

© А.А. Максимович, В.П. Гнубкина, 2010
УДК 612.014.426:611.843.16597.553.2

А.А. Максимович и В.П. Гнубкина

СТРОЕНИЕ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА МОЛОДИ ТИХООКЕАНСКОГО ЛОСОСЯ В УСЛОВИЯХ СУМЕРЕЧНОГО ОСВЕЩЕНИЯ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ГЕОМАГНИТНОГО ПОЛЯ

Лаборатория физиологии (зав. — канд. биол. наук С.Л. Кондрашев) Института биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток; e-mail: oymax2004@yahoo.com

Исследовали ретиномоторную реакцию сетчатки у сеголеток тихоокеанского лосося симы *Oncorhynchus masou* в условиях мезопического (сумеречного) освещения при экспериментальной компенсации геомагнитного поля (ГМП), которую выполняли с помощью катушек Гельмгольца. В контроле ретиномоторная реакция молоди симы на сумеречное освещение была обычной: ядра палочковых нейросенсорных клеток располагались непосредственно над наружной пограничной мембраной, а ядра колбочковых нейросенсорных клеток находились ближе к слою пигментного эпителия. При экспериментальной компенсации ГМП реакция сетчатки молоди была необычной: ядра колбочковых нейросенсорных клеток примыкали к наружной пограничной мембране, а ядра палочковых — размещались ближе к слою пигментного эпителия. Двойные и центральные колбочковые нейросенсорные клетки занимали позицию, неадекватную нормальной реакции на сумерки: тела этих клеток были значительно удлинены, а наружные сегменты достигали слоя пигментного эпителия. Таким образом, в эксперименте с компенсацией ГМП мы обнаружили необычную структуру сетчатки, которая лишь отдаленно соответствовала реакции при мезопической адаптации. Был сделан вывод, что видимый свет — не единственная разновидность электромагнитного поля, которую способна воспринимать сетчатка рыб.

Ключевые слова: сетчатка, ретиномоторная реакция, светозависимая магниторецепция, геомагнитное поле, тихоокеанские лососи.

Связь между фото- и магниторецепцией у животных и механизмы функционирования магниторецепторной системы остаются малоизученными [10, 12]. Установлено, что ряд таксономически различных животных используют импульсы геомагнитного поля (ГМП) для пространственной ориентации [14]. Однако не обнаружено ни структур, ни физиологического механизма, лежащих в основе этой способности. Тем не менее, изобилие данных поведенческих исследований в пользу существования магнитной ориентации у некоторых животных послужило импульсом для попыток идентифицировать мозговые центры, участвующие в обработке магнитных сигналов. Ранние нейрофизиологические работы выявили магнитную чувствительность некоторых зрительных центров, таких как зрительный тектум, шишковидная железа и так называемые ядра базально-оптического корня [9, 13].

В наше время к уже хорошо изученным механизмам ориентации и хоминга рыб по запаху и зрительным ориентирам для определения направления движения добавился механизм, основанный на использовании рыбами ГМП. Магнитное поле Земли географически огромно, но оно очень слабое [11]. Это означает, что животные должны обладать сверхчувствительной сенсорной системой, которая способна обнаруживать магнитные поля даже на фоне множества биохимических реакций внутри любого живого существа.

Было показано [6], что при компенсации ГМП в условиях ночного освещения сетчатка молоди проходной симы демонстрировала необычную (по сравнению с ночным контролем) ретиномоторную реакцию, причем обнаруженная картина близка к состоянию сетчатки во время сумерек (мезопическая реакция). Это означает, что в условиях ночной темноты фотосенсорные клетки сетчатки молоди лососей реагируют на изменение магнитного поля Земли, т.е. объективно выступают в роли магниторецепторов [6], поскольку у рыб уже описаны и восходящие пути, и мозговые центры, воспринимающие информацию от магниторецепторов. В другом эксперименте [6] сетчатка контрольной молоди симы в условиях дневной освещенности демонстрировала нормальную реакцию на свет. Реакция сетчатки как у молоди проходной симы, так и у карликов этого вида (постоянно живущих в пресной воде) меняется в условиях компенсации ГМП по-разному. Кроме того, разные типы нейросенсорных клеток в сетчатке молоди проходной симы неодинаково реагируют на компенсацию ГМП.

