

УДК 612.84

МОРФОЛОГИЯ ПРЕДПОЛАГАЕМЫХ ДИРЕКЦИОНАЛЬНО-ИЗБИРАТЕЛЬНЫХ ГАНГЛИОЗНЫХ КЛЕТОК, ТРАССИРОВАННЫХ DiI В СЕТЧАТКЕ РЫБ

© 2006 г. **Е. М. Максимова, Е. В. Левичкина, И. А. Утина**

Институт проблем передачи информации РАН

127994 Москва, Б. Каретный пер., 19

E-mail: maximov@iitp.ru

Поступила в редакцию 16.05.2006 г.

Методом трассирования со среза зрительного нерва липофильной карбоцианиновой краской DiI в предварительно фиксированных 4%-ным параформом сетчатках рыб выявлено большое разнообразие ганглиозных клеток (ГК). Два из шести очевидных морфологических типов ГК по сходству строения плоских кружевных дендритов можно отождествить с дирекционально-избирательными ГК кролика. Наблюдаемые различия (каждый из типов клеток моностратифицирован в одной из подпластин ВСС) разумно соответствуют физиологическому отличию *on-* и *off-*дирекционалов рыб от *on-off-*дирекционалов млекопитающих. Обсуждается общность морфофизиологического механизма дирекциональной избирательности у разных животных.

Ключевые слова: *Carassius auratus*, сетчатка, морфология, ганглиозные клетки, дирекционально избирательные ганглиозные клетки, дендриты, трассирование, DiI.

ВВЕДЕНИЕ

У рыб уже в сетчатке производится существенная обработка зрительного изображения объектов внешнего мира, сформированного оптикой на растре рецепторов. Значимые для животного признаки объектов, такие как размер, направление движения, ориентация, цвет, выделяются (детектируются) ганглиозными клетками (ГК) разных типов. Иными словами, ГК сетчатки поставляют в первичные зрительные центры разные описания поступившего на рецепторы изображения. Известны ГК – детекторы пятна, детекторы направления движения, которые также называют дирекционально-избирательными (ДИ) ГК, или просто дирекционалами, детекторы ориентированных линий и т.д. (Зенкин, Пигарев, 1969). Только в тектуме – главном первичном зрительном центре низших позвоночных – зарегистрированы реакции от аксональных окончаний не менее десяти разных типов ГК (Максимова с соавт., 1971). Способность ГК так или иначе реагировать на зрительные стимулы (ее физиологический тип) определяется характером ее связей с нейронами сетчатки предыдущих этажей: биполярными и амакриновыми клетками. Центр рецептивного поля (РП) формируют прямые связи дендрита ГК с группой рецепторов через биполяры. Периферия РП организована за счет связей тех же биполяров с окружающими рецепторами через горизонтальные клетки (Максимова, Мак-

симов, 1971). Кроме того, во внутреннем синаптическом слое (ВСС), где происходит передача сигнала с терминалей аксонов биполяров на дендриты ГК, разные типы амакриновых клеток осуществляют всевозможные преобразования этих входных сигналов. ВСС стратифицирован, т.е. в разных его подслоях оканчиваются аксоны разных типов биполяров и отростки разных типов амакриновых клеток. В зависимости от того, в каком подслое ВСС расположен дендрит данной ГК, каковы размер и форма его ветвления, ГК получает возможность контактировать (костратифицирована) с теми или иными входными нейронами. Естественно, что ГК разных физиологических типов (в сетчатке животных одного вида) отличаются и морфологически, в частности имеют различную морфологию дендритов.

Установление морфофизиологического соответствия напрямую возможно при внутриклеточном мечении после исследования свойств клетки в электрофизиологическом опыте (He et al, 1999; Dong et al., 2004; Weng et al., 2005). К сожалению, в случае работы на ГК *in situ* это трудно выполнимая задача, а при работе на изолированной сетчатке трудно применять оформленные стимулы для установления физиологического типа клетки. Тем не менее, удачное внутриклеточное окрашивание *on-off-*дирекционалов сетчатки кролика в ходе электрофизиологического опыта было выполнено пероксидазой хрена (Amthor et al., 1984) и люцифером желтым (Yang, Masland, 1994). Не-

давно аналогичная работа сделана на сетчатке мыши (Weng et al., 2005). Бросается в глаза идентичность строения дендритов ДИ ГК кролика и мыши.

Теперь, когда накоплен довольно большой сравнительный морфологический и электрофизиологический материал по ГК сетчаток разных животных, возможен и другой подход. Функционально однородные клетки в сетчатках разных животных выглядят, как правило, сходным образом (Максимова, Утина, 1987). Классический пример – ацетилхолинэргические (звездчатые) амакрины (MacNeil et al., 1999). Относительно ГК также известно, что клетки одного физиологического типа у разных животных имеют сходную морфологию (Rockhill et al., 2002). Таким образом, для установления морфо-физиологического соответствия в сетчатке рыб можно из массива разнообразных морфологических типов ГК, окрашенных тем или иным способом, выбрать клетки, соответствующие определенным физиологическим типам, опираясь как на детальные физиологические данные по сетчатке рыб, так и на более полные и совершенные сравнительные морфологические данные на сетчатке млекопитающих.

Мы предприняли попытку трассирования ГК сетчатки рыб люминесцентной краской DiI (1,1'-диокадецил-3,3',3'-тетраметил-индо-карбодиаанин перхлорат) со среза зрительного нерва. Поскольку карбоцианиновые краски липофильны, эта краска распространяется диффузией по липидам вдоль клеточной мембраны, причем не только живых клеток, но и в фиксированном параформом материале, что существенно упрощает задачу (Köbber et al., 2000). DiI не проходит через синапсы, поэтому можно быть уверенным, что окрашиваются только ГК. В работе, помимо других разных типов ГК, неожиданно прокрасились хорошо знакомые по сетчаткам млекопитающих клетки с характерными дендритными ветвлениями ДИ ГК.

