

Лепилина И.Н.
Астраханский государственный университет

СОСТОЯНИЕ МЕЗОНЕФРОСА ОСЕТРОВЫХ В СОВРЕМЕННЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

На светооптическом уровне исследовано морфофункциональное состояние мезонефроса осетровых рыб. Выявлены различные изменения в элементах нефрона тулowiщной почки рыб. Отмечены скопления белковых масс в просветах извитых канальцев, в эпителии обнаруживается зернистая дистрофия, отечность стенок канальцев, очаговые кровоизлияния вокруг них, скопления гемосидерина как последствия кровоизлияний. Наличие пигмента и признаки зернистой дистрофии эпителия канальцев, возможно, свидетельствуют о наличии почечнокаменной болезни. Патологические изменения элементов мезонефроса являются ответной реакцией на негативное воздействие окружающей среды.

Введение

Устройство почек у рыб, особенно развитие клубочкового аппарата, говорит о приспособлении к жизни в пресной воде, следовательно, почка является фильтрационно-реабсорбционной системой, выделяющей гипотоническую мочу. У осетровых рыб осморегуляция и поддержание постоянства химического состава крови осуществляются на основе «пресноводной» почки (Наточин, 1976). Морфофункциональные особенности выделительной системы осетровых рыб во многом обусловлены характеристиками среды обитания, которая в последние годы испытывает антропогенный пресс. Гистоморфологические изменения в почках рыб тесно связаны с длительностью воздействия токсикантов и их набором (Романов, 2000). У осетровых рыб обнаружены необратимые изменения, обусловленные кумулятивным токсикозом, свидетельствующие о неблагополучной обстановке на Каспии. В связи с этим целью работы является выявление в тулowiщной почке патологических нарушений у белуги (*Huso huso* L.), осетра (*Acipenser gueldenstaedti* B.), севрюги (*Acipenser stellatus* P.), стерляди (*Acipenser ruthenus* L.), обитающих в Волго-Каспийском бассейне.

Материал и методика

Отпрепарированные кусочки почек промысловых особей осетровых рыб (121 экз.), фиксировали в растворе Буэна и затем обрабатывали по стандартной гистологической методике до заливки в парафин (Ромейс, 1954). Сагиттальные срезы толщиной 3-7 мкм окрашивали гематоксилином-эозином, частично – по Маллори. Определение морфометрических параметров, характеризующих функциональное состояние почек проводилось при помощи окуляра – микрометра на световом микроскопе (Автандилов, 1990). Степень повреждения почек оценивали по шкале (Лесников, Чинарева,

1987), где II балла – легкие повреждения (слабая локальная гиперемия, слабо выраженные отеки); III балла – повреждения средней тяжести (гиперемия, отеки, дегенеративные изменения клеток); IV балла – тяжелые повреждения (дистрофические, некротические изменения); V баллов – симптомы летального отравления.

Материалы обработаны статистически с помощью пакета программ Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

В нефроне осетровых рыб можно выделить сосудистый клубочек, окруженный капсулой (почечное тельце), проксимальный, дистальный канальцы и связующий отдел, соединяющий нефронт с системой собирательных трубочек (Гамбарян, 1985). Каждый отдел выполняет специфические функции и имеет различные морфологические особенности. Выявленные патологические нарушения почек условно можно разделить на четыре группы: патологические изменения в почечных тельцах, в канальцах, в соединительной ткани и сосудах.

Почечное тельце у осетровых рыб образовано клубочком капилляров, заключенных в капсулу. Капсула состоит из двух листков – наружного и внутреннего. Внутренняя (висцеральная) часть представлена эпителиальными клетками – подоцитами, лежащими на базальной мембране. С одной стороны базальную мембрану выстилает однослойный плоский эпителий, с другой – эндотелий капилляров клубочка фенестрированного типа. Большая часть фенестр не закрыта диафрагмами, благодаря чему происходит выделение большого количества тканевой жидкости (Хем, Кормак, 1983). Каждое почечное тельце снабжается артериальной кровью по афферентной артериоле. Полость капсулы сообщается с проксимальным отделом канальца. Основная функция почечного клубочка – выде-

ление клубочкового фильтрата – провизорной мочи. Форма мезонефральных телец была округлой (55%), эллипсовидной (35%), неправильной (10%). Размеры площадей клубочков на гистологических срезах колебалась в зависимости от исследованного вида осетровых. Наибольшие значения были у севрюги – $0,0183 \pm 0,0010$ мм², наименьшие – белуги – $0,0114 \pm 0,0006$ мм². Площадь клубочков осетра и стерляди занимала промежуточное положение – $0,0128 \pm 0,0012$; $0,0159 \pm 0,0012$ мм², соответственно. Площадь мочевого пространства у стерляди составляла $0,0058 \pm 0,0006$, севрюги – $0,0047 \pm 0,0007$, белуги – $0,0045 \pm 0,0007$, осетра – $0,0040 \pm 0,0003$ мм². Площадь сосудистых клубочков с патологическими нарушениями была увеличена на 20-25%, объем мочевого пространства в таких тельцах сокращен или отсутствовал.

