

## РЕЗУЛЬТАТЫ ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ ГРЕБНЯ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА ПТИЦ

Дегтярев В.В., Шляпникова А.А.

*ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный аграрный университет», Оренбург, Россия (г. Оренбург, ул. Челюскинцев, 18); e-mail: orensau@mail.ru*

В данном исследовании описаны складки гребня сетчатки глаза птиц. Обнаружено, что сосудистая сеть состоит из многочисленных мелкокалиберных капилляров и крупных кровеносных сосудов, различающихся по диаметру их просвета, а также по количеству эндотелиальных клеток, входящих в состав стенок сосудов. Вне зависимости от размеров просвета кровеносных сосудов и от количества эндотелиальных клеток, выстилающих их, сосуды имеют одинаковый принцип строения. Они окружены толстыми базальными мембранами фибриллярной структуры с замурованными в них перицитами. Между собой эндотелиальные клетки соединяются при помощи плотных контактов типа десмосом, не позволяющих проникать между ними клеткам крови и высокомолекулярным веществам и сохраняющих целостность гематофтальмического барьера. Все эндотелиальные клетки кровеносных сосудов на внешней стороне, граничащей с базальной мембраной, имеют многочисленные глубокие базальные инвагинации, а на люминальной стороне глубокие складки цитоплазмы в виде длинных микроворсинок, увеличивающих всасывающую поверхность клетки с внешней стороны и со стороны кровеносного русла. Сделано заключение, что интенсивный транспортный обмен метаболитами между кровью, внутриглазной жидкостью и структурами гребня сетчатки происходит путем активной диффузии.

Ключевые слова: глаз, птица, сетчатка, микроморфология, электронная микроскопия.

## ELECTRON MICROSCOPIC STUDY OF THE ULTRASTRUCTURE OF THE CREST OF THE RETINA OF BIRDS

Degtyarev V.V., Shlyapnikova A.A.

*VPO "Orenburg State Agrarian University", Orenburg, Russia (Orenburg, ul. Chelyuskintsev,18); e-mail: orensau@mail.ru*

This study describes crest folds of retina birds. It was found that the vascular network consists of many small-bore capillary and large blood vessels, they differ in the diameter of the lumen, as well as the number of endothelial cells that make up the vascular wall. Regardless of the size of the lumen of blood vessels and the amount of endothelial cells lining them vessels have the same principle of the structure. They are surrounded by a thick basal membrane fibrillar structures with immured in them pericytes. Between endothelial cells are connected by tight junctions such as desmosomes, do not allow to penetrate between blood cells and macromolecular substances, and preserving the integrity of the blood-barrier. All endothelial cells of the blood vessels on the outer side bordering the basal membrane have numerous basal deep invaginations, and at the luminal side of the deep folds in the cytoplasm as long microvilli, increasing the suction surface of the cell from the outside and from the bloodstream. Concluded that the intense traffic exchange between blood metabolites, intraocular fluid and retinal structures crest occurs by active diffusion.

Keywords: an eye, the bird, a retina, micromorphology, electron microscopy.

Гребень глазной это сосудистая и пигментированная структура, свойственная птичьему глазу. Он расположен над зрительным нервом и выступает из сетчатки в стекловидное тело. Складки гребня соединены на вершине сильно пигментированного моста, который внешне напоминает веер, широкий у основания. Некоторые работы посвящены изучению гребня страуса, большой рогатой совы, голубя, перепелки, скворца, коршуна, большой голубой цапле, канюку, красному ястребу, пятнистому филину, эму, в которых описаны виды гребня, количество складом и особенности строения. Несмотря на то, что гребень хорошо известен более века, функция все еще вызывает споры [3-10].

Основная **цель** данного исследования заключается в расширении электронно-микроскопического исследования гребня сельскохозяйственных птиц.