МЕТОДИКА

Основным объектом исследования были серебряные караси *Carassius auratus gibelio* Bloch размером 10–15 см. Рыб содержали в лабораторном аквариуме при естественном освещении. Всего прокрашено 20 сетчаток серебряного карася. Кроме того, использованы сетчатки других видов рыб: карпа *Cyprinus carpio* (Linnaeus), скорпены *Scorpaena porcus* Linnaeus, смариды *Spicara smaridis* (Linnaeus), ставриды *Trachurus mediterraneus ponticus* Aleev, угря *Anguilla anguilla* (Linnaeus) и кефали-рамады *Liza ramada* (Risso).

Глазные бокалы рыб фиксировали 4%-ным параформом и хранили в холодильнике. Фиксированные глаза разных видов рыб сохранялись от

недели до нескольких месяцев и даже лет. Глазной бокал заливали в агарозу. После застывания агарозы обнажали срез зрительного нерва и подсушивали его фильтровальной бумагой. К срезу прикладывали кристаллик DiI. В ряде случаев на место приложения краски наносили капельку подсолнечного масла и снова заливали в агарозу. Заключение в агарозу предотвращает случайное попадание краски на сетчатку. Блок в растворе параформа помещали в термостат с температурой 36° на 7–10 дней. Когда оптический диск становился розовым при белом свете (что было индикатором того, что краска DiI уже продиффузировавала в зрительные волокна), можно было ожидать увидеть и прокрашенные люминесцирующие клетки с дендритами в ультрафиолетовом микроскопе. Сетчатку выделяли, надрезали в четырех местах и плоский препарат витреальной стороной вверх рассматривали в УФ-микроскопе (AxioPlan-2, Zeiss) при возбуждающем зеленом (510 нм) свете. Изображения клеток при помощи видеокамеры вводили в компьютер. Глубину дендритных ветвлений относительно положения тела оценивали по показаниям микровинта.

Когда дендритное ветвление и тело клетки находились в разных оптических срезах, полную картину строения клетки реконструировали из нескольких кадров. Для фильтрации изображений и наложения кадров использовалась специально написанная программа, а также стандартные программные пакеты CorelDraw и PhotoShop.

Кроме того, сетчатки карася, карпа и кефали окрашивали метиленовым синим по методу Эрлиха. На живую изолированную сетчатку, расположенную на предметном стекле витреальной стороной вверх, наносили несколько капель слабо концентрированного метиленового синего, все время наблюдая в микроскоп. Через несколько минут начинали окрашиваться зрительные волокна, а затем и тела ганглиозных клеток с дендритами. Уловив момент оптимального окрашивания, сетчатку фиксировали молибденово-кислым аммонием и заключали в агарозу или желатин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основные морфологические типы ганглиозных клеток, выделяемые при окрашивании DiI. Картины полного окрашивания дендритов были получены в сетчатках, фиксированных в течение от недели до нескольких лет. Всюду прокрасились зрительные волокна и множество тел клеток. Около сотни одиночных ГК прокрасились с дендритными ветвлениями.

Окрашенные DiI золотистые зрительные волокна ярко выделяются на темном красноватом фоне сетчатки. Прослеживая волокна от оптического диска к периферии, можно, в случае удачи,

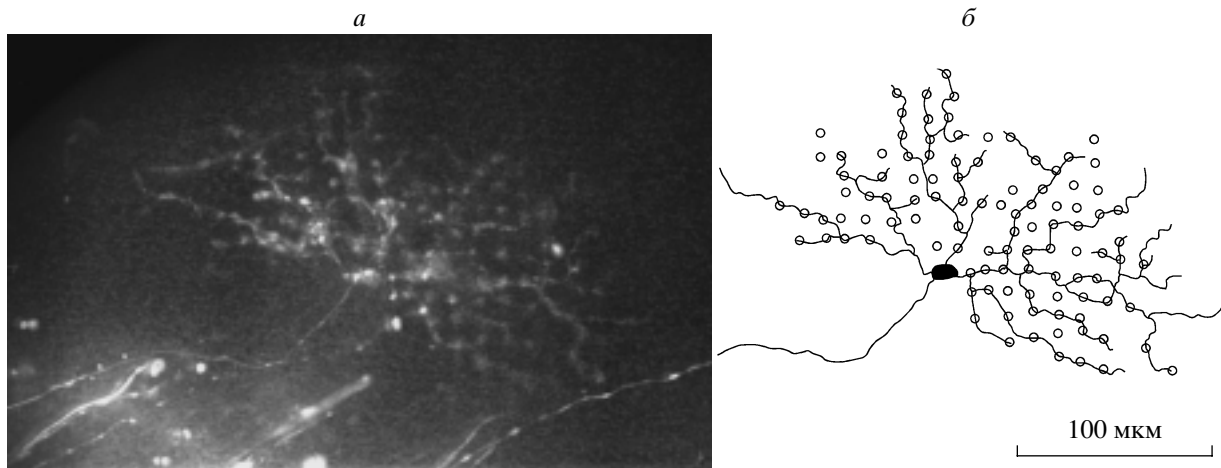


Рис. 1. Ганглиозная клетка сетчатки смарида, протрассированной DiI со среза зрительного нерва. *a* – общий вид (изображение смонтировано из пяти оптических срезов); *б* – прорисовка дендритного дерева ГК и аксональных утолщений биполяров.

