

УДК 612.84

НЕЙРОМЕДИАТОРЫ СЕТЧАТКИ И ПЕРЕСТРОЙКИ В НЕРВНЫХ СЛОЯХ СЕТЧАТКИ ПРИ ДЕГЕНЕРАЦИИ ФОТОРЕЦЕПТОРОВ

© 2008 г. Е. М. Максимова

*Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН,
127994, Москва, Большой Каретный пер., 19*

E-mail: maximova@iitp.ru

Поступила в редакцию 20.08.2007 г.

Проблемой протезирования сетчатки занимаются независимо не менее 18 центров во всем мире (Gerding, 2007). Попытки восстановления зрения у людей с врожденными заболеваниями сетчатки путем замены атрофированных фоторецепторов на электронные или клеточные протезы пока мало результативны. Принципиальную причину неудач прояснили исследования, проведенные на мышах как модельном объекте в лаборатории Роберта Марка в глазном центре Морана Университета Юты в США. Для классификации нейронов сетчатки был разработан метод молекулярного фенотипирования, использующий алгоритмы распознавания образов в многомерном пространстве признаков. Признаки – меры этого пространства – это небольшие внутриклеточные молекулы (ГАМК, глицин, глутамат, глутамин, таурин, аспартат и их соотношения) и показатели состояния возбуждения клетки, полученные методом количественной иммунохимии (Marc, Jones, 2002; Marc, 2003). Появилась возможность проследить судьбу разных типов узнаваемых клеток сетчатки в ходе развития болезней. Показано, что при атрофии фоторецепторов в нервных слоях взрослой сетчатки происходит перестройка, заключающаяся не только в отмирании многих нейронов, но и в нарушении послойной организации выживших нейронов, образовании у них новых нейритов и формировании новых синаптических связей согласно их нейромедиаторной комплементарности – образовании многочисленных микронейром. Такая перестройка сетчатки противоречит самой идее протезирования (Jones, Marc, 2005; Jones et al., 2005). Структура взрослой сетчатки, обеспечивающая процесс обработки и передачи зрительного сигнала, представлявшаяся неизменной, как бы “запаянной” раз и навсегда, на самом деле динамична и поддерживается исключительно за счет постоянной работы всех ее элементов при нормальной афферентации от фоторецепторов.

Ключевые слова: сетчатка, нейромедиаторы, наследственные заболевания сетчатки, дегенерация фоторецепторов, нейрональная перестройка, молекулярное фенотипирование.

НЕКОТОРЫЕ НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ СЕТЧАТКИ ЧЕЛОВЕКА

Наследственные заболевания сетчатки, при которых дегенерируют фоторецепторы, – *связанная с возрастом колбочко-палочковая, или макулярная дистрофия, возрастная палочко-колбочковая дистрофия, пигментные ретиinitы, амавроз Лебера, болезнь Штаргардта, синдром Ушера* – пока неизлечимы. К настоящему времени секвенировано более сотни генов, мутации в которых ответственны за ряд этих синдромов (<http://www.sph.uth.tmc.edu/RetNet/>). Знание в каждом случае генетической причины патологии дает возможность выбрать или создать генетически модифицированное животное для модельных детальных исследований, а также предполагает в будущем возможность генной терапии (Ali et al., 1997). Кроме того, соответствующая поддержи-

вающая терапия, примененная на ранних стадиях некоторых заболеваний (до появления субъективных симптомов ухудшения зрения), отдалает роковые последствия.

Связанная с возрастом колбочко-палочковая дистрофия развивается у людей в преклонном возрасте (после 60 лет). Типичные симптомы развивающегося заболевания – это прыгающие буквы, искаженные лица, деформированные оконные рамы. При офтальмоскопии глазного дна (еще до появления признаков ухудшения зрения) видны инородные светлые образования – друзы, состоящие из желтоватых осадков липидов, белков, клеточных осколков, недопереваренных лизосомами клеток пигментного эпителия. Они накапливаются в ткани пигментного эпителия под макулой сетчатки (Dorey et al., 1993; Framme et al., 2005). Макула утоньшается и иссушается. Иногда наблюдается формирование новых ненормаль-

ных кровеносных сосудов. Начинаясь в центральной области сетчатки, патогенный процесс распространяется на ее периферию. У людей в возрасте от 65 до 75 лет макулярная дистрофия обнаруживается в 6% случаев, у людей старше 75 – в 20%. Вероятность этого заболевания выше у курильщиков, блондинов, гипертоников и у людей, в семьях которых отмечена макулярная дистрофия. Женщины заболевают чаще мужчин. Только в Европе 6.5 млн. человек страдают макулярной дистрофией. В 20% случаев эта болезнь вызвана мутацией гена ABCR. Этот ген производит ретиноспецифический АТФ-связывающий белок-транспортёр, участвующий в процессе синтеза родопсина. При одной из 19 возможных мутаций в этом гене производится дефектный белок, не способный осуществлять свою функцию (Allikmets et al., 1997a).

При *возрастной палочко-колбочковой дистрофии* сначала страдает периферическое зрение, и в обоих случаях все оканчивается слепотой.

Пигментные ретиниты (в отличие от двух предыдущих заболеваний) поражают людей в молодом возрасте и развиваются в течение многих десятилетий. Начальные симптомы заболевания – это ухудшение зрения в сумерках и ночью, затем постепенное сужение периферического поля зрения, что затрудняет перемещение в пространстве, туннельное зрение и, наконец, потеря зрения. При офтальмоскопии глазного дна видно скопление темных пигментных пятен, что и определило название – пигментные ретиниты, или *retinitis pigmentosa*. Частота встречаемости заболевания 1 на 4000. Оно обусловлено мутацией генов, определяющих работу палочек, что приводит к их запрограммированной смерти. Поскольку палочки значительно более многочисленны, чем колбочки, после их смерти существенно нарушается нормальная физиология всей сетчатки, и колбочки, не затронутые мутацией, тоже в конце концов отмирают (Banin, 1999). Секвенировано около сотни генов, мутации в любом из которых приводят к одной из форм пигментного ретинита (Delyfer et al., 2004).

При *амаврозисе Лебера* – отсутствии зрения с рождения, отсутствии электрических реакций на свет – за 25% случаев ответственны три гена, вовлеченные в три разных физиологических процесса: RetGC1 – каскад фототрансдукции, RPE65 – ретиноидный метаболизм (регенерация родопсина) и CRX – ранние этапы развития фоторецепторов (Perreault et al., 1999). Это заболевание также связывают и с мутациями в гене AIPL1, поддерживающим нормальное состояние фоторецепторов (Ramamurthy et al., 2004).

При *синдроме Ушера* – врожденной слепоте, связанной с глухотой, дефектен один из генов группы USH, кодирующий миозин, что приводит

к нарушениям в аксонеме фоторецепторных клеток (а также клеток обонятельного эпителия и клеток Кортиева органа и сперматозоидов) (Keats et al., 2004).

Болезнь Штаргардта – двустороннее нарушение центрального зрения и цветовосприятия, сужение полей зрения, замедление процесса темновой адаптации – отмечается уже в возрасте от 6 до 12 лет. Частота заболевания – 1 на 10000 новорожденных. Характерна картина глазного дна: на ярко красном фоне желтоватые пятна, металлический бронзовый отлив фовеальной области. Не отмечено никаких аномалий кровеносных сосудов (как при пигментных ретинитах). В клетках пигментного эпителия обнаруживается избыточное количество депонированного липофусцина. За 75% случаев этой болезни ответствен уже упоминавшийся ген ABCR (Allikmets et al., 1997b; Weng et al., 1999).

Наследственные заболевания у людей развиваются медленно, десятилетиями. Методы исследования, применяемые в клинике, не позволяют видеть процесс развития заболевания в сетчатке на клеточном уровне. При морфологических исследованиях сетчатки больного человека стандартными методами световой микроскопии (при энуклеации глаза или *post mortem*) выявляется только дегенерация фоторецепторов. Замена атрофированных рецепторов на электронные светочувствительные устройства, электрические сигналы которых можно подать на ганглиозные клетки (или на зрительный нерв), казалось бы может привести к частичному восстановлению утраченного зрения, точнее говоря, к восстановлению чувствительности к свету (Humayun, 2001; Alteheld et al., 2004; Chow et al., 2004; Javaheri et al., 2006; Voahen, 2005; Zaghoul, Voahen, 2006). Восстановление предметного зрения в полном объеме в результате протезирования представляется проблематичным в связи с очень сложной обработкой сигналов фоторецепторов ансамблями специализированных нейронов сетчатки (Zrenner, 2002). В последнее время большие надежды возлагают на трансплантаты стволовых клеток, помещаемых или под сетчатку или перед сетчаткой (Coles et al., 2004; Pressmar et al., 2001). Стратегия как электронного, так и клеточного протезирования исходит из предположения, что взрослая сетчатка млекопитающих, окончательно сформированная к моменту рождения, в течение жизни неизменна и при атрофии зрительных рецепторов нервные слои сетчатки сохраняются, и неизменны специфические связи между нейронами в наружном и внутреннем синаптических слоях.

Генетика поражений, аналогичных болезням человека, хорошо изучена на животных с врожденной патологией рецепторов сетчатки, либо трансгенных животных, доступных для скрупулезного

исследования (<http://www.sph.uth.tmc.edu/RetNet/>). Строение сетчатки мыши по набору нейронов на 90% сходно с человеческим (Jeon et al., 1998). В то же время сетчатка мыши мала по площади, что упрощает исследование. Мышь живет 2–3 года. Можно проследить динамику развития поражения сетчатки с момента рождения и проследить судьбу отдельных типов нейронов на разных стадиях заболевания. Удобная модель – LD крыса-альбинос с необычной картиной дегенерации фоторецепторов: начинаясь в центральной дорзальной порции сетчатки, процесс распространяется с резкой границей, захватывая большую часть глаза, что дает возможность на одной сетчатке проследить разные стадии заболевания (Marc et al., 2003). Используются и животные с дегенерацией фоторецепторов в результате экспериментального отслоения сетчатки (Fisher et al., 2001; Fisher et al., 2005). Исследования на модельных животных методами, принципиально недоступными для изучения развития патологических процессов на клеточном уровне в сетчатке человека, показали действительное положение вещей.