### **Материал и методы исследования**

Для электронно-микроскопического исследования кусочки тканей фиксировали в 2,5%-ном растворе глутаральдегида, приготовленного на фосфатном буфере Миллонига (рН 7,2–7,4). Дофиксация производилась в 1%-ном растворе OsO<sub>4</sub> на том же буфере. Материал обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в эпон-812 по общепринятой методике (Уикли Б., 1975). Предварительно готовили полутонкие срезы толщиной 1 мкм и окрашивали их толуидиновым синим на 2,5 %-ном растворе безводной соды. На полутонких срезах выбирали участки для электронно-микроскопического исследования. Полутонкие и ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKB-III 8800 (Швеция). Ультратонкие срезы контрастировали 2%-ным водным раствором уранилацетата, цитратом свинца по Рейнольдсу, изучали и микроскопировали в трансмиссионном микроскопе JEM-1011 (Jeol, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ [1-2].

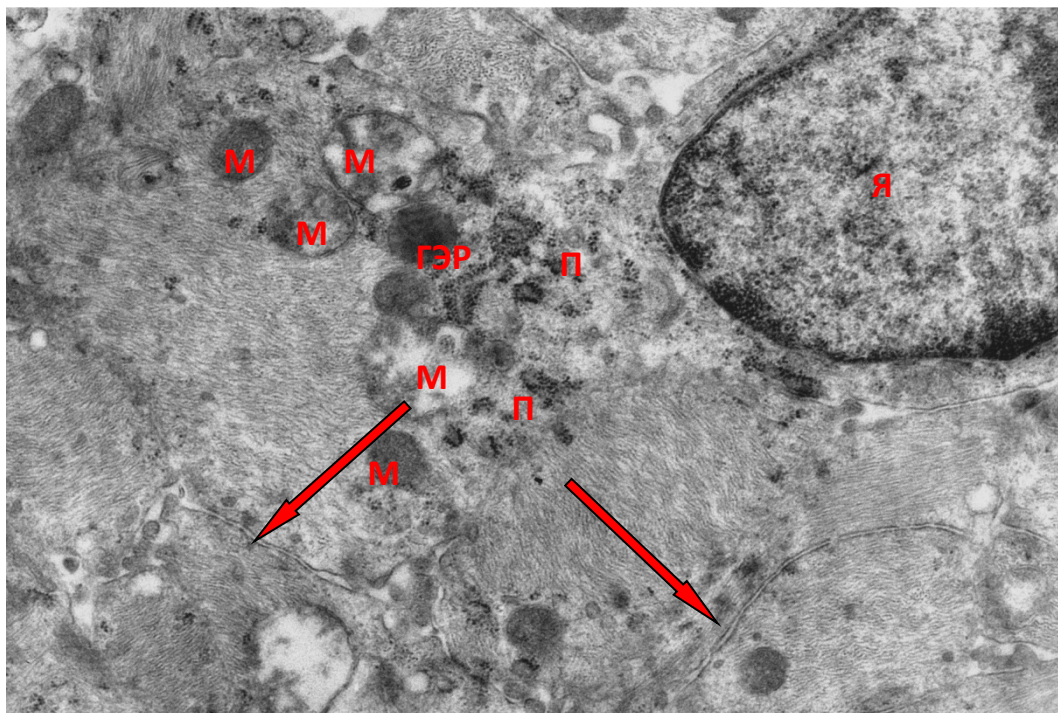
### **Результаты исследования**

Апикальная сторона гребня сетчатки глаза, так называемый «мост», скрепляющий все складки гребня, состоит из нескольких рядов (5-7) плотно уложенных глиальных клеток - глиоцитов, которые вместе формируют относительно широкую глиальную ленту (25-40 мкм).

Глиальные клетки представлены пигментированными и непигментированными формами. Клетки полиморфны, в основном удлинённой формы, разных размеров. Можно условно назвать их даже отростчатыми, так как большинство из них сильно вытянуты, и периферические части представлены в виде толстых отростков. Пигментированные глиальные клетки (меланоциты) составляют большинство. И у тех, и у других глиальных клеток наблюдается полиморфизм ядер и разброс их размеров. Встречаются округлые, овальные, удлинённые ядра в основном с ровной поверхностью. Хроматин в ядрах представлен мелкогранулярным материалом, равномерно рассеянным в кариоплазме (эухроматин). Отдельные ядра имеют неровную ядерную поверхность. Чаще всего в таких ядрах выявляется довольно крупное ядрышко, в котором просматривается фибриллярный центр и плотный фибриллярный компонент. В кариоплазме определяется гранулярный компонент, а на внутренней ядерной мембране некоторое количество гетерохроматина. Перечисленные признаки являются свидетельством усиления белоксинтетических процессов в ядре.

