

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение науки Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук (ИППИ РАН)

На правах рукописи

Алипер Алексей Тарасович

Структура рецептивных полей и цветокодирующие свойства элементов с фоновой активностью ретинотектальной системы карпообразных рыб.

Специальность 1.5.8 —
«Математическая биология, биоинформатика»

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
кандидат биологических наук
Максимова Елена Михайловна

Москва — 2025

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. Обзор литературы	11
1.1. Цветоразличение у рыб	11
1.2. Ганглиозные клетки	14
1.3. Арборизация аксонов	16
1.4. Стратификация в тектуме	17
1.5. Детекторы движения в ретинотектальной системе рыб.	18
1.6. Цветовая оппонентность в сетчатке	24
Глава 2. Материалы и методы	30
2.1. Животные	30
2.2. Подготовка к эксперименту	30
2.3. Регистрация	31
2.4. Зрительная стимуляция	31
2.5. Измерение рецептивных полей	32
2.6. Зависимость интенсивности ответа от размера стимула	33
2.7. Зависимость интенсивности ответа от размера стимула	34
2.8. Селективная цветная стимуляция	34
Глава 3. Результаты	37
3.1. Определение и общая характеристика ЭФА	37
3.1.1. Регистрация ЭФА	37
3.1.1. Общие свойства ЭФА	39
3.1.1. Контрастная чувствительность ЭФА	41
3.2. Исследование центральной части рецептивных полей	42
3.2.1. Измерение центральной части РП	42

3.2.2. Реакции на подвижные стимулы	44
3.3. Свойства периферии рецептивных полей ЭФА	47
3.4. Цветовые свойства ЭФА	52
3.4.1. Цветовые свойства ЭФА OFF-типа	53
3.4.1.1. Цветокodирование ЭФА OFF типа	53
3.4.1.2. Цветооппонентность в центре РП ЭФА OFF-типа	59
3.4.1.3. Цветная стимуляция периферической части РП	63
3.4.1. Цветовые свойства ЭФА ON-типа	67
3.4.1.1. Цветокodирование у ЭФА ON-типа	67
3.4.1.2. Цветооппонентность в центре РП ЭФА OFF-типа	68
3.4.1.1. Цветная стимуляция периферической части РП	71
3.5. Обсуждение главы 3	71
3.5.1. Общая характеристика ЭФА	71
3.5.2. Рецептивные поля ЭФА	73
3.5.2. Цветовые свойства ЭФА.	74
Заключение	83
Выводы	84
Благодарности	85
Список литературы	86
Словарь терминов	95
Список сокращений и условных обозначений	96
Список рисунков	97
Список таблиц	98

Актуальность исследования

Исследование зрительной системы человека и животных направлено как на изучение механизмов непосредственно зрения, так и на расширение понимания работы нервной системы вообще. Неоспоримым методологическим преимуществом здесь является простота понимания входного сигнала (зрительного стимула) и возможности контролировать его параметры, в отличие от работы с другими сенсорными модальностями, например, хеморецепцией или механорецепцией. Знание о зрительных механизмах необходимо для правильной организации зрительной гигиены труда людей. Оно может быть использовано и уже активно используется при разработке зрительных электронных протезов для слабо видящих людей. Кроме того, понимание алгоритмов обработки зрительной информации в живых системах может помочь в усовершенствовании алгоритмов, разрабатываемых для машинного зрения.

Рыбы – прекрасный модельный объект для исследования зрительной физиологии позвоночных животных. Одним из наиболее часто использующихся на данный момент модельных животных стали *Danio rerio*, чей геном полностью секвенирован, что позволяет использовать данный вид в экспериментах наравне с классическими объектами, такими как дрозофила и мышь. Серебряный карась таксономически близок к данио. В том числе показательно, что максимумы поглощения их зрительных пигментов идентичны, что особенно важно для сопоставления данных исследования сетчатки обоих видов.

Исследование электрических реакций нейронов сетчатки направлены на изучение их функциональных свойств и вовлеченности в поведенческие реакции. На данный момент мы уверенно различаем 13 функциональных типов ганглиозных клеток сетчатки, проецирующихся в *tectum opticum* (ТО) –

главный зрительный центр рыб, ответственный за организацию различных форм поведения (охота, избегание).

Такого рода исследования проводятся и другими методами на выделенной сетчатке мышей или на мальках данио. В современной мировой практике зрительная стимуляция представляет собой набор стандартных процедур стимуляции (вспышки в широком поле, пятна, движущиеся решетки). Данный подход оказывается недостаточен для подробного исследования функциональных свойств всех зрительных нейронов. Использование хаотической стимуляции (белого шума) с последующей автоматизированной обработкой экспериментальных данных хотя и позволяют получать и анализировать данные для множества нейронов одновременно, но полностью игнорирует возникающие латеральные взаимодействия в рецептивных полях нейронов.

Микроэлектродные экстраклеточные отведения реакций от одиночных окончаний аксонов ГК в ретинореципиентном слое в *tectum opticum* (легко доступном) живой взрослой рыбы позволяют подробно исследовать функциональные свойства каждого зарегистрированного элемента. Использование уникальной системы зрительной стимуляции (широкий спектр стимулов, близких к натуральным, в том числе селективные цветные стимулы, отдельно возбуждающие L, M, S колбочки) позволяет гибко адаптировать условия стимуляции под каждый элемент. Многие свойства регистрируемых элементов удаётся выявить в процессе опыта, благодаря частичной on-line обработке.

Степень разработанности темы исследования

Несмотря на пристальное внимание к сетчатке рыб и, в частности, к ганглиозным клеткам, на данный момент не опубликовано работ, в которых бы описывались бы свойства элементов с фоновой активностью сетчаточной природы, проецирующихся в *tectum opticum* рыб.

Цель и задачи исследования

Целью настоящей работы было изучить функциональные свойства элементов с фоновой активностью ЭФА сетчатки рыб и выявить их возможную роль в зрении.

В соответствии с этими целями были поставлены следующие задачи:

1. Подобрать адекватную стимуляцию для ЭФА;
2. Исследовать ахроматические свойства ЭФА, такие как предпочтение к размерам стимула, контрасту и т.п.;
3. Исследовать рецептивные поля ЭФА: их размеры, взаимодействия центра и периферии;
4. Исследовать цветовые свойства ЭФА.
5. На основе полученных данных сформулировать функциональную классификацию ЭФА.

Научная новизна

Разработана технология регулярной регистрации одиночных реакций от окончаний аксонов ГК с делящейся импульсной активностью (элементов с фоновой активностью – ЭФА), ранее не исследованные другими авторами. Показано, что предпочтительными стимулами для ЭФА являются крупные контрастные пятна предпочитаемого знака контраста (темные для OFF-типа, светлые для ON-типа). Установлен горизонт ретинорецепиентного слоя, куда проецируются окончания ЭФА (глубина порядка 200 мкм). Продemonстрировано, что кривая контрастной чувствительности ЭФА отличается от таковой у других описанных ГК меньшей крутизной насыщения.

Проведена оценка размеров центральной части рецептивных полей ЭФА. Среднее значение размеров центральной части рецептивного поля (ВРП) ЭФА составляет $5.0^\circ \pm 1.13^\circ$.

Продemonстрировано, что ЭФА обладают реактивной периферией РП, при этом периферия оппонента центру РП.

Исследованы цветовые свойства ЭФА. Показано, что ЭФА OFF-типа разделяются на три группы по цветокодирующим свойствам. Группы 1 и 2

являются цветооппонентными с разными профилями оппонентности. ЭФА ON-типа представляют собой единообразную группу цветооппонентных клеток.

Полученные данные подробно описывают ранее не изученный тип ГК сетчатки рыб – ЭФА.

Долгое время среди ганглиозных клеток сетчатки не удавалось обнаружить клетки, способные обеспечить цветоразличение, несмотря на то что в поведенческих опытах показано, что к цветоразличению рыбы способны. Оставалось загадкой, какие зрительные центры могут участвовать в цветном зрении у рыб. В данной работе продемонстрировано, что ЭФА, проецирующиеся в *tectum opticum* способны реализовать цветоразличение. Выделено три группы дважды цветооппонентных нейронов с разными цветокодирующими свойствами, к тому же достаточно многочисленные для реализации цветового зрения у рыб.

Теоретическая и практическая значимость работы

В теоретической плоскости значимость работы состоит в том, что теперь вопрос о представительстве информации о цвете в мозге рыб можно считать решенным: показано, что в *tectum opticum* приходят окончания ретинальных элементов, способных к цветоразличению – ЭФА. В работе детально описаны как цветовые, так и ахроматические свойства ЭФА, ранее не исследованные другими авторами.

Данная работа является фундаментальной, однако практическую значимость могут иметь раскрытые в ней принципы обработки зрительной информации. Они могут помочь расширить представление об алгоритмах, используемых при обработке зрительной информации в машинном зрении.

Методология и методы исследования

Электрофизиологические опыты проводились при помощи платинированных микроэлектродов, изготовленных в лаборатории непосредственно перед каждым опытом. Для подведения микроэлектрода к областям регистрации сетчаточных элементов в *tectum opticum* применялся

микроманипулятор Sutter MP-285. Электрофизиологическая установка изготовлена непосредственно на базе лаборатории специально для исследования ретинотектальной системы рыб. Стимуляция, управление ей и первичная обработка зарегистрированных ответов зрительных нейронов производились при помощи программного обеспечения, разработанного на базе лаборатории. Статистическая обработка результатов произведена при помощи программного обеспечения GraphPrism.

Основные результаты и положения, выносимые на защиту:

1. В *tectum opticum* из сетчатки проецируются аксоны ЭФА ON-типа и OFF-типа. Это зрительные нейроны, отвечающие длящимся импульсным разрядом на крупные контрастные пятна предпочтительного знака контраста.
2. Рецептивные поля ЭФА имеют концентрическую структуру с центральной частью и периферией. Периферия рецептивных полей ЭФА реактивна и оппонента центру.
3. ЭФА OFF-типа подразделяются на три группы по профилям цветокодирования. 1 группа представляет собой дважды цветооппонентные клетки с профилем оппонентности $L+/M-$; вторая группа представлена дважды цветооппонентными клетками с профилем оппонентности $S+/L-$; третья группа не является цветооппонентной и не демонстрирует цветоспецифичных ответов.
4. ЭФА ON-типа являются дважды цветооппонентными с профилем оппонентности $L+/M-$, $S-$.

Достоверность полученных результатов для ЭФА косвенно подтверждается тем, что результаты, полученные тем же методом ранее для других типов проекций сетчатки в *tectum opticum*, полностью согласуются с ключевыми исследованиями, опубликованными другими авторами. Так как свойства непосредственно ЭФА описываются в рамках данной работы впервые, то сопоставить их не с чем.

Личный вклад автора

Автор диссертации внес основной вклад в проведение изложенных ниже исследований. Основной объем данных получен на элементах, зарегистрированных автором собственноручно. До этого одиночные отведения ЭФА были крайне редки. Автор диссертации участвовал в разработке подходов к стимуляции ЭФА, в том числе тех, которые стали ключевыми для данной работы. Все электрофизиологические исследования, лежащие в основе данной работы проведены при непосредственном участии автора. Автор принимал непосредственное участие в обсуждении результатов и написании публикаций по результатам, а также представлял результаты исследований на конференциях, в том числе международных.

Апробация результатов

Результаты работы были представлены на конференциях European Retina Meeting (ERM) (Брайтон, Великобритания, 2015, Париж, Франция, 2017, Тюбингене, Германия, 2023) и на конференциях «Информационные технологии и системы» (ИТиС 2017, ИТиС 2019, ИТиС 2023, ИТиС 2024), и других.

Публикации

В рамках темы диссертации было опубликовано 3 статьи в научных журналах, индексируемых в Web of Science и Scopus:

1. Алипер А. Т. Размеры рецептивных полей спонтанно-активных ганглиозных клеток сетчатки серебряного карася // Сенсорные системы, 2018, том 32, №1, с. 8-13
2. Aliper, A.T., Zaichikova, A.A., Damjanović, I. et al. Updated functional segregation of retinal ganglion cell projections in the tectum of a cyprinid fish—further elaboration based on microelectrode recordings. *Fish Physiol Biochem* 45, 773–792 (2019)

3. Maximova, E.M., Aliper, A.T., Damjanović, I.Z. et al. Ganglion Cells with Sustained Activity in the Fish Retina and Their Possible Function in Evaluation of Visual Scenes. *Neurosci Behav Physi* 51, 123–133 (2021)

Объем и структура работы.

Диссертация состоит из введения, 3 глав и заключения. Полный объем диссертации составляет 98 страниц, включая 34 рисунка и 4 таблицы. Список литературы содержит 99 наименований.

1.1. Цветоразличение у рыб

Традиционно наибольший интерес исследователей механизмов обработки зрительной информации в сетчатке прикован к трем группам животных: к грызунам и, в частности, мышам, как к наиболее распространенному объекту экспериментальных изысканий; к приматам из-за их эволюционной близости к человеку; а в последнее время и к некоторым видам рыб.

Сетчатка всех позвоночных животных устроена по единой схеме (рис. 1). Поэтому для исследования общих принципов и механизмов организации сетчатки рыбы активно используются как модельный объект. Рыбы обладают хорошим цветовым зрением, о чем свидетельствуют как их набор зрительных пигментов (большинство из них является три- или тетрахроматами) (Allison et al. 2010; Engström 1960; Raymond et al. 1993), наличие цветооппонентных горизонтальных и ганглиозных клеток (Tomita, 1965; Daw, 1968; Максимова, 1969; Kaneko, 1973; Stell, 1975; Максимова и др., 1978; Wagner HJ, Wagner E, 1988; Yazulla, Studholm, 2001), так и данные поведенческих экспериментов, в которых рыбы показывают прекрасные способности по цветоразличению (Neumeyer, 1992, Escobar-Camacho et al., 2017). Таким образом, рыбы предстают хорошим объектом для исследования механизмов обработки зрительной информации в сетчатке. Всесторонне изученными объектами в данной области можно считать семейство двух представителей семейства карпообразных - *Danio rerio* и род *Carassius*. Кроме того, рыбы, как холоднокровные животные, не так чувствительны к изменениям окружающей среды, что оставляет больше свободы при разработке методов острых экспериментов и исследований *in vitro*.

Для взрослых особей карпообразных рыб характерна равномерная мозаика фоторецепторов, включающая четыре типа колбочек. Она представляет собой чередующиеся ряды из двойных колбочек, включающих красные (LWS)

и зеленые (RH2) фоторецепторы, и из одиночных синих (SWS2) и ультрафиолетовых (SWS1) колбочек (далее называемые L, M, S соответственно) (Allison et al. 2010, Engström 1960, Raymond et al. 1993). При этом количество красных (L) и зеленых (M) колбочек превышает количество синих (S) и ультрафиолетовых (UV) примерно в два раза. Максимумы поглощения пигментов колбочек карася составляют L-623 нм, M-537 нм, S-447 нм и UV-356 нм (Palacios et al. 1996; Maximova et al., 2005). У данио пики поглощения несколько смещены в коротковолновую область с длинами волн L-565 нм, M-477 нм, S-415 нм и UV-360 нм (Meier et al., 2018).

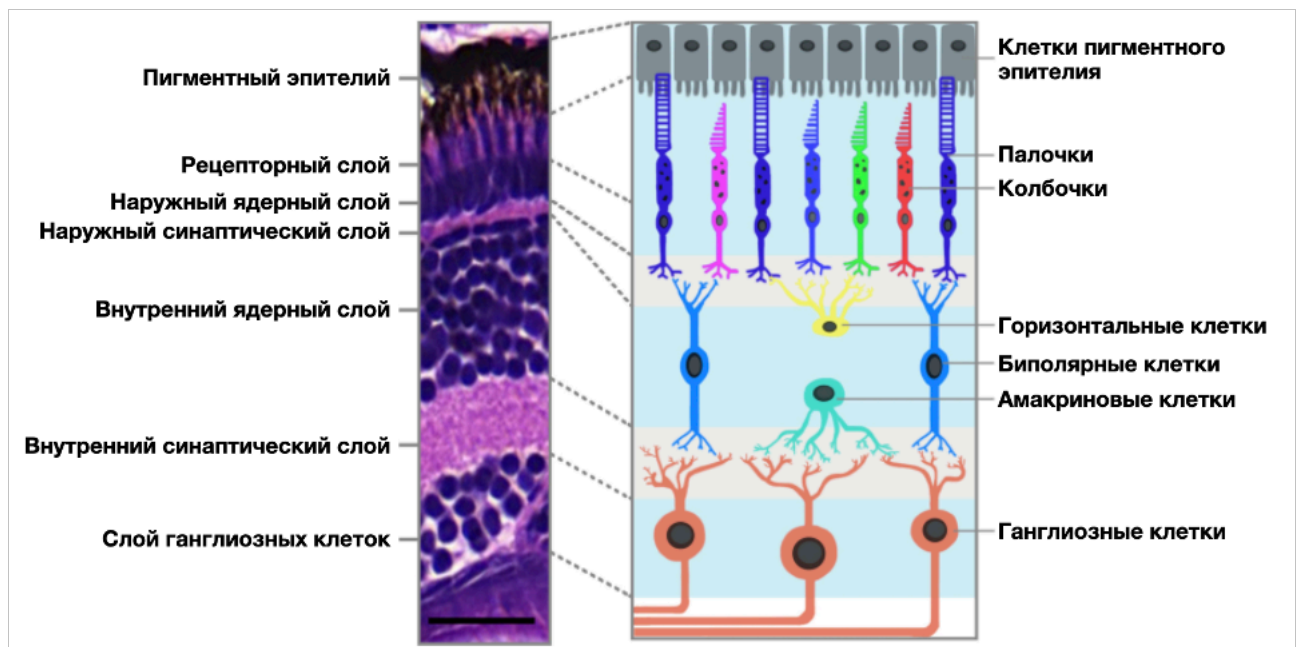


Рисунок 1 – Схема сетчатки позвоночных (по Xiao-Fan et al., 2022)

С эволюционной точки зрения связь между разнообразием зрительных пигментов и различаемыми цветами является очевидной: если признак не используется, то он неизбежно утрачивается. А значит, наличие четырех типов пигментов колбочек само по себе говорит о соответствующем цветоразличении. Однако с формально-логической точки зрения это утверждение требует непосредственных доказательств. Чтобы говорить о тетрахроматическом цветовом зрении, необходимо, чтобы все различаемые животным цвета охватывались четырьмя основными цветами. Это было продемонстрировано в поведенческих опытах на карасях, которым требуется смесь четырех

монохроматических источников света, чтобы создать соответствие спектрально «плоскому» белому (Neumeuer, 1992). Далее автор обнаружила доказательства наличия трех цветооппонентных механизмов, обучив рыб поведенческим ответам на монохроматические стимулы и затем проверив соотношение интенсивностей в комбинациях пар монохроматических стимулов, необходимых для установления соответствия. В данном эксперименте цвета, к которым производилось обучение, располагались между спектральными максимумами колбочек карася, а пары тестовых цветов соответствовали колбочковым максимумам поглощения. Варьируя интенсивность тестовых стимулов, удавалось добиться поведенческого ответа на тестовые комбинации, достоверно совпадающего с ответом на выученный стимул почти во всех проведенных тестах. Стоит отметить, что хотя комбинирование спектров 450 нм (S) и 367 нм (UV) не давало такого же надежного соответствия, подопытные животные все же

отличали выученный цвет 404 нм от каждого из тестовых цветов в отдельности. Это говорит о том, что в цветоразличении по всей видимости участвуют все четыре типа колбочек. Впрочем, также имеются свидетельства, что ультрафиолетовые колбочки у карасей исчезают в процессе онтогенеза, и таким образом, половозрелые особи карасей являются трихроматами (Maximova et al. 2005).

У взрослых данио красные, зеленые, синие и ультрафиолетовые колбочки образуют мозаику, по структуре аналогичную таковой у карася, с относительной плотностью 2:2:1:1 (как говорилось выше). Каждый тип колбочек имеет генетические особенности, что позволяет реализовать становление запрограммированных нейронных связей.

На данный момент большой интерес прикован к личиночной стадии данио. Причиной этому служит тот факт, что в первые дни мальки полностью прозрачны, что дает возможность наблюдать распространение нервного возбуждения при помощи методов оптогенетики – имаджинга (Parichy et al., 2009). Несмотря на большой объем сведений, полученных путем подобных исследований, остается неясным, насколько зрительные механизмы мальков

совпадают с механизмами взрослых особей, поэтому экстраполировать данные о личинках на взрослых особей следует с осторожностью. Про личинок данио известно, что их развитая система обработки цветовой информации связана с их трофической специализацией, соответствующей их поведенческим потребностям. У восьмидневных мальков в сетчатке каждого глаза находится порядка 10 000 рецепторов. Несмотря на наличие всех четырех типов колбочек во всех зонах сетчатки, обработка цвета во внутренней сетчатке сильно разнится в разных областях зрительного поля. Например, в области экватора обнаружен ряд биполярных клеток с оппонентностью S к L. UV+ ответы широко распространены в темпоровентральной области, которая охватывает передние верхние области поля зрения. Вентральные области по мнению автора скорее всего цветослепы, возможно по причине скудности цветового потока, идущего сверху (Zimmermann et al. 2018).

Итак, на данный момент показано, что у рыб превосходное цветное зрение, что подтверждается не только морфологическими исследованиями сетчатки, но и ярко проявляется в поведенческих экспериментах. Однако, до сих пор оставалось не выясненным, какой зрительный центр собирает информацию о цвете.

1.2. Ганглиозные клетки

Выходными нейронами сетчатки, посылающими свои аксоны к мозгу, являются ганглиозные клетки. Главным классификационным признаком для них служат те зрительные стимулы, в ответ на которые ганглиозные клетки генерируют импульсный разряд. Морфологически ганглиозные клетки различаются в первую очередь по ветвлению дендритного дерева, среди них выделяют ON-, OFF-, бистратифицированные (ON-OFF) и диффузные. Также выделяется биплексиформный тип, их дендриты ветвятся не только во внутреннем, но и во наружном синаптическом слое (Podugolnikova, 1985). Ветвление дендритов определяет возможные связи ганглиозных клеток с теми или иными биполярными и амакриновыми клетками. ВСС у рыб

подразделяется на подслои S1-S5, выявленные путем тотального окрашивания ГК у данио (Mumm et al., 2006). Дистальные S1 и S2 объединяются в OFF-слой, а проксимальные S3-S5 – в ON-слой. Анализ расположения дендритов у личинок данио позволил выделить в 4 больших дендритных классах ГК несколько подклассов (Robles et al., 2014). Так, моностратифицированные ГК подразделяются на 4 подкласса: стратифицированные в S1 OFF-ГК (M1); стратифицированные в срединной части ВСС (S3) клетки M2; ON-моностратифицированные ГК M3 и M4, чьи дендриты располагаются в S5, различаются тем, что у дендритов M4 обнаруживаются протрузии в S4 и S3. Также удастся выделить 5 подклассов бистратифицированных ГК, для каждого из которых характерна стратификация в двух определенных слоях ВСС. Нестратифицированные ГК (с диффузным дендритным древом) удастся разбить на 2 группы: дендриты D1 охватывают всю толщу ВСС, дендритное дерево D2 расположено в слоях S3-S5. Мультистратифицированные ГК также подразделяются на два подкласса - D3 с компактным дендритом в S3-S5 и отдельно стоящей крупной асимметричной веткой в S1; D4 формирует асимметричное дерево с тремя ветвлениями в S1, S3 и S5. Наименее распространенными ГК по-видимому являются биплексиформные, чьи дендриты выходят за пределы ВСС, и образуют синапсы в НСС. Таким образом, на данный момент у ГК выделяется 14 типов стратификации дендритов (Рис. 2). Ранее на взрослых данио была проведена работа по морфологической классификации ганглиозных клеток, учитывающая, помимо стратификации дендритов, ряд их свойств, таких как частота ветвления, наличие шипиков (Mangrum et al., 2002). Также авторами были учтены размеры тел ГК. Всего было выделено 11 типов ганглиозных клеток. При сопоставлении двух исследований, можно заметить много пересечений - схожие паттерны стратификации у моностратифицированных ГК, наличие двух типов ГК с диффузными дендритами.

1.3. Арборизация аксонов

В зрительной системе позвоночных описано наличие нескольких ретинореципиентных зон мозга. В случае костистых рыб их число составляет 11 (S.M. Fraley, S.C. Sharma, 1984). Проекции ганглиозных клеток сложны, их формирование с точностью регулируются в онтогенезе при помощи

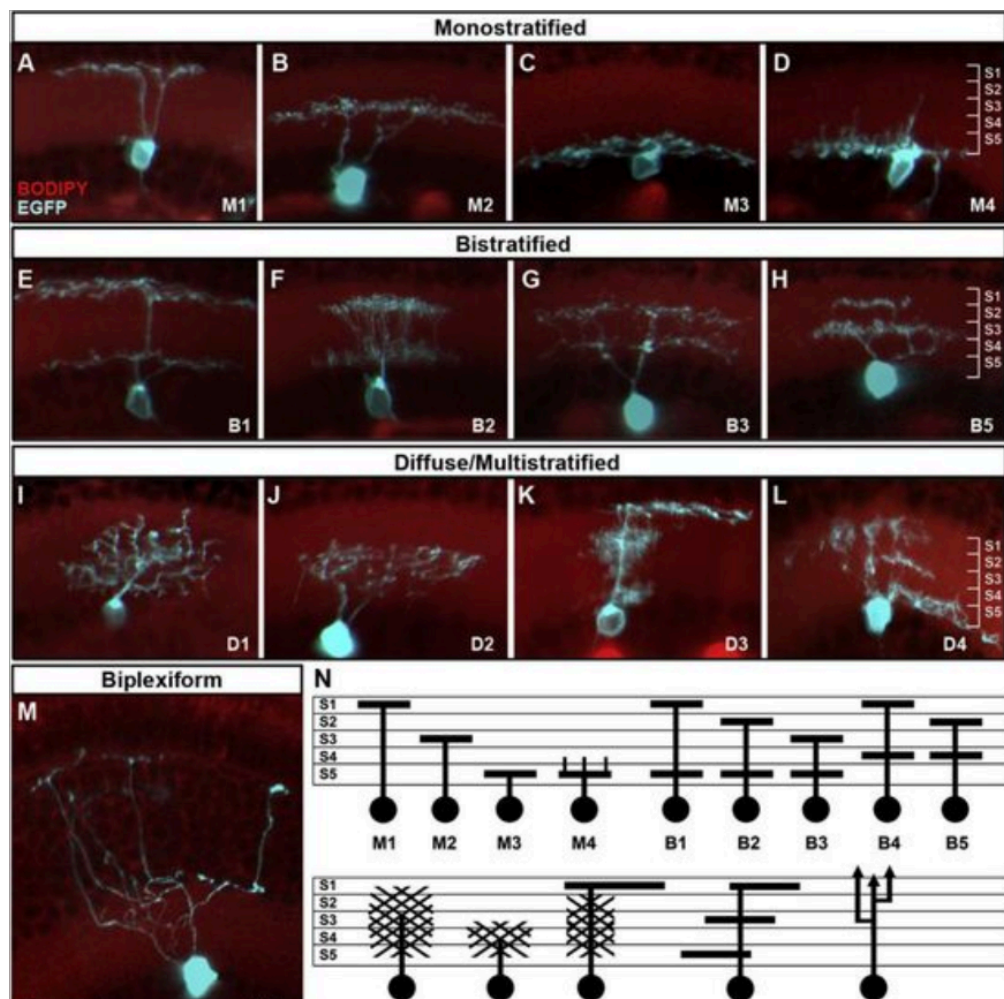


Рисунок 2 – **Морфологические типы ганглиозных клеток сетчатки рыб.** А-Д – моностратифицированные ГК; Е-Н – бистратифицированные ГК; I-L – нестратифицированные и мультистратифицированные ГК; М – биплексиформные; N – схематичное отображение стратификации дендритов разных морфологических типов ГК в ВСС (по Robles et al., 2014).

механизмов клеточной адгезии. На саламандрах было показано, что одна ГК может иннервировать несколько различных зрительных центров при помощи коллатералей аксонов (Wiggers, 1999). Вероятно, такое ветвление необходимо

для корректного осуществления параллельной обработки зрительного сигнала, и специфично для каждого типа клеток. У данио на данный момент выявлено 20 схем ветвления аксонов ГК (Robles et al., 2014). Ветвление аксонов ГК играет важную роль в распределении сигнала. Комбинирование схем арборизации аксонов и морфологии дендритного дерева дает более 50 структурных типов ГК, и таким образом ветвление аксонов вносит существенный вклад в структурное разнообразие ганглиозных клеток, создавая возможность для ГК со схожими параметрами ответа на зрительные стимулы участвовать в организации различных форм поведения. Всего было выявлено 10 зон ветвления (arborization fields – AFs), среди них главным по суммарному объему входов является *tectum opticum* (AF 10). Здесь представлены порядка 97% окончаний всех ганглиозных клеток. Остальные 3% оканчиваются в AF9, а прочие зоны (AF1-AF8) полностью образованы коллатеральными аксонами, оканчивающихся либо в AF9, либо в тектуме (Huberman et al., 2009).

