

КЛАССИФИКАЦИЯ ОРИЕНТАЦИОННО-ИЗБИРАТЕЛЬНЫХ
ЭЛЕМЕНТОВ, РЕГИСТРИРУЕМЫХ В ТЕКТУМЕ КАРАСЯ

© 2009 г. В. В. Максимов, Е. М. Максимова, П. В. Максимов

Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН

127994 Москва, Б. Каретный пер., 19

E-mail: maximov@iitp.ru

Поступила в редакцию 12.08.2008 г.

Разработана система классификационных признаков, проведена классификация ориентационно-избирательных элементов (ОИЭ) ретинотектальной системы серебряного карася *Carassius gibelio* Bloch и исследованы их свойства. Диаграммы направленности ОИЭ измеряли, предъявляя рыбе на экране монитора движущиеся в пределах рецептивного поля (РП) в разных направлениях контрастные границы. Показано, что у рыб ОИЭ представлены двумя физиологическими типами, делящимися по предпочтительным направлениям. В отличие от детекторов направления движения, или дирекционально-избирательных ганглиозных клеток (ДИ ГК), которые у рыб избирательны к трем направлениям, отстоящим друг от друга примерно на 120° , ОИЭ предпочитают движение стимула в двух взаимноперпендикулярных направлениях, близких к вертикали и горизонтали. Также в отличие от ДИ ГК, представленных у рыб чистыми оп-клетками, отвечающими на введение в РП светлой границы, и чистыми off-клетками, отвечающими на введение темной границы, оба типа ОИЭ имеют смешанный (on-off) характер ответа. По другим свойствам (включая размеры и структуру их РП, специфичность к форме и скорости движения стимулов) два типа ОИЭ не отличаются друг от друга. Размеры возбудительной (центральной) части их РП были измерены разными методами и составляют $4-6^\circ$, что совпадает с размерами РП у ДИ ГК. Исследована зависимость ответа ОИЭ от контраста стимула, когда на постоянном фоне предъявляли полосы разной яркости. Показано, что ОИЭ обладают высокой контрастной чувствительностью (порядка 3–5%), причем инкрементные пороги были заметно выше декрементных.

Ключевые слова: рыбы, зрение, сетчатка, ганглиозные клетки, тектум, детекторы движения, ориентационная избирательность, дирекциональная избирательность.

ВВЕДЕНИЕ

В основной зрительный центр рыб tectum opticum по аксонам ганглиозных клеток (ГК) поступает уже в значительной степени обработанная информация (Jacobson, Gaze, 1964). Аксоны разных “детекторов”, которых у рыб известно больше десятка, оканчиваются на разных уровнях тектума, формируя три ретинорецепиентных слоя с характерными свойствами. Классификации ретинотектальных проекций рыб были посвящены три ранние работы, проведенные на щуке (Зенкин, Пигарев, 1969), на нескольких видах морских рыб (Максимова и др., 1971) и на дальневосточной красноперке (Kawasaki, Aoki, 1983). У всех исследованных видов рыб обнаруживается одна и та же стратификация специализированных элементов: в верхний слой тектума проецируются дирекционально-избирательные (ДИ) элементы, второй слой составляют окончания довольно разнородных элементов с малыми рецептивными полями (РП), чувствительных к движущемуся контрасту, в третий, самый глубокий слой, про-

ецируются элементы с большими РП, отвечающие длящимся разрядом на темноту или на свет. Однако физиологические типы ганглиозных клеток, оканчивающихся в каждом из этих слоев, тогда не были исследованы детально, в основном из-за ограниченности набора стимулов, предъявляемых от руки или механически. Только в последнее время были классифицированы ДИ ГК, проецирующиеся в самый верхний слой тектума, и было показано, что они представлены шестью типами: on- или off-клетками, избирательными к одному из трех разных направлений движения (Maximov et al., 2005; Максимов и др., 2005).

Ориентационно-избирательные элементы (ОИЭ) сетчаточного происхождения, чувствительные к движению протяженных границ в обоих направлениях, перпендикулярных границе, описаны у птиц (Maturana, Frenk, 1963), черепах (Bowling, 1980) и млекопитающих (Barlow et al., 1964; Leventhal, Schall, 1983; Amthor et al., 1989; Bloomfield, 1994; He et al., 1998), хотя исследованы они несравненно хуже дирекционально-избирательных. В тектуме рыб Зенкиным и Пигаревым были от-

крыты детекторы горизонтального края предположительно сетчаточного происхождения (Зенкин, Пигарев, 1969). Позднее нами было показано (Максимова, Максимов, 1981), что у рыб кроме детекторов горизонтального края существуют также ОИЭ, предпочитающие вертикальные границы и линии. Причем в каждую точку тектума приходят окончания обоих типов элементов – детекторов горизонтального и вертикального краев, которые можно регистрировать одновременно. При помощи стимулов, предъявляемых от руки или механически, были исследованы пространственные и цветовые свойства этих клеток (Maximova, 1999). Однако в последнее время наш опыт работы на новой экспериментальной установке показал, что прежние представления о типах детекторов могут существенно уточняться при повышении точности эксперимента и переходе к использованию цифровых технологий. Так, новая классификация ДИ ГК по предпочтительным направлениям движения показала, что разные типы этих клеток избирательно предпочитают три разных направления (Максимов и др., 2005), а не одно, два или четыре, как думали разные авторы прежде. Настоящая работа посвящена классификации ОИЭ, регистрируемым во втором ретинорецептивном слое тектума рыб. По ряду свойств эти клетки похожи на дирекционально-избирательные элементы первого ретинорецептивного слоя. Следует ожидать, что сопоставление этих двух групп детекторов движения по разным признакам будет способствовать пониманию их функций и их устройства.

МЕТОДИКА

Животные. Серебряные караси *Carassius gibelio* Bloch размером от 10 до 15 см и весом от 35 до 100 г из подмосковных прудовых хозяйств содержались в лабораторных аквариумах объемом 60 л с аэрацией и фильтрацией воды в течение многих месяцев при комнатной температуре и естественном световом режиме. Кормили рыб живым кормом.

Экспериментальная процедура. Для доступа к зрительным покрывкам у рыбы с левой стороны черепа, контралатерально относительно “рабочего” (правого) глаза, удаляли теменно-затылочную кость, убирали жировую клетчатку и вскрывали мягкую оболочку мозга. На время опыта обездвиженную рыбу (внутримышечная инъекция *d*-тубокурарина, достаточная для того, чтобы прекратились дыхательные движения и движения глаз) закрепляли в естественном положении в экспериментальном аквариуме из плексигласа с принудительным протоком аэрированной воды через жабры. Постоянный уровень воды в аквариуме поддерживался так, чтобы вода не заливалась в мозг, но глаза рыбы были под водой.