Цитоплазму пигментированных и непигментированных глиоцитов густо пронизывают тонкие микрофиламенты (6-7 нм). Большинство органелл в клетках находится в

перинуклеарной зоне. В цитоплазме непигментированных глиоцитов наряду с небольшим количеством мелких овальных митохондрий с темным матриксом определяется и некоторое количество крупных митохондрий со светлым матриксом и редкими кристами. Вокруг ядра располагается небольшое количество коротких цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума (ГЭР) и полирибосом (рис.1). При этом разбросанных по цитоплазме отдельных рибосом определяется немного.

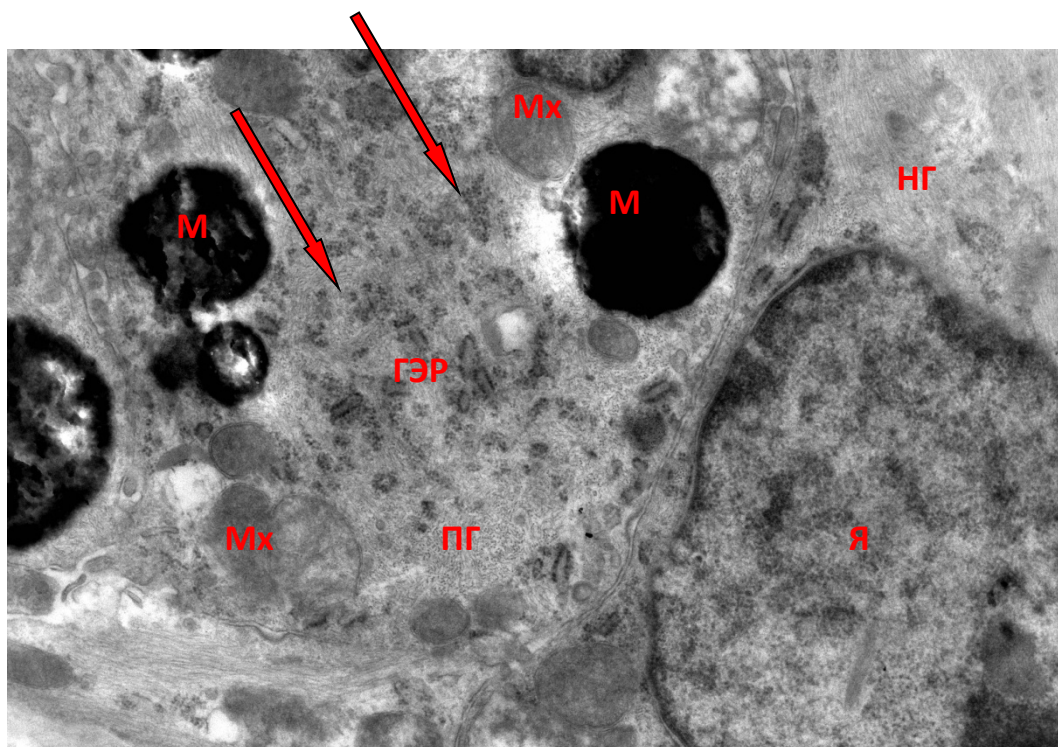


*Рис.1. Ультраструктура апикальной стороны (моста) гребня сетчатки утки. Непигментированная глиальная клетка с микрофиламентами в цитоплазме. Я – ядро; М – митохондрии; ГЭР – гранулярный эндоплазматический ретикулум; П – полирибосомы; простые контакты между клетками (↑). Электронная микрофотография. Увел.Х6000*

Пигментированные глиальные клетки в цитоплазме содержат те же органеллы, что и непигментированные, примерно в том же количестве и таких же размеров. Только, кроме того, в цитоплазме меланоцитов еще присутствуют округлые крупные электроноплотные меланосомы – органеллы, содержащие темный пигмент меланин (рис.2).

