

УДК 612.84

ОРГАНИЗАЦИЯ ДИРЕКЦИОНАЛЬНОЙ ИЗБИРАТЕЛЬНОСТИ ГАНГЛИОЗНЫХ КЛЕТОК СЕТЧАТКИ. ОБЗОР

© 2015 г. Е. М. Максимова

Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН
127994 Москва, Б. Каретный пер., 19
E-mail: maximova@iitp.ru

Поступила в редакцию 16.10.2014 г.

Операция вычисления направления движения стимула в поле зрения выполняется впервые уже в сетчатке дирекционально избирательными ганглиозными клетками (ДИ ГК). Разнообразные зрительные стимулы (границы, пятна, полосы разной степени контраста), движущиеся в их рецептивном поле (РП) в предпочтительном направлении вызывают бурную реакцию. На движение тех же стимулов в противоположном направлении (“0”-направление) клетки не реагируют, равно как и на включение – выключение общего освещения. Изучение этих загадочных клеток продолжается 50 лет. И только в последнее десятилетие, благодаря достижениям геной инженерии, новейшим методам морфологических исследований и компьютеризации механизм дирекциональной избирательности окончательно разгадан (Borst, Euler, 2011; Vaney et al., 2012).

Ключевые слова: сетчатка, дирекционально избирательные ганглиозные клетки, звёздчатые амакриновые клетки, биполяры, дендриты, рецептивное поле, синапсы, нейромедиаторы, развитие.

ДИРЕКЦИОНАЛЬНО ИЗБИРАТЕЛЬНЫЕ ГАНГЛИОЗНЫЕ КЛЕТКИ (ДИ ГК) СЕТЧАТКИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

В сетчатке позвоночных описаны два класса ДИ ГК, так называемые “медленные” и “быстрые”, работающие в разных диапазонах скоростей движений стимулов. “Быстрые” ДИ ГК проецируются в тектум оптикум (ТО) и латеральное коленчатое тело (ЛКТ), а “медленные” – в ядра добавочной зрительной системы (ДЗС). “Быстрые” ДИ ГК млекопитающих делятся на четыре типа по признаку предпочтения к одному из направлений движения стимула: темпороназальное, назотемпоральное, дорзовентральное и вентродорзальное (Barlow, Levick, 1965; Oyster, Barlow, 1967; Weng et al., 2005). Они относятся к on-off типу, так как безразличны к знаку контраста стимула относительно фона. “Медленные” ДИ ГК (on типа) выделяют три предпочтительных направления, соотносящиеся с плоскостями полукружных каналов (Barlow et al., 1964; He, Masland, 1998; Vaney et al., 2001; Sun et al., 2006; Yonehara et al., 2008).

ДИ ГК СЕТЧАТКИ РЫБ

“Быстрые” ДИ ГК сетчатки рыб имеют ряд отличий от ДИ ГК млекопитающих. Они делят-

ся на две группы, чувствительные к знаку контраста стимула относительно фона, т.е. на on- и off- типы. В каждой группе есть ДИ ГК, реагирующие на одно из трех направлений движения стимула: темпороназальное, вентродорзальное и дорзовентральное, отстоящих друг от друга примерно на 120° (Maximov et al, 2005; Максимов и др., 2005). Таким образом, в сетчатке рыб шесть типов “быстрых” ДИ ГК, которые, как и ДИ ГК млекопитающих, тоже проецируются в ТО.

Наличие у рыб трех групп ДИ ГК, проецирующихся в ТО, выделяющих три (а не четыре, как у млекопитающих) предпочтительных направления, было показано независимым методом визуализации ионов кальция (Ca^{2+} imaging) на мальках аквариумной рыбки семейства карпообразных *Danio rerio* (Nikolaou et al., 2012).

Данио в настоящее время – идеальный модельный объект нейрогенетики и нейрофизиологии (Fadoola, Dowling, 2008). Данио легко содержать, у него быстрое развитие. Малёк освобождается из икринки на третий день после оплодотворения. Он имеет хорошо развитые глаза и обладает целым рядом зрительно обусловленных поведенческих реакций, как-то положительный фототаксис, прослеживание, оптокинетический и оптомоторный рефлекс, пищевой рефлекс,

избегание (Portugues, Engert, 2012). Геном данио практически полностью проанализирован, что позволяет создавать трансгенные линии с заданными свойствами.

Благодаря тому, что малек совершенно прозрачен, можно использовать оптические методы регистрации его нервной активности, так называемый Ca^{2+} imaging. Этот метод основывается на том, что при возбуждении нейрона при деполяризации через открывающиеся в мембране потенциал зависимые каналы из внеклеточной среды внутрь клетки входят ионы кальция. Изменение их внутриклеточной концентрации отслеживается при помощи потенциал зависимых красок или генетически встроенных индикаторов кальция (Arenkiel et al., 2009; Tian et al., 2009; Grienberger, Konnerth, 2012; Walker et al., 2013).

Картирование ретинальных входов в ТО мальков Danio. В зародыш данио на стадии четырёх бластомеров в синаптофизин – главный белок стромы синаптических пузырьков, содержащих нейромедиатор, был встроен индикатор Ca^{2+} (GCaMP3). Затем была произведена трансгенная линия данио, экспрессирующая результирующий зонд (SyGCaMP3) только в ганглиозных клетках сетчатки. Это позволило регистрировать зрительно вызванные изменения содержания кальция в терминалях аксонов ганглиозных клеток в интактном мозге данио (Nikolaou et al., 2012).

Малька, обездвиженного гелем агарозы, в камере с прозрачными стенками помещали под микроскоп. Глаз стимулировали контрастными решетками, движущимися в 12 различных направлениях, и через прозрачные кости черепа под микроскопом в ТО измеряли свечение индикатора Ca^{2+} методом двухфотонной регистрации (Nikolaou et al., 2012). Мощность свечения индикатора в единицу времени фиксировалась в каждом вокселе – единичном объеме (меньшем размера типичного пресинаптического бутона). Стратегия объективного трехмерного повоксельного анализа возбуждения в ТО позволила охарактеризовать функциональное состояние ретинальных входов в ТО и картировать эти входы, независимо от морфологии терминалей аксонов ганглиозных клеток и тектального нейропиля. Было обнаружено, что Stratum fibrosum et griseum superficiale (SFGS), который содержит терминали большинства аксонов, приходящих в ТО, подразделяется на “пластины”, содержащие либо дирекционально-, либо ориентационно избирательные входы. Самая поверхностная и самая мощная пластина “высвечивается” при движении полос в каудоростральном направлении, глубже – пластина свечения при движении

стимулов сверху вниз и снизу вверх. Еще глубже высвечивались области, чувствительные к ориентации стимулов, вертикальной и горизонтальной (Nikolaou et al., 2012). Послойное разделение ретинальных входов в ТО мальков, выделяющих три предпочтительных направления движения стимулов и две предпочтительные ориентации, и их сравнительные мощности, соответствуют данным, полученным ранее методом экстраклеточной регистрации электрической активности аксональных терминалей в ТО взрослых рыб (Jacobson, Gaze, 1964; Maximov et al., 2005; Максимов и др., 2005). Разделить ретинальные входы мальков на on- и off-типы не представлялось возможным, поскольку стимулами служили решетки.

Выделение трёх, а не четырёх предпочтительных направлений ДИ ГК сетчатки, проецирующихся в ТО, описано также у черепахи и японского перепела (Bowling, 1980; Uchiyama et al., 2000).