увидеть тела клеток с дендритами. Типичная картина показана на рис. 1, где прокрасилась одна ГК с аксоном и дендритами. В левом нижнем углу кадра видны аксоны других клеток (тела которых не прокрасились), идущие по направлению к диску зрительного нерва. Квадратная решетка светлых пятнышек, на фоне которой вырисовывается дендритное дерево, образована аксональными утолщениями биполярных клеток. Такие регулярные решетки в ВСС, определенным образом согласованные с регулярной мозаикой колбочек, характерны для многих видов рыб, в том числе и для смарида (Подугольникова, Максимов, 1973). Хотя используемая методика не позволяет непосредственно увидеть синаптические контакты между клетками, взаимное расположение этих аксональных утолщений и дендритов ГК, “посещающих” по ходу все утолщения в пределах достижимости дендритного дерева, говорит о том, что эта ГК собирает сигналы с биполяров данного типа.

Обычно на краю той области, куда дошла краска (как правило, это – средняя область сетчатки и ее периферия), рассматривать под микроскопом отдельные клетки и вводить в компьютер их изображения удобнее, так как картина не замаскирована видом светящихся многочисленных зрительных волокон. В то же время, микрофотографируя в зоне массивного окрашивания, при “погружении” вглубь сетчатки под слой зрительных волокон можно видеть целые поля однородных клеток и сети их дендритов. Меняя глубину оптических срезов, можно видеть относительное расположение по глубине дендритов разных рисунков. В своей работе мы обращали особое внимание именно на глубину ветвления дендритов в ВСС, как на один из отличительных морфологиче-

ских признаков, коррелирующих с физиологическими свойствами ГК. Известно, что ВСС делится на две части. Одна из них – склеральная (дистальная), или *a*-подпластина ВСС, где расположены окончания *off*-биполяров. Соответственно ГК, ветвящиеся там, тоже относятся к *off*-типу. Поэтому ее часто также называют *off*-подпластиной ВСС. В другой части – витреальной (проксимальной) или *b*-подпластине ВСС оканчиваются *on*-биполяры и ветвятся дендриты ГК *on*-типа (Famiglietti, Kolb, 1976).

При окрашивании ганглиозных клеток DiI, приложенной к срезу зрительного нерва, обнаружено их большое разнообразие. Даже без детального морфометрического обследования, выделяются следующие характерные типы клеток.

1. Крупные ГК с большим слабо ветвящимся дендритным деревом. Такого типа клетки обычно хорошо выявляются и при других методах окрашивания, в литературе их называют α -клетками (Rockhill et al., 2002). Если плоскость ветвления дендрита такой ГК лежит близко от тела, т.е. в *b*-подпластине ВСС, то такие ГК называют α_b -клетками. На рис. 2, *a, б* представлена такая ГК сетчатки карася. Ее плоское дендритное дерево в диаметре более 1 мм наблюдается резко в том же оптическом срезе, что и тело клетки. На рис. 2, *в* представлены две α -клетки сетчатки угря. Кроны их дендритов не симметричны относительно тел, что характерно для клеток на периферии сетчатки. От толстых дендритов отходят по всей длине очень короткие тонкие веточки рис. 2, *б, в*. Для ГК α -типа характерно частичное перекрытие дендритных ветвлений соседних клеток, что видно на рис. 2, *в*.

2. Крупные ГК с дендритом, ветвящимся (в отличие от клеток предыдущего вида) в плоскости,

