

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ ИМ. И.П. ПАВЛОВА

*На правах рукописи*

ШКОРБАТОВА  
ПОЛИНА ЮРЬЕВНА

**МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РЕОРГАНИЗАЦИЯ  
НЕЙРОННЫХ СВЯЗЕЙ В ЗРИТЕЛЬНОЙ КОРЕ КОШКИ  
ПРИ НАРУШЕНИИ БИНОКУЛЯРНОГО ЗРЕНИЯ**

03.00.13 – физиология

03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ  
2008

Работа выполнена в лабораториях физиологии зрения и нейроморфологии Института физиологии им. И.П.Павлова РАН

Научные руководители: доктор медицинских наук,  
Феликс Николаевич Макаров

доктор биологических наук,  
Светлана Валентиновна Алексеенко

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,  
Кирилл Николаевич Дудкин  
(Институт физиологии  
им. И.П. Павлова РАН);  
доктор биологических наук, профессор,  
Евгений Иванович Чумасов,  
(Санкт-Петербургская государственная академия  
ветеринарной медицины).

Ведущее учреждение: Санкт-Петербургский государственный университет

Защита состоится “ 17 “ноября 2008 г. в 11<sup>00</sup> час.

на заседании Диссертационного Совета по защите докторских и кандидатских диссертаций  
Д 002.020.01 при Институте физиологии им. И.П. Павлова РАН  
(199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института физиологии  
им. И.П. Павлова РАН.

Автореферат разослан “ 17 “ октября 2008 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор биологических наук

Ордян Н.Э.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Бинокулярное зрение – это зрение с использованием информации, поступающей в головной мозг от сетчаток двух глаз. Оно обеспечивает более совершенное по сравнению с монокулярным зрением восприятие глубины, трехмерной формы объектов, оценку их абсолютной и относительной удаленности, восприятие яркости и контраста [Кропман, 1966; Рожкова, 1992]. Нарушения бинокулярного зрения у людей наиболее часто встречаются вследствие неодинаковой стимуляции глаз в раннем постнатальном периоде, когда зрительная система наиболее чувствительна к изменениям зрительного опыта, например при врожденной катаракте или косоглазии [Daw, 2005]. Из клинической практики известно, что такие условия приводят к значительному и, как правило, необратимому изменению зрительных функций: утрачивается способность к фузии и стереопсису [Birch, Stager, 1985; Birch et al., 1990], нарушается восприятие движения [Norcia et al., 1991; Tychsen et al., 1996; Schor et al., 1997], возникает амблиопия депривированного или отклоненного глаза - снижается острота зрения [Зислина, 1987; Mitchell, McKinnon, 2002], искажается восприятие объектов этим глазом [Barrett et al., 2004]. Это существенно ограничивает выбор профессии и повышает опасность травматизма из-за невозможности точно оценивать пространственные соотношения предметов в окружающей среде.

В нейрофизиологических исследованиях на животных было показано, что нарушение бинокулярных функций при косоглазии [Hubel, Wiesel, 1965; Van Sluyters, Levitt, 1980; Freeman et al., 1982; Mower et al., 1982; Kalil et al., 1984] и монокулярной депривации [Wiesel, Hubel, 1963; Hubel, Wiesel, 1970; Cynader et al., 1980; Mower et al., 1982] обусловлено утратой бинокулярных нейронов в первичной зрительной коре. Кроме того, уменьшается количество нейронов, управляемых из депривированного или отклоненного глаза, снижается их пространственная разрешающая способность, увеличивается размер рецептивных полей, расширяется ориентационная и дирекциональная настройка [Mower et al., 1982; Chino et al., 1983; Kalil et al., 1984]. Несмотря на значительное количество исследований, посвященных влиянию косоглазия и монокулярной депривации на свойства нейронов зрительной коры, сведений об организации межнейронных связей, которые могут обуславливать эти изменения, недостаточно. В имеющихся работах показано, что при косоглазии наблюдается более четкая сегрегация связей клеток поля 17, управляемых из разных глаз [Löwel, Singer, 1992; Schmidt et al., 1997], при монокулярной депривации нарушается кластерная организация клеток поля 17 [Price et al., 1994]. О структуре межполушарных связей у животных, выращенных в условиях рассогласования сенсорной информации из двух глаз, имеются противоречивые данные. Ряд авторов отмечают расширение зоны каллозальных клеток в поле 17 [Lund et al., 1978; Innocenti, Frost, 1979; Berman, Payne, 1983], тогда как в других работах не выявлено отличий от нормы как по количеству, так и по распределению каллозальных клеток [Bourdet et al., 1996; Olavarria, 2001].