Зрительная стимуляция. Стимулы предъявляли через прозрачную стенку аквариума на экране монитора LG Flatron 775FT, установленного на подвижном столике, что позволяло помещать его в нужное место поля зрения рыбы. В основном исследовались латеральные поля зрения. Расстояние от монитора до глаза рыбы в ходе эксперимента составляло около 30 см. Стимулами служили движущиеся границы и полосы разных размеров или стационарные (включаемые-выключаемые) полосы. Обычно область стимуляции на экране монитора ограничивали квадратом со стороной около 11° , что существенно превышало типичные размеры РП исследуемых элементов. На остальной поверхности экрана поддерживалась неизменная яркость. В экспериментах, описанных в настоящей статье, использовались только “ахроматические” цвета. Относительные спектры излучения экрана были промерены при помощи модульной спектрометрической системы MCS 500 Modules фирмы 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 энергетической яркости (лучистости) равной $155 \text{ мВт} \cdot \text{ст}^{-1} \cdot \text{м}^{-2}$. Согласно нашим данным (Maximova, 1999), фотопическая спектральная чувствительность ОИЭ карася определяется в основном его красночувствительными колбочками. Поэтому в данной работе мы будем характеризовать интенсивность предъявляемых на экране монитора стимулов в терминах их эффективной энергетической яркости для ОИЭ карася. Рассчитанная по функции спектральной чувствительности красночувствительных колбочек эффективная энергетическая яркость того же белого экрана для ОИЭ карася равна $65 \text{ мВт} \cdot \text{ст}^{-1} \cdot \text{м}^{-2}$.

Регистрация. Импульсные ответы элементов регистрировали экстраклеточно в верхних слоях тектума заключенными в стекло металлическими платинированными микроэлектродами (Gesteland et al., 1959) с диаметром платиновой шляпки 3–5 мкм и сопротивлением 200–500 кОм на частоте 1 кГц. Микроэлектрод под контролем бинокляра микроманипулятором подводили к интересующей области поверхности тектума и погружали, добиваясь стабильного одиночного отведения, о чем судили по величине импульсов и по соотношению сигнала и шума. Импульсы, усиленные усилителем переменного тока, прослушивали при помощи громкоговорителя, наблюдали на экране осциллографа и вводили в память регистрирующего компьютера, оснащенного АЦП с частотой дискретизации 25 кГц. Введенный в течение интервала регистрации сигнал либо записывали на диск в необработанном виде (если предполагался последующий анализ формы импульсов), либо, отсекая импульсы по задаваемому уровню, формировали компрессированную запись в виде по-

следовательности моментов появления импульсов (в мс), отсчитанных от начала стимуляции.

Компьютерное обеспечение. Всего в установке задействовано три связанных друг с другом синхронизированных компьютерных модуля: регистрирующий модуль соединен через АЦП и усилитель с микроэлектродом и служит для регистрации реакций нейронов, выведения их на экран и записи в память результатов эксперимента; стимулирующий модуль обслуживает стимулирующий монитор; командный модуль служит для графического представления результатов экспресс-обработки (на отдельном мониторе) и для оперативного управления параметрами стимуляции и регистрации. Для командного модуля разработан специальный интерфейс, позволяющий экспериментатору легко ориентироваться в трех десятках параметров и быстро перестраивать программу опыта. Стандартные экспериментальные процедуры (обследование РП, обмер диаграммы направленности, измерение контрастной чувствительности, колориметрическое исследование и пр.) оформлены в виде программных “инструментов”, автоматизирующих процесс, и запускаются при нажатии соответствующих кнопок.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Обычно зарегистрировать ответ ОИЭ из тектума рыб не составляет труда. Достаточно опустить микроэлектрод примерно на 50 мкм глубже того уровня, где отводятся ответы ДИ ГК. От ДИ ГК детекторы ориентированных линий отличаются не только своей диаграммой направленности, но и по ряду других свойств. Так, они дают залпы ответов на включение и выключение диффузного света, но (в отличие от регистрируемых из более глубокого слоя элементов со спонтанной активностью) не отвечают на постоянный свет или темноту. В большинстве случаев ОИЭ не реагируют на мелькающие мелкие пятна, но реагируют на появление в РП протяженных линий (контрастных узких полосок) или границ предпочтительной ориентации. Еще лучше они отвечают на движение таких линий и границ в направлении, перпендикулярном их ориентации. Линии предпочтительной ориентации вообще следует считать оптимальным стимулом для ОИЭ. В случае стабильного отведения эти элементы могут реагировать в течение нескольких часов постоянным разрядом на неподвижную карандашную линию, нарисованную в их РП.

Ответы ОИЭ при экстраклеточной регистрации представляли собой залпы коротких многофазных импульсов постоянной амплитуды, которые и на слух, и по своему энергетическому спектру были очень похожи на импульсы ДИ ГК (Максимов и др., 2005). Единственное отличие состояло в том, что у ОИЭ эти импульсы были бо-

лее разнообразны по форме. Относительно дирекционально-избирательных элементов, регистрируемых в тектуме, известно, что помимо реакций ДИ ГК там встречаются ответы клеток собственно тектума, которые дают низкочастотные двухфазные импульсы, амплитуда которых прогрессивно падает с увеличением частоты разряда, что характерно для экстраклеточной регистрации от тела нейрона (Максимова, Орлов, Диментман, 1971; Wartzok, Marks, 1973; Guthrie, Banks, 1978; Максимов и др., 2005). Однако в ходе настоящего исследования нам никогда не попадались подобные элементы явно тектального происхождения со свойствами ориентационной избирательности.

Процедура обмера диаграммы направленности. Для обмера диаграмм направленности любых регистрируемых элементов движущимися контрастными границами использовалась одна и та же процедура (Максимов и др., 2005). После установления глубины погружения микроэлектрода, обеспечивающей одиночное отведение элемента, стимулирующий монитор ставили в нужное место поля зрения рыбы, положение и размеры области стимуляции на экране выбирали так, чтобы она охватывала предполагаемое РП, и задавали параметры стимуляции: скорость движения границы, яркости стимула, фона и окружения (поверхности экрана вне области стимуляции). Кроме того, задавали начальное направление обмера, общее количество направлений, в которых двигались границы (для ОИЭ обычно использовали 24 направления), и количество пробегов в каждом направлении, по которым усреднялись реакции. Поскольку ОИЭ, как и ДИ ГК, дают воспроизводимое количество импульсов в ответе на повторную стимуляцию, в большинстве случаев ограничивались тремя пробегами.

