

УДК 612.84

РАЗМЕРЫ РЕЦЕПТИВНЫХ ПОЛЕЙ СПОНТАННО-АКТИВНЫХ ГАНГЛИОЗНЫХ КЛЕТОК СЕТЧАТКИ СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ

© 2018 г. А. Т. Алипер

Институт проблем передачи информации РАН
127051 Москва, Большой Каретный пер.д. 19 стр. 1
E-mail: outtaget@gmail.com

Поступила в редакцию 05.07.2017 г.

Ответы спонтанно-активных ганглиозных клеток регистрировали экстраклеточно в верхних слоях *tectum opticum* серебряного карася *Carassius gibelio*. Рецептивные поля картировали вспышками пятен размером порядка 1° предпочтительного знака контраста в ячейках сетки 7×7 в квазислучайном порядке (метод “шахматной доски”). Протяженность и ориентацию возбуждающих рецептивных полей мы оценивали по двумерному эквиваленту стандартного отклонения полученных данных. Показано, что возбуждающие рецептивные поля спонтанно-активных ганглиозных клеток сетчатки рыб не отличаются размерами от измеренных ранее у того же вида рецептивных полей дирекционально-избирательных ганглиозных клеток и составляют примерно 4.5° . Также показано, что рецептивные поля спонтанно-активных ганглиозных клеток, как правило, ориентированы горизонтально, что может говорить о характере их мозаики.

Ключевые слова: сетчатка, ганглиозные клетки, рецептивные поля.

DOI:

ВВЕДЕНИЕ

Ганглиозные клетки осуществляют заключительный этап обработки зрительной информации в сетчатке позвоночных. Вся зрительная сцена закодирована множеством ганглиозных клеток, чьи рецептивные поля распределены по поверхности сетчатки. Рецептивные поля ганглиозных клеток обычно функционально разделены на центральную и периферическую части. Предъявление адекватного стимула в центральной части рецептивного поля вызывает ответ клетки на такую стимуляцию. Если тот же стимул предъявлять только периферической части рецептивного поля, то никакого ответа не будет. Возбуждающая центральная часть рецептивного поля (возбуждающее рецептивное поле) соответствует области, охватываемой дендритным деревом клетки, которое собирает зрительный сигнал с относительно обширной области. На сетчатке кролика (Yang, Masland, 1992; 1994) было показано, что возбуждающие рецептивные поля и области, покрываемые

дендритными древами ганглиозных клеток, имеют примерно одинаковые размеры.

Информация о различных свойствах видимых объектов, их размер, направление движения, форма, цвет обрабатываются разными типами специализированных ганглиозных клеток – детекторами. Детекторы в том числе описаны в сетчатке рыб (Cronly-Dillon, 1964; Jacobson, Gaze, 1964; Зенкин, Пигарев, 1969; Liege, Galand, 1971; Максимова и др., 1971; Wartzok, Marks, 1973; Kawasaki, Aoki, 1983). Информация, обработанная специализированными ганглиозными клетками, передается в первичные зрительные центры мозга рыб, в основном в одну из структур среднего мозга – *tectum opticum*. При вертикальном продвижении электрода через слои *tectum opticum* можно наблюдать ответы от аксональных окончаний различных типов ганглиозных клеток. В поверхностных слоях преимущественно отводятся ответы дирекционально-избирательных ганглиозных клеток, несколько глубже наблюдаются окончания разнообразных элементов, таких как ориентационно-избирательные ганглиозные

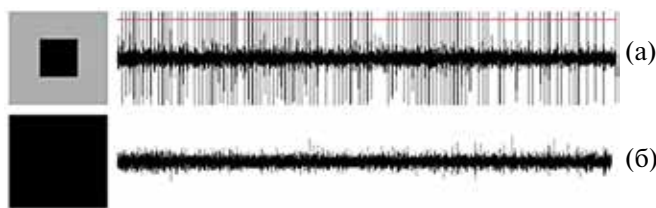


Рис. 1. Импульсный ответ темновой спонтанно-активной ганглиозной клетки на предпочтительный стимул — а и на полное затемнение зрительной картины — б.

Слева приведена форма предъявляемых стимулов.