Известно, что у животных с бинокулярным зрением (фронтальным расположением глаз) в коре каждого полушария представлена проекция контралатеральной половины поля зрения обоих глаз. Зрительные пути из левой и правой сетчаток не перекрываются во входном слое первичной зрительной коры, образуя чередующиеся зоны монокулярно управляемых клеток, которые дают начало вертикальной организации коры в колонки доминирования разных глаз. Исследований организации внутри- и межполушарных связей отдельных глазодоминантных колонок зрительной коры у животных с нарушением бинокулярного зрения не проводилось.

**Цель и задачи исследования.** Целью диссертационной работы являлось изучение морфо-функциональной организации внутрислоушарных и межполушарных нейронных связей глазодоминантных колонок зрительной коры у кошек с нарушением бинокулярного зрения в ранний постнатальный период. Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. описать и количественно оценить параметры областей распределения внутрислоушарных связей отдельных глазодоминантных колонок полей 17 и 18 у кошек с уни- и билатеральным конвергентным косоглазием, а также у монокулярно депривированных кошек;
2. оценить преимущественный глазной вход корковых колонок и выявить различия в конструкции нейронных связей колонок, получающих вход из интактного глаза, депривированного или отклоненного глаза;
3. изучить распределение каллозальных нейронов, иннервирующих колонки полей 17 и 18 у кошек с уни- и билатеральным косоглазием и у монокулярно депривированных кошек;
4. сравнить характер организации внутри- и межполушарных связей у кошек с нарушением бинокулярного зрения и интактных кошек.

**Основные положения, выносимые на защиту.**

1. Нарушение бинокулярного зрения, вызванное косоглазием или монокулярной депривацией в раннем постнатальном периоде, приводит к изменению протяженности внутрислоушарных и межполушарных связей нейронов глазодоминантных колонок зрительной коры.
2. Протяженность внутрислоушарных связей колонок, получающих входы из депривированного или отклоненного глаза, уменьшается, а протяженность связей колонок интактного глаза - увеличивается.
3. Направления, вдоль которых происходят изменения протяженности внутрислоушарных связей, различаются у кошек с разными формами нарушения бинокулярного зрения. При конвергентном косоглазии увеличивается протяженность связей вдоль оси, совпадающей с направлением смещения глаза, при косоглазии и одновременном торзионном отклонении глаза протяженность связей увеличивается также и в ортогональном направлении, при монокулярной депривации - вдоль разных направлений.

4. При косоглазии и при монокулярной депривации сохраняется глазоспецифичность межполушарных связей и их пространственная асимметрия. При этом протяженность межполушарных связей в основном увеличивается на одну корковую гиперколонку.

**Научная новизна.** В работе впервые проведена количественная оценка изменений конструкции нейронных связей отдельных глазодоминантных колонок корковых полей 17 и 18 у кошек при нарушении бинокулярного зрения, экспериментально вызванного в критический период развития зрительной системы. Впервые показано, что в зрительной коре меняется протяженность связей нейронов колонок, получающих вход из депривированного или отклоненного глаза, а также нейронов колонок, получающих вход из интактного глаза. Выявлены различия в организации нейронных связей колонок, получающих входы из депривированного и интактного глаза у монокулярно депривированных кошек, отклоненного и интактного глаза у кошек с унилатеральным косоглазием, более отклоненного и менее отклоненного глаза у кошек с билатеральным косоглазием. Обнаружено увеличение протяженности внутривисцеральных связей колонок интактного глаза и уменьшение связей колонок депривированного или отклоненного глаза. Получены новые данные об увеличении протяженности внутривисцеральных связей вдоль направления, совпадающего с проекцией вертикального меридиана поля зрения, у животных с торзионным отклонением глаз. Получено экспериментальное подтверждение гипотезы о сохранении глазоспецифичности моносинаптических межполушарных связей. Впервые показано, что межполушарные связи колонок коркового поля у кошек с нарушением бинокулярного зрения расширяются на одну гиперколонку.

