

© Коллектив авторов, 2013

УДК 616.36 – 091 – 092 – 053.1 – 02: 614.7: 613.63

## МОРФОЛОГИЯ ГЕПАТОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА В РАННИЕ ПЕРИОДЫ ОНТОГЕНЕЗА

Б.Л. Пономарев, Л.Е. Обухова, Ю.А. Высоцкий,  
Н.И. Барсукова, Т.М. Черданцева

Алтайский государственный медицинский университет

**Электронно-микроскопически изучены особенности становления печени эмбрионов и плодов человека в раннем онтогенезе. Установлено, что в поздние периоды эмбриогенеза и ранние периоды фетогенеза происходит изменение соотношения гепатоцитов разной степени их дифференцировки. В гепатоцитах наблюдается становление органелл цитоплазмы, изменение ядерно-цитоплазматического индекса.**

**Ключевые слова:** плод, эмбрион, печень.

У эмбриона и плода ведущей является функция развития (рост, детерминация, дифференцировка, формирование органов и их систем) [5]. Научный интерес представляют вопросы эмбрио- и фетогенеза клеток печени – органа, выполняющего на протяжении внутриутробного периода развития многочисленные функции [1, 4, 6]. В клетках печени эмбрионов и плодов человека различают три типа гепатоцитов: малодифференцированные, переходные и дифференцированные [2, 7], отличающиеся размерами клеток, их ядер и строения цитоплазматических органелл.

Целью настоящего исследования явилось изучение морфологии гепатоцитов в процессе их дифференцировки в раннем пренатальном онтогенезе человека.

### Материалы и методы

Объектом исследования служили образцы печени эмбрионов и плодов человека на 7-14 неделе внутриутробного развития, взятые при медицинских абортах по социальным показаниям (в соответствии с Постановлениями Правительства РФ от 8 мая 1996 года № 567 и от 11 августа 2003 года № 485). Для проведения исследования было получено разрешение локального этического комитета и инди-

видуальное информированное согласие от каждой женщины на взятие абортного материала для исследования. В ходе исследования были соблюдены этические принципы проведения медицинских исследований согласно Хельсинской декларации – редакция 2000 г. Печень, взятая у 120 эмбрионов и плодов, распределялась по четырем возрастным группам: 7-8 недель, 9-10 недель, 11-12 и 13-14 недель внутриутробного развития. Для световой микроскопии материал после обезвоживания в спиртах заливали в парафин. С парафиновых блоков на ротационном микротоме готовили срезы толщиной 7–10 мкм. Для электронной микроскопии кусочки органов дофиксировали в 1 % растворе осмиевой кислоты. Обезвоживание проводили этанолом, начиная с 30° до абсолютного, затем материал заключали в аралдит. Ультратонкие срезы контрастировали свинцом по Рейнольдсу и изучали в электронном микроскопе УЭМБ-100К.

Фотометрические исследования площади ядра ( $\text{мкм}^2$ ), цитоплазмы ( $\text{мкм}^2$ ), ядерно-цитоплазматического индекса проводили при помощи программы анализа изображения «Motis images», используя оборудование: БИММ Р-13-1 проходящего света с подсоединенной видеокамерой

JVC, персональный компьютер Pentium-II. Препараты изучали при увеличении в 400 раз, изображение вводили в компьютер непосредственно с микроскопа с помощью карты захвата видео. Размер файла изображения составлял 640x480 пикселей.

Изучали клеточный состав печени. Определяли процентное соотношение гепатоцитов разной степени дифференцировки. Для подсчета использовали окулярную сетку из 25 квадратов со стороной 9 мкм в десяти полях зрения ( $2025 \text{ мкм}^2$ ). Готовили по 7 срезов от каждого объекта исследования.

Все количественные показатели имели нормальное распределение (тест Колмагорова-Смирнова). Значимость различий сравнивали по t-критерию Стьюдента. Результаты работы представлены в виде значений  $M$  (средняя арифметическая)  $\pm m$  (стандартная ошибка среднего). Оценку межгрупповых различий проводили при помощи критерия Стьюдента. За статистически значимые различия показателей принималось значение  $p < 0,05$ .

#### Результаты и их обсуждение

Изучение клеточного состава печени показывает различное соотношение гепатоцитов разной степени их дифференцировки у эмбрионов и плодов человека (рис. 1, 2, 3). В печени эмбрионов 7-8 недель внутриутробного развития находились, в основном, малодифференцированные гепатоциты (рис. 4), на 9-10-й неделе в печени плодов возрастало количество переходных гепатоцитов (рис. 5). Уже с 11-й недели эмбриогенеза в печени обнаруживались в большом количестве гепатоциты, вступившие в заключительную стадию дифференцировки. Нами дана количественная характеристика соотношения различных типов гепатоцитов в изученные периоды онтогенеза. В печени плодов 7–8 недель внутриутробного развития преобладают малодифференцированные гепатоциты  $68,49 \pm 2,05\%$ . На долю переходных и дифференцированных гепатоцитов (рис. 6, 7) приходится соответственно  $24,07 \pm 0,62\%$  и  $7,44 \pm 0,24\%$ . Малодифференцированные гепатоциты представляют собой сравнительно мелкие

клетки округлой формы с большим эллипсоидным или овальным ядром. При электронной микроскопии они характеризуются слабым развитием внутриклеточных органелл, крупными ядрами (хроматин в них распределен диффузно, ядрышки практически не обнаруживаются) и темной цитоплазмой за счет большого количества свободных рибосом. Митохондрии немногочисленны, мелкие, имеют, как правило, округлую форму, мелкие кристы и прозрачный матрикс. Они тесно примыкают к ядру клетки, концентрируясь в наибольшем количестве у одного из его полюсов. Немногочисленные канальцы гранулярного ретикулума заполнены мелкодисперсным содержимым.

На 9-10-й неделе внутриутробного развития в печени плодов человека увеличивается количество переходных гепатоцитов по отношению к малодифференцированным. Так, в наших наблюдениях переходные гепатоциты составили  $48,5 \pm 1,35\%$ , малодифференцированные и дифференцированные соответственно  $36,28 \pm 0,79\%$  и  $15,22 \pm 0,39\%$ . При электронной микроскопии переходные гепатоциты характеризуются наличием ядра с диффузно расположенным хроматином и одним ядрышком. В цитоплазме переходных гепатоцитов много мелких митохондрий, многие из которых имеют более плотный матрикс и листовидные кристы. Эндоплазматический ретикулум представлен сетью узких канальцев, на наружной поверхности которых располагаются группами рибосомы. В отдельных клетках встречается комплекс Гольджи, занимающий околядерное положение. В цитоплазме сохраняется множество свободных рибосом и полисом. Впервые в цитоплазме переходных гепатоцитов появляются единичные лизосомы. Для малодифференцированных и переходных гепатоцитов особенностью является отсутствие полярной дифференцировки клеток и фрагментами гранулярного ретикулума.

В 11-12 недель в печени плодов продолжалась дифференцировка гепатоцитов. Отмечена тенденция преобладания дифференцированных гепатоцитов по отно-

шению к малодифференцированным:  $30,57 \pm 0,91\%$  и  $19,1 \pm 0,53\%$ , соответственно. Переходные гепатоциты составляли  $50,33 \pm 1,5\%$ . Дифференцированные гепатоциты имели неправильную многоугольную форму с округлым ядром (хроматин распределен диффузно, выделялось 2–3 ядрышка). В дифференцированных гепатоцитах митохондрии, как правило, овальной формы. Отмечено наличие крист с большей протяженностью и усиление электронной плотности их матрикса. Кристы часто располагались перпендикулярно к длинной оси органелл. В этом периоде в дифференцированных гепатоцитах хорошо развиты элементы пластинчатого комплекса. Гораздо многочисленнее число канальцев гранулярной эндоплазматической сети, вступающих во взаимодействие с митохондриями.

В 13–14 недель в печени плодов гепатоциты были представлены переходными  $35,63 \pm 1,01\%$  и дифференцированными клетками с преобладанием дифференцированных  $57,53 \pm 1,05\%$ , малодифференцированные клетки встречались крайне редко –  $6,84 \pm 0,17\%$ . Цитоплазма в дифференцированных гепатоцитах прогрессивно заполнялась структурными компонентами аппарата синтеза: гранулярным ретикулом, рибосомами и полисомами, а также митохондриями. Митохондрии, как правило, овальной формы, имели плотный, интенсивно окрашенный матрикс и правильно ориентированные кристы. Пластинчатый комплекс развит хорошо, представлен плотно расположенными цистернами и мелкими везикулами, заполненными электронно-плотным гранулярным веществом. Эпителиальные клетки богаты включениями гликогена, который рассеян по всей цитоплазме.

Нами установлено, что с увеличением возраста эмбриона и плода происходит последовательное нарастание числа дифференцированных гепатоцитов и соответственно уменьшение малодифференцированных и переходных клеток печени. О морфологической дифференцировке кле-

ток развивающейся печени эмбрионов и плодов человека свидетельствуют изменения площади ядра и цитоплазмы (рис. 8). Печеночные клетки и их ядра увеличиваются в размерах, ядерно-цитоплазматический индекс гепатоцитов с увеличением срока эмбрио- и фетогенеза уменьшается. Увеличение объема цитоплазмы имеет в своей основе укрупнение её специализированных элементов – митохондрий, рост числа структур аппарата синтеза: рибосом, полисом, гранулярного эндоплазматического ретикулума, комплекса Гольджи.

Так, площадь ядра гепатоцитов с 7–8-й недели внутриутробного периода увеличилась к 13–14 неделям в 1,6 раза, площадь цитоплазмы гепатоцитов в 2,3 раза. Изменение величины ядер, возможно является показателем их плоидности [3]. При этом с увеличением срока эмбрионального развития отмечалось уменьшение ядерно-цитоплазматического индекса (рис. 9).

### Выводы

Таким образом, дифференцировка гепатоцитов эмбрионов и плодов человека в раннем пренатальном онтогенезе протекает с определенной закономерностью. Происходит последовательная смена трех типов клеток, которые отражают различные стадии дифференцировки гепатоцитов: малодифференцированные, переходные и дифференцированные.

По мере увеличения срока эмбриогенеза уменьшается количество малодифференцированных гепатоцитов и увеличивается количество дифференцированных. Дифференцировка гепатоцитов сопровождается изменением формы и площади ядра, перераспределением хроматина, увеличением количества ядрышек. Параллельно усложняется организация цитоплазмы с формированием в ней гранулярного эндоплазматического ретикулума, митохондрий, комплекса Гольджи, появлением секреторных и транспортных пузырьков. Усложнение морфологии клеток печени взаимосвязано с изменением

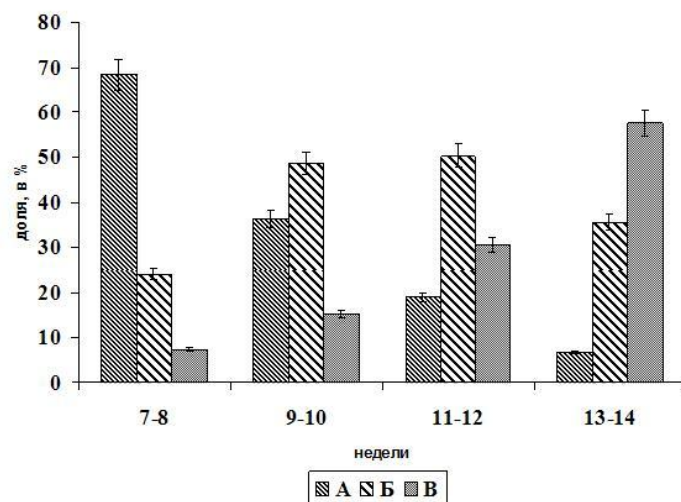


Рис. 1. Клеточный состав печени эмбрионов и плодов человека:

А – малодифференцированные гепатоциты;  
 Б – переходные гепатоциты;  
 В – дифференцированные гепатоциты.

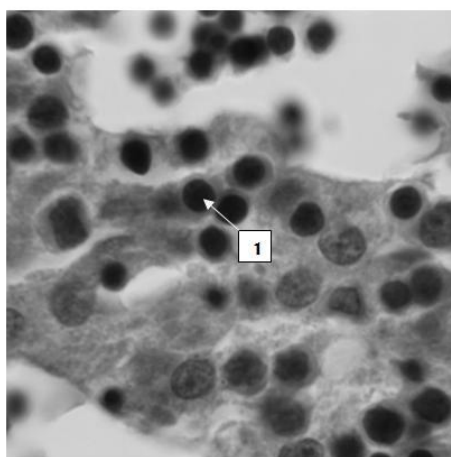


Рис. 2. Печень плода человека на 9- 10 неделе онтогенеза.  
 Окраска Ван-Гизон. Микрофото. X 12 000.  
 1 – недифференцированный гепатоцит

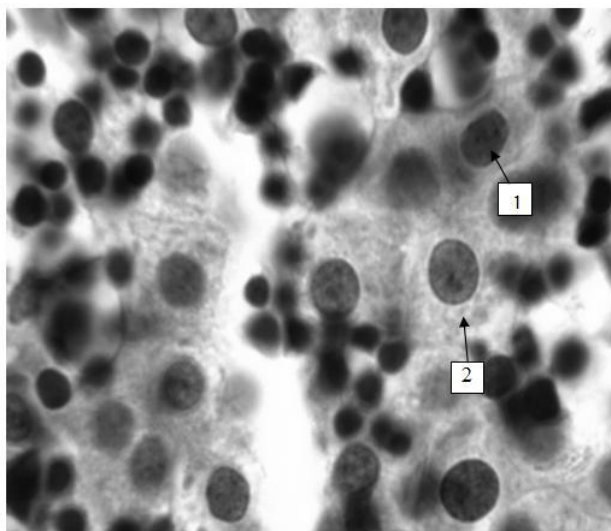


Рис. 3. Печень плода человека на 10 - 11 неделе онтогенеза. Окраска Ван-Гизон. Микрофото. X 12 000.  
1 – переходный гепатоцит;  
2 – дифференцированный гепатоцит.

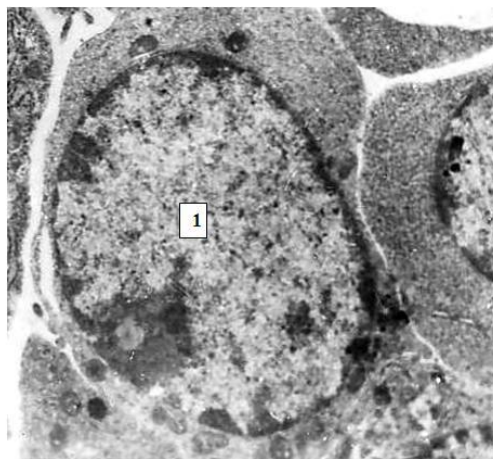


Рис. 4. Печень человека на 7-8 неделе внутриутробного развития. Равномерное распределение хроматина (1) по кариоплазме малодифференцированного гепатоцита. Электронограмма. X 25000.  
1- ядро.

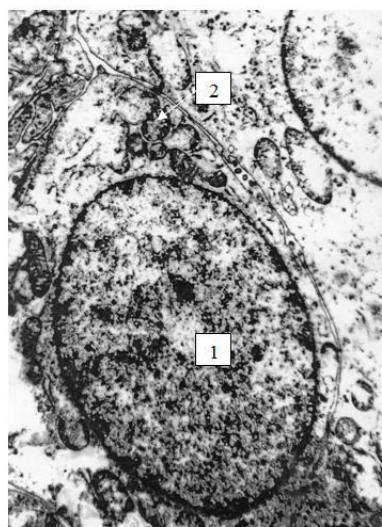


Рис. 5. Печень плода человека на 13–14-й неделе онтогенеза.  
Переходный гепатоцит. Электронограмма. X 19000.  
1 – ядро;  
2 – митохондрия.

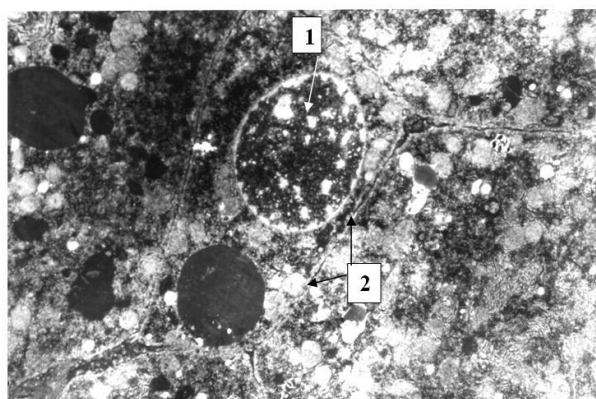


Рис. 6. Печень плода человека на 13–14-й неделе эмбриогенеза.  
Дифференцированные гепатоциты.  
Электронограмма. X 19000.  
1 – ядро;  
2 – межклеточные границы.

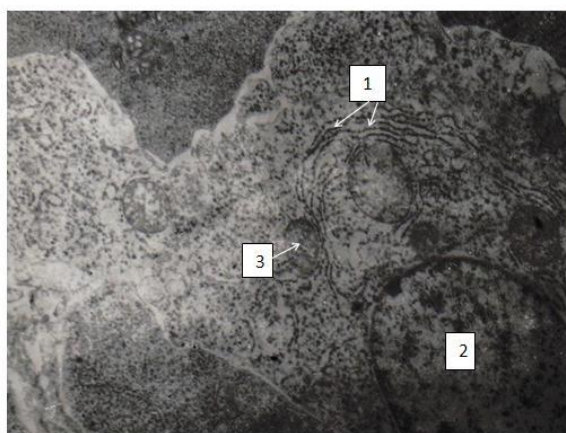


Рис. 7. Печень плода человека на 13–14-й неделе онтогенеза.  
Дифференцированный гепатоцит.  
Электроннограмма. X 19000.  
1 – гранулярный ретикулум;  
2 – ядро;  
3- митохондрия.

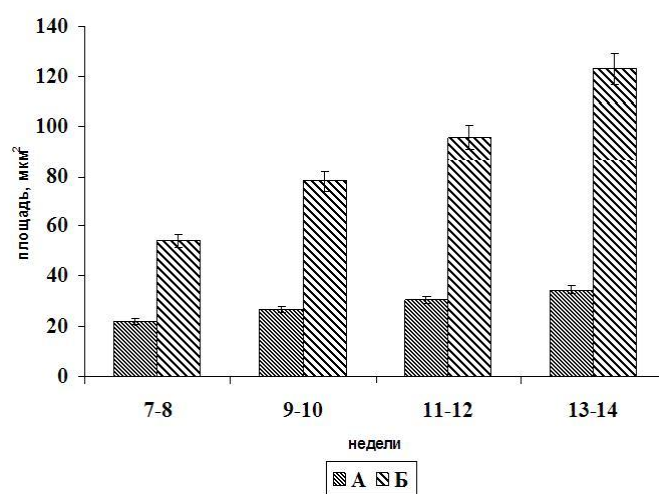


Рис. 8. Площадь ядра и цитоплазмы гепатоцитов эмбрионов и плодов человека:  
А – площадь ядра гепатоцитов эмбрионов и плодов человека;  
Б – площадь цитоплазмы гепатоцитов эмбрионов и плодов человека.



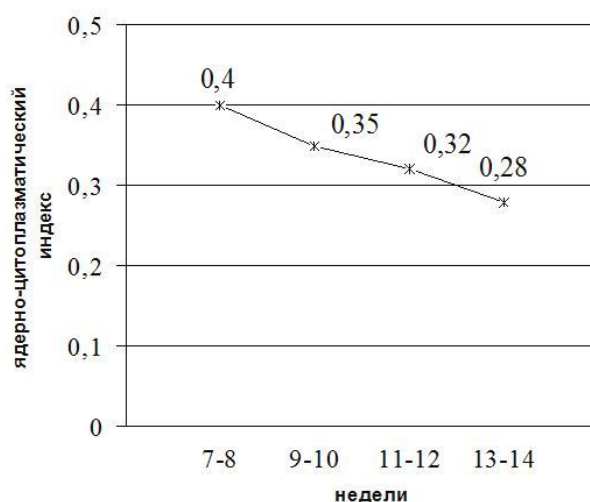


Рис. 9. Ядерно-цитоплазматический индекс гепатоцитов эмбрионов и плодов человека.

ядерно-цитоплазматических показателей. Морфодифференцировку клеточных органелл можно рассматривать как проявление адаптивной реакции, связанной с повышенной функциональной нагрузкой, испытываемой клеткой, которая проявляется в становлении различных видов обмена веществ.

#### Литература

1. Абдулкадыров К.М. Клеточный состав печени и селезенки в фетальном периоде / К.М. Абдулкадыров, В.А. Балашова // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2008. – Т. 3, № 1. – С. 46-48.
2. Внутритрубное развитие человека / под ред. А.П. Милованова, С.В. Савельева. – М.: МДВ, 2006. – 384 с.
3. Гистология / под ред. Ю.И. Афанасьева, Н.А. Юриной. – М.: Медицина, 1986. – 672 с.
4. Петренко Ю.А. Иммунорегуляторные свойства клеток фетальной печени / Ю.А. Петренко // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2007. – Т. 2, № 3. – С. 57-61.
5. Скоробогатов Н.Г. Остеогенные и адипогенные свойства фибробластоподобных клеток-предшественников фетальной печени человека / Н.Г. Скоробогатов, Н.А. Волкова, А.Ю. Петренко // Цитология. – 2008. – Т. 51, №6. – С. 526-538.
6. Orkin S.H. Hematopoiesis and stem cells plasticity versus developmental heterogeneity / S.H. Orkin, L.I. Zon // Nature immunol. – 2002. – Vol. 3, №4. – С. 323-328.
7. Ilieva, P. Hepatocyte ultra structure in human prenatal ontogeny / P. Ilieva, P. Mushatova // Ski. Works Higer Med. Inst. Prevent. – 1992. – Vol. 14, № 1. – P. 17-20.



## THE MORPHOLOGICAL FEATURES OF HUMAN HEPATOCYTES IN EARLY PERIODS OF ONTOGENESIS

*B.L. Ponomarev, L.E. Obuhova, U.A. Vysoski,  
N.I. Barsukova, T.M. Cherdantseva*

**The developmental features of liver of human embryos and features during early ontogenesis are the subject of electron microscopy study. The changes in hepatocytes ratio of different differentiation stages during late periods of embryogenesis and early periods of fetogenesis are identified. The formation of cytoplasmic organelles and changes of nucleo-cytoplasmic ratio of liver were observed.**

***Key words:*** *fetus, embryo, liver.*

**Пономарев Борис Лаврентьевич** – д-р мед. наук, профессор кафедры гистологии АГМУ, г. Барнаул.

Обухова Лариса Евстигнеевна – д-р мед. наук, доцент кафедры биологии с экологией АГМУ, г. Барнаул.

656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 54-57.

Тел.: 8(3852) 26-05-36.

E-mail: [lirissey@yandex.ru](mailto:lirissey@yandex.ru).

Высоцкий Юрий Александрович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой нормальной анатомии человека АГМУ, г. Барнаул.

Барсукова Наталья Ивановна – канд. мед. наук, преподаватель кафедры гистологии АГМУ, г. Барнаул.

Черданцева Татьяна Михайловна – канд. мед. наук, доцент кафедры гистологии, зав. морфологической лаборатории ЦНИЛ АГМУ, г. Барнаул.