КОРОТКО О МОРФОФИЗИОЛОГИИ СЕТЧАТКИ

Нормальная взрослая сетчатка позвоночного животного – это нервная ткань, состоящая из трех клеточных и двух синаптических слоев, где происходит обработка и передача сигналов с одних клеток на другие (Cajal, 1972; Wässle, Boycott, 1991; Kolb, 2003; Masland, 1986). Сетчатку подстилает пигментный эпителий и хороид. Долгое время полагали, что монтажная схема сетчатки, т.е. взаиморасположение и синаптические связи ее нейронов, в течение жизни неизменна. В результате слаженной работы разных ансамблей специализированных нейронов внутреннего ядерного слоя сетчатки (биполяров и разных типов амакриновых клеток) формируются разные типы ганглиозных клеток. Центр рецептивного поля ганглиозной клетки формируется за счет прямых связей ее дендрита с группой фоторецепторов через биполяры, а периферия рецептивного поля за счет связей тех же биполяров с окружающими рецепторами через горизонтальные клетки (Максимова, 1969; Максимова, Максимов, 1969; Naka, Witkovsky, 1972). Исследования ганглиозных клеток животных разных таксонов (от рыб до приматов) выявляют примерно одинаковое количество (12–14) морфологических типов ганглиозных клеток. Многим из них можно с той или иной степенью уверенности приписать физиологические эквиваленты, одинаковые для животных разных таксонов (Marc, Jones, 2002; Максимова и др., 2006). Каждый из морфофизиологических типов ганглиозных клеток образует собственную мозаику на сетчатке (Wässle et al. 1981; Cook, Chalupa,

2000; Rockhill et al., 2000; Rockhill et al., 2002; Simpson, 1984) и посылает свои аксоны в разные первичные зрительные центры, устроенные ретинотопически (Karamian et al., 1966; Siminoff et al., 1966). Уже в сетчатке происходит выделение (детектирование) таких значимых для животного признаков зрительного стимула как размер, направление движения, ориентация, цвет и пр. (Lettvin et al. 1959; Ewert, 1974). Эту специализацию ганглиозных клеток легко продемонстрировать при регистрации их реакций от окончаний аксонов в главном первичном зрительном центре низших позвоночных – тектуме (Зенкин, Пигарев, 1967; Максимова и др., 1971; Максимова, Максимов, 1981). Ганглиозные клетки – детекторы направления движения и детекторы ориентированных линий зарегистрированы и помечены внутриклеточно и у млекопитающих (Simpson, 1984; Vaney, 1994; Kittila, Massey, 1997). Таким образом, в первичные зрительные центры мозга для дальнейшей обработки (или уже запуска определенных поведенческих реакций) поступают в качестве входных сигналов не одинаковые копии состояний возбуждения фоторецепторов, но параллельные изображения внешнего мира, обработанные и закодированные разными способами, протектированные разными типами ганглиозных клеток сетчатки.

Нормальную работу сетчатки обеспечивают подстилающий ее пигментный эпителий – монослой двухъядерных клеток и мюллеровские глиальные клетки. Пигментный эпителий поддерживает наружный гематоретинальный барьер, принимает участие в циркуляции витамина А, синтезирует экстраклеточный матрикс и фагоцитирует старые отработанные диски наружных сегментов фоторецепторов, поступающих в цикл ресинтеза родопсина. Начинается этот процесс (shedding) у макаки за день у каждой палочки с базального конца образуется 80–90 новых дисков. Столько же старых дисков с апикального конца резорбируется отростками клеток пигментного эпителия. Каждая клетка пигментного эпителия контактирует с 24–45 палочками. Таким образом, каждая клетка пигментного эпителия должна фагоцитировать и переварить в сутки 2000 дисков в парфовеа, 3500 в перифовеа и 4000 на периферии сетчатки. Отработанные захваченные диски инкапсулируются в фагосомы и перевариваются лизосомами. Продукты этого процесса переносятся к базальной мембране клеток пигментного эпителия и транспортируются хороидальной циркуляцией. Этот сложный процесс координируется

многими генами и поломка в любом из них приводит к его нарушению и к развитию заболеваний сетчатки, приводящих к нарушениям и утрате зрения.

Мюллеровские клетки регулируют водный обмен, удаляют из межклеточного пространства сетчатки избытки ионов калия и нейромедиаторов (Зуева, Цапенко, 2006).

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МЕДИАТОРОВ В КЛЕТКАХ СЕТЧАТКИ

Нервные клетки при возбуждении (деполяризации) выделяют из аксональных окончаний в синаптическую щель химическое вещество – нейромедиатор (или нейротрансмиттер). В результате его взаимодействия с белком-рецептором постсинаптической мембраны происходит возбуждение постсинаптического нейрона. Отобранные эволюцией для функции передачи возбуждения вещества одни и те же в нервных системах разных животных. Нейромедиаторы принадлежат к разным химическим классам: катехоламинам, индоламинам, аминокислотам, пептидам. При разнообразии молекулярного строения они должны удовлетворять нескольким общим условиям: синтезироваться в достаточном количестве в пресинаптическом нейроне, быстро выделяться при деполяризации (возбуждении) этого нейрона и после взаимодействия с белком-рецептором постсинаптической мембраны быстро дезактивироваться (или распадаться или удаляться из синаптической щели), чем обеспечивается временная разрешающая способность синапса. В сетчатке, несмотря на относительно простое строение, выявлено присутствие тех же и стольких же нейромедиаторов, что и в мозге, т.е. порядка трех десятков. Основные нейротрансмиттеры сетчатки – глутамат (Glu), ацетилхолин (Ach), серотонин (St), дофамин (DA), γ -аминомасляная кислота (GABA), глицин (Gly), NO и различные пептиды: энкефалины, P – вещество, Y – пептид, вазоинтестинальный пептид, FMRFамид и др. В распределении медиаторов в нейронах сетчатки существует интригующая закономерность (см. рис. 1, А).

Фоторецепторы – палочки и разные типы колбочек в сетчатках всех исследованных позвоночных животных (в том числе у человека, – палочки и три типа колбочек с разной спектральной чувствительностью) передают свои сигналы на десять разных морфологических типов колбочковых биполяров, палочковые биполяры и горизонтальные клетки нескольких типов при помощи единственного медиатора – глутамата. Показано, что медиатор выделяется из пресинаптических окончаний рецепторов в темноте (Trifonov, 1968). Свет дозозависимо тормозит его выделение. Глутамат – единственный медиатор в наружном сетчатом слое (НСС), передающий сигналы в центрипе-

тальном направлении. В горизонтальных клетках сетчатки, по крайней мере, в наружном их слое, обнаруживается GABA (Marc, 2003). Медиаторы остальных типов горизонтальных клеток не известны.

Глутамат, выделяемый фоторецепторами, вызывает в разных биполярах реакции разной полярности. Off-биполяры, так же как и фоторецепторы, гиперполяризуются на свету, on-биполяры – деполяризуются. Полярность реакции определяется тем, каким белком-рецептором данный биполяр воспринимает глутамат. В дендритах off-биполяров находятся ионотропные IGlu-, а в on-биполярах – metabotropные mGluR6-белки-рецепторы. Блокада ионных каналов ионами кобальта вызывает в биполярах сигнал той же полярности, что и освещение, т.е. деполяризацию в on- и гиперполяризацию в off-биполярах. Напротив, аппликация глутамата вызывает в on-биполярах гиперполяризацию, а в off-биполярах – деполяризацию (Kaneko, 1999). Палочковые биполяры всегда деполяризационные. Биполяры, и палочковые и колбочковые в свою очередь при возбуждении (деполяризации) выделяют глутамат. Все прочие многочисленные медиаторы находятся в интернейронах проксимальной сетчатки – амакриновых клетках (рис. 1, А) и работают во внутреннем синаптическом слое (ВСС).

С чем может быть связано такое распределение медиаторов по разным синаптическим слоям? Это обусловлено, вероятно, и разной сложностью НСС и ВСС и разным строением синапсов в этих слоях – в НСС закрытого, а во ВСС – открытого типа (Сахаров, 1990, Максимова, 1990). Принципиально можно осуществить полную систему передачи сигналов при помощи одного единственного медиатора (как в НСС). Адресность сигнала определяется тогда абсолютной морфологической детерминированностью связей взаимодействующих клеток. Триадные ленточные синапсы НСС представляют собой классический пример синапса закрытого типа (рис. 1, Б, а). Дендриты деполяризационных биполяров глубоко врастают в ножку колбочки и располагаются прямо под синаптической лентой. Дендриты гиперполяризационных биполяров образуют плоские контакты у основания ножки колбочки. А отростки горизонтальных клеток, глубоко врастая в синаптическую щель, по сторонам от дендрита деполяризационного биполяра, как бы изолируют его от гиперполяризационного биполяра. Синаптическая щель узкая и глубокая, что препятствует растеканию медиатора за ее пределы.

Во ВСС представлен другой возможный принцип медиаторного взаимодействия нейронов – *in volum* (Zoli, Agnati, 1996). Строение синапсов ВСС иное, чем в НСС. Это синапсы открытого типа (*conventionnal*), где возможно растекание медиатора

тора за пределы синаптической щели (рис. 1, Б, б). Во ВСС тоже есть некоторое морфологическое упорядочивание связей – стратификация, т.е. распределение контактирующих отростков разных типов клеток по отдельным подслоям – стратам (которых, как правило, пять). Так, в дистальной порции ВСС (подпластине а) оканчиваются гиперполяризационные биполяры, а в проксимальной (подпластине б) – деполяризационные биполяры. Аксональные окончания палочковых биполяров находятся в самом витреальном подслое ВСС, иногда выделяемом в отдельную подпластину с (Famiglietti, Kolb H, 1976). Многообразие медиаторов в пресинаптических нейронах, приуроченных к разным морфологическим типам амакриновых клеток и биполяркам, и множественность специфических белков-рецепторов в дендритах постсинаптических нейронов (амакриновых, биполярных и ганглиозных клетках) создает дополнительный фактор надежности соблюдения правильной адресности передачи сигнала. Постсинаптический нейрон принимает сигнал “на себя”, как в радиоэфире.

Считается, что большинство ганглиозных клеток – выходных нейронов сетчатки – глутаматэргические (Marc, 2003). Таким образом, передача сигнала от рецепторов к мозгу по прямому центростремительному пути происходит при помощи глутамата. Однако есть сведения о существовании ГАВА-эргических, ацетилхолинэргических (Yasuhara et al., 2003), и пептидэргических ганглиозных клеток (Marshak, 1989). (В ретинорецептивных слоях ТО, куда приходят аксоны разных типов ганглиозных клеток сетчатки, условия передачи сигнала на нейроны ТО аналогичны условиям во ВСС сетчатки, и здесь также может пригодиться множественность медиаторов для правильной адресности передачи сигнала.)

Существует ли однозначная связь между морфофизиологическим типом ГК и ее медиаторным химизмом – не установлено.

НЕЙРОМЕДИАТОРНЫЙ ХИМИЗМ АМАКРИНОВЫХ КЛЕТОК

Амакриновые клетки – это интернейроны, которые еще Р. Кахаль разделил по морфологическим признакам на 18 классов. Современные морфологи насчитывают у млекопитающих 25 (MacNeil, Masland, 1998; Vaney, 1990; Strettoi, Masland, 1996), а у низших позвоночных до 70 типов амакриновых клеток (Marc, 1999a). В уточнении морфологии и классификации, а также понимании функции амакриновых клеток, большую роль сыграл иммунохимический метод (Хухо, 1990). Иммунохимически можно выявить всю популяцию однородных по признаку медиаторного химизма клеток, оценить их плотность, взаиморасположение, отношение к клеткам другого химиз-

ма. При сравнении морфологической картины амакриновых клеток разного медиаторного химизма, таких как ацетилхолинэргические, дофаминэргические, глицинэргические, серотонинакумулирующие в сетчатке одного животного, видно, что они различаются как по строению самой клетки, так и по положению и количеству в сетчатке. В то же время нейроны одного медиаторного химизма имеют сходную морфологию, как в сетчатках животных одного вида, так и в сетчатках животных разных видов.