клетки, детекторы пятен, цветоопponentные клетки. В последнем самом глубоком ретинореципиентном слое *tectum opticum* регистрируются реакции спонтанно-активных ганглиозных клеток (Максимов и др., 2009). Данный тип ганглиозных клеток на текущий момент времени не изучен, неизвестно также, являются ли такие ганглиозные клетки уникальными для рыб или имеются аналоги у других позвоночных. Предпочтительным стимулом для спонтанно-активных ганглиозных клеток является освещение либо затемнение рецептивного поля клетки. В зависимости от предпочтения к знаку контраста спонтанно-активные ганглиозные клетки можно разделить на световые и темновые. В ответ на стимуляцию спонтанно-активные ганглиозные клетки реагируют импульсным разрядом, длящимся на протяжении всего времени предъявления стимула. На предъявление стимула противоположного знака контраста клетка не отвечает.

Характерной особенностью этого типа клеток является то, что, как правило, их ответ тормозится частично или полностью, когда предъявляемый предпочтительный стимул значительно превышает размерами их возбуждающее рецептивное поле (рис. 1).

Цель данного исследования — оценка размеров возбуждающих рецептивных полей спонтанно-активных ганглиозных клеток, что даст возможность в дальнейшем более детально изучить свойства и структуру рецептивных полей данного типа клеток.

МЕТОДИКА

Животные. Объектом для проведения всех опытов служили серебряные караси *Carassius gibelio* размером от 10 до 15 см и весом от 35 до 100 г из подмосковных прудовых хозяйств. Животных содержали в лабораторных аквариумах объемом 60 л с аэрацией и фильтрацией воды в течение

нескольких месяцев при комнатной температуре и естественном световом режиме.

Подготовка к эксперименту. Для доступа к *tectum opticum* у рыбы с одной стороны черепа, контралатерально относительно глаза, на который подается стимуляция, удаляли теменно-затылочную кость, а также располагающиеся под ней жировую ткань и участок мягкой оболочки мозга. На время опыта животное обездвигивали введением d-тубокурарина внутримышечно (доза составляла 0.3 мг на 100 г массы рыбы). Обездвиженную рыбу закрепляли в естественном положении в аквариуме из плексигласа с принудительным протоком воды через жабры. В установке в течение опыта циркулировало около 10 л постоянно аэрирующейся и фильтрующейся воды. Циркуляцию воды обеспечивали термостатирующим насосом. К жаберному аппарату рыбы вода поступала под давлением 50 см водяного столба. Уровень воды в аквариуме поддерживали таким образом, чтобы глаза рыбы находились полностью под водой, но вода не заливалась на открытый мозг.

Зрительная стимуляция. Предъявление программно-сгенерированных стимулов осуществлялось через прозрачную стенку аквариума на экране монитора LG Flatron 775FT, установленного на подвижном столике, что позволяло перемещать его в нужное место поля зрения рыбы. В основном исследовали латеральные поля зрения в довольно широкой области: свыше 60° по горизонтали и около 40° по вертикали. Расстояние от монитора до глаза рыбы в ходе эксперимента составляло 30–40 см. В качестве стимулов в экспериментах, описанных в данной работе, использовали только ахроматические цвета. Относительные спектры излучения экрана были измерены при помощи модульной спектрометрической системы MCS500 Modules от производителя Carl Zeiss. Максимальная яркость экрана (при $R = G = B = 255$), измеренная фотометром ТКА-04/3, составляла 38 кд/м^2 . В энергетических единицах это соответствует эффективной энергетической яркости для фотопического зрения человека, равной $56 \text{ мВт ст}^{-1} \text{ м}^{-2}$. Согласно данным работы (Maximova et al., 2005), фотопическая спектральная чувствительность ганглиозных клеток сетчатки карася определяется в основном его красными колбочками и смещена на 75 нм в длинноволновую сторону. Соответствующая функция спектральной чувствительности была рассчитана по формуле В. И. Говардовского (Govardovskii et al., 2000) для зрительного пигмента системы витамина А2 с $\lambda_{\text{max}} = 622.5 \text{ нм}$ с учетом поглощения в передних средах глаза (Douglas,

1989). Рассчитанная таким образом эффективная энергетическая яркость того же белого экрана для ганглиозных клеток сетчатки караса равняется $65 \text{ мВт ст}^{-1} \text{ м}^{-2}$.