СТРОЕНИЕ ДЕНДРИТОВ ДИ ГК

Морфология классических ДИ ГК. Причину асимметрии реакции ДИ ГК в первую очередь пытались найти в предположительно асимметричной форме их дендритов, которая совместно с нелинейностью проведения по дендритам могла бы её обеспечить. Однако внутриклеточное окрашивание показало, что классические “быстрые” ДИ ГК, выделяющие разные направления движения стимулов, морфологически неотличимы друг от друга. Плоские кружевные кроны их дендритов имеют округлую форму и симметричны, относительно тела клетки. Они ветвятся в двух стратах внутреннего синаптического слоя (ВСС), где костратифицированы с отростками on- и off-популяций звездчатых (starburst) амакриновых клеток (ЗАК). Дендриты “медленных” ДИ ГК, тоже симметричны относительно тела клетки, костратифицированы с одной из страт “быстрых” (Barlow et al., 1964; Famiglietti, 1992; He, Masland, 1998). У разных исследованных животных разных видов отмечено сходство строения крон ДИ ГК (Максимова и др., 2006; Максимова, 2008).

Участки веточек дендритов ДИ ГК разных типов кофасцикулированы между собой и с отростками ЗАК. Тщательная морфометрия дендритных ветвлений, подсчет первичных, вторичных и третичных отростков дендрита в разных участках дендритного поля не выявили никаких корреляций относительно предпочтительного и 0-направления в рецептивном поле ДИ ГК (Kittila, Massey, 1997; He et al., 1999; Dong et al., 2004; Chen, Chiao, 2008 a).

Морфология ДИ ГК, обнаруженных при трансгенном маркировании. Работы последних лет расширили и уточнили классификацию “быстрых” ДИ ГК млекопитающих. Созданы линии трансгенных животных с мечеными флуоресцентными белками ДИ ГК разных типов и проведены опыты с отведением их электрических реакций. Методом трансгенного маркирования были обнаружены новые морфологические типы ДИ ГК с кроной дендрита, асимметричной относительно тела клетки. В электрофизиологических опытах они неотличимы от классических “быстрых”.

На мышах с GFP (зеленым флуоресцирующим белком), селективно экспрессирующимся в on-off “быстрых” ДИГК с назотемпоральным предпочтительным направлением и асимметричными кронами дендритов, проведена двухфотонная регистрация их реакций на свет и прослежены полные карты их центральных проекций. Оказалось, что эти клетки представляют подгруппу классических “быстрых” on-off ДИГК, выделяющих направление “назад”, а их асимметричные кроны дендритов ориентированы в предпочтительном направлении. Как и ранее известные “быстрые” ДИ ГК они проецируются исключительно в верхний бугорок четверохолмия и дорзальное ЛКТ, где их аксональные окончания расположены удаленно от синаптических окончаний не дирекционалов (Huberman et al., 2009; Kay et al., 2011; Rivlin-Etzion et al., 2011; Trenholm et al., 2011).

Описана подгруппа “быстрых” on-off ДИ ГК, кодирующих направление “вперед”, с асимметричными кронами дендритов, ориентированными в предпочтительном направлении. Показано, что морфологические асимметрии совместно с нелинейностью проведения по дендритам генерируют центрифугальное предпочтение (от сомы к дендриту).

Охарактеризованы трансгенные линии мышей с селективно помеченными on-off дирекционалами, выделяющими вентральное или назальное направление, и линию, маркирующую две популяции – вентрального и дорзального предпочтения (De la Huerta et al., 2012). Во всех этих случаях направление ветвления дендритного дерева соответствовало вектору предпочтительного направления. Уровни ветвлений дендритов, как и у классических ДИ ГК с симметричными дендритами, находились на уровнях ветвления отростков on- и off-популяций ЗАК (Weng et al., 2005).

В 2008 г. методом трансгенного маркирования адгезивных молекул контактов (JAM-B) желтым флуоресцирующим белком (YFP) в сетчатке мыши обнаружен еще один новый тип “быст-

рых” off ДИ ГК с характерной асимметричной кроной дендритов. Показано, что в этом случае именно асимметрия кроны имеет единственно решающее значение в механизме дирекциональности. Дендриты off-ДИ ГК стратифицированы дистальнее страты отростков ЗАК в подслоях, где стратифицированы отростки глицинэргических и дофаминэргических амакриновых клеток. Вероятно, и нейромедиаторные механизмы дирекциональной избирательности этих клеток отличны от описанных ранее (Kim et al., 2008; Kim et al., 2010; Е.М.Максимова, 2009; Trenholm et al., 2011; Kay et al., 2011).

Каждый из вновь описанных типов ДИ ГК, как и классические ДИ ГК, образуют свою дендритную мозаику (tiling) во ВСС. Территории дендритов “быстрых” ДИ ГК, выделяющих одно направление, практически не перекрываются, но перекрываются с дендритными мозаиками ДИ ГК, выделяющих другие направления (Amthor, Oyster, 1995; Vaney, 1994). Это же свойство отмечено и для “медленных” ДИ ГК (Yonehara, et al., 2008; Yonehara et al., 2009).

НЕЙРОМЕДИАТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДИРЕКЦИОНАЛЬНОСТИ

Как уже отмечалось, кроны дендритов on-off “быстрых” (в том числе и “быстрых” ДИ ГК с асимметричными кронами) и on- “медленных” ДИ ГК костратифицированы с отростками on- и off-популяций ЗАК. Эти амакриновые клетки – единственный источник ацетилхолина (АХ) в сетчатке. Кроме АХ они содержат и ГАМК (Brecha, 1988; Vaney, Young, 1988; Yoshida et al., 2001). Эти нейромедиаторы компартиментализованы в разных синаптических пузырьках. При возбуждении ЗАК оба медиатора выделяются кальций зависимым механизмом синаптически из варикозов на дистальных участках дендритов (O'Malley et al., 1992; Lee et al., 2010). На изолированной сетчатке кролика было показано, что АХ усиливает импульсную реакцию ДИ ГК при движении стимулов по всем направлениям, тогда как за асимметрию реакции ДИ ГК (вытормаживание реакции при движении стимула в “0”-направлении) отвечает ГАМК (He et al., 1999; Lee et al., 2010; O'Malley et al., 1992). Блокада ГАМК-А рецепторов пикротоксином на изолированной сетчатке приводит к тому, что ДИ ГК начинают реагировать на движение стимулов в любых направлениях (Caldwell et al., 1978; He, Masland, 1997). ГАМК обнаруживается в амакриновых клетках и других типов (Marc 1986; Максимова, 2008). Однако доказано, что в

организации дирекциональной избирательности быстрых ДИ ГК работает ГАМК именно звездчатых амакриновых клеток. ЗАК признаны ключевыми элементами в организации дирекциональной избирательности ДИ ГК (Yoshida et al., 2001). В формировании свойств медленных on-ДИ ГК возможно, кроме ЗАК, участвуют и длинноаксонные ГАМКэргические амакриновые клетки (Ackert et al., 2009).

ЗВЁЗДЧАТЫЕ АМАКРИНОВЫЕ КЛЕТКИ

Морфология отростков ЗАК. С целью приблизиться к пониманию организации свойства дирекциональной избирательности ДИ ГК была подробно изучена морфология и физиология ЗАК. На сетчатках разных животных показано, что они образуют две зеркально симметричные популяции на дистальной и проксимальной границах ВСС а их отростки ветвятся в двух стратах ВСС, в on- и off- его порциях. Как и ДИ ГК, ЗАК имеют центрально симметричные, относительно тела, плоские кроны отростков (Tauchi, Masland, 1984). Отростки покрыты варикомами особенно многочисленными в дистальной трети кроны. (Отростки ЗАК не являются дендритами в классическом понимании термина, так как их варикома содержат и пост- и пресинаптические образования, однако, в научной литературе их обычно называют дендритами). В проксимальной порции “кроны” больше пост-, а в дистальной трети – пресинапсов (Famiglietti, 1991). ЗАК сетчатки рыб (акулы, сомика, данио) имеют те же характерные особенности морфологии и медиаторной специфичности, что и ЗАК млекопитающих (Brandon, 1991; Yazulla, Studholme, 2001; Максимова, 2008). ЗАК получают входные сигналы от биполяров и передают свои сигналы на ДИ ГК. В сетчатке млекопитающих описано десять типов колбочковых и два типа палочковых биполяров (Wässle et al., 2009). В сетчатке рыбы данио – двенадцать типов биполяров (Famiglietti, 2002; Dowling, 2005). Аксональные терминалы биполяров разных типов ветвятся на разных уровнях ВСС, образуя каждый на своем уровне мозаичное покрытие (tiling). Какие именно типы биполярных клеток используются в построении монтажной схемы ДИ ГК будет описано ниже. Отростки ЗАК в каждой из страт ветвления в on- и off- пластинах ВСС, в отличие от аксональных терминалов биполяров, сильно перекрываются (Masland, 2001; Wässle et al., 2009; Masland, 2012). Фактор перекрытия отростков ЗАК составляет от 20 до 70, в зависимости от области сетчатки (Masland et al., 1984; Vaney, 1984).