1.4. Стратификация в тектуме

Аксоны каждого типа ГК оканчиваются плоским ветвлением на определенной глубине тектума, формируя несколько слоев. Таких слоев выделяют 9: *stratum opticum* (SO), шесть подслоев *stratum fibrosum gryseum superficiale* (SFGS1-SFGS6), *stratum gryseum centrale* (SGC) и слой на границе *stratum album centrale* и *stratum periventriculare* (SAC/SPV) (Northmore, 2011). При сопоставлении стратификации в тектуме с другими структурными особенностями ГК, выявляются следующие закономерности. Наибольшее разнообразие дендритных классов ГК наблюдается в слоях SFGS1-SFGS5, которые преимущественно иннервируются ГК, не дающими коллатералей, и оканчивающимися исключительно в тектуме. Здесь в каждом из слоев представлены окончания в среднем 6 дендритных классов ГК. В SO, SGC и SAC/SPV представлены окончания в среднем 2 дендритных класса ГК. Однако аксоны ГК, оканчивающиеся в этих слоях тектума, в своем большинстве

активно ветвятся, посылая коллатерали в другие зрительные центры (AF1-AF8). В большинстве случаев четкой корреляции между стратификацией окончаний аксонов в мозге и дендритов в ВСС не выявляется, но есть некоторые исключения. Так, дендриты 72% ГК, оканчивающихся в SAC/SPV, стратифицированы в ON подслое ВСС (классы M3, M4 и D2). Также аксоны, оканчивающиеся в SGC, принадлежат ГК моностратифицированного класса M1 и бистратифицированного класса B1, чьи дендриты находятся в OFF подслое ВСС (Nevin et al., 2010).

1.5. Детекторы движения в ретиноэкстальной системе рыб.

Ганглиозные клетки также можно подразделять на различные типы в зависимости от того, на какие стимулы они отвечают. Согласно детекторной теории, зрительные нейроны, и в том числе ГК способны выделять те или иные ключевые свойства стимула, такие как контраст, цвет, размер, форму или направление движения (Hubel, Wiesel, 1962). Одна ГК получает зрительную информацию из ограниченной области зрительного пространства, называемой рецептивным полем (РП) (Kuffler, 1953). Рецептивные поля имеют концентрическую структуру, которая представлена центром и периферией. Центр рецептивного поля – это та область, при адекватной стимуляции которой ГК отвечает импульсным разрядом. Периферия, оказывает модулирующее воздействие, и ее непосредственная стимуляция, как правило, не вызывает ответа.

Исследования физиологических свойств ГК производятся разнообразными методами. Электрофизиологическая регистрация возможна *in vitro* на изолированной сетчатке или *in vivo* от окончаний ГК в первичных зрительных центрах мозга (Kuffler, 1953; Lettvin et al., 1959; Barlow et al., 1964; Werblin, Dowling, 1969; Зенкин, Пигарев, 1969; Максимова и др., 1971; Meister et al., 1994). В первом случае доступны и экстраклеточный метод отведения, и внутриклеточный; отведения от окончаний возможны исключительно

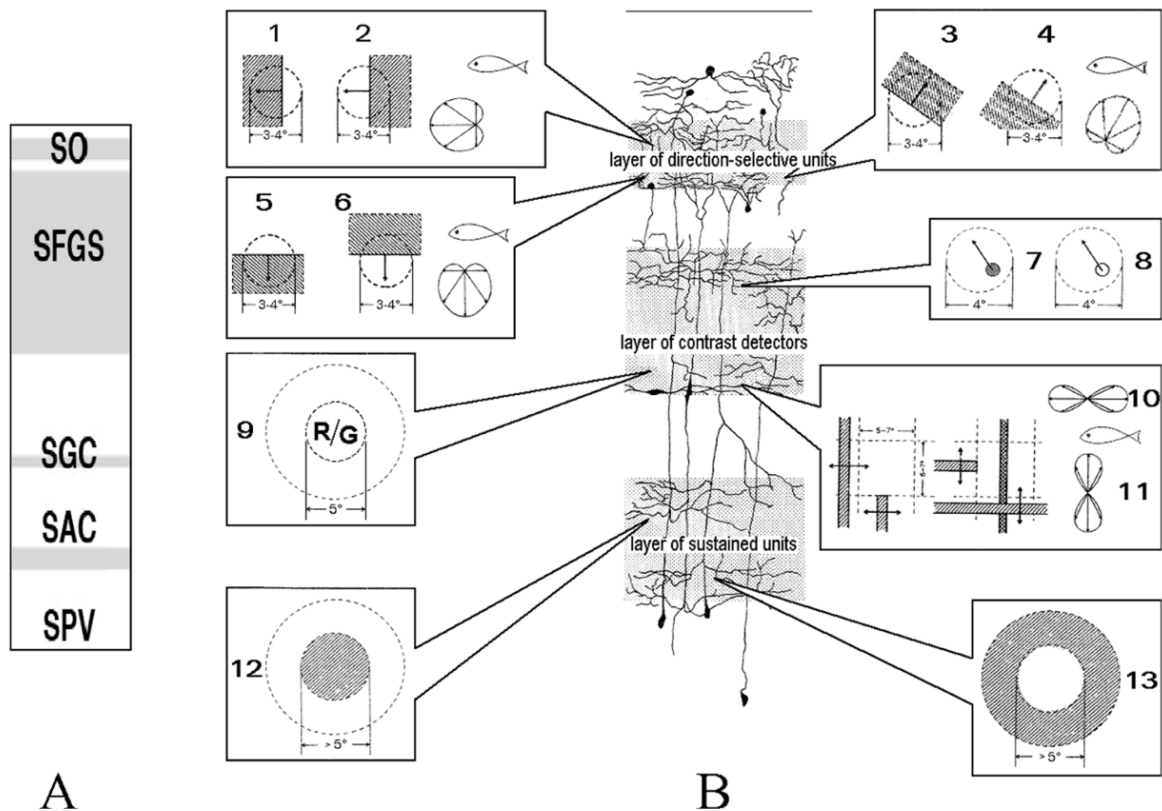


Рисунок 3 – Стратификация ретино-тектальных проекций у рыб. А: Схематический поперечный срез через тектум рыб: stratum opticum (SO), stratum fibrosum et griseum superficiale (SFGS), stratum griseum centrale (SGC), stratum album centrale (SAC), stratum periventriculare (SPV). В: Разделение различных типов ретинальных проекций в слое SFGS взрослой золотой рыбки по данным внеклеточной регистрации (толщина SFGS ~200 мкм): (1, 2) ON и OFF дирекционально-избирательные ГК (ДИ ГК) с каудо-ростральным направлением, (3, 4) ON и OFF ДИ ГК с вентро-дорсальным направлением, (5, 6) ON и OFF ДИ ГК с дорсо-вентральным направлением, (7, 8) детекторы черного и белого пятен, (9) цветоопponentные элементы (R/G-клетки), (10, 11) детекторы горизонтальных и вертикальных линий, (12, 13) ЭФА OFF и ON типов (Aliper et al., 2019).

эстраклеточным методом. Кроме того, с появлением векторной генной инженерии появилась возможность регистрировать нервную активность при помощи кальциевого имаджинга (Euler et al., 2002; Briggman et al., 2011; Baden et al., 2016).

Как уже говорилось ранее, аксоны ганглиозных клеток сетчатки оканчиваются на разных уровнях тектума, формируя ретинореципиентный слой (SFGS1-SFGS6). Классификации тектальных проекций рыб были посвящены многие классические электрофизиологические работы, проведенные на щуке (Зенкин, Пигарев, 1969), на нескольких видах морских рыб (Максимова и др., 1971) и на дальневосточной красноперке (Kawasaki, Aoki, 1983). У всех исследованных видов рыб прослеживается одна и та же стратификация специализированных элементов: в верхний слой тектума (SFGS1-SFGS6) проецируются дирекционально-избирательные элементы, второй слой составляют окончания довольно разнородных элементов с малыми рецептивными полями, чувствительных к движущемуся контрасту (ориентационно-избирательные элементы, детекторы пятен, немногочисленные цветооппонентные клетки); в третий, самый глубокий слой, проецируются элементы, отвечающие длящимся разрядом на изменение уровня освещенности (элементы с фоновой активностью) (Aliper et al., 2019) (Рис. 3).

Дирекционально-избирательные ганглиозные клетки (ДИГК) дают наибольший ответ на объект, движущийся в определенном (предпочтительном) направлении, и демонстрируют торможение активности при движении объекта в направлении, обратном предпочтительному (нуль-направление). В сетчатке они впервые были обнаружены у кролика (Barlow et al., 1964) и золотой рыбки (Jacobson, Gaze, 1964; Cronly-Dillon, 1964). На кроликах было показано, что дирекционально-избирательные элементы представлены двумя основными типами, отличающимися их специфичностью к стимулам (контрасту, размеру, скорости), а также по их центральным проекциям и функциям. Наиболее многочисленные, так называемые «быстрые» дирекционально-избирательные элементы ON-OFF-типа, возбуждаются подвижными стимулами независимо от того, светлее они или темнее фона, и проецируются в передние бугры четверохолмия и таламус. У кролика (и других исследованных млекопитающих) ДИГК ON-OFF-типа делятся на четыре физиологических подтипа по своим предпочтительным направлениям вдоль вертикальной и горизонтальной осей (Oyster, Barlow, 1967). Помимо описанных т.н.

«быстрых» ДИГК, оканчивающихся в *tesum opticum*, в добавочной зрительной системе можно наблюдать окончания особых «медленных» ДИГК. Это элементы ON-типа, которые отвечают только на медленное движение стимулов более светлых, чем фон. Клетки ON-типа «Медленные» ON ДИГК делятся на три физиологических подтипа по предпочтительным направлениям, соответствующим положению трех плоскостей полукружных каналов. Они проецируются в ядра добавочной зрительной системы и участвуют вместе с полукружными каналами в сохранении направления взора при движениях головы.

Механизм дирекциональной избирательности в сетчатке изучался на протяжении десятилетий (Masland, 2004). Первым значимым открытием стали свидетельства того, что дирекциональная избирательность организована при помощи амакриновых клеток, а именно SAC (starburst amacrine cells) (Famiglietti, 1983; Vaney, Young, 1988; Vaney, 1990). Также было показано, что в основе механизма лежит асимметриное пресинаптическое торможение (Borg-Graham, 2001). Полное описание процессов, происходящих на синапсах SAC и ДИГК стало возможно благодаря современным методам (Briggman et al., 2011). Авторы применили двухфотонный кальциевый имаджинг в сочетании с методом SBEM (serial block-face electron microscopy), что подтвердило результаты предыдущих исследований и позволило во всех подробностях описать процесс формирования дирекциональной избирательности.

У рыб на данный момент выделяются шесть типов «быстрых» дирекционально-избирательных ганглиозных клеток трех предпочтительных направлений (каудо-рострального, дорзо-вентрального и вентро-дорзального) с ON- либо OFF-активностью (Рис. 4). Данный тип клеток отвечает импульсным разрядом на движение стимула с контрастом предпочтительного знака в предпочтительном направлении. Их активность может быть заторможена движением в направлении, противоположном предпочтительному. Размеры рецептивных полей ДИГК составляют в среднем $5,2^\circ$ (Максимов и др., 2005).

На личинках данио методом кальциевого имаджинга в ТО было продемонстрировано наличие аксональных терминалей ДИГК (Nicolaou et al.,

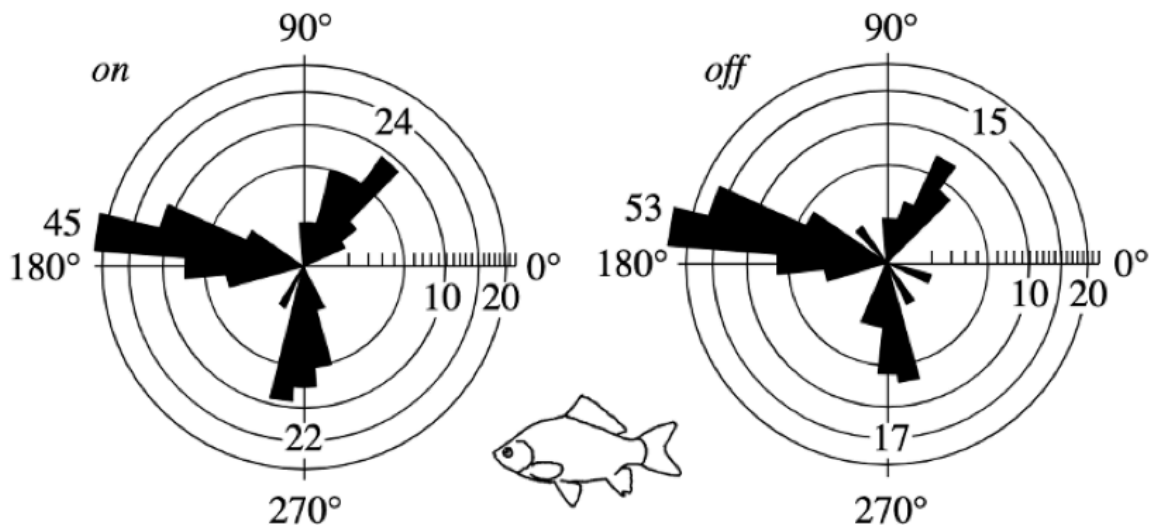


Рисунок 4 – **Типы дирекционально-избирательных ганглиозных клеток рыб.** Шесть типов ДИ ГК, различающихся по предпочтительному контрасту (ON- и OFF-клетки) и по предпочтительным направлениям движения стимула в поле зрения рыбы. Гистограммы распределения представлены в полярных координатах. По радиусам отложено количество клеток в каждом угловом секторе. Цифры рядом с отдельными модами гистограмм обозначают суммарное количество клеток соответствующего типа (Максимов и др., 2005).

2012). В данной работе авторы регистрировали не конкретные окончания ГК в тектуме, а ту объемную область, в которой возникает повышенная активность в ответ на предъявляемую стимуляцию. Авторами так же, как и нашей группой ранее, показано, что дирекционально-избирательная активность наблюдается в трех предпочтительных направлениях: 30° (вентро-дорзальное направление), 164° (дорзо-вентральное направление) и 265° (каудо-ростральное направление). Направления оценены авторами с точностью до $\pm 20^\circ$. Примечательно, что наиболее выраженной оказалась объемная область с каудо-ростральным предпочтительным направлением, что свидетельствует о большей представленности окончаний ГК с предпочтением к данному направлению. Вся выявленная дирекционально-избирательная активность зарегистрирована исключительно в поверхностном горизонте SFGS, никакой дирекционально-избирательной активности в более глубоких горизонтах SFGS или более глубоких слоях (SO, SGC и SAC) авторами не выявлено. Таким образом,

исследование на данио полностью подтвердило данные, полученные ранее для карасей и приведенные выше.

Ориентационно-избирательные элементы (ОИЭ) сетчаточного происхождения описаны у птиц (Maturana, Frenk, 1963), черепах (Bowling, 1980), млекопитающих (Barlow et al., 1964; Leventhal, Schall, 1983; Amthor et al., 1989; Bloomfield, 1994; He et al., 1998) и рыб (Зенкин, Пигарев, 1969; Максимова, Максимов, 1981). ОИ ГК отвечают импульсной реакцией как на движущиеся, так и на статичные границы предпочтительной ориентации. У рыб выделяется две разновидности этих клеток с предпочтением к горизонтальной либо вертикальной ориентации стимула. Их активность можно затормозить предъявлением стимула, ориентированного ортогонально предпочтительному. Оба класса ОИГК являются ON-OFF клетками. Размеры их рецептивных полей составляют среднем $5,0^\circ$ (Максимов и др., 2009). Наличие ОИГК у рыб также показано на данио (Nicolau et al., 2012). При исследовании пространственного взаимодействия сигналов в пределах рецептивного поля двумя мелькающими полосами выявлены протяженные тормозные зоны рецептивного поля, расположенные по обе стороны от центральной зоны (Damjanović et al., 2009). При попытке исследования механизмов ориентационной избирательности у данио была предложена гипотеза о механизме ориентационной избирательности ГК рыб, и предположительно обнаружен тип амакриновых клеток, определяющих ее ($Tenm3^+$ AC) (Antinucci et al., 2013). Хотя конкретный механизм ориентационной избирательности на данный момент не описан, но можно с уверенностью говорить, что он отличается от описанного механизма дирекциональной избирательности, поскольку дендриты ОИ ГК не контактируют с SAC.

Также во втором ретинорецептивном слое тектума рыб расположены окончания таких элементов, как детекторы пятен. Впервые обнаружены и исследованы у лягушки детекторы темных пятен (Maturana et al., 1960). Предпочтительным стимулом для таких клеток служит нахождение в рецептивном поле пятна небольших по сравнению с рецептивным полем размеров. У рыб среди детекторов пятен выделены как ON-, так и OFF-клетки

(Maximova et al., 2020). Наблюдение за свободно плавающими (и частично обездвиженными) мальками данио (4-12 dpf) даёт представление о том, реакции каких специализированных ГК –детекторов признаков, описанных выше, используются в поведении. Показано участие детекторов пятен в пищевом поведении данио. Объекты, размер которых составляет меньше 5° , интерпретируются как пищевые, и вызывают охотничье поведение; объекты, превышающие 10° , вызывают реакцию избегания (Bianco, Kampff, & Engert, 2011; Bianco, Engert, 2015).

Все описанные выше ганглиозные клетки связаны со всеми тремя типами колбочек (Maximov et al., 2015). Несмотря на это, было показано, то все они неспособны к цветоразлиению, поскольку их рецептивные поля не являются дважды цветооппонентными, что считается ключевым свойством для цветоразличающих нейронов (Maximov et al., 2014).

1.6. Цветовая оппонентность в сетчатке

Один фоторецептор не может отличить сдвиг длины волны от изменения интенсивности. Таким образом, для различения цветов необходимо производить сравнение ответов фоторецепторов по крайней мере двух спектральных типов (Krauskopf et al., 1982). Нейрон, способный осуществлять такое сравнение называется цветооппонентным. Цветовая оппонентность у позвоночных начинает формироваться в наружной сетчатке, где горизонтальные клетки выступают посредниками взаимодействий между фоторецепторами (Chapot et al., 2017b, Perlman et al. 2009, Максимова, Максимов, 1969). Колбочки оказывают тормозное влияние друг на друга через горизонтальные клетки. Горизонтальные клетки электрически связаны, образуя плотную сеть – синцитий (Cook & Becker 1995). Спектральные ответы каждого типа горизонтальных клеток зависят от их связей с колбочками (Connaughton & Nelson 2010, Dacheux & Raviola 1982, Goodchild et al. 1996, Kamermans et al.

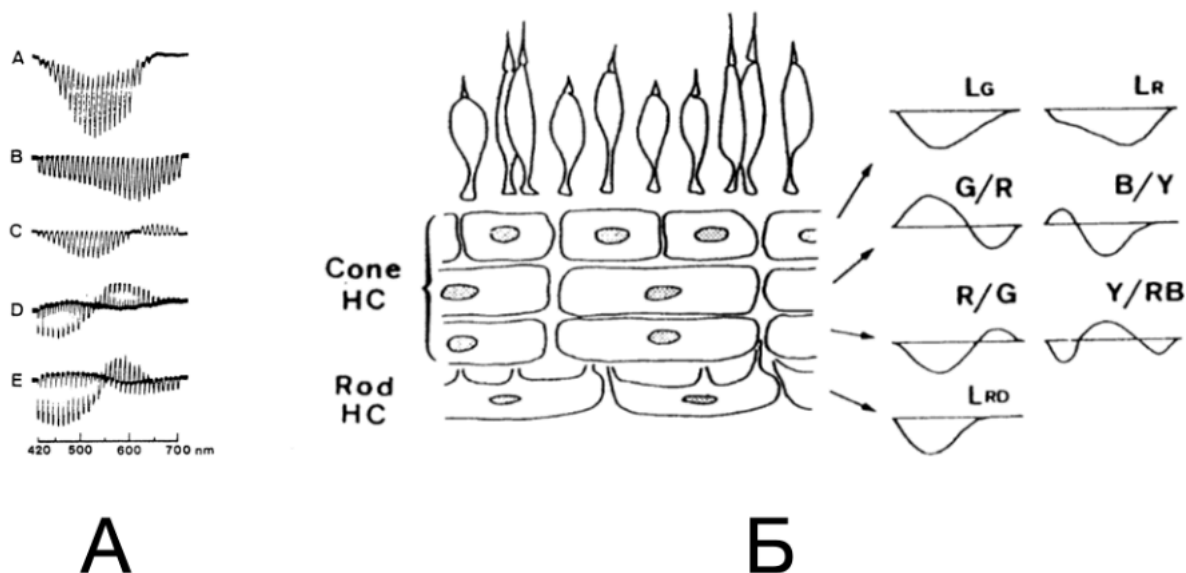


Рисунок 5 – **Цветооппонентные горизонтальные клетки.** А: Ответы нескольких типов горизонтальных клеток *Cyprinus carpio* (по Mitarai et al., 1974). Ахроматические ответы названы L-реакциями, цветооппонентные ответы названы С-реакциями. L-реакция палочковых горизонтальных клеток; В: L-реакция колбочковых горизонтальных клеток; С: С-реакция горизонтальной клетки R/G типа; D: С-реакция горизонтальной клетки Y/B типа; E: С-реакция горизонтальной клетки Y/BR-типа. Б: горизонты отведения ответов разных типов горизонтальных клеток в наружном синаптическом слое рыб рода *Mugil* (по Mitarai et al., 1982). Cone HC – колбочковые горизонтальные клетки; Rod HC – палочковые горизонтальные клетки; L_{RD} – L-реакция палочковых горизонтальных клеток; L_G, L_R – зелёно- и красночувствительные L-реакции колбочковых горизонтальных клеток, соответственно; “R/G”, “G/R”, “B/Y”, “Y/BR” – разные типы цветооппонентных ответов колбочковых горизонтальных клеток.

1991, Li et al. 2009) а также от типа этих связей и их веса в суммарном входном сигнале (Baden et al., 2013, Breuninger et al., 2011, Chapot et al., 2017a). Многие виды, обладающие несколькими типами колбочек, имеют и несколько типов горизонтальных клеток с четкими, избирательными связями с фоторецепторами и, соответственно, сложными хроматическими свойствами (Connaughton, Nelson 2010, Kamermans, Werblin, 1991, Packer et al., 2010).

У рыб известно несколько типов цветооппонентных горизонтальных клеток. Реакции горизонтальных клеток по характеру ответов на цветные стимулы разделяются на L-реакции (монофазные) и С-реакции (двух- и

трехфазные) (Svaetichin, MacNichol, 1958; Fatehchand et al., 1961; Tomita, 1965; Максимова, Макимов, 1969). У карпа определены 3 типа С-реакций (Mitarai et al., 1974). Авторами было установлено, что такие реакции являются цветоопponentными с опponentностью типов R/G, Y/B и Y/BR (Рис 5, А). Позднее на видах семейства кефалевых *Mugil brasiliensis* и *Mugil cephalus* были продемонстрированы инвертированные цветоопponentные С-реакции G/R, B/Y и BR/Y (Drujan et al., 1971; Mitarai, 1982). При этом разные типы реакций четко обнаруживались в разных горизонтах НСС (Рис 5, Б). (У данио есть по крайней мере три колбочковых и один палочковый тип горизонтальных клеток с моно-, би- и трехфазными ответами (Meier et al. 2018). Сочетание таких свойств как обширные (за счет синцития) рецептивные поля и цветоопponentность позволяют предполагать, что периферия РП цветоопponentных клеток в последующих слоях сетчатки формируется именно за счет горизонтальных клеток.

Устройство систем обработки информации о цвете в сетчатке, несомненно, зависит от набора фоторецепторов животного, но общий принцип нейронных связей состоит в дифференцированном комбинирования двух или более цветных каналов. Одна из самых распространенных схем представляет собой два изолированных цветных канала, которые через биполярные клетки соединяются с ганглиозной клеткой, один вход возбуждающий, а другой тормозный, таким образом, формируя цветоопponentную ганглиозную клетку (Byzov et al., 1992; Dacey, Lee 1994, Marshak, Mills 2014, Mills et al., 2014). Анализ примерно 4000 биполярных клеточных синапсов у личинок данио показал, что большинство теоретически возможных комбинаций синапсов между рецепторами и биполярными клетками не обнаруживаются в сетчатке (Baden, Osorio, 2019). 87% биполярных синапсов не демонстрируют цветоспецифичных реакций; у 12% показана опponentность L к M и S; примерно 1% имели опponentность L + S к M; не выявлено синапсов с опponentностью UV+M к L+S.

В ретинотектальной системе рыб среди окончаний ганглиозных клеток также обнаруживаются цветоопponentные элементы. В среднем горизонте

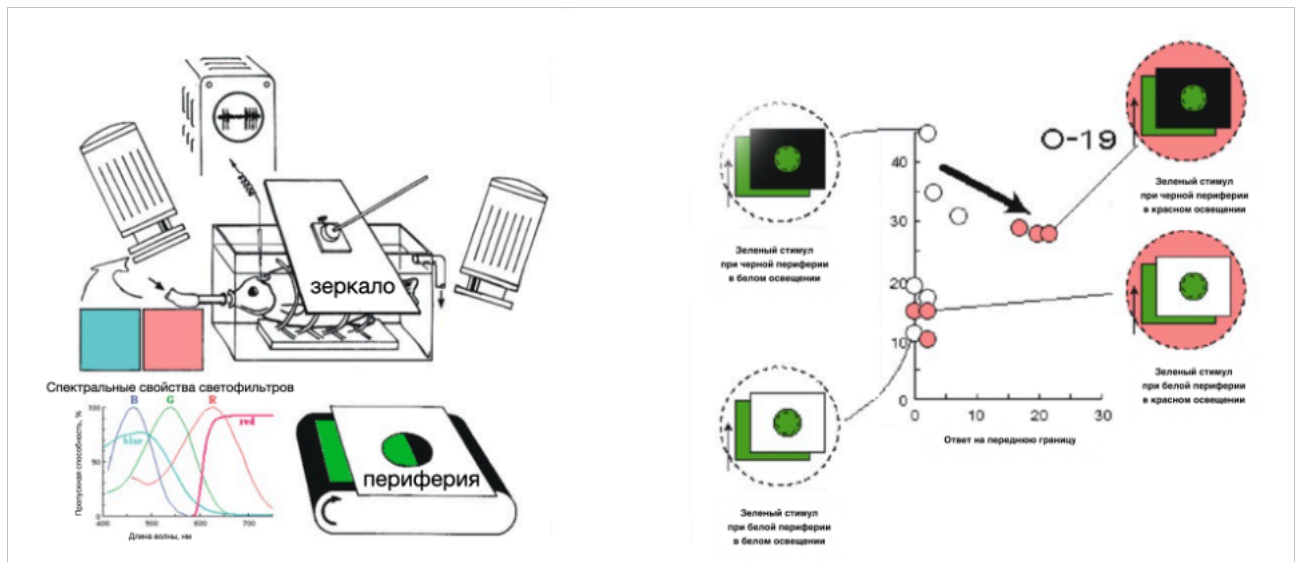


Рисунок 6 – Ганглиозные клетки R/G-типа в сетчатке карпа. А: Схема опыта метод цветовой стимуляции движущимися границами в изменяемых условиях освещения; в левом нижнем углу показано, как соотносятся кривые спектральной чувствительности колбочек карпа и кривые пропускания светофильтров. Б: результаты исследования константности цветовосприятия на R/G клетках сетчатки карася. На графике по оси абсцисс реакция на введение стимула в рецептивное поле (ON); по оси ординат – реакция клетки на выведение стимула из рецептивного поля (OFF). Показано, что реакции в белом окружении (отражающем свет от источника) остаются неизменными вне зависимости от спектра освещения, тогда как в черном окружении смещение спектра освещения в длинноволновую область (покраснение) приводит к появлению ON реакции клетки на зеленый стимул.

ретино-реципиентного слоя можно регистрировать ответы окончаний R/G клеток (от английского red – красный, – и green – зеленый). Эти клетки отвечают ограниченным по длительности разрядом на стимулы L+ и M– (Максимова и др., 1971). Авторы провели измерения рецептивных полей (РП) R/G клеток, оценив их в $5^{\circ} \pm 1^{\circ}$, а также поставили серию экспериментов по исследованию константности цветовосприятия данного типа клеток (Максимова и др., 1978). Константность цветовосприятия – одно из ключевых свойств цветного зрения, позволяющее определять цвет объекта независимо от изменений спектра освещения. Для этого в поле зрения должны присутствовать объективные показатели освещения для внесения соответствующей поправки на спектральный состав этого освещения.

Авторами была выдвинута гипотеза, что простейшие механизмы введения поправки на освещение реализованы еще на уровне сетчатки. Область стимуляции подразделялась на две зоны – «центр» и «окружение». Центр, равный размеру центра РП, был выполнен в виде круглого отверстия диаметром 10° (чтобы полностью перекрывать центральную область РП клетки) в пластине, выполнявшей роль «окружения» охватывающей периферию РП. Стимулы перемещались под пластиной окружения с постоянной скоростью 20 град/с по черному фону. В качестве периферии использовались черные, белые и цветные пластины. В качестве стимулов – выкрашенные и профотометрированные листы бумаги, размерами гораздо более 10° , примерно 30 на 60. Для освещения поля зрения использовались два источника, а интенсивностью и спектральным составом освещения управляли при помощи светофильтров. Величину реакции оценивали по количеству импульсов в ответе на стимул (Рис 6).

Первоначально было установлено, что ответ клетки зависит как от интенсивности, так и от относительного спектрального состава света, отраженного от стимула. Изменение ответа в зависимости от окраски стимула лучше всего проявлялось в первой фазе стимуляции (введении стимула). В ряду стимулов синий-зеленый-желтый-красный реакция возрастала от еле различимой до мощного импульсного разряда. Далее цветные стимулы предъявляли в черном и белом окружении при различных условиях освещения. В белой периферии ответы не зависели от освещения. При красном освещении, так же, как и при нейтральном, клетки давали импульсный ответ на переднюю и заднюю границы красного стимула и только на заднюю границу зеленого стимула.

