УДК 612.65/68

О.Г.Ніконенко

Особливості росту печінкової паренхіми у пре- та постнатальному онтогенезі морської свинки

Методами морфометрического и стереологического анализа исследовали динамику развития паренхимы печени в пренатальном и постнатальном периодах развития морской свинки. Полученные результаты позволяют заключить, что рост паренхимы печени в пренатальный период осуществляется за счет активной пролиферации прегепатоцитов, при сохранении практически неизменными их размеров. В постнатальном онтогенезе, напротив, основным фактором, который определяет рост паренхимы печени, становится гипертрофия гепатоцитов. Специфика механизма роста паренхимы в пренатальный период, возможно связана с тем, что стабильность геометричних параметров «кроветворной стромы» печени эмбриона является важным условием реализации ее гемопоэтической активности.

Вступ

Фундаментальними характеристиками клітин є їх розміри та розміри їх компонентів. У сукупності вони відіграють роль універсального масштабу, в залежності від якого змінюються властивості та функції клітин. Дефінітивна печінка – сама велика залоза організму ссавців, яка функціонує як орган зовнішньої і частково внутрішньої секреції. Функція печінки при переході від пренатального до постнатального періоду розвитку тварини змінюється. Ця зміна пов'язана, головним чином, з початком процесу перетравлювання їжі. Гемопоетична функція, яка властива печінці ембріону ссавців, при переході до постнатального розвитку згасає [1, 5]. Цей процес пов'язаний з істотними змінами у структурі печінкової паренхіми, які нині вивчені ще недостатньо. Дослідженню динаміки подібних змін присвячено нашу роботу.

Методика

Дослідження проведено на 20-, 30-, 40-, 50-, 60-добових ембріонах, а також на 10-, 30- і 300-добових особинах безпородної морської свинки. Першою добою розвитку ембріону вважали добу, наступну за такою результативного спарювання. Шматочки крайової зони лівої долі печінки 3—5-ти особин кожної вікової групи фіксували у 2 %-му глютаральдегіді та 1 %-му фольмальдегіді на 0,1 моль/л какодилатному буфері (pH 7,4) з 0,1 моль/л сахарозою протягом 2 год при температурі 20 °С, а потім дофіксовували у 1 %-му O_sO_4 на буфері аналогічного складу протягом 1 год. Зразки тканини далі обезводнювали та заливали в епон за Luft [4]. Напівтонкі зрізи (1 мкм) фарбували метиленовим синім. Об'ємну долю (ОД) гепатоцитів визначали стереологічним методом [9], а площу перерізу (ПП) клітини та ядра, ядерно-плазматичне співвідношення (Я/П) клітин вимірювали за допомогою напівавтоматичного цитоаналізатора «Інтеграл 2 МТ». Статистичну обробку цифрових результатів провадили на IBM PS/2.

© О.Г.НІКОНЕНКО, 1995

Результати та їх обговорення

Для паренхіми печінки протягом значного проміжку пренатального та у постнатальному періодах розвитку характерна висока гетерогенність за клітинним складом [3, 6]. У ембріонів морської свинки тут присутні не тільки клітини власне печінкової паренхіми, що розвивається, але також і гемопоетичні клітини. На окремих етапах пренатального розвитку останні можуть становити до 50 % загального об'єму тканини [1]. Їх розвиток проходить у проміжках 3-вимірної сітки прегепатоцитів, яка виконує функцію строми кровотворного органа. Ендотеліоцити, що формують вистелення синусоїдних судин, та макрофаги (клітини Купфера), що виявляються у ембріонів починаючи з 30-добового віку, не відіграють значної ролі в утворенні кровотворної строми.