При сравнении морфологии наложенных друг на друга дендритных деревьев отдельной ДИ ГК и ЗАК (предположительно взаимодействующих), помеченных внутриклеточно на сетчатке кролика, отмечалось лишь близкое совпадение размеров их дендритных полей и кофасцикуляция отростков (Dong et al., 2004; Chen, Chiao, 2008 a).

Распространение возбуждения в ЗАК. Нетривиальная морфология ЗАК (отсутствие выраженных аксона и дендритов с их классическими функциями приема и передачи сигналов), отростки которых с пре- и пост – синаптическими специализациями на варикомах, тем самым как бы объединяют функции дендритов и аксонов, сильное перекрытие отростков, – всё наводило на мысль и об особенностях взаимодействия ЗАК с ДИ ГК. Электрофизиологическая регистрация внутриклеточной активности ЗАК ничего не прояснила (Bloomfield, 1992).

Новые особенности ЗАК, существенные для понимания организации дирекциональной избирательности, были обнаружены методом (Ca^{2+} imaging) – визуализацией внутриклеточной концентрации йонов кальция (Euler et al., 2002). Этот метод имеет дополнительные возможности по сравнению с электрофизиологическими методами. В частности, он позволяет наблюдать развитие клеточного возбуждения на субклеточном уровне *in vivo* в реальном времени.

Методом двухфотонной оптической регистрации концентрации внутриклеточного кальция при помощи потенциал зависимой краски Oregon Green BAPTA-1 было показано, что возбуждение развивается от тела клетки центрифугально. Оно может распространяться от сомы к окончаниям отростка в одном из секторов дендритного дерева, не затрагивая остальную крону. Первичные ветвящиеся отростки ЗАК, радиально отходящие от тела клетки (3-5 секторов), электрически независимы друг от друга (Miller, Bloomfield, 1983; Euler et al., 2002; Hausselt et al., 2007). Сигналы кальция в дендрите, но не соматический мембранный потенциал, обладают дирекциональной избирательностью. Центрифугальное направление движения стимула (от тела к концам отростков) является предпочтительным. (Механизм центрифугального распространения возбуждения в ЗАК был открыт в 2014 г. и будет описан ниже).

Секторы отростков отдельной ЗАК, ориентированные радиально в разных направлениях, могут передавать сигналы на дендриты нескольких ДИ ГК, выделяющих разные предпочтительные направления, тем самым принимая участие в формировании дирекциональной избиратель-

ности каждой из них (Briggman et al., 2011). В то же время в организацию дирекциональной избирательности каждой ДИ ГК могут вносить свой вклад однонаправленные перекрывающиеся секторы дендритов всех близлежащих ЗАК (Masland, 2012).

Оставалось непонятно каким образом асимметричное возбуждение ЗАК, в результате которого выделяется ГАМК, избирательно передается на дендриты разных типов ДИ ГК. Вопрос осложнялся, по крайней мере, двумя обстоятельствами: поля отростков звездчатых амакриновых клеток сильно перекрываются; отростки ЗАК и дендритов ДИ ГК с разными предпочтительными направлениями не только костратифицированы, но и кофасцикулированы (Famiglietti, 1992; Vaney et al., 2001; Dong, et al., 2004).

МЕХАНИЗМ ДИРЕКЦИОНАЛЬНОЙ ИЗБИРАТЕЛЬНОСТИ ДИ ГК

Было очевидно, что для вычисления направления движения стимула (если нет асимметрии дендритов) должно быть избирательное асимметричное “напаивание” тормозных (ГАМКэргических) синапсов ЗАК только на определенный участок дендрита ДИ ГК.

Убедительно показать, что звездчатые амакриновые клетки образуют ГАМКэргические синапсы только с 0-стороны дендритного дерева on-off “быстрых” ДИ ГК, а холинэргические синапсы на всех направлениях, удалось в 2010 г. (Lee et al., 2010). На изолированной сетчатке кролика были выполнены петч-кламп отведения одновременно от пар – ДИ ГК и звездчатых амакриновых клеток (всего 46 пар). Определяли предпочтительное направление ДИ ГК, картировали ее РП. Тело амакриновой клетки (в изучаемой паре) находилось примерно в 10-градусной окрестности от тела ДИ ГК, тогда отростки амакриновой клетки должны перекрывать (по оценкам) примерно половину дендритного дерева ДИ ГК (что подтвердилось при последующем внутриклеточном окрашивании этих клеток краской “Люцифер желтый”). ЗАК деполяризовали сериями толчков тока и регистрировали ответные реакции в ДИ ГК. В 22 парах ЗАК находилась с предпочтительной стороны рецептивного поля ДИ ГК, в 20 парах – с нулевой его стороны, и в четырех – в промежуточном положении. Максимальная амплитуда тока в ДИ ГК ($34 \text{ pA} \pm 9 \text{ pA}$), (вызванная пресинаптической поляризацией ЗАК от -70 до 10 мВ) была существенно меньше, когда ЗАК находи-

лась в предпочтительном направлении от ДИ ГК, чем когда ЗАК находилась в 0 ($321 \pm 28 \text{ pA}$) или промежуточном ($228 \pm 35 \text{ pA}$) положении. Максимальная амплитуда АХ реакции (никотинового тока) в ДИ ГК (вызванная пресинаптической деполяризацией ЗАК от -70 до -10 мВ) не зависела от взаиморасположения ЗАК и ДИ ГК (Lee et al., 2010). Сходные результаты были получены ранее другими авторами на двух парах ЗАК-ДИГК (Fried et al., 2002).

Косвенное указание на асимметричную связь дендритов ЗАК и ДИГК было получено в электрофизиологических опытах на ДИ ГК серебряного караса (при отведении экстраклеточных реакций от окончаний их аксонов в ТО). Зона тормозного взаимодействия стимулов выявлялась всегда с “нулевой” стороны рецептивного поля ДИ ГК, независимо от того, какое из трех предпочтительных направлений выделяла исследуемая клетка (Damjanović et al., 2009; Damjanović et al., 2014).

Реконструкция синаптических контактов ЗАК и ДИ ГК. Асимметричное “напаивание” тормозных синапсов звездчатых амакринов на дендриты ДИ ГК, выделяющих разные направления движения, было продемонстрировано независимо и другим, прямым способом: совмещением двухфотонного функционального кальциевого имаджинга на интактной сетчатке и SBEM – serial block-face scanning electron microscopy того же участка зафиксированной сетчатки (Briggman et al., 2011).

Процедура SBEM состоит в том, что электронный микроскоп в автоматическом режиме сканирует поверхность образца ткани (сетчатки) и запоминает (спасает) результирующее изображение. Затем нож микротомы удаляет ультратонкий срез ткани, и новая поверхность образца сканируется и запоминается. Так, сетчатку сканируют уровень за уровнем, и ее трехмерная структура сохраняется компьютером.