Фактически, при обмере диаграммы границами стимул представлял собой широкую полосу с шириной, превышающей диаметр области стимуляции. Поэтому в каждом пробеге сначала в данном направлении от края до края области стимуляции вдвигалась граница – полуплоскость заданной яркости (которую будем называть яркостью стимула), которая постепенно замещала фон. Во время движения этой границы по РП элемента регистрировался его ответ на введение стимула. Сразу вслед за этим с той же скоростью в том же направлении двигалась граница обратного контраста, в результате чего происходило замещение стимула фоном и регистрировался ответ элемента на выведение стимула.

После задания параметров стимуляции и регистрации (уровень отсечки и продолжительность интервала регистрации) сам обмер диаграммы производился автоматически. По окончании пе-

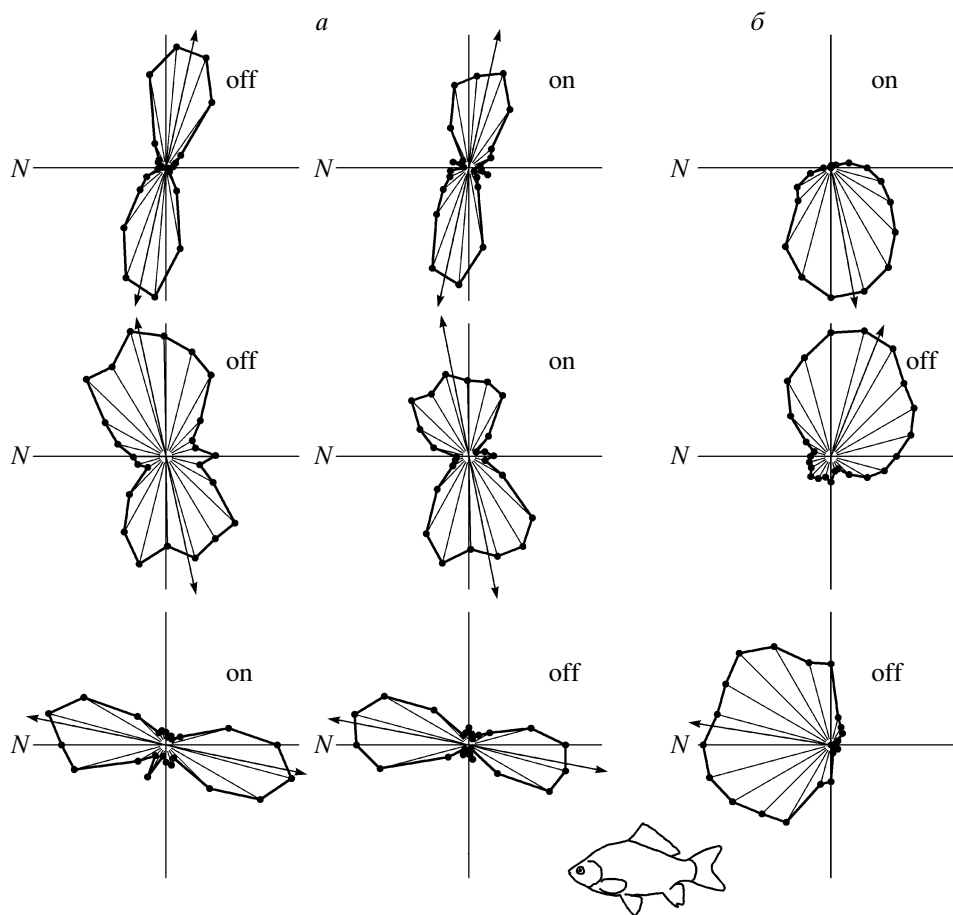


Рис. 1. Примеры диаграмм направленности для ОИЭ (а) и ДИЭ (б) регистрируемых в тектуме карася. Стрелками показаны предпочтительные направления движения границы. Буквой *N* помечено назальное направление.

ребора всех направлений (в процессе обмера разные направления перебирались попеременно) еще раз повторялся обмер для начального направления, чтобы оценить стабильность отведения. Вся процедура занимала несколько минут. Результаты обмера заносились в память компьютера в виде отдельного файла специального формата для последующей обработки в режиме off-line. Обычно после проведения всего цикла обмера диаграммы направленности по результатам этого обмера определялось точное положение РП элемента относительно области стимуляции. Если оно попадало на ее край, то область стимуляции центрировалась относительно РП и обмер диаграммы повторяли.

В качестве меры величины реакции использовали среднее количество импульсов n за время прохождения границы по РП элемента. Зависимость ответа от направления движения φ аппроксимировали гармоническими функциями второго порядка:

$$n(\varphi) = a_0 + a_1 \cos(\varphi - \varphi_1) + a_2 \cos(2\varphi - 2\varphi_2),$$

и каждую диаграмму характеризовали пятью параметрами: амплитудами нулевой (a_0), первой (a_1) и второй (a_2) гармоник, а также фазами первой (φ_1) и второй (φ_2) гармоник. Для каждого элемента строили две отдельные диаграммы направленности: на введение границы и на ее выведение.

Классификация ОИЭ по предпочтительным направлениям. Как было показано в нашей предыдущей работе (Максимов и др., 2005), все диаграммы направленности элементов, регистрируемые в тектуме рыб, по относительной величине амплитуд первой и второй гармоник распадаются на три четкие группы: неизбирательные, у которых обе гармоники сравнительно малы, дирекционально-избирательные, у которых выражена первая гармоника ($a_1 > \frac{1}{2}a_0$ и $a_1 > a_2$), и ориентационно-избирательные, у которых выражена вторая гармоника ($a_2 > \frac{1}{2}a_0$ и $a_2 > a_1$). На рис. 1, а приведены примеры диаграмм направленности для трех ориентационно-избирательных элемен-

