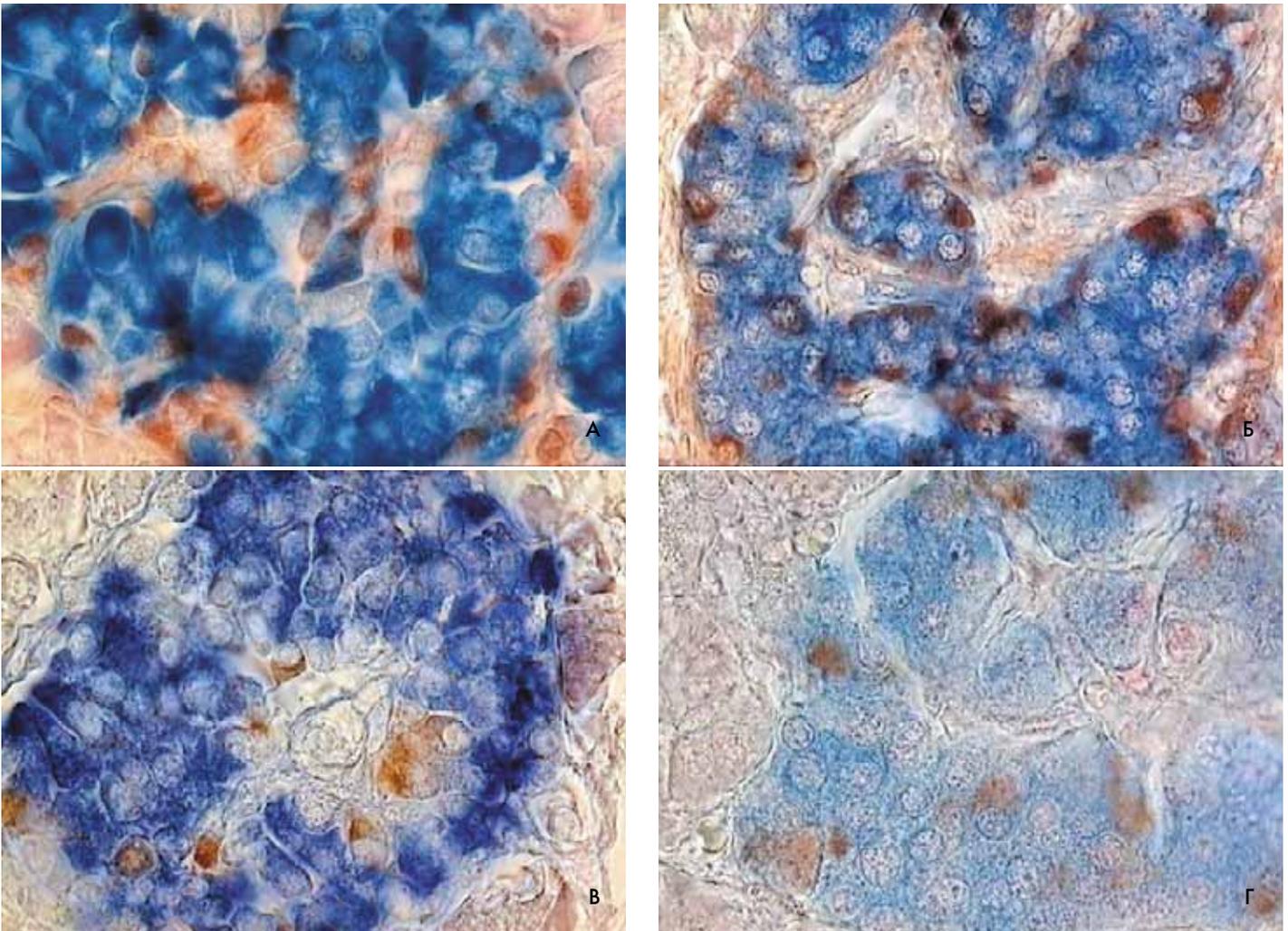


Рис. 2. А. фрагмент большого островка ПЖ (м., 60 лет, контроль), двойная окраска на инсулин (синий) и глюкагон (красный), увеличение объектива $\times 100$.
 Б. фрагмент большого островка ПЖ (м., 62 года, контроль), двойная окраска на НСЕ (синий) и глюкагон (красный), увеличение объектива $\times 100$.
 В. фрагмент большого островка ПЖ (м., 76 лет, СД2), двойная окраска на инсулин (синий) и соматостатин (красный), увеличение объектива $\times 100$.
 Г. фрагмент большого островка ПЖ (ж., 69 лет, СД2), двойная окраска на НСЕ (синий) и глюкагон (красный), увеличение объектива $\times 100$.