Для идентификации “быстрых” ДИ ГК метили слой ганглиозных клеток сетчатки взрослой мыши индикатором кальция Oregon Green 488BAPTA-1 методом массовой электропорации. Сетчатке предъявляли решетки, движущиеся в 12 различных направлениях. На участке сетчатки ($300 \times 300 \text{ мкм}$) было визуализировано 25 ЗАК и 25 “быстрых” ДИ ГК. Последние были представлены четырьмя группами клеток с разными предпочтительными направлениями, условно названными северным (шесть ДИ ГК), восточным (восемь ДИ ГК), южным (семь ДИ ГК) и западным (четыре ДИ ГК). Их расположение было отмечено относительно сети кровеносных сосудов. Затем

сетчатку фиксировали, и по карте кровеносных сосудов на зафиксированной сетчатке расположение тел этих клеток было восстановлено.

Были реконструированы “скелеты” 25 ЗАК и 25 ДИ ГК. Рассмотрены все контакты между отростками ЗАК и дендритами шести ДИ ГК (включавших ГК четырех предпочтительных направлений). Из 9260 контактов отростков ЗАК и ДИ ГК 831 были признаны синапсами. Картирование положения этих тормозных синапсов на участках дендритов четырех групп ДИ ГК с разными предпочтительными направлениями позволило увидеть значительную асимметрию в количестве синаптических контактов ЗАК на их дендритах. Синапсы в основном обнаруживались на участках дендритов ДИ ГК, ориентированных вдоль “0”-направления. Например, ориентированные “на север” веточки дендритов всех 25 ЗАК образовывали синаптические контакты, главным образом на веточках дендритов разных ДИ ГК, ориентированных “в южном” предпочтительном направлении (Briggman et al., 2011; Максимова, 2013).

ДИ ГК приобретают дирекциональную избирательность, главным образом за счет собирания тех входов от ЗАК, которые подавляют возбуждение в 0-направлении, т.е. от веточек, ориентированных вдоль 0-направления. Эта морфологическая картина подтверждает гипотезу об опережающем торможении возникновения дендритных спайков ДИ ГК при движении стимула в 0-направлении.

В работе 2011 г. реконструкция скелетов ЗАК и ДИ ГК проводилась практически вручную. Вскоре была разработана компьютерная программа, восстанавливающая 3 D морфологию клеток по серии SBEM (Helmstaedter et al., 2011). Это требует больших затрат времени специалистов и денег. В настоящее время в сеть запущен проект – игра “EyeWire” – (сборка) монтаж сетчатки, включающий в процесс обработки данных SBEM, кроме программы искусственного интеллекта (AI), игроков-волонтеров, не имеющих специального образования. Совместная работа AI и волонтеров повышает вероятность правильной реконструкции нейрона и дает существенную экономию (Kim et al., 2014). Именно так было обнаружено, как и почему возникает распространение возбуждения в ЗАК от тела к окончаниям отростков, и показано, что с отростками ЗАК образуют синапсы два типа биполяров: (BC 2) и (BC 3a). На основании количественного анализа области контакта аксона биполяра на веточке ЗАК и ее глубины во ВСС сетчатки было показано, что биполяры (BC 2) предпочитают образовывать синапсы на участке

отростков ЗАК вблизи ее тела (на расстоянии 20-40 мкм), тогда как биполяры (BC 3a) – вдали от тела (на расстоянии 100 мкм). Известно, что ближайшие к телу ЗАК биполяры запаздывают по времени реакции на зрительные стимулы относительно удаленных биполяров. Математическая модель показывает, как такое специфическое пространственно-временное “напаивание” синапсов обеспечивает центрифугальное распространение возбуждения в отростках ЗАК. При движении стимула через рецептивное поле ЗАК в направлении к телу возбуждение каждого из типов биполяров не достаточно для генерации дендритного постсинаптического сигнала в ЗАК. При движении стимула от тела к окончаниям, когда удаленный от тела биполяр (BC 3a) возбуждается, его “догоняет” “запаздывающее” возбуждение ближайшего к телу биполяра (BC 2), они суммируются, что уже достаточно для генерации дендритного импульса (Kim et al., 2014). В результате происходит выделение тормозного медиатора из терминальных варикозов дендритов ЗАК (пресинапсов) на дендриты ДИ ГК (рисунок).

Распространение возбуждения на дендрите ганглиозной клетки и связанных с ней биполярной и звёздчатой амакриновой клеток в реальном времени. Большинство авторов считают, что организация дирекциональной избирательности “медленных” и “быстрых” ДИ ГК принципиально одинакова. Дендритные кроны оп- “медленных” ДИ ГК, как уже говорилось, костратифицированы с оп- кронами “быстрых” ДИ ГК и оп-стратами ЗАК. Их крупные редкие тела расположены сразу под слоем зрительных волокон в сетчатке. Они легко узнаваемы и доступны для отведения электрических реакций. На этом удобном объекте осуществлена мечта физиолога: зарегистрирована совместная активность элементов, входных по отношению к дирекционально избирательным ганглиозным клеткам (биполяров и ЗАК), и самих этих клеток на субклеточном разрешении. Для этого применена комбинация метода транссинаптического трассирования вирусом, нагруженным генетически встроенным индикатором кальция (GCaMP3), с двух фотонной визуализацией йонов кальция (Yonehara et al., 2013). Использована модификация метода вирусного трассирования рекомбинантным вирусом бешенства, нагруженным EGFP (усиленный зеленый флуоресцирующий белок), с ограничением инфицирования только тех нейронов, которые связаны одной синаптической передачей (Arenkiel, Ehlers, 2009).

Трассирование производилось из медиального терминального ядра добавочной зритель-

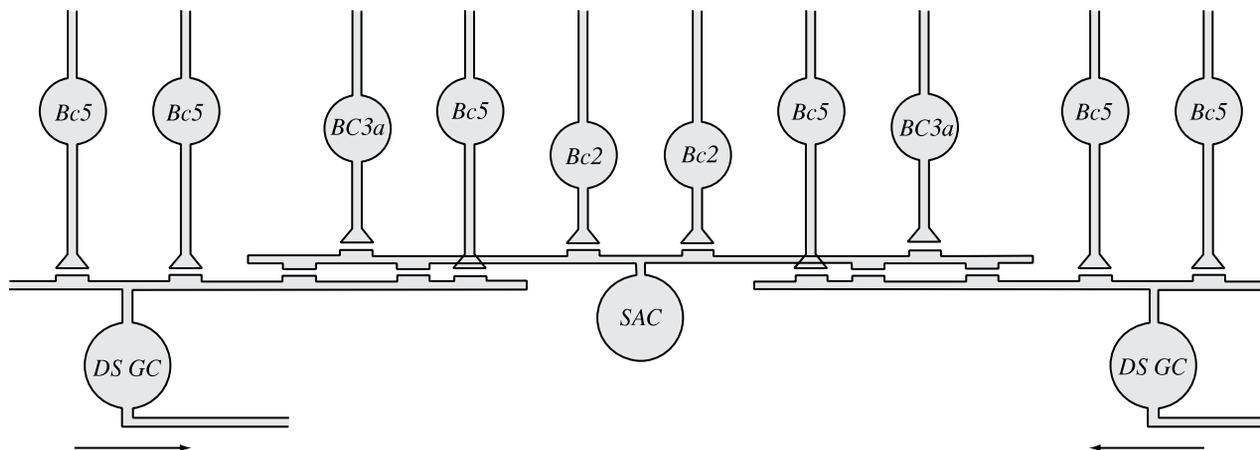


Схема организации дирекциональной избирательности ганглиозных клеток сетчатки.

SAC – звездчатая амакриновая клетка (ЗАК);

Bc2 – биполяры, образующие синапсы на дендрите ЗАК вблизи тела клетки;

BC 3a – биполяры, образующие синапсы на дендрите ЗАК, вдали от тела клетки;

Bc 5 – биполяры, образующие возбуждающие синапсы на дендритах дирекционально избирательных ганглиозных клеток (ДИ ГК);

DS GC – дирекционально избирательные ганглиозные клетки, выделяющие противоположные направления движения стимулов, левая *DS GC* – слева направо, правая *DS GC* – справа налево (обозначено стрелками).