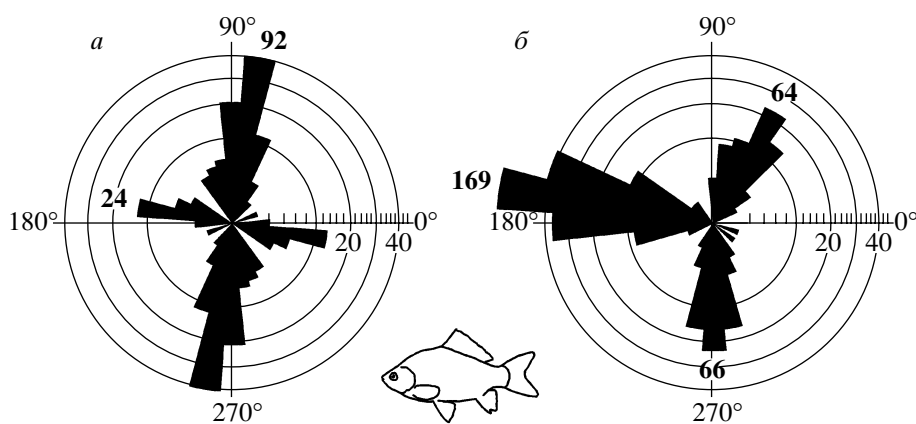


Рис. 2 Полярные гистограммы распределения предпочтительных направлений движения стимулов для ОИЭ (а) и ДИЭ (б) регистрируемых в тектуме карася.

По радиусам отложено количество клеток в каждом угловом секторе. Цифры рядом с отдельными модами гистограмм обозначают суммарное количество клеток соответствующего типа.

тов. Диаграммы построены в полярных координатах. По каждому радиусу-вектору для 24 направлений откладывалось количество импульсов n в ответе элемента на движение границы в этом направлении. Для ОИЭ на рисунке приведены отдельные диаграммы на введение контрастной границы (слева) и на ее выведение (справа). Симметричные диаграммы направленности в виде восьмерки отражают тот факт, что ОИЭ не обладают дирекциональной избирательностью и отвечают на движение границы и в прямом, и в обратном направлении, а наличие ответа как на введение контрастной границы, так и на ее выведение говорит о том, что ОИЭ одинаково хорошо реагируют на стимулы любого знака контраста. Для сравнения на рис. 1, б показаны диаграммы направленности для трех типов ДИЭ (сверху вниз: дирекционала оп-типа с дорзовентральным предпочтительным направлением, дирекционала off-типа с вентродорзальным предпочтительным направлением и дирекционала off-типа с каудоростральным предпочтительным направлением). Здесь приведены диаграммы только на введение границы адекватного контраста, так как на стимулы противоположного контраста эти элементы не реагируют.

Подобно тому, как предпочтительное направление движения стимулов для ДИЭ определяли фазой первой гармоники (ϕ_1) фурье-разложения диаграммы направленности (см. рис. 1, б, где вычисленные таким образом предпочтительные направления элементов показаны стрелками), предпочтительные направления для ОИЭ определяли фазой второй гармоники (ϕ_2) разложения. Предпочтительные ориентации стимулов (линий и границ) перпендикулярны к предпочтительным направлениям движения. Так, первые два ОИЭ, чьи диаграммы направленности показаны на рис. 1, а,

с предпочтительными направлениями движения, близкими к вертикали, следует считать детекторами горизонтального края, а третий элемент – детектором вертикального края. Следует отметить, что диаграммы направленности для разных ОИЭ могут отличаться друг от друга как по форме, так и по предпочтительному направлению. Однако для одного и того же элемента диаграммы направленности на введение черной границы по белому фону и белой границы по черному фону всегда очень похожи. В частности, практически совпадают их предпочтительные направления. Так, по базе данных из 116 диаграмм направленности, обмеренных контрастными границами, разность фаз ϕ_2 для ответов на введение и на выведение границы составляла в среднем $0.2 \pm 3.8^\circ$. Примечательно, что стандартное отклонение для этой разности оказывается существенно меньше угла между соседними направлениями движения при обмере диаграммы направленности (равного 15°), что говорит не только о хорошей точности (воспроизводимости) метода определения предпочтительного направления по фазе второй гармоники, но и о том, что для этих клеток важно совпадение предпочтительных направлений на движение контрастных границ разных знаков контраста.

На рис. 2, а представлена гистограмма распределения ОИЭ по предпочтительным направлениям, построенная в полярных координатах по результатам одиночных отведений от 116 элементов, обмеренных движущимися контрастными границами и полосками. Как можно видеть, подтвердились прежние представления о том, что ОИЭ, регистрируемые в тектуме рыб, делятся по предпочтительным ориентациям на два типа с взаимно ортогональными предпочтительными ориентациями. Одни предпочитают движение го-

горизонтальных границ в направлениях, близких к вертикали, другие – движение вертикальных границ в направлениях, близких к горизонтали. То, что гистограмма на рис. 2, *a* имеет четыре моды, отражает тот факт, что каждый элемент в гистограмме фактически учитывался дважды – для каждого из двух предпочтительных направлений. Соответственно гистограмма получилась центрально-симметричной. Можно видеть, что средние предпочтительные направления для обоих типов детекторов несколько отличаются от вертикали и горизонтали (в конкретной конфигурации эксперимента, включающей крепление рыбы в установку, положение стимулирующего монитора в поле зрения рыбы и положение глаз в орбитах в условиях, когда глазные мышцы ослаблены под действием *d*-тубокурарина). Существенные различия в количестве зарегистрированных детекторов горизонтального и вертикального краев, видимые на гистограмме, по-видимому, не отражают истинного количественного соотношения этих элементов в тектуме. Как уже говорилось, при отведении реакций от ОИЭ часто микроэлектрод одновременно регистрирует два элемента с противоположными свойствами (что должно означать, что они там встречаются в одинаковых количествах). Диаграммы направленности, построенные по результатам таких неселективных отведений, имеют крестообразный вид, так как составлены из двух взаимно перпендикулярных “восьмерок”. Обычно движениями микроэлектрода удается добиться определенной селективности отведения, и тот факт, что детекторы горизонтального края в гистограмме рис. 1, *a* представлено больше, свидетельствует только о том, что для этих детекторов легче добиться селективного отведения.

Как и в случае ДИ ГК, повторные измерения на одном и том же элементе при варьируемых параметрах стимулов показали, что предпочтительные направления у ОИЭ в определенной мере не зависят ни от скорости движения, ни от величины контраста, ни от формы и размера стимулов (толщины линий), в том числе и от того, в какой части РП предъявляют движущиеся стимулы.