Если магниторецепция, как процесс, включает в себя модуляцию реакции фотосенсорных клеток сетчатки на свет, тогда магнитная ориентация не может осуществляться в темноте. Птицы и тритоны действительно испытывают трудности при магнитной ориентации в темноте, но некоторые другие животные, включая морских черепах,

котов и некоторых насекомых, обладают такой способностью [14]. Таким образом, световая зависимость не является универсальным признаком магнитного компаса. С другой стороны — состояние темноты вовсе не означает неактивное состояние сетчатки, поскольку, например, колбочковые клетки, а также пигментный слой сетчатки активированы для перемещения ее частей именно в условиях темноты. Поэтому нельзя исключать реакцию сетчатки на ГМП в темноте. Цель настоящей работы — исследование особенностей ретиномоторной реакции при компенсации ГМП в условиях сумеречного освещения.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на биостанции «Сокол» (Южный Сахалин) Института биологии моря ДВО РАН летом 2006 г. В качестве материала использовали диких сеголеток симы *Oncorhynchus masou* (длина по Смитту 8,5–11,5 см, масса 6–10 г), которых отлавливали сачком в реке Белой. После вылова рыб несколько суток содержали в пресноводном аквариуме с оборотным водоснабжением и биологической очисткой воды в лабораторном помещении с естественным световым циклом с целью акклиматизации к новым условиям. Во время опыта рыб не кормили. После акклиматизации в течение 1 сут часть молоди симы переносили в аквариум с освещенностью от 1 до 10 лк (люксметр Ю, прибор М2027-Б), что соответствовало сумеречному состоянию (1-я группа). В экспериментах с магнитным полем Земли (2-я группа) по 4 особи молоди симы, взятых из большого аквариума при освещенности от 1 до 10 лк (сумерки), помещали в пеналы с аэрируемой пресной водой. Размеры пенала позволяли рыбам свободно передвигаться и не приводили к каким-либо стрессовым реакциям (этот вывод был сделан на основании предварительных наблюдений за поведением рыб). Затем пенал с рыбами перемещали во внутреннюю камеру катушек Гельмгольца. Молодь 1-й группы через 1 сут после пребывания в аквариуме в помещении с сумеречным освещением обрабатывали 0,008% раствором MS-222 в течение 2 мин, затем в этом же помещении отделяли головы и фиксировали их в 2% параформ-глутаральдегиде на холоду в течение нескольких суток. Этот материал служил сумеречным контролем. Головы рыб дополнительно фиксировали в 1% растворе четырехоксида осмия. После отмывки от фиксатора в 0,2 М какодилатном буфере (pH 7,2) выделяли глазные бокалы, а из них — вентральный участок сетчатки, промывали, обезжизивали и заключали в эпон — аралдит. При проводке через спирты материал контрастировали уранилацетатом.

После помещения рыб из 2-й группы во внутреннюю камеру катушек Гельмгольца и при помощи потенциометра устанавливали такое значение силы тока и напряжения, подаваемых на катушки, при которых происходила компенсация ГМП в данной местности. Для географических координат поселка Сокол Сахалинской обл., где выполняли эксперимент (47° 13' N и 142° 46' E), горизонтальный компонент ГМП равнялся 1×10^{-5} Тесла или 0,1 Гс, тогда как вертикальный компонент составлял $2,2 \times 10^{-5}$ Тесла или 0,22 Гс (данные аэромагнитной съемки). В нашем эксперименте мы накладывали на рыб искусственное магнитное поле горизонтально и параллельно земной оси Север — Юг одной парой катушек

Гельмгольца ($d=0,11$ м), окружающих пенал с рыбами и генерирующих поле 0,1 Гс. Ток катушки при этом составлял 80 мА при напряжении 9 В (стабильность тока 2,3 %). Таким образом, при активированных катушках Гельмгольца горизонтальная составляющая ГМП во внутренней зоне катушек была полностью компенсирована их искусственным магнитным полем. Точное направление Север — Юг определяли с помощью буссоли. Источником питания для катушек Гельмгольца служила батарея постоянного тока напряжением 9 В, значения силы тока в катушке контролировали.

Рыбы находились при сумеречном освещении в поле катушек Гельмгольца в течение 1 ч, с 12 до 13 ч. Затем пенал с рыбами удаляли из поля катушек, а рыб анестезировали в 0,008% растворе MS-222 в течение 3 мин. После этого каждую рыбу декапитировали, а головы фиксировали целиком по способу, описанному выше. Сетчатки глаз препарировали после фиксации на свету и заливали в эпоксидные смолы.