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

РЕЗУЛЬТАТЫ

Рецептивные поля спонтанно-активных ганглиозных клеток можно картировать вспышками небольших пятен, поскольку клетки данного типа в большинстве случаев стабильно отвечают на такие стимулы. Для стимуляции световых спонтанно-активных ганглиозных клеток мы использовали вспышки белых пятен на темном фоне, для темновых спонтанно-активных ганглиозных клеток соответственно вспышки черных пятен на светлом фоне. Вспышки пятен предъявлялись в ячейках квадратной сетки в квазислучайном порядке (метод шахматной доски), после чего программа производила подсчет количества импульсов, возникающих в ответ на стимуляцию. В каждой ячейке сетки стимул предъявляли трижды. Серии регистрации импульсной активности всегда начинали с предъявления стимула в центральной ячейке. В конце серии проводили повторную стимуляцию в центральном положении для контроля уровня ответа клетки. Результаты опыта, проведенного на световой спонтанно-активной ганглиозной клетке, приведены на рис. 2. Область стимуляции поделена на 49 маленьких квадратов (пятен) размером чуть больше 1° . Клеточные ответы во всей области стимуляции

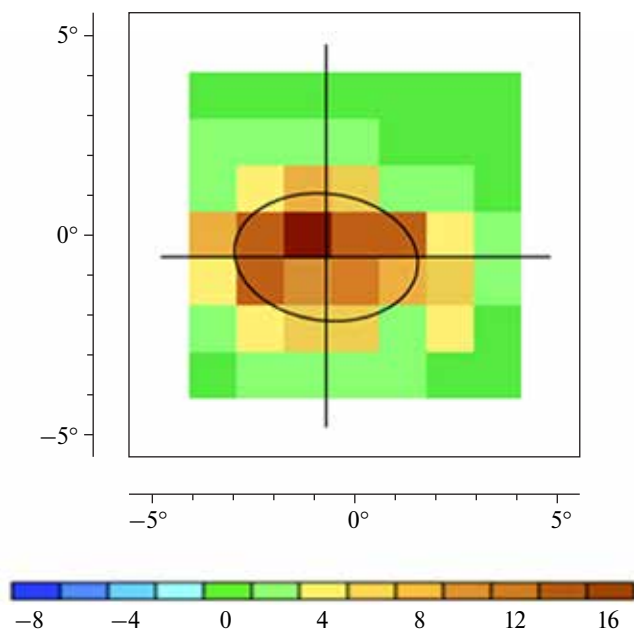


Рис. 2. Метод картирования возбуждающего рецептивного поля вспышками пятен. Пример картированного рецептивного поля световой спонтанно-активной ганглиозной клетки. В каждой точке светлое пятно вспыхивало 3 раза, в центральном положении проводилась контрольная стимуляция после окончания серии.

представлены в географической палитре топографической карты. Протяженность и ориентацию возбуждающих рецептивных полей мы оценивали по двумерному эквиваленту стандартного отклонения полученных данных. На основании предполагаемой протяженности сторон возбуждающего рецептивного поля строился эллипс. Данный эллипс мы считали оценкой площади возбуждающего рецептивного поля, а диаметр вычислялся как среднее между его длиной и шириной.

В общей сложности мы провели измерения возбуждающих рецептивных полей для более чем 150 спонтанно-активных ганглиозных клеток. Для обработки отбирали только стабильные одиночные отведения ганглиозных клеток, которые на стимуляцию пятном указанного размера отвечали длящимся разрядом. Гистограмма распределения размеров возбуждающих рецептивных полей, оцененных для 61 спонтанно-активных ганглиозных клеток, приведена на рис. 3, а. Размеры рецептивных полей, которые оценивали по диаметрам построенных эллипсов, составляли от 2.4° до 6.1° со средним значением $4.5^\circ \pm 1.1^\circ$.