Leica DMLS. Видеозахват осуществлялся с помощью камеры Sony SSC–DC50P. Проводили оценку количественных параметров: общее число островков (больше 20 мкм в диаметре) и крупных островков (больше 200 мкм) в кадре ($\sim 2 \times 3$ мм²). Количество островков в кадре определялось в каждом случае визуально при увеличении объектива $\times 4$ в 5 произвольных полях зрения, затем вычислялось среднее. Кроме этого вычислялся индекс больших островков как соотношение их числа к общему количеству островков в кадре. Диаметр островков измерялся в программе NIH ImageJ 1.43u. Статистические расчеты производились по критерию Манна–Уитни при помощи программы Statistica 6.

Результаты

В обеих контрольных группах реакция на все 4 использованных антитела была положительной. На срезах

были выявлены разные типы распределения эндокринных клеток в ткани ПЖ (рис. 1А): от единичных гормоносодержащих клеток и их небольших кластеров до островков диаметром свыше 100 мкм. При СД2 реакция была сходной. При СД1 в 2 случаях наблюдалась преимущественно негативная реакция на инсулин. Нами были обнаружены лишь единичные инсулин-положительные клетки в протоковом эпителии и в ацинарной части. В этих случаях также отсутствовала и реакция на НСЕ. При этом на срезах при помощи реакций на глюкагон выявлялись преимущественно крупные островки (рис. 1Б). В остальных 2 описываемых случаях реакция на все 4 маркера была положительной, и выявлялись все типы распределения эндокринных клеток.

Основным объектом нашего исследования стали островки диаметром свыше 200 мкм. Как правило, эти островки были пронизаны наибольшим количеством капилляров. В контрольных группах и при СД2

Таблица 1

Количество крупных островков в кадре в срезах ПЖ человека (среднее±стандартное отклонение). Увеличение объекта х4				
	Контроль, лица до 50 лет	Контроль, лица старше 50 лет	СД1	СД2
Количество крупных островков в кадре	0,8±0,5	2,5±1,7	1,4±0,7	2,7±1,9
Индекс больших островков	0,06±0,05	0,07±0,05	0,15±0,07	0,11±0,08

в этих островках были обнаружены инсулин, глюкагон и соматостатинсодержащие клетки. Глюкагонсодержащие клетки обнаруживались как на периферии таких островков, так и в их центральной части в непосредственной близости от капилляров (рис. 2А, Б). Соматостатинсодержащих клеток по сравнению с глюкагонсодержащими было обнаружено меньше. Однако δ -клетки тоже всегда обнаруживались в тесном соседстве с капилляром (рис. 2В, Г). В крупных островках инсулинсодержащие клетки образовывали кластеры или тяжи в 2–3 клетки шириной, окруженные со всех сторон капиллярами с соседствующими с ними α - и δ -клетками. Внутри этих скоплений β -клеток капилляры не обнаружены (рис. 2А, В). В ряде случаев в таких островках обнаружены признаки деструкции β -клеток: крупные ядра, пикноз и лизис ядер, крупные вакуоли в цитоплазме. Иммуноположительная реакция на НСЕ наблюдалась в группах контроля и при СД2 во всех трех типах исследованных гормонсодержащих клеток (рис. 2Б, Г). Однако в ряде эндокринных клеток иммуноположительная окраска на этот фермент не выявлялась, а в ряде крупных островков реакция была снижена.

При подсчете количества крупных островков в кадре было выявлено достоверное увеличение ($U<0,05$) количества островков в группе лиц старше 50 лет по сравнению с группой моложе 50 лет. При этом значимых отличий в группах с СД по сравнению с возрастным контролем обнаружено не было (табл. 1). При вычислении индекса больших островков было выявлено достоверное увеличение их относительного числа ($U<0,05$) в группе с СД1 по сравнению с людьми в возрасте до 50 лет, которые не страдали заболеваниями поджелудочной железы. В ряде случаев СД крупные островки составляли до 30% всех островков. В обеих группах контроля это соотношение было не больше 17%.