Полутонкие срезы толщиной 1–2 мкм и тонкие срезы толщиной 50–70 нм получали на ультрамикротоме Reichert Ultracut E (Рейхерт, Австрия). Тонкие срезы контрастировали цитратом свинца и фотографировали в электронном микроскопе JEM-100B (Jeol, Япония). Полутонкие срезы окрашивали толудиновым синим — пиронином и фотографировали в микроскопе Olympus BH-2 (Olympus Optical Co, Ltd, Япония) с цифровой фотокамерой, полученные снимки обрабатывали на компьютере. Пигментный индекс (ПИ) ретиномоторной реакции рассчитывали по формуле $PI=P/T$, где P — толщина пигментного слоя на сагиттальных срезах сетчатки; T — толщина фотосенсорного слоя от наружного пограничного слоя до пигментного. Статистическую обработку измерений проводили в выборке из 10 рыб в каждом эксперименте на 10 срезах от каждой рыбы по 5 измерений на каждом срезе. Измерения выполняли как на препаратах, так и на фотографиях. Всего в работе использовали 40 особей молоди симы. Статистическую обработку измерений проводили при подсчете средней в выборке из десяти.

Результаты исследования. Реакция сетчатки контрольной симы на сумеречное освещение была типичной для мезопических условий, когда происходит удлинение миоидов колбочек. В контроле при освещенности 1–10 лк колбочки в сетчатке глаза симы находились над наружной пограничной мембраной, палочки были приближены к колбочкам. Отростки пигментцитов, экранируя палочки, едва достигали наружных сегментов колбочек. Центральные колбочки располагались ближе к слою пигментного эпителия, чем двойные, их наружные сегменты были полностью закрыты пигментом. Наружные сегменты дополнительных колбочек располагались на уровне дистальной части эллипсоидов двойных колбочек. Меланин в пигментном слое находился в диспергированном состоянии (рис. 1). ПИ ретиномоторной реакции — $1,41 \pm 0,11$.

При экспериментальной компенсации ГМП реакция сетчатки глаза молоди симы была необычной. В наружном ядерном слое ядра нейросенсорных клеток располагались отдельными

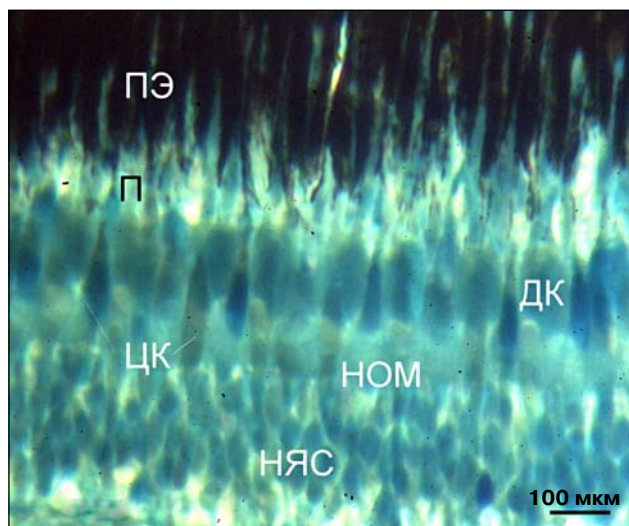


Рис. 1. Структура сетчатки молоди симы в условиях сумеречного (мезопического) освещения (контроль).

ПЭ — пигментный слой; П — палочковая (нейросенсорная) клетка; ДК — двойная колбочковая (нейросенсорная) клетка; ЦК — центральные колбочковые (нейросенсорные) клетки; НОМ — наружный пограничный слой; НЯС — наружный ядерный слой.

слоями: ядра колбочковых клеток примыкали к наружной пограничной мембране, а ядра палочковых — находились ближе к пигментному эпителию (рис. 2), тогда как в контроле ядра колбочковых и палочковых клеток располагались произвольно. Двойные и центральные колбочки занимали позицию, неадекватную нормальной реакции на сумеречную освещенность: тела этих нейросенсорных клеток были сильно вытянуты (их длина составила $8,02 \pm 0,08$ мкм) и достигали своими наружными сегментами пигментного слоя. Удлинение клеток, скорее всего, происходило за счет уменьшения их диаметра почти в 2 раза, а также иногда за счет перемещения ядер за пределы наружной пограничной мембраны (см. рис. 2). Эллипсоиды высоких центральных колбочек значительно удлинились, некоторые были вакуолизированы. ПИ ретиномоторной реакции был равен $0,50 \pm 0,10$.