Для сравнения на рис. 2, *b* показана аналогичная гистограмма для 301 дирекционала. Гистограмма рис. 2, *b* построена по обновленной базе данных для диаграмм направленности ДИ ГК по сравнению с опубликованной ранее (Максимов и др., 2005). Три отдельные моды гистограммы соответствуют трем предпочтительным направлениям.

Отсутствие селективности ОИЭ к знаку контраста. В ходе наших предыдущих работ по исследованию свойств ОИЭ сложилось представление, что в отличие от ДИ ГК эти элементы не обладают избирательностью к знаку контраста

(Максимова, Максимов, 1981; Maximova, 1999). В частности, они реагируют как на движение светлой границы по темному фону, так и на движение темной границы по светлому фону. При предъявлении стационарных полос оптимальной ориентации они отвечают разрядом импульсов и на светлые, и на темные (по сравнению с фоном) полосы. Иными словами, по этому свойству их относили к единому on-off-типу элементов. Однако систематически этот вопрос ранее не был исследован.

Для того чтобы оценить степень селективности ОИЭ к знаку контраста количественно, мы сравнивали ответы клетки на движение в предпочтительном направлении границ одного и другого знаков контраста. Использовали накопленные в базе данных эксперименты по обмеру диаграмм направленности. Поскольку при обмере диаграмм движущимися контрастными границами в каждом опыте предъявлялись сначала введение границы в РП, а потом ее выведение, в этих опытах всегда тестировались оба знака контраста, независимо от того, каким стимулом и на каком фоне проводилось обследование: белым по черному или черным по белому. Для оценки степени селективности по результатам обмера диаграммы направленности из всех 24 направлений, в которых двигались стимулы в конкретном опыте, выбирали направления, ближайшие к предпочтительным, и подсчитывали среднее количество импульсов в залпе в ответ на движение белой границы по черному фону $n_{W/B}$ и на движение черной границы по белому фону $n_{B/W}$. Индекс селективности к знаку контраста определялся по формуле

$$R = \frac{n_{W/B} - n_{B/W}}{n_{W/B} + n_{B/W}}.$$

Эта величина может принимать значения в диапазоне от -1 до $+1$. Крайние значения соответствуют on- и off-типам ответов, а в том случае, когда клетка одинаково отвечает на стимулы противоположного контраста ($n_{W/B} = n_{B/W}$), значение индекса R будет равно 0, и это будет индикатором того, что такой элемент относится к on-off-типу.

Гистограмма распределения значений определенного таким образом индекса селективности для 86 ОИЭ, обмеренных движущимися контрастными границами, приведена на рис. 3, *a*. Видно, что гистограмма – одномодальна, имеет колоколообразный вид с максимумом в области нуля. Отсюда можно сделать вывод, что детекторы ориентированных линий безразличны к знаку контраста и относятся к единому on-off-типу. Аналогичная гистограмма для ДИ ГК выглядит совсем иначе. Она имеет вид перевернутого колокола с двумя модами по краям диапазона R , откуда в свое время был сделан вывод, что эти элемен-

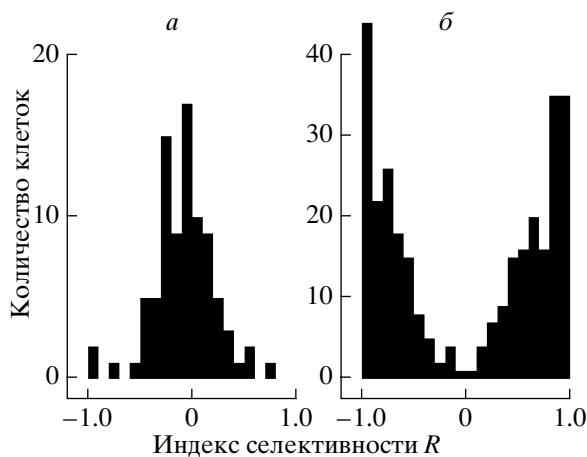


Рис. 3 Гистограммы распределения индекса селективности к знаку контраста для ОИЭ (а) и ДИЭ (б) при стимуляции их движущимися контрастными границами.

ты делятся на on- и off-типы (Максимов и др., 2005). Соответствующая гистограмма, построенная по обновленной базе данных для 310 ДИ ГК, показана на рис. 3, б.

Размеры РП элемента по одному из направлений можно оценить по продолжительности его ответа на движущуюся границу в этом направлении и по скорости ее движения. В этом разделе приведены результаты таких измерений размеров РП вдоль предпочтительных (или близких к ним) направлений для ОИЭ разных типов. Необходимая выборка составлялась по готовой базе экспериментальных данных для диаграмм направленности, обмеренных контрастными границами. Для этого, как и при оценке степени селективности, сначала по результатам замера для каждого элемента из всех обмеренных направлений находили направления, ближайšie к предпочтительным. По постстимульной гистограмме для всех пробегов в этих направлениях определяли длительность ответа как интервал между первым и последним импульсами в залпе. Поскольку для ОИЭ предпочтительными являются два противоположных направления, длительности залпов вычислялись для каждого из них отдельно.

Найти первый и последний импульсы в ответе элемента на стимул не представляет труда, когда нет спонтанной активности, а отведения абсолютно одиночны – т.е. отсутствуют импульсы, явно не относящиеся к стимуляции. Чтобы избежать субъективных моментов и автоматизировать обработку, для выделения конденсированного залпа на постстимульной гистограмме использовалась специальная процедура, основанная на методе наибольшего правдоподобия. Предполагалось, что последовательность импульсов в записи является реализацией двух случайных процессов: процесса с высокой вероятностью появления им-

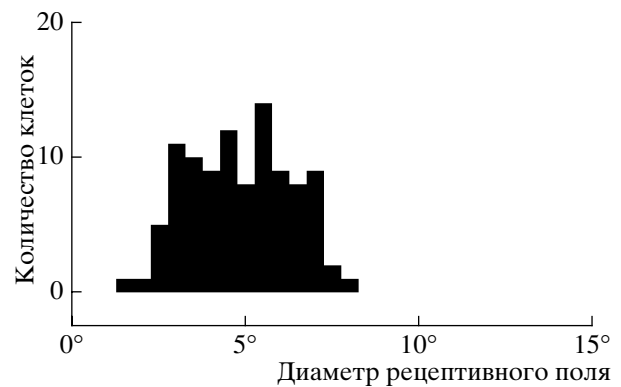


Рис. 4 Распределение диаметров РП для 100 ОИЭ.