ной системы, куда проецируются медленные оп-дирекциональные клетки сетчатки. В результате выкрашивалась ганглиозная клетка – Оп-медленный дирекционал и входные по отношению к нему, связанные с ним синаптически биполярные и ЗАК. Оказалось, что из десяти возможных типов биполяров с медленными оп-ДИ ГК синаптически контактируют оп-биполяры только одного типа – (*Bc 5*).

Проведена одновременная двухфотонная визуализация ионов Ca^{2+} на участке дендрита оп-дирекционала и связанных с исследуемой ДИ ГК отростков ЗАК и терминалей биполяров, при стимуляции движущимися зрительными стимулами. Показано, что индивидуальные дендриты ДИ ГК обладали той же дирекциональной избирательностью, что и реакция, регистрируемая от тела клетки. Отростки звездчатых амакринов, как уже было показано и ранее, обладали избирательностью вдоль центрифугальной оси. По контрасту с ними участки аксональных терминалей биполяров (*Bc 5*) не обладали дирекциональной избирательностью. Используя генетически кодируемый глутаматный индикатор *iGluSnFR*, оценивали также концентрацию глутамата, выделяемого синаптически терминалями биполяров, вокруг дендрита оп – дирекционала в процессе зрительной стимуляции движущимися стимулами (Marvin et al., 2013). Сигналы индикатора тоже не были дирекционально избирательны. Следовательно, первый этап, на котором возникает выделение

предпочтительного направления движения, наступает прямо на дендритах ганглиозных клеток (Yonehara et al., 2013).

В другой работе (Sivyer, Williams, 2013) на изолированной сетчатке кролика под визуальным контролем были выполнены отведения соматических и дендритных спайков от разных участков дендрита оп-дирекционала на стимулы, движущиеся в предпочтительном и 0-направлениях. Показано, что светлая полоска, движущаяся в предпочтительном направлении, вызывает генерацию дендритных спайков в терминальных дендритах. Они интегрируются и усиливаются по ходу дендритного дерева, приводя к генерации в аксоне потенциала действия. Напротив, когда стимул движется в 0-направлении, синаптическое торможение прямо подавляет генерацию спайков на терминальных дендритах, запрещает генерацию выходного сигнала. Аналогичные результаты получены на “быстрых” on-off ДИ ГК сетчатки мыши (Park et al., 2014). Измерение интенсивности флуоресценции генетически встроенного индикатора глутамата (*iGluSnFR*) показало, что высвобождение глутамата на on- и off- уровнях ветвлений дендритов ДИ ГК не имеет дирекциональной избирательности. В то же время одновременно регистрируемые возбуждающие токи в ДИ ГК показывают очевидную дирекциональную избирательность. При блокаде ГАМК-А рецепторов возбуждающие токи утрачивают дирекциональную избирательность. Эти результаты еще

раз подтверждают, что именно ГАМК, секретлируемая ЗАК, является единственным очевидным источником дирекциональной избирательности on-off “быстрых” ДИ ГК.

РАЗВИТИЕ ДИРЕКЦИОНАЛЬНОЙ ИЗБИРАТЕЛЬНОСТИ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Установление точных синаптических связей необходимо для развития нервной специализированной функциональной цепи (neural circuit) (Sanes, Zipursky, 2010). Морфогенез сетчатки, последовательность дифференцировки клеток разных типов и синаптогенез изучается разными методами (Серко et al., 1996). Цейтраферная покадровая съемка в течение долгого времени через короткие промежутки времени (Time-lapse imaging) сетчатки мальков данио показала, что первыми начинают протягивать свои нейриты в будущей ВСС амакриновые клетки. В частности, ЗАК закладываются и дифференцируются рано, обозначая дистальную и проксимальную границы ВСС (Stacy, Wong, 2003). Как только нейриты разных амакриновых клеток установят связь друг с другом, возникает его ламинарная организация. К образовавшимся пластинкам во ВСС приходят нейриты ганглиозных клеток. Дендриты ганглиозных клеток ведут себя по-разному: одни – сначала ветвятся диффузно, в дальнейшем ремоделируются, ограничивая ветвление в одной (или двух) стратах ВСС; другие – прицельно приходят к соответствующей пластине ВСС, не изменяя своего расположения впоследствии (Mumm et al., 2006; Tian, 2011). Это происходит до появления световой чувствительности. Аксоны биполярных клеток приходят в ВСС последними, после того как сформировались контакты между ганглиозными и амакриновыми клетками. Биполяры “замыкают” два синаптических слоя, НСС и ВСС, одновременно с появлением световой чувствительности, созреванием наружных сегментов рецепторов (Nikolaou, Meyer, 2012). При установлении синаптических контактов биполяров с дендритами ганглиозных клеток, вероятно, работают и ламинарные ключи, и нейромедиаторное сродство, и клеточная фенотипическая идентификация, и специфические адгезивные молекулы (Максимова, 2009; Williams et al., 2010). При установлении избирательных контактов участков дендритов звездчатых амакринов с контрпараллельными дендритными участками ДИ ГК такие ключи не могут быть использованы, так как участки дендритов ДИ ГК, выделяющих разные направления, костратифицированы и кофасцикулированы. Не

может быть использовано и нейромедиаторное сродство или только клеточная фенотипическая идентификация. Именно ориентация индивидуальных секторов отростков многих ЗАК, относительно контрпараллельных дендритных участков ДИ ГК, определяет формирование их тормозных синапсов (Briggman et al., 2011). Должны как-то учитываться дендритная геометрия и/или внутриклеточная активность (например, направление дендритного протоплазматического транспорта). На определенном этапе пренатального развития в ЗАК обнаруживаются импульсы, которые во взрослом состоянии исчезают (Zhou, Fain, 1996). Возможно, импульсная активность играет какую-то роль в установлении синаптических контактов с соответствующими ДИГК. Две группы исследователей, используя комплементарные методы фармакологии, электрофизиологии и оптогенетики, показали, что в раннем пренатальном развитии количество тормозных входов на дендрите ДИ ГК одинаково со всех сторон. Затем в течение двух дней на второй неделе постнатального развития количество тормозных синапсов и их мощность увеличиваются со стороны 0 направления, тогда как со стороны предпочтительного направления остается неизменным (Wei et al., 2011; Yonehara et al., 2011). Эти пластические изменения наступают независимо от нервной активности, ацетилхолиновых волн в сетчатке, что говорит о специальной генетической программе, определяющей развитие дирекциональной избирательности в сетчатке (Elstrott et al., 2008).

У 72-часового малька данио уже есть дирекциональность (Gebhardt et al., 2013).

Было показано как на “медленных” on-ДИ ГК мыши из панвентральной области сетчатки, так и на “быстрых” on-off ДИ ГК с симметричными и асимметричными кронами дендритов, что свойство дирекциональной избирательности не зависит от раннего зрительного опыта или его отсутствия при содержании в темноте. Ни дендритная морфология “быстрых” ДИ ГК, ни их аксональная стратификация в ТО не изменяются в процессе индивидуального развития (Sun, Han, He, 2009; Chen et al., 2009); Elstrott et al., 2008; Chan, Chiao, 2008 b; Chen et al., 2009; Sun et al., 2011).

Только off-ДИ ГК, кодирующие направление снизу вверх, асимметрию крон приобретают в процессе постнатального развития с П2 по П17 (Chen et al., 2009; Kim et al., 2010; Coombs et al., 2007).