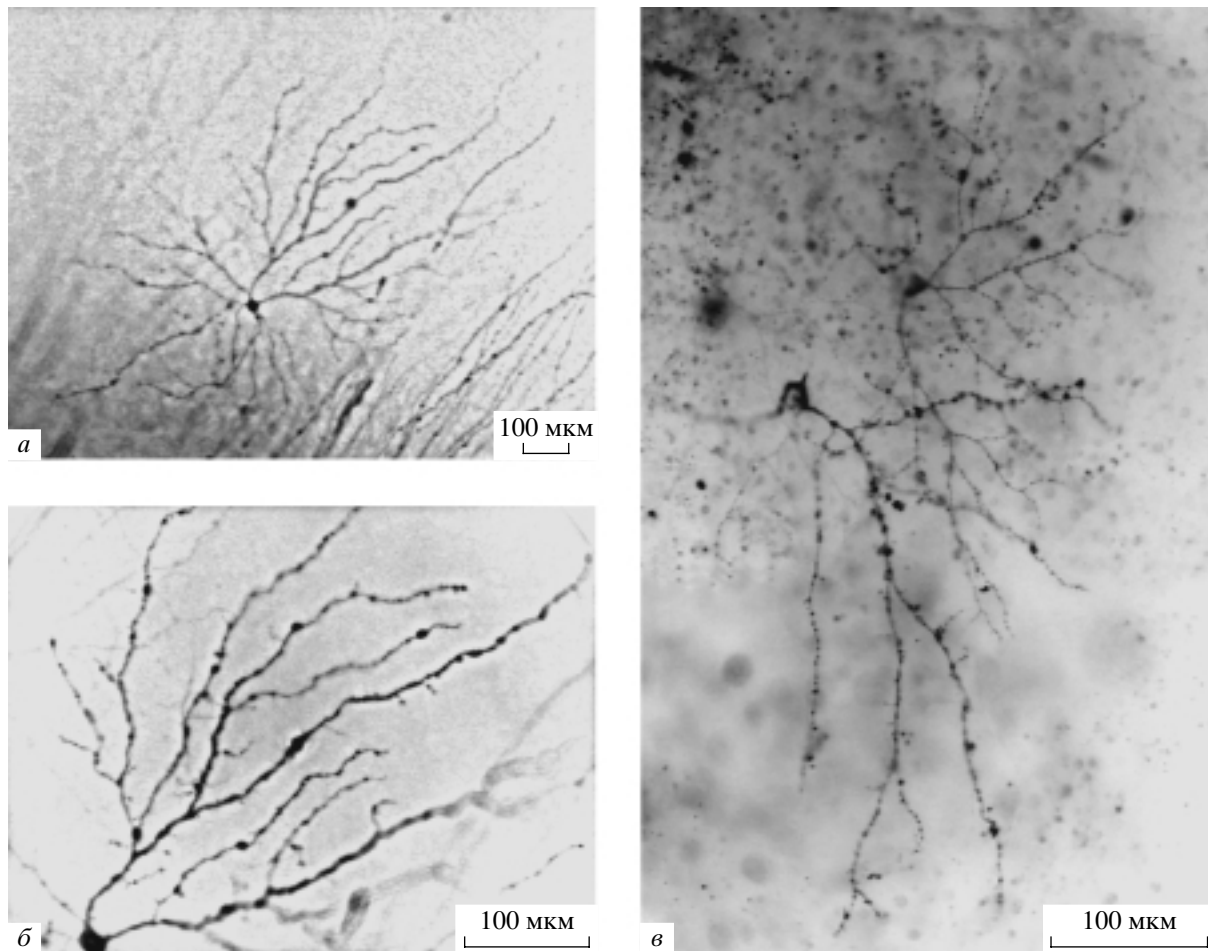


Рис. 2. Большие ганглиозные клетки сетчатки карася (а, б) и угря (в), протраассированные со среза зрительного нерва. На а – видны пучки аксонов и отдельные аксоны, уходящие в направлении оптического диска. Ветвления дендритов расположены практически в той же оптической плоскости, что и тела. б – фрагмент а при большем увеличении. Стрелками на б и в указаны тонкие короткие дендритные веточки. Изображения смонтированы из двух оптических срезов и инвертированы по знаку контраста.

удаленной от тела клетки – в дистальной (склеральной), или a -подпластине ВСС; такие клетки соответственно называют α_a -клетками. Размер и характер ветвления их дендритного дерева – такой же, как и у предыдущих ГК. Крупные ГК были прокрашены DiI в сетчатке карася, карпа, угря, смарида, скорпены. У млекопитающих морфологические типы клеток α_b и α_a связывают с фазическими *on*- и *off*-типами ГК, соответственно отвечающими на включение или выключение света коротким залпом импульсов. Установившейся электрофизиологической классификации ГК α -типа сетчатки рыб не существует.

3. Клетки, размеры дендритного ветвления которых не превышают 100 мкм. От тела отходят три–четыре первичных исходно очень тонких дендрита, которые дважды дихотомически симметрично ветвятся; в каждой бифуркации и на окончательных веточках видны крупные варикозы – рис. 3, а. Тела у клеток этого типа относительно

крупные. Часто окрашиваются два близко расположенных тела, и в этих случаях их дендритные поля перекрываются. Такие клетки были выявлены нами не только в сетчатках карповых (карася и карпа), но также у скорпены, смарида и кефали, в том числе и на препаратах, окрашенных по методу Гольджи. В работе на сетчатке еще одной карповой рыбы – данио-рерио (Mangrum et al., 2002), среди одиннадцати морфологических типов ГК, тоже окрашенных DiI, описаны и клетки сходной морфологии, по номенклатуре авторов – тип XI. На профильных изображениях клетки выглядят как канделябры. Подобных клеток в сетчатке млекопитающих не описано (Rockhill et al., 2002).

4. Большие клетки с плоским симметричным равномерно ветвящимся дендритом. По ходу дендритных веточек расположены редкие варикозы (рис. 3, б). По виду дендритного ветвления эти клетки очень похожи на морфологический

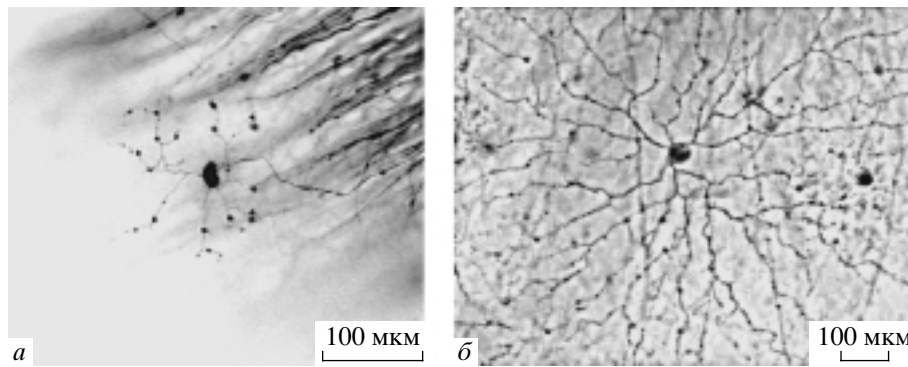


Рис. 3. Примеры двух морфологически различных клеток в сетчатке караса, трассированных DiI со среза зрительного нерва.

а – клетка с малым дендритным полем с исходно очень тонкими дихотомически ветвящимися дендритами и крупными варикозами в местах бифуркаций и на концах дендритов (изображение смонтировано из трех оптических срезов и инвертировано по знаку контраста); б – большая ГК сетчатки караса с симметричным дендритным деревом, ветвящимся практически в плоскости тела клетки (изображение смонтировано из двух оптических срезов и инвертировано по знаку контраста).