пульса во время залпа (p_d) в ответ на движение стимула в пределах РП и процесса с низкой вероятностью появления импульса (p_s), отражающего спонтанную активность до и после залпа. Для этой статистической модели была составлена функция правдоподобия, зависящая от значений этих вероятностей и от значений моментов времени, задающих начало (t_1) и конец (t_2) залпа:

$$L = p_s^{m_s} (1 - p_s)^{T - t_2 + t_1 - m_s} p_d^{m_d} (1 - p_d)^{t_2 - t_1 - m_d},$$

где T – продолжительность регистрации в мс, а m_d и m_s являются функциями от t_1 и t_2 и равны количеству импульсов, зарегистрированных в интервале времени между началом и концом залпа и вне этого интервала, соответственно. Задача процедуры состояла в том, чтобы максимизировать функцию L , варьируя параметры: p_d , p_s , t_1 и t_2 , и тем самым определить начало и конец залпа. После этого разность $t_2 - t_1$ умножалась на скорость движения стимула, что и давало оценку размеров возбудительной части РП для данного элемента. Несмотря на свою простоту, такая статистическая модель оказалась вполне работоспособной. Опробование этой процедуры на реальных экспериментальных данных показало, что она успешно отсеивает все те импульсы, которые с точки зрения экспериментатора являются случайными и не относятся к залпу в ответ на предъявление стимула.

На рис. 4 приведена гистограмма распределения измеренных таким способом размеров РП для 100 ОИЭ. Размеры РП варьировали от 1.5 до 8° со средним значением $5.0 \pm 1.5^\circ$. При этом не обнаружено никаких статистических различий в размерах РП между детекторами горизонтального и вертикального краев. Также не было никаких статистических различий в размерах РП, измеренных в ответ на движения белого края по черному фону (on-ответы) и черного края по белому фону (off-ответы).

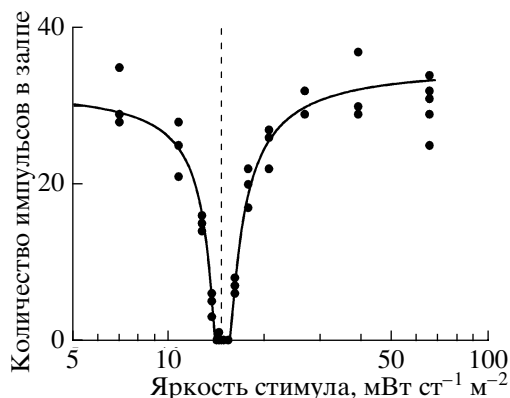


Рис. 5. Пример зависимости ответов детектора горизонтального края на движение границ разной яркости, движущихся снизу вверх со скоростью $6^\circ/\text{с}$ на фоне, яркостью $14.5 \text{ мВт} \cdot \text{ст}^{-1} \cdot \text{м}^{-2}$ (пунктирная линия).

Контрастная чувствительность. Подобно ДИ ГК детекторы ориентированных линий имеют довольно высокую контрастную чувствительность, сравнимую с контрастной чувствительностью человеческого глаза, что можно было заметить прямо в ходе эксперимента. Если последовательно предъявлять стимулы все более близкие по яркости к фону, то ОИЭ переставали реагировать примерно при тех яркостях, когда и экспериментаторы переставали замечать стимулы на экране монитора. Для систематического измерения контрастной чувствительности стимулами служили границы разных яркостей, движущиеся по некоторому фону фиксированной яркости, или узкие полоски предпочтительной ориентации, появляющиеся на однородном фоне в пределах РП. Измерялось количество импульсов в залпе в ответ на введение границы или появление полоски в РП, и строились графики зависимости среднего количества импульсов в залпе от яркости. Пример такой зависимости для одного из детекторов горизонтального края при стимуляции движущимися границами приведен на рис. 5. Видно, что при яркостях стимулов, близких к фоновой, клетка не реагирует — ответ на уровне спонтанной активности. В то же время на стимулы, существенно отличающиеся по яркости от фона, ответ максимален и практически не зависит от яркости. При промежуточных яркостях наблюдается плавный переход от одного уровня ответа к другому. Оказалось, что этот переход вблизи фоновых яркостей хорошо аппроксимируется двухпараметрической кривой (квадратичной гиперболой). Это позволило построить удобную автоматизированную процедуру вычисления инкрементного и декрементного порогов. По результатам каждого из таких опытов строились две аппроксимирующие гиперболы: для левой и правой ветвей зависимости количества импульсов в залпе от яркости. Места пресечения этих гипербол с осью абс-

цисс и определяли величины инкрементного и декрементного порогов.

Таким способом была измерена контрастная чувствительность для 31 ОИЭ обоих типов. Никаких различий между детекторами горизонтального и вертикального краев обнаружено не было. В отличие от ДИ ГК, которые у рыб представлены чистыми оп- и офф-элементами, каждый ОИЭ, как было показано, отвечает и на увеличение, и на уменьшение интенсивности света (реагирует по оп-офф-типу). Эта особенность позволяет измерять величины инкрементных и декрементных порогов на одной клетке. Оказалось, что детекторы ориентированных линий более чувствительны к темным стимулам, чем к светлым. Это видно и по соотношению величин инкрементного и декрементного порогов в одной и той же клетке (у 90% клеток измеренный таким способом инкрементный порог был выше декрементного), и по средним значениям порогов по всем опытам. Среднее значение инкрементных порогов для этих опытов составляло $4.9 \pm 3.4\%$, а декрементных порогов — $3.0 \pm 1.8\%$. Измерения контрастной чувствительности при помощи появляющихся в РП узких полосок разной яркости дало примерно те же цифры для пороговых контрастов. Как правило, клетки с высокой контрастной чувствительностью, измеренной движущимися границами, имели также высокую контрастную чувствительность и в ответ на мелькания полосок. Отсюда можно заключить, что контрастная чувствительность в какой-то степени не зависит от способа стимуляции.

На одной клетке контрастные чувствительности были промерены при двух фонах, отличающихся вдвое по яркости. Оказалось, что величины инкрементного и декрементного порогов по отношению к фону практически не зависели от яркости фона — следовали закону Вебера. Таким же свойством обладали и ДИ ГК (Максимов и др., 2005).