Недавно показано на изолированных сетчатках кролика и мыши, что в период прорезания глаз

векторы предпочтительных направлений ДИ ГК не кластеризуются по каноническим направлениям (темпороназальному, назотемпоральному, дорзовентральному и вентрадorzальному), как у взрослых животных, а расположены диффузно (Chan, Chiao, 2013). Можно предположить, что сначала формируется избыточное количество ДИ ГК со всевозможными предпочтительными направлениями. В постнатальный период происходит отбор и выживание только тех из них, векторы предпочтительных направлений которых близки к каноническим. В постнатальный период в сетчатке описано несколько пиков апоптоза, в том числе пик апоптоза ганглиозных клеток в конце второй недели после рождения (Perquignot et al., 2003).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Механизм организации дирекциональной избирательности в сетчатке постепенно прояснялся в результате многолетних упорных исследований, выполненных разными методами научными группами разных стран. Теперь, наконец, он окончательно расшифрован благодаря применению современных методов оптогенетики, микроэлектродной регистрации импульсной активности, двухфотонной регистрации динамики ионов Ca^{2+} , SBEM с последующим восстановлением “всем миром” структуры клеток и их синаптических связей.

Операция вычисления предпочтительного направления реализуется в одной и той же сетчатке, по крайней мере, тремя разными способами:

– При помощи ЗАК путем асимметричного напаивания ГАМК-синапсов ЗАК на контрпараллельные участки дендритов ДИГК; при движении стимула в 0 направлении ГАМК “запрещает” генерацию и распространение дендритных спайков и, как следствие, – генерацию потенциала действия в аксоне ДИ ГК.

– ГАМКэргическое торможение, усиленное асимметрией кроны дендрита ГК, что обеспечивает большую надежность дирекциональной селективности;

– У единственного типа ДИ ГК мыши, а именно, off-ДИ ГК, выделяющих направление снизу вверх, только асимметрия дендрита определяет их дирекциональное предпочтение. Этот тип ГК отличается от всех прочих ДИ ГК и морфологически и процессом формирования в онтогенезе.

– Все “быстрые” ДИ ГК проецируются в ТО и ЛКТ, образуя там отдельные области аксональ-

ных терминалей, отличные от областей окончаний ГК других типов.

– Морфологическая схема (wiring) дирекциональной избирательности ганглиозной клетки закладывается в сетчатке рано, не зависит ни от ацетилхолиновых волн, ни от раннего зрительного опыта, что говорит о специальной независимой генетической программе их формирования.

У млекопитающих кластеризация предпочтительных направлений по четырем осям в период прорезания глаз – это процесс, независимый от формирования собственно дирекциональности. У 3-6-дневных мальков данио уже существует выделение трех предпочтительных направлений. Возможно, формирование групп ДИ ГК в сетчатке, выделяющих четыре или три предпочтительных направления у разных животных связано с их образом жизни и способом передвижения: на плоскости земли (млекопитающие) и в трехмерной воздушной или водной среде (рыбы, водные черепахи, выводковые птицы).

– Неразрешенным остаётся вопрос: как происходит взаимное узнавание дендритов ДИ ГК и контрпараллельных участков отростков ЗАК в онтогенезе?

– Относительно функции ДИ ГК в организации зрительно обусловленного поведения животных тоже нет однозначного ответа. Можно предположить, что их сигналы учитываются (используются) в разных формах поведения, поскольку в одной сетчатке только “быстрых” ДИ ГК (у млекопитающих) девять типов, аксоны которых оканчиваются на разных уровнях ТО и ЛКТ, отдельно от аксонов других типов ГК. Обычно реакцию ДИ ГК связывают с организацией слежения в оптомоторном барабане и организацией оптокинетического рефлекса. Обе эти формы поведения врожденные и не зависят от отсутствия зрительного опыта при темновом воспитании. Недавно сделана попытка связать работу ДИ ГК с быстрой реакцией ориентирования при пищевом конкурентном поведении у рыб-стрелков archer-fish (Tsvilling et al., 2012).

В процессе анализа зрительного изображения операция определения направления движения (отдельных объектов (local motion) – “быстрыми” ДИ ГК или всего зрительного окружения (global motion) – “медленными” ДИ ГК) очевидно полезна, может быть, даже необходима. Недаром дирекционально избирательные нейроны существуют на разных этажах зрительной системы как у позвоночных, так и беспозвоночных животных (Borst, Euler, 2011).

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 13-04-00371).

Автор благодарит В.В. Максимова за выполнение рисунка и И. Дамяновича за критическое прочтение рукописи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 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. Нейромедиаторы сетчатки и перестройки в нервных слоях сетчатки при дегенерации фоторецепторов. Обзор // Сенсорные системы. 2008. Т. 22. № 1. С. 36–51.
- Максимова Е.М. Молекулярно-генетическая идентификация нейронов сетчатки // Сенсорные системы. 2009. Т. 23. № 4. С. 283–292.
- Максимова Е.М. Функциональная асимметрия одного из типов нейронов сетчатки при видимой симметрии его морфологии // М.: ПИН РАН, 2013. С. 293–303.
- Максимова Е.М., Левичкина Е.В., Утина И.А. Морфология предполагаемых дирекционально-избирательных ганглиозных клеток, трассированных DiI в сетчатке рыб // Сенсорные системы. 2006. Т. 20. № 4. С. 279–287.
- Ackert J.M., Farajian R., Völgyi B., Bloomfield S.A. GABA Blockade Unmasks an OFF Response in ON Direction Selective Ganglion Cells in the Mammalian Retina // J. Physiol. 2009. V. 587. P. 4481–4495.
- Amthor F.R., Oyster C.W. Spatial organization of retinal information about the direction of image motion // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1995. V. 92. P. 4002–4005.
- Arenkiel B.R., Ehlers M.D. Review Article. Molecular genetics and imaging technologies for circuit-based neuroanatomy // Nature. 2009. V. 461. P. 900–907.
- Barlow H.B., Levick W.R. The mechanism of directionally selective units in rabbit's retina // J. Physiol. 1965. V. 178. P. 477–504.
- Borst A., Euler T. Seeing Things in Motion: Models, Circuits, and Mechanisms // Neuron. 2011. P. 974–994.
- Bowling D.B. Light responses of ganglion cells in the retina of the turtle // J. Physiol. (Lond). 1980. V. 299. P. 173–196.
- Brandon C. Cholinergic amacrine neurons of the dogfish retina // Vis. Neurosci. 1991. V. 6. P. 553–562.
- Brecha N., Johnson D., Peichl L., Wässle H. Cholinergic amacrine cells of the rabbit retina contain glutamate decarboxylase and γ -aminobutyrate immunoreactivity // Proc Natl Acad Sci USA. 1988. V. 85. P. 6187–6191.
- Briggman K.L., Helmstaedter M., Denk W. Wiring specificity in the direction-selectivity circuit of the retina // Nature. 2011. V. 471. P. 183–188.
- Caldwell J.H., Daw N.W., Wyatt H.J. Effects of picrotoxin and strychnine on rabbit retinal ganglion cells: lateral interactions for cells with more complex receptive fields. J. Physiol. 1978. V. 276. P. 277–298.
- Chan Y.-C., Chiao C.C. Effect of visual experience on the maturation of on-off direction selective ganglion cells in the rabbit retina // Vision Res. 2008. V. 48. P. 2466–2475.
- Chan Y.-C., Chiao C.-C. Symmetric Synaptic Patterns Between Starburst Amacrine Cells and Direction Selective Ganglion Cells in the Rabbit Retina // J. Comp. Neurol. 2008. V. 508. P. 175–183.
- Chan Y.-C., Chiao C.-C. The distribution of the preferred directions of the on-off direction selective ganglion cells in the rabbit retina requires refinement after eye opening // Physiol Rep. 2013. V. 1 (2). P. 1–16.
- Chen M., Weng S., Deng Q., Xu Z., He S. Physiological properties of direction-selective ganglion cells in early postnatal and adult mouse retina. // J. Physiol. 2009. V. 587. No 4. P. 819–828.
- Cepko C.L., Austin C.P., Yang X., Alexiades M., Ezzeddine D. Cell fate determination in the vertebrate retina // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. P. 589–595.
- Coombs J.L., Van Der List D., Chapula L.M. Morphological properties of mouse retinal Ganglion cells during postnatal development // J. Comp. Neurol. 2007. V. 503. P. 803–814.
- Damjanović I., Maximova E.M., Maximov V.V. Receptive field sizes of direction-selective units in the fish tectum // J. Integrati. Neurosci. 2009. V. 8. № 1. P. 77–93.
- Damjanović I., Maximova E.M., Aliper A., Maximov P., Maximov V.V. Opposing motion inhibits responses of direction-selective ganglion cells in the fish retina // J. Integrati. Neurosci. 2014.
- 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.
- Elstrott J., Anishchenko A., Greschner M., Sher A., Litke A.M., Chichilnisky E.J., Feller M.B. Direction selectivity in the retina is established independent of visual experience and cholinergic retinal waves // Neuron. 2008. V. 58(4). P. 499–506.
- Euler T., Detwiler P.B., Denk W. Directionally selective calcium signals in dendrites of starburst amacrine cells // Nature. 2002. V. 418. P. 845–852.
- Fadoola J.M., Dowling J.E. Zebrafish: A model system for the study of eye genetics // Progre. Ret. Eye Res. 2008. V. 27. P. 89–110.
- Famiglietti E.V. Synaptic organization of starburst amacrine cells in rabbit retina: analysis of serial thin sections by electron microscopy and graphic reconstruction // J. Comp. Neurol. 1991. V. 309. P. 40–70.
- Famiglietti E.V. Dendritic co-stratification of ON and on-off directionally selective ganglion cells with