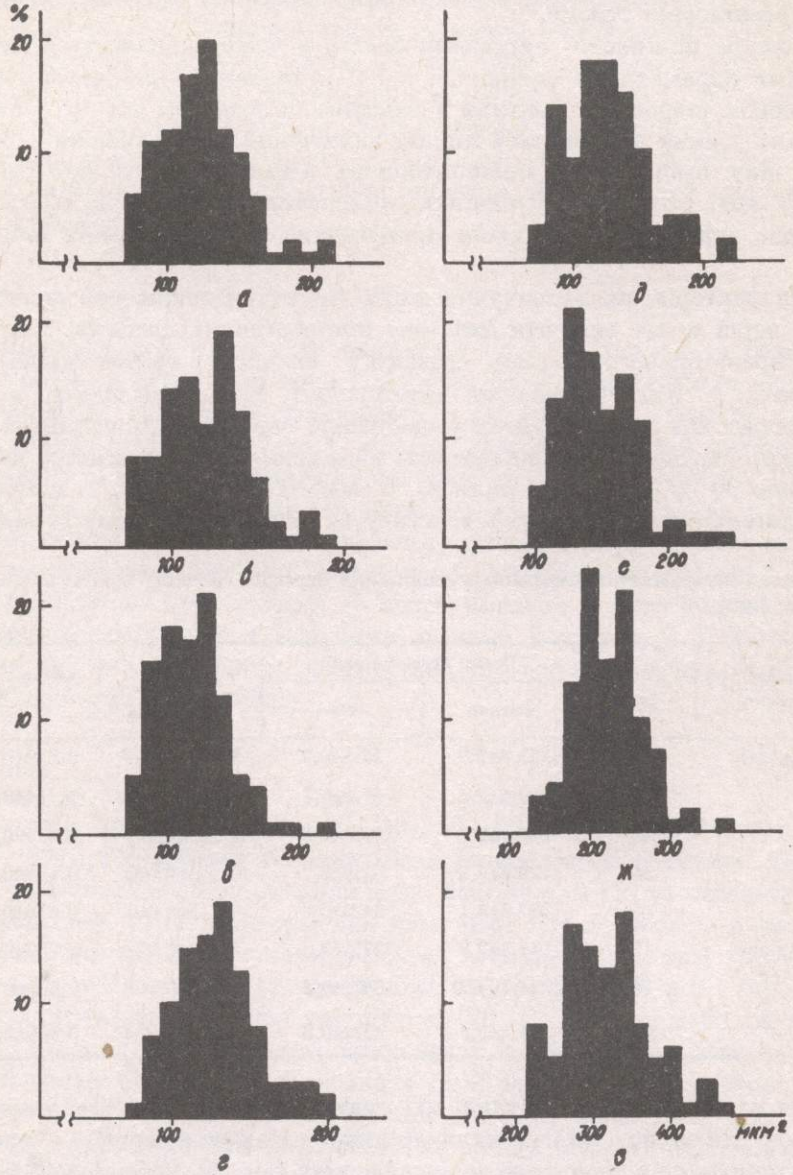
Структура печінкової паренхіми багато в чому визначається морфологічними параметрами елементів, що її складають. Прегепатоцити являють собою відросчасті клітини з середнім за розміром ядром. У цитоплазмі цих клітин знаходяться ліпідні включення, а починаючи з 30-добового віку ембріонів у прегепатоцитах з'являються ознаки синтезу білка. У ході морфогенезу печінки прегепатоцити диференціюються та поступово втрачають риси своїх примітивних ентодермальних попередників.

Серед факторів, що визначають зміни структури печінкової паренхіми, можна, перш за все виділити динаміку гемопоетичних процесів. Уже протягом пренатального періоду розвитку кількість клітин крові, що дозрівають у печінці, значно зменшується [1]. Паралельно з цим збільшується ОД прегепатоцитів у печінковій паренхімі. За проміжок пренатального періоду, що досліджувався, збільшення цього параметру досягає приблизно 30 % ($P<0,05$) (таблиця). У відсутності контакту з клітинами крові прегепатоцити втрачають властиву їм відросчасту форму й перетворюються на полігональні клітини, які мають як гладку, так і ворсинчасту поверхню. Це в свою чергу викликає виникнення полярності у структурі прегепатоцитів по відношенню до васкулярних синусів. Ворсинчаста поверхня цих клітин спрямована до субендотеліальних просторів та міжклітинних жовчних капілярів, а гладка поверхня їх плазматичної мембрани — до сусідніх прегепатоцитів.

Зміни деяких морфологічних показників гепатоцитів морської свинки у пре- та постнатальному онтогенезі (M ± m)

Період онтогенезу	Вік, доба	Площа перерізу, мкм^2		Ядерно-плазменне відношення	Об'ємна доля, ум. од
		клітини	ядра		
Пренатальний період	20	123,8±2,9	36,5±0,9	0,301±0,006	0,372±0,012
	30	119,6±2,5	31,0±0,8	0,271±0,005	0,414±0,011
	40	118,9±2,6	33,8±0,8	0,269±0,007	0,426±0,010
	50	129,6±2,6	32,9±0,7	0,258±0,005	0,439±0,012
	60	127,5±3,1	34,0±0,8	0,275±0,006	0,476±0,013
Постнатальний період	10	146,8±2,9	27,5±0,4	0,190±0,004	0,780±0,009
	30	224,2±4,2	35,3±0,5	0,160±0,003	0,826±0,009
	300	319,4±5,5	43,8±0,8	0,142±0,003	0,869±0,006