ОБСУЖДЕНИЕ

При экстраклеточном отведении импульсной активности из тектума регистрируются как ответы ганглиозных клеток сетчатки, так и ответы собственно клеток тектума. Исходно источниками быстрых импульсов, принадлежащих основной массе одиночных элементов тектума, считали окончания ганглиозных клеток сетчатки. Реакции клеток собственно тектума легко узнавались по типичному низкочастотному звуку, по более продолжительным двухфазным импульсам и по тому, что у них наблюдались характерные для экстраклеточной регистрации от тела нейрона изменения амплитуды импульсов от частоты следования импульсов в залпе. Относительно ответов, приписываемых ДИ ГК, подтверждением их

сетчаточного происхождения служили наличие элементов с такими же свойствами при регистрации ответов из хиазмы (Jacobson, Gaze, 1964; Зенкин, Пигарев, 1969) и при экстраклеточном отведении одиночных ответов непосредственно из сетчатки (Bilotta, Abramov, 1989), наличие в сетчатке рыб клеток с морфологическими свойствами, типичными для дирекционалов других животных (Максимова и др., 2006), а также тот факт, что эти ответы, в отличие от реакций клеток собственно тектума, не исчезали при аппликации ГАМК к поверхности тектума (Зенкин, Пигарев, 1969). С идентификацией источника ОИЭ уверенности меньше, так как систематических отведений из хиазмы или проверки на устойчивость этих реакций к аппликации ГАМК не проводилось. Наличие ОИЭ в сетчатке (Bilotta, Abramov, 1989) вообще является слабым аргументом, так как исследователи склонны называть ориентационно-избирательными любые зрительные нейроны с вытянутыми РП (Leventhal, Schall, 1983). Для того чтобы проводить обоснованные аналогии, нужна детальная классификация ОИЭ, регистрируемых в сетчатке, в частности, следует убедиться в избирательности этих элементов к вертикальной и горизонтальной ориентациям. Таким образом, в пользу сетчаточного происхождения ОИЭ, регистрируемых в тектуме, свидетельствуют только форма импульсов и постоянная их амплитуда в разряде (независимо от частоты следования импульсов), похожие на ответы ДИ ГК, регистрируемые там же. Типичное для приходящих спайков негативное отклонение потенциала, предшествующее самому импульсу, из-за большей вариативности формы импульсов (по сравнению с ответами ДИ ГК) мы наблюдали не во всех случаях.

После работы Гранта и Леттвина (Grant, Lettvin, 1991), подвергнувшей ревизии представления о пресинаптической природе ответов, регистрируемых в тектальном нейропиле лягушки, появилась тенденция (не всегда обоснованная) к пересмотру аналогичных представлений относительно всех экстраклеточных микроэлектродных отведений из тектума. Грант и Леттвин предположили, что короткие импульсные ответы, регистрируемые в тектуме, являются не реакциями терминальных ветвлений приходящих аксонов ганглиозных клеток, а генерируются постсинаптически электрически активными участками дендритов клеток собственно тектума. Хотя авторы имели в виду только немиелинизированные волокна зрительного нерва лягушки (реакции детекторов класса 1 и класса 2), а для ответов миелинизированных волокон оставляли прежнюю интерпретацию, по аналогии сейчас пытаются отвергнуть и прежние представления о пресинаптической природе одиночных ответов в тектуме рыб (Stirling et al., 2001; Riegle, Meyer, 2007). Однако у рыб, в отличие от лягушки, все аксоны зри-

тельного нерва миелинизированы, за исключением аксонов молодых ганглиозных клеток на периферии сетчатки (Easter et al., 1981). Поэтому огульный перенос гипотезы Гранта и Леттвина на рыб представляется необоснованным.

Целенаправленное исследование природы зрительных ответов, регистрируемых в тектуме золотой рыбки, предпринимала Стирлинг с соавторами (Stirling et al., 2001), апплицируя *in vitro* ионы кобальта, блокирующие синаптическую передачу. На препарате сетчатка-мозг было показано, что омывание хлористым кобальтом поверхности тектума обратимо устраняет ответы на вспышки света. При этом специфика регистрируемых зрительных ответов не исследовалась. Повидимому, это были только предварительные результаты, представленные в кратком стендовом сообщении на конференции. Обстоятельной статьи по этому поводу с тех пор не появилось. Кроме того, авторы использовали грубые вольфрамовые электроды, которыми вообще трудно отводить реакции от окончаний ГК в тектуме, поэтому естественно, что регистрируемые ими ответы оказались постсинаптическими. Резюмируя сказанное, можно сказать, что природа ответов ОИЭ в тектуме рыб требует дальнейшего изучения, в частности, при помощи блокаторов синаптической передачи.

Независимо от того, что является источником ОИЭ, результаты их классификации показывают, что на определенной стадии обработки зрительного сигнала у рыб задействованы довольно сложные по свойствам, но очень похожие друг на друга, специализированные элементы, отличающиеся только тем, что они избирательно отвечают на горизонтальные или вертикальные линии. Многое в устройстве этих элементов говорит о том, что они приспособлены для выполнения какой-то специальной функции, для которой важны малые РП и высокая контрастная чувствительность, но не важны ни знак контраста, ни величина контраста (поскольку при достаточных контрастах их ответ уже не зависит от интенсивности). Существенна также хорошая настройка на определенную ориентацию, о чем говорит и более узкий раствор диаграммы направленности, чем у ДИ ГК, и хорошее совпадение преимущественных ориентаций для on- и off-каналов.

Однако роль этих элементов в обработке зрительной информации в тектуме рыб не ясна. Мы уже высказывали предположение о том, что здесь речь идет не о детектировании двух разных ключевых стимулов, которые запускают две разные поведенческие реакции (Максимова, Максимов, 1981), подобно тому, как “детекторы жука” и “детекторы врага” запускают пищевое поведение или бегство у лягушки. Скорее ОИЭ осуществляют предварительный анализ, фильтрацию (в ка-

ком-то смысле разложение изображения по двум ортогональным составляющим), что является только промежуточным этапом переработки зрительной информации.