Обсуждение полученных данных. Анализируя ретиномоторную реакцию молоди симы в ответ на изменения магнитного поля, следует отметить, что первыми получают световой сигнал меланофоры пигментного слоя сетчатки, и свет, проходя через слой меланина, не только «гасится» и отражается меланиновым экраном, но также способен активировать молекулы меланина, которые имеют сложную гетерополимерную структуру, обладают сложной системой полисо-

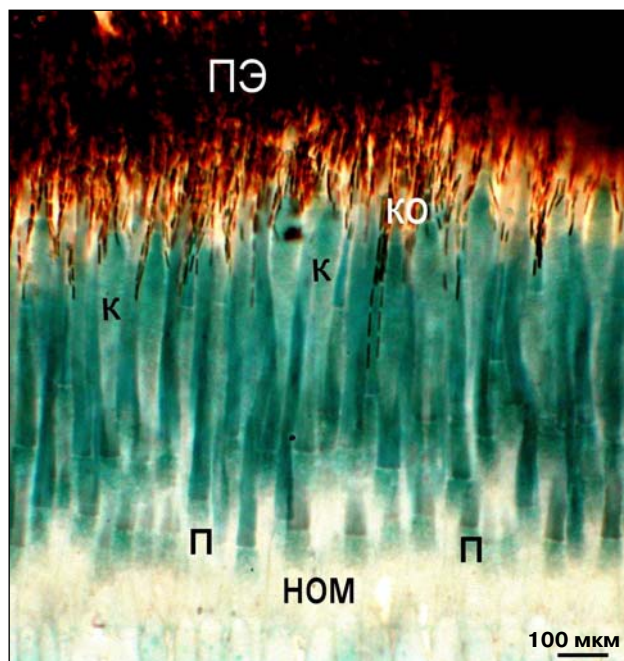


Рис. 2. Структура сетчатки молоди симы при компенсации геомагнитного поля (опыт).

К — колбочковые (нейросенсорные) клетки; КО — одиночные колбочковые (нейросенсорные) клетки. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

пряжения и могут рассматриваться как жидкий кристалл. Меланин также обнаруживает полупроводниковые свойства, а наличие в нем многочисленных парамагнитных центров позволяет меланину намагничиваться в магнитном поле [7].

Все дневные и многие сумеречные рыбы при увеличении освещенности до некоторого порогового уровня переходят для защиты зрительного пигмента палочек на дневное (фотопическое) колбочковое зрение. Очень чувствительные к свету палочки маскируются при этом отростками пигментоцитов, а колбочки, наоборот, перемещаются ближе к наружной пограничной мембране, выходя из «тени» (ретиномоторная реакция сетчатки).

Ретиномоторная реакция позволяет адаптироваться к более высоким уровням освещенности и включает три этапа: 1) миграция гранул меланина в отростки пигментоцитов при повышении освещенности и обратное перемещение меланина из отростков в тела пигментоцитов при уменьшении освещенности; 2) при уменьшении освещенности ниже «порогового» значения происходит удлинение миоидов колбочек и миграция колбочек от наружной пограничной мембраны в направлении пигментного слоя, чтобы освободить место палочкам. При увеличении освещенности палочки и колбочки перемещаются в обратном порядке; 3) при повышении освещенности происходит удлинение

миоидов палочковых клеток и миграция палочковых клеток от наружной пограничной мембраны под защиту пигментного слоя. Обратный процесс происходит при ее понижении [8].

Реакция пигментного слоя пропорциональна интенсивности падающего света. Морфофизиологические перестройки в фотосенсорных клетках происходят в соответствии с типами световой адаптации [8]. Обобщенной характеристикой ретиномоторной реакции является введенный М.А. Али [8] ПИ. В наших экспериментах к изменению ПИ приводили изменения как магнитных, так и световых условий. При экспозиции рыб к полю постоянного магнита ПИ возрастал [3], а при компенсации ГМП он был минимальным [1, 2].

У молоди симы в экспериментах мы обнаружили все 3 компонента ретиномоторной реакции. Однако, хотя фоторецепторы и пигментциты сетчатки реагировали в пределах нормы реакции, их совместные перестройки значительно отличались от классической тройственной адаптации: фотопической, скотопической и мезопической. Поэтому после экспозиции к экспериментальным магнитным полям наблюдалось лишь относительное сходство с ретиномоторными реакциями в условиях классических типов освещенности. В эксперименте почти весь меланин пигментного слоя концентрировался в конечных отделах отростков пигментцитов, продолжая, по-видимому, исполнять роль светозащитного экрана, но только для колбочек, так как сильно удлинённые палочковые клетки были практически не защищены от света. Мы считаем, что в этой ситуации сетчатка едва ли способна обеспечивать адекватное зрение.