**Теоретическое и практическое значение работы.** Сведения о структурной реорганизации нейрональных связей при нарушении бинокулярного зрения представляют самостоятельный интерес в рамках фундаментальной проблемы пластичности нервной системы. Детальные знания о нейронных связях зрительной коры важны не только для более полного понимания функционирования нормального бинокулярного зрения, но и для понимания нейрональных механизмов, лежащих в основе патологии зрительной системы. Важное теоретическое значение имеют полученные в работе сведения о количественных изменениях конструкции моносинаптических связей в коре. Выявленные в работе расширение внутренних и межполушарных связей колонок, получающих вход из интактного глаза, и сужение связей колонок, получающих вход из депривированного или отклоненного глаза, расширяют существующие представления о роли горизонтальных связей в коре и позволяют оценить их возможный вклад в патогенез амблиопии. Косоглазие и депривационная амблиопия, возникающая при врожденной катаракте, встречается у 5% населения [Rubenstein, 1985; Barrett et al., 2004], поэтому полученные в работе данные важны для клинических целей и могут быть использованы при выборе сроков и способов лечения амблиопии и нарушений стереозрения у детей.

**Апробация работы.** Результаты исследований докладывались и обсуждались на конференции «Пластичность и структурно-функциональная взаимосвязь коры и

подкорковых образований мозга» (Москва, 2003); XIX Всероссийском съезде Физиологического общества им. И.П. Павлова (Екатеринбург, 2004), Всероссийской конференции молодых исследователей «Физиология и медицина» (Санкт-Петербург, 2005), XXVIII, XXIX, XXX Европейских конференциях по зрительному восприятию (А Корунья, Испания, 2005, Санкт-Петербург, 2006, Утрехт, Нидерланды, 2008), международной конференции, посвященной 80-летию Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (Санкт-Петербург, 2005), конференции «Структурно-функциональные и нейрохимические закономерности асимметрии и пластичности мозга» (Москва, Институт мозга РАН, 2005), V Международной конференции по функциональной нейроморфологии «Колосовские чтения» (Санкт-Петербург, 2006).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 23 научные работы: 7 статей и 16 тезисов (из них 10 – в отечественных, и 6 – в зарубежных изданиях).

**Структура диссертации.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов и библиографии, включающей \_\_ источников (из них \_\_ иностранных). Общий объем диссертации составляет \_\_ страниц печатного текста, работа иллюстрирована \_\_ рисунками и \_\_ таблицами.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на 5 монокулярно депривированных кошках, 8 кошках с унилатеральным и 8 кошках с билатеральным конвергентным косоглазием. Экспериментальная работа проводилась согласно "Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных", утвержденных приказом МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г. и закону "О защите животных от жестокого обращения", гл. IV, ст. 10, 4679-П ГД от 01.12.1999 г. В качестве контроля были использованы 3 кошки того же возраста с нормальным зрительным опытом. Кроме того, полученные результаты сравнивали с данными, полученными в лаборатории нейроморфологии на 16-ти интактных взрослых кошках [Алексеевко и др., 1999].

**Формирование экспериментального косоглазия и монокулярной депривации.** Косоглазие у котят было вызвано путем удаления прямой наружной мышцы одного или обоих глаз. Для формирования монокулярной депривации проводили операцию по сшиванию век одного глаза. Операции проводили на 10-14 постнатальный день под наркозом (кетамин 30 мг/кг, ксилазин 10 мг/кг, внутримышечно) с применением местной анестезии (новокаин 0.5%). Затем животных выращивали в нормальной зрительной среде до 4-5-месячного возраста.