Ацетилхолинэргические амакриновые клетки

Ацетилхолин (ACh) в сетчатках всех до сих пор исследованных животных находится в звездчатых (starburst) амакриновых клетках, расположенных на витреальной и склеральной границах ВСС (рис. 1, А). Он был обнаружен автордиографически мечением на ацетилхолинтрансферазу – фермент, участвующий в синтезе ацетилхолина (Masland et al., 1984). На изолированной сетчатке кролика, инкубированной в растворе с радиоактивным предшественником ацетилхолина, было показано автордиографически, что метка накапливается в клетках, лежащих с двух сторон от ВСС, отростки которых плоско стратифицированы во 2-й и 5-й стратах ВСС (рис. 1, А). В опытах с перфузией сетчатки, предварительно инкубированной в растворе с меченым холином, при освещении сетчатки мелькающим светом и заборе дискретных проб перфузата, было обнаружено, что меченый ацетилхолин (синтезированный из меченого холина) выделяется физически только в моменты включения и выключения света (Masland, Mills, 1979). Причем, дистальная популяция ацетилхолинэргических амакриновых клеток выделяет медиатор на выключение света, а проксимальная (тела этих амакриновых клеток смещены в слой тел ганглиозных клеток) – на включение. Это было доказано автордиографически: при выключении оп-канала на уровне синапсов НСС (при аппликации APB) и истощении метки мелькающим светом в off-канале. Метка оставалась только в неработающих амакринах проксимальной оп-порции (Masland, Livingstone, 1976).

Тонкую морфологию ацетилхолинэргических амакриновых клеток удалось выявить благодаря тому, что они раньше других клеток сетчатки включают в свои ядра метку флуоресцентной краски DAPI. Эта краска – витальная. После окрашивания DAPI с клеткой можно работать, можно докрасить внутриклеточно флуоресцентной краской lucifer yellow (LY). Кроме того, внутриклеточное окрашивание предварительно меченых DAPI клеток можно делать в зафиксированной параформом сетчатке, что во много раз упрощает процедуру и повышает КПД метода. Было инъецировано 1000 клеток и подробно опи-

сана их морфология (Masland et al., 1984; Tauchi et al., 1984). Клетки on- и off-попуций являются зеркальными копиями друг друга. От тела клетки отходит несколько первичных отростков, которые затем множественно ветвятся в одной плоскости и образуют округлое поле отростков, покрытых варикомами, особенно многочисленными в дистальной трети. На варикомах обнаруживаются и пре- и постсинаптические структуры, что впервые было показано электрономикроскопически (Famiglietti, 1991). В дистальной трети отростков больше пресинаптических структур, а на первичных отростках (т.е. в проксимальной порции) – больше постсинаптических. Иммунохимически отдельно выявлены ацетилтрансфераза в теле клеток и ACh в пузырьках в сети их отростков (при помощи антител на специфический белок стромы пузырьков) (Dong et al., 2004). Ацетилхолинэргические амакриновые клетки получают входные сигналы от биполяров и передают сигналы на ганглиозные клетки. Известен и белок-рецептор глутамата этих клеток, встроенный в мембрану варикозов (Dong et al., 2004). У всех исследованных к настоящему времени животных (кролик, мышь, черепаха, тупайя, человек, рыба) ацетилхолинэргические амакриновые клетки имеют сходную морфологию (starburst) и расположение в сетчатке.

Для звездчатой (starburst) ацетилхолинэргической амакриновой клетки нет в традиционном смысле деления отростков на дендрит как приемную антенну и аксон, передающий сигнал клетки к следующему нейрону. Более того, было сначала предположено и рассчитано математически, исходя из морфологических и электрических свойств мембраны дендрита (Tauchi, Masland, 1984), а недавно прямо показано с помощью кальцийчувствительных красок, что разные ветви отростков звездчатых амакриновых клеток электрически независимы (Euler et al., 2002). Ацетилхолинэргические амакриновые клетки во взрослой сетчатке не генерируют импульсов. Такая клетка не является физиологической единицей, а каждый отросток, а может быть, каждый варикоз, работают независимо. Очень сильно перекрытие отростков от соседних ацетилхолинэргических клеток: в зависимости от эксцентриситета на сетчатке в каждой точке спланиваются варикозы от 20–70 starburst клеток (Masland, 1986). В конгломераты этих варикозов встраиваются и пресинаптические окончания биполяров и пре- и постсинаптические структуры амакринов другого медиаторного химизма и дендриты ганглиозных клеток (рис. 1, Б, б). В системе контактов такой степени сложности при синапсах открытого типа (conventionnal) медиаторная специфичность не бесполезна.

Продемонстрирован тесный морфологический контакт (костратификация и кофасцикуляция) отростков дендритов дирекционально избирательных ганглиозных клеток и сети отростков ацетилхолинэргических амакринов, что говорит о том, что именно этот тип амакриновых клеток принимает участие в организации свойств дирекционально избирательных ганглиозных клеток (Yoshida et al., 2001), что подтверждается и биохимически (Kittila, Massey, 1997). Иммунотоксическое удаление из сетчатки мыши ацетилхолинэргических амакринов приводит к исчезновению дирекциональной избирательности ганглиозных клеток и к исчезновению оптокинетического нистагма в поведении (Dong et al., 2004).

Ацетилхолинэргические амакриновые клетки рано появляются в эмбриогенезе и являются организуемым архитектурным элементом сетчатки, наряду с мюллеровскими глиальными клетками (Galli-Resta, 2000). В развивающейся сетчатке (до формирования наружных сегментов рецепторов и появления светочувствительности) ацетилхолинэргические амакриновые клетки, возможно, служат источником волн эндогенного возбуждения и координированной импульсной активности ганглиозных клеток, необходимой для образования их правильных синаптических связей с нейронами колленчатых тел (Zhou, 1998).

Серотонинаккумулялирующие амакриновые клетки были визуализированы автордиографически и иммунохимически (Vaneu, 1986). Было показано, однако, что работают эти клетки при помощи GABA. Эти амакриновые клетки получают входные сигналы от биполяров и передают свои тормозные сигналы на те же биполяры, образуя на них реципрокные синапсы, причем их варикозы находятся над теми местами постсинаптической мембраны биполяра, где выявляется рецептор GABA, что доказывает их синаптическое взаимодействие именно при помощи GABA. Показано, что эти реципрокные синапсы преобразуют тонический сигнал биполяра в фазический. Есть две популяции серотонинаккумулялирующих амакриновых клеток – с малыми и большими дендритными полями. Синаптология этих клеток идентична (Zhang et al., 2002). Работает ли серотонин как медиатор – не известно.

Дофаминэргические амакриновые клетки. В конце 60-х годов методом вызванной флуоресценции, индицирующим присутствие в клетках разных катехоламинов, были обнаружены в сетчатке карпа крупные редкие, светящиеся зеленые (при освещении 430 нм) клетки. Они расположены на границе ВЯС и ВСС с отростками, ветвящимися в 1-й страте ВСС и одним восходящим в НСС, где он разветвляется на тончайшие веточки, оплетающие тела горизонтальных клеток (Ehinger et al., 1969; Dowling, Ehinger, 1978). Это – интерплексиформные клетки, устанавливающие связь между двумя синаптическими слоями сетчатки (рис. 1, А, В). Они, по-видимому, получают

входные сигналы на уровне ВСС и передают свои выходные сигналы центробежно на уровне НСС и горизонтальных клеток. Позднее было уточнено, что восходящий в НСС отросток развивается у этих клеток только в сетчатках рыб с преобладанием колбочек. У тех видов рыб, в сетчатке которых преобладают палочки (глубоководные, ночные), дофаминэргические клетки лишены восходящего отростка, т.е. являются амакриновыми (Frohlich et al., 1995)

У млекопитающих дофаминэргические клетки похожи по форме, размеру и положению в сетчатке на дофаминэргические клетки рыб, но без восходящего в НСС отростка, т.е. являются амакриновыми. Позднее было показано, что дофаминэргические амакриновые и интерплексиформные клетки генетически родственны. Дофаминэргические амакриновые клетки получают входные сигналы от амакриновых клеток другого медиаторного химизма и передают сигналы тоже на амакриновые клетки, т.е. являются интерамакриновыми (Kolb et al., 1990). Уникальная структура одиночной дофаминэргической амакриновой клетки в сетчатке кошки выявлена внутриклеточным введением люцифера желтого (LY) и пероксидазы хрена (HRP) (Dacey, 1990). От тела клетки отходят от трех до пяти первичных дендритоподобных отростков, покрытых шипиками. Через несколько десятков микрон отростки резко сужаются (как горлышко бутылки) и продолжают в виде прямых тонких аксоноподобных отростков с бутонами (*butons en passant*) на расстоянии до сотен микрон. Часто от одного дендрита отходят 2–3 аксона. Первичные дендритоподобные отростки выявляются при внутриклеточном окрашивании LY. В тонкие аксоноподобные продолжения отростков LY не проникает. Но туда проходят более мелкие молекулы HRP. Таким образом, оказывается, что одна дофаминэргическая клетка имеет несколько дендритов и несколько аксонов. Возможно, эти клетки генерируют импульсы. У кошки одна дофаминэргическая амакриновая клетка обслуживает половину сетчатки. Сходное строение и расположение имеют дофаминэргические амакриновые клетки в сетчатках лягушки, геккона (Максимова, Утина, 1990).

Дофамин запасается в клетке в пузырьках с оптически плотным ядром (*dense core vesicle*), что отличает цитоплазму этих клеток от других клеток в электронном микроскопе. ДА амакринов в сетчатке мало – 1.5% от общего количества амакриновых клеток. На сетчатке кролика и опоссума отмечена положительная корреляция плотности дофаминэргических амакриновых клеток и палочек. Поля отростков дофаминэргических амакринов перекрываются. На плоских препаратах сетчатки бросается в глаза характерное ячеистое строение сети их отростков. Позже было показа-

но, что в этих ячейках – “кольцах” (*ring*), образованных переплетающимися аксонами разных ДА клеток, расположены тела амакриновых клеток иного медиаторного химизма, а именно глицинэргических (Casini et al., 1995).

Дофаминэргические амакриновые (или родственные им генетически интерплексиформные у низших животных) клетки являются единственным источником дофамина в сетчатке. Дофамин участвует в перестройке сетчатки из состояния темновой адаптации в состояние световой адаптации (Li, Dowling, 2000; Ribelayga et al., 2002).

В сетчатке рыб и млекопитающих дофамин разобщает синцитий горизонтальных клеток (Xin, Bloomfield, 1999). Он также регулирует процесс образования спинул (пальцеобразных выростов) отростков горизонтальных клеток в триадном инвагинирующем синапсе (Dowling, Djamgos, 1989). В сетчатке млекопитающих дофамин, выделяемый амакриновыми клетками, разобщает также синцитии во ВСС (Kolb, 1979; Kolb et al., 1991; Xiao-Bo Xia, Mills, 2004), о чем подробнее будет рассказано далее. У генетически модифицированных животных, у которых отсутствовали дофаминэргические клетки в сетчатке, не происходило перестройки сетчатки из состояния темновой адаптации к световой адаптации (Li, Dowling, 2000).