тип δ ганглиозных клеток млекопитающих (Famiglietti, 1992) и ГК G10 сетчатки кролика (Rockhill et al., 2002), которые аналогизируют с так называемыми “медленными” *on*-дирекционалами, реагирующими на медленное движение светлых стимулов в предпочтительном направлении. У всех исследованных животных (Vaney et al., 2001) медленные дирекционалы посылают свои аксоны в ядра добавочной зрительной системы. В сетчатке млекопитающих дендриты медленных дирекционалов костратифицированы с проксимальными кронами “быстрых” дирекционалов и звездчатых амакриновых клеток *on*-популяции (Famiglietti, 2002). У рыб такие клетки еще не были описаны.

5 и 6. Клетки с “кружевным” рисунком дендритного ветвления (рис. 4), характерным для “быстрых” дирекционалов млекопитающих. Клетки этих двух типов клеток подробно описаны в следующем разделе.

Предположительно дирекционально-избирательные ганглиозные клетки. На препаратах, окрашенных DiI, это самые многочисленные клетки. Дендритное дерево плоское, округлое, симметричное относительно тела клетки, размером 200–300 мкм. Первичные три–пять дендритов, отходящие от тела, сразу многократно ветвятся, образуя характерный ячеистый (“кружевной”) рисунок. По ходу дендритов и на концах – мелкие варикозы. По уровню ветвления дендритов эти клетки делятся на два типа: у одних клеток плоскость ветвления дендрита видна практически в том же оптическом срезе, что и тело (по показателям микровинта тело отстоит от плоскости дендритного ветвления на 4–10 мкм), т.е. находится в проксимальной *b*-подпластине ВСС, у других клеток плоскость ветвления дендритов находится по отношению к телу склеральнее на 20–40 мкм,

что соответствует дистальной *a*-подпластине ВСС. Никаких различий в рисунке дендрита у этих типов клеток не замечено (рис. 4). Именно эти два морфологических типа клеток мы предполагаем дирекционально избирательными на основании сходства рисунка дендритного дерева с таковым ДИ ГК кролика (Amthor et al., 1984), кошки (O’Brien et al., 1999) и мыши (Sun et al., 2002; Weng et al., 2005) и совпадению размеров их дендритных ветвлений с размерами РП, измеренными электрофизиологически (Максимов и др., 2005).

При бросающемся в глаза сходстве рисунков дендритных деревьев “быстрых” дирекционалов кролика и мыши, с одной стороны, и описываемых здесь предполагаемых ДИ ГК рыб – с другой, между ними есть одно важное различие, которое соответствует и физиологическому различию “быстрых” ДИ ГК млекопитающих и рыб. У кролика и мыши все они безразличны к знаку контраста стимула относительно фона, т.е. относятся к единому *on-off*-типу. Соответственно их дендриты бистратифицированы (Kittila, Massey, 1997). У рыб ДИ ГК разделены на два физиологических подтипа: одни реагируют на движение только светлой границы по более темному фону – *on*-дирекционалы, вторые, напротив, реагируют только на движение темной границы по светлому фону – *off*-дирекционалы. Как показано в данной работе, морфологически ДИ ГК рыб соответственно представлены двумя типами, дендриты каждого из которых стратифицированы либо в *on*-, либо в *off*-подпластинах ВСС. При массивированном окрашивании часто можно видеть, что между двумя “кружевными” пластинами располагается слой крупных варикозов, сидящих на чрезвычайно тонких, едва различимых глазом дендритах, принадлежащих, вероятно, описанным выше клет-