В эксперименте с компенсацией ГМП мы обнаружили необычную структуру сетчатки, которая лишь отдаленно напоминала таковую при темновой адаптации [4]. Детали морфофункциональных изменений структуры фоторецепторов в сетчатке молоди симы при компенсации магнитного поля подробно описаны нами ранее [6].

Вероятно, видимый свет — не единственная разновидность электромагнитного поля, которую способна воспринимать сетчатка рыб. Именно на этой способности сетчатки рыб основана модель светозависимой магниторецепции [10]. Мы склоняемся к выводу, что сетчатка рыб является постоянным, круглосуточным детектором местных изменений в ГМП. В пользу этого предположения свидетельствуют результаты наших экспериментов по компенсации ГМП, выполненные на рыбах. Наши результаты подтверждают так же и гипотезу о том, что, возможно, нет необходимости в специальных органах и механизмах

магниторецепции у позвоночных, поскольку эту роль могут выполнять уже существующие органы, например, сетчатка, причем магниторецепция является ее дополнительной функцией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Загальская Е.О. Ультраструктура меланоцитов сетчатой и сосудистой оболочек глаза тихоокеанских лососей. Цитология, 2001, т. 43, № 11, с. 1013–1020.
2. Загальская Е.О., Гнубкина В.П. и Максимович А.А. Морфологические изменения в сетчатке молоди симы *Oncorhynchus masou* при экспериментальном изменении магнитного поля. Морфология, 2004, т. 125, вып. 2, с. 47–51.
3. Загальская Е.О., Гнубкина В.П. и Максимович А.А. Морфологические особенности ретиномоторной реакции у молоди симы (*Oncorhynchus masou*) в магнитном поле и красном свете. Морфология, 2004, т. 125, вып. 6, с. 32–36.
4. Максимович А.А. и Загальская Е.О. Влияние слабых магнитных полей на фоторецепторы сетчатки рыб. Биофизика, 2007, т. 52, № 5, с. 916–923.
5. Максимович А.А., Кондрашев С.Л. и Гнубкина В.П. Морфологические изменения в сетчатке молоди тихоокеанских лососей *Oncorhynchus masou* в ответ на компенсацию геомагнитного поля в условиях нормального освещения. Морфология, 2007, т. 132, вып. 4, с. 44–51.
6. Максимович А.А., Кудра А.А. и Серков В.М. Морфологические изменения в сетчатке молоди симы *Oncorhynchus masou* при экспериментальном изменении геомагнитного поля. Цитология, 2002, т. 44, № 2, с. 140–149.
7. Островский М. А. и Донцов А.Е. Физиологические функции меланина в организме. Физиология человека, 1985, т. 11, № 4, с. 671–678.
8. Ali M. A. Histophysiological studies on the juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) retina. Responses to light intensities, wavelengths, temperatures and continuous light or dark. Can. J. Zool., 1961, v. 39, p. 511–526.
9. Demaine C. and Semm P. The avian pineal gland as an independent magnetic sensor. Neurosci. Lett., 1985, v. 62, № 1, p. 119–122.
10. Deutschlander M.E., Phillips J.B. and Borland S.C. The case for light-dependent magnetic orientation in animals. J. Exper. Biol., 1999, v. 202, p. 891–908.
11. Lohmann K.J. and Johnsen S.. The neurobiology of magnetoreception in vertebrate animals. Trends Neurosci., 2000, v. 23, p. 153–159.
12. Ramsden S.D., Anderson L., Mussi M. et al. Retinal processing and opponent mechanisms mediating ultraviolet polarization sensitivity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J. Exper. Biol., 2008, v. 211, p. 1376–1385.
13. Semm P., Nohr D., Demaine C. and Wiltshko W. Neural basis of the magnetic compass: interaction of visual, magnetic and vestibular inputs in the pigeon's brain. J. Comp. Physiol., 1984, ser. A, v. 155, p. 283–288.
14. Wiltshko R. and Wiltshko W. Magnetic orientation in animals. (Zoophysiology, v. 33), Berlin, Springer Verlag, 1995.