Глицинэргические амакриновые (Gly) клетки были обнаружены в процессе изучения дофаминэргических клеток. Именно их тела расположены внутри “колец” сети дофаминэргических аксонов. Они были окрашены внутриклеточно LY, биотинилированными красителями и иммунохимически (Vanev et al., 1998). Морфология глицинэргических амакриновых клеток тоже уникальна. Тела лежат на границе ВЯС и ВСС. Это клетки бистратифицированные. Непосредственно под телами в первой страте ВСС расположены отростки с лобулярными аппендажами. От тела в проксимальную часть ВСС отходит один отросток, где он разветвляется на тонкие арбореальные отростки. Между арбореальными отростками отдельных глицинэргических клеток существуют электрические щелевые контакты (*gap junctions*). Таким образом, глицинэргические амакриновые клетки образуют гомогенный синцитий. Кроме того, щелевыми контактами они связаны и с деполяризационными колбочковыми биполярными, т.е. образуют еще и гетерогенный синцитий. Наличие этих двух синцитиев было показано сначала электрономикроскопически (Kolb et al., 1991), а затем продемонстрировано прямым прокрашиванием биотинилированными красителями (Vanev et al., 1998). Синцитий максимален, т.е. насчитывает несколько сот клеток в мезопическом диапазоне освещения, а в полной темноте и на ярком свете количество электрически свя-

занных клеток уменьшается до нескольких десятков (Bloomfield, Dacheux, 2001). В сетчатке кролика глицинэргических клеток примерно столько же, сколько ганглиозных клеток (Masland, 1986).

Имеют свое “лицо” и *пептиэргические амакрины*. Это, как правило, немногочисленные клетки с большими дендритными ветвлениями (Manshak, 1989). Некоторые, например, Y-пептиэргические полистратифицированы.

Исключением из правила морфомедиаторного единства являются *ГАМКэргические амакриновые клетки*. Так, у кролика, сетчатка которого является классическим объектом исследования, насчитывается до восьми разных морфологических типов ГАМКэргических амакриновых клеток. ГАМК во всех стратах ВСС выполняет, вероятно, одну и ту же функцию – превращает тонический сигнал биполяров в фазический, обслуживая биполяры, оканчивающиеся в разных стратах ВСС. Таким образом, ГАМКэргические амакриновые клетки вынужденно имеют разную морфологию (Marc, 2003).

Если ацетилхолинэргических, дофаминэргических клеток в сетчатке мало (единицы процентов от общего числа амакриновых клеток), то ГАМК находится в 80% клеток внутреннего ядерного слоя (Strettoi, Masland, 1996). В ГАМКэргических нейронах обнаруживается и другой (другие) нейромедиаторы. (Согласно принципу Дейла, в нервной клетке может содержаться только один медиатор. Увеличение количества исследованных нейронов в нервной системе, в частности, в сетчатке, и совершенствование методов идентификации нейромедиаторов показывает, что это далеко не так.)

Выше были описаны серотонинаккумулирующие клетки, работающие при помощи ГАМК. Обнаружена ГАМК и в звездчатых ацетилхолинэргических (starburst) (Brecha et al., 1988; O'Malley et al., 1992), и в дофаминэргических (Contini, Raviola, 2003), и в пептиэргических амакриновых клетках (Marc, 2003; Vaneu, 1990). Можно предположить, что при наличии в дифференцирующейся клетке помимо ГАМК и других медиаторов (серотонина, ацетилхолина, дофамина, пептидов), не ГАМК, а сопутствующие медиаторы определяют установление синаптических связей с партнерами, формируя тем самым и черты морфологии клетки. В дальнейшем, во взрослой сетчатке, клетка использует в качестве медиатора либо только ГАМК, либо оба медиатора. Показано, например, что звездчатые амакриновые клетки при возбуждении выделяют ацетилхолин кальцийзависимым пузырьковым способом, а ГАМК – кальцийнезависимым при помощи внутриклеточного транспортера (Brecha et al., 1988). Другой пример – дофаминэргические амакрины, где, возможно, дофамин выделяется экзоцитозом по всей

поверхности нейрона и, диффундируя, связывается с метаботропными отдаленными рецепторами арбореальных отростков глицинэргических амакринов, тогда как ГАМК выделяется из их пресинаптических окончаний и действует на йонотропные рецепторы, кластеризованные в постсинаптической активной зоне глицинэргических амакринов (Contini, Raviola, 2003).

Итак, функциональное взаимодействие нейронов внутреннего ядерного слоя сетчатки обеспечивается определенными морфологическими связями (wiring), устанавливающимися в процессе синаптогенеза (Xu, Tian, 2004), и медиаторной комплементарностью этих нейронов. ГАМК, глицин и глутамат – количественно – основные нейромедиаторы сетчатки (Kalloniatis et al., 1996).

ПУТЬ ПАЛОЧКОВОГО СИГНАЛА В СЕТЧАТКЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

В сетчатках млекопитающих, содержащих большое количество палочек, озадачивало отсутствие прямых синаптических контактов палочковых биполяров с дендритами ганглиозных клеток. Тем не менее в реакции ганглиозных клеток активность палочек проявляется. Так, при переходе от дневного зрения к сумеречному, в состоянии темновой адаптации чувствительность ганглиозных клеток (и животного в целом) обеспечивается целиком палочками. Это так называемый сдвиг Пуркинье. Удивляло и то обстоятельство, что в сетчатках с преобладанием палочек, наряду с палочковыми биполярами, очень много колбочковых биполяров. В результате электронно-микроскопических исследований (Kolb, 1979) выяснилось, что колбочковые биполяры принимают участие в передаче палочкового сигнала на ганглиозные клетки, будучи связаны с палочковыми биполярами через интернейроны – глицинэргические амакриновые клетки (рис. 2) (Voelgyi et al., 2004).

Глицинэргические амакриновые клетки в условиях малой освещенности связаны между собой в электрический синцитий. Кроме того, электрическими контактами они связаны и с деполяризационными колбочковыми биполярами – опколбочковыми биполярами. С колбочковыми off-биполярами (гиперполяризационными) они связаны химическими синапсами. Таким образом, каждая глицинэргическая амакриновая клетка, получив сигнал от палочкового биполяра, передает его и на on- и на off-колбочковые биполяры. Иначе говоря, глицинэргические амакриновые клетки собирают сигналы палочковых биполяров и передают их на ганглиозные клетки через колбочковые биполяры по on- и off- каналам (Veruki, Hartveit, 2002; Masland, 1986).

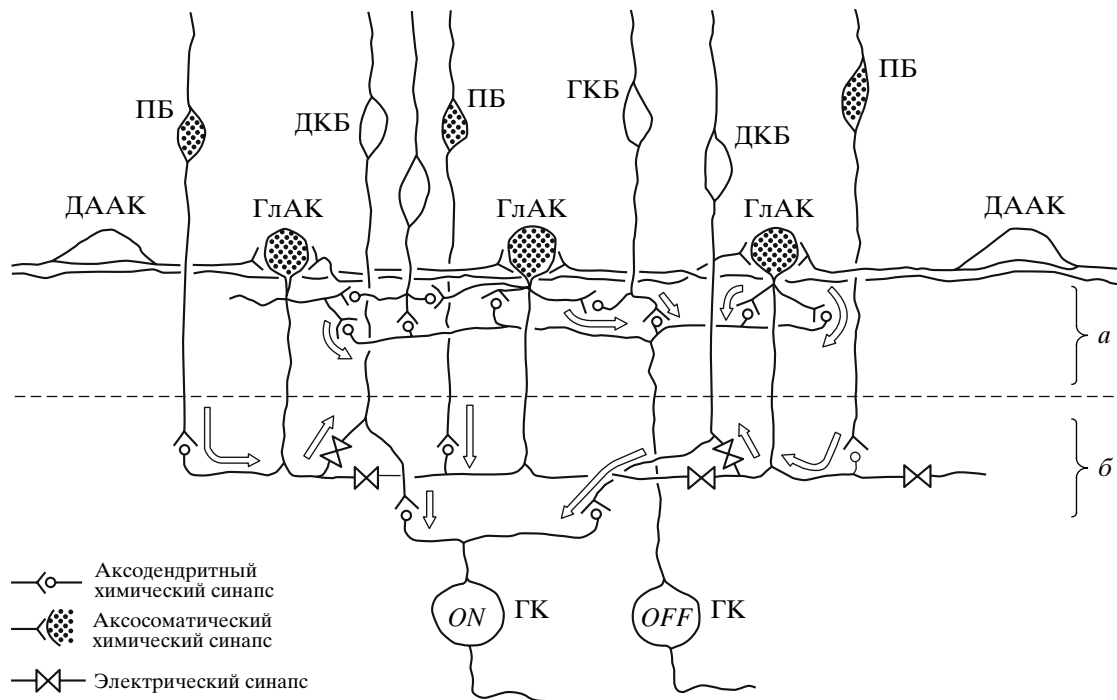


Рис. 2. Схема пути палочкового сигнала в сетчатке млекопитающего. ПБ – палочковый оп-биполяр, ДКБ – деполаризационный оп-колбочковый биполяр, ГКБ – гиперполяризационный off-колбочковый биполяр, ГЛАК – глицинэргическая амакриновая клетка, ДААК – дофаминэргическая амакриновая клетка; *a* – off-подпластина ВСС, *b* – on-подпластина ВСС, ГК – on- и off-ганглиозные клетки. Стрелками обозначены пути распространения палочкового сигнала.

Перестройка нервной сетчатки из состояния темновой адаптации к световой адаптации состоит в том, что синцитий глицинэргических амакринов разобщается дофамином, выделяемым дофаминэргическими амакриновыми клетками (Hampson, E. C. et al., 1992). Эти амакрины являются пресинаптическими по отношению к глицинэргическим амакринам. Одна дофаминэргическая амакриновая клетка в сетчатке кошки контактирует с 1800 глицинэргическими амакриновыми клетками. Вокруг тела глицинэргической клетки располагаются несколько десятков аксональных бутонов от разных дофаминэргических клеток (Dacey, 1990). При освещении в синапсах (бутонах) “рингов” вокруг тел глицинэргических клеток выделяется дофамин, который разобщает электрические контакты между арборальными отростками глицинэргических клеток и между колбочковыми оп-биполярами, “выстригая” вставочные нейроны из цепи проведения палочкового сигнала. В состоянии световой адаптации палочки оказываются “отрезанными” от выходных нейронов сетчатки – ганглиозных клеток. Можно представить, что процесс разобщения синцития пороговый. Для срабатывания механизма разобщения синцития вокруг тела глицинэргической клетки должен “зажечься” весь ринг, образованный пересекающимися аксонами многих дофаминэргических амакринов. Следовательно, должны сработать

многие дофаминэргические амакрины, а тогда “зажжется” много рингов, и разобьются синцитий глицинэргических амакринов по всей сетчатке. Разобщается не только гомогенный синцитий глицинэргических амакринов, но и гетерогенный синцитий этих клеток и колбочковых оп-биполяров. (Однако есть данные, что гетерогенный синцитий разобщается не только и не столько дофамином, сколько NO (Vaney, 1990; Mills, Massey, 2002).)

В этом случае мы видим полевое взаимодействие сети глицинэргических и дофаминэргических амакриновых клеток, в отличие от точечного взаимодействия в конгломератах варикозов сети ацетилхолинэргических амакринов. Взаимосвязь глутаматэргических биполяров и глицинэргических, ГАМКэргических и дофаминэргических амакриновых клеток наглядно продемонстрирована в конфокальном микроскопе иммунохимически с применением разных люминофоров для антител на эти разные медиаторы (Zhang et al., 2002; Contini, Raviola, 2003).