Протяженность рецептивных полей исследованных ганглиозных клеток мы оценивали по параметру соотношения высоты к ширине аппроксимированных возбуждающих рецептивных

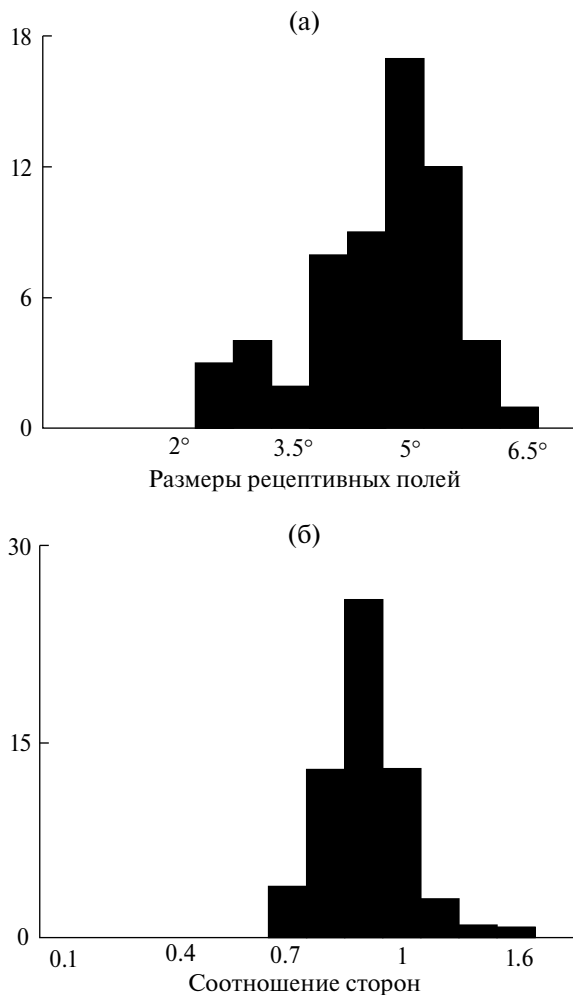


Рис. 3. Распределения спонтанно-активных ганглиозных клеток по размерам возбуждающих рецептивных полей – а, в рад. и соотношениям сторон возбуждающих рецептивных полей – б, построенные для одной выборки клеток.

По оси ординат обеих гистограмм указано количество клеток.

полей. Распределение соотношений сторон тех же 61 спонтанно-активных ганглиозных клеток показано на рис. 3, б. Среднее соотношение сторон составило 0.86 ± 0.11 , т.е., как правило, возбуждающие рецептивные поля имели форму эллипса, притом почти во всех случаях протяженность наблюдалась в горизонтальной ориентации.

ОБСУЖДЕНИЕ

Показанные размеры возбуждающих рецептивных полей спонтанно-активных ганглиозных клеток лежат в том же диапазоне, что и измеренные ранее размеры рецептивных полей directionally-selective (Damjanovic et al., 2009) и orientationally-selective ганглиозных

клеток (Damjanovic et al., 2009) у того же вида рыб, что может говорить о некоторой консервативности данного параметра у ганглиозных клеток сетчатки. Что касается вытянутой формы возбуждающих рецептивных полей спонтанно-активных ганглиозных клеток с относительно консервативной их ориентацией, то интерпретировать это на данный момент сложно. В случае с дорсовентральными и вентродорсальными directionally-selective ганглиозными клетками протяженности возбуждающих рецептивных полей коррелировали с предпочтительным направлением движения стимула. Предполагается, что того же можно ожидать и от возбуждающих рецептивных полей orientationally-selective ганглиозных клеток. Однако для спонтанно-активных ганглиозных клеток не продемонстрировано никакой избирательности к параметрам формы предъявляемых стимулов. Таким образом, наблюдаемое явление может говорить нам о характере мозаики рецептивных полей данного типа клеток, но не о свойствах индивидуальных ганглиозных клеток.