При использовании светопоглощающей черной периферии ситуация менялась. При красном освещении клетка начинала отвечать на переднюю границу зеленого стимула. Это было интерпретировано следующим образом. Красное освещение изменило спектр света, отраженного от зеленого стимула, сместив его в красную область, что и вызвало возникновение ответа на введение стимула. При этом возможность сделать поправку на периферию

отсутствовала, поскольку черная периферия не отражала свет. Так авторами было продемонстрировано, что простейшие механизмы константности цветовосприятия обусловлены клеточными механизмами на уровне самой сетчатки, в то время как ранее предполагалось, что данный эффект реализуется в высших зрительных и ассоциативных центрах. Описанный выше метод, разработанный в докомпьютерную эпоху и реализованный на аналоговых компонентах, лег в основу разработанного позднее компьютерного метода цветовой стимуляции, использованного в настоящей работе.

Самый глубокий горизонт ретино-реципиентного слоя *tectum opticum* сформирован окончаниями элементов с фоновой активностью (ЭФА). Они отвечают длящейся активностью на крупные контрастные стимулы, такие как движущиеся границы или стационарные пятна. ЭФА представлены ON-типом и OFF-типом, отвечающими на крупные светлые и темные пятна соответственно (Aliper et al., 2019).

Глава 2. Материалы и методы

2.1. Животные

Основным объектом для проведения всех опытов служили серебрянные караси *Carassius gibelio* размером от 10 до 15 см и весом от 35 до 100 г из подмосковных прудовых хозяйств. Животных содержали в лабораторных аквариумах объемом 60 л с аэрацией и фильтрацией воды в течение нескольких месяцев при комнатной температуре и естественном световом режиме.

2.2. Подготовка к эксперименту

Для доступа к *tectum opticum* у рыбы с одной стороны черепа, контралатерально относительно глаза, на который подается стимуляция, удаляли теменно-затылочную кость, а также располагающиеся под ней жировую ткань и участок мягкой оболочки мозга. На время опыта животное обездвигивали введением d-тубокурарина внутримышечно (доза составляла 0.3 мг на 100 г массы рыбы). Обездвиженную рыбу закрепляли в естественном положении в аквариуме из плексигласа с принудительным протоком воды через жабры. В установке в течение опыта циркулировало около 10 л постоянно аэрирующейся и фильтрующейся воды. Циркуляцию воды обеспечивали термостатирующим насосом. К жаберному аппарату рыбы вода поступала под давлением 50 см водяного столба. Уровень воды в аквариуме поддерживали таким образом, чтобы глаза рыбы находились полностью под водой, но вода при этом не заливалась на открытый мозг. С рыбами обращались в соответствии с директивой European Communities Council от 24 ноября 1986 г. Экспериментальные процедуры были одобрены этическим комитетом ИППИ РАН (Протокол № 1 от 24 апреля 2018 г).

2.3. Регистрация

Ответы ганглиозных клеток регистрировали экстраклеточно от окончаний их аксонов в верхних слоях тектума заключенными в стеклянную оболочку металлическими платинированными микроэлектродами (Gaesteland et al., 1959) с диаметром платиновой шляпки 3–5 мкм с сопротивлением 200–500 кОм на частоте 1 кГц. Микроэлектрод под визуальным контролем подводили к интересующей области поверхности тектума микроманипулятором Sutter MP-285 (с учетом ретинотопической проекции, ориентируясь по картине кровеносных сосудов) и осторожно погружали, добиваясь стабильного одиночного отведения, о чем судили по величине импульсов и по соотношению сигнала и шума. Импульсы с выхода усилителя переменного тока с полосой пропускания от 100 Гц до 3.5 кГц (Виноградов, 1986) прослушивали при помощи громкоговорителя, наблюдали на экране осциллографа и вводили в память регистрирующего компьютера, оснащенного аналогово-цифровым преобразователем с частотой дискретизации 25 кГц (рис. 7).

2.4. Зрительная стимуляция

Предъявление программно-сгенерированных стимулов осуществлялось через прозрачную стенку аквариума на экране монитора LG Flatron 775FT, установленного на подвижном столике, что позволяло перемещать его в нужное место поля зрения рыбы. В основном исследовали латеральные поля зрения в довольно широкой области: свыше 60° по горизонтали и около 40° по вертикали. Расстояние от монитора до глаза рыбы в ходе эксперимента составляло 30–40 см. Относительные спектры излучения экрана были измерены при помощи модульной спектрометрической системы MCS500 Modules от производителя Carl Zeiss. Максимальная яркость экрана (при R = G = B = 255), измеренная фотометром ТКА-04/3, составляла 38 кд/м². В

энергетических единицах это соответствует эффективной энергетической яркости для фотопического зрения человека, равной $56 \text{ мВт ст}^{-1} \text{ м}^{-2}$.

Размер, форма, яркость, цвет и другие параметры стимуляции задавались экспериментатором через программу управляющего компьютерного модуля. Кроме того, для исследования ряда свойств отводимых элементов, таких как пространственные параметры рецептивных полей, контрастная чувствительность, цветокодирующие свойства, применяли стандартные серии стимуляции. Протоколы таких серий стимуляции приведены ниже.

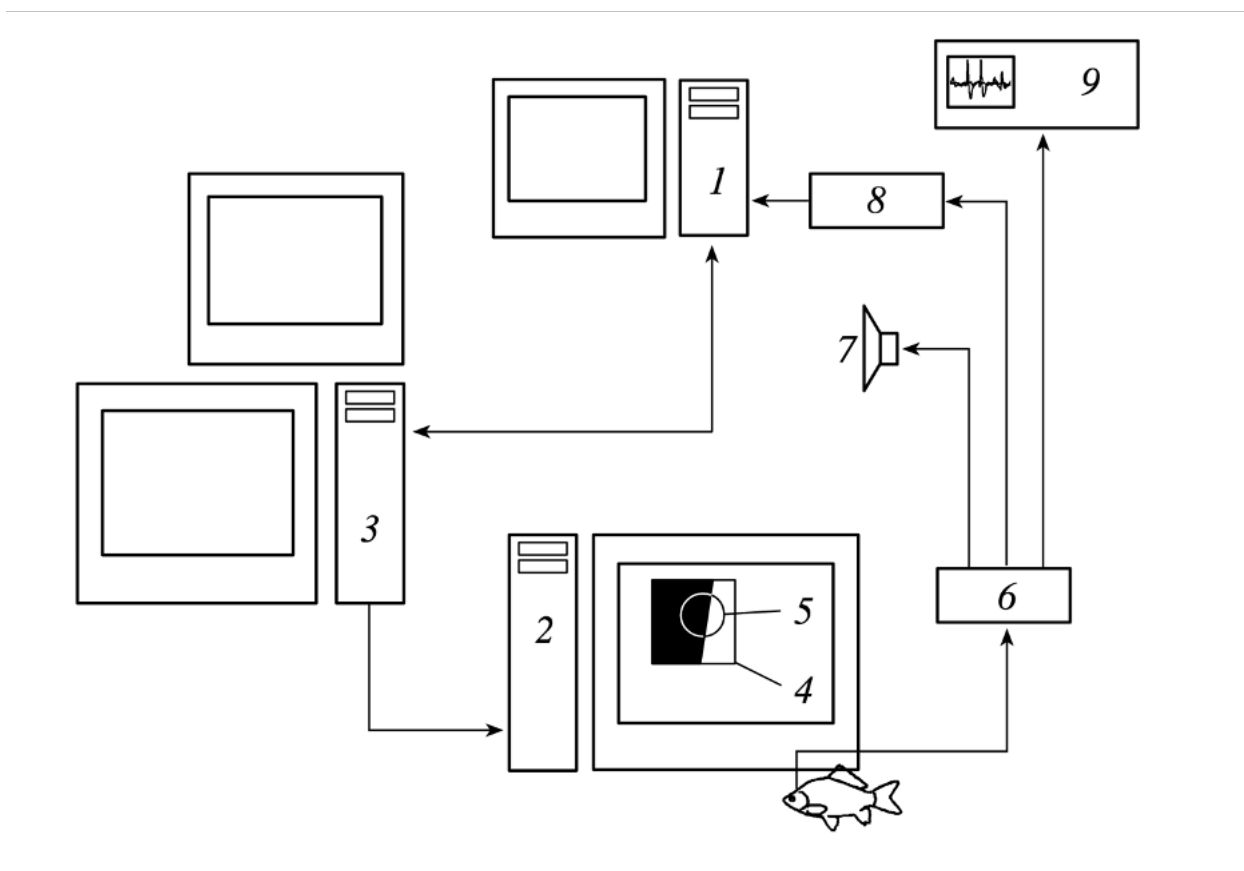


Рисунок 7 – **Схема установки.** 1 – регистрирующий модуль, 2 – стимулирующий модуль, 3 – командный модуль с двумя мониторами, 4 – область стимуляции на экране стимулирующего монитора, 5 – положение РП регистрируемого элемента, 6 – усилитель, 7 – громкоговоритель, 8 – АЦП, 9 – осциллограф.

2.5. Измерение рецептивных полей

Положение и размер РП (точнее, его возбудительной части – reactive receptive field) оценивали методом “шахматной доски” (“random checkerboard”).

Последовательно в квазислучайном порядке на экране в пределах квадратной области стимуляции $11^\circ \times 11^\circ$ предъявляли вспыхивающие пятна (квадратные) небольшого размера (1.1°) и записывали величины реакций (количество спайков за стандартное время). Как правило, выбирали $7 \times 7 = 49$ положений стимулов. При обработке данных зависимость величины ответа от положения стимула в области стимуляции представляли в виде двумерной гауссианы. Для определения ее параметров по полученным экспериментальным данным рассчитывали моменты распределения – математические ожидания, дисперсии и ковариацию. Полученные математические ожидания характеризуют положение найденного центра РП клетки в области стимуляции, а дисперсии и ковариация характеризуют размер и форму возбудительной части РП. Границей возбудительной части РП считали эллипс, являющийся пересечением рассчитанной двумерной гауссианы с плоскостью $f = f_{\max}/e$, где $f_{\max}$ – максимум гауссовой функции, $e \approx 2.72$ – основание натурального логарифма. При этом длины большой и малой осей этого эллипса получаются равными от рассчитанных для гауссианы максимального и минимального среднеквадратических отклонений. За размер возбудительной части РП принимали среднее геометрическое от длин осей этого эллипса. Результаты обработки представляли в виде карты в географической палитре.

2.6. Зависимость интенсивности ответа от размера стимула

После центрирования области стимуляции размер области стимуляции увеличивали до $22^\circ \times 22^\circ$. Стимуляцию производили вспышками пятен предпочитаемого знака контраста. Размеры стимулов варьировались от 1.1° до 22° . Стимул каждого размера предъявлялся в трех повторностях; размеры стимула менялись в квазислучайном порядке.

2.7. Зависимость интенсивности ответа от размера стимула

Для систематического измерения контрастной чувствительности применялся специальный программный инструмент. На фоне некоторой задаваемой экспериментатором яркости в центре РП попеременно предъявлялись стимулы (движущиеся границы или вспыхивающие пятна) разных яркостей и строились графики зависимости среднего количества импульсов в залпе ГК от яркости стимула (Максимов и др., 2005). При измерении контрастной чувствительности на периферии РП яркость изменялась сразу по всей периферии (при неизменной яркости в центре РП).

2.8. Селективная цветная стимуляция

Предыдущие исследования (Максимов и др., 2007) показали, что красный, зелёный и синий каналы стимулирующего монитора работают независимо, а любой спектр излучения $I(\lambda)$ для значений R, G и B, заданных в диапазоне от 0 до 255, хорошо аппроксимируется формулой (Maximov et al., 2015):

$$I(\lambda) = \left(\frac{R}{255}\right)^{\gamma_R} \times r(\lambda) + \left(\frac{G}{255}\right)^{\gamma_G} \times g(\lambda) + \left(\frac{B}{255}\right)^{\gamma_B} \times b(\lambda) + c(\lambda)$$

где $r(\lambda)$, $g(\lambda)$ и $b(\lambda)$ — спектры излучения трёх люминофоров монитора (рис. 8а), а показатели степеней γ_R , γ_G и γ_B для разных каналов несколько превышают 2. Фоновое излучение тёмного экрана, описываемое спектром $c(\lambda)$, было примерно в 100 раз слабее максимального излучения каждого люминофора. Помимо системы цветных координат RGB, все цвета, задаваемые на мониторе, были определены в физиологической системе координат карая — трёхмерном цветовом пространстве с осями L, M и S

(соответствующими длинно-, средне- и коротковолновым колбочкам). Их значения рассчитывались по формулам:

$$L = \int_0^{\infty} I(\lambda) \times l(\lambda) \times d(\lambda), \quad M = \int_0^{\infty} I(\lambda) \times m(\lambda) \times d(\lambda), \quad B = \int_0^{\infty} I(\lambda) \times b(\lambda) \times d(\lambda),$$

где функции спектральной чувствительности колбочек $l(\lambda)$, $m(\lambda)$ и $s(\lambda)$ известны.

Ключевой элемент методики состоит в селективной стимуляции отдельных цветовых каналов. Из-за значительного перекрытия спектральных кривых чувствительности колбочек любое излучение активирует все три типа фоторецепторов. Таким образом, не существует естественного излучения (или комбинации люминофоров монитора), которое возбуждало бы только один тип колбочек, не затрагивая остальные (рис. 8b). Исключение – длинноволновые колбочки, которые можно избирательно стимулировать ярким монохроматическим (лазерным) излучением с длиной волны ≥ 700 нм. Селективная стимуляция реализована с помощью семи специфических цветовмонитора: Нейтральный фон (N) – использовался как основа для предъявления стимулов в РП. Шесть стимулов: три инкрементных (L+, M+, S+), на 60% ярче фона для определённых колбочек, и три декрементных (L–, M–, S–), на 60% темнее. Их расположение в цветовом пространстве показано на рис. 8с. Для изучения взаимодействия каналов набор дополнили парными стимулами, одновременно активирующими или подавляющими два типа колбочек. Из 12 теоретически возможных комбинаций на мониторе удалось воспроизвести 9: L+M+, L–M–, M+S+, M+S–, M–S–, L+S+, L–S+, L+S–, L–S– (Maximova et al. 2015).

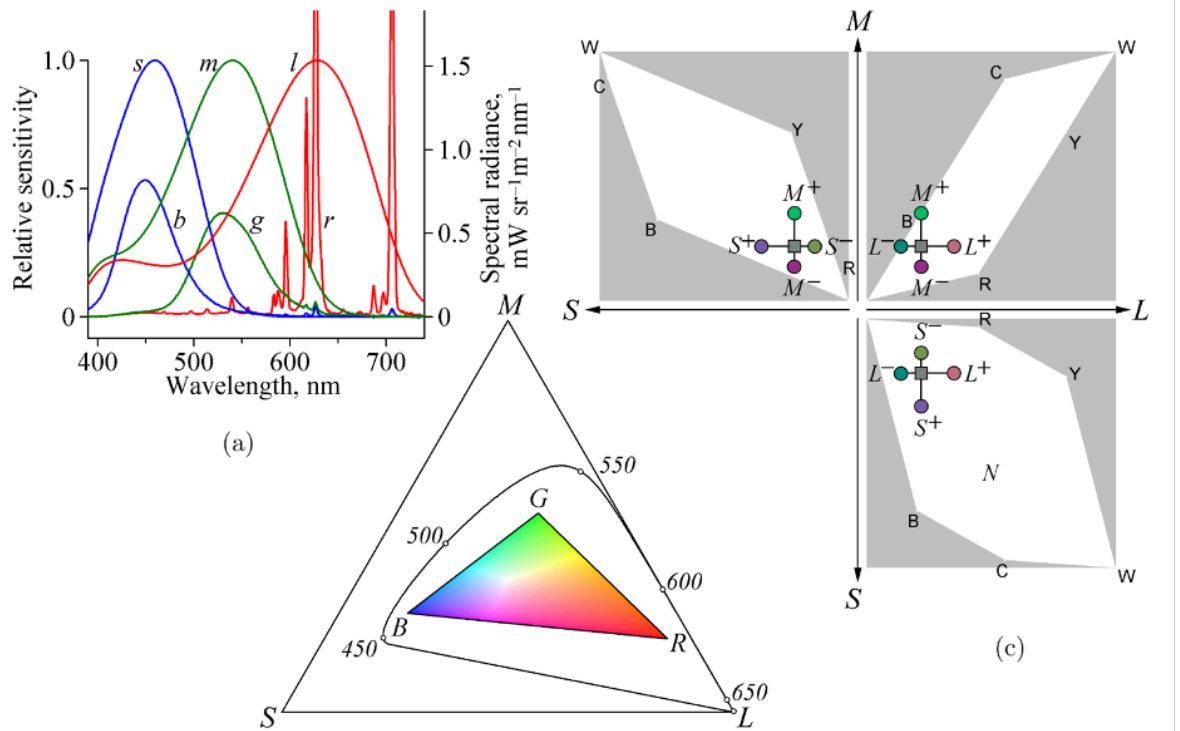


Рисунок 8 – **Спецификация цветов монитора.** (а) Спектральная чувствительность колбочек *C. gibelio* (*l*, *m*, *s*) и спектры излучения трёх люминофоров монитора при максимальной яркости (*r*, *g*, *b*). Функции относительной спектральной чувствительности трёх типов колбочек золотой рыбки с максимумами поглощения при 622–623, 535 и 454 нм (Maximova et al., 2005) были рассчитаны с использованием стандартного шаблона (Govardovskii et al., 2000) для зрительного пигмента витамина A2 с учётом спектрального пропускания оптических сред глаза (Douglas, 1989). (b) Равносторонняя хроматическая диаграмма золотой рыбки. Вершины треугольника *L*, *M* и *S* соответствуют цветам физически невозможных излучений, избирательно возбуждающих отдельные типы колбочек. Плавная кривая внутри треугольника — спектральный локус (длины волн указаны в нанометрах), ограничивающий область физически достижимых цветов. Многоцветный треугольник внутри этой области обозначает цветовой охват монитора. (c) Трёхмерное физиологическое цветовое пространство золотой рыбки в двухмерных проекциях. Оси — относительное возбуждение коротковолновых (*S*), средневолновых (*M*) и длинноволновых (*L*) к. Светлые многоугольники в плоскостях *LM*, *MS* и *LS* — проекции 3D-параллелепипеда, охватывающего цвета, воспроизводимые монитором. Их вершины соответствуют стандартным RGB-цветам: *R* — красный, *B* — синий, *Y* — жёлтый, *C* — голубой, *W* — белый. Цветные кружки и квадраты обозначают позиции «селективных цветов» стимулов и фона, использованных в данной работе. (из Maximov et al., 2015).

Глава 3. Результаты

3.1. Определение и общая характеристика ЭФА

3.1.1. Регистрация ЭФА

По мере погружения электрода в тектум наблюдается активность различных реакций, имеющих ретинальное происхождение. У самой поверхности располагаются окончания ДИ ГК, глубже регистрируются ответы ОИ ГК, детекторов пятен и R/G клеток. При приближении к самому глубокому горизонту ретинореципиентного слоя тектума можно наблюдать повышение фоновой нейрональной активности. Так как в процессе погружения микроэлектрода никакой стимуляции не производится, данную фоновую активность мы назвали спонтанной, то есть ничем не вызванной. А клетки, генерирующие такую активность, мы стали называть спонтанно-активными ганглиозными клетками. Так как при работе в тектуме мы наблюдаем не сами клетки, а электрическую активность окончаний их аксонов, то для большей точности приняли решение называть этот тип клеток элементами с фоновой активностью (ЭФА).

При погружении микроэлектрода в тот или иной горизонт ретинореципиентного слоя, как правило, наблюдается суммарная активность множества элементов. Поэтому для того, чтобы исследовать свойства элементов, присутствующих в тектуме, для начала необходимо научиться добиваться их одиночных отведений. При погружении на необходимую глубину, когда наблюдали рост фоновой активности в показаниях осциллографа, мы снижали скорость погружения. Меняя положение

микроэлектрода, добивались того, чтобы из шума выделился одиночный сигнал, проявляющийся в звучании динамика характерным треском, а на осциллографе как регулярные импульсы с постоянной амплитудой. При оценке качества отведения на этапе обработки результатов мы отбирали те элементы, при записи которых не наблюдается импульсов в период рефрактерности на ждущей развертке (рис. 9).

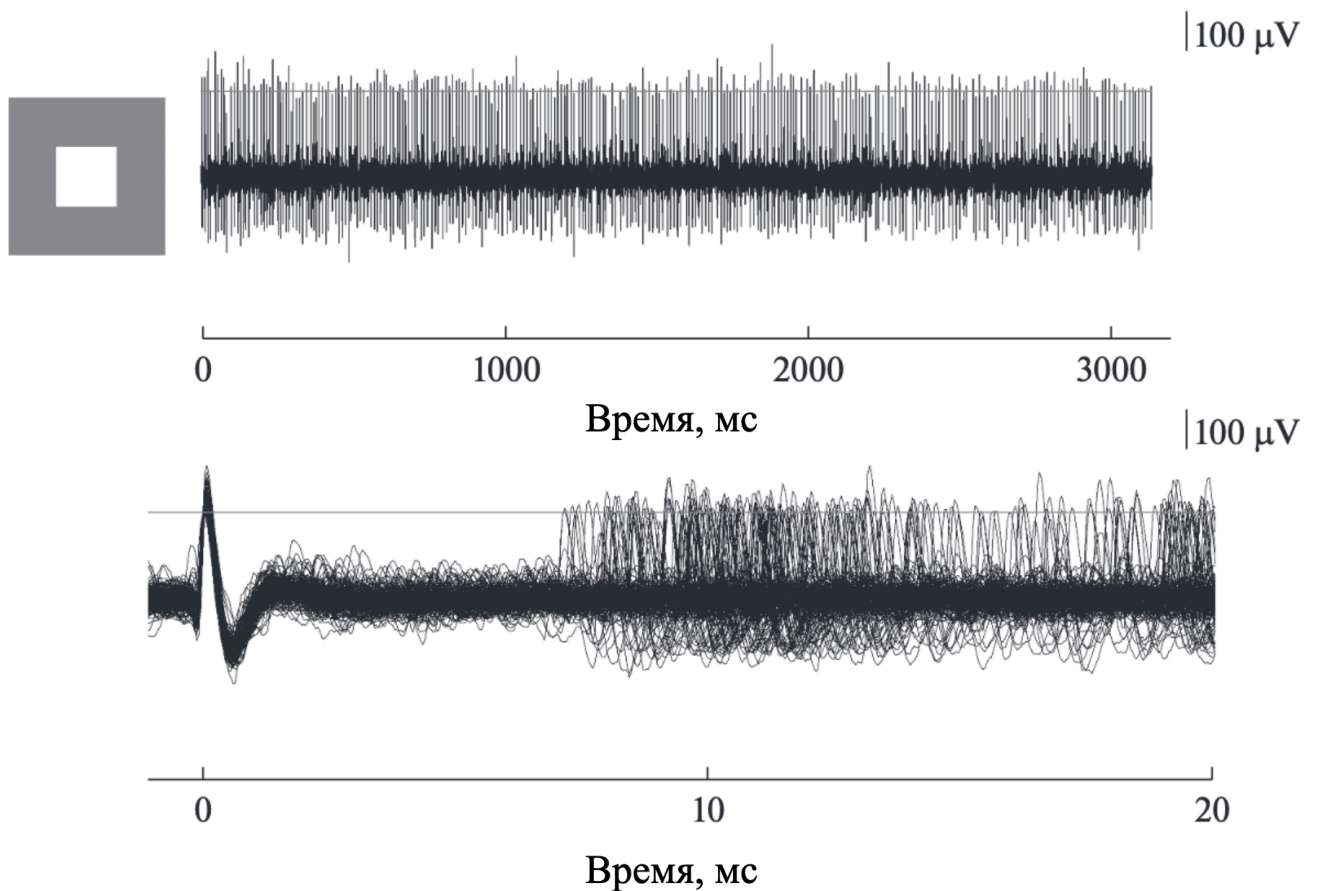


Рисунок 9 – **Импульсный ответ ЭФА.** Сверху – длящаяся импульсная активность ЭФА ON-типа, отмечен порог (250 мкВ) для амплитудной дискриминации; внизу – запись активности на ждущей развертке (наблюдается отсутствие спайков в рефрактерный период). Слева – конфигурация стимула (размер белого пятна составляет 11°).

Как уже было сказано выше, глубина залегания ЭФА самая большая из всех ретинотектальных проекций. По субъективным слуховым ощущениям плотность окончаний ЭФА в указанном горизонте высока относительно лежащих выше окончаний других ретинальных элементов. Кроме того,

создается впечатление, что ON реакции обнаруживаются глубже, чем OFF реакции. При помощи координатной сетки микроманипулятора мы провели измерения глубины регистрации относительно поверхности тектума различных элементов тектума, среди них было 99 ЭФА (рис. 10). Наши измерения показали, что данные элементы отводятся на глубине примерно 190-200 мкм от поверхности тектума. Однако, на данный момент значимых отличий между глубинами залегания окончаний ON и OFF элементов выявить не удалось.

3.1.1. Общие свойства ЭФА

Как и в случае с другими ретинальными элементами, представленными в тектуме карася, первоначально мы фиксировали реакции ЭФА на стимуляцию ручными стимулами. Для этого в зоне между глазом рыбы и монитором помещали темную полосу. При регистрации одиночных ЭФА удалось установить, что данные элементы реагируют длящимся ответом на стимуляцию объектами предпочитаемого контраста. Таким образом мы поняли, что имеем дело с элементами с длящимся ответом, что в англоязычной литературе называется «sustained». По предпочтению к знаку контраста эти элементы разбиваются на две группы - ON и OFF. При попадании темного стимула в РП OFF элементы давали разряд, длящийся все время затемнения РП. ON элементы аналогичным образом реагировали на светлый стимул.

В качестве характеристического стимула, то есть такого, при помощи которого можно идентифицировать данный класс элементов, нами было выбрано пятно размером со стандартную область предъявления в 11° , черного цвета для OFF элементов и белого цвета для ON элементов (рис. 9). В дальнейшем мы обозначали как ЭФА только те клетки, которые отвечали на такую стимуляцию длящимся импульсным ответом.

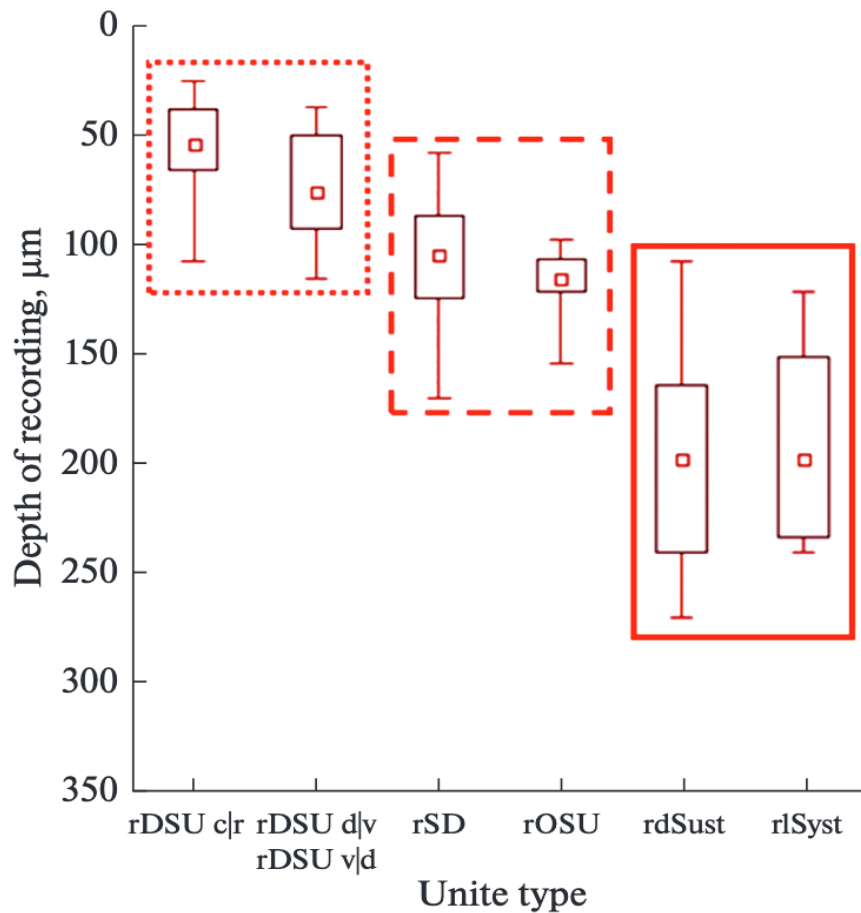


Рисунок 10 – **Три кластера в ретинорецепиентном слое ТО.** Области, где экстраклетоточно отводятся реакции ГК – детекторов разных признаков от окончаний их аксонов. Применен критерий Краскела–Уоллиса при $p < 0.05$. Данные представлены в виде медиана $\pm$ интерквартильный размах. Прямоугольниками выделены три кластера, между которыми есть статистически значимые различия. Слева – дирекционально избирательные ГК; в центре – детекторы ориентированных линий, детекторы малых пятен; справа – ГК с фоновой активностью (ЭФА) ON- и OFF-типов. Обозначения: rDSU c|r, rDSU d|v, rDSU v|d – ретинальные дирекционально-избирательные элементы каудо-рострального (41 элемент), дорзо-вентрального и вентро-дорзального предпочтительных направлений соответственно (в сумме 25 элементов); rSD – ретинальные детекторы малых пятен (29 элементов); rOSU – ретинальные ориентационно-избирательные элементы (15 элементов); rdSust и rlSust – ЭФА OFF- и ON-типов соответственно (45 и 13 элементов соответственно) (рисунок опубликован в статье Aliper et al., 2019).