В сетчатках домлекопитающих (амфибий, рептилий) палочковые биполяры напрямую связаны с ганглиозными клетками. Как формировался путь палочкового сигнала в сетчатке млекопитающих в процессе эволюции можно представить следующим образом. Первые млекопитающие были мелкими, покрытыми шерстью, теплокровными

животными. Благодаря теплокровности они могли быть активны при понижении температуры после захода солнца, и, таким образом, избежать пищевой конкуренции и хищников – холоднокровных рептилий, строго дневных животных. Млекопитающие заняли свободную экологическую нишу. В результате для активности в сумерки и ночью им потребовалось повышение абсолютной световой чувствительности. Сократилось количество колбочек. Колбочковые биполяры остались “безработными”. Возникли многочисленные палочки – рецепторы с высокой абсолютной чувствительностью, которые использовали уже имевшийся нервный аппарат колбочковых биполяров для передачи своего сигнала с палочковых биполяров на ганглиозные клетки, подключившись к колбочковым биполярам через вставочный нейрон – глицинэргические амакриновые клетки. Таким образом, при низкой освещенности, когда колбочки не работают, и канал передачи – колбочковые биполяры – свободен, он стал использоваться для передачи палочкового сигнала.

О РОЛИ МЕДИАТОРОВ НА РАННЕЙ СТАДИИ РАЗВИТИЯ СЕТЧАТКИ

Специфические связи нейронов сетчатки (wiring) складываются в процессе синаптогенеза, и нейромедиаторы играют здесь определенную роль (Xu, Tian, 2004). В эмбриогенезе сначала идет миграция недифференцированных клеток в сетчатку из эпителиального слоя желудочков мозга. Под влиянием генетических и экзогенных факторов клетки в определенные сроки распределяются по слоям. Мюллеровские клетки – радиальная глия – играют определяющую роль в этом процессе. Ацетилхолинэргические амакрины рано появляются в сетчатке в эмбриогенезе и выстраиваются по границам ВСС (Stacy, Wong, 2003). Дифференциация клеток сетчатки и их специализация начинается с ганглиозных клеток, затем начинают дифференцироваться колбочки (но не их наружные сегменты), за ними следуют горизонтальные и амакриновые клетки; последними созревают биполяры и наружные сегменты колбочек и палочек. В процессе дифференциации и синаптогенеза определяющими становятся эндогенные факторы. У клеток начинается спрутинг аксонов. Аксоны “шарят” колбой роста в поисках партнера. При установлении механического контакта из аксонального окончания выделяется медиатор, и, в случае соответствия ему белка-рецептора на постсинаптическом нейроне, начинается формирование синапса. Дендриты клеток в свою очередь все время образуют новые “параподии” и тем самым увеличивают вероятность установления контакта с ищущим аксоном (Wong et al.,

2000). Клетки, в определенные сроки не образовавшие синаптических контактов с партнерами, отмирают (апоптоз).

Долгое время считалось, что у млекопитающих развитие зрительного анализатора к рождению практически заканчивается. Если для установления правильных связей в центральных отделах еще необходим зрительный опыт (Хьюбел, 1990), то сетчатка сформирована окончательно. В сетчатке человека к пятому месяцу внутриутробного развития нервные связи уже установлены, а на седьмом месяце формируются наружные сегменты рецепторов и появляется световая чувствительность. В последние годы на сетчатках разных млекопитающих (хомячок, мышь, свинья, хорек, кролик, кошка) показано, что к моменту прорезания глаз все типы нейронов действительно уже существуют, и основные синаптические связи установлены. Однако уточнение синаптических связей во ВСС продолжается после рождения и даже после прорезания глаз еще в течение нескольких недель. Морфологически идентифицируемые обычные (conventional) синапсы во ВСС между амакриновыми клетками и между амакриновыми и ганглиозными появляются в первую очередь. Затем появляются синапсы между рецепторами и горизонтальными клетками в НСС. Последними клеточными элементами, устанавливающими синаптические связи, являются биполяры. Биполяры встраиваются между уже сформированными комплексами НСС и ВСС слоев. Во взрослой сетчатке вертикальный главный путь возбуждения – фоторецептор – биполяр – ганглиозная клетка, замыкающийся в момент прорезания глаз (или чуть раньше), обеспечен ленточными синапсами. Обычные (conventional) синапсы реализуют тормозные взаимодействия в НСС и ВСС. Все ганглиозные клетки сначала имеют дендриты, ветвящиеся диффузно во ВСС, и реагируют как на включение, так и на выключение света. И только под влиянием зрительного опыта они постепенно разделяются на on- и off-типы, что проявляется как в характере их реакции на свет, так и в морфологической стратификации их дендритов (Wingate, Thompson, 1994; Wang et al., 2001, Xu, Tian, 2004). Таким образом, для установления окончательной нормальной структуры сетчатки зрительный опыт необходим.

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕРВНЫХ СЛОЕВ СЕТЧАТКИ ПРИ ДЕГЕНЕРАЦИИ ФОТОРЕЦЕПТОРОВ

Медиаторный химизм – консервативное свойство нейрона. Нейрон в ходе индивидуального развития, а также в ходе эволюции может менять свое положение, менять мишени иннервации, но сохраняет при этом свой медиаторный химизм,

что было впервые показано на беспозвоночных животных – брюхоногих моллюсках (Сахаров, 1974). Это правило, вероятно, является общим и может быть распространено и на нейроны сетчатки мира позвоночных. Классический иммунохимический метод и основан на маркировании клеток с использованием специфических антител на единственный маркер, в частности – медиатор или один из ферментов, участвующих в его синтезе. В случае изучения дегенеративных изменений невозможно с уверенностью опираться ни на морфологические критерии, ни на единственный биохимический признак. В лаборатории Роберта Марка в Глазном центре Морана университета штата Юта была разработана общая теория биохимического фенотипирования клеток, основанная на выявлении широко распространенных множественных внутриклеточных маркеров как метриках классификации, и использованы стандартные алгоритмы распознавания образов для выделения классов объектов. Эта теория применена для классификации нейронов сетчатки по совокупности их биохимических свойств – биохимическому фенотипу (signature) (Marc et al, 1995). Используется тот факт, что каждый нейрон сетчатки обладает смесью микромолекул из 100–200 главных метаболических реактант-мономеров (аминокислот, в том числе и медиаторов, карбоксилот, нуклеиновых кислот, и т.д.). Их установившиеся соотношения различаются в известных клеточных классах. Адекватность метода была оценена на примере классификации ганглиозных клеток кролика и мыши. Количество типов ганглиозных клеток, выявленных методом биохимического фенотипирования (Marc, Jones, 2002), совпало с их количеством, определенным четырьмя независимыми способами окрашивания (Rockhill et al., 2002). Кроме того, и четыре типа амакриновых клеток – ацетилхолинэргические, глицинэргические, дофаминэргические и серотонинаккумулирующие были идентифицированы при помощи биохимического фенотипирования в тех же количественных пропорциях и с тем же пространственным распределением по сетчатке, как и другими независимыми методами (Marc, Jones, 2002). В биохимические базы данных для выявления типов клеток были включены и молекулы трэйсеров для выделения существующих в клетках ионных каналов, рецепторов и транспортеров. Паттерны нервного возбуждения в сложных популяциях нейронов сетчатки были картированы анатомически активацией йонотропных и метаболитных глутаматных рецепторов в присутствии агматина – аналога гуанидина (1-амино-4-гуанидобутана) AGB, проникающего в открытые катионные каналы (Marc 1999). По размеру молекулы AGB схож с гидратированным ионом Na, но проникая в клетку через открытые каналы, он не откачивается натриевым насосом и накапливается в клетке. На

изолированной сетчатке кролика и глутамат и агонисты йонотропных рецепторов глутамата активировали проникание AGB в клетки фармакоспецифически и дозозависимо. AGB и характерные сигнатуры отдельных клеток определялись иммунохимически на серийных тонких срезах с помощью соответствующих антител к AGB и антител на аминокислоты (Marc, 1999; Marc, Jones, 2002). Результаты фенотипической многомерной классификации нейронов сетчатки, спроецированные на морфологическую картину тонких срезов, наглядно представляются (раскрашиваются) в псевдоцветах трехмерного цветового пространства человека, и различные типы клеток выглядят разноцветными (Marc, Jones, 2002).

Вопреки бытовавшим представлениям о стабильности строения взрослой сетчатки, этим методом были обнаружены драматические изменения в нервных слоях сетчатки при атрофии фоторецепторов и прослежена динамика этих изменений (Marc, Jones, 2002; Marc et al., 2003). Оказалось, что при дегенерации фоторецепторов нервные слои сетчатки вовсе не остаются неизменными. Наоборот, во взрослой нервной сетчатке начинается активный процесс перестройки (remodeling), отражающий пластичность взрослой сетчатки, и воспроизводящий процессы, происходящие в сетчатке в норме только в эмбриогенезе. В патогенезе эти процессы не ограничены временными стадиями, что и приводит к нежелательным последствиям, противоречащим стратегии протезирования.

Перестройку в нервных слоях сетчатки авторы разделили на четыре этапа.

Первый этап. Первичное рецепторное поражение – утрата наружных сегментов палочек. В течение начального стресса рецепторов и утраты наружного сегмента у палочек образуются новые нейриты (спрутинг), которые достигают внутренних слоев сетчатки, иногда слоя ганглиозных клеток. Во внутренних сегментах и нейритах фоторецепторов обнаруживается родопсин, в норме находящийся только в мембранах дисков наружных сегментов. Палочковые биполяры, не получая входного сигнала от палочек, втягивают свои дендриты, а затем прорастают в ножки колбочек. После отмирания наружных сегментов палочек отмирают и наружные сегменты колбочек.

Второй этап. После утраты наружных сегментов рецепторов (и палочек и колбочек) начинается спрутинг их нейритов во внутренние слои сетчатки. Палочковые и колбочковые биполяры втягивают свои дендриты, аксоны горизонтальных клеток, ранее связанные с палочками, резорбируются, а тела горизонтальных клеток и отростки, изначально связанные с колбочками, гипертрофируются и прорастают во ВСС. Все биполяры и горизонтальные клетки на этом этапе представляются видоизмененными. Часть би-

полюров отмирает (что не может быть количественно оценено рутинными гистологическими методами). Отмирают целиком палочки. За смертью многих палочек (апоптоз) следует смерть колбочек. Возможно, к смерти колбочек приводит отсутствие нормальной афферентной нагрузки на колбочковые биполяры: после отмирания палочек путь палочкового сигнала через палочковые биполяры и глицинэргические амакрины на колбочковые биполяры оказывается незадействованным (рис. 2). Не стимулируется сеть амакринов и колбочковых биполяров. Принято считать, что для окончательного созревания сетчатки млекопитающих (в нормальном морфогенезе) активация палочкового пути необходима (Vanin, 1999). Утрата колбочек провоцирует следующую фазу активной перестройки.