Гистоморфологические изменения почечных телец

У всех видов осетровых обнаружены как увеличенные почечные тельца ($d=0,197 \pm 0,002$ мм), так и очень мелкие, атрофированные, с маленьким капиллярным клубочком ($d=0,039 \pm 0,004$ мм) (табл. 1). Капилляры клубочка растянуты петлеобразно и переполнены кровью. Увеличенные почечные тельца занимали всю полость почечной капсулы. В таких тельцах между капиллярными петлями образовывались спайки (гиалиноз), практически отсутствовало мочевое пространство. Иногда «слипшиеся» капиллярные петли примыкали к почечной капсule только с одной стороны, в этом случае остальная часть почечной капсулы была свободной. Выявлен некробиоз эндотелия капиллярных петель, сегментарный некроз почечного тельца. Некоторые тельца имели несколько сосудистых клубочков, объединенных одной капсулой, идентифицированные как полигломерулярные.

Гиалиноз клубочек связан с накоплением вещества, которое выглядит гомогенным и эозинофильным. Наблюдается также увеличение собственно базальной мембранны и мезангимального матрикса, что приводит к облитерации капиллярных петель почечного клубочка (склероз) и развиваются обычно в исходе различных гломерулярных повреждений (Пальцев, Аничков, 2001).

Извитые канальцы, как известно, выполняют две главные функции: стабилизации внутренней среды организма и удаления отходов. В извитых канальцах происходит обратное всасывание большей части фильтрата (вода, глюкоза, соль). Проксимальные извитые канальца находятся вблизи почечных телец, из которых они происходят. Проксимальный извитой каналец у белуги имел длину 3,4, севрюги – 3,6, осетра – 2,2, стерляди – 3,0 мм и наружный диаметр порядка 0,055-0,065 мм (Лесников, Чинарева, 1987). Эпителиальные клетки, прилегающие к базальной мемbrane обычно шире у основания, чем у свободных отделов, выступающих в просвет. Поверхность клеток, обращенных в просвет канальца, покрыта микроворсинками. Морфология проксимальных канальцев может варьировать между двумя крайними разновидностями. В одном случае встречается низкий эпителий при широком и округлом просвете канальца, в другом – высокий эпителий при небольшом просвете. Данное состояние (как и промежуточный вариант) зависит от функциональной активности эпителиальных клеток канальца; степени растяжения просвета канальца клубочковым фильтратом. Считается, что о выработке большого количества фильтрата свидетельствует низкий эпителий и широкий круглый просвет канальца (Хем, Кормак, 1983). Дистальный каналец также образует мно-

Таблица 1. Виды нарушений почечного тельца осетровых рыб, %*

| Виды нарушений | Белуга | Осетр | Севрюга | Стрелядь |
|--|--------|-------|---------|----------|
| Увеличенные в объеме почечные тельца | 2,85 | 5,69 | 9,95 | 2,37 |
| Атрофированные почечные тельца | 8,53 | 4,74 | 2,85 | 1,89 |
| Растяжение петель капилляров | 1,89 | 4,26 | 8,53 | 3,79 |
| Слипание петель капилляров | 2,37 | 4,26 | 5,69 | |
| Отсутствие мочевого пространства | 2,85 | 5,69 | 9,95 | 2,37 |
| Полигломерулярность почечного тельца | 2,37 | 1,89 | 3,32 | |
| Сегментарный некроз | | 0,95 | | |
| Некробиоз эндотелия капиллярных петель | | | 0,95 | |

Примечание. * Проценты от общего количества нарушений, выявленных в почечных тельцах.