3.1.1. Контрастная чувствительность ЭФА

При оценке контрастной чувствительности ЭФА (рис. 11) мы провели измерения на 211 клетках. Контрастная чувствительность ЭФА как ON-типа, так и OFF-типа, очень высока, как и у детекторов движения. Минимальная контрастность (по Майкельсону), на которую возникает реакция, составляет 0,07. Но зависимость величины ответа (количества импульсов за время предъявления стимула) от интенсивности стимула – плавная, и крутизна кривой контрастной чувствительности существенно ниже, чем у ранее исследованных нами ретинальных элементов.

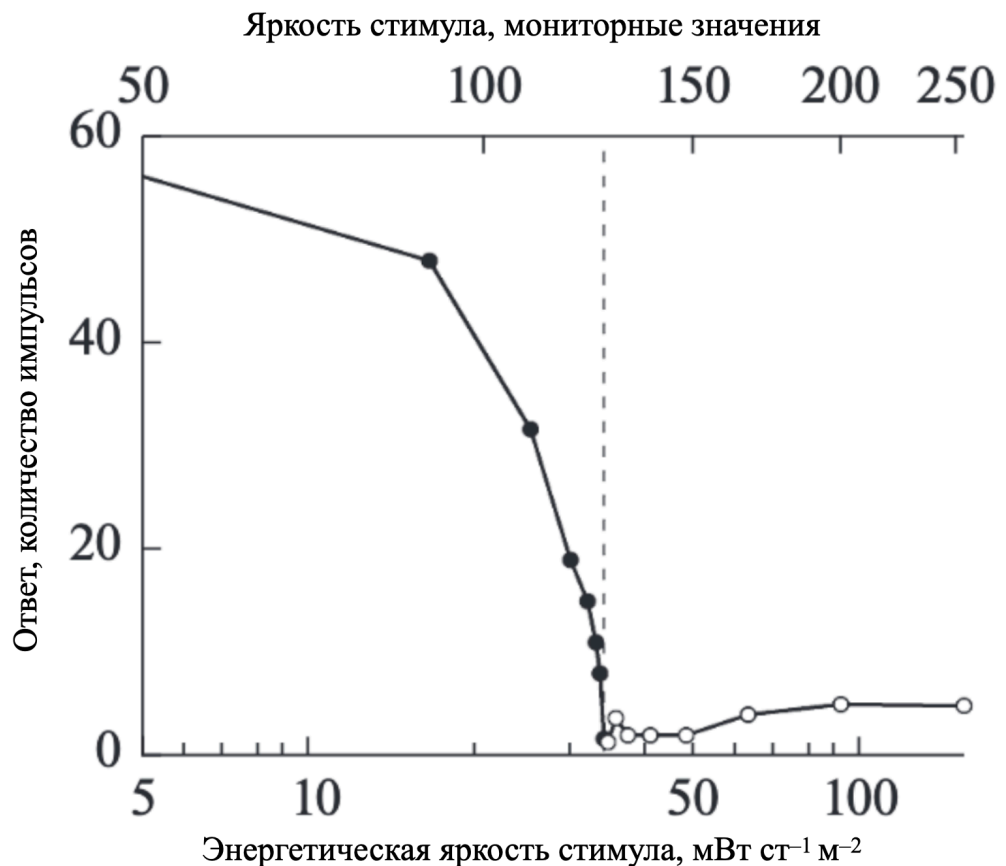


Рисунок 11 – Зависимость реакций ЭФА OFF-типа от контраста стимула и фона в центре РП. Точками на графике показано количество импульсов в ответе на вспыхивающее в центре РП пятно размером 8°. По оси абсцисс – яркость стимула (в мониторных величинах), по оси ординат – число импульсов в ответе клетки за время вспышки (700 мс).

3.2. Исследование центральной части рецептивных полей

3.2.1. Измерение центральной части РП

Рецептивные поля ганглиозных клеток подразделяются на центральную часть и периферию. Центр РП также принято называть возбуждающим рецептивным полем (ВРП). ВРП - та часть рецептивного поля, в которой данный элемент способен проявить специфичную для него реакцию на адекватный стимул. Размеры и форма ВРП говорят нам не только о физиологических свойствах того или иного класса элементов, но и о характере мозаики дендритных окончаний, которую образуют соответствующие ГК. Для разных элементов оптимальные методы измерения размеров ВРП разные. Так, например, для ДИ ГК оптимальным является отслеживание областей, где наблюдается реакция на движущийся стимул. ЭФА отвечают на движущийся стимул с некоторой отчетливо видной задержкой. Но при этом в большинстве случаев способны отвечать на стимуляцию вспышками небольших пятен, поэтому мы решили проводить измерения размеров их ВРП методом шахматной доски (рис 12). Для стимуляции ЭФА ON-типа мы использовали вспышки белых пятен на сером фоне. Для ЭФА OFF-типа использовали вспышки черных пятен на таком же сером фоне. Вспышки пятен предъявлялись в ячейках квадратной сетки в квазислучайном порядке, после чего программа производила подсчет количества импульсов, возникающих в ответ на стимуляцию. В каждой ячейке сетки стимул предъявляли трижды. Серии стимуляции импульсной активности всегда начинали предъявлением стимула в центральной ячейке. В конце серии проводили повторную стимуляцию в центральном положении для контроля уровня ответа клетки. Примеры результатов опытов, проведенных на ЭФА ON и OFF типов, приведены ниже на рис. 13.

В общей сложности мы провели измерения ВРП для более чем 200 ЭФА. Для обработки мы отбирали только стабильные одиночные отведения, которые на стимуляцию пятном указанного выше размера отвечали длящимся разрядом.

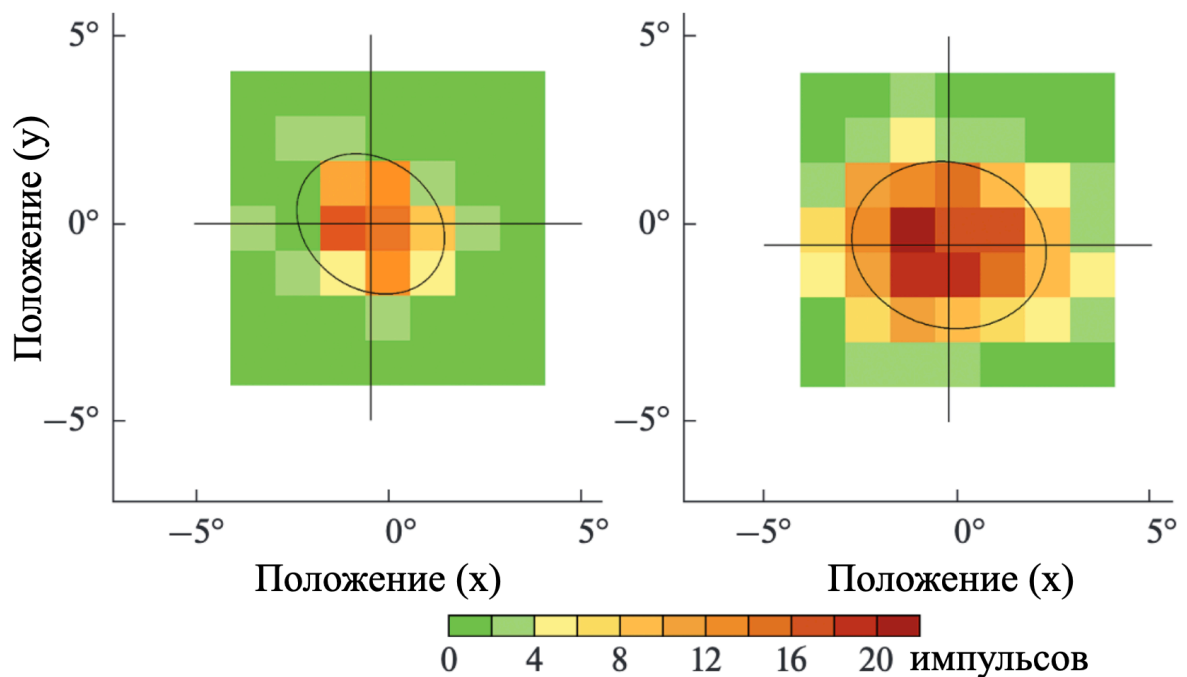


Рисунок 12 – **Визуализация рецептивных полей ЭФА.** Рецептивные поля ЭФА OFF-типа (слева) и ON-типа (справа), картированные методом “шахматной доски”. Клеточные ответы во всей области стимуляции представлены в географической палитре топографической карты (шкала приведена в нижней части рисунка). Эллипсами обозначены оценки границ возбудительных зон рецептивных полей.

Гистограмма распределения размеров ВРП, оцененных для 189 ЭФА, приведена на рис. 13 слева. Размеры рецептивных полей, которые оценивались по диаметрам построенных эллипсов, составляли от 2,4° до 6,1° со средним значением $5.0 \pm 1.13^\circ$. Данные для ON и OFF типов также приведены на рис. 13 по центру и справа; существенных различий между группами не обнаруживается. Протяженность рецептивных полей исследованных элементов мы оценивали по параметру соотношения высоты к ширине аппроксимированных ВРП. Среднее соотношение сторон составило $0,86 \pm 0,11$. То есть, как правило, ВРП имели форму эллипса, притом почти во всех случаях протяженность наблюдалась в горизонтальной ориентации.

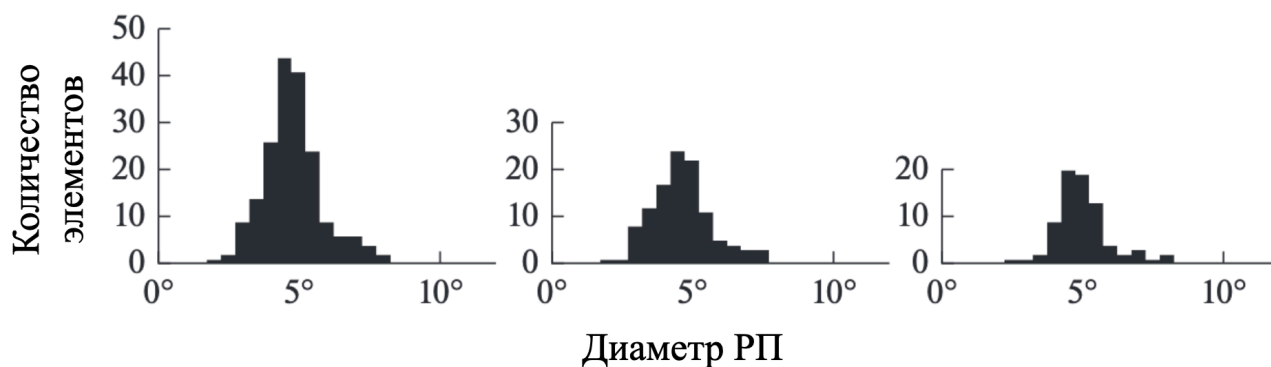


Рисунок 13 – **Размеры рецептивных полей ЭФА.** Гистограммы распределения размеров рецептивных полей 189 ЭФА. Размеры представлены в виде: среднее $\pm$ среднеквадратичное отклонение. Слева – суммарная выборка из 189 ЭФА обоих типов ($5.0^\circ \pm 1.13^\circ$), в центре – выборка из 112 темновых ЭФА (OFF-тип) ($4.8^\circ \pm 1.19^\circ$), справа – выборка из 77 световых (ON-тип) ($5.2^\circ \pm 0.99^\circ$).

3.2.2. Реакции на подвижные стимулы

Одной из стандартных процедур при исследовании тектальных элементов в нашей работе является их общая оценка при помощи инструмента PD. Процедура стимуляции заключается в предъявлении движущейся контрастной границы с в 12 направлениях. Данный инструмент, как правило, позволяет установить, есть ли у регистрируемого элемента дирекциональная или ориентационная избирательность, а также понять положение и размер его рецептивного поля. Все исследованные нами ранее тектальные элементы проявляют активность исключительно в ответ на движение в центре РП. Например, стимуляция проводится белой границей. Если реакция регистрируется на входящий профиль границы, то мы имеем дело с ON элементом. Если реакция регистрируется на выходящий профиль границы, то это OFF элемент. Если ответ идет на оба профиля границы, то мы имеем дело с ON-OFF элементом. В случае с ЭФА мы столкнулись с нетипичной конфигурацией ответа на подвижные границы (Рис.14, А). При стимуляции

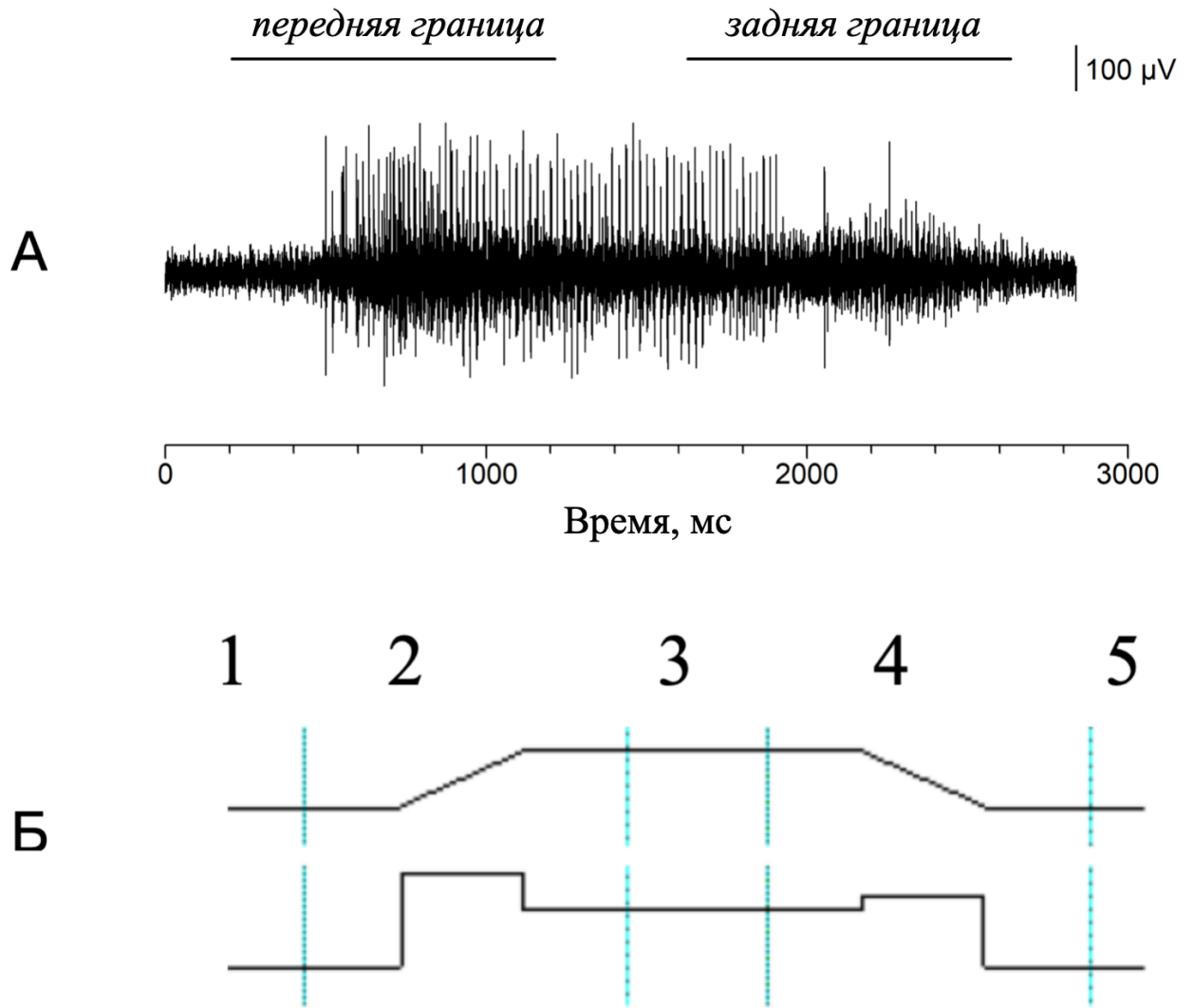


Рисунок 14 – **Реакции ЭФА на движение границы.** А - запись импульсного ответа ЭФА на движущуюся границу. Снизу приведена временная шкала; сверху отмечены вход и выход границы. Б - Схема стимуляции и ответов ЭФА на движущуюся границу. Сверху продемонстрирована динамика движения границы в РП, внизу - схематическое выражение наблюдаемых ответов. Голубыми линиями и цифрами показаны этапы движения границы. 1 - период до стимуляции, 2 - движение переднего фронта границы в области предъявления, 3 - область предъявления полностью покрыта стимулом, 4 - движение заднего фронта границы в области предъявления, 5 - период после стимуляции.

границей предпочтительного знака контраста элемент отвечает на стимул на протяжении всего периода предъявления - с момента входа границы в область предполагаемого центра РП до выхода границы за его пределы. Первоначально мы думали, что ответ ЭФА пропорционален величине участка РП,

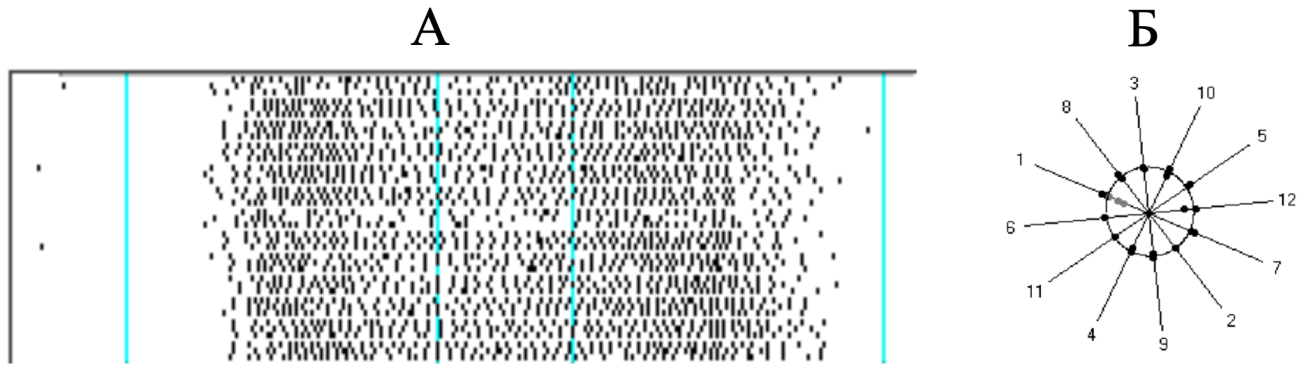


Рисунок 15 – **Регистрация полярной диаграммы ЭФА.** А - растровая запись ответов ЭФА OFF-типа на движение темной границы в 12 направлениях. Б - диаграмма, построенная в полярных координатах по данным из серии, представленной на рисунке А. Цифрами на диаграмме показан порядок перебора направлений; точками показано количество импульсов в ответе клетки индивидуально для каждого из трех пробегов по каждому направлению.

покрываемого стимулом. Когда мы предъявляем движущуюся границу, то динамика регистрируемого ответа ожидалась следующая: 1) сначала передний край стимула движется за пределами РП, и регистрируется исключительно фоновая активность, 2) затем передний край движется по РП, и регистрируется ответ на движение, 3) потом передний край уходит за пределы РП, а задний край стимула еще не вошел в РП, и регистрируется длящаяся активность на стимул, 4) задний край границы движется по РП, и регистрируется ответ на его движение, и, наконец, 5) задний край выходит за пределы РП, и снова регистрируется фоновая активность. Схема действительной динамики ответа приведена на рис. 14, Б. Оказалось, что существенно и само движение границы по РП (фазы 2 и 4): в это время ответ совсем не соответствует площади РП, покрытой стимулом. Более того, часто в ответах как на введение, так и на выведение частота импульсов выше, чем на любой из стационарных уровней (фазы 1, 3 и 5). Вследствие подобного ответа единственное, что удастся заключить при помощи инструмента РД – это отсутствие каких-либо предпочтений ЭФА к направлению движения и ориентации стимула (Рис. 15). Реакции на стимуляцию в каждом из направлений однородны, без

существенных различий, что отражается в точности на результирующей полярной диаграмме.

3.3. Свойства периферии рецептивных полей ЭФА

Как было показано выше, размеры ВРП ЭФА сопоставимы с таковыми у других описанных ретинальных элементов тектума. Однако при этом размер оптимального характеристического стимула в 11° превосходит оцененные нами размеры ВРП примерно в два раза.

В то же время особенностью этого типа элементов является то, что, как правило, их ответ тормозится частично или полностью, когда предъявляемый предпочтительный стимул значительно превышает размерами их ВРП (рис. 16). Для получения такой реакции от ЭФА мы меняли цвет фона со стандартного серого на тот же, которым стимулируется область предъявления при проведении характеристического теста (черный для OFF элементов и белый для ON элементов). Полное торможение при такой стимуляции в основном демонстрировали OFF элементы, импульсная активность ON элементов как правило тормозилась частично. Подобное мощное тормозное воздействие периферии не характерно для ретинальных элементов тектума: нами показано, что затемнение периферии РП может оказывать легкое тормозное воздействие на количество импульсов в ответе на стимуляцию центра у других ретинальных элементов, но случаев тотального торможения ахроматическим воздействием на периферию нами до этого зафиксировано не было. Таким образом, ЭФА - первый тип ретинальных элементов, у которого периферия играет существенную роль в организации их РП.

Количество импульсов в ответах ЭФА зависит от размеров стимула: ответ на пятна размером в 1° , которыми мы измеряли размеры ВРП, ощутимо ниже, чем на пятна размером в 11° , но при этом еще большее увеличение размеров стимула до 30° приводит к ощутимому торможению ответа. Охарактеризовать зависимость интенсивности ответа от размера стимула мы решили при помощи стимуляции вспышками центрированных пятен изменяющегося размера. Центрирование области стимуляции производили на основании измерений ВРП методом

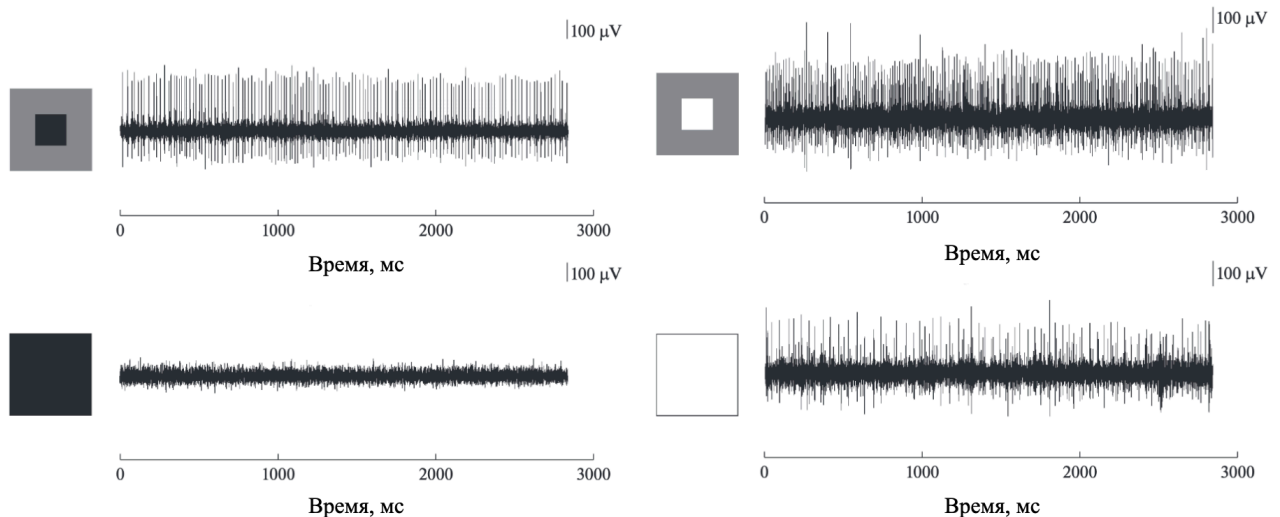


Рисунок 16 – **Условие возникновения реакции ЭФА.** Слева - записи реакции ЭФА OFF-типа. Вверху – установившаяся импульсная реакция ЭФА OFF-типа при затемненном центре РП и более светлой дальней периферии; внизу - полное торможение реакции этого элемента при затемненной дальней периферии (отсутствии контраста центра и окружения). Справа - реакции ЭФА ON-типа. Вверху (А) – установившаяся импульсная реакция ЭФА ON-типа при светлом центре РП и более темной дальней периферии; внизу (В) – значительно сниженная импульсная активность при освещенной дальней периферии РП (отсутствии контраста центра и окружения). Слева от каждой записи представлена конфигурация стимулов.

шахматной доски, устанавливая ее положение таким образом, чтобы ее центр совпадал с центром ВРП. Серии измерения зависимости интенсивности ответа от размера стимула мы провели на 141 клетках, среди которых 89 ЭФА OFF-типа и 52 ЭФА ON-типа. Ожидалось, что при увеличении размера пятна до размера возбудительной части РП реакция клеток будет возрастать, а при дальнейшем увеличении — падать, как это происходит в случае с детекторами пятен - другими клетками, для которых вспыхивающее пятно является предпочтительным стимулом. Однако размеры стимула, при которых достигается максимальный ответ, оказались существенно больше, чем размеры ВРП, измеренные с помощью метода шахматной доски (Рис. 17-18). Данные различия достоверны и проходят проверку критерием Манна-Уитни.

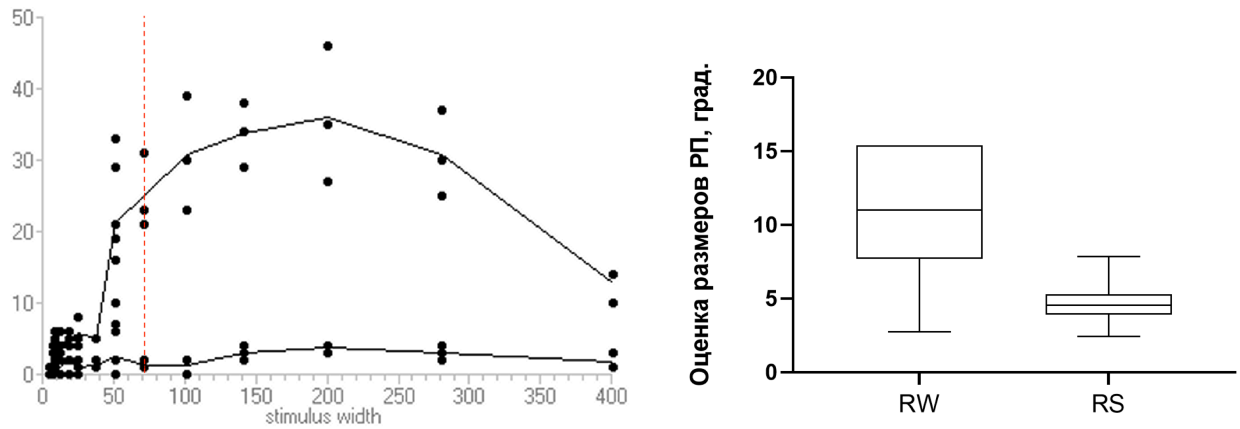


Рисунок 17 – **Зависимость ответа ЭФА OFF-типа от размера стимула.** Слева - результат серии измерений для одного из элементов данного типа. Точки на графике отражают результаты измерений после каждого эпизода стимуляции. Красным пунктиром показан измеренный перед этим размер ВРП для данной клетки. Справа приведено сравнение между размерами стимула, насыщающего ответ ЭФА OFF-типа (RW), и размер их ВРП, измеренных методом шахматной доски (RS). Применен критерий Манна-Уитни при $p < 0.0001$. Данные представлены в виде медиана $\pm$ интерквартильный размах.

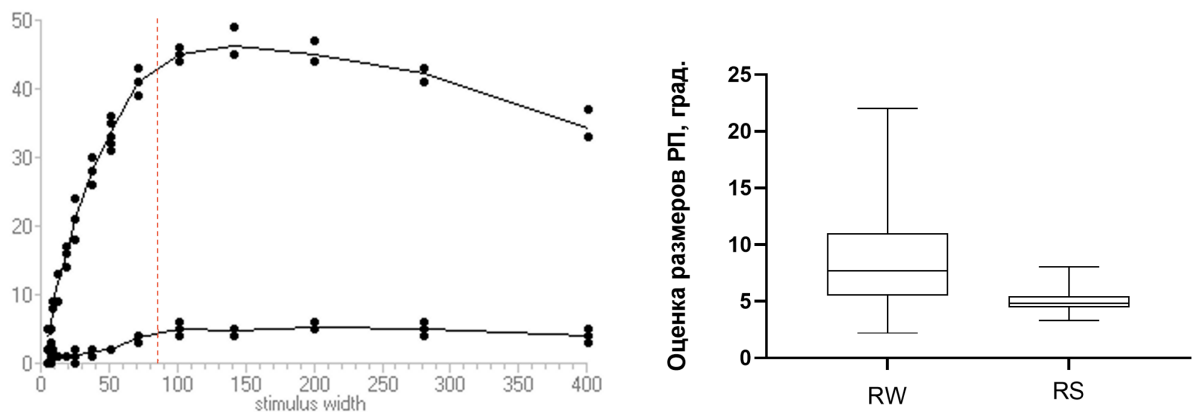


Рисунок 18 – **Зависимость ответа ЭФА ON-типа от размера стимула.** Слева - результат серии измерений для одного из элементов данного типа. Точки на графике отражают результаты измерений после каждого эпизода стимуляции. Красным пунктиром показан измеренный перед этим размер ВРП для данной клетки. Справа приведено сравнение между размерами стимула, насыщающего ответ ЭФА ON-типа (RW), и размер их ВРП, измеренных методом шахматной доски (RS). Применен критерий Манна-Уитни при $p < 0.0001$. Данные представлены в виде медиана $\pm$ интерквартильный размах.