Третий этап. Нейроны сетчатки, лишившись афферентного возбуждающего сигнала от фоторецепторов, в большинстве своем умирают (апоптоз), но оставшиеся в живых ищут источники возбуждающих сигналов, т.е. глутамат и йоны кальция. Начинается спрутинг их нейритов. Биполяры и амакриновые клетки мигрируют вдоль тел мюллеровских клеток к наружной и внутренней пограничным мембранам. Их отростки собираются в отдельные пучки, устанавливают синаптические контакты, согласно медиаторной комплементарности. Отростки выживших биполяров, амакриновых и ганглиозных клеток образуют небольшие сообщества – микронейромы. Сетчатка утрачивает регулярное послойное строение. На радиальном срезе сетчатки мыши у наружной и внутренней пограничных мембран насчитано более 12 тыс. микронейром (Jones, Marc, 2005). В микронейромах обнаруживаются нормальные синапсы, и ленточные и обычные, все нейроны сохраняют свои основные (базовые) молекулярные фенотипические свойства. Таким образом, реорганизованная сетчатка не может обеспечить нормальный зрительный процесс. Электрофизиологические реакции внутри микронейром зарегистрировать невозможно. Но, зная нормальные электрические реакции образующих микронейрому клеток, и, исходя из морфологической картины их вновь образованных синаптических связей, можно промоделировать электрическую активность ганглиозных клеток микронейромы на выходе. Как показывает моделирование, там возникают ритмические резонансные колебания. (Может быть именно с этим связано ощущение внезапных “вспышек света” у ослепших больных на поздней стадии макулярной дистрофии или пигментного ретинита.)

Четвертый этап. На последней стадии перестройки мюллеровские клетки гипертрофируются и образуют в субретинальном пространстве плотный фиброзный листок, лишая сетчатку доступа к хороиду. В результате нарушаются об-

менные процессы в сетчатке. Лишенные кислорода и питательных веществ нейроны умирают, наступает полное глиальное перерождение сетчатки.

Итак, убедительно показано, что структура взрослой сетчатки, долгое время считавшаяся жесткой неизменной конструкцией, раз и навсегда “спаянной” в процессе эмбриогенеза, на самом деле лабильна. В норме это постоянство поддерживается афферентными сигналами фоторецепторов и слаженной работой всех нервных элементов. При дегенерации фоторецепторов и устранении нормального афферентного притока нервные слои взрослой сетчатки не остаются неизменными. Наступает перестройка, отражающая пластичность сетчатки как части ЦНС. Поскольку нейроны внутренней нервной сетчатки не знают, что они зрительные, они пытаются найти утраченные (любые) источники возбуждающих глутаматэргических сигналов. В результате они замыкаются согласно медиаторно-рецепторной комплементарности в микронейромы.

Очевидно, что обнаруженная перестройка нервных слоев сетчатки в беспорядочное скопление самовозбуждающихся многочисленных микронейром, неспособных поддерживать нормальный процесс обработки и передачи зрительных сигналов, препятствует стратегиям восстановления зрения как электронными, так и клеточными протезами. В то же время, поскольку переживающие нейроны сохраняют свои основные биохимические фенотипы, принципиальная возможность протезирования в будущем не представляется невозможной. Обнадёживают и сообщения о результатах имплантации стволовых клеток на ранних стадиях рецепторной дегенерации на мелких животных. Показано, что большой процент трансплантата стволовых клеток человека в глазу мыши и цыпленка превращаются в фоторецепторы (Coles et al, 2004). По-видимому, очень важно захватить заболевание на первой стадии перестройки, чтобы вновь образованные рецепторы успели восстановить контакты с еще не разбредшимися нейронами внутренней сетчатки, т.е. приостановить процесс перестройки. Если бы удалось заставить нейроны сохранять неизменное положение в слоях сетчатки и старые нормальные синаптические связи, протезирование, особенно клеточными трансплантатами, возможно, принесло бы желаемые результаты, и многочисленные трудности на пути протезирования, хирургические, иммунологические, технические, преодолеваемые современными исследователями, оказались бы оправданы (Strettoi, 2004). Пока единственным способом помощи больным может считаться поддерживающая терапия, на ранних стадиях, замедляющая ход заболевания при условии правильной ранней генетической и клинической диагностики (Javaheri et al., 2006). Кли-

нисты рекомендуют людям, знающим, что в их семьях (у предков) были глазные болезни, обращаться в центры изучения зрения для ранней диагностики возможных врожденных генетических патологий сетчатки. Только совместные усилия фундаментальной науки, клиники, хирургии, инженерии и активного отношения людей к проблеме зрительных патологий могут привести к желаемым результатам.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Зенкин Г.М., Пигарев И.Н. Детекторные свойства ганглиозных клеток сетчатки щуки // Биофизика. Т. 14. С. 763–772.
- Зуева М.В., Цапенко И.В. Структурно-функциональная организация клеток Мюллера: роль в развитии и патологии сетчатки. Обзор // Клиническая физиология зрения / Под ред. А.М. Шамшиновой М.: МБН, 2006. С. 128–191.
- Максимова Е.М. Влияние внутриклеточной поляризации горизонтальных клеток на активность ганглиозных клеток сетчатки рыб // Биофизика. 1969. Т. 14. С. 537–544.
- Максимова Е.М. Комментарий к статье Д.А. Сахарова // Журн. Эвол. Биохим. Физиол. 1990. Т. 26. С. 748–750.
- Максимова Е.М., Левичкина Е.В., Утина И.А. Морфология предполагаемых дирекционно-избирательных ганглиозных клеток, трассированных DII в сетчатке карася // Сенсорные системы. 2006. Т. 20. № 4. С. 279–287.
- Максимова Е.М., Максимов В.В. Роль горизонтальных клеток в организации концентрических рецептивных полей ганглиозных клеток в сетчатке рыб // Тр. Межд. Симп. Переработка зрительной информации и регуляция двигательной активности. Болгарская АН, 1969. С. 31–39.
- Максимова Е.М., Максимов В.В. Детекторы ориентированных линий в зрительной системе карася *Carassius Carassius* // Журн. эвол. биохим. физиол. 1981. Т. 17. № 5. С. 519–525.
- Максимова Е.М., Орлов О.Ю., Диментман А.М. Исследование зрительной системы нескольких видов морских рыб // Вопросы ихтиологии. 1971. Т. 11. С. 892–899.
- Максимова Е.М., Утина И.А. Допаминсодержащие клетки в сетчатке каспийского геккона // Сенсорные системы. 1990. Т. 4. № 1. С. 21–24.
- Сахаров Д.А. Генеалогия нейронов. М.: Наука, 1974.
- Сахаров Д.А. Множественность нейротрансмиттеров: функциональное значение // Журн. эвол. биохим. физиол. 1990. Т. 26. № 5. С. 733–740.
- Хухо Ф. Нейрохимия. Основы и принципы. М.: Мир, 1990.
- Хьюбел Д. Глаз, мозг, зрение. М.: Мир, 1990.
- Ali R.R., Reichel M.B., Hunt D.M., Bhattacharya S.S. Gene therapy for inherited retinal degeneration // British. Ophthalmol. 1997. V. 81. P. 795–801.
- Allikmets R., Shroyer N.F., Singh N., Seddon J.M., Lewis R.A., Bernstein P.S., Peiffer A., Zabriskie N.A., Li Y., Hutchinson A., Dean M., Lupski J.R., Leppert M. Mutation of the Stargardt disease gene (ABCR) in age-related macular degeneration // Science. 1997. V. 277. P. 1805–1807.
- Allikmets R., Singh N., Sun H., Shroyer N.F., Hutchinson A., Chidambaram A., Gerrard B., Baird L., Stauffer D., Peiffer A., Rattner A., Smallwood P., Li Y., Anderson K.L., Lewis R.A., Nathans J., Leppert M., Dean M., Lupski J.R. A photoreceptor cell-specific atp-binding transporter gene (ABCR) is mutated in recessive Stargardt macular dystrophy // Nature Genetics. 1997. V. 15. P. 236–246.
- Alteheld N., Roessler G., Vobig M., Walter P. The retina implant-new approach to a visual prosthesis // Review. Biomed Tech (Berl). 2004. V. 49. P. 99–103.
- Anderson D.H., Fisher S.K., Steinberg R.H. Mammalian cones: disc shedding, phagocytosis, and renewal // Invest. Ophthalmol. Visual Sci. 1978. V. 17. P. 117–134.
- Banin E., Cideciyan A.V., Aleman T.S., Petters R.M., Wong F., Milam A.H., Jacobson S.G. Retinal rod photoreceptor-specific gene mutation perturbs cone pathway development // Neuron. 1999. V. 23. P. 549–557.
- Bloomfield S.A., Dacheux R.F. Rod vision: passways and processing in mammalian retina // Progr. Retinal Eye Research. 2001. V. 20. P. 351–384.
- Boahen K. Neuromorphic microchips // Scientific Amer. 2005. V. 292. № 5. P. 56–63.
- Brecha N., Johnson D., Peichl L. et al. Cholinergic amacrine cells of the rabbit retina contain glutamate decarboxylase and γ -aminobutyrate immunoreactivity (neurotransmitter colocalization/acetylcholine/choline acetyltransferase) // Neurobiol. 1988. V. 85. P. 6187–6191.
- Cajal R.S. The structure of the retina. Springfield, IL: Thomas, 1972.
- Casini G., Rickman D.W., Brecha N.C. All amacrine cell population in the rabbit retina identified by parvalbumin immunoreactivity // J. Comp. Neurol. 1995. V. 356. P. 132–142.
- Chow A.Y., Chow V.Y., Packo K.H., Pollack J.S., Peyton G.A., Schuchard R. The artificial silicon retina microchip for the treatment of vision loss from retinitis pigmentosa // Arch. Ophthalmol. 2004. V. 122. P. 460–469.
- Coles B.L.K., Angenieux B., Inoue Tomoyuki, Del Rio-Tsonis K., Spence J.R. McInnes R.R., Arsenijevic Y., Derek van der Kooy. Facile isolation and the characterization of human retinal stem cells // PNAS. 2004. V. 101. P. 15772–15777.
- Contini M., Raviola E. GABAergic synapses made by a retinal dopaminergic neuron // PNAS. 2003. V. 100. P. 1358–1363.
- Cook J.E., Chalupa L.M. Retinal mosaics: new insights into an old concept // Trends Neurosci 2000. V. 23. P. 26–34.
- Dacey D.M. The dopaminergic amacrine cell // J. Comp. Neurol. 1990. V. 301. P. 461–489.
- Delyfer M.-N., Leveillard T., Mohand-Said S., Hicks D., Picaud S., Sahel J.-A. Inherited retinal degenerations: therapeutic prospects. Review // Biol. Cell. 2004. V. 96. P. 261–269.
- Dong W., Sun W., Zhang Y., Chen X., He S. Dendritic relationship between starburst amacrine cells and direction selective ganglion cells in the rabbit retina // J. Physiol. 2004. V. 556. P. 111–117.