Обсуждение

В настоящее время считается, что у человека не наблюдается четкой анатомической организации островков ПЖ [4, 5, 7], то есть α -, β - и δ -клетки рассеяны в островках без определенных закономерностей [10]. Многие из работ авторов, описывающих такое строение, проведены на свежeweделенных островках из донорских ПЖ [5, 7]. Однако другие авторы [6, 11, 12] считают, что в ПЖ человека можно выделить сразу несколько

основных типов организации эндокринной части: единичные клетки, небольшие кластеры инсулинсодержащих клеток, небольшие островки (диаметр до 100 мкм) и крупные островки (диаметр свыше 100 мкм). При этом крупные островки отличаются по своему строению от небольших островков. Различия при описании строения островков человека могут быть связаны с тем, что при исследовании свежeweделенных островков Лангерганса выявляются в основном крупные.

В нашей работе были выявлены все перечисленные типы островков. В небольших островках (40–100 мкм в диаметре) инсулинсодержащие клетки обнаруживаются в центре, а глюкагон- и соматостатинсодержащие на периферии, т.е. похожи на островки грызунов. На периферии таких островков обычно можно выявить капилляры, однако внутри таких островков сосуды или не обнаруживаются, или можно выявить только один капилляр, как описано в работе [11]. Островки диаметром свыше 100 мкм гораздо больше васкуляризированы, а соматостатин- и глюкагонсодержащие клетки обнаруживаются по ходу сосудов. В самых крупных островках в ряде случаев α -клетки формируют барьер между капиллярами и β -клетками и образуют трехслойную структуру, описанную в работе [6]. Таким образом, повышенное соотношение числа α -клеток с β -клетками в островках человека, по сравнению с островками у мыши [4, 10], также может быть связано с исследованием преимущественно крупных островков ПЖ человека, в которых количество α -клеток повышено, и в некоторых случаях даже может превышать количество β -клеток.

Описанные выше типы организации эндокринной части встречались нам во всех исследованных группах, кроме 2 случаев тяжелого СД1, при котором полностью отсутствовала реакция на инсулин в островках. Считается, что СД1 возникает в результате избирательного разрушения β -клеток [13]. Количество островков в поле зрения при СД1 достоверно уменьшается по сравнению со всеми остальными группами (в том числе и с СД2) [14]. При этом достоверно увеличивается соотношение числа самых крупных островков к общему числу. Эти данные представляют определенный интерес, так как по данным большинства литературных источников, при СД1 уменьшается в первую очередь количество β -клеток, при сохраненном числе клеток, синтезирующих глюкагон.

Для СД2 наиболее характерным является накопление жировой ткани в ПЖ и амилоида в островках Лангерганса. Частой находкой являются и склеротические изменения ткани ПЖ [14]. Нами было выявлено, что при СД2 общее число островков достоверно возросло по сравнению с контрольной группой до 50 лет. При этом индекс крупных островков соответствовал возрастному контролю. Некоторые исследователи связывают развитие СД2 со снижением количества β -клеток [15], при этом приводятся данные об уменьшении размеров островков Лангерганса и массы β -клеток на 40–60% от нормы. Однако в нашей работе [14] не было выявлено снижения количества инсулин- и глюкагонпозитивных клеток при сравнении СД2 с возрастным контролем,

а по сравнению с более молодыми было выявлено увеличение количества эндокринных клеток в 1,5–5 раз, пропорционально увеличивающемуся числу островков и увеличению их размера. В ряде работ по изучению развития СД2 встречаются предположения о возможном компенсаторном увеличении количества β -клеток в ответ на повышенный уровень глюкозы, однако механизм этой адаптации до сих пор остается неизученным, хотя и представляющим огромный интерес [9, 16].

В нашем исследовании было также показано, что у людей старше 50 лет количество островков возрастает по сравнению с людьми более молодого возраста. Однако нами было установлено, что при этом возрастает и количество крупных островков. В отдельных случаях число островков диаметром больше 200 мкм может достигать 17% от общего количества островков. Наши данные подтверждают результаты, полученные Кронродом [17]. По данным этого исследования, у пожилых людей по мере старения организма происходит значительный рост количества островков и увеличение их диаметра. Возрастание количества крупных островков в процессе старения может приводить к изменению соотношения α - и β -клеток, в сторону увеличения числа глюкагонсодержащих клеток, что также подтверждается данными литературы [17]. Однако эти данные не помогают объяснить причины увеличения количества случаев СД2 в старческом возрасте, так как количество островков в группе контроля старше 50 лет и при СД2 между собой значимо не различается.