Ответ клетки в большинстве случаев продолжает плавно расти и после того, как размер вспыхивающего пятна проходит отметку ранее оцененного размер ВРП. Уменьшение интенсивности ответа с дальнейшим увеличением стимула также носит уникальный характер. После насыщения у большинства ЭФА с дальнейшим увеличением размеров стимула ответ падает медленно, иногда перед спадом выходит на плато.

Для большинства исследованных элементов ON-типа максимальный ответ достигается при размере стимула $7,7^\circ$. Для OFF элементов этот показатель оказался выше, и у большинства насыщение наступало на отметке 11° . Это различие достоверно и проходит проверку критерием Манна-Уитни (Рис. 19). Но стоит отметить, что среди обоих классов выявлено существенное количество элементов с насыщением при стимуляции пятном в 15° , что втрое превышает оцененные размеры возбуждательной части РП.

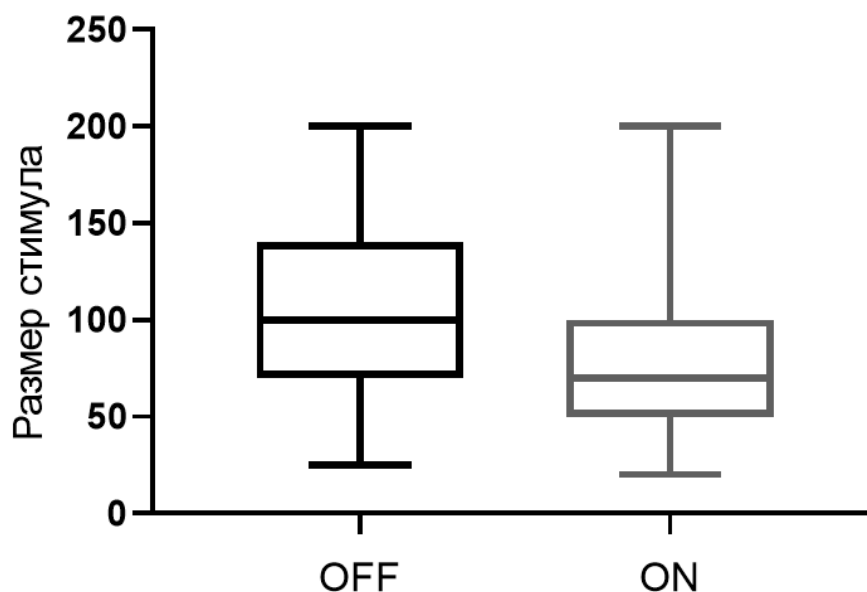


Рисунок 19 – Оценка размера стимула, вызывающего максимальный ответ при стационарном предъявлении. Насыщение реакций ЭФА в ответ на увеличение размеров стимула. Сравнение выборок ЭФА OFF-типа и ON-типа. Применен критерий Манна-Уитни при $p < 0.05$. Данные представлены в виде медиана $\pm$ интерквартильный размах.

Все изложенные выше свидетельства о влиянии периферии РП на ответ у ЭФА продемонстрированы в условиях, когда стимуляция периферии производится совместно со стимуляцией центра, то есть мы можем пока говорить только о

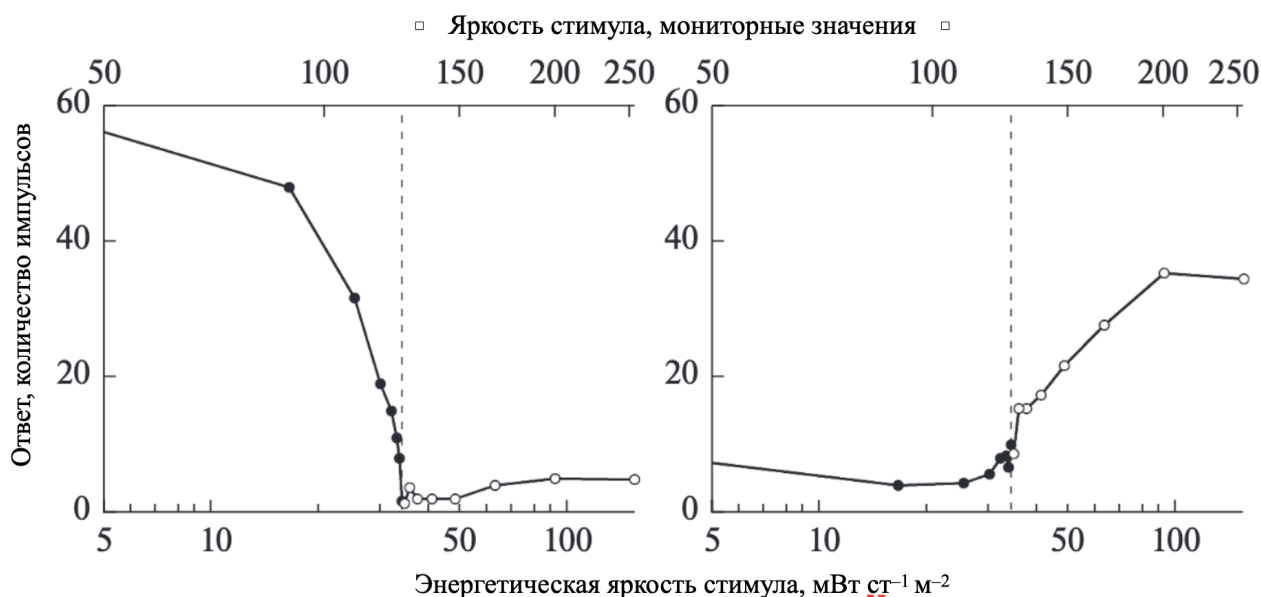


Рисунок 20 – **Свидетельство реактивных свойств периферии РП ЭФА.** Зависимости реакций ЭФА OFF-типа от контраста стимула и фона в центре РП и от контраста центра и окружения. Слева – реакция на вспыхивающее в центре РП пятно размером 11° . По оси абсцисс – яркость стимула (в мониторных и энергетических величинах), по оси ординат – число импульсов в ответе клетки за время вспышки (700 мс). Вертикальной штриховой линией обозначена яркость фона. Справа – реакция на изменение яркости далекого окружения (60×40 угловых градусов) при отсутствии изменений в центральной области (серое пятно размером 11°). По оси абсцисс – яркость далекого окружения (в мониторных и энергетических величинах), по оси ординат – число импульсов в ответе клетки за время вспышки дальней периферии (700 мс). Вертикальной пунктирной линией обозначена яркость центрального пятна.

модулирующем воздействии периферии на реактивность центра РП. Для того, чтобы ответить на вопрос, обладает ли периферия ЭФА собственными реактивными свойствами, мы специально разработали новый программный инструмент для стимуляции, позволяющий записывать реакции регистрируемых элементов на стимуляцию периферии при постоянном освещении центра РП. Первые же попытки проведения подобной стимуляции показали, что периферия реактивна и оппонентна центру РП. ЭФА OFF-типа демонстрируют увеличение импульсов в ответе при посветлении периферии и уменьшение реакции при потемнении периферии. ЭФА ON-типа реагируют увеличением ответа при потемнении периферии и снижением при посветлении. При помощи стимуляции

периферии РП ЭФА мы оценили ее контрастную чувствительность и сопоставили с контрастной чувствительностью в центре РП (рис. 20). В результате 85 проведенных измерений мы заключили, контрастная чувствительность на периферии РП не отличается от таковой в центре - реакция возникает уже при малейшем сдвиге освещения в сторону предпочтительного знака контраста.

3.4. Цветовые свойства ЭФА

Все представленные выше данные получены при помощи ахроматической стимуляции. Применительно к любому типу ГК представляет интерес, каким образом они связаны с разными типами фоторецепторов. В сетчатке взрослых карасей и карпов имеется три типа колбочек с максимумами поглощения 623, 535, и 454 нм. Богатый набор цветооппонентных клеток в сетчатке (биполярных, горизонтальных и ганглиозных клеток) свидетельствует о соответствующей обработке сигналов от колбочек разных типов. Ранее мы показали, что все обнаруженные нами типы ретинальных элементов ТО связаны со всеми тремя типами колбочек. Но при этом практически все они (за исключением R/G клеток) не обладают цветоразличающей способностью и демонстрируют принцип унивариантности (Naka, Rushton, 1966, Maximova et al., 2015). При помощи уже разработанных инструментов мы проверили цветовые свойства ЭФА. Кривые спектральной чувствительности колбочек (L – длинноволновых, M – средневолновых, S – коротковолновых) перекрываются. Поэтому стимуляция отдельных типов колбочек насыщенными узкополосными спектральными стимулами от темноты невозможна. Можно, однако, от некоторого общего уровня возбуждения добавить или убавить возбуждение одного выбранного типа колбочек (или двух). Такие инкрементные (+) и декрементные (–) селективные стимулы были рассчитаны для L, M, и S колбочек карася, исходя из возможностей монитора. Инкрементные и декрементные стимулы необходимы для того, чтобы выявить цветооппонентные взаимодействия. ON и OFF каналы проводят сигнал от каждого из

цветоприемников (колбочек) отдельно. Цветооппонентность предполагает единообразие ответов, возникающих при поступлении сигнала по ON-каналу от приемника 1 и по OFF-каналу от приемника 2. При этом реакции на сигнал от OFF-канала приемника 1 и ON-канала от приемника 2 не возникают. Для нашего монитора оказалось возможным добиться селективной стимуляции в пределах контраста в 1,6 раза. Также в серии предъявляли ахроматические стимулы G^+ и G^- (от англ. «gray») того же уровня контраста, чтобы показать на том же рисунке, проводилась серия на элементе ON-типа или OFF-типа.

3.4.1. Цветовые свойства ЭФА OFF-типа

3.4.1.1. Цветокodирование ЭФА OFF типа

Исследование цветовых свойств ЭФА при помощи селективной стимуляции каждого из трех типов (L, M, S) колбочек проведено на 98 ЭФА OFF-типа. Для стимуляции использовали вспышки пятен диаметром $7,7^\circ$.

На рисунках 21-23 в растровых отображениях серий видно несколько особенностей реакции ЭФА на вспыхивающие стимулы. Во-первых, ответ можно разделить на начальную фазу разряда, где наблюдается высокая частота импульсов, и установившуюся реакцию с меньшей частотой. Во-вторых, ответ на стимуляцию разными цветами имеет разную латентность. Этот феномен требует отдельного исследования.

В результате анализа полученных записей можно утверждать, что ЭФА OFF-типа связаны со всеми тремя типами колбочек, причем не единообразно. У них выделено три основных разновидности связей:

1) импульсный ответ вызывается стимулами $L^\pm$, M^- , S^+ (рис. 21). Наиболее существенный длящийся ответ наблюдается на стимулы L^+ и M^- . Помимо ответа на включение стимула можно наблюдать также ответ на выключение, который наблюдается в реакциях на стимулы $L^\pm$, M^+ и $S^\pm$.

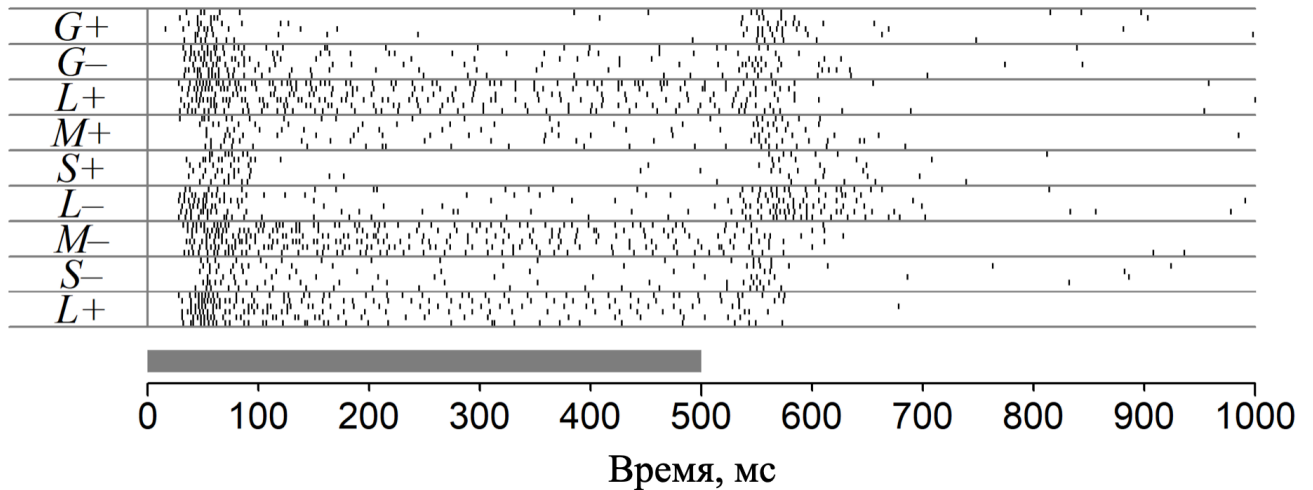


Рисунок 21 – Цветокodирование ЭФА OFF-типа группы 1. Растровое представление реакций ЭФА OFF-типа (группа 1) на цветные селективные стимулы, включаемые в центре РП при неизменной серой периферии. Серая полоса внизу обозначает время действия стимула. Каждый стимул предъявлялся шесть раз. Цвета селективных инкрементных (+) и декрементных (–) стимулов представлены буквами, соответствующими типу возбуждаемых ими колбочек.

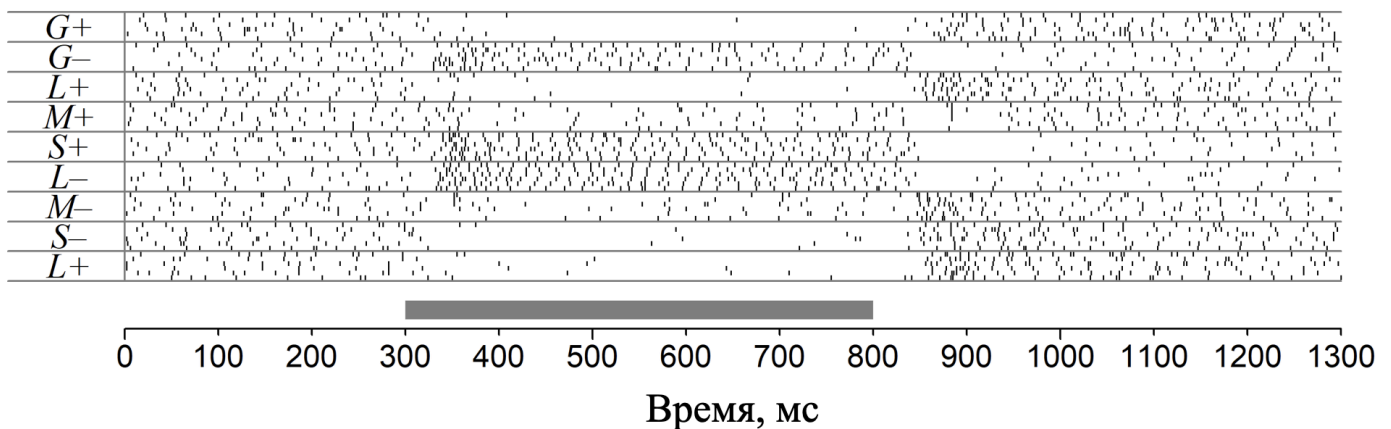


Рисунок 22 – Цветокodирование ЭФА OFF-типа группы 2. Растровое представление реакций ЭФА OFF-типа (группа 2) на цветные селективные стимулы, включаемые в центре РП при неизменной серой периферии. Серая полоса обозначает время действия стимула. Каждый стимул предъявлялся шесть раз. Цвета селективных инкрементных (+) и декрементных (–) стимулов представлены буквами, соответствующими типу возбуждаемых ими колбочек.

2) импульсный ответ вызывается стимулами $L-$, $S+$ (рис. 22). Длительный ответ вызывают стимулы $S+$ и $L-$. Торможение активности вызывается

стимулами L^+ и S^- . Среди элементов, принадлежащих к данной группе есть ряд элементов, которые могут реагировать на стимулы M^+ и M^- импульсным ответом. При этом ответ на M^+ длящийся, иногда выше, чем ответ S^+ . Ответ на стимул M^- возникает редко и не вызывает длящегося ответа. Другие элементы той же группы отвечают на стимуляцию зеленого канала торможением фоновой активности (как на рис. 2). Фоновая активность до и после реакции на стимул наблюдалась только у этой группы ЭФА OFF-типа. Ответы на выключение стимулов возникают при стимуляции цветами L^+ , M^- , S^- .

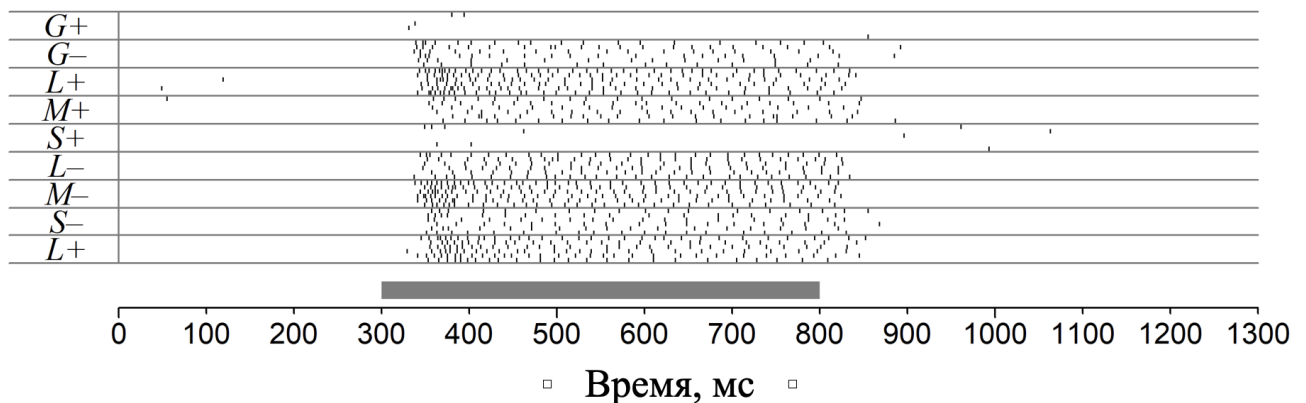


Рисунок 23 – **Цветокodирование ЭФА OFF-типа группы 3.** Растровое представление реакций ЭФА OFF-типа (группа 3) на цветные селективные стимулы, включаемые в центре РП при неизменной серой периферии. Серая полоса обозначает время действия стимула. Каждый стимул предъявлялся шесть раз. Цвета селективных инкрементных (+) и декрементных (–) стимулов представлены буквами, соответствующими типу возбуждаемых ими колбочек.

3) импульсный ответ может вызываться стимулами $L^\pm$, $M^\pm$, $S^\pm$ (рис. 23). Каждый из цветных стимулов может вызывать у них длящуюся реакцию. У элементов данной группы не выявляется видимых тормозных влияний тех или иных цветовых каналов. Также, в отличие от первых двух групп, у них не встречается ответов на выключение стимуляции.

Различия в цветокodировании между данными подтипами мы обнаружили в результате просмотра результатов измерений для разных клеток, и в последствии каждый новый зарегистрированный элемент попадал в одну из трех групп. Различия в ответах на те или иные стимулы хорошо видны на глаз. Но количество импульсов в ответе клеток внутри одной группы может

варьировать в широком диапазоне. Кроме того, при проведении измерений для разных клеток мы задавали разную длительность стимуляции. Поэтому для сравнения выявленных путем наблюдения групп между собой необходимо привести данные к общему виду.

Для этого мы сначала мы измерили длительность ответа, возникающего на первом этапе, до установления длящейся реакции. Она составила около 200 мс, и данное правило выполняется для всех клеток в их ответе на все стимулы. Для последующего интервала установившейся длящейся реакции мы вычисляли среднюю частоту импульсации и пересчитывали ее так, как если бы она продолжалась 800 мс. Таким образом, длительность ответов, приведенных к общему виду, составляла 1 с. Пример данных, приведенных к общему виду, представлен на таблице 1. На основе приведенных к общему виду данных мы попарно сравнили три предполагаемых группы ЭФА OFF-типа, применив U-тест (рис. 24).

Таблица 1. Фрагмент таблицы данных с реакциями ЭФА OFF-типа (группа 2) на стимуляцию селективными цветными стимулами.

Дата	№ клетки	ON/OFF	L +	M +	S +	L –	M –	S –	№ клетки в базе
07-11-06	# 5	OFF	8,2	29,6	17,6	53,1	5,8	0,5	3
11-11-07	# 4	OFF	6,8	21,9	54,1	69,8	3,5	5,3	20
15-04-09	# 7	OFF	4	19,1	21,3	66	3,1	0,2	48
15-04-16	# 3	OFF	7,5	5,8	46,5	61	1,3	0,3	49
16-06-09	# 7	OFF	2	0,7	53	53,3	4,5	0,7	66

Сравнение при помощи статистического метода выявило значимые различия в реакциях элементов трех групп. Сравнение групп 1 и 2 показало, что у элементов группы 1 выше ответы на стимулы L+ и M–; у элементов группы 2 выше ответы на стимулы M+, S+ и L–. Сравнение групп 1 и 3

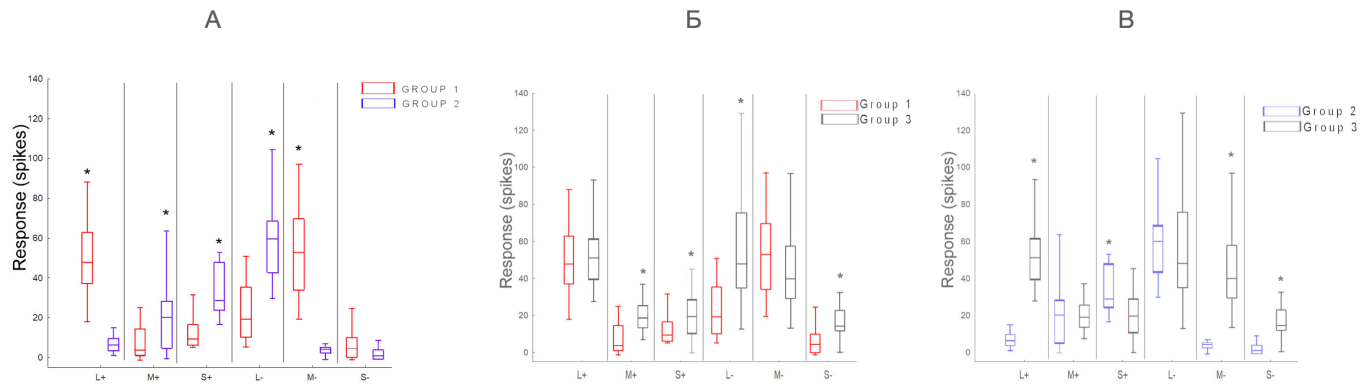


Рисунок 24 – Попарное сравнение профилей цветокодирования трех групп ЭФА OFF-типа. А: Сравнение 1 и 2 групп ЭФА OFF-типа. Сравняются ответы на цветные селективные стимулы по числу импульсов после приведения данных к общему виду. Б: Сравнение 1 и 3 групп ЭФА OFF-типа. Сравняются ответы на цветные селективные стимулы по числу импульсов после приведения данных к общему виду. В: Сравнение 2 и 3 групп ЭФА OFF-типа. Сравняются ответы на цветные селективные стимулы по числу импульсов после приведения данных к общему виду.

показало, что у элементов группы 3 выше ответы на стимулы M+, S+, L- и S-. Сравнение групп 2 и 3 показало, что у элементов группы 2 выше ответы на стимул S+; у группы 3 выше ответы на стимулы L+, M- и S-.

Таким образом, наши наблюдения подтвердились, и различия носят достоверный характер. Для того, чтобы окончательно убедиться в существовании выделенных нами трех групп ЭФА OFF-типа, мы провели линейный дискриминантный анализ (рис. 25). Для этого мы нормализовали данные, приведенные к общему виду, по максимальному ответу. Пример нормализованных данных приведен в таблице 2. На основе массива нормализованных данных были построены три матрицы, которые сравнивались между собой. По результатам дискриминантного анализа можно утверждать, что ЭФА OFF-типа действительно подразделяются на три группы, для каждой из которых характерен собственный профиль цветокодирования.

Таблица 2. Фрагмент таблицы с теми же данными, что в таблице 1, после нормализации.

Дата	№ клетки	ON/OFF	L +	M +	S +	L —	M —	S —	№ клетки в базе
07-11-06	# 5	OFF	0,15	0,56	0,33	1	0,11	0,01	3
11-11-07	# 4	OFF	0,09	0,31	0,78	1	0,05	0,08	20
15-04-09	# 7	OFF	0,06	0,29	0,32	1	0,05	0,01	48
15-04-16	# 3	OFF	0,12	0,09	0,76	1	0,02	0	49
16-06-09	# 7	OFF	0,01	0,01	0,99	1	0,08	0,01	66

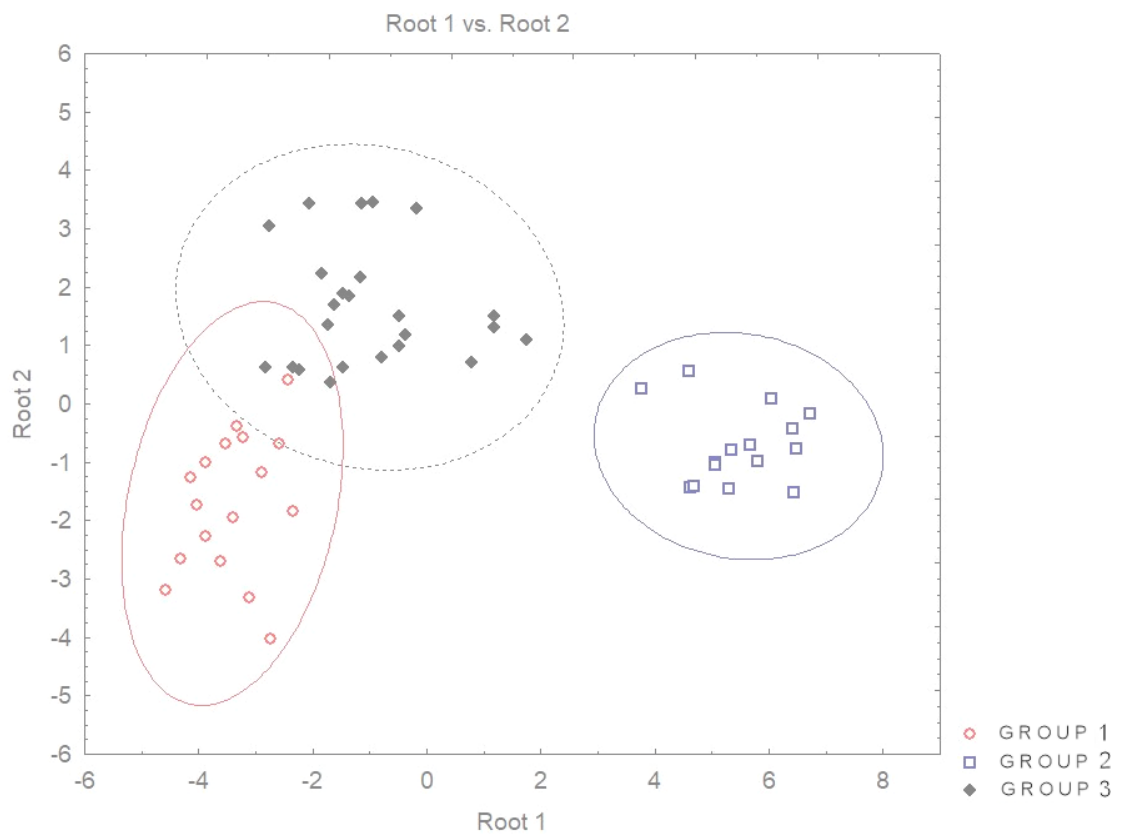


Рисунок 25 – Три группы ЭФА OFF-типа. Проводился линейный дискриминантный анализ матриц, составленных на основе данных ответов трех групп ЭФА OFF-типа. Использованы данные ответов на селективные цвета, возбуждающих одиночные приемники (L, M, S). Данные приведены к общему виду и нормализованы по максимальному ответу в каждой экспериментальной серии.

В рамках серий стимуляции после стимулов, селективных по одному каналу, мы предъявляли стимулы, возбуждающие одновременно два цветовых канала.. Это объясняется техническими ограничениями — для цветовом пространстве монитора не удастся рассчитать данные цвета с сохранением необходимого контраста. Подобная стимуляция позволяет выявлять возможные взаимодействия между цветовыми каналами. В том случае, если селективный стимул, возбуждающий один тип колбочек, вызывает импульсный ответ, а в комбинации со стимуляцией другого типа колбочек ответ снижается, можно говорить о тормозном взаимодействии двух цветовых каналов. Для анализа взаимодействий между цветовыми каналами мы нормализовали ответы элементов по максимальному ответу, для каждой группы это всегда оказывался один селективный стимул. После этого мы сравнивали реакции на одиночные стимулы с реакциями на комбинации инкрементных и декрементных цветов. Мы выявили тормозные взаимодействия, характерные для первой и второй групп ЭФА OFF-типа.