Тектум – основной зрительный центр низших позвоночных, и он задействован в организации многих зрительно обусловленных форм поведения (Springer et al., 1977). В частности, он может запускать весь комплекс движений, обслуживающих ориентационный рефлекс (включающий поворот глаз на интересующий объект, поворот головы, а затем и тела и последующий бросок на пищевой объект) как в ответ на предъявление соответствующего зрительного стимула, так и просто в ответ на электрическую стимуляцию поверхности (Luque et al., 2005). Тектум принимает входные топографически упорядоченные зрительные входы из сетчатки в поверхностные слои и посылает моторные выходные сигналы из более глубоких слоев в премоторную ретикулоспинальную систему заднего мозга. Глубокие слои тектума также представляют собой топографически упорядоченную карту, соответствующую ретинотопической карте в поверхностных слоях. Моторная карта тектума рыб сейчас довольно интенсивно исследуется (Salas et al., 1997; Torres et al., 2005). Таким образом, мы уже довольно много знаем о том, какая информация поступает на вход тектума из сетчатки, и куда направляются его выходные сигналы. Основным нерешенным вопросом сенсомоторной трансформации в настоящее время состоит в том, как преобразуется зрительная информация между сенсорной и моторной картами тектума. Работа поддержана РФФИ (грант № 07-04-00516).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 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 дирекционально-избирательных элементов, регистрируемых в тектуме караса // Сенсорные системы. 2005. Т. 19. № 4. С. 342–356.
- 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.
- Максимова Е.М., Максимов В.В. Детекторы ориентированных линий в зрительной системе караса, *Carassius auratus* // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1981. Т. 17. № 5. С. 519–525.
- Максимова Е.М., Орлов О.Ю., Диментман А.М. Исследование зрительной системы нескольких видов морских рыб // Вопросы ихтиологии. 1971. Т. 11. № 5. С. 893–899.
- Amthor F.R., Takahashi E.S., Oyster C.W. Morphologies of rabbit retinal ganglion cells with complex receptive fields // J. Comp. Neurol. 1989. V. 280. P. 97–121.
- 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.
- Bilotta J., Abramov I. Orientation and direction tuning of goldfish ganglion cells // Visual Neurosci. 1989. V. 2. P. 3–13.
- Bloomfield S.A. Orientation-sensitive amacrine and ganglion cells in the rabbit retina // J. Neurophysiol. 1994. V. 71. P. 1672–1691.
- Bowling D.B. Light responses of ganglion cells in the retina of the turtle // J. Physiol. (Lond.). 1980. V. 299. P. 173–196.
- Easter S.S. Jr, Rusoff A.C., Kish P.E. The growth and organization of the optic nerve and tract in juvenile and adult goldfish // J. Neurosci. 1981. V. 1. P. 793–811.
- Gesteland R.C., Howland B., Lettvin J.Y., Pitts W.H. Comments on microelectrodes // Proc. IRE. 1959. V. 47. P. 1856–1862.
- Grant A.C., Lettvin J.Y. Sources of electrical transients in tectal neuropil of the frog, *Rana pipiens* // Brain Res. 1991. V. 560. P. 106–121.
- Guthrie D.M., Banks J.R. The receptive field structure of visual cells from the optic tectum of the freshwater perch (*Perca fluviatilis*) // Brain Res. 1978. V. 141. P. 211–225.
- He S., Levick W.R., Vaney D.I. Distinguishing direction selectivity from orientation selectivity in the rabbit retina // Visual Neurosci. 1998. V. 15. P. 439–447.
- Jacobson M., Gaze R.M. Types of visual response from single units in the optic tectum and optic nerve of the goldfish // Quart. J. Exp. Physiol. 1964. V. 49. P. 199–209.
- 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.
- Leventhal A.G., Schall J.D. Structural basis of orientation sensitivity of cat retinal ganglion cells // J. Comp. Neurol. 1983. V. 220. P. 465–475.
- Luque M.A., Perez-Perez M.P., Herrero L., Torres B. Involvement of the optic tectum and mesencephalic reticular formation in the generation of saccadic eye movements in goldfish // Brain Research Reviews. 2005. V. 49. P. 388–397.
- Maturana H.R., Frenk S. Directional movement and horizontal edge detectors in the pigeon retina // Science. 1963. V. 142. P. 977–979.
- Maximova E.M. Colour and spatial properties of detectors of oriented lines in the fish retina // Yugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta. 1999. V. 34. P. 351–358.
- Maximov V.V., Maximova E.M., Maximov P.V. Direction selectivity in the goldfish tectum revisited // Annals New York Acad. Sciences. 2005. V. 1048. P. 198–205.
- Riegle K.C., Meyer R.L. Rapid homeostatic plasticity in the intact adult visual system // J. Neurosci. 2007. V. 27. P. 10556–10567.
- Salas C., Herrero L., Rodriguez F., Torres B. Tectal codification of eye movements in goldfish studied by electrical

- microstimulation // *Neuroscience*. 1997. V. 78. P. 271–288.
- Springer A.D., Easter S.S., Agranoff B.W.* The role of the optic tectum in various visually mediated behaviors of goldfish // *Brain Res.* 1977. V. 128. P. 393–404.
- Stirling R., Bartlett C., Dunlop S., Beazley L.* Light-evoked responses recorded from the optic tectum in the goldfish are postsynaptic // *Abstracts of the 34th Annual Meeting of the Internat. Union of Physiol. Sci., Christchurch, New Zealand*, 2001.
- Torres B., Luque M.A., Perez-Perez M.P., Herrero L.* Visual orienting response in goldfish: a multidisciplinary study // *Brain Res. Bull.* 2005. V. 66. P. 376–380.
- Wartzok D., Marks W.B.* Directionally selective visual units recorded in optic tectum of the goldfish // *J. Neurophysiol.* 1973. V. 36. P. 588–604.

Classification of Orientation-Selective Units Recorded in the Goldfish Tectum

V. V. Maximov, E. M. Maximova, P. V. Maximov

*Institute for Information Transmission Problems (The Kharkevich Institute), RAS
127994 Moscow, Bolshoi Karetny, 19*

A system of classifying features was developed, the classification of orientation-selective units (OSUs) in retino-tectal projection of the *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) was carried out and their properties were investigated. Unlike the direction-selective units (comprising six types that differ in preferred directions and in sign of preferred sign of contrast) the OSUs of the fish retino-tectal system were shown to divide into two types – only by their preferred orientation. According to all other properties, two types of OSUs were indistinguishable. Polar diagrams were measured with contrast edges moving across the receptive field in different directions presented to the fish at the monitor screen. Polar diagrams for both types of OSUs had a figure eight shape with different opening angles. Sizes of the excitatory (central) part of their RF were estimated by four methods and amounted to 4 – 6°. In comparison with other retinal detectors of the fish, the OSUs (along with the direction-selective units) possess the finest spatial resolution. It was shown that OSUs have rather high contrast sensitivity that does not depend on the type of stimulation. Like the direction-selective units the OSUs respond to the edges differing in their brightness from the background by 3–5% only.

Key words: fish, vision, retina, ganglion cells, tectum opticum, direction selectivity.