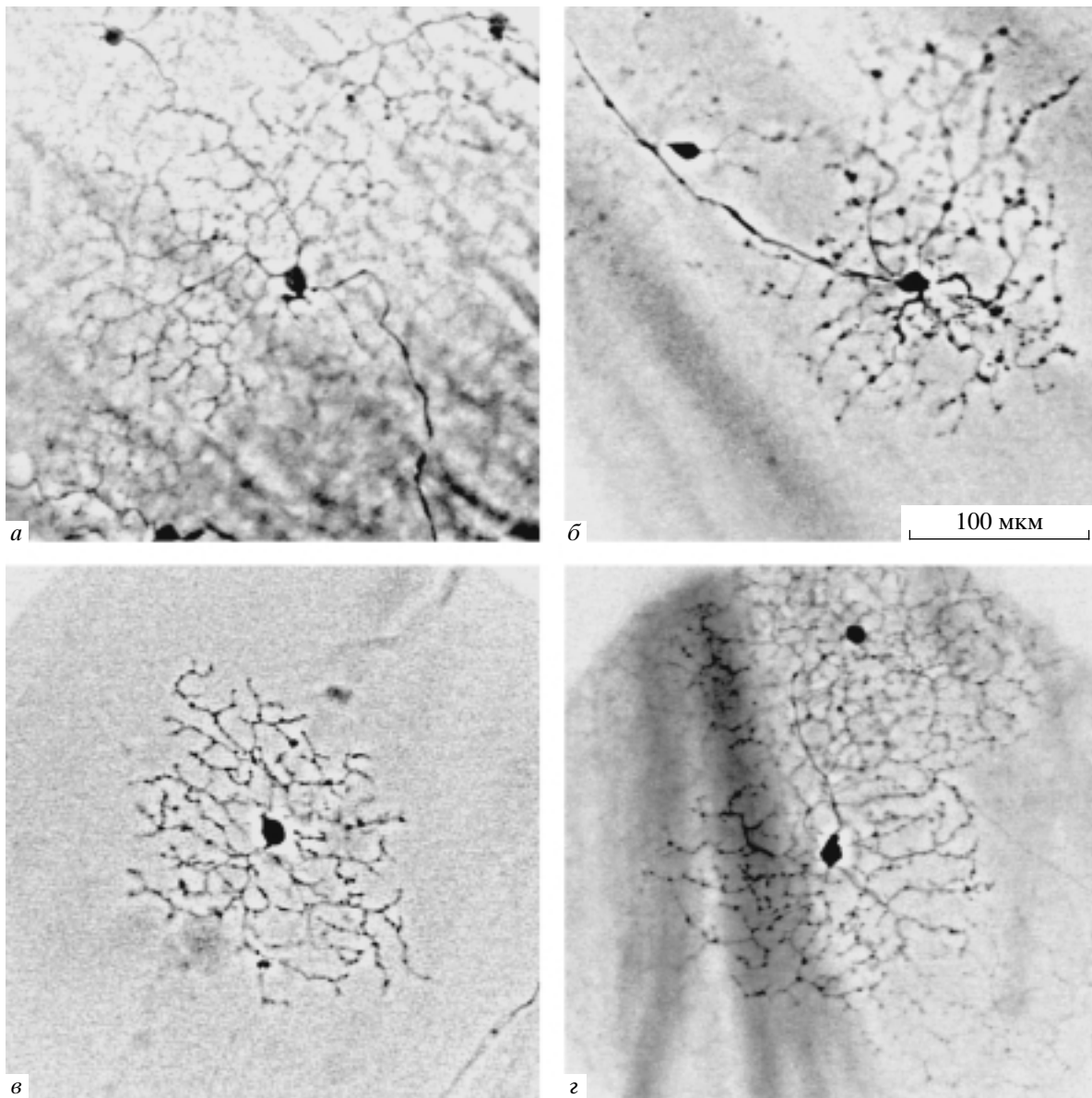


Рис. 4. Предположительно дирекционально-избирательные ганглиозные клетки сетчатки караса с небольшим дендритным деревом характерного “кружевного” рисунка.

а, б, в – клетки *on*-типа (изображения смонтированы из трех оптических срезов на а, и из двух – на б и в); г – клетка *off*-типа (изображение смонтировано из трех оптических срезов). Косые размытые темные полосы – пучки аксонов, расположенные в другой оптической плоскости, зашумляющие изображение. Изображения инвертированы по знаку контраста.

кам типа 3 с малым дендритным деревом и варикозными утолщениями (рис. 2, а), что может служить дополнительным подтверждением того, что ДИ ГК ветвятся на разных уровнях.

В работе на сетчатке данио (Mangrum et al., 2002) также описаны два морфологических типа моностратифицированных ГК с компактным плоским дендритом среднего размера, различающихся только уровнем ветвления этих дендритов – типы III и IV по классификации авторов. По виду эти клетки сходны с выявленными нами типами 5 и 6,

предполагаемыми “быстрыми” *on*- и *off*-дирекционалами. Однако в цитируемой работе отмечено преобладание несимметричного расположения плоскости ветвления дендрита относительно тела клеток этого типа, что отличает их от описываемых нами. Проведение аналогий с физиологическими типами ганглиозных клеток данио не вошло в задачу авторов.

Морфологическая основа формирования дирекциональной избирательности в сетчатке. В сетчатке кролика (Barlow et al., 1964) и кошки

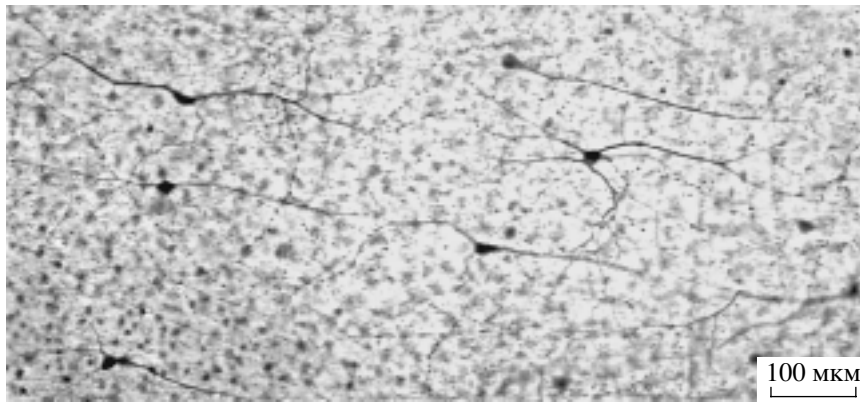


Рис. 5. Веретеновидные клетки на периферии сетчатки карася, окрашенные метиленовым синим по методу Эрлиха.

(O'Brien et al., 1999), а позже мыши (Weng et al., 2005), описаны “быстрые” *on-off*-дирекционалы. За 40 лет, прошедших с момента открытия, ДИ ГК млекопитающих подробно изучены (Vaney et al., 2001). В отличие от “медленных” *on*-дирекционалов, эти ГК проецируются в наружное коллатеральное тело и верхние бугорки четверохолмия (гомолог *tectum opticum* низших позвоночных). Они работают в другом диапазоне скоростей движения стимула и, кроме того, безразличны к знаку контраста стимула относительно фона. Эти ГК реагируют как на включение, так и на выключение микропятна и не реагируют на общее изменение освещенности. Бурную реакцию вызывают оформленные стимулы (контрастная граница, маленькое пятнышко, полоска), движущиеся в предпочтительном для данной клетки направлении. При этом движение в обратном (нулевом) направлении вовсе не вызывает ответа. Как уже говорилось, подробно изучена и морфология ДИ ГК млекопитающих, и высказаны правдоподобные гипотезы относительно механизмов организации дирекциональной избирательности. Установлено, в частности, что обе кроны дендритов ДИ ГК костратифицированы и более того кофасцикулированы с дендритами двух популяций (*on* и *off*) звездчатых (*starburst*) амакриновых клеток (Yoshida et al., 2001; Dong et al., 2004). К настоящему времени доказано, что именно звездчатые амакриновые клетки играют ключевую роль в организации свойства дирекциональной избирательности ГК сетчатки кролика и мыши, посылая асимметричное задержанное торможение по дендритам, идущим в нулевом направлении (He, Masland, 1997; Kittila, Massey, 1997; Taylor et al., 2000; Yoshida et al., 2001). В качестве нейромедиаторов они используют ацетилхолин и ГАМК. Фармакологическая блокада влияния АХ приводит к уменьшению реакции ДИ ГК, но не устраняет дирекциональности. Блокада влияния ГАМК лишает эти клетки дирекциональной избирательности (Kittila, Massey, 1997). Иммунотоксическое