У первой группы наибольшее количество импульсов наблюдается в ответе на стимул $L+$. При парной цветной стимуляции наблюдается торможение ответа на $L+$ добавлением $M+$ у всех элементов данной группы (рис. 26). Также торможение выявлено для OFF каналов: при добавке $L-$ ответ на $M-$ заметно снижается (рис. 26).

У второй группы ЭФА OFF-типа максимальным является ответ на стимул $S+$. При парной цветной стимуляции у всех элементов данной группы прослеживается торможение реакции на $S+$ добавлением $L+$ (Рис. 27). Здесь так же, как и у группы 1 наблюдаются тормозное взаимодействие OFF каналов: при добавке $S-$ к $L-$ ответ может снижаться. Торможение в данном случае статистически значимое, но ответ снижается не до уровня ответа на $S-$, а примерно вдвое. Однако, это ярко проявляется только у тех элементов, которые не обладают чувствительностью к средневолновым стимулам ($M+$).

У третьей группы ЭФА OFF-типа аналогично первой группе наблюдается торможение ответа на L+ при добавлении к стимулу M+ (Рис. 28).

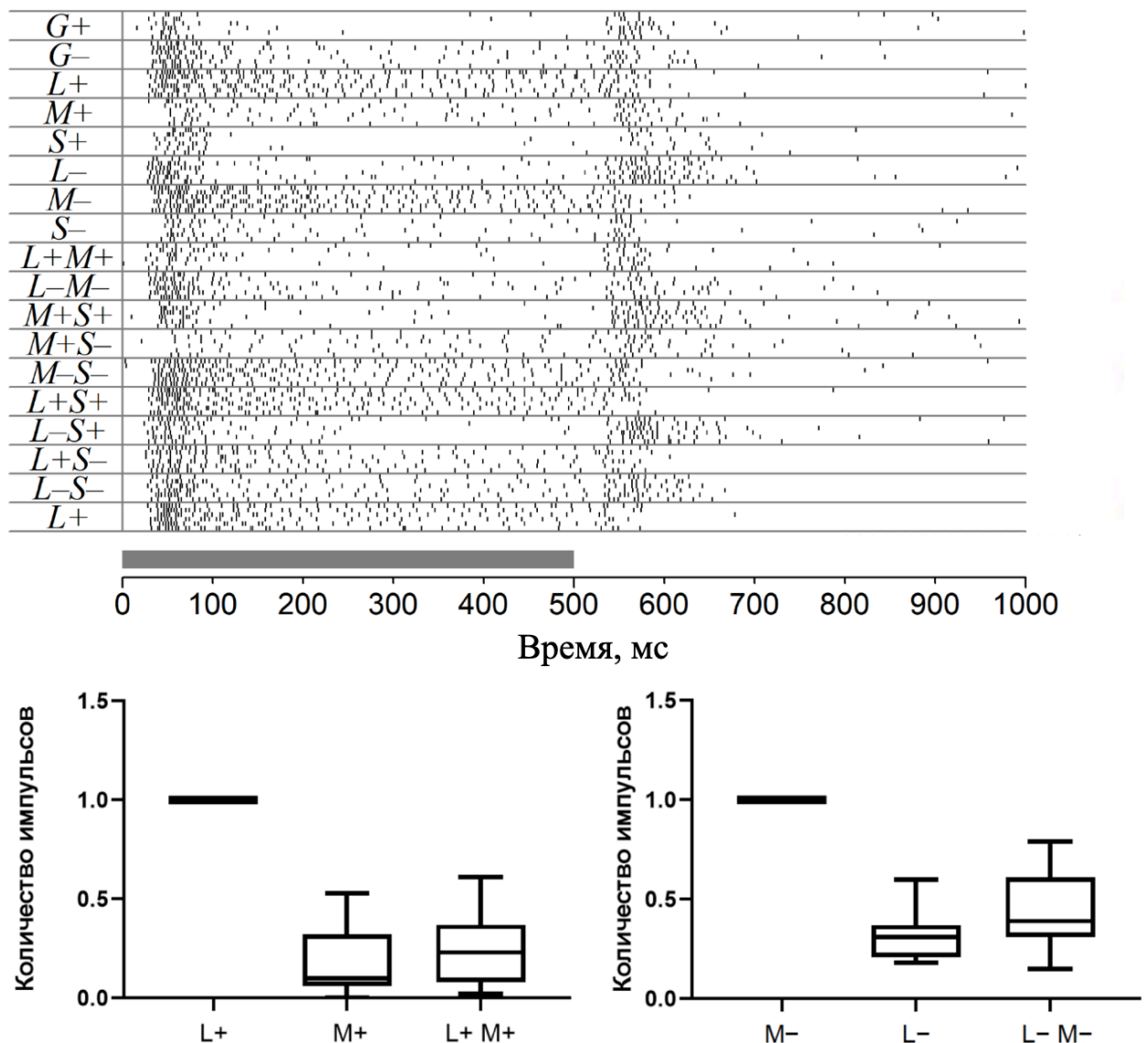


Рисунок 26 – Взаимодействия цветовых каналов (цветоселективных входов) у ЭФА OFF-типа группы 1. Сверху представлено растровое представление реакций ЭФА OFF-типа (группа 1) на цветные селективные стимулы, включаемые в центре РП при неизменной серой периферии. Серая полоса внизу обозначает время действия стимула. Каждый стимул предъявлялся шесть раз. Цвета селективных инкрементных (+) и декрементных (–) стимулов представлены буквами, соответствующими типу возбуждаемых ими колбочек. Снизу сравниваются нормализованные ответы на цветные стимулы. Использован тест ANOVA, выявленные различия достоверны при $p < 0,0001$. Максимальный ответ на $L+$; при парной стимуляции длинноволновым и средневолновым спектром ($L+M+$) ответ на $L+$ падает до уровня реакции на $M+$.

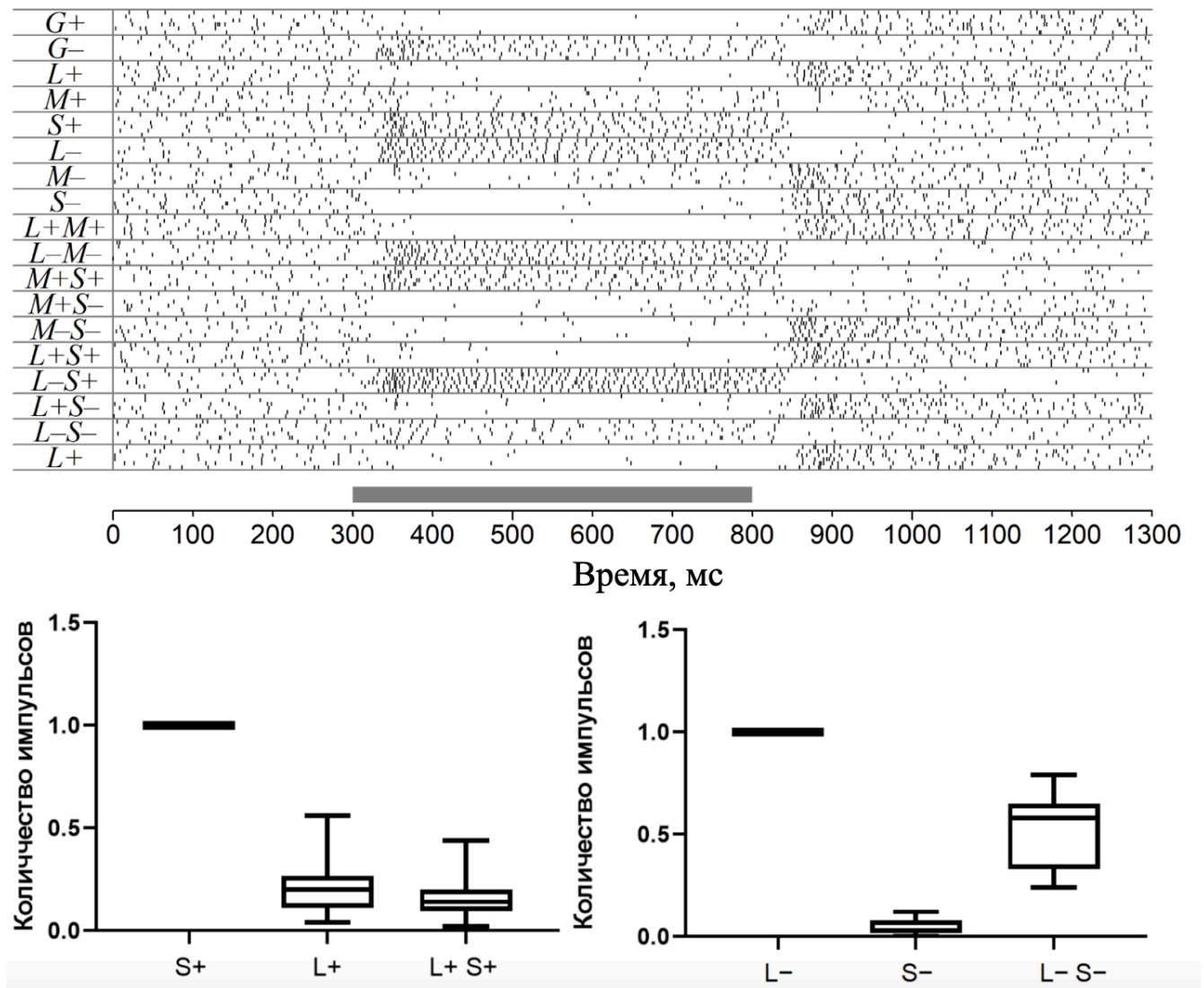


Рисунок 27 – Взаимодействия цветовых каналов (цветоселективных входов) у ЭФА OFF-типа группы 2. Сверху растровое представление реакций ЭФА OFF-типа (группа 2) на цветные селективные стимулы, включаемые в центре РП при неизменной серой периферии. Серая полоса внизу обозначает время действия стимула. Каждый стимул предъявлялся шесть раз. Цвета селективных инкрементных (+) и декрементных (–) стимулов представлены буквами, соответствующими типу возбуждаемых ими колбочек. Справа сравниваются нормализованные ответы на цветные стимулы. Использован тест ANOVA, выявленные различия достоверны при $p < 0,0001$. Максимальный ответ на $S+$; при парной стимуляции ($L+S+$) ответ на $S+$ падает до уровня реакции на $L+$. Ответ на $L-$ снижается при парной стимуляции ($L-S-$) вдвое.

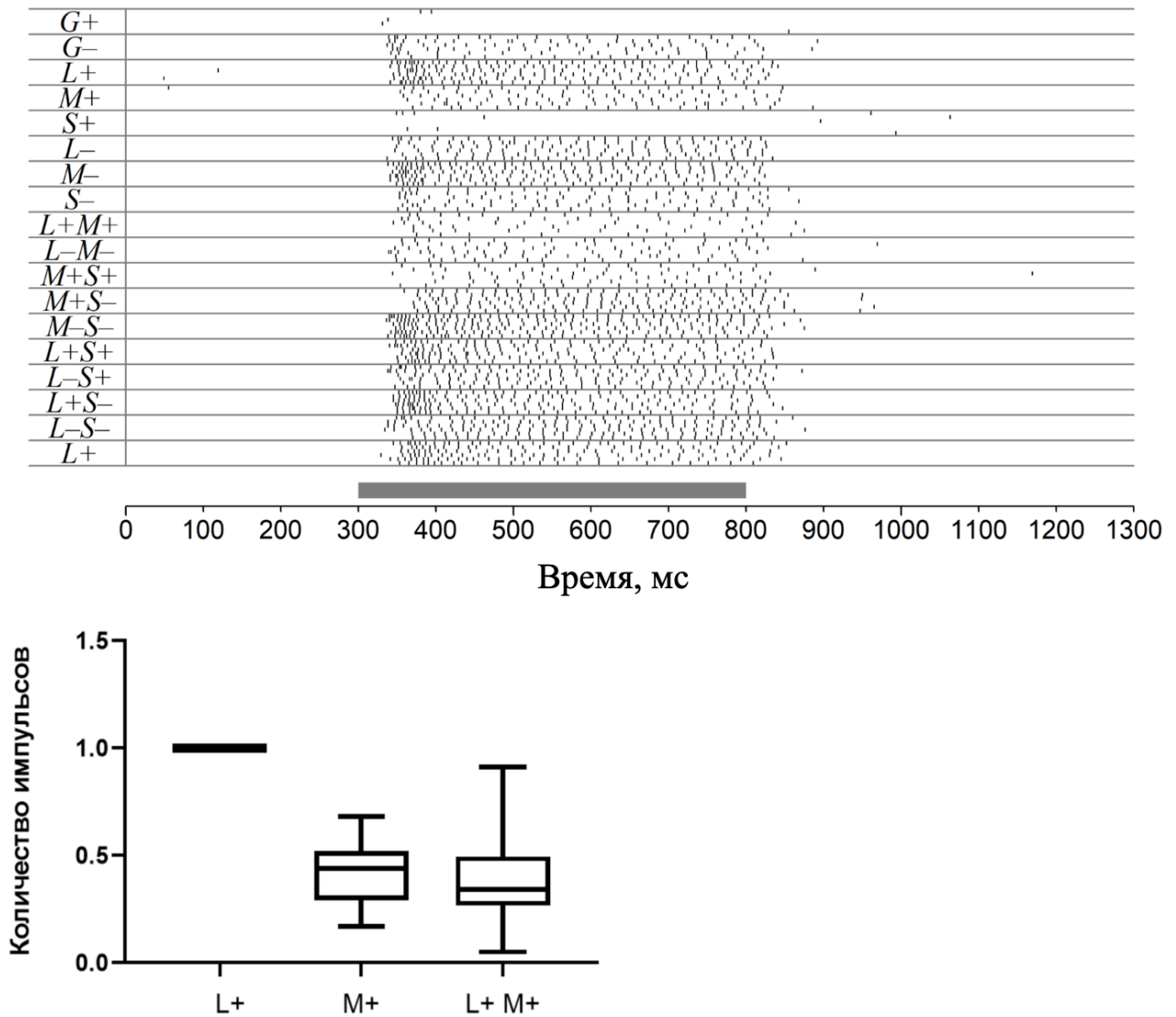


Рисунок 28 – **Взаимодействия цветовых каналов (цветоселективных входов) у ЭФА OFF-типа группы 3.** Слева представлено растровое представление реакций ЭФА OFF-типа (группа 3) на цветные селективные стимулы, включаемые в центре РП при неизменной серой периферии. Серая полоса внизу обозначает время действия стимула. Каждый стимул предъявлялся шесть раз. Цвета селективных инкрементных (+) и декрементных (–) стимулов представлены буквами, соответствующими типу возбуждаемых ими колбочек. Справа сравниваются нормализованные ответы на цветные стимулы. Использован тест ANOVA, выявленные различия достоверны при $p < 0,0001$. Максимальный ответ на $L+$; при добавке средневолновой компоненты ($L+M+$) ответ на $L+$ падает до уровня реакции на $M+$.

3.4.1.3. Цветная стимуляция периферической части РП

Необходимым условием для цветоразличения считается дважды цветооппонентность, которая подразумевает наличие у зрительного нейрона opponентности между цветовыми каналами в центре РП, а также opponентности центра и периферии по цвету. Как было показано выше в главе 3, у ЭФА реактивным является не только центр РП, но и периферия, ответы которой opponентны центру при ахроматической стимуляции. Для проверки наличия у ЭФА цветооппонентности центра и периферии мы также провели серию измерений реакции на цветные селективные стимулы периферической части РП ЭФА при неизменном освещении центра.

В результате оказалось, что ответы при стимуляции периферии РП для ЭФА OFF-типа групп 1 (рис. 29) и 2 (рис. 30) по характеру «зеркальны» ответам при стимуляции центра. Стимулы, вызывающие наиболее выраженную реакцию при стимуляции центра, не вызывают реакции при стимуляции периферии РП. И напротив — стимулы, не вызывающие выраженной реакции или торможение фоновой активности при предъявлении в центре РП, на периферии вызывает наиболее яркую реакцию. При этом частота импульсов в выраженных ответах на стимуляцию центра и периферии сопоставима.

Что же касается третьей группы, то ответы на стимуляцию периферической части РП выражены существенно слабее (рис. 31), чем при стимуляции центра. «Зеркальность», характерная для групп 1 и 2 здесь выражена меньше.

Так как для групп 1 и 2 продемонстрирована цветовая opponентность в в центре РП, а также цветовая opponентность между центром и периферией РП, можно утверждать, что они являются дважды цветооппонентными клетками.

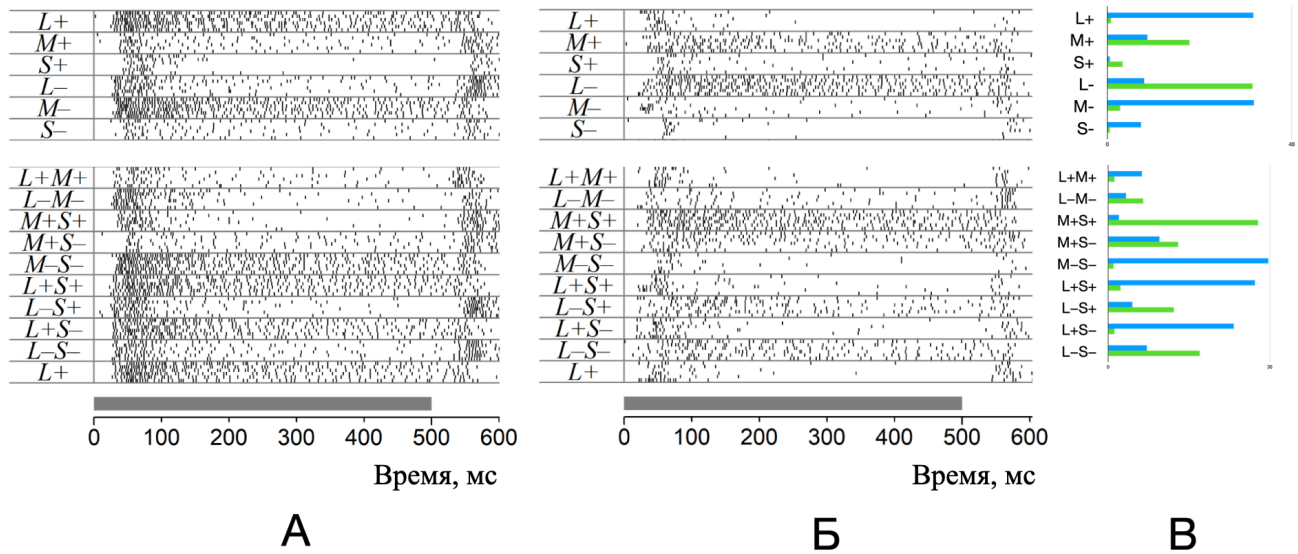


Рисунок 29 – Сравнение ответов центра и периферии ЭФА OFF-типа группы 1. А: растровое представление реакций ЭФА OFF-типа (группа 1) на цветные селективные стимулы, включаемые в центре РП при неизменной серой периферии. Серая полоса внизу обозначает время действия стимула. Каждый стимул предъявлялся шесть раз. Цвета селективных инкрементных (+) и декрементных (–) стимулов представлены буквами, соответствующими типу возбуждаемых ими колбочек. Б: растровое представление реакций ЭФА OFF-типа (группа 1) на цветные селективные стимулы, включаемые на периферии РП при неизменном сером центре. Серая полоса внизу обозначает время действия стимула. Каждый стимул предъявлялся шесть раз. Цвета селективных инкрементных (+) и декрементных (–) стимулов обозначены буквами, соответствующими типу возбуждаемых ими колбочек. В: визуализация усредненных ответов, продемонстрированных слева (А и Б) при стимуляции центра (показано синим) и периферии (показано зеленым) на каждый из предъявленных цветов.

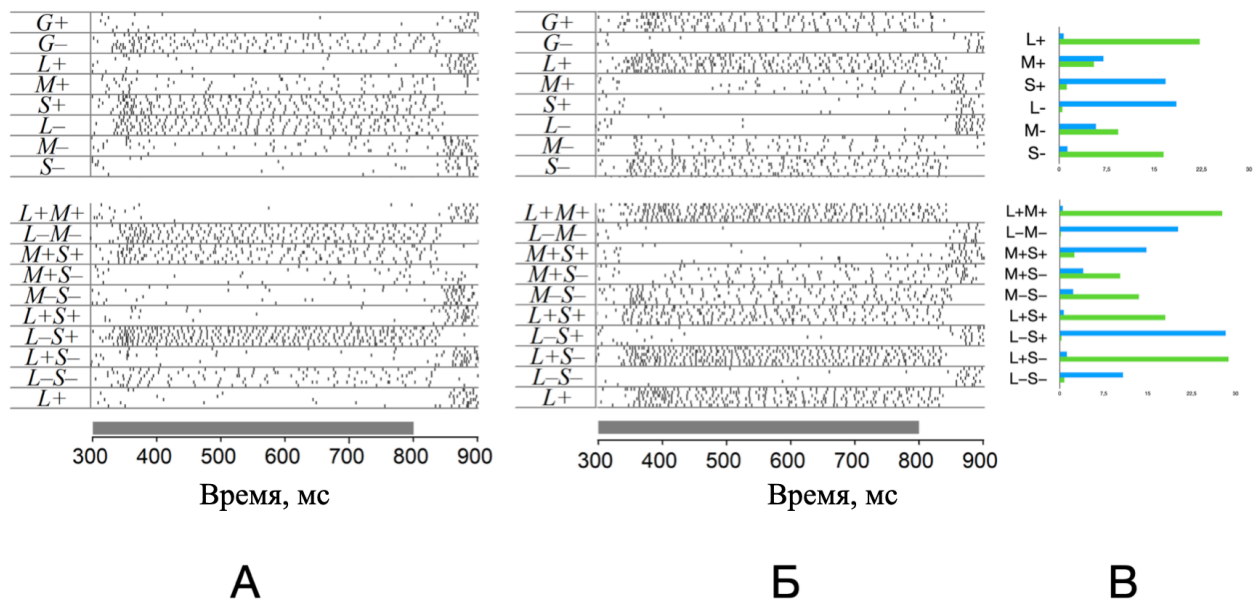


Рисунок 30 – Сравнение ответов центра и периферии РП ЭФА OFF-типа группы 2.

А: растровое представление реакций ЭФА OFF-типа (группа 2) на цветные селективные стимулы, включаемые в центре РП при неизменной серой периферии. Серая полоса внизу обозначает время действия стимула. Каждый стимул предъявлялся шесть раз. Цвета селективных инкрементных (+) и декрементных (-) стимулов представлены буквами, соответствующими типу возбуждаемых ими колбочек. Б: растровое представление реакций ЭФА OFF-типа (группа 2) на цветные селективные стимулы, включаемые на периферии РП при неизменном сером центре. Серая полоса внизу обозначает время действия стимула. Каждый стимул предъявлялся шесть раз. Цвета селективных инкрементных (+) и декрементных (-) стимулов обозначены буквами, соответствующими типу возбуждаемых ими колбочек. В: гистограммы усредненных ответов, продемонстрированных слева (А и Б) при стимуляции центра (показано синим) и периферии (показано зеленым) на каждый из предъявленных

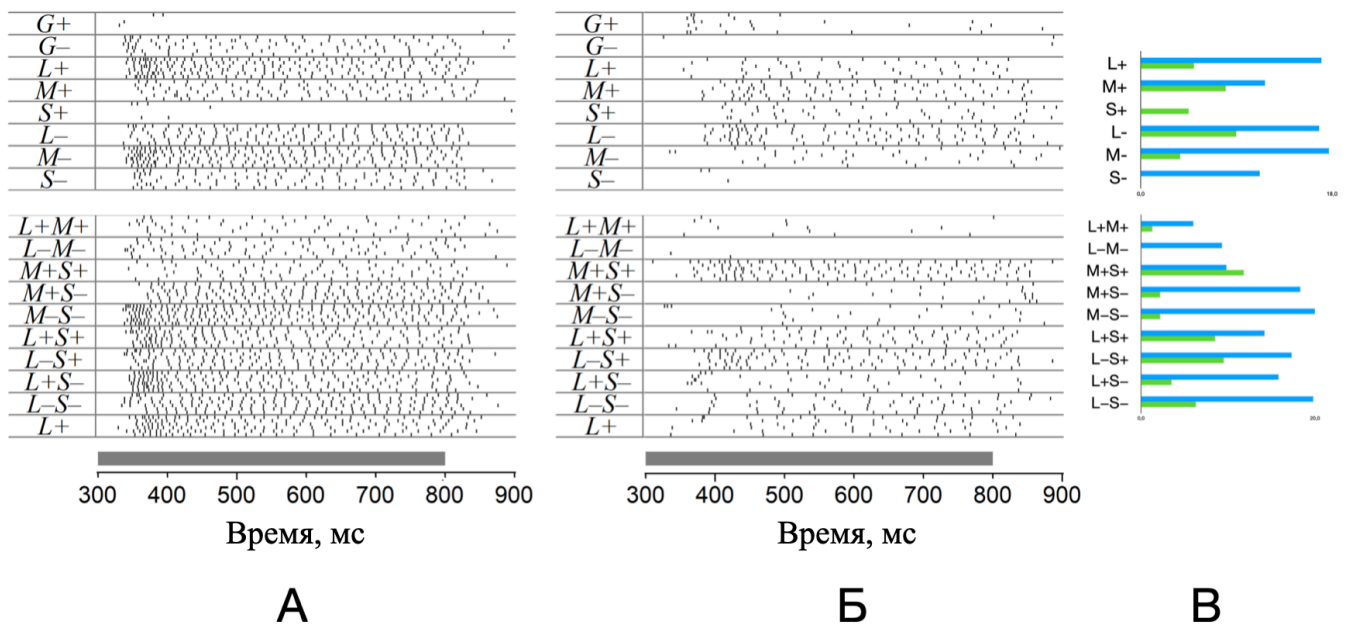


Рисунок 31 – Сравнение ответов центра и периферии ЭФА OFF-типа группы 3. А: растровое представление реакций ЭФА OFF-типа (группа 3) на цветные селективные стимулы, включаемые в центре РП при неизменной серой периферии. Серая полоса внизу обозначает время действия стимула. Каждый стимул предъявлялся шесть раз. Цвета селективных инкрементных (+) и декрементных (-) стимулов представлены буквами, соответствующими типу возбуждаемых ими колбочек. Б: растровое представление реакций ЭФА OFF-типа (группа 3) на цветные селективные стимулы, включаемые на периферии РП при неизменном сером центре. Серая полоса внизу обозначает время действия стимула. Каждый стимул предъявлялся шесть раз. Цвета селективных инкрементных (+) и декрементных (-) стимулов обозначены буквами, соответствующими типу возбуждаемых ими колбочек. В: гистограммы усредненных ответов, продемонстрированных слева (А и Б) при стимуляции центра (показано синим) и периферии (показано зеленым) на каждый из предъявленных цветов.

3.4.1. Цветовые свойства ЭФА ON-типа

3.4.1.1. Цветокodирование у ЭФА ON-типа

При помощи тех же инструментов мы провели эксперименты на ЭФА ON-типа. Данные получены для 30 элементов. Ответ ЭФА на вспыхивающие стимулы можно разделить на начальную фазу разряда, где наблюдается высокая частота импульсов, и установившуюся реакцию с меньшей частотой. Наблюдается разная латентность ответа при стимуляции разными цветами.

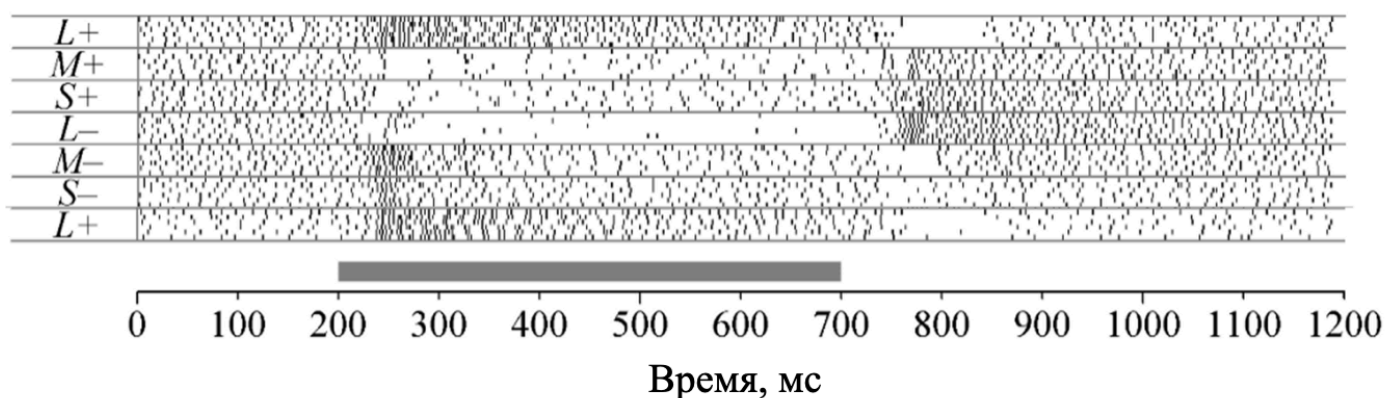


Рисунок 32 – **Цветокodирование у ЭФА ON-типа.** Растровое представление реакций ЭФА ON-типа на цветные селективные стимулы, включаемые в центре РП при неизменной серой периферии. Серая полоса внизу обозначает время действия стимула. Каждый стимул предъявлялся шесть раз. Цвета селективных инкрементных (+) и декрементных (–) стимулов представлены буквами, соответствующими типу возбуждаемых ими колбочек.