Между собой пигментированные и непигментированные глиоциты большей частью скрепляются при помощи простых контактов, когда клеточные мембраны сближены, а между ними просматривается щель шириной 10-20 нм (видно на рис.1). Между отдельными клетками, особенно между их периферическими частями, выявляются плотные контакты в виде десмосом. У пограничных глиальных клеток, окаймляющих апикальную часть моста, на латеральной стороне выявляются пальцевидные выросты плазматической мембраны – микроворсинки, увеличивающие всасывающую поверхность клетки.

Они обращены кнаружи из клетки вглубь небольшого резервуара. Данный резервуар по структуре очень похож на секреторный каналец. Так как морфологические признаки секреторной деятельности глиальных клеток полностью отсутствуют, можно предположить, что эти каналцы, проходящие по всей толще многорядной глиальной полосы, также предназначены для увеличения всасывающей поверхности клеток, и для беспрепятственной циркуляции внутриглазной жидкости внутри моста гребня сетчатки. Такие же каналцы и микроворсинки в них обнаруживаются во всех внутренних клеточных слоях моста.



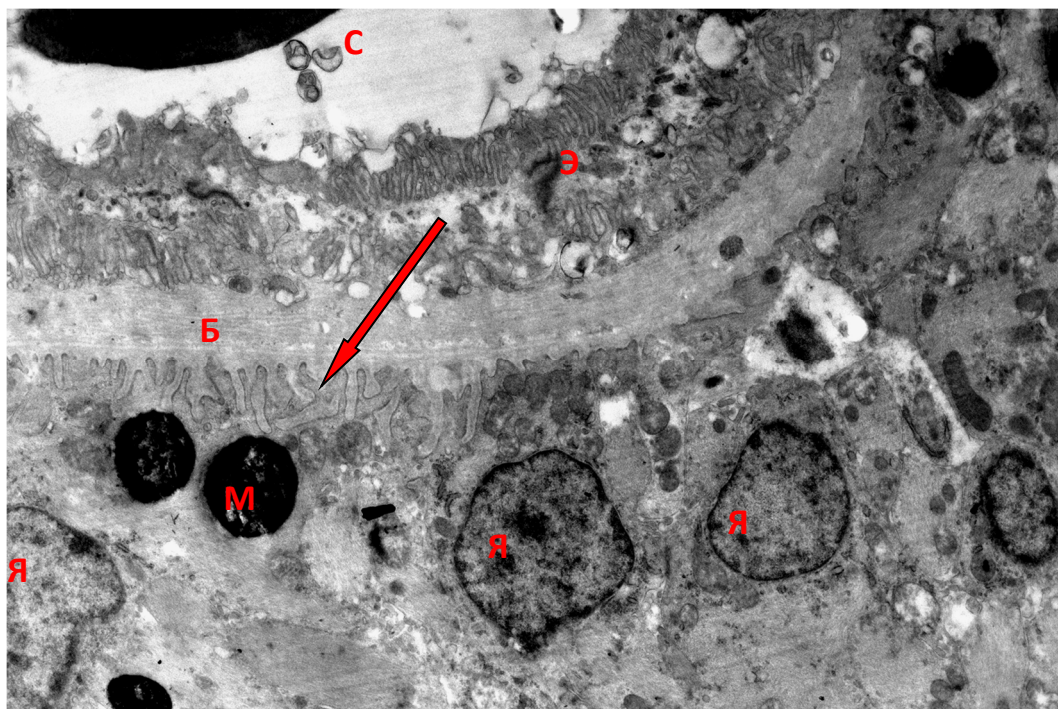
*Рис.2. Ультраструктура апикальной стороны (моста) гребня сетчатки утки. Фрагменты пигментированной (ПГ) и непигментированной (НГ) глиальных клеток. Я – ядро; Мх – митохондрии; ГЭР – гранулярный эндоплазматический ретикулум; М – меланосомы; полирибосомы (ПГ). Электронная микрофотография. Увел.Х6000*