удаление звездчатых амакринов из сетчатки приводит к исчезновению дирекциональности у ГК *on-off*-типа и к исчезновению оптокинетического рефлекса у мыши (Yoshida et al., 2001). Морфология звездчатых амакринов, их расположение в сетчатке и медиаторный химизм – одинаковы у всех к настоящему времени исследованных позвоночных животных. Обнаружены такие амакриновые клетки и в сетчатке рыб (Brandon, 1991). Можно думать, что и свойство дирекциональной избирательности ГК рыб организовано так же, как у кролика и мыши.

Следует, однако, отметить, что предлагалась и альтернативная схема организации дирекциональной избирательности в сетчатке рыб – при помощи специальных, только у рыб обнаруживаемых, амакриновых клеток (Djupsund et al., 2003). По электрофизиологической классификации авторов это “быстрые” фазические клетки *on-off*-типа. Морфологически эти большие своеобразные клетки обычно выявляются при окрашивании метиленовым синим. Они имеют веретенообразное тело, плавно переходящее в два первичных дендрита. Вторичные дендриты отходят по ходу первичных под прямым углом и соприкасаются концами со вторичными дендритами соседних клеток, как бы переходя один в другой. Клетки бистратифицированы, второе ветвление дендрита находится заметно склеральнее, почти повторяя рисунок дистального ветвления. При внутриклеточном окрашивании биоцитином показано, что они действительно образуют синцитий (Djupsund et al., 2003).

Мы тоже видели такие клетки в сетчатке серебряного карася и кефали при окрашивании метиленовым синим. Эти клетки бросаются в глаза на плоских препаратах на периферии сетчатки благодаря тому, что их тела ориентированы перпендикулярно зрительным волокнам (рис. 5). Иногда можно видеть отходящий от тела или от первичного дендрита аксон, так что эти клетки

могут быть и ганглиозными. Именно как ганглиозные клетки они были подробно описаны еще в 70-е годы на золотом карасе (Kock, Reuter, 1978) при окраске метиленовым синим. Однако ни одна такая клетка не была выявлена нами при трассировании DiI со среза зрительного нерва, что говорит в пользу того, что это амакриновые клетки, смещенные в слой ганглиозных клеток. Таким образом, в отличие от кролика, у которого два типа (*on* и *off*) звездчатых амакринов участвуют в организации дирекциональной избирательности для разных дендритных ветвей двухслойных ДИ ГК, согласно схеме Дьюпсунда с соавторами (Djupsund et al., 2003), у рыб один тип двухслойных амакриновых клеток должен обслуживать два типа однослойных ДИ ГК порознь – в разных подпластинах ВСС. Однако для такого механизма дирекциональной избирательности необходимо, чтобы разные ветви дендритного дерева веретенообразных амакриновых клеток были электрически независимы. Поэтому нам представляется беспочвенным (или по крайней мере преждевременным) искать для объяснения дирекциональной избирательности ГК сетчатки рыб иные механизмы, чем у млекопитающих, привлекая веретенообразные клетки.

Авторы выражают благодарность А.В. Ревичину за обучение тонкостям методики трассирования DiI и предоставление краски, Ю.Е. Битюковой, И. Дамяновичу и О.Ю. Орлову, оказавших содействие в добывании рыб разных видов, а также В.В. Максимова, разработавшему программу фильтрации и наложения изображений.

Работа поддержана РФФИ (грант № 04-04-49430).