**Оценка степени косоглазия.** По фотографиям глаз определяли: 1) отношение  $K=A/B$ , где  $A$  – расстояние между отражениями света на роговицах,  $B$  – расстояние между центрами зрачков [Sireteanu et al., 1993] (рис. 1.1); 2) угол отклонения глаза по горизонтали от нормального положения, в угловых градусах [Sherman, 1972]. Для этого измеряли расстояние между центральной осью зрачка и бликом (рис. 1.2), при этом учитывая положение зрачков у

интактных животных; 3) угол торзионного отклонения глаз - угол  $\theta$ , образованный двумя зрачковыми щелями во фронтальной плоскости [Olson, Freeman, 1978]. (Рис. 1.3).

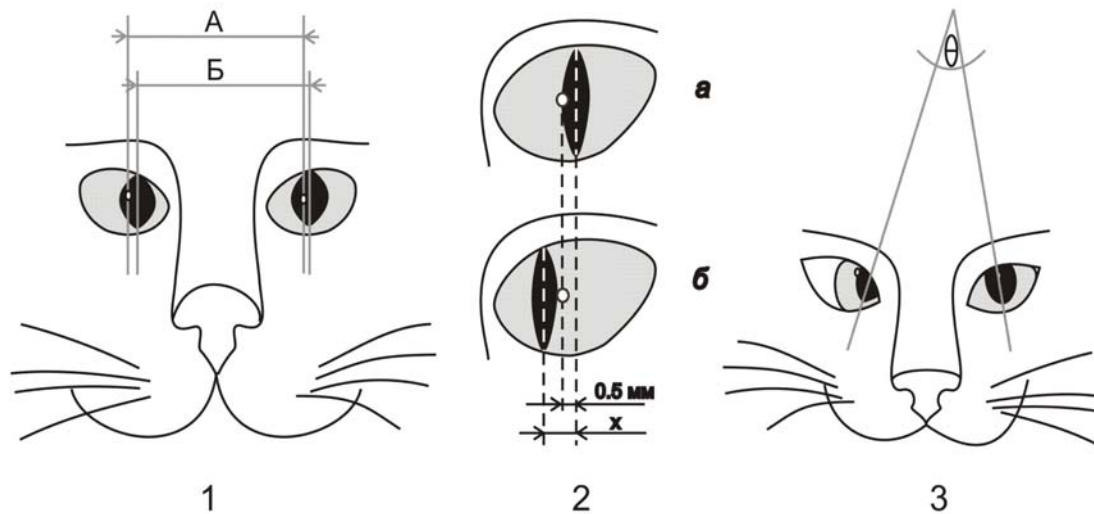


Рис. 1. Способ определения установки глаз (1), угла ( $x$ ) отклонения глаза по горизонтали (2) и угла  $\theta$  торзионного отклонения глаз (3). *А* – расстояние между бликами, *Б* – расстояние между центральными осями зрачков. Положение зрачка относительно блика у интактной кошки (*а*), у кошки с конвергентным косоглазием (*б*).  $x$  – угол отклонения глаза.

**Введение пероксидазы хрена.** В возрасте 4-5 месяцев животным под наркозом (кетамин 40 мг/кг, ксилазин 10 мг/кг внутримышечно) микроионофоретически вводили ретроградно транспортируемый маркер нейронных связей пероксидазу хрена (ПХ) в отдельные колонки нейронов зрительных полей 17, 18 и переходной зоны 17/18 коры. Стекланный микроэлектрод, заполненный 8% раствором ПХ на фосфатном буфере (рН 6.2), ориентировали перпендикулярно поверхности коры и погружали шаговым двигателем на глубину 1500-1800 мкм. Затем поднимали на 200-400 мкм и проводили ионофорез постоянным током +0.5 мкА в течение 20 мин (референтный электрод крепили над другим полушарием). После выключения тока микроэлектрод поднимали и оставляли на 10 мин на глубине 600-800 мкм.