Значні зміни форми прегепатоцитів не супроводжуються істотними змінами їх розмірів. Протягом усього пренатального періоду розвитку ПП прегепатоцитів майже не змінюється (див. таблицю). Слід відмітити також стабільність інших статистичних показників вибірки ПП прегепатоцитів у ембріонів різного віку. Так, коефіцієнт асиметрії цієї вибірки протягом пренатального періоду коливається між +0,485 та +0,597, а коефіцієнт ексцесу — між +0,105 та +0,343 (рисунок). Враховуючи рандомічний характер утворення зрізів, що аналізуються, можна зробити висновок, що під час пренатального періоду розвитку розмір прегепатоцитів зберігається стабільним. Тому збільшення ОД прегепатоцитів у складі печінкової паренхіми, а також збільшення маси органу, яке відбувається впродовж усього цього



Гістограми ряду розподілення площі перерізу гепатоцитів у 20- *(а)*, 30- *(б)*, 40- *(в)*, 50- *(г)*, 60- *(д)* добових ембріонів та 10- *(е)*, 30- *(ж)*, 300- *(з)* добових особин морської свинки. За віссю абсцис — відносна частота (% від загальної кількості), за віссю ординат — площа перерізу клітин.

періоду розвитку, можна пояснити гіперплазією — тобто збільшенням кількості клітин, перш за все прегепатоцитів. Дійсно, у печінковій паренхімі в пренатальний період можна спостерігати велику кількість мітозів.

Зміни у структурі печінкової паренхіми спостерігаються і після народження особини. ОД гепатоцитів збільшується протягом усіх строків дослідження. Причому найбільш виражені (1,6-кратні) зміни цього параметру відбуваються у першій декаді постнатального розвитку. Вони пов'язані з припиненням гемопоезу та зникненням кровотворних клітин з паренхіми печінки. Розміри самих гепатоцитів при цьому збільшуються в незначній мірі, хоча і статистично вірогідно ($P<0,05$) (див. таблицю). У цьому періоді активно формується структурно-функціональна одиниця тканини печінки — печінкової дольки, яка у завершеному вигляді являє собою складну систему анастомозуючих трабекул, побудованих із гепатоцитів полігональної форми, з синусоїдами між ними. У склад паренхіми крім гепатоцитів входять ендотеліоцити, клітини Купфера та клітини Ito, що накопичують ліпіди [3]. Однак треба зазначити, що негепатоцити займають навіть у дорослого щура, не більше 6,5 % об'єму тканини і тому їх загальний внесок у ріст печінкової паренхіми має дуже обмежений характер [2].

Аналіз результатів показав, що механізм росту печінкової паренхіми у постнатальному періоді в цілому є іншим, ніж у пренатальному. Проліферативна активність гепатоцитів на цьому етапі розвитку є низькою, а збільшення ОД гепатоцитів після народження особини відбувається паралельно зі збільшенням розмірів самих клітин. ПП гепатоцитів з 10- до 30-добового віку збільшується у 1,5 разів ($P<0,05$), а з 30- до 300-добового віку — ще у 1,4 рази ($P<0,05$). Такі зміни ПП гепатоцитів за досліджений постнатальний період у цілому відповідають більш ніж 3-кратному збільшенню об'єму цих клітин. Коефіцієнт асиметрії виборки ПП гепатоцитів у особин різного віку варіює між +0,459 та +0,672, а коефіцієнт ексцесу — між -0,026 та +0,575 (див. рисунок). Таким чином, можна зробити висновок, що головним механізмом росту печінкової паренхіми у постнатальний період є гіпертрофія гепатоцитів, на відміну від гіперплазії, яка визначає ріст паренхіми у ембріонів.

Відомо, що порівняння розмірів ядра та загальних розмірів клітини може дати важливу інформацію щодо функціонального стану самої клітини. Такий показник традиційно вимірюється у вигляді ядерно-плазменного відношення (Я/П). Аналіз результатів показав, що у ембріонів, не враховуючи значної зміни Я/П гепатоцитів між 20- та 30-добовим віком ($P<0,05$), цей параметр залишається практично на одному рівні ($P>0,05$) аж до завершення пренатального періоду (див. таблицю). Після народження тварини Я/П гепатоцитів різко зменшується ($P<0,05$). Аналогічна тенденція зберігається протягом усього періоду постнатального розвитку, що досліджувався.