- starburst amacrine cells in rabbit retina // *J. Comp. Neurol.* 1992. V. 324. P. 322–335.
- Famiglietti E.V.* 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.
- Fried S.I., Münch T.A., Werblin F.S.* Mechanisms and circuitry underlying directional selectivity in the retina // *Nature.* 2002. V. 420. P. 411–414.
- Gebhardt C., Baier H., F. Del Bene* Direction selectivity in the visual system of the zebrafish larva // *Frontiers in Neural Circuits.* 2013. V. 7. Article 111.
- Grienberger C., Konnerth A.* Imaging calcium in Neurons // *neuron.* 2012. N. 73. P. 862–885.
- Hausselt S.E., Euler T., Detwiler P.B., Denk W.* A Dendrite-autonomous mechanism for direction selectivity in retinal Starburst amacrine cells // *PLoS Biology.* 2007. V. 5. P. 1474–1493.
- He, S., Masland R.H.* Retinal direction selectivity after targeted laser ablation of starburst amacrine cells // *Nature.* 1997, V. 389, P. 378–382.
- He S., Masland R.H.* ON direction-selective ganglion cells in the rabbit retina: dendritic morphology and pattern of fasciculation // *Vis Neurosci.* 1998. V. 15. P. 369–375.
- He S., Jin Z.F., 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. P. 8049–8056.
- Helmstaedter M., Briggman K.L., Denk W.* High-accuracy neurite tracing for high-throughput neuroanatomy // *Nat. Neurosci.* 2011. V. 14. P. 1081–1088.
- Huberman A.D., Wei W., Elstrott J., Stafford B.K., Feller M.B., Barres B.A.* Genetic identification of an on-off direction-selective retinal ganglion cell subtype reveals a layer specific subcortical map of posterior motion // *Neuron.* 2009. V. 62. P. 327–334.
- Huerta I. De la, Kim I.-J., Voinescu P.E., Sanes J.R.* Direction-selective retinal ganglion cells arise from molecularly specified multipotential progenitors // *PNAS.* 2012. V. 109 № 43. P. 17663–17668.
- Jacobson M., Gaze R.M.* Types of visual response from single units in the optic tectum and optic nerve of the goldfish // *J. Exp. Physiol.* 1964. V. 49. P. 199–209.
- Kay J.N., De la Huerta I., Kim I.-J., Zhang Y, Yamagata M., Chu M.W., Meister M., Sanes J.R.* Retinal ganglion cells with distinct directional preferences differ in molecular identity, structure, and central projections // *J. Neurosci.* 2011. V. 31. No 21. P. 7753–7762.
- Kim I.-J., Zhang Y., Yamagata M., Meister M., Sanes J.R.* Molecular identification of a retinal cell type that responds to upward motion // *Nature.* 2008. V. 452. P. 478–482.
- Kim I.-J., Zhang Y., Meister M., Sanes J.R.* Laminar restriction of retinal ganglion cell dendrites and axons: subtype-specific developmental patterns revealed with transgenic markers // *J. Neurosci.* 2010. V. 30. P. 1452–1462.
- Kim J.S., Greene M.J., Zlateski A., Lee K., Richardson M., Turaga S.C., Purcaro M., Balkam M., Robinson A., Behabadi B.F., Campos M., Denk W., Seung H.S.* Space-time wiring specificity supports direction selectivity in the retina // *Nature.* 2014. V. 509. P. 331–6.
- Kittila C.A., Massey S.C.* Pharmacology of directionally selective ganglion cells in the rabbit retina // *J. Neurophysiol.* 1997. V. 77. P. 675–689.
- Lee S., Kim K., Zhou Z.J.* Role of ACh-GABA Ctransmission in detecting image motion and motion direction // *J. Neuron.* 2010. V. 11. P. 1159–1172.
- Marc R.E.* Neurochemical stratification in the inner plexiform layer of the vertebrate retina // *Vis. Res.* 1986. V. 26. P. 223–238.
- Marvin J.S., Borghuis B.G., Tian L., Cichon J., Harnett M.T., Akerboom J., Gordus A., Renninger S.L., Chen T.W., Bargmann C.I., Orger M.B., Schreier E.R., Demb J.B., Gan W.B., Hires S.A., Looger L.L.* An optimized fluorescent probe for visualizing glutamate neurotransmission // *Nat Methods.* 2013. V. 10. P. 162–170.
- Masland R.H.* The fundamental plan of the retina // *Nature.* 2001. V. 4. P. 877–886.
- Masland R.H.* The neuronal organization of the retina // *Neuron.* 2012. V. 76. N. 2. P. 266–80
- Masland R.H., Mills J.W., Hayden S.A.* Acetylcholine-synthesizing amacrine cells: identification and selective staining by using radioautography and fluorescent markers // *Proc. Roy. Soc. Lond. B.* 1984. V. 223. P. 79–100.
- Maximov V., Maximova E., Maximov P.* Direction Selectivity in the goldfish tectum revisited // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2005. V. 1048. P. 198–205.
- Miller R.F., Bloomfield S.A.* Electroanatomy of a unique amacrine cell in the rabbit retina // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1983. V. 80. № 10. P. 3069–3073.
- Mumm J.S., Williams P.R., Godinho L., Koerber A., Pittman A.J., Roeser T., Chien C.B.* In vivo imaging reveals dendritic targeting of laminated afferents by zebrafish retinal ganglion cells // *Neuron.* 2006. V. 52. P. 609–621.
- Nikolaou N., Lowe A.S., Walker A.S., Abbas F., Hunter P.R., Thompson I.D., Meyer M.P.* Parametric functional maps of visual inputs to the tectum // *Neuron.* 2012. V. 76. P. 317–324.
- Nikolaou N., Meyer M.P.* Imaging circuit formation in zebrafish // *Develop Neurobiol.* 2012. V. 72. P. 346–357.
- O'Malley D.M., Sandell J.H., Masland R.H.* Co-release of acetylcholine and GABA by the starburst amacrine cells // *J. Neurosci.* 1992. V. 12. № 4. P. 1394–1408.