- Dorey C.K., Staurenghi G., Delori F.C.* Lipofuscin in aged and AMD eyes // *Retinal degeneration* / Ed. J.G. Hollyfield. New York: Plenum Press. 1993. P. 3–14.
- Dowling J.E., Ehinger B.* The interplexiform cell system. I. Synapses of the dopaminergic neurones of the goldfish retina // *Proceed. Royal Society*. 1978. B 201. P. 7–26.
- Dowling J.E., Djamgoz M.B.* Quantitative analysis of cone photoreceptor-horizontal cell connectivity patterns in the retina of a cyprinid fish: electron microscopy of functionally identified and HRP-labelled horizontal cells // *J. Comp. Neurol.* 1989. V. 289. P. 537–553.
- Ehinger B., Falck B., Laties A.M.* Adrenergic neurons in teleost retina // *Z. Zellforsch.* 1969. V. 97. P. 285.
- Euler T., Detwiler P.B., Denk W.* Directionally selective calcium signals in dendrites of starburst amacrine cells // *Nature*. 2002. V. 418. P. 845–852.
- Ewert J.-P.* The neural basis of visually guided behaviour // *Sci. Amer.* 1974. V. 230. P. 34–42.
- Famiglietti E.V.Jr.* Synaptic organization of starburst amacrine cells in rabbit retina: Analysis of serial thin sections by electronmicroscopy and graphic reconstruction // *J. Comp. Neurol.* 1991. V. 309. P. 40–70.
- Famiglietti E.V.Jr., Kolb H.* Structural basis for ON- and OFF-responses in retinal ganglion cells // *Science*. 1976. V. 194. P. 193–195.
- Fisher S.K., Stone J., Rex T.S., Linberg K.A., Lewis G.P.* Experimental retinal detachment: a paradigm for understanding the effects of induced photoreceptor degeneration // *Progr. Brain Res.* 2001. V. 131. P. 679–698.
- Fisher S.K., Lewis G.P., Linberga K.A., Verardo M.R.* Cellular remodeling in mammalian retina: results from studies of experimental retinal detachment // *Progr. Ret. Eye Res.* 2005. V. 24. P. 395–431.
- Framme C., Roeder J., Sachs H.G., Brinkmann R., Gabel V.-P.* Noninvasive imaging and monitoring of retinal pigment epithelium patterns using fundus autofluorescence – Review // *Current Medical Imaging Reviews*. 2005. V. 1. P. 89–103.
- Frohlich E., Negishi K., Wagner H.J.* The occurrence of dopaminergic interplexiform cells correlates with the presence of cones in the retinae of fish // *Vis. Neurosci.* 1995. V. 12. P. 359–369.
- Galli-Resta L.* Local, possibly contact-mediated signalling, restricted to homotypic neurons controls the regular spacing of cells within the cholinergic arrays in the developing rodent retina // *Development*. 2000. V. 127. P. 1509–1516.
- Gerding H.* A new approach towards a minimal invasive retina implant // *J. Neural Eng.* 2007. V. 4. P. 30–37.
- Hampson E.C., Vaney D.I., Weiler R.* Dopaminergic modulation of gap junction permeability between amacrine cells in mammalian retina // *J. Neurosci.* 1992. V. 12. P. 4911–4922.
- Humayun M.S.* Intraocular retinal prosthesis // *Trans. Am. Ophth. Soc.* 2001. V. 99. P. 271–300.
- Javaheri M., Hahn D.-S., Lakhanpal R.R., Weiland J.D., Humayun M.S.* Retinal prostheses for the blind. // *Ann. Acad. Med. Singapore*. 2006. V. 3. P. 137–44.
- Jeon C.-J., Strettoi E., Richard H., Masland R.H.* The major cell populations of the mouse retina // *J. Neurosci.* 1998. V. 18. P. 8936–8946.
- Jones B.W., Marc R.E.* Retinal remodeling during retinal degeneration // *Exp. Eye Res.* 2005. V. 81. P. 123–137.
- Jones B.W., Watt C.B., Marc R.E.* Retinal remodelling // *Clin. Exp. Optom.* 2005. V. 88. P. 282–291.
- Kaneko A.* Responses of bipolar cells Ed. Toyoda J. // *Retinal Basis of Vision*. Elsevier Science / 1999. P. 103–114.
- Karamian A.I., Vesselkin N.P., Belekova M.G., Zagorulko T.M.* Electrophysiological characteristics of tectal and thalamo-cortical divisions of the visual system in lower vertebrates // *J. Comp. Neurol.* 1966. V. 127. P. 559–576.
- Kittila C.A., Massey S.C.* Pharmacology of directionally selective ganglion cells in the rabbit retina // *J. Neurophysiol.* 1997. V. 77. P. 675–689.
- Keats B.J., Savas S.* Genetic heterogeneity in Usher syndrome. Review // *Am. J. Med. Genet.* 2004. V. 130. P. 13–16.
- Kolb H.* The IPL in the retina of the cat: electron microscopic observations // *J. Neurocytol.* 1979. V. 8. P. 295–329.
- Kolb H.* How the retina works // *Amer. Scientist* 2003. V. 91. P. 28–35.
- Kolb H., Cuenca N., DeKorver L.* Postembedding immunocytochemistry for GABA and glycine reveals the synaptic relationships of the dopaminergic amacrine cell of the cat retina // *J. Comp. Neurol.* 1991. V. 310. P. 267–284.
- Kolb H., Cuenca N., Wang H.-H., DeKorver L.* The synaptic organization of the dopaminergic amacrine cell in the cat retina // *J. Neurocytol.* 1990. V. 19. P. 343–366.
- Kalloniatis M., Marc R.E., Murry R.F.* Amino acid signatures in the primate retina // *J. Neurosci.* 1996. V. 16. P. 6807–6829.
- Li L., Dowling J.E.* Effects of dopamine depletion on visual sensitivity of zebrafish // *J. Neurosci.* 2000. V. 20. P. 1893–1903.
- Lettwin J.Y., Maturana H.R., McCulloch W.S., et al.* What the frog's eye tells the frog's brain? // *Proc. IRE.* 1959. V. 47. P. 1940–1951.
- MacNeil M.A., Masland R.H.* Extreme diversity among amacrine cells: Implications for function // *Neuron*. 1998. V. 20. P. 971–982.
- O'Malley D.M., Sandell J.H., Masland R.H.* Co-release of acetylcholine and GABA by the starburst amacrine cells // *J. Neurosci.* 1992. 12(4). P. 1394–1408.
- Marc R.E.* The structure of vertebrate retina Ed. J. Toyoda // *The retinal Basis of Vision*. Elsevier Science / 1999. P. 3–19.
- Marc R.E.* Retinal neurotransmitters // *Vis. Neurosci.* 2003. V. 85. P. 6187–6191.
- Marc R.E., Jones B.W.* Molecular phenotyping of retinal ganglion cells // *J. Neurosci.* 2002. V. 22. P. 412–427.
- Marc R.E.* Mapping glutamatergic drive in the vertebrate retina with a channel-permeant organic cation // *J. Comp. Neurol.* 1999. V. 407. P. 47–64.
- Marc R.E., Murry R.F., Basinger S.F.* Pattern recognition of amino acid signatures in retinal neurons // *J. Neurosci.* 1995. V. 15. P. 5106–5129.
- Marc R.E., Jones B.W., Watt C.B., Strettoi E.* Neural remodeling in retinal degeneration // *Progr. Retin. Eye Res.* 2003. V. 22. P. 607–655.
- Marshak D.W.* Peptidergic neurons of the macaque monkey retina // *Neurosci. Res. (Suppl. 10)* 1989. P. 117–130.

- Masland R.H., Livingstone C.J.* Effect of stimulation with light on synthesis and release of acetylcholine by an isolated mammalian retina // *J. Neurophysiol.* 1976. V. 39. P. 1210–1219.
- Masland R.H., Mills J.W.* Autoradiographic identification of acetylcholine in the rabbit retina // *J. Cell Biol.* 1979. V. 83. P. 159–178.
- Masland R.H., Mills J.W., Hayden S.A.* Acetylcholine-synthesizing amacrine cells: identification and selective staining by using radioautography and fluorescent markers // *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 1984. V. 223. P. 79–100.
- Masland R.H.* The functional architecture of the mammalian retina // *Sci. Am.* 1986. V. 254. P. 102–111.
- Mills S.L., Stephen C., Massey S.C.* Differential properties of two gap junctional pathways made by AII amacrine cells // *Nature.* 2002. V. 377. P. 734–737.
- Naka K.-I., Witkovsky P.* Dogfish ganglion cell discharge resulting from extrinsic polarization of the horizontal cells // *J. Physiol.* 1972. V. 223. P. 449–460.
- Perrault I., Rozet J.-M., Gerber S., Ghazi I., Leowski C., Ducrocq D., Souied E., Dufier J.-L., Munnich A., Kaplan J.* Leber congenital amaurosis (minireview) // *Molec. Gen. Metabol.* 1999. V. 68. P. 200–208.
- Pressmar S., Ader M., Richard G., Schachner M., Bartsch U.* The fate of heterotopically grafted neural precursor cells in the normal and dystrophic adult mouse retina // *IOVS.* 2001. V. 42. P. 3311–3319.
- Ramamurthy V., Niemi G.A., Reh T.A., Hurley James B.* Leber congenital amaurosis linked to AIPL1: A mouse model reveals destabilization of cGMP phosphodiesterase // *PNAS.* 2004. V. 101. P. 13901.
- Ribelayga C., Yu Wang, Mangel S.C.* Dopamine mediates circadian clock regulation of rod and cone input to fish retinal horizontal cells // *J. Physiol.* 2002. V. 544. P. 801–816.
- Rockhill R.L., Daly F.J., MacNeil M.* The diversity of ganglion cells in a mammalian retina // *J. Neurosci.* 2002. V. 22. P. 3831–3843.
- Rockhill R.L., Euler T., Masland R.H.* Spatial order within but not between types of retinal neurons // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. V. 97. P. 2303–2307.
- Strettoi E., Masland R.H.* The number of unidentified amacrine cells in the mammalian retina // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. V. 93. P. 14906–14911.
- Siminoff R., Schwassmann H.O., Kruger L.* An electrophysiological study of the visual projection to the superior colliculus of the rat // *J. Comp. Neurol.* 1966. V. 127. P. 435–444.
- Simpson J.I.* The accessory optic system // *Ann Rev Neurosci.* 1984. V. 7. P. 13–41.
- Stacy R.C., Wong R.O.L.* Developmental relationship between cholinergic amacrine cell processes and ganglion cell dendrites of the mouse retina // *J. Comp. Neurol.* 2003. V. 456. P. 154–156.
- Strettoi E., Mears A.J., Swaroop A.* Recruitment of the rod pathway by cones in the absence of rods // *J. Neurosci.* 2004. V. 24. P. 7576–7582.
- Tauchi M., Masland R.H.* The shape and arrangement of the cholinergic neurons in the rabbit retina // *Proc. R. Soc. Lond. B* 1984. V. 223. P. 101–119.
- Trifonov Y.A.* Study of synaptic transmission between photoreceptor and horizontal cell using electrical stimulation of the retina // *Biofizika.* 1968. V. 13. P. 809–817.
- Vaney D.I.* Morphological identification of serotonin-accumulating neurons in the living retina // *Science.* 1986. V. 233. P. 444–446.
- Vaney D.I.* The mosaic of amacrine cells in the mammalian retina // *Prog. Ret. Res.* 1990. V. 9. P. 49–100.
- Vaney D.I.* Territorial organization of direction-selective ganglion cells in rabbit retina // *J. Neurosci.* 1994. V. 14. P. 6301–6316.
- Vaney D.I., Nelson J.C., Pow D.V.* Neurotransmitter coupling through gap junctions in the retina // *J. Neurosci.* 1998. V. 18. P. 10594–10602.
- Veruki M.L., Hartveit E.* Electrical synapses mediate signal transmission in the rod pathway of the mammalian retina // *J. Neurosci.* 2002. V. 22. P. 10558–10566.
- Voelgyi B., Deans M.R., Paul D.L., Bloomfield S.A.* Convergence and segregation of the multiple rod pathways in mammalian retina. // *J. Neurosci.* 2004. V. 24(49). P. 11182–11192.
- Wang G.-Y., Liets L.C., Chalupa L.M.* Unique functional properties of On and Off Pathways in the developing mammalian retina // *J. Neurosci.* 2001. V. 21. P. 4310–4317.
- Wässle H., Boycott B.B.* Functional architecture of the mammalian retina // *Physiol. Rev.* 1991. V. 71. P. 447–480.
- Wässle H., Peichl L., Boycott B.B.* Dendritic territories of cat retinal ganglion cells // *Nature.* 1981. V. 292. P. 344–345.
- Weng J., Mata N.L., Azarian S.M., Tzekov R.T., Birch D.G., Travis G.H.* Insights into the function of Rim protein in photoreceptors and ethiology of Stargardt's disease from the phenotype in abcr knockout mice // *Cell.* 1999. V. 98. P. 13–23.
- Wingate R., Thompson D.* Targeting and activity-related dendritic modification in mammalian retinal ganglion cells // *J. Neurosci.* 1994. V. 14. P. 6621–6637.
- Wong T., Faulkner-Jones B., Sanes J. et al.* Rapid dendritic remodeling in the developing retina: dependence on neurotransmission and reciprocal regulation by Rac and Rho genes // *J. Neurosci.* 2000. V. 20. P. 5024–5036.
- Xiao-Bo Xia, Mills S.L.* Gap junctional regulatory mechanisms in the AII amacrine cell of the rabbit retina // *Vis. Neurosci.* 2004. V. 21. P. 791–805.
- Xin D., Bloomfield S.A.* Dark- and light-induced changes in coupling between horizontal cells in mammalian retina // *J. Comp. Neurol.* 1999. V. 405. P. 75–87.
- Xu H., Tian N.* Pathway-specific maturation, visual deprivation, and development of retinal pathway // *Neuroscientist.* 2004. V. 10. P. 337–346.
- Yasuhara O., Tooyama I., Aimi Y.* Demonstration of cholinergic ganglion cells in rat Retina: expression of an alternative splice variant of choline acetyltransferase // *J. Neurosci.* 2003. V. 23. № 7. P. 2872–2881.
- Yoshida K., Watanabe D., Ishikane H.* Role of starburst amacrine cells in originating retinal directional selectivity and optokinetic eye movement // *Neuron.* 2001. V. 30. P. 771–780.