Поступила в редакцию 20.05.09

Получена после доработки 24. 02. 10

THE STRUCTURE OF THE RETINA IN PACIFIC SALMON FRY IN TWILIGHT ILLUMINATION DURING THE GEOMAGNETIC FIELD CHANGES

A.A. Maksimovich and V.P. Gniubkina

The retinomotor response of the masu salmon *Oncorhynchus masou* fry retina was studied under the conditions of mesopic (twilight) illumination after experimental geomagnetic field (GMF) compensation which was reached using the Helmholtz coils. In the control group, the retinomotor response of masu salmon fry to twilight illumination was usual: the nuclei of the neurosensory rod cells were located immediately above the external limiting layer, while the nuclei of the neurosensory cone cells were displaced closer to the pigment epithelium. After experimental GMF compensation, the masu salmon fry retina

reaction was unusual: the neurosensory cone cell nuclei adhered to the external limiting membrane, while the nuclei of the neurosensory rod cells were displaced closer to the pigment epithelium layer. Double and central neurosensory cone cells occupied the position that was inadequate to normal reaction to twilight: the bodies of these cells were considerably elongated, and the external segments reached the pigment epithelium layer. Thus, in the experiment with GMF compensation, we have found the unusual structure of the retina, which only vaguely corresponded to a reaction to mesopic adaptation. The results suggest, that the visible light is not a unique variety of the electromagnetic field, that could be perceived by the fish retina.

Key words: retina, retinomotor response, light-dependent magnetoreception, geomagnetic field, Pacific salmon.

Laboratory of Physiology, A.V. Zhirmunskiy Institute of Marine Biology, RAS Far-Eastern Section, Vladivostok

© П.Г. Пивченко, Н.А. Трушель, 2010
УДК 572.74:611.13

П.Г. Пивченко и Н.А. Трушель

ОСОБЕННОСТИ СОСУДОВ АРТЕРИАЛЬНОГО КРУГА БОЛЬШОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА ПРИ РАЗЛИЧНОЙ ФОРМЕ ЧЕРЕПА

Кафедра нормальной анатомии (зав. — проф. П.Г. Пивченко) Белорусского государственного медицинского университета, г. Минск, e-mail trusheln@rambler.ru

Методами макромикроскопического препарирования и компьютерной томографии (КТ-ангиографии) сосудов артериального круга большого мозга (АКБМ) выявлено, что у долихокранов переднезадний размер АКБМ больше, чем у мезо- и брахиокранов. Классическое строение АКБМ наблюдается у человека в 38–46% случаев (чаще у долихокранов). Сосуды АКБМ характеризуются вариабельностью строения в зависимости от формы черепа: у людей с мезо- и брахиокранной формой черепа различные отклонения от классического строения артерий АКБМ чаще наблюдаются в его заднем отделе, а у долихокранов — в переднем. В 30–40% наблюдений у исследованных людей в АКБМ имело место сочетание вариаций строения сосудов переднего и заднего отделов круга (сочетанная форма).

Ключевые слова: головной мозг, артерии, артериальный круг большого мозга, форма черепа, человек.

Профилактика и лечение цереброваскулярных заболеваний является очень важной, не только медицинской, но и социальной проблемой. Расширение представлений о вариантной анатомии артерий головного мозга особенно значимо при современных методах инструментального исследования (ангиография, сонография, компьютерная и магнито-резонансная томография), которые объективно подтверждают вариабельность этих данных при диагностике сосудистой патологии. Важная роль артериального круга большого мозга (АКБМ) в осуществлении распределения крови между сонной и вертебробазиллярной системами постоянно привлекает внимание многих исследователей к изучению особенностей его строения [1–5, 7–11]. По данным большинства работ [1, 2, 5, 7–11], каждая половина АКБМ представлена мозговым отрезком внутренней сонной артерии, проксимальными отделами передней и задней моз-

говых артерий, а также задней соединительной артерией. Обе половины АКБМ соединены спереди посредством передней соединительной артерии, сзади — оральным отделом базилярной артерии. Причем, по данным ряда авторов [1, 2, 5, 7, 10], классическое строение АКБМ встречается примерно в 25–50% наблюдений, а в остальных случаях имеются различные его варианты, которые могут ограничивать компенсаторные возможности этого круга (разомкнутый круг), что необходимо учитывать в нейрохирургической практике.

В имеющейся литературе недостаточно или фрагментарно описаны морфологические, топографические и морфометрические особенности строения сосудов АКБМ человека в зависимости от формы черепа. Поэтому цель настоящего исследования — установить варианты строения и топографии артерий головного мозга, участвую-