- Oyster C.W., Barlow H.B.* Direction-selective units in rabbit retina: distribution of preferred directions // *Science*. 1967. V. 155. P. 841–842.
- Park S.G.H., Kim I.-J., Looger L.L., Demb J.B., Borghuis B.G.* Excitatory synaptic inputs to mouse on-off direction-selective retinal ganglion cells lack direction tuning // *J. Neurosci.* 2014. V. 34. № 11. P. 3976–3981.
- Perquignot M.O., Provost A.C., Saller S., Taupin P., Sinton K.M., Marchant D., Martinou J.C., Ameisen J.C., Jais J.-P., M. Abitbol M.* Major role of BAX in apoptosis during retinal development and in establishment of a functional postnatal retina // *Develop. Dynamics*. 2003. V. 228. P. 231–238.
- Portugues R., Engert F.* The neural basis of visual behaviors in the larval zebrafish // *Frontiers in Neural Circuits*. 2012. V. 6. Article 59. P. 1–9.
- Rivlin-Etzion M., Zhou K., Wei W., Elstrott J., Nguyen P.L., Barres B.A., Huberman A.D., Feller M.B.* Transgenic mice reveal unexpected diversity of on-off direction-selective retinal ganglion cell subtypes and brain structures involved in motion processing // *J. Neurosci.* 2011. V. 31. № 24. P. 8760–8769.
- Sanes J.R., Zipursky S.L.* Design principles of insect and vertebrate visual systems // *Neuron*. 2010. V. 66. № 1. P. 15–36.
- Sivyer B., Williams S.R.* Direction selectivity is computed by active dendritic integration in retinal ganglion cells // *Nature neuroscience*. 2013. V. 16. N. 12. P. 1848.
- Stacy R.C., Wong R.O.L.* Developmental relationship between cholinergic amacrine cell processes and ganglion cell dendrites of the mouse retina // *J. Compar. Neurol.* 2003. V. 456. P. 154–166.
- Sun L., Han X., He S.* Direction-selective circuitry in rat retina develops independently of GABAergic, cholinergic and action potential activity // *PLoS* 2011, V. 6. Issue 5. P. 1–10.
- Sun W., Deng Q., Levick W.R., He S.* ON direction-selective ganglion cells in the mouse retina // *J. Physiol.* 2006. V. 576. № 1. P. 197–202.
- Tauchi M., Masland R.H.* The shape and arrangement of the cholinergic neurons in the rabbit retina // *Proc. R. Soc. Lond.* 1984. V. 223. P. 101–119.
- Tian N.* Developmental mechanisms that regulate retinal ganglion cell dendritic morphology // *Dev Neurobiol.* 2011. V. 71. № 12. P. 1297–1309.
- Tian L., Hires S.A., Mao T., Huber D., Chiappe M.E., Chalasani S.H., Petreanu L., Akerboom J., McKinney S.A., Schreiter E.R., Bargmann C.I., Jayaraman V., Svoboda K., Looger L.L.* Imaging neural activity in worms, flies and mice with improved GCaMP calcium indicators // *Nature Methods*. 2009. V. 6. P. 875–881.
- Trenholm S., Johnson K., Li X., Smith R.G., Awatramani G.B.* Parallel mechanisms encode direction in the retina // *J. Neuron*. 2011. V. 71. № 4. P. 683–694.
- Tsvilling V., Donchin O., Shamir M., Segev R.* Archer fish fast hunting maneuver may be guided by directionally selective retinal ganglion cells // *Europ. J. Neurosci.* 2012. V. 35. P. 436–444.
- Uchiyama H., Kanaya T., Sonohata S.* Computation of motion direction by quail retinal ganglion cells that have a nonconcentric receptive field // *Visual Neurosci.* 2000. V. 17. P. 263–271.
- Vaney D.I.* “Coronate” amacrine cells in the rabbit retina have the “starburst” dendritic morphology // *Proc. Royal Soci. London Series B*. 1984. V. 220. P. 501–508.
- Vaney, D.I.* Territorial organization of direction-selective ganglion cells in rabbit retina // *J. Neurosci.* 1994. V. 14. P. 6301–6316.
- Vaney D.I., He S., Taylor W.R., Levick W.R.* Direction-selective ganglion cells in the retina / Eds Zanker J.M., Zeil J. // *Motion Vision: Computational, Neural, and Ecological Constraints*, Springer-Verlag, Berlin, 2001. P. 13–56.
- Vaney D.I., Sivyer B., Taylor W.R.* Direction selectivity in the retina: symmetry and asymmetry in structure and function // *Nat. Rev. Neurosci.* 2012. V. 13. № 3. P. 194–208.
- Vaney, D.I., Young, H.M.* GABA-like immunoreactivity in cholinergic amacrine cells of the rabbit retina // *Brain Res.* 1988. V. 438. P. 369–373.
- Walker A.S., Burrone J., Meyer M.P.* Functional imaging in the zebrafish retinotectal system using RGECO // *Front. Neural Circuits*. 2013. V. 7. Article 34. P. 1–30.
- Wässle H., Puller C., Müller F., Haverkamp S.* Cone contacts, mosaics, and territories of bipolar cells in the mouse retina // *J. Neurosci.* 2009. V. 29. P. 106–117.
- Wei W., Hamby A.M., Zhou K., Feller M.B.* Development of asymmetric inhibition underlying direction selectivity in the retina // *Nature*. 2011. V. 469. P. 402–406.
- 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.
- Williams M.E., de Wit J., Ghosh A.* Review. Molecular mechanisms of synaptic specificity in developing neural circuits // *J. Neuron*. 2010. V. 68. № 1. P. 9–18.
- Yazulla S., Studholme K.M.* Neurochemical anatomy of the zebrafish retina as determined by immunocytochemistry // *J. Neurocyt.* 2001. V. 30. P. 551–592.
- Yonehara K., Ishikane H., Sakuta H., Shintani T., Nakamura-Yonehara K., Kamiji N.L., Usui Sh., Noda M.* Identification of retinal ganglion cells and their projections involved in central transmission of information about upward and downward image motion // *Nature*. 2008. V. 1. P. 4521-.
- Yonehara K., Shintani T., Suzuki R., Sakuta H., Takeuchi Y.* Expression of SPIG1 reveals development of a retinal ganglion cell subtype projecting to the medial terminal nucleus in the mouse // *PLoS ONE*. 2008. V. 3. P. 1533.

- Yonehara K., Balint K., Noda M., Nagel G., Bamberg E., Roska B. Spatially asymmetric reorganization of inhibition establishes a motion-sensitive circuit // *Nature*. 2011. V. 469. P. 407–410.
- Yonehara K., Farrow K., Ghanem A., Hillier D., Balin, K., Teixeira M., Jüttner J., Noda M., Neve R.L., Conzelmann K.K., Roska B. The first stage of cardinal direction selectivity is localized to the dendrites of retinal ganglion cells // *Neuron*. 2013. V. 79. P. 1078–1085.
- 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.
- Zhou Z.J., Fain G.L. Starburst amacrine cells change from spiking to nonspiking neurons during retinal development // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996. V. 93. P. 8057–8062.

Wiring of retinal direction-selective ganglion cells

E. M. Maximova

*Institute for Information Transmission problems, RAS
127994 GSP-4, Moscow, B. Karetny per., 19*

For the first time direction of stimulus motion in the visual field is determined by direction-selective retinal ganglion cells (DSGCs). Edges, spots and stripes of varying degrees of contrast that move at different speeds in the preferred direction in their receptive fields (RF) cause a pronounced spike discharge. However, the same types of stimuli that move in the opposite (“0”-direction), as well as the turning of the ambient light ON and OFF, do not evoke any response in the cells. These mysterious cells have been studied for 50 years. Only during the latest decade, due to the advances in genetic engineering, the development of new methods in morphological studies and computerisation, the mechanism of the directional selectivity has been unravelled.

Key words: retina, direction selective ganglion cells, starburst amacrine cells, bipolar cells, dendrites, receptive field, synapse, neurotransmitter, development.