Кроме этого, нами было проведено исследование распределения в α -, β - и δ -клетках гликолитического фермента нейронспецифической енолазы (НСЕ, 2-фосфо-Д-глицерат гидролазы). Гликолиз является основным путем утилизации глюкозы в тканях животных и человека. В то же время НСЕ является маркером функциональной активности клеток [18]. В нашем исследовании НСЕ обнаруживала ко-локализацию в клетках

со всеми тремя типами исследованных гормонов. Однако в части клеток мы обнаруживали иммунонегативную реакцию на НСЕ, что может свидетельствовать о разной степени функциональной нагрузки клеток в островках. Кроме этого в ряде крупных островков реакция на НСЕ была снижена, что обычно совпадало с обнаружением в этих островках признаков деструкции гормонпродуцирующих клеток. Это соответствует тому, что НСЕ не синтезируется в островках Лангерганса при тяжелых случаях СД1, в которых не обнаруживаются β -клетки [19].

В свете полученных данных можно предположить, что при старении и при СД обоих типов происходит нарушение морфогенеза островков Лангерганса, что приводит к увеличению числа крупных островков с повышенным количеством глюкагонсодержащих клеток. Причины такой гиперплазии островков требуют дальнейшего изучения.

Кроме этого, по нашему мнению, при выделении островков ПЖ человека для проведения трансплантаций лицам, страдающим СД, нужно, в первую очередь, отсортировать островки по размеру. Наиболее крупные островки ПЖ могут не подходить для трансплантации ввиду высокого содержания в них глюкагонсодержащих клеток, высокой степени васкуляризации и, в ряде случаев, ограниченной функциональности β -клеток. Такое повышение требований к донорским тканям может привести, с одной стороны, к существенному увеличению срока жизни трансплантата. С другой стороны, это повышает и трудоемкость данной операции, так как для единовременной пересадки требуется не менее 1 000 000 островков, которые должны быть получены в течение ограниченного времени и пересажены больному [3].

Исследование поддержано специализированным фондом управления целевым капиталом для поддержки научно-исследовательских работ в области биологии и медицины «Фундаментальный».

Список литературы

- Jahansouz C, Jahansouz C, Kumer SC, Brayman KL. Evolution of β -Cell Replacement Therapy in Diabetes Mellitus: Islet Cell Transplantation. *Journal of Transplantation*. 2011;2011:247959. doi:10.1155/2011/247959
- Wang P, Medarova ZA. Moore Molecular Imaging: A Promising Tool to Monitor Islet Transplantation. *Journal of Transplantation*. 2011;2011:202915. doi:10.1155/2011/202915
- Дедов ИИ, Балаболкин МИ, Клебанова ЕМ. Современные аспекты трансплантации островков поджелудочной железы при сахарном диабете. *Сахарный диабет*. 2004;(2):34–41. [Dedov I, Balabolkin M, Klebanova E. Sovremennye aspekty transplantatsii ostrovkov podzheludochnoy zhelezy pri sakharnom diabete. *Diabetes mellitus*. 2004;(2):34–41. doi: 10.14341/2072-0351-5607]
- Cabrera O, Berman DM, Kenyon NS, Ricordi C, Berggren PO, Caicedo A. The unique cytoarchitecture of human pancreatic islets has implications for islet cell function. *PNAS*. 2006;103(7):2334–2339.
- Brissova M, Flower MJ, Nicholson WE, Chu A, Hirshberg B, Harlan DM, Powers AC. Assessment of human pancreatic islet architecture and composition by laser scanning confocal microscopy. *J. Histochem. Cytochem*. 2005;53(9):1087–1097.
- Bosco D, Armanet M, Morel Ph, Niclauss N, Sgroi A, Muller YD, Giovannoni L, Parnaud G, Berney T. Unique Arrangement of α - and β -Cells in Human Islets of Langerhans. *Diabetes*. 2010;59:1202–1210.
- Pisania A, Weir GC, O'Neil JJ, Omer A, Tchipashvili V, Lei J, Colton CK, Bonner-Weir S. Quantitative analysis of cell composition and purity of human pancreatic islet preparations. *Lab Invest*. 2010;90(11):1661–1675. doi:10.1038/labinvest.2010.124
- Reers Chr, Erbel S, Esposito I, Schmied B, Büchler MW, Nawroth PP, Ritzel RA. Impaired islet turnover in human donor pancreata with aging. *European Journal of Endocrinology*. 2009;160:185–191 doi: 10.1530/EJE-08-0596
- Assmann A, Hinault Ch, Kulkarni RN. Growth factor control of pancreatic islet regeneration and function. *Pediatr. Diabetes*. 2009 Feb;10(1):14–32.