**Перфузия и гистологическая обработка.** Через 36 - 48 часов кошке под глубоким нембуталовым наркозом (80 мг/кг, внутривенно) проводили перфузионную фиксацию головного мозга (физиологический раствор, раствор параформальдегида (1%) и глютаральдегида (1.25%) на 0.1М фосфатном буфере, раствор сахарозы (10%) на фосфатном буфере). Извлеченный головной мозг помещали на сутки в 30% раствор сахарозы. На замораживающем микротоме изготавливали непрерывную серию фронтальных срезов толщиной 50 мкм. Пероксидазу хрена выявляли по методике Мезулама [Mesulam, 1982], затем срезы докрашивали сафранином. При таком способе введения и выявления фермента зона введения пероксидазы хрена представляла на срезах мозга интенсивно прокрашенный участок коры в виде полосы шириной 200-300 мкм проходящей через все шесть ее слоев перпендикулярно поверхности. Диаметр зоны введения не превышал размеров одной глазодоминантной колонки коры [Hubel, Wiesel, 1962].

**Анализ гистологических срезов.** При микроскопическом исследовании срезов мозга выявляли тела ретроградно меченых клеток, определяли их принадлежность к слою коры, корковому полю 17, 18 или переходной зоне 17/18, а также оценивали координаты их локализации в проекции поля зрения по ретинотопическим картам [Tusa et al., 1978, 1979]. Кроме того, измеряли удаленность инъецированной колонки от границы коркового поля с переходной зоной 17/18.

**Реконструкция области меченых клеток.** Область ретроградно меченых клеток реконструировали в двухмерной прямоугольной системе координат с центром в зоне введения маркера. Для этого определяли удаленность каждого меченого нейрона от места введения ПХ в медиолатеральном и рострокаудальном направлениях. Для каллозальных клеток определяли удаленность от точки коры, симметричной положению места введения ПХ в противоположном полушарии. По данным этих измерений строили графики распределения меченых клеток в полях 17 и 18 тангенциально поверхности коры, где, как известно [Tusa et al., 1981], ретинотопически представлено поле зрения. Анализировали форму и размеры области меченых клеток в поле 17 при введении ПХ как в колонки поля 17, так и поля 18. В большинстве опытов одному животному инъецировали ПХ в две корковые колонки, расположенные в разных полушариях и удаленные друг от друга не менее, чем на 10 мм, что исключало перекрытие областей меченых клеток.

**Кластерный анализ распределения меченых клеток.** Для оценки количественных характеристик группирования в коре меченых клеток, проводили кластерный анализ. Использовали программу, написанную В.А Ляховецким [Илюшов и др., 2002]. Разбиение на кластеры проводилось во “взвешенной” евклидовой метрике с использованием алгоритма “ближнего соседа”, как в автоматическом, так и в интерактивном режимах. Определяли расстояния между центрами тяжести выявленных групп клеток.

**Оценка преимущественного глазного входа инъецированных колонок.** Глазодоминантность инъецированной маркером колонки определяли по локализации ретроградно меченых клеток в слоях дорсального ядра наружного коленчатого тела (НКТд) и медиального интерламинарного ядра (МИЯ). Колонки, имеющие большее количество меченых клеток в слоях А, С, С2 НКТд и слоях 1 и 3 МИЯ, считались управляемыми преимущественно из контралатерального глаза, а колонки, имеющие большее количество клеток в слоях А1, С1 НКТд и слое 2 МИЯ – управляемыми преимущественно из ипсилатерального глаза.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

У исследованных кошек с унилатеральным косоглазием угол отклонения глаза составлял  $10^{\circ}$  -  $70^{\circ}$ , у кошек с билатеральным косоглазием -  $10^{\circ}$  -  $40^{\circ}$ , степень отклонения левого и правого глаз у большинства животных с билатеральным косоглазием различалась. Кроме отклонения глаз в назальном направлении, у 2-х кошек с унилатеральным и 3-х кошек с билатеральным косоглазием было также обнаружено торзионное отклонение глаз(а) – угол между зрачками во фронтальной плоскости превышал норму на  $10$ - $20^{\circ}$ .