- Young R.W.* The renewal of rod and cone outer segments in the resus monkey // *J. Cell. Biol.* 1971. V. 49. P. 301–318.
- Young R.W.* The daily rhythm of shedding and degradation of rod and cone outer segment membranes in the chick retina // *Invest. Ophthalm. Visual Sci.* 1978. V. 17. P. 105.
- Zaghloul K.A., Boahen K.* A silicon retina that reproduces signals in the optic nerve // *J. Neural Eng.* 2006. V. 3. P. 257–267.
- Zhang J., Li W., Trexler B.E., Massey S.C.* Confocal analysis of reciprocal feedback at rod bipolar terminals in the rabbit retina // *J. Neurosci.* 2002. V. 22. № 24. P. 10871–10882.
- Zhou J.Z.* Direct participation of starburst amacrine cells in spontaneous rhythmic activities in the developing mammalian retina // *J. Neurosci.* 1998. V. 18. P. 4155–4165.
- Zoli M., Agnati L.F.* Wiring and volum transmission in the central nervous system: The concept of closed and open synapses (review) // *Progr. Neurobiol.* 1996. V. 49. P. 363–380.
- Zrenner E.* Will retinal implants restore vision? // *Science.* 2002. V. 295. P. 1022–1025.
- Рекомендуемые сайты:
<http://www.webvision.med.utah.edu>,
<http://prometheus.med.utah.edu/marclab>
<http://www.neuroengineering.upenn.edu/boahen>
<http://www.americanscientist.org/articles/>
<http://www.sph.tmc.edu/RetNet/>

Neurotransmitter Interaction of Retinal neurons and Retinal Remodeling after Degeneration of Photoreceptors

E. M. Maximova

Institute for Information Transmission Problems, Bolshoy Karetny per., 19

The problem of retinal prostheasis is elaborated independently in 18 centers over the world. But attempts to restore vision in individuals with congenital retinal diseases by replacement of degenerated photoreceptors with electronic or cellular implants are not effective yet. The fundamental cause of the failure was revealed in model experiments with mice retina in the Marc laboratory of the Visual Moran center of Utah University in USA. The method of molecular phenotyping of retinal neurons elaborated there permitted to trace the fates of identified neurons on different stages of illness development. The fundamental neuronal and glial remodeling after photoreceptors degeneration was revealed in the adult retina: the death of numeral neurons, violation of retinal layers, formation of new neurites, reversion of interneuron contacts of revived cells, formation of multiple microneuromas, incapable to perform normal visual processing. Retinal remodeling resembles CNS pathologic remodeling and constitutes a major challenge to all rescue strategies.

Key words: retina, neurotransmitters, photoreceptor degeneration, neural remodeling, molecular phenotyping, congenital retinal diseases.

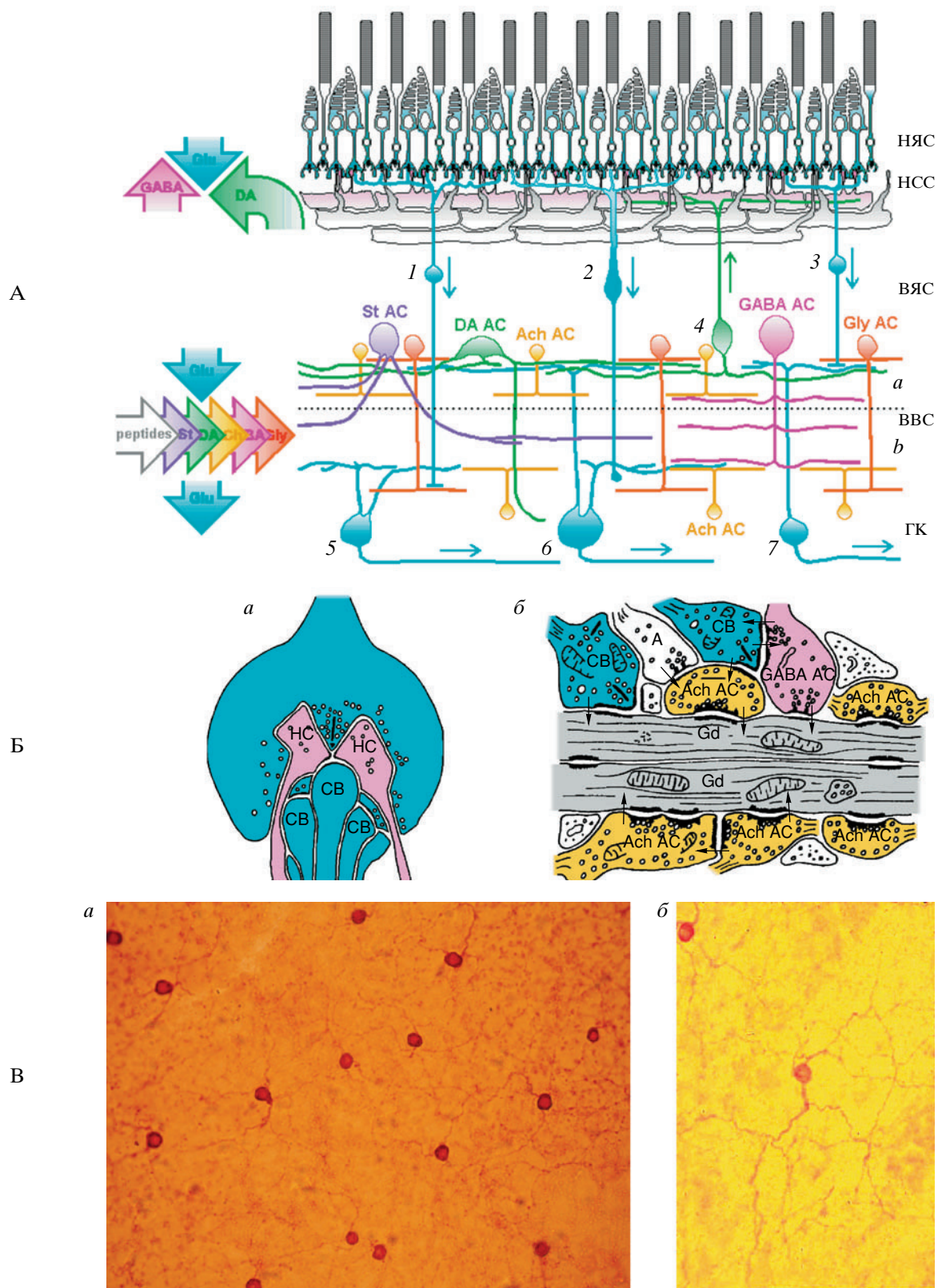


Рис. 1. Подпись к рисунку см. на обороте.

Рис. 1. Медиаторы сетчатки.

А. Схема нейромедиаторного взаимодействия клеток сетчатки. Клетки разного медиаторного химизма окрашены в разные цвета: глутаматэргические рецепторы, биполяры (1, 2, 3), ганглиозные клетки (5, 6, 7) – в голубой; дофаминэргическая амакриновая (DA AC) и интерплексиформная (4) – в зеленый; ацетилхолиновые звездчатые starburst амакриновые клетки (ACh AC) – в желтый; глицинэргические амакриновые клетки (Gly AC) – в оранжевый; серотонинаккумулирующие амакриновые клетки (St AC) – в фиолетовый и ГАМКэргические амакриновые клетки (GABA AC) и горизонтальные клетки наружного слоя – в розовый. Слева на схеме стрелками соответствующих цветов показано направление сигналов. НЯС – наружный ядерный слой. НСС – наружный синаптический слой. ВЯС – внутренний ядерный слой. ВСС – внутренний синаптический слой, *a* – off-подпластина, *b* – on-подпластина. ГК – слой ганглиозных клеток.

Б. Схематическое изображение синапсов закрытого и открытого типов.

a – Триадный ленточный синапс в НСС сетчатки – пример инвагинирующего синапса закрытого типа; НС – отростки горизонтальных клеток, СВ – центральный дендрит колбочкового деполяризационного биполяра – врастающий в ножку колбочки; СВ – боковые дендриты гиперполяризационных колбочковых биполяров, образующих с ножкой плоские наружные контакты (модифицировано из webvision.med.utah.edu). В голубой цвет окрашены фрагменты глутаматэргических клеток (рецепторов и биполяров), в розовый – ГАМКэргических горизонтальных клеток.

b – Пример строения обычных (conventional) синапсов открытого типа во ВСС сетчатки. Gd – дендриты ганглиозных клеток (возможно дирекционально избирательных); СВ – синаптические окончания колбочковых биполяров;

ACh AC – синаптические варикозы звездчатых ацетилхолинэргических амакриновых клеток (видны и пре- и постсинаптические структуры). A – терминаль амакриновой клетки неизвестного медиаторного химизма. GABA AC – терминаль ГАМКэргической амакриновой клетки. Цветовые обозначения нейромедиаторов те же, что и на А. Стрелками указано направление передачи сигналов с клетки на клетку.

В. Дофаминэргические клетки сетчатки карпа, выявленные антителами на тирозингидроксилазу. *a* – плоский препарат сетчатки $\times 20$; *b* – дофаминэргическая интерплексиформная клетка сетчатки карпа при большем увеличении $\times 40$.