Автор выражает благодарность И. Дамяновичу, Е. М. Максимовой, П. В. Максиму за содействие на разных этапах выполнения работы.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 16-04-00029).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Виноградов Ю.А. *Электронные приборы в электрофизиологических, морфологических и этологических исследованиях*. Препринт № 13. Владивосток. ДВНЦ АН СССР. 1986. 23 с.
- Зенкин Г. М., Пигарев 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 ориентационно-избирательных элементов, регистрируемых в тектуме карася. *Сенсорные системы*. 2009. Т. 23. № 1. С. 13–23.
- 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.
- Cronly-Dillon J.R. Units sensitive to direction of movement in goldfish tectum. *Nature*. 1964. V. 203. P. 214–215. DOI: 10.1038/203214a0
- Damjanovic I., Maximova E., Maximov V. Receptive field sizes of direction-selective units in the fish tectum. *Journal of Integrative Neuroscience*. 2009. V. 8. № 1. P. 77–93. DOI: 10.1142/S021963520900206X
- Damjanovic I., Maximova E., Maximov V. On the organization of receptive fields of orientation-selective units

- recorded in the fish tectum. *Journal of Integrative Neuroscience*. 2009. V 8. № 3. P 323–344. DOI: 10.1142/S0219635209002174
- Douglas R.H. The transmission of the lens and cornea of the brown trout (*Salmo trutta*) and goldfish (*Carassius auratus*) – effect of age and implications for ultraviolet vision // *Vision Res*. 1989. V. 29. P. 861–869.
- Gaestesland R.C., Howland B., Lettvin J. Y., Pitts W.H. Comments on microelectrodes. *Proc IRE*. 1959. V. 47 P. 1856–182.
- Govardovskii V. I., Fyhrquist N., Reuter T., Kuzmin D.G., Donner K. In search of the visual pigment template. *Visual Neurosci*. 2000. V. 17. P. 509–528. DOI: 10.1017/S0952523800174036
- Jacobson M., Gaze R.M. Types of visual response from single units in the optic tectum and optic nerve of the goldfish. *Q J Exp Physiol*. 1964. V. 49. P. 199–209. DOI: 10.1113/expphysiol.1964.sp001720
- Kawasaki M., Aoki K. Visual responses recorded from the optic tectum of the Japanese dace, *Tribolodon hakonensis*. *J Comp Physiol A*. 1983. V. 152. P. 147–153. DOI: 10.1007/BF00611180
- Liege B., Galand G. Types of single-unit visual responses in the trout's optic tectum, in Gudikov A (ed.). *Visual Information Processing and Control of Motor Activity*. Sofia. Bulgarian Academy of Sciences. 1971. P. 63–65.
- Maximova E., Govardovskii V., Maximov P., Maximov V. Spectral sensitivity of direction-selective ganglion cells in the fish retina. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2005. V. 1048. P. 433–434.
- Wartzok D., Marks W.B. Directionally selective visual units recorded in optic tectum of the goldfish. *J Neurophysiol*. 1973. V. 36. P. 588–604.
- Yang G., Masland R.H. Direct visualization of the dendritic and receptive fields of directionally selective retinal ganglion cells. *Science*. 1992. V. 258. P. 1949–1952. DOI: 10.1126/science.1470920
- Yang G., Masland R.H. Receptive fields and dendritic structure of directionally selective retinal ganglion cells. *J Neurosci*. 1994. V. 14. P. 5267–5280.
- Sensornye sistemy*. 2009. T. 23. № 1. S. 13–23 (in Russian).
- Maksimova E.M., Orlov O. Yu., Dimentman A.M. Issledovanie zritel'noi sistemy neskol'kikh vidov morskikh ryb. [Studying the visual system of several saltwater fish species] *Voprosy ikhtiologii*. 1971. T. 11. № 5. S. 893–899 (in Russian).
- Cronly-Dillon J.R. Units sensitive to direction of movement in goldfish tectum. *Nature*. 1964. V 203 P 214–215. DOI: 10.1038/203214a0
- Damjanovic I., Maximova E., Maximov V. Receptive field sizes of direction-selective units in the fish tectum. *Journal of Integrative Neuroscience*. 2009. V. 8. № 1. P. 77–93. DOI: 10.1142/S021963520900206X
- Damjanovic I., Maximova E., Maximov V. On the organization of receptive fields of orientation-selective units recorded in the fish tectum. *Journal of Integrative Neuroscience*. 2009. V 8. № 3. P 323–344. DOI: 10.1142/S0219635209002174
- Douglas R.H. The transmission of the lens and cornea of the brown trout (*Salmo trutta*) and goldfish (*Carassius auratus*) – effect of age and implications for ultraviolet vision. *Vision Res*. 1989. V. 29. P. 861–869.
- Gaestesland R.C., Howland B., Lettvin J.Y., Pitts W.H. Comments on microelectrodes. *Proc IRE*. 1959. V. 47 P. 1856–182.
- Govardovskii V. I., Fyhrquist N., Reuter T., Kuzmin D.G., Donner K. In search of the visual pigment template. *Visual Neurosci*. 2000. V. 17. P. 509–528. DOI: 10.1017/S0952523800174036
- Jacobson M., Gaze R.M. Types of visual response from single units in the optic tectum and optic nerve of the goldfish. *Q J Exp Physiol*. 1964. V. 49. P. 199–209. DOI: 10.1113/expphysiol.1964.sp001720
- Kawasaki M., Aoki K. Visual responses recorded from the optic tectum of the Japanese dace, *Tribolodon hakonensis*. *J Comp Physiol A*. 1983. V. 152. P. 147–153. DOI: 10.1007/BF00611180
- Liege B., Galand G. Types of single-unit visual responses in the trout's optic tectum, in Gudikov A (ed.). *Visual Information Processing and Control of Motor Activity*. Sofia. Bulgarian Academy of Sciences. 1971. P. 63–65.
- Maximova E., Govardovskii V., Maximov P., Maximov V. Spectral sensitivity of direction-selective ganglion cells in the fish retina. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2005. V. 1048. P. 433–434.
- Wartzok D., Marks W.B. Directionally selective visual units recorded in optic tectum of the goldfish. *J Neurophysiol*. 1973. V. 36. P. 588–604.
- Yang G., Masland R.H. Direct visualization of the dendritic and receptive fields of directionally selective retinal ganglion cells. *Science*. 1992. V. 258. P. 1949–1952. DOI: 10.1126/science.1470920
- Yang G., Masland R.H. Receptive fields and dendritic structure of directionally selective retinal ganglion cells. *J Neurosci*. 1994. V. 14. P. 5267–5280.