Все исследованные ЭФА ON-типа связаны со всеми тремя типами колбочек единообразно (рис. 32). Импульсный ответ вызывается стимулами L+, M–, S–. Все ЭФА ON-типа проявляют фоновую активность на освещение равномерным серым, от которого производится стимуляция. Самый высокий ответ у них наблюдался на стимул L+, ответ на стимулы M– и S– несколько ниже. При стимуляции цветами M+, S+, L– наблюдается сильное торможение

фоновой активности. Ярко выражены также реакции на выключение стимулов. В случае со стимулами $L+$, $M-$, $S-$ при выключении фоновая активность восстанавливается не сразу, а проявляется спустя некоторое время. При выключении стимулов $M+$, $S+$, $L-$ вызванное ими торможение активности сменяется существенной импульсацией, превышающей фоновый уровень.

3.4.1.2. Цветооппонентность в центре РП ЭФА OFF-типа

В рамках серий стимуляции после стимулов, селективных по одному каналу, мы предъявляли стимулы, возбуждающие одновременно два цветовых канала. Подобная стимуляция позволяет выявлять тормозные взаимодействия между цветовыми каналами. В том случае, если селективный стимул, возбуждающий один тип колбочек, вызывает импульсный ответ, а в комбинации со стимуляцией другого типа колбочек ответ снижается, можно говорить о взаимодействии двух цветовых каналов. Для анализа взаимодействий между цветовыми каналами мы нормализовали ответы элементов по максимальному ответу, для каждой группы это всегда оказывался один селективный стимул. После этого мы сравнивали реакции на одиночные стимулы с реакциями на комбинации инкрементных и декрементных цветов.

При парной цветной стимуляции выявляется торможение реакции на стимулы $M-$ и $S-$ добавлением $L-$ (рис. 32). Также у многих элементов данного типа наблюдается взаимодействие $M-$ и $S-$ каналов: при добавлении $M+$ реакция на $S-$ существенно снижается. В сериях присутствуют комбинации всех инкрементных и декрементных цветов, кроме трех сочетаний — $L+ M-$, $L- M+$, $M- S+$. Это объясняется техническими ограничениями — для цветового пространства монитора не удастся добиться необходимого контраста (1,6 раза) для данных цветов.

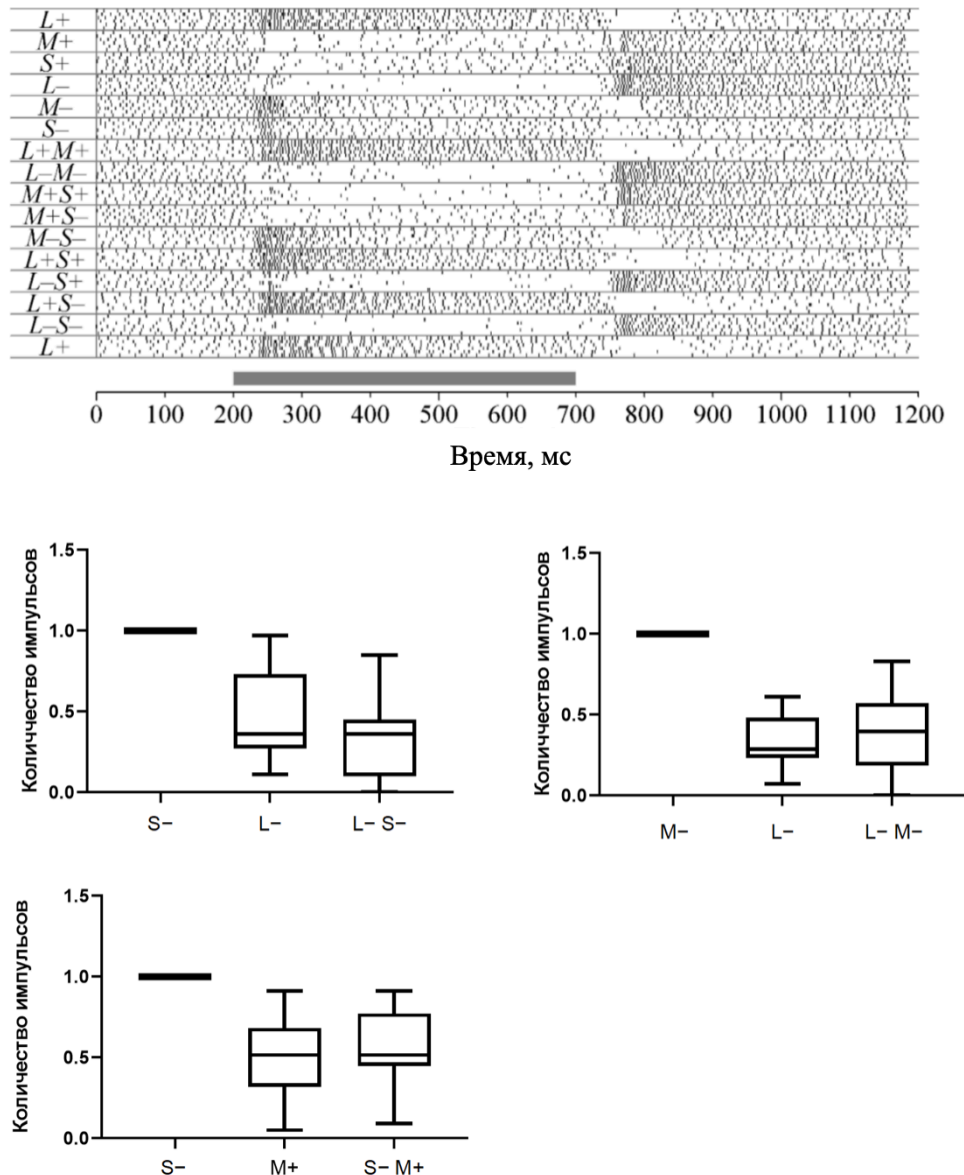


Рисунок 33. Взаимодействия цветовых каналов (цветоселективных входов) у ЭФА ON-типа. Сверху представлено растровое представление реакций ЭФА ON-типа на цветные селективные стимулы, включаемые в центре РП при неизменной серой периферии. Серая полоса внизу обозначает время действия стимула. Каждый стимул предъявлялся шесть раз. Цвета селективных инкрементных (+) и декрементных (–) стимулов представлены буквами, соответствующими типу возбуждаемых ими колбочек. Снизу сравниваются нормализованные ответы на цветные стимулы. Использован тест ANOVA, выявленные различия достоверны при $p < 0,0001$. При парной стимуляции снижение длинноволновой компоненты ($L-$) тормозится ответ на декрементные стимулы в коротковолновом и средневолновом спектре ($M-$ и $S-$). У многих элементов также отмечено тормозное воздействие повышения средневолновой компоненты на реакции на коротковолновую стимуляцию ($M+/S-$).

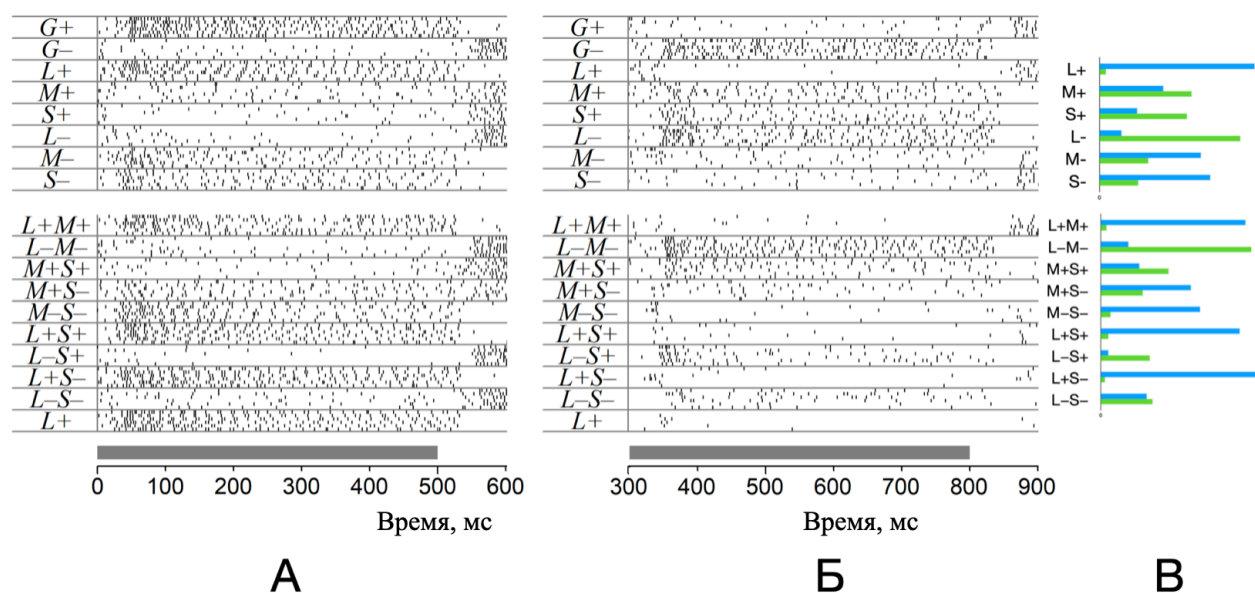


Рисунок 34. Сравнение ответов центра и периферии ЭФА ON-типа. А: растровое представление реакций ЭФА ON-типа на цветные селективные стимулы, включаемые в центре РП при неизменной серой периферии. Серая полоса внизу обозначает время действия стимула. Каждый стимул предъявлялся шесть раз. Цвета селективных инкрементных (+) и декрементных (-) стимулов представлены буквами, соответствующими типу возбуждаемых ими колбочек. Б: растровое представление реакций ЭФА ON-типа на цветные селективные стимулы, включаемые на периферии РП при неизменном сером центре. Серая полоса внизу обозначает время действия стимула. Каждый стимул предъявлялся шесть раз. Цвета селективных инкрементных (+) и декрементных (-) стимулов обозначены буквами, соответствующими типу возбуждаемых ими колбочек. В: гистограммы усредненных ответов, продемонстрированных слева (А и Б) при стимуляции центра (показано синим) и периферии (показано зеленым) на каждый из предъявленных цветов.

3.4.1.1. Цветная стимуляция периферической части РП

На ЭФА ON-типа мы провели те же серии стимуляции периферии при неизменной окраске центра, что и на элементах OFF-типа (рис. 34). Они продемонстрировали ту же «зеркальность» ответов при стимуляции периферии, что элементы OFF-типа групп 1 и 2. То есть, периферия их РП оппонентна центру по всем цветовым каналам.

Таким образом, на основании того, что у ЭФА ON-типа продемонстрирована цветовая оппонентность в центре, а также цветовая оппонентность между центром и периферией, можно утверждать что они являются дважды цветооппонентными клетками.

3.5. Обсуждение главы 3

3.5.1. Общая характеристика ЭФА

Отведения ЭФА в тектуме рыб производились нашей группой уже давно. Однако, представление о том, что является для них предпочтительным стимулом, долгое время оставались размытыми. Особенно учитывая тот факт, что никаких свидетельств о существовании подобных ГК практически не обнаруживается в литературе о сетчатке рыб. Изначально мы полагали, что ЭФА работают по принципу фотоэлементов, реагируя на уровень освещенности: если освещенность высокая, то включаются ЭФА ON-типа, а если низкая, то начинают работать ЭФА OFF-типа. Наши представления о природе ЭФА перевернулись после попытки стимулировать элементы OFF-типа полным затемнением стимулирующего монитора. Неожиданным образом,

импульсная активность полностью затормозилась, как если бы мы показывали им светлый стимул (рис. 16). Данный эффект воспроизводился постоянно, и более того, ЭФА ON-типа реагировали на тотальную стимуляцию аналогичным образом. В итоге стало очевидно, что реакции ЭФА вызывает не уровень освещенности в некоторой области зрительного поля, а присутствие в РП контрастного стимула предпочтительного знака. В то же время подобный эффект свидетельствует о том, что периферическая часть РП вносит существенный вклад в реакции ЭФА. Ничего похожего у других ГК ретинотектальной системы мы не наблюдали. Как правило, периферия может оказывать некоторый модулирующий эффект на ответ элемента. Обычно при повышении яркости периферии в ответах ретинальных элементов незначительно возрастает частота импульсации.

Измерения глубины отведения ЭФА показывают, что данный класс ретинальных проекций находится в самом глубоком подслое ретинореципиентного слоя *tectum opticum*. При сопоставлении с данными об арборизации аксонов различных морфологических типов ГК (Robles et al, 2014), можно предполагать, что ЭФА могут соответствовать морфологическим типам M1 и B1, чьи аксоны оканчиваются в SGC, а также типам M3, M4 и D2, чьи окончания аксонов обнаруживаются у мальков *Danio rerio* на уровне SAC/SPV. Отдельно хочется отметить что дендриты M1 и B1 располагаются в OFF-подслое ВСС, а дендриты M3, M4 и D2 – в ON-подслое ВСС. Если предполагать, что первые соответствуют ЭФА OFF-типа, а вторые – ЭФА ON-типа, то это должно означать, что ЭФА ON-типа залегают глубже. Статистически различий в глубине отведения ЭФА ON-типа и OFF-типа выявить не удалось. Однако, при работе с ЭФА в одном треке элементы ON-типа всегда регистрируется немного глубже, чем элементы OFF-типа. То, что статистическая обработка не смогла отразить этот факт, по всей видимости объясняется тем, что при изменении положения электрода, шляпка электрода движется в вязкой и упругой структуре, что осложняет точность регистрации относительной глубины регистрации элементов, расположенных близко друг к

другу. Таким образом, для установления наличия двух горизонтов необходима большая статистическая выборка.

Нельзя не отметить характер зависимости интенсивности ответов от контрастности стимула. У детекторов движения максимальный ответ достигается уже при невысоких значениях контраста стимула и фона, тогда как у ЭФА кривая насыщения довольно пологая. По всей видимости, для сетчаточных детекторов принципиально важно зафиксировать искомое свойство, независимо от того, насколько контрастен наделенный этим свойством объект, в то время как для системы ЭФА, уровень контраста в разных областях зрительной сцены может являться значимой информацией.

3.5.2. Рецептивные поля ЭФА

Несмотря на то, что адекватными стимулами для ЭФА являются крупные контрастные пятна, размеры центра их РП не отличаются от таковых у других типов ГК сетчатки, измеренных ранее. Размеры РП дирекционально-избирательных ГК и ориентационно-избирательных ГК также составляют в среднем порядка 5° . Эти показатели укладываются в концепцию, что разные типы ГК составляют единообразные самостоятельные мозаики, непрерывно покрывая все зрительное пространство (Gauthier et al., 2009).

Интересен тот факт, что максимальный ответ ЭФА вызывают стимулы, превосходящие размерами их ВРП. Для всех ранее исследованных элементов, отвечающих на статичные стимулы (только с ними в данном случае можно проводить сравнение), таких как ОИ ГК или детекторы пятен, максимальный ответ достигается, когда размер стимула соответствует измеренным размерам ВРП, а при увеличении или уменьшении размеров стимула происходит снижение частоты импульсации. Здесь можно предполагать, что периферическая часть РП неоднородна, и подразделяется на ближнюю возбуждающую и дальнюю тормозную. Разумеется, данное предположение нуждается в более обстоятельном исследовании и серьезных доказательствах.

Поскольку стало очевидным, что ЭФА могут обладать способностью отвечать на возбуждение периферии, для исследования данного феномена был специально разработан стимул для изолированной стимуляции периферии РП – surround flash. Оказалось, что стимуляция периферии РП действительно вызывает ответ ЭФА, таким образом их периферия является реактивной (т. е. реагирует на стимуляцию) и оппонентна центру РП. Таким образом, при однородной стимуляции центра и периферии периферия РП подавляет ответ центра.

Похожая структура рецептивных полей альфа-клетки сетчатки млекопитающих (α RGCs). Среди них также есть два типа (ON и OFF) ганглиозных клеток с концентрической структурой РП и длящимися ответами на контраст между центром и периферией РП. Однако же, утверждать, что альфа-ГК млекопитающих являются аналогами или, тем более, гомологами ЭФА рыб, было бы слишком смело. Кроме того, к альфа-ГК, помимо клеток с длящимся ответом, исследователи относят также фазический тип. Эти клетки отвечают на стимуляцию не длящимся ответом, а одним коротким разрядом из нескольких импульсов. У рыб мы ничего похожего не наблюдаем.

3.5.2. Цветовые свойства ЭФА.

До изучения цветовых свойств ЭФА мы полагали, что единственными цветооппонентными элементами тектума являются сетчаточные R/G элементы. Так как эти ретинальные проекции встречаются относительно редко, мы предполагали, что у рыб обработка цвета может в основном осуществляться в других зрительных ядрах, как это происходит у лягушки в ядре Белончи.

При первом взгляде на растровые записи ответов ЭФА на цветные селективные стимулы может создаться впечатление, что реакции очень разнообразны и различия носят случайный характер. Фоновая активность в ответ на равномерную серую окраску может присутствовать и отсутствовать. Одни и те же цвета у одних клеток вызывают мощный импульсный ответ, у

других, напротив, эффективно тормозят импульсную активность. Однако, после тщательной каталогизации нам удалось установить некоторые закономерности в реакциях.

При ахроматической стимуляции ЭФА OFF-типа представляются единой группой, но селективная цветная стимуляция позволила выделить 3 группы элементов данного типа. Первая группа по характеру цветокодирования напоминает R/G клетки (профиль ответов $L\pm$, $M-$, $S+$). Но перепутать их невозможно: R/G клетки при тестировании ахроматическими стимулами ведут себя совершенно иначе: не дают длящегося ответа на черные пятна, зависимость ответа от размера стимула ближе к таковой у детекторов пятен, а периферия их заметно менее реактивна, чем у ЭФА. Стоит также отметить, что аналогичный профиль цветокодирования характерен для ОИ ГК, проецирующихся в тектум.

При работе с селективной цветовой стимуляцией в наших работах мы уже фиксировали, что в ответ на стимуляцию разных типов колбочек ГК могут отвечать с разной латентностью. Данный эффект продемонстрирован на детекторах движения (ОИ ГК и ДИ ГК). Ответы на стимуляцию L-колбочек вызывались заметно быстрее, чем ответы на стимуляцию M и S-колбочек. При этом скорость ответа ОИ ГК на инкрементную и декрементную стимуляцию L-колбочек была практически одинакова $34,1 \pm 4,9$ мс и $35,1 \pm 4,4$ мс соответственно); в то время как латентности ответов на стимулы $M-$ и $S+$ составили $47,2 \pm 8,2$ мс и $54,8 \pm 8,9$ мс соответственно. То есть разница составляет порядка 15 мс.

В случае с ЭФА заметная разница в латентности ответов на стимуляцию в центре РП возникает не всегда. Данный аспект нуждается в отдельном дополнительном исследовании и анализе уже полученных записей. При этом с полной уверенностью можно утверждать, что заметная разница в латентностях ответа у ЭФА наблюдается между реакциями на стимуляцию центра и периферии. Особенно ярко это проявляется у элементов OFF-типа группы 3. Это полностью согласуется с гипотезой, что периферия РП организована с

участием горизонтальных клеток. Однако, остается вопрос, почему задержка ответов у одних клеток оказывается больше, чем у других.

Фоновая активность на равномерную серую окраску стимулирующего экрана наблюдается у элементов ON-типа и у группы 2 элементов OFF-типа. Данное свойство проявляется всегда, и по наличию фоновой активности можно безошибочно прогнозировать, что отводимый элемент принадлежит к одному из этих классов элементов.

В процессе систематизации ЭФА OFF-типа мы предполагали, что группа 2 может быть разбита на две – чувствительную к средневолновой (M) стимуляции и нечувствительной к ней. Но дискриминантный анализ не показал их значимого различия.

При рассмотрении результатов стимуляции ЭФА парными цветными стимулами можно отчетливо наблюдать, что они способны к цветоразличению и чувствительны к цветовому контрасту. Это видно при одновременном возбуждении двух приемников либо инкрементными, либо декрементными стимулами.

Элементы группы 1 при селективной стимуляции дают импульсные ответы на стимулы L^+ и M^- ; если проводить парную парную цветную стимуляцию стимулами $L^+ M^+$ или $L^- M^-$, то количество импульсов в ответе будет значительно ниже. Можно с уверенностью утверждать, что происходит это в связи с взаимодействием цветовых каналов: каналы M^+ и L^- выступают тормозными.

С элементами группы 2 картина похожая. При селективной стимуляции они отвечают импульсным разрядом на стимулы S^+ и L^- . При парной цветной стимуляции стимулами $L^+ S^+$ и $L^- S^-$ импульсный ответ снижен. То есть, мы снова наблюдаем взаимодействие цветовых каналов, и каналы L^+ и S^- для элементов группы 2 являются тормозными.

Элементы группы 3 нельзя с уверенностью назвать цветооппонентными, поскольку при селективной стимуляции они демонстрируют способность реагировать импульсным ответом на все инкрементные и декрементные селективные цвета. Но при этом взаимодействие цветовых каналов можно

наблюдать и у них. Канал M^+ явно является тормозным, и его стимуляция снижает способность ЭФА 3 группы отвечать на стимул L^+ . Но в отличие от группы 1, элементы третьей группы не чувствительны к воздействию компоненты L^- в парных стимулах.

Элементы ON-типа при селективной стимуляции дают длящиеся импульсные ответы на стимулы L^+ , M^- , S^- . При парной стимуляции компонент L^- снижает ответы на M^- и S^- . Это также свидетельствует о взаимодействии между цветовыми каналами.

Важно отметить, что реакция на L^+ для OFF-элементов группы 1 в определенном смысле является парадоксальной. Для остальных типов ГК реакции на возбуждение длинноволнового приемника соответствует реакциям на ахроматическую стимуляцию: на стимуляцию L^+ отвечают ДИ ГК ON-типа и детекторы белого пятна, при этом предпочтительной для них является стимуляцию белыми стимулами. На стимулы L^- отвечают ДИ ГК OFF-типа и детекторы темного пятна, для которых в свою очередь предпочтительными являются черные стимулы. ОИ ГК, которые являются элементами ON-OFF типа, отвечают и на стимулы L^+ , и на стимулы L^- , и они в равной мере хорошо отвечают на черные и белые стимулы. В случае же с элементами ЭФА OFF-типа группы 1 наблюдается ярко выраженный ответ на стимуляцию L^+ , и при этом предпочтительным для них является стимуляция черным пятном, а белые стимулы, напротив, вызывают торможение реакций. Впрочем, несмотря на то, что данный феномен нетипичен, противоречия как такового здесь нет. Поскольку в спектре белого присутствует компонента M^+ , то торможение реакции на белый стимул вполне закономерно. Тормозный вклад L^- несколько ниже, поэтому ответ на черный стимул не тормозится. При этом для всех ЭФА OFF-типа справедливо отметить, что ответ на ахроматический стимул G^- (соответствующий по уровню контраста цветным стимулам) всегда несколько ниже, чем ответы на предпочтительные цветные стимулы, таким образом торможение при ахроматической стимуляции всегда имеет место, только в случае с темными стимулами оно выражено существенно меньше. В случае с ЭФА ON-типа взаимодействие каналов выражается преимущественно в

воздействии декрементных каналов (S– и M–) на третий декрементный канал (L–). Поэтому при сохранении цветооппонентных свойств элемент дает ответ на ахроматическую стимуляцию (G+) сопоставимый с реакцией на предпочтительный цветной стимул (L+).

Результаты стимуляции периферии РП показывают, что реакции периферии «зеркальны» реакциям центра РП у элементов ON-типа и у элементов OFF-типа групп 1 и 2. То есть у элементов этих групп периферия демонстрирует оппонентность центру не только при ахроматической, но и в полной мере при цветной стимуляции. Стимулы, вызывающие наиболее выраженную реакцию при стимуляции центра, не вызывают реакции при стимуляции периферии РП. И напротив — стимулы, не вызывающие выраженной реакции или торможение фоновой активности при предъявлении в центре РП, на периферии вызывает наиболее яркую реакцию. При этом частота импульсов в выраженных ответах на стимуляцию центра и периферии сопоставима. Что же касается третьей группы OFF-типа, то ответы на стимуляцию периферической части РП выражены существенно слабее, чем при стимуляции центра. «Зеркальность», характерная для групп 1 и 2 здесь выражена меньше.

Таким образом, ЭФА ON-типа и ЭФА OFF-типа 1 и 2 групп являются дважды цветооппонентными элементами. ЭФА ON-типа чувствительна к контрасту L/M и L/S. Группа 1 ЭФА OFF-типа чувствительна к контрасту L/M и фиксирует контраст и в инкрементной (L+/M+), и в декрементной (L–/M–) области. Элементы группы 2 чувствительны к контрасту L/S и также фиксирует контраст как в инкрементной (L+/S+), так и в декрементной (L–/S–) области. Элементы группы 3 нельзя назвать цветооппонентными, но и у них отмечается наличие взаимодействия цветовых каналов в инкрементной области (L+/M+).

Итак, мы имеем несколько групп клеток с несколькими комбинациями ответов на 15 цветов, включая селективные и парные цвета. В ответах на стимулы можно наблюдать несколько разновидностей реакций, которые могут встречаться у разных групп ЭФА

1. Длющийся импульсный ответ или усиление фоновой активности (повышение частоты импульсации);
2. Дискретный импульсный ответ в момент включения или выключения стимула;
3. Торможение фоновой активности в ответ на включение или выключение стимула;
4. Отсутствие реакции или изменений в фоновой активности элемента.

Если попытаться проанализировать данные реакции с той точки зрения, какой сигнал система ЭФА сообщает последующим звеньям, участвующим в обработке зрительной информации, то можно предполагать следующее. Дискретный импульсный разряд может играть роль, когда наблюдаемая граница контраста также возникает в поле зрения дискретно – в случае световой вспышки или подвижного объекта. Но с точки зрения восприятия цвета в статичной зрительной картине значение имеет только наличие или отсутствие длящегося ответа. Таким образом можно представить комбинации ответов ЭФА на разные цвета в виде бинарного кода, где «1» будет означать наличие или усиление длящегося ответа (в случае присутствия фоновой активности), а «0» – отсутствие реакции или снижение частоты импульсации в случае присутствия фоновой активности (таблица 3).

При представлении ответов разных групп ЭФА в виде такого бинарного кода приходится также учитывать вариативность внутри групп. Так, среди группы 2 ЭФА OFF-типа есть элементы отвечающие на стимул М⁺ и индифферентные к нему. Поэтому при составлении таблиц ответов мы относили такие элементы к разным группам. Высокая вариативность ответов среди ЭФА OFF-типа группы 3 не позволяет привести их ответы к общему виду, поэтому разные типовые комбинации, характерные для этих элементов есть смысл рассматривать по отдельности. Рассмотрим для начала систему, в которой присутствуют 4 группы элементов: 1) группа 1 OFF-типа; 2) элементы группы 2 OFF-типа, чувствительные к стимуляции М⁺ (OFF2*); 3) элементы

группы 2 OFF-типа, нечувствительные к стимуляции M+ (OFF2); 4) группа ON-типа (таблица 4).

Комбинации суммарного ответа на разные цветные стимулы системы ЭФА из перечисленных 4 групп приведены в таблице 3 (верхний блок). Во втором столбце приведены выявленные комбинации ответов элементов 4 групп ЭФА. Порядок регистров соответствует таблице 2. Варианты цветных стимулов, вызывающих данную комбинацию ответов, выделены цветами, соответствующими цветам стимулов, предъявляемых на стимулирующем мониторе. Основываясь на составленной таблице ответов, мы установили, что возможных комбинаций ответов оказывается всего 4 при возможных 16. Разумеется, необходимо учитывать, что часть комбинаций может быть нами

Таблица 3: Ответы ЭФА на цветные стимулы в бинарном выражении

	L+	M+	S+	L-	M-	S-	L+M+	L-M-	M+S+	M+S-	M-S-	L+S+	L-S+	L+S-	L-S-
OFF1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0
OFF2*	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1
OFF2	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1
ON	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0

упущена из-за неполного набора парных цветов в имеющейся в нашем распоряжении палитре. Несмотря на это, ряд закономерностей прослеживается даже при рассмотрении такой неполной картины. Видно, что кроме «красного» «зеленого» и «синего» выделяется также «желтый» цвет, представленный в реакциях на стимулы S- и L+M+. Из данной таблицы также видно, что стимуляция парными декрементными или инкрементными цветами вызывает у системы такой же ответ, как стимуляция противоположным знаком третьего цвета. Ответ на M-S-равен ответу на L+, L+M+ равен ответу на S- и т.п. Исключением в этом ряду является только стимул L-S-. Несмотря на то, что ответ на него у элементов OFF-типа группы 2 снижен по сравнению с ответом

на L–, все же он как правило выше фоновой активности, поэтому ответ системы отличается от ответа на M+.