Плазмолемма апикальной поверхности пограничных глиальных клеток моста внутрь в полость глазного яблока формирует многочисленные не слишком длинные и не совсем тонкие микроворсинки - выросты, похожие на клеточные отростки

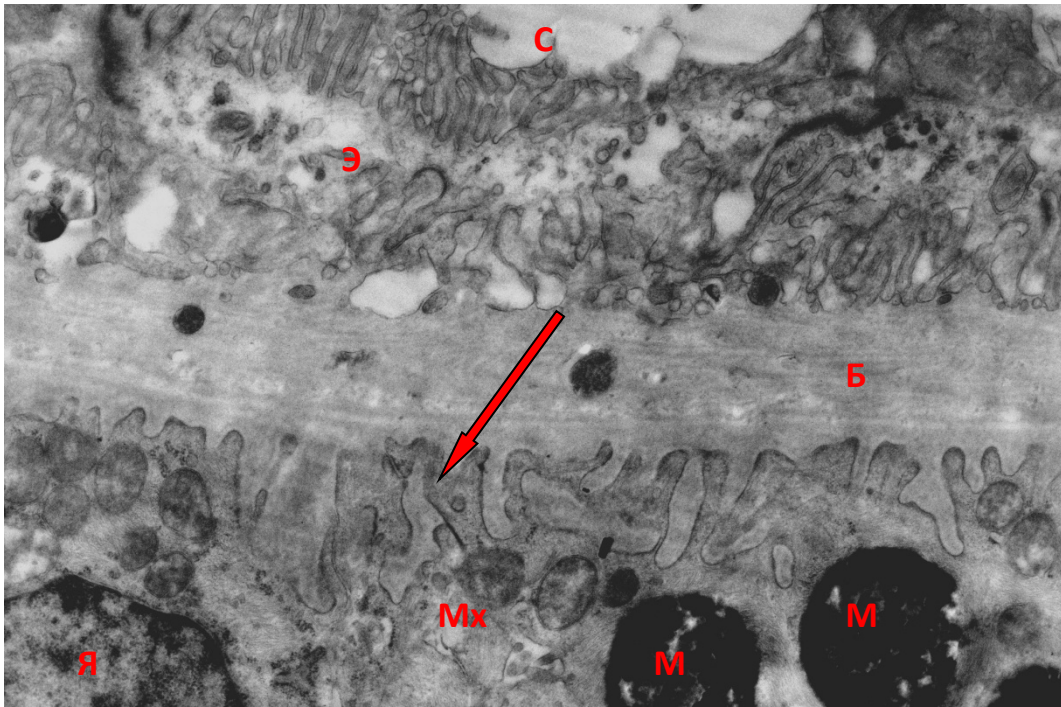
Наружная поверхность цитолеммы покрыта толстым слоем тонковолокнистого материала, соответствующего гликокаликсу. Внутри каждой микроворсинки актиновые микрофиламенты располагаются параллельно поверхности мембраны в виде компактно упакованных пучков. Кроме большого количества типичных для глиальных клеток микрофибрилл, иногда в основании клеточных выростов определяются клеточные органеллы – митохондрии, полирибосомы и даже иногда короткие каналы ГЭР. Если большинство пограничных глиальных клеток моста имеют на поверхности относительно длинные

микроворсинки, то у некоторых клеток они представлены в виде уплощенных коротких широких выростов цитоплазмы.

С другой стороны моста (к базальной стороне) прикрепляются многочисленные складки гребня, состоящие из капилляров, крупных кровеносных сосудов и глиальных клеток (рис.3). Электронная микроскопия показала, что глиальные клетки (пигментированные и непигментированные) на базальной стороне моста, также как на апикальной стороне моста, имеют на поверхности многочисленные выросты цитоплазмы типа ворсинок. Около них в цитоплазме клеток обнаруживается большое количество округлых митохондрий – энергетических станций клеток. Наружная поверхность цитолеммы микроворсинок покрыта толстым слоем гликокаликса, который беспрерывно переходит в довольно широкую (5-10 мкм) базальную мембрану кровеносных сосудов (рис.4).