REFERENCES

- Vinogradov Yu.A. *Elektronnye pribory v elektro-fiziologicheskikh, morfologicheskikh i etologicheskikh issledovaniyakh*. [Electronic devices for electrophysiological, morphological and ethological studies] Preprint № 13. Vladivostok. DVNTs AN SSSR. 1986. 23 s. (in Russian).
- Zenkin G.M., Pigarev I.N. Detektornye svoystva ganglioznykh kletok setchatki shchuki. [Detector properties of ganglion cells in the pike retina] *Biofizika*. 1969. T. 14. № 4. S. 722–730 (in Russian).
- Maksimov V.V., Maksimova E.M., Maksimov P.V. Klassifikatsiya orientatsionno-izbiratel'nykh elementov, registriruemyykh v tektume karasya. [Classification of the orientation selective units recorded in goldfish tectum]

Receptive field sizes of sustained ganglion cells in the retina of *Carassius gibelio*

A. T. Aliper

*Institute for Information Transmission Problems of the RAS (Kharkevich Institute),
Bolshoy Karetny per. 19, build.1, 127051 Moscow*

Responses of sustained ganglion cells were recorded extracellularly in superficial layers of the tectum opticum of *Carassius gibelio*. Receptive fields were mapped with contrast spots flickering sequentially in different places of stimulation area (random checkerboard canonical method). The length, width and orientation of the excitatory receptive field were evaluated according to the two-dimensional equivalent of the standard deviation for this data set. Estimated mean of the excitatory receptive field sizes of the sustained ganglion cells in the fish retina is approximately 4.5° which is almost identical to previously measured receptive fields of the direction selective ganglion cells for the same species. We can also state that generally receptive fields of the sustained ganglion cells are oriented horizontally which can evidence for the pattern of their mosaic.

Key words: retina, ganglion cells, receptive fields.