Нейронные связи были выявлены у 10-ти корковых колонок полей 17, 18 у кошек с унилатеральным косоглазием, 14-ти корковых колонок у кошек с билатеральным косоглазием, 9-ти корковых колонок у кошек с монокулярной депривацией и 4-х колонок у интактных кошек того же возраста. Колонки находились в зоне проекции от  $-40^\circ$  до  $+10^\circ$  поля зрения при удаленности от проекции вертикального меридиана до  $20^\circ$ , то есть представляли бинокулярный сегмент поля зрения кошек.

### **Исследование внутрислошарных связей корковых колонок полей 17, 18**

*У интактных кошек* область ретроградно меченых клеток в поле 17 имеет эллипсовидную форму (рис. 2, а). Ее длинная ось составляет  $3,9 \pm 0,4$  мм и ориентирована медиолатерально, т.е. совпадает с проекцией горизонтального меридиана поля зрения. Размер области меченых клеток в rostrocaudальном направлении, совпадающем с проекцией вертикального меридиана, составляет  $1,6 \pm 0,5$  мм. Внутри этой зоны меченые клетки располагаются в двух параллельных рядах кластеров, расстояние между которыми составляет  $1,2 \pm 0,3$  мм; расстояние между кластерами в рядах составляет  $0,8 \pm 0,3$  мм [Алексеевко и др., 1999, 2003]. Пространственные характеристики областей меченых клеток у исследованных в данной работе интактных кошек в возрасте 4-5 месяцев, находились в пределах этих значений.

*У монокулярно депривированных кошек* нейронные связи были выявлены у одной колонки, получающей вход из депривированного глаза и у 6-ти колонок, получающих вход из интактного (недепривированного) глаза. У колонок недепривированного глаза было обнаружено расширение (до  $7,7 \times 6,7$  мм) и в некоторых случаях перестройка внутренней структуры области меченых клеток, которая выражалась в неравномерности распределения меченых клеток. В центральной части области меченых клеток (ядро), наблюдалась большая плотность клеток, там можно было выделить два или три ряда кластеров, расстояние между которыми составляло  $0,9 \pm 0,2$  мм ( $p < 0,05$ ), а расстояние между кластерами в ряду -  $0,7 \pm 0,2$  мм ( $p < 0,05$ ), что не отличалось от параметров группирования нейронов у интактных кошек. За пределами ядра располагалось до 10 отдельных эктопических клеток, закономерностей в их расположении не наблюдалось (рис. 2, б). Меченые клетки колонки, получающей вход из депривированного глаза, занимали в поле 17 округлую по форме территорию размером  $3,1 \times 2,3$  мм, то есть меньшую, чем у колонок интактного глаза (рис. 2, д). В центре области видно плотное ядро, в разные стороны от которого расходятся ряды меченых клеток. Ряды образованы группами клеток, расстояние между которыми в среднем составляет  $0,7 \pm 0,2$  мм ( $p < 0,05$ ). Расположение меченых клеток этой колонки имеет сходство с рисунком расположения на поверхности коры "узла" пересечения изо-ориентационных линий [Bonhoeffer, Grinvald, 1991], в котором, как известно [Crair et al., 1997], наблюдается максимальная активность нейронов глазодоминантного домена. Таким образом, у монокулярно депривированных кошек выявлена значительная редукция горизонтальных связей глазодоминантных колонок депривированного глаза и увеличение протяженности

горизонтальных связей колонок интактного глаза за счет связей с отдельными эктопическими клетками.

*У кошек с унилатеральным косоглазием* реорганизация связей также зависела от того, из какого глаза получает вход глазодоминантная колонка. Количество колонок, управляемых из интактного глаза (7 колонок) превышало количество колонок, управляемых из отклоненного глаза (3 колонки).