Таблица 2. Виды нарушений извитых канальцев осетровых рыб, %*

| Виды нарушений | Белуга | Осетр | Севрюга | Стерлядь |
|-----------------------------------|--------|-------|---------|----------|
| Отек эпителия канальцев | 1,75 | 5,85 | 8,77 | 3,51 |
| Сужение полости извитых канальцев | 1,17 | 4,09 | 7,60 | 2,33 |
| Наличие в полостях белка | 1,46 | 2,05 | 3,2 | 2,05 |
| Мелкокапельная дистрофия | 4,39 | 4,98 | 6,15 | 5,56 |
| Различия в высоте эпителия | 5,26 | 2,92 | 4,68 | 9,95 |
| Разрушения базальной мембранны | | 0,58 | 4,09 | 2,05 |
| Кариолизис | | 0,29 | 0,89 | 1,46 |
| Некроз эпителиальных клеток | | 1,17 | 1,75 | |

Примечание. * Проценты от общего количества нарушений, выявленных в извитых канальцах.

Таблица 3. Виды нарушений в межканальцевой ткани и сосудах почек осетровых рыб, %*

| Виды нарушений | Белуга | Осетр | Севрюга | Стерлядь |
|--|--------|-------|---------|----------|
| Кровоизлияния в межканальцевую ткань | 6,19 | 15,04 | 25,67 | 13,28 |
| Отложения кровяного пигмента | 0,88 | 2,65 | 3,54 | 4,43 |
| Некроз межканальцевой ткани | 0,88 | 0,88 | 3,54 | 0,88 |
| Инфильтрация лейкоцитов | 0,88 | 1,78 | 1,78 | 0,88 |
| Расширение артериальных и венозных сосудов | 5,31 | 1,78 | 3,54 | 6,19 |

Примечание. * Проценты от общего количества нарушений, выявленных в межканальцевой ткани и сосудах почек.

гочисленные изгибы, но он короче проксимального. Его длина колеблется в пределах 1,2 (осетр), 1,9 (севрюга), 2,0 (белуга), 2,1 мм (стерлядь) (Гамбарян, 1985). Диаметр обычно меньше, за счет низких эпителиальных клеток. Щеточная каемка на свободной поверхности отсутствует.

Гистоморфологические изменения почечных канальцев

Высота кубического эпителия канальцев на гистологических срезах варьировала от высокого, призматического ($0,039 \pm 0,004$ мм) до низкого, почти плоского ($0,0089 \pm 0,0002$). Это дает возможность предположить, что не все нефрона туловищной почки функционируют одновременно. В эпителии отдельных канальцев встречено явление мутного набухания, неровности краев эпителиальных клеток, их ядра были смешены к просвету канальцев, либо располагались в базальной части клеток. Ядра эпителия в некоторых извитых канальцах оставались полиморфными: от крупных светлых до пикнотических. Отмечен кариолизис (табл. 2).

В некоторых случаях просвет внутри канальца отсутствовал или был сужен, т.к. имелся отек эпителия; присутствовала мелкокапельная дистрофия эпителия извитых канальцев. В просветах большинства канальцев имелись капли секрета или белка, занимавшего почти весь просвет канальца. В некоторых канальцах вы-

явлен некроз эпителиальных клеток и отслоение от базальной мембранны. Обнаружены полностью некротизированные участки нефронов, которые замещались соединительной тканью.

Соединительнотканые компоненты и сосуды почек и их гистоморфологические изменения

Межканальцевая рыхлая волокнистая неоформленная соединительная ткань обеспечивает питание и опору эпителиальным клеткам. Вокруг базальной мембранны, окружающей канальцы, находятся тонкие ретикулиновые волокна. Там же сосредоточена ретикулярная ткань. В петлях ретикулярной стромы располагаются клетки крови разных стадий зрелости.

На всех препаратах были обнаружены кровоизлияния в межканальцевую ткань, различные по величине и форме. В межканальцевой ткани отмечены участки мелких отложений гемосидерина, что говорит о длительном по времени кровоизлиянии. Отмечался локальный некроз межканальцевой ткани.

Сосудистые расстройства проявлялись в резком расширении артериальных и венозных сосудов, особенно приносящих артериол. Вокруг внутривечевых сосудов наблюдалась инфильтрация лейкоцитов (табл. 3).

В почках осетровых рыб (белуга, осетр, севрюга, стерлядь) были обнаружены патологические изменения мезонефральных телец, извитых

канальцев, межканальцевой ткани и сосудов. Некоторые структуры почек, видимо, более уязвимы для повреждения. Считается, что гломерулярные заболевания чаще бывают иммунологического характера, а канальцевые изменения вызывают токсические или инфекционные агенты (Пальцев, Аничков, 2001). Наличие пигмента и признаки зернистой дистрофии, отека эпителия извитых канальцев может свидетельствовать о почечнокаменной болезни (Моисеенко, 1987, Онищенко, 1991). Наличие белка в просветах канальцев, по-видимому, является следствием апокриновой секреции, своего рода адаптации к меняющимся условиям среды (Янин и др., 2000). Апокриновая секреция в мезонефральных канальцах может быть связана с необходимостью выведения определенных веществ.