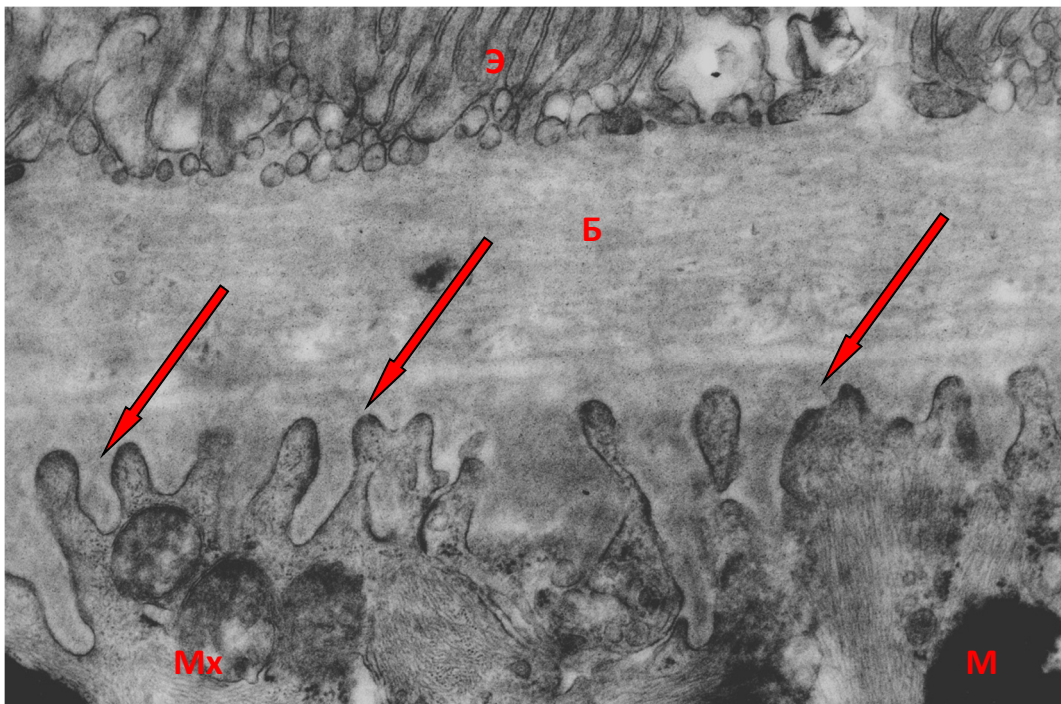


*Рис.3. Ультраструктура базальной стороны (моста) гребня сетчатки гуся. Глиальные клетки, прикрепляющиеся к базальной мембране. Я – ядро; Мх – митохондрии; М – меланосомы; Б – базальная мембрана; С – просвет кровеносного сосуда; Э – эндотелиоцит; микроворсинки (↑). Электронная микрофотография. Увел.Х2000*



*Рис.4. Ультраструктура базальной стороны (моста) гребня сетчатки утки. Микроворсинки ( $\uparrow$ ), прикрепляющиеся к базальной мембране. Я – ядро; Мх – митохондрии; М – меланосомы; Б – базальная мембрана; С – просвет кровеносного сосуда; Э – эндотелиоцит. Электронная микрофотография. Увел.Х2000*

Широкая базальная мембрана состоит из аморфной прозрачной массы, в которой выявляются многочисленные коллагеновые фибриллы с диаметром примерно около 10 нм (рис.5).



*Рис.5. Ультраструктура базальной стороны (моста) гребня сетчатки утки. Микроворсинки прикрепляющиеся к базальной мембране (Б). Мх – митохондрии; М –*

*меланосомы; Э – эндотелиоцит; малодифференцированные полудесмосомы на микроворсинках (↑) Электронная микрофотография. Увел.Х16000*

Вдоль базальной мембраны на выпирающих поверхностях микроворсинок видны диффузные уплотнения, соответствующие слабодифференцированным полудесмосомам.