До завдань нашого дослідження не входило вивчення механізму, який забезпечує гіпертрофію гепатоцитів, але спираючись на численну кількість даних різних авторів, швидше за все, таким слід вважати поліплоїдизацію цих клітин [7, 8]. Поліплоїдні гепатоцити у лабораторних гризунів з'являються на початку постнатального розвитку і їх кількість значно збільшується з віком.

Стабільність геометричних параметрів «кровотворної строми» печінки ембріону є, очевидно, важливою умовою реалізації гемопоетичної активності органу. Тому ріст печінкової паренхіми в ембріона морської свинки

відбувається внаслідок проліферації клітин, розміри яких протягом усього пренатального періоду залишаються стабільними. Після кардинальної зміни функції органу при переході від пре- до постнатального онтогенезу, яка крім всього пов'язана з втратою печінки спроможності підтримувати гемопоез, структура печінкової паренхіми змінюється. Змінюється також і механізм тканинного росту. Його основою у постнатальний період стає гіпертрофія клітин, що пов'язана, очевидно, з їх поліплоідизацією.

Висновки

1. У морської свинки при переході від пренатального до постнатального періоду онтогенезу змінюється механізм росту паренхіми печінки.

2. Ріст паренхіми у пренатальний період здійснюється внаслідок проліферації прегепатоцитів при зберіганні відносно незмінними їх розмірів.

3. Після народження тварини визначальним фактором росту печінковової паренхіми стає гіпертрофія гепатоцитів.

A.G.Nikonenko

PECULIARITIES OF LIVER PARENCHYMA GROWTH DURING PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT OF GUINEA PIG

The growth dynamics of guinea pig liver parenchyma in prenatal and postnatal ontogeny was investigated with morphometrical and stereological methods. The results show that parenchyma growth in prenatal period is determined by high proliferative activity of prehepatocytes, which sizes remain nearly constant. On the contrary in postnatal period hepatocytes' hypertrophy becomes the main factor of parenchyma growth. The specificity of prenatal liver parenchyma growth can be determined by a necessity to maintain geometrical stability of its «hemoppoietic stroma».

Taras Shevchenko Kiev University

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Никоненко А.Г.* Исследование пренатальной динамики эритропоэза в печени у морской свинки // Цитология и генетика. — 1994. — 28, № 2. — P. 7—10.
2. *Blouin A., Bolender R.P., Weibel E.R.* Distribution of organelles and membranes between hepatocytes and nonhepatocytes in rat liver parenchyma. A stereological study // J.Cell Biol. — 1977. — 72, № 5. — P. 441—455.
3. *Geerts A., Bouwens L., Wisse E.* Ultrastructure and function of hepatic fat-storing and pit cells // J.Electr. Microsc. Techn. — 1990. — 14, № 3. — P. 247—256.
4. *Luft J.H.* Improvements in epoxy resin embedding methods // J.Biophys. Biochem.Cyt. — 1962. — 73, № 4. — P. 245—279.
5. *Medlock E.S., Haar J.J.* The liver hemopoietic environment: Developing hepatocytes and their role in fetal hemopoiesis // Anat. Rec. — 1983. — 207, № 1. — P. 31—41.
6. *Nessi A.C., Bozzini C.E.* Foetal hemopoiesis during the hepatic period. II. Topographical histology // J. Embryol. Exp. Morphol. — 1979. — 52, № 1. — P. 13—21.
7. *Rigaut J.P., Margules S., Renard S., Chalumeau M.T., Bisconte J.C.* Cariometric determination of ploidy by automated image analysis (Leiz T.A.S.) on liver sections // Mikroskopie. — 1980. — 37, Suppl. — P. 293—295.
8. *Vargas J.L., O'Connor E., Roche E., Knecht E., Grisolia S.* Analysis by flow cytometry of rat hepatocytes from different acinar zones // Biochem. and Biophys. Res. Commung. — 1987. — 147, № 2. — P. 535—541.
9. *Weibel E.R.* Stereological Methods, Volume 1. Practical Methods for Biological Morphometry. — New York: Academic Press, 1979.

Київ. ун-т ім. Тараса Шевченка
М-ва освіти України

Матеріал надійшов до редакції 30.06.94