Таблица 4: комбинации ответов ЭФА 4 типов

С учетом всех типов	1001	L+	M-	M-S-	L+S+	L+S-			
	0100	M+	M+S-						
	0110	S+	L-	L-M-	M+S+	L-S+	L-S-		
	0001	S-	L+M+						
Без учета ЭФА OFF2- типа	101	L+	M-	M-S-	L+S+	L+S-			
	010	S+	L-	L-M-	M+S+	M+S-	L-S+	L-S-	M+
	001	S-	L+M+						
Без учета ЭФА OFF2*- типа	101	L+	M-	M-S-	L+S+	L+S-			
	000	M+	M+S-						
	010	S+	L-	L-M-	M+S+	L-S+	L-S-		
	001	S-	L+M+						

Так как оба подтипа элементов группы 2 OFF-типа не встречались нам в опытах на одном и том же животном, то мы рассмотрели вероятность, что вместе они не встречаются, а работают по отдельности в сетчатках разных индивидов (средний и нижний блок таблицы 3). Во втором и третьем блоке приведены комбинации ответов системы из элементов трех типов, без учета одного из вариантов ЭФА OFF-типа группы 2. Как видно из таблицы, первый и третий блок идентичны, в то время как во втором блоке отсутствует одна строчка – пропадают различия между «синим» и «зеленым» цветами. На этом основании можно было бы сделать вывод, что чувствительность к M+ у элементов группы 2 не помогает, а мешает цветоразличению в том случае, если в системе присутствует только зеленочувствительный тип. Однако, при детальном рассмотрении гипотетических бинарных кодировок следует заметить, что в третьем блоке таблицы «зеленый» цвет оказывается

закодирован сочетанием реакций «000», то есть тогда, когда система не видит изменений в данной области пространства. Подобная гипотетическая система оказалась бы зеленослепой. Из этого следует сделать вывод о том, что для различения всех четырех цветов необходимы все четыре типа элементов, как в первом блоке.

Заключение

Электрофизиологическое исследование текстильной системы позволяет понять, какая зрительная информация и в каком виде поступает из сетчатки в высшие зрительные центры. В настоящей диссертации продемонстрировано, каких результатов можно достичь, используя экстраклеточное отведение в сочетании с возможностью тонко регулировать параметры стимуляции. В ходе исследования детально описаны физиологические свойства нового класса сетчаточных элементов, проецирующихся в *tectum opticum* (ТО) – ЭФА. А именно, измерены размеры рецептивных полей, исследована контрастная чувствительность, установлен тот факт, что периферия РП ЭФА реактивна, то есть способна отвечать на стимуляцию при отсутствии изменений в центре РП. Кроме того, изучены цветовые свойства ЭФА, и показано, что ЭФА OFF-типа подразделяются на три группы, каждой из которых свойственен свой собственный профиль цветокодирования. Также показано, что ЭФА OFF-типа групп 1 и 2, а также ЭФА ON-типа представляют собой дважды цветооппонентные клетки, являясь, таким образом, цветоразличающими, что ставит точку в вопросе о представительстве информации о цвете в зрительной системе рыб. Также продемонстрирована теоретическая возможность на основе системы из трех описанных цветооппонентных элементов в трихроматическом зрении из «красного», «зеленого» и «синего» каналов получить четвертый – «желтый».

Также по результатам исследования можно сказать, в каком направлении можно двигаться далее. Большой интерес представляют латентности ответов ЭФА. Детальное изучение этого вопроса может помочь в детальном изучении механизма цветовой оппонентности. Также, используя другие рассчитанные цвета, можно охватить те сочетания парного цветного воздействия, которые остались не изученными. Исследования цветных свойств ограничивались конфигурацией, в которой периферия либо центр оставались нейтрально

серыми (N). Необходимо произвести более глубокое исследование, чтобы оценить, как постоянное цветовое воздействие на разные зоны РП воздействует на реакции ЭФА.

Выводы

1. В tectum opticum серебряного карася из сетчатки проецируются окончания ЭФА ON-типа и OFF-типа. Это ганглиозные клетки сетчатки, отвечающие длящимся импульсным разрядом на крупные контрастные пятна предпочтительного знака контраста.
2. Горизонт залегания окончаний аксонов ЭФА находится в самом низу ретино-рецепиентного слоя на глубине 200мкм.
3. Кривая контрастной чувствительности ЭФА более пологая, чем у других ганглиозных клеток ретино-тектальной системы рыб.
4. Рецептивные поля ЭФА имеют концентрическую структуру с центральной частью и периферией. Периферия рецептивных полей ЭФА реактивна и оппонента центру рецептивных полей.
5. ЭФА OFF-типа подразделяются на три группы по профилям цветокодирования. 1 группа представляет собой дважды цветооппонентные клетки с профилем оппонентности $L+/M-$; вторая группа представлена дважды цветооппонентными клетками с профилем оппонентности $S+/L-$; третья группа не является цветооппонентной и не демонстрирует цветоспецифичных ответов.
6. ЭФА ON-типа являются дважды цветооппонентными с профилем оппонентности $L+/M-$, $S-$.

Автор выражает благодарность Елене Михайловне Максимовой за огромную всестороннюю поддержку в научной деятельности, освоении электрофизиологического метода и формировании мировоззрения. Павлу Вадимовичу Максиму за материальное, техническое и программное обеспечение исследований. Илие Дамяновичу за совместную работу над темой и внимательность к деталям. Зорану Гачичу за помощь в статистической обработке результатов. Всему коллективу 8 лаборатории ИППИ РАН за неподдельный интерес к общему делу и ценные советы, без которых исследование не стало бы настолько полным.

Книги:

1. Виноградов Ю.А. Электронные приборы в электрофизиологических, морфологических и этологических исследованиях. Препринт №13. Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1986, 23 с.
2. Максимова Е.М., Диментман А.М., Максимов В.В., Николаев П.П., Орлов О.Ю. Простейшие физиологические механизмы константности цветовосприятия в зрительной системе животных // Механизмы зрения животных. М.: Наука, 1978, С. 96-134.
3. Northmore D.P.M. The Optic Tectum // Encyclopedia of Fish Physiology: from Genome to Environment. Elsevier, 2011, pp.131-142.
4. Perlman I., Kolb H., Nelson R. Anatomy, circuitry, and physiology of vertebrate horizontal cells // The Visual Neurosciences, 2-vol. set, The MIT Press, 2003, pp.369-394.

Публикации в научных журналах:

1. Зенкин Г.М., Пигарев И.Н. Детекторные свойства ганглиозных клеток сетчатки щуки. Биофизика, 1969, Т. 14. № 4, С. 722–730.
2. Максимов В.В., Максимова Е.М., Максимов П.В. Классификация дирекционально-избирательных элементов, регистрируемых в тектуме карася. Сенсорные системы. 2005. Т. 19. № 4. С. 322-335.
3. Максимов В.В., Максимова Е.М., Максимов П.В. Цветовые свойства детекторов направления движения, проецирующихся в тектум карася. Сенсорные системы, 2007, том 21, № 1, с. 19-28
4. Максимов В.В., Максимова Е.М., Максимов П.В. Классификация ориентационно-избирательных элементов, проецирующихся в тектум карася, Сенсорные системы, 2009, Т. 23, №1, стр. 13-23

5. Максимова Е. М. Влияние внутриклеточной поляризации горизонтальных клеток на активность ганглиозных клеток сетчатки рыб. Биофизика, 1969, Т. 14. № 3. С. 537-544.
6. Максимова Е.М., Максимов В.В. Насыщение S-потенциалов сетчатки рыб. Двухкомпонентные реакции, Биофизика. 1969. Том XIV, вып. 5, стр. 905 – 913.
7. Максимова Е.М., Орлов О.Ю., Диментман А.М. Исследование зрительной системы нескольких видов морских рыб // Вопросы ихтиологии, 1971, Т. 11, № 5, стр. 892-899.
8. Максимова Е.М., Максимов В.В. Детекторы ориентированных линий в зрительной системе карася *Carassius carassius*. Журнал эволюционной биохимии и физиологии, 1981, 17(5), 519-525.
9. Aliper A., Zaichikova A., Damjanović I., Maximov P., Kasparson A., Gačić Z., Maximova E. Updated functional segregation of retinal ganglion cell projections in the tectum of a cyprinid fish — further elaboration based on microelectrode recordings, Fish Physiology and Biochemistry, 2019, Volume 45, Pages 773-792.
10. Allison W. T., Barthel L. K., Skebo K. M., Takechi M., Kawamura S., Raymond P. A. Ontogeny of cone photoreceptor mosaics in zebrafish. Journal of Comparative Neurology, 2010, 518(20), 4182-4195.
11. Amthor F.R., Takahashi E.S., Oyster C.W. Morphologies of rabbit retinal ganglion cells with complex receptive fields. Journal of Comparative Neurology, 1989, 280(1), 97-121.
12. Antinucci P., Nikolaou N., Meyer M.P., Hindges R. Teneurin-3 specifies morphological and functional connectivity of retinal ganglion cells in the vertebrate visual system. Cell Reports, 2013, 5(3), 582-592.
13. Baden T., Berens P., Bethge M., Euler T. Spikes in mammalian bipolar cells support temporal layering of the inner retina. Current Biology, 2013, 23(1), 48-52.
14. Baden T., Berens P., Franke K., Román Rosón M., Bethge M., Euler T. The functional diversity of retinal ganglion cells in the mouse. Nature, 2016, 529(7586), 345-350.

15. Baden T., Osorio D. The Retinal Basis of Vertebrate Color Vision. *Annual Review of Vision Science*, 2019, 5, 177-200.
16. Barlow H.B., Hill R.M., Levick W.R. Retinal ganglion cells responding selectively to direction and speed of image motion in the rabbit. *Journal of Physiology*, 1964, 173(3), 377-407.
17. Bianco I.H., Kampff A.R., Engert F. Prey capture behavior evoked by simple visual stimuli in larval zebrafish. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 2011, 5, 101.
18. Bianco I.H., Engert F. Visuomotor transformations underlying hunting behavior in zebrafish. *Current Biology*, 2015, 25(7), 831-846.
19. Bloomfield S.A. Orientation-sensitive amacrine cells in the vertebrate retina. *Nature*, 1994, 371(5), 1672-1691.
20. Borg-Graham L.J. The computation of directional selectivity in the retina occurs presynaptic to the ganglion cell. *Nature Neuroscience*, 2001, 4(2), 176-183.
21. Bowling D.B. Light responses of ganglion cells in the retina of the turtle. *Journal of Physiology*, 1980, 299, 173-196.
22. Breuninger T., Puller C., Haverkamp S., Euler T. Chromatic bipolar cell pathways in the mouse retina. *Journal of Neuroscience*, 2011, 31(17), 6504-6517.
23. Briggman K.L., Helmstaedter M., Denk W. Wiring specificity in the direction-selectivity circuit of the retina. *Nature*, 2011, 471(7337), 183-188.
24. Byzov A., Vergelskaja I., Maximov V. The model of color opponency in horizontal cells. *Experimental Eye Research*, 1992, V. 55. Suppl. 1, P. 238.
25. Chapot C.A., Behrens C., Rogerson L.E., Baden T., Pop S., Berens P., Euler T., Schubert T. Local signals in mouse horizontal cell dendrites. *Current Biology*, 2017, 27(23), 3603-3615.
26. Chapot C.A., Euler T., Schubert T. How do horizontal cells 'talk' to cone photoreceptors? Different levels of complexity at the cone-horizontal cell synapse. *Journal of Physiology*, 2017, 595(16), 5495-5506.

27. Connaughton V.P., Nelson R. Axonal stratification patterns and glutamate-gated conductance mechanisms in zebrafish retinal bipolar cells. *Journal of Physiology*, 2010, 524(1), 135–146.
28. Cook J.E., Becker D.L. Gap junctions in the vertebrate retina. *Microscopy Research and Technique*, 1995, 31(5), 408-419.
29. Cronly-Dillon J.R. Units sensitive to direction of movement in goldfish optic tectum. *Nature*, 1964, 203, 214-215.
30. Dacey D.M., Lee B.B. The 'blue-on' opponent pathway in primate retina originates from a distinct bistratified ganglion cell type. *Nature*, 1994, 367(6465), 731-735.
31. Dacheux R.F., Raviola E. Horizontal cells in the retina of the rabbit. *Journal of Neuroscience*, 1982, 2(10), 1486-1493.
32. Damjanović I., Maximova E., Maximov V. On the organization of receptive fields of orientation-selective units recorded in the fish tectum // *Journal of Integrative Neuroscience*, 2009, Vol. 8 No. 3, 323-344.
33. Daw N. W. Colour-coded ganglion cells in the goldfish retina: extension of their receptive fields by means of new stimuli. *Journal of Physiology*, 1968, 197(3), 567-592.
34. Douglas R.H. The spectral transmission of the lens and cornea of the brown trout (*Salmo trutta*) and goldfish (*Carassius auratus*) — Effect of age and implications for ultraviolet vision. *Vision Research*, 1989, 29(7), 861-869.
35. Drujan B.D., Svaetichin G., Negishi K. Retinal aerobic metabolism as reflected in S-potential behavior. *Vision Research Supplement*, 1971, 3, 151-159.
36. Engström K. Cone types and cone arrangements in the retina of some cyprinids. *Acta Zoologica*, 1960, 41(3), 277-295.
37. Escobar-Camacho D., Ramos E., Martins C., Carleton K.L. Behavioral color vision in a cichlid fish: *Metriaclima benetos*. *Journal of Experimental Biology*, 2017, 220(16), 2887-2899.
38. Euler T., Detwiler P.B., Denk W. Directionally selective calcium signals in dendrites of starburst amacrine cells. *Nature*, 2002, 418(6900), 845-852.

39. Famiglietti E.V. 'Starburst' amacrine cells of the rabbit retina. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 1983, 261(1), 138-144.
40. Fatehchand R., Svaetichin G., Mitarai G., Villegas J. Location of the non-linearity in horizontal cell response to retinal illumination. *Nature*, 1961, 189(4765), 463-464.
41. Fraley S.M., Sharma S.C. Topography of retinal axons in the diencephalon of the goldfish. *Cell and Tissue Research*, 1984, 238, 529-538.
42. Gauthier J.L., Field G.D., Sher A., Shlens J., Greschner M., Litke A.M., Chichilnisky E.J. Uniform signal redundancy of parasol and midget ganglion cells in primate retina. *Journal of Neuroscience*, 2009, 29(14), 4675-4680.
43. Gesteland R.C., Howland B., Lettvin J.Y., Pitts W.H. Comments on microelectrodes. *Proceedings of the IRE*, 1959, 47(11), 1856-1862.
44. Goodchild A.K., Ghosh K.K., Martin P.R. Comparison of photoreceptor spatial density and ganglion cell morphology in the retina of human, macaque monkey, cat, and the marmoset *Callithrix jacchus*. *Journal of Comparative Neurology*, 1996, 366(1), 55-75.
45. Govardovskii V.I., Fyhrquist N., Reuter T., Kuzmin D.G., Donner K. In search of the visual pigment template. *Visual Neurosci*, 2000, V. 17, P. 509–528.
46. He S., Jin Z.F., Masland R.H. The nondiscriminating zone of directionally selective retinal ganglion cells. *Journal of Neuroscience*, 1998, 19(18), 8049-8056.
47. Hubel D.H., Wiesel T.N. Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. *Journal of Physiology*, 1962, 160(1), 106-154.
48. Huberman A.D., Wei W., Elstrott J., Stafford B.K., Feller M.B., Barres B.A. Genetic identification of an On-Off direction-selective retinal ganglion cell subtype reveals a layer-specific subcortical map of posterior motion. *Neuron*, 2010, 62(3), 327–334.
49. Jacobson M., Gaze R.M. Types of visual response from single units in the optic tectum and optic nerve of the goldfish. *Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognate Medical Sciences*, 1964, 49(3), 199-209.

50. Kamermans M., Werblin F. GABA-mediated positive autofeedback loop controls horizontal cell kinetics in tiger salamander retina. *Journal of Neuroscience*, 1991, 2(7), 2451-2463.
51. Kaneko A. Receptive field organization of bipolar and amacrine cells in the goldfish retina. *Journal of Physiology*, 1973, 235(1), 133-153.
52. Kawasaki M., Aoki K. Visual responses recorded from the optic tectum of the Japanese dace, *Tribolodon hakonensis*. *Journal of Comparative Physiology A*, 1983, 152, 147-153.
53. Krauskopf J., Williams D.R., Heeley D.W. Cardinal directions of color space. *Vision Research*, 1982, 22(9), 1123-1131.
54. Kuffler S.W. Discharge patterns and functional organization of mammalian retina. *Journal of Neurophysiology*, 1953, 16(1), 37-68.
55. Lettvin J.Y., Maturana H.R., McCulloch W.S., Pitts W.H. What the frog's eye tells the frog's brain. *Proceedings of the IRE*, 1959, 47(11), 1940-1951.
56. Leventhal A.G., Schall J.D. Structural basis of orientation sensitivity of cat retinal ganglion cells. *Journal of Comparative Neurology*, 1983, 220(4), 465-475.
57. Li Y.N., Matsui J.I., Dowling J.E. Specificity of the horizontal cell-photoreceptor connections in the zebrafish retina. *Journal of Comparative Neurology*, 2009, 516(5), 442-453.
58. Mangrum M.I., Dowling J.E., Cohen E.D. A morphological classification of ganglion cells in the zebrafish retina. *Visual Neuroscience*, 2002, 19(6), 767-779.
59. Marshak D.W., Mills S.L. Short-wavelength cone-opponent retinal ganglion cells in mammals. *Visual Neuroscience*, 2014, 31(2), 165-175.
60. Masland R.H. Neuronal cell types. *Current Biology*, 2004, 14(13), 497-500.
61. Maturana H.R., Lettvin J.Y., McCulloch W.S., Pitts W.H. Anatomy and physiology of vision in the frog (*Rana pipiens*). *Journal of General Physiology*, 1960, 43(6), 129-175.
62. Maturana H.R., Frenk S. Directional movement and horizontal edge detectors in the pigeon retina. *Science*, 1963, 142(3594), 977-979.

63. Maximov V., Maximova E., Damjanović I., Maximov P. Color properties of the motion detectors projecting to the goldfish tectum: I. A color matching study. *Journal of Integrative Neuroscience*, 2014, Vol. 13, No. 03, 465-484.
64. Maximov V., Maximova E., Damjanović I., Aliper A., Maximov P. Color properties of the motion detectors projecting to the goldfish tectum: II. Selective stimulation of different chromatic types of cones, *Journal of Integrative Neuroscience*, 2015, Vol. 14, No. 01, 31-52.
65. Maximova E., Govardovskii V., Maximov P., Maximov V. Spectral sensitivity of direction-selective ganglion cells in the fish retina // *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2005. V. 1048. P. 433-434.
66. Maximova E., Maximov P., Damjanović I., Aliper A., Kasparson A., Maximov V. Color properties of the motion detectors projecting to the goldfish tectum: III. Color-opponent interactions in the receptive field. *Journal of Integrative Neuroscience*, 2015, Vol. 14, No. 04, 441-454.
67. Maximova E., Aliper A., Damjanović I., Zaichikova A., Maximov P. On the organization of receptive fields of retinal spot detectors projecting to the fish tectum: Analogies with the local edge detectors in frogs and mammals. *Journal of Comparative Neurology*, 2020 Volume 528, Pages 1423-1435.
68. Meier A., Nelson R., Connaughton V.P. Color processing in zebrafish retina. *Frontiers in Neural Circuits*, 2018, 12, 327.
69. Meister M., Pine J., Baylor D.A. Multi-neuronal signals from the retina: acquisition and analysis. *Journal of Neuroscience Methods*, 1994, 51(1), 95-106.
70. Mills S.L., Tian L.-M., Hoshi H., Whitaker C.M., Massey S.C. Three distinct blue-green color pathways in a mammalian retina. *Journal of Neuroscience*, 2014, 34(5), 1760-1768.
71. Mitarai G., Asano T., Miyake Y. Identification of five types of S-potential and their corresponding generating sites in the horizontal cells of the carp retina. *Japanese Journal of Ophthalmology*, 1974, 18(2), 161-176.
72. Mitarai G. Chromatic properties of S-potential in fish. *Progress in clinical and biological research*, 1982, 113, 137-150.

73. Mumm J.S., Williams P.R., Godinho L., Koerber A., Pittman A.J., Roeser T., Chien C.B., Baier H., Wong R.O. In vivo imaging reveals dendritic targeting of laminated afferents by zebrafish retinal ganglion cells. *Neuron*, 2006, 52(4), 609-621.
74. Naka K.I., Rushton W.A.H. S-potentials from colour units in the retina of fish (Cyprinidae). *Journal of Physiology*, 1966, 185(3), 536-555.
75. Neumeier C. Tetrachromatic color vision in goldfish: Evidence from color mixture experiments. *Vision Research*, 1992, 171, 639-649.
76. Nevin L.M., Robles E., Baier H., Scott E.K. Focusing on optic tectum circuitry through the lens of genetics. *BMC Biology*, 2010, 8, 126.
77. Nikolaou N., Lowe A.S., Walker A.S., Abbas F., Hunter P.R., Thompson I.D., Meyer M.P. Parametric functional maps of visual inputs to the tectum. *Neuron*, 2012, 76(2), 317-324.
78. Oyster C.W., Barlow H.B. Direction-selective units in rabbit retina: Distribution of preferred directions. *Science*, 1967, 155(3764), 841-842.
79. Packer O.S., Verweij J., Li P.H., Schnapf J.L., Dacey D.M. Blue-yellow opponency in primate S-cone photoreceptors. *Journal of Neuroscience*, 2010, 30(2), 568-572.
80. Palacios A.G., Goldsmith T.H., Bernard G.D. Sensitivity of cones from a cyprinid fish (*Danio aequipinnatus*) to ultraviolet and visible light. *Visual Neuroscience*, 1996, 13(3), 411-421.
81. Parichy D.M., Elizondo M.R., Mills M.G., Gordon T.N., Engeszer R.E. Normal table of postembryonic zebrafish development: Staging by externally visible anatomy of the living fish. *Developmental Dynamics*, 2009, 238(12), 2975-3015.
82. Podugolnikova T.A. Morphology of bipolar cells and their participation in spatial organization of the inner plexiform layer of jack mackerel retina. *Vision Research*, 1985, 25(12), 1843-1851.
83. Raymond P. A., Barthel L. K., Rounsifer M. E. Sullivan S. A., Knight J. K. Expression of rod and cone visual pigments in goldfish and zebrafish: a rhodopsin-like gene is expressed in cones. *Neuron*, 1993, 10(6), 1161-1174.

84. Robles E., Laurell E., Baier H. The retinal projectome reveals brain-area-specific visual representations generated by ganglion cell diversity. *Current Biology*, 2014, 24(18), 2085-2096.
85. Stell W.K. Horizontal cell axons and axon terminals in goldfish retina. *Journal of Comparative Neurology*, 1975, 159(4), 503-520.
86. Svaetichin G., MacNichol E.F. Retinal mechanisms for chromatic and achromatic vision. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1958, 74(2), 385-404.
87. Tomita T. Electrophysiological study of the mechanisms subserving color coding in the fish retina. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 1965, 30, 559-566.
88. Vaney D.I., Young H.M. GABA-like immunoreactivity in cholinergic amacrine cells of the rabbit retina. *Brain Research*, 1988, 438(1-2), 369-373.
89. Vaney D.I. The mosaic of amacrine cells in the mammalian retina. *Progress in Retinal Research*, 1990, 9, 49-100.
90. Wagner H.J., Wagner E. Amacrine cells in the retina of a teleost fish, the roach (*Rutilus rutilus*): a Golgi study on differentiation and layering. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 321(1206), 263–324.
91. Werblin F.S., Dowling J.E. Organization of the retina of the mudpuppy, *Necturus maculosus*. I. Synaptic structure. *Journal of Neurophysiology*, 1969, 32(3), 315-338.
92. Wiggers W. Projections of single retinal ganglion cells to the visual centers: an intracellular staining study in a plethodontid salamander. *Visual Neuroscience*, 1999, 16(3), 435-447.
93. Xiao-Fan W., Yue-Lin Z., Wei-Ke J., Yi-Ran L., Shao-Jun Z. Effects of pollutant toxicity on the eyes of aquatic life monitored by visual dysfunction in zebrafish: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 2022, 21, 1177-1201.
94. Yazulla S., Studholme K.M. Neurochemical anatomy of the zebrafish retina as determined by immunocytochemistry. *Journal of Comparative Neurology*, 2001, 30(7), 551-592.

95. Zimmermann M.J.Y., Nevala N.E., Yoshimatsu T., Osorio D., Nilsson D.-E., Berens P., Baden T. Zebrafish differentially process color across visual space to match natural scenes. *Current Biology*, 2018, 28(13), 2018-2032.

Словарь терминов

Амакриновая клетка – интернейрон сетчатки, расположенный в ВСС между слоями биполярных клеток и ганглиозных клеток.

Биполярная клетка – нейрон сетчатки, передающий сигнал от НСС в ВСС.

Ганглиозная клетка – выходной нейрон сетчатки.

Горизонтальная клетка – интернейрон сетчатки, расположенный в НСС.

Ретинотектальная система – функциональная система, обеспечивающая передачу зрительной информации от сетчатки в высшие зрительные центры.

Рецептивное поле – область зрительного пространства, охватываемая множеством фоторецепторов, с которых получает информацию зрительный нейрон.

Стимул (зрительный) – видимый объект с заданными свойствами, воздействующий на нейроны зрительной системы.

Стимуляция – целенаправленное специфическое воздействие на возбудимые системы организма.

Фоторецептор – входной нейрон зрительной системы. Обладает способностью преобразовывать изменения света в химический сигнал, а химического сигнала в электрический.

Цветовой канал – структура, проводящая ON или OFF сигнал от одного типа фоторецепторов.

Цветооппонентность – свойство зрительного нейрона, позволяющее оценивать цветовой контраст (спектральные различия в окраске видимого объекта) в рецептивном поле.

Список сокращений и условных обозначений

ВСС: внутренний синаптический слой

ВРП: возбуждающее рецептивное поле

ГК: ганглиозная клетка

ДИ ГК: дирекционально-избирательная ганглиозная клетка

НСС: наружный синаптический слой

ОИЭ: ориентационно-избирательный элемент

РП: рецептивное поле

ЭФА: элемент с фоновой активностью

AF: arborization field – область ветвление

dpf: days past fertilization – дни после вылупления

L: long-wave – длинноволновый

M: mid-wave – средневолновый

SAC: starburst amacrine cell – звездчатая амакриновая клетка

SBEM: serial block-face electron microscopy – последовательная торцевая электронная микроскопия

SGC: *stratum gryseum centrale*

SFGS: *stratum fibrosum gryseum superficiale*

SO: *stratum opticum*

SPV: *stratum periventriculare*

S: short-wave – средневолновый

TO: *tectum opticum*

UV: ultra-violet – ультрафиолетовый

1	Схема сетчатки позвоночных.	13
2	Морфологические типы ганглиозных клеток сетчатки рыб.	16
3	Стратификация ретино-текстальных проекций у рыб.	19
4	Типы дирекционально-избирательных ганглиозных клеток рыб.	22
5	Цветооппонентные горизонтальные клетки.	25
6	Ганглиозные клетки R/G-типа в сетчатке карпа.	27
7	Схема установки.	32
8	Спецификация цветов монитора.	36
9	Импульсный ответ ЭФА.	38
10	Три кластера в ретинорецепиентном слое ТО.	40
11	Зависимость реакций ЭФА OFF-типа от контраста стимула и фона в центре РП.	41
12	Визуализация рецептивных полей ЭФА.	43
13	Размеры рецептивных полей ЭФА.	44
14	Реакции ЭФА на движение границы.	45
15	Регистрация полярной диаграммы ЭФА.	46
16	Условие возникновения реакции ЭФА.	48
17	Зависимость ответа ЭФА OFF-типа от размера стимула.	49
18	Зависимость ответа ЭФА ON-типа от размера стимула.	49
19	Оценка размера стимула, вызывающего максимальный ответ при стационарном предъявлении.	50
20	Свидетельство реактивных свойств периферии РП ЭФА.	51
21	Цветокодирование ЭФА OFF-типа группы 1.	54
22	Цветокодирование ЭФА OFF-типа группы 2.	54
23	Цветокодирование ЭФА OFF-типа группы 3.	55
24	Попарное сравнение профилей цветокодирования трех групп ЭФА OFF-типа.	57
25	Три группы ЭФА OFF-типа.	58

26	Взаимодействия цветовых каналов (цветоселективных входов) у ЭФА OFF-типа группы 1.	60
27	Взаимодействия цветовых каналов (цветоселективных входов) у ЭФА OFF-типа группы 2.	61
28	Взаимодействия цветовых каналов (цветоселективных входов) у ЭФА OFF-типа группы 3.	62
29	Сравнение ответов центра и периферии ЭФА OFF-типа группы 1.	64
30	Сравнение ответов центра и периферии ЭФА OFF-типа группы 2.	65
31	Сравнение ответов центра и периферии ЭФА OFF-типа группы 3.	66
32	Цветокodирование ЭФА ON-типа.	67
33	Взаимодействия цветовых каналов (цветоселективных входов) у ЭФА ON-типа	69
34	Взаимодействия цветовых каналов (цветоселективных входов) у ЭФА OFF-типа	70

Список таблиц

1	Фрагмент таблицы данных с реакциями ЭФА OFF-типа (группа 2) на стимуляцию селективными цветными стимулами.	56
2	Фрагмент таблицы нормализованных данных с реакциями ЭФА OFF-типа (группа 2) на стимуляцию селективными цветными стимулами. ...	58
3	Ответы ЭФА на цветные стимулы в бинарном выражении.	80
4	Комбинации ответов ЭФА 4 типов.	81