

## **ФОРМИРОВАНИЕ ПОЧКИ У АМФИБИЙ В ЛИЧИНОЧНЫЙ ПЕРИОД РАЗВИТИЯ НА ПРИМЕРЕ ЖАБЫ ЗЕЛЕННОЙ (BUFO VIRIDIS LAURENTI, 1768)**

Светашева Д.Р.<sup>1</sup>, Грушко М.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный технический университет», Астрахань, Россия (414000, г. Астрахань, ул. Татищева, 16), e-mail: svetashadr@yandex.ru

Описываются морфофизиологические особенности формирующегося мезонефроса у личинки зеленой жабы (*Bufo viridis Laurenti, 1768*). Определено, что изученный орган, наряду с функцией выделения, выполняет функцию кроветворения на протяжении личиночного периода развития. В почке образуются элементы крови всех линий. Основную долю формирующихся элементов крови на протяжении всего личиночного периода развития составляли клетки эритропоэтического ряда, далее, по мере убывания – гранулоцитопоэтические и агранулоцитопоэтические клетки. Описаны морфологические изменения органа у развивающейся личинки. Отмечены особенности организации структурных элементов почки – почечных канальцев и почечных телец. Отмечены некоторые патологические изменения структурных элементов органа и формирующихся элементов крови.

Ключевые слова: мезонефрос, кроветворение, эритроциты, гранулоциты, агранулоциты, почечные канальца, почечные тельца, пойкилоцитоз, полиморфизм.

## **FORMATION OF KIDNEY IN AMPHIBIANS IN THE LARVAL PERIOD OF DEVELOPMENT ON THE EXAMPLE OF THE GREEN TOAD (BUFO VIRIDIS LAURENTI, 1768)**

Svetasheva D.R.<sup>1</sup>, Grushko M.P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Astrakhan State Technical University Astrakhan Russia (414000 str Tatishcheva, 16), e-mail: svetashadr@yandex.ru

The article describes the morphological and physiological features of the larva emerging mesonephros green toad (*Bufo viridis Laurenti, 1768*). Determined that learned organ, along with the allocation function, the function of hematosis during the larval period. In the kidney, all formed elements of the blood lines. The main share of the emerging elements of the blood throughout the larval period were a number of red blood corpuscle, further, in descending order - and granulocytic cell, agranulocytic cell. Morphological changes in body developing larvae. The features of the organization of the structural elements of kidney - the kidney tubule and renal corpuscles. Marked pathological changes in some structural elements of the body and formed elements of the blood.

Keywords: mid-kidney, hematosis, red blood corpuscle, granulocytic cell, agranulocytic cell, kidney tubule, renal calice, poikilocythemia, pleomorphism.

### **Введение**

Развитие организма представляет собой процесс систематического, последовательного, упорядоченного накопления структурных и функциональных качеств прогрессивного характера. Процесс развития всегда сопровождается возникновением новых, постоянных и необратимых структурных изменений, которые занимают определенный период индивидуального развития, характерный только для представителя данного вида [1]. Представление о гистоструктуре в динамике дает ключ к пониманию не только особенностей физиологии органов организма в разные возрастные периоды, но и многих процессов патологии [4; 5]. Гибель организма, аномалии связаны с отклонениями от нормального хода развития [3]. В последние годы, в связи с изменившейся экологической

обстановкой, большой интерес представляет изучение постэмбрионального развития организмов.

### **Цель исследования**

Охарактеризовать морфофизиологию формирующегося мезонефроса у головастика зеленой жабы в период личиночного развития.

### **Материал и методы**

Исследование проводилось на 120 сериях срезов личинок зеленой жабы (*Bufo viridis* Laurenti, 1768) на разных стадиях развития, приготовленных и окрашенных по общепринятым методикам [2]: фиксация – в растворе Буэна, затем велась проводка через спирты возрастающей крепости, заливка в парафиновые блоки, окраска гематоксилин-эозином. Изучение развития основных систем на ранних стадиях онтогенеза проводили на микроскопе «МИКРОМЕД-2» с применением иммерсии. Идентификация форменных клеток крови осуществлялась по атласам В.Н. Никитина (1949), Н.Т. Ивановой (1984), изменения форменных элементов – согласно рекомендациям Л.Д. Житеневой (1989).