### **Вывод**

Таким образом, складки гребня сетчатки глаза птиц представляют собой богатую сосудистую сеть, поддерживающуюся пластами пигментированных и непигментированных глиальных клеток. Сосудистая сеть состоит из многочисленных мелкокалиберных капилляров и крупных кровеносных сосудов, различающихся по диаметру их просвета, а также по количеству эндотелиальных клеток, входящих в состав стенок сосудов. Вне зависимости от размеров просвета кровеносных сосудов и от количества эндотелиальных клеток, выстилающих их, сосуды имеют одинаковый принцип строения. Они окружены толстыми базальными мембранами фибриллярной структуры с замурованными в них перицитами. Между собой эндотелиальные клетки соединяются при помощи плотных контактов типа десмосом, не позволяющих проникать между ними клеткам крови и высокомолекулярным веществам и сохраняющих целостность гематофтальмического барьера. Все эндотелиальные клетки кровеносных сосудов на внешней стороне, граничащей с базальной мембраной, имеют многочисленные глубокие базальные инвагинации, а на люминальной стороне глубокие складки цитоплазмы в виде длинных микроворсинок, увеличивающих всасывающую поверхность клетки с внешней стороны и со стороны кровеносного русла. Перечисленные морфологические признаки указывают на то, что интенсивный транспортный обмен метаболитами между кровью, внутриглазной жидкостью и структурами гребня сетчатки происходит путем активной диффузии.

Между собой пигментированные и непигментированные глиоциты в складках гребня сетчатки соединяются при помощи простых контактов и плотных контактов в виде десмосом. Между глиальными клетками выявляются многочисленные каналцы с утолщенными микроворсинками внутри. Признаков выработки секреторных веществ внутри клеток не обнаружено. Создается впечатление, что эти каналы проходят по всей толще складок, начиная от моста гребня и до базального конца гребня со стороны зрительного нерва, и предназначены для беспрепятственной циркуляции внутриглазной жидкости по ним.

### **Список литературы**

1. Микроскопическая техника: Руководство / Под.ред. Д.С. Саркисова и Ю.Л. Перова. – М.: Медицина. – 1996. – 544 с.

2. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. Пер. с англ. – М: Мир. – 1975. – 324 с.
3. Braekevelt CR. Fine structure of the pecten of the pigeon (*Columba livia*) *Ophthalmologica*.1988;196(3):151–159.
4. Brach V. The functional significance of the avian pecten: a review. *Condor*. 1977;79(3):321–327.
5. Braekevelt CR. Fine structure of the pecten oculi in the American crow (*Corvus brachyrhynchos*) *Anatomia, Histologia, Embryologia*. 1994;23(4):357–366.
6. Kiama SG, Bhattacharjee J, Maina JN, Weyrauch KD. A scanning electron microscope study of the pecten oculi of the black kite (*Milvus migrans*): possible involvement of melanosomes in protecting the pecten against damage by ultraviolet light. *Journal of Anatomy*. 1994;185(3):637–642.
7. Kiama SG, Maina JN, Bhattacharjee J, Mwangi DK, Macharia RG, Weyrauch KD. The morphology of the pecten oculi of the ostrich, *Struthio camelus*. *Annals of Anatomy*. 2006;188(6):519–528.
8. Onuk B, Tutuncu S, Alam A, Kabak M, Ince NG. Macroanatomic, light and scanning electron microscopic studies of the pecten oculi in the stork (*Ciconia ciconia*) *Microscopy Research and Technique*.2013; 76(9):963–967.
9. Orhan IO, Ekim O, Bayraktaroğlu AG. Morphological investigation of the pecten oculi in quail (*Coturnix coturnix japonica*) *Ankara Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*. 2011;58(1):5–10.
10. Raviola E, Raviola G. A light and electron microscopic study of the pecten of the pigeon eye. *American Journal of Anatomy*. 1967;120(3):427–462.

**Рецензенты:**

Сеитов М.С., д.б.н., профессор кафедры незаразных болезней животных, Оренбургский ГАУ, г. Оренбург;

Баймишев Х.Б., д.б.н. профессор, заведующий кафедрой анатомии, акушерства и хирургии ФГБОУ ВПО «Самарская ГСХА», г. Самара.