10. Gromada J, Franklin I, Wollheim CB. α -Cells of the Endocrine Pancreas: 35 Years of Research but the Enigma Remains. *Endocrine Reviews*. 2007 Feb;28(1):84–116
11. Савельев СВ, Андреева ЕВ, Скалецкий НН, Скалецкая ГН, Барабанов ВМ, Фокин ЕИ. Иммуногистохимическое исследование регенерации островков поджелудочной железы человека при сахарном диабете. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2007;9(1):49–53. [Savelyev SV, Andreeva EV, Scalezky NN, Scalezkay GN, Barabanov VM, Fokyn EI. Immunohistochemical study of regeneration of human pancreatic islets at the diabetes mellitus. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2007;9(1):49–53].
12. Bouwens L, Pipeleers DG. Extra-insular beta cells associated with ductules are frequent in adult human pancreas. *Diabetologia*. 1998;4: 629–633.
13. Carlotti F, Zaldumbide A, Ellenbroek JH, Spijker HS, Hoenen RC, de Koning EJ. β -Cell Generation: Can Rodent Studies Be Translated to Humans? *Journal of Transplantation*. 2011;2011:892453. doi:10.1155/2011/892453
14. Прошина АЕ, Барабанов ВМ, Кривова ЮС, Савельев СВ. Структурные и иммуногистохимические изменения поджелудочной железы человека, возникающие при старении и в результате сахарного диабета. Морфологические ведомости. 2011;(2):56–62. [Proshchina AE, Barabanov VM, Krivova YuS, Savelyev SV. Structure and immunohistochemical changes of human pancreas in aging and diabetes mellitus. *Morphological newsletter*. 2011;(2):56–62].
15. Scheen A. J. Diabetes mellitus in the elderly: insulin resistance and/or impaired insulin secretion. *Diabetes & Metabolism*. 2005;31(2): 27–34
16. Back SH, Kang SW, Han J, Chung HT. Endoplasmic Reticulum Stress in the β -Cell Pathogenesis of Type 2 Diabetes. *Experimental Diabetes Research*. 2012;2012:618396. doi:10.1155/2012/618396
17. Кронрод БА. К вопросу об изменениях поджелудочной железы у лиц пожилого возраста. Труды. 1962;(2):79–99. [Kronrod BA. K voprosu ob izmeneniyakh podzheludochnoy zhelezy u lits pozhilogo vozrasta. *Trudy*. 1962;(2):79–99].
18. Von Dorsche HH, Fält K, Hahn HJ, Reiher H. Neuron-specific enolase (NSE) as a neuroendocrine cell marker in the human fetal pancreas. *Acta Histochem*. 1989; 85(2):227–228.
19. Proshchina AE, Savelyev SV, Barabanov VM, Krivova YS. Immunoreactivity of neuron-specific enolase (NSE) in human pancreas in health and type 1 diabetes mellitus. *Bull. Exp. Biol. Med*. 2010;149(6):763–767.

Прошина Александра Евгеньевна

доцент, к.б.н., с.н.с., ФБГУ НИИ морфологии человека, Москва

E-mail: proshchina@mtu-net.ru

Кривова Юлия Сергеевна

к.б.н., н.с., ФБГУ НИИ морфологии человека, Москва

Барабанов Валерий Михайлович

к.б.н., в.н.с., ФБГУ НИИ морфологии человека, Москва

Савельев Сергей Вячеславович

проф., д.б.н., руководитель лаборатории развития нервной системы, ФБГУ НИИ морфологии человека, Москва