Процессы некробиоза в эпителии извитых канальцев могут быть следствием воздействия солей тяжелых металлов (Щерба, 1963). Избирательное действие токсического вещества объясняется реабсорбционной способностью эпителия канальцев, вследствие чего концентрация токсинов в нем увеличивается во много раз. В тоже время в почках относительно быстро происходит регенерация эпителия канальцев при отравлениях соединениями тяжелых металлов (Саркисов, 1966). Обратимые изменения возможны и в клубочковом аппарате. Клубочки могут увеличиваться, часть из них погибать, подвергаться атрофии, склерозу. Гломерулярные, канальцевые изменения влияют на нормальное функционирование почек, являясь причиной многих заболеваний, приводящих к почечной

недостаточности. В тоже время увеличение размеров сохранившихся телец, их гипертрофия, обеспечивает компенсацию функций органа.

В природе преобладает принцип прерывистого, но длительного воздействия патогенных факторов, вследствие чего отмечается индивидуальность поражения почек у рыб. Взаимозависимость структур почки приводит к тому, что повреждение одной из них почти всегда вторично вызывает поражение другой. Первичное заболевание сосудов, например, приводит к повреждению всех структур, зависимых от почечного кровотока. Тяжелое повреждение клубочек переключает кровоток на перитубулярную сосудистую систему. Наоборот, разрушение канальцев обуславливает повышение давления внутри клубочек, что может быть причиной их атрофии. Компенсаторные резервы почек велики. Поэтому, прежде чем возникает явная функциональная недостаточность органа, в нем могут развиться значительные повреждения (Пальцев, Аничков, 2001).

Таким образом, выявленные патологические изменения у осетровых Волго-Каспийского бассейна могут служить индикатором неблагополучного состояния среды их обитания, приводящего к регрессивному состоянию популяций рыб. Деструктивные изменения в мезонефросе осетровых рыб следует расценивать как функциональное накопление и отдаленное последствие воздействия токсических веществ. Поэтому физиологоморфологические исследования необходимы для контроля над воспроизводством и для оценки влияния условий обитания на организм рыб.

Список использованной литературы:

1. Наточин Ю.В. Ионорегулирующая функция почки, Л., Изд-во «Наука», 1976. 268 с.
2. Романов А.А. Морфофункциональные изменения жизненно важных систем организма нижневолжской стерляди в современных экологических условиях // Автореф. канд. биол. наук. Астрахань, 2000. 22 с.
3. Ромейс Б. Микроскопическая техника. М.: Иностр. лит-ра, 1954. 648 с.
4. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М.: Медицина, 1990. – 384 с.
5. Лесников Л.А., Чинарева И.Д. Патологический анализ состояния рыб при полевых и экспериментальных токсикологических исследованиях // Методы ихтиотоксикологических исследований. Л. 1987. С. 80-81.
6. Гамбарян С.П. Микродиссекционное исследование почек осетровых рыб (Acipenseridae) бассейна Каспия // Вопр. ихтиологии. 1985. Т. 25. С. 647-651.
7. Хем А., Кормак Д. Гистология. Пер. с англ. – М.: Мир, 1983. Т. 5. 296 с.
8. Пальцев М.А., Аничков Н.М. Патологическая анатомия. Учебник. Т. 2. Ч. 2. М.: Медицина, 2001. 680 с.
9. Моисеенко Т.И. Диагностика почечнокаменной болезни рыб в естественных водоемах // Методы ихтиотоксикологических исследований. Л., 1987. С. 102-103.
10. Онищенко Л. С. Гистологическое исследование рыб различных акваторий Ладожского озера // Вторая Всесоюз. конф. по рыбнохозяйственной токсикологии: Тез. докл. СПб., 1991. С. 81-83.
11. Янин В.Л., Дунаев П.В., Соловьев Г.С., Пантелеев С.М., Матаев С.И. Мезонефрос. Екатеринбург, 2000. 130 с
12. Щерба М.Л. Некротический некроз // Руководство по внутренним болезням: Болезни почек. М., 1963. С.41-114.
13. Саркисов Д.А. Материалы к вопросу об обратимости хронических изменений внутренних органов // Очерки по проблеме регенерации. М., 1966. С. 113-150.