Оригиналы рисунков к статье, а также дополнительные морфологические материалы представлены в электронном виде в Интернете по адресу: <http://www.iitp.ru/projects/posters/dii/>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Зенкин Г.М., Пугарев И.Н. Детекторные свойства ганглиозных клеток сетчатки щуки // Биофизика. 1969. Т. 14. № 4. С. 722–730.
- Максимов В.В., Максимова Е.М., Максимов П.В. Классификация дирекционально-избирательных элементов, регистрируемых в тектуме карася // Сенсорные системы. 2005. Т. 19. № 4. С. 342–356.
- Максимова Е.М., Максимов В.В. Роль горизонтальных клеток в организации концентрических рецептивных полей ганглиозных клеток сетчатки рыб // Переработка зрительной информации и регуляция двигательной деятельности / Под ред. А. Гидикова. София: Болгарская АН, 1971. С. 31–39.
- Максимова Е.М., Орлов О.Ю., Диментман А.М. Исследование зрительной системы нескольких видов морских рыб // Вопросы ихтиологии. 1971. Т. 11. № 5. С. 893–899.
- Максимова Е.М., Утина И.А. Дофаминэргические нейроны сетчатки лягушки // Сенсорные системы. 1987. Т. 1. № 1. С. 57–62.
- Подугольникова Т.А., Максимов В.В. Регулярность пространственной структуры рецепторного и нервных слоев сетчатки костистых рыб: Световая микроскопия // Зоол. журн. 1973. Т. 52. № 4. С. 541–551.
- Amthor F.R., Oyster C.W., Takahashi E.S. Morphology of on-off direction-selective ganglion cells in the rabbit retina // Brain Res. 1984. V. 298. P. 187–190.
- Barlow H.B., Hill R.M., Levick W.R. Retinal ganglion cells responding selectively to direction and speed of image motion in the rabbit // J. Physiol. (Lond.). 1964. V. 173. P. 377–407.
- Brandon C. Cholinergic amacrine neurons of the dogfish retina // Vis. Neurosci. 1991. V. 6. № 6. P. 553–562.
- 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. 11–17.
- Djupsund K., Furukawa T., Yasui S., Yamada M. Asymmetric temporal properties in the receptive field of retinal transient amacrine cells // J. Gen. Physiol. 2003. V. 122. № 4. P. 445–458.
- Famiglietti E.V., Jr. New metrics for analysis of dendritic branching patterns demonstrating similarities and differences in ON and ON-OFF directionally selective retinal ganglion cells // J. Comp. Neurol. 1992. V. 324. P. 295–321.
- Famiglietti E.V., Jr. A structural basis for omnidirectional connections between starburst amacrine cells and directionally selective ganglion cells in rabbit retina, with associated bipolar cells // Vis. Neurosci. 2002. V. 19. P. 145–162.
- Famiglietti E.V., Jr., Kolb H. Structural basis for ON and OFF-center responses in retinal ganglion cells // Science. 1976. V. 194. P. 193–195.
- He S., Jin Z.J., Masland R.H. The nondiscriminating zone of directionally selective retinal ganglion cells: Comparison with dendritic structure and implications for mechanism // J. Neurosci. 1999. V. 19 № 18. P. 8049–8056.
- He S., Masland R.H. Retinal direction selectivity after targeted laser ablation of starburst amacrine cells // Nature. 1997. V. 389. P. 378–382.
- Kittila C.A., Massey S.C. Pharmacology of directionally selective ganglion cells in the rabbit retina // J. Neurophysiol. 1997. V. 77. P. 675–689.
- Köbber C.C., Apps R., Bechmann I., Lanciego J.L., Mey J., Thanos S. Current concepts in neuroanatomical tracing // Progr. Neurobiol. 2000. V. 62. № 4. P. 327–351.
- Kock J.-H., Reuter T. Retinal ganglion cells in the crucian carp (*Carassius carassius*). II. Overlap, shape and tangential orientation of dendritic trees // J. Comp. Neurol. 1978. V. 179. P. 549–568.
- Mangrum W.I., Dowling J.E., Cohen E.D. A morphological classification of ganglion cells in the zebrafish retina // Visual Neurosci. 2002. V. 19. P. 767–779.
- MacNeil M.A., Heussy J.K., Dacheux R., Raviola E., Masland R.H. The shapes and numbers of amacrine cells: matching of photofilled with Golgi-stained cells in the rabbit retina and comparison with other mammalian species // J. Comp. Neurol. 1999. V. 413. P. 305–326.

- O'Brien B.J., Isayama T., Berson D.M.* Light responses of morphologically identified cat ganglion cells // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1999. V. 40. S815.
- Rockhill R.L., Daly F.J., MacNeil M.A., Brown S.P., Masland R.H.* The diversity of ganglion cells in a mammalian retina // *J. Neurosci.* 2002. V. 22. № 9. P. 3831–3843.
- Sun W., Li N., He S.* Large-scale morphological survey of mouse retinal ganglion cells // *J. Compar. Neurol.* 2002. V. 451. P. 115–126.
- Taylor W.R., He S., Levick W.R., Vaney D.I.* Dendritic computation of direction selectivity by retinal ganglion cells // *Science.* 2000. V. 289. P. 2347–2350.
- Vaney D.I., He S., Taylor W.R., Levick W.R.* Direction-selective ganglion cells in the retina // *Motion Vision – Computational, Neural, and Ecological Constraints* / Eds J.M. Zanker, J. Zeil. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag, 2001. P. 13–56.
- Weng S., Sun W., He S.* Identification of ON-OFF direction-selective ganglion cells in the mouse retina // *J. Physiol.* 2005. V. 562. № 3. P. 915–923.
- Yang G., Masland R.H.* Receptive fields and dendritic structure of directionally selective retinal ganglion cells // *J. Neurosci.* 1994. V. 14. P. 5267–5280.
- Yoshida K., Watanabe D., Ishikane H., Tachibana M., Pastan I., Nakanishi S.* A key role of starburst amacrine cells in originating retinal directional selectivity and optokinetic eye movement // *Neuron.* 2001. V. 30. P. 771–780.

Morphology of Putative Direction-selective Ganglion Cells Traced with DiI in the Fish Retina

E. M. Maximova, E. V. Levichkina, **I. A. Utina**

Institute for Information Transmission Problems, RAS.

Bolshoi Karetny 19, 127994 Moscow

Retinal ganglion cells (GCs) were traced by the carbocyanine dye DiI from the optic nerve cut in fish retinas preliminarily fixed with 4% paraformaldehyde. Two types (among six easily recognisable types) may be identified as direction-selective ones, by the similarity with rabbit direction-selective (DS) GCs, by their rounded flat “lacy” dendritic arbour of about 200–300 μm in diameter. But each type of fish putative DS GCs is monolaminar in the one of two sublaminae of IPL (as distinct from bistratified DS GCs of rabbit or mice). This is a reasonable correspondence with physiological differences between *on-* and *off-* types of DS GCs of fish and *on-off-* type DS GCs of mammals. Common morpho-physiological mechanism of directional selectivity in retinas of different animals is discussed.

Key words: Carassius auratus, retina, morphology, ganglion cells, direction-selective ganglion cells, dendrites, tracing, DiI.