### **Результаты и их обсуждение**

На первых стадиях развития личинок жаб становление и дифференциация почки протекала весьма сложно. В первый день после вылупления у личинки позади жаберной полости находился верхний уровень формирующегося мезонефроса - парного образования, лежащего продольно вдоль тела. Пронефрос без четких границ переходил в мезонефрос. Морфологически пронефрос и мезонефрос были представлены изогнутыми почечными канальцами различного размера, которых на срезе насчитывалось в среднем  $10 \pm 1,05$  шт., диаметр канальцев колебался от  $0,8 \pm 0,11$  до  $1,8 \pm 0,10$  мкм. Стенки канальцев были построены из кубического и плоского эпителия. Канальцы мезонефроса своими конусами открывались в вольфов проток, стенки которого были тонкими, состояли из низкого кубического эпителия, лежащего на базальной мембране. Отмечалось очень мало межканальцевой ткани, которая была представлена бластными элементами крови, находящимися среди ретикулярных клеток. Были выявлены клетки эритропоэтического, гранулопоэтического и агранулопоэтического рядов, которые располагались хаотично. Основная масса среди формирующихся элементов крови приходилась на клетки эритропоэтического (70%) и гранулопоэтического рядов (21%). На клетки агранулоцитопоэтического ряда приходилось 8%. На данном этапе форменные элементы крови в большинстве были представлены клетками эритропоэтического ряда. Среди них были выявлены эритробласты (5%), пронормобласты (25%) и базофильные нормобласты (25%), встречались также полихроматофильные нормобласты, но в меньшем количестве (15%). Среди клеток гранулоцитопоэтического ряда были отмечены миелобласты до 9%, а

также их производные - промиелоциты 12%. Агранулоциты были представлены лимфобластами, встречающимися редко, до 3%, и монобластами – 5%. Т.е. на этой стадии развития у личинок жаб также наблюдались лишь молодые бластные и созревающие клетки, зрелых клеток обнаружено не было.

На второй день личиночного развития отмечено развитие мезонефроса в каудальном направлении. Увеличивается количество новых, вновь образующихся почечных канальцев до  $13 \pm 1,1$  шт. на срезе. Появились вновь образующиеся везикулы грушевидной формы и зачаточное почечное тельце. Соотношение форменных элементов крови тут не меняется.

Дальнейшее развитие (3 и 4 день) органа идет по пути образования в хвостовой части парного образования – формирующегося мезонефроса. Хорошо видны оформленные почечные канальца, овальной формы из плоского и кубического эпителия, тесно прилегающие друг к другу. Вновь формирующаяся мезонефральная ткань наблюдалась в каудальном направлении. У личинок количество новых образующихся почечных канальцев значительно выше, чем у личинки на 1-2 день развития. Всего на срезе насчитывалось до  $30 \pm 2,1$  канальцев диаметром  $2,2 \pm 0,1$  мкм, с высотой плоского эпителия до  $0,9 \pm 0,04$  мкм, кубического –  $2,0 \pm 0,06$  мкм. Появляются новые зачатки мезонефральных канальцев и зачаточное почечное тельце. Межканальцевая ткань была представлена ретикулярными клетками, между которыми были сосредоточены кроветворные элементы. Наблюдалось увеличение разнообразия качественного состава форменных элементов крови в формирующемся органе. Располагались все развивающиеся кроветворные элементы хаотично. Выявлены клетки эритропоэтического, гранулоцитопоэтического, моноцитопоэтического, лимфоцитопоэтического рядов. В мезонефросе с третьих на четвертые сутки развития увеличивается образование клеток эритропоэтического ряда. Единичными здесь были эритробласты, пронормобласты по 2,5% и базофильные нормобласты – 6%, многочисленны полихроматофильные 22% и оксифильные 10% нормобласты. На срезе четырехдневной лягушки наблюдалось большое количество зрелых эритроцитов 20%. Среди клеток гранулоцитопоэтического ряда основную массу составили промиелоциты – 6,5%, миелоциты, метамиелоциты и миелобласты по 1%. Также были выявлены палочкоядерные нейтрофилы до 1%. Моноциты и лимфобласты составляли всего по 2% от общей численности клеток. На этой стадии развития шло интенсивное размножение клеточных элементов, поскольку выявлялись клетки, находящиеся на разных стадиях митоза.

Среди всего многообразия клеточных элементов эритропоэтического ряда были выявлены клетки с патологиями. Так, на данном этапе онтогенеза у 21% клеток регистрировался пойкилоцитоз. Пойкилоцитозы образуются при тяжелом течении анемии,

вследствие чего изменяется обычно форма эритроцитов. Клетка теряет эластичность, это дегенеративное явление кроветворения наступает при угнетении эритропоэза под влиянием каких-либо вредных факторов, оказывающих воздействие на кроветворный орган или непосредственно клетку. Такими вредно действующими агентами могут быть различные химические вещества, а также микробы и вирусы, которые вызывают нарушение деятельности органов кроветворения [6].

Также в просветах некоторых почечных канальцев у личинок был обнаружен белок.

Дальнейшая дифференцировка органа (5 день) шла в направлении усложнения и увеличения в размерах. Формирование новых почечных канальцев продолжается в каудальном направлении. Образование почечных канальцев шло значительно интенсивнее, чем в предыдущие дни развития, что подтверждалось увеличением числа канальцев и зачатков почечных телец. Почечные тельца пока развиты ещё слабо – представляли собой выпячивание эпителия, с очень плотным скоплением клеток - везикулы. Видны зачатки почечных канальцев (3 шт.), которые представляли собой плотные образования. Отмечено увеличение диаметра почечных канальцев, в среднем он составлял - от  $1,8 \pm 0,1$  до  $5,3 \pm 0,14$  мкм. Количество канальцев составило в среднем  $40 \pm 2$  шт. В небольшой полости, образовавшейся между долями мезонефроса, были обнаружены два отростка из плотной ткани, предположительно зачатки половых гонад.

В межканальцевой ткани органа наблюдалось большое количество клеток крови. Увеличилось число клеток эритропоэтического ряда, которые по-прежнему доминировали. Значительно увеличилось число клеток гранулоцитопоэтического ряда (18%), наряду с единичными лимфобластами появились зрелые лимфоциты (1,5%). Вместе с общим числом клеток крови увеличивается и количество клеток с патологическими изменениями. Так, у 35% клеток эритропоэтического ряда был отмечен пойкилоцитоз.

На срезе сразу за жаберными полостями у личинки пока ещё наблюдался остаточный пронефрос. Здесь стенки канальцев были сильно истончившимися, а в межканальцевом пространстве находилось большое число клеток крови. Основную долю их составляли зрелые эритроциты – 26%. Возможно, на данной стадии развития пронефрос завершает свое функционирование.

На 6, 7, 8-е сутки личиночного развития заметных изменений в морфофункциональных особенностях мезонефроса не наблюдается. На срезах обнаружилось в среднем  $55 \pm 2,2$  шт. канальцев. Диаметр канальцев, по сравнению с 5-дневной личинкой, не изменился. В отношении качественного состава форменных элементов крови также нет значительных изменений, но постепенно растет число эритроцитов, что может быть связано с дозреванием клеток эритропоэтического ряда.

У личинок на 12-е сутки мезонефрос представлял собой плотные почечные тяжи, вытянутые параллельно хорде. Межканальцевое пространство было заполнено многочисленными плотно лежащими клетками крови на разных стадиях развития. Были выявлены клетки тех же рядов, что и на предшествующих стадиях развития личинки. Доля клеток эритропоэтического ряда составляла 61%, гранулоцитопоэтического - 18%, и агранулоцитопоэтического - 13%. Среди общего количества клеток доминировали зрелые эритроциты (40%). По-прежнему клетки лимфоцитопоэтического ряда были самыми малочисленными (3%). Половина всех эритроцитов (50%) патологичны – пойкилоцитоз. Просветы некоторых канальцев по-прежнему были заполнены белком. Увеличивается число зачатков почечных телец и канальцев. Число почечных телец увеличилось в среднем до  $8 \pm 1,2$ , однако теперь они имели и краниальную локализацию. Число канальцев в мезонефросе, в среднем, к 12-м суткам составляло  $270 \pm 9,1$  шт. В краниальном направлении наблюдается увеличение диаметра просвета канальцев.

На 16-е сутки почка представляла собой два параллельных тела вдоль позвоночника, значительно увеличенных в размерах. Резко выражена дифференцировка тканей органа. Висцеральный край почки представлен более плотным скоплением эпителиальной ткани. В этой части почки идет интенсивное формирование почечных канальцев и почечных телец. Дистальный край почки характеризовался наличием сформированных почечных канальцев и почечных телец. Расположены они более рыхло, чем у висцерального края. Просвет периферических канальцев, диаметр которых достигал  $4,4 \pm 0,15$  мкм, больше, чем висцеральных, просвет которых составлял в среднем  $1,8 \pm 0,1$  мкм, как более молодых. Диаметр канальцев, как показали наблюдения, увеличивался по мере увеличения возраста личинки. Происходящие морфологические изменения в мезонефросе у личинок этого возраста свидетельствуют о сложной пространственной и функциональной дифференцировке органа. Формирующиеся элементы крови у внешнего края почки более рассредоточены и малочисленны, чем у внутреннего края почки, где располагались более плотно. Дифференцировались клетки эритропоэтического (60%), гранулоцитопоэтического (30%) и агранулоцитопоэтического (10%) рядов. По-прежнему среди всех развивающихся клеток преобладают дефинитивные эритроциты (45%), но также в большом количестве присутствовали молодые бластные и созревающие клетки крови грануло- (13%) и эритропоэтического (4%) ряда. У личинок этого возраста также было мало клеток лимфоидного ряда. У клеток эритропоэтического ряда регистрировался пойкилоцитоз. Кроме этого, у 15% эритроцитов была отмечена полихромазия, которая проявлялась в виде неравномерной окраски цитоплазмы клеток, что является показателем неполноценной зрелости клеток. При этом цитоплазма клеток имела серовато-сиреневые оттенки. Таких

клеток много у эмбрионов и личинок, в которых сохраняются нуклеиновые кислоты и ещё не накоплен гемоглобин [6].

На 20-й день личиночного развития жабы заметно лишь незначительное уплотнение межканальцевой ткани почки в каудальной части. Отмечено, что нарастание нефрогенной ткани идет в дистальном направлении. Просвет канальцев в краниальной части мезонефроса больше, чем в каудальной, и не изменился по сравнению с личинками 16-го дня развития. Выявлено, что диаметр просвета почечного канальца зависел не от возраста личинки, а увеличивался по мере формирования самих канальцев. Число новообразующихся канальцев увеличивается по мере развития личинки и самого органа. Таким образом, почка росла за счет увеличения числа вновь образующихся элементов. Идентификация клеток крови на последних стадиях развития личинки была затруднена их количеством. Однако на гистологических препаратах видно, что половину всего межклеточного пространства занимают зрелые, здоровые эритроциты, которые располагались, образуя группы – эритропоэтические островки. Остальную часть составляли в основном зрелые клетки грануло- и агранулоцитопоэтического рядов, которые были расположены хаотично. При этом гранулоцитов насчитывалось до 35%, агранулоцитов около 15%.

### **Заключение**

Анализ проведенного исследования мезонефроса личинок жаб показал, что по мере развития происходят значительные морфофункциональные изменения этого органа. На протяжении всего исследованного периода развития почка, наряду со своей основной функцией – выделения, выполняла функцию кроветворения. С первых дней развития после вылупления в почке жабы образуются элементы крови всех рядов: эритропоэтического, гранулоцитопоэтического и агранулоцитопоэтического. Большинство исследованных клеток принадлежало к эритропоэтическому ряду. Количество и соотношение форменных элементов крови изменялось у личинки с возрастом. Изучение структуры органа показало, что периферических или центральных зон кроветворения в органе не выявлено, все кроветворные элементы располагаются хаотично, за исключением образования эритропоэтических островков на конечных этапах раннего онтогенеза.

Развивалась почка поэтапно, дифференцируясь пространственно и структурно по мере роста и развития личинки. К концу личиночного периода развития орган представлен парными вытянутыми тяжами со структурными элементами – почечными канальцами и почечными тельцами. У исследованных личинок жабы имели место патологические процессы.

### **Список литературы**

1. Валькович Э.И. Общая и медицинская эмбриология. – Ростов н/Д : Феникс, 2008. – 395 с.
2. Волкова О.В., Елецкий Ю.К. Основы гистологии с гистологической техникой. - 20-е изд. – М. : Медицина, 1982. – 304 с.
3. Волкова О.В., Пекарский М.И. Эмбриогенез и возрастная гистология внутренних органов человека. – М. : Медицина, 1976. – 416 с.
4. Грушко М.П. Особенности гистологической организации некоторых органов кроветворения озерной лягушки (*Rana Ridibunda*) // Вестник Астраханского государственного технического университета. – Астрахань : Изд-во АГТУ. – 2010. – № 1 (49). – С. 78-81.
5. Грушко М.П. Морфофизиологические особенности кроветворения у костистых рыб (на примере воблы (*Rutilus rutilus caspicus*)) // Вопросы рыболовства. – 2010. - № 2 (42). – С. 327-340.
6. Житнева Л.Д., Полтавцева Т.Г., Рудницкая О.А. – Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб. - Ростов-н/Д : Ростовское книжное издательство, 1989.

**Рецензенты:**

Федорова Н.Н., д.м.н., профессор, кафедра «Гидробиология и общая экология», Астраханский государственный технический университет, г. Астрахань.

Курьянова Н.Н., д.м.н., профессор, кафедра «Общественное здоровье, экономика и управление здравоохранением с курсом последипломного образования», Астраханская государственная медицинская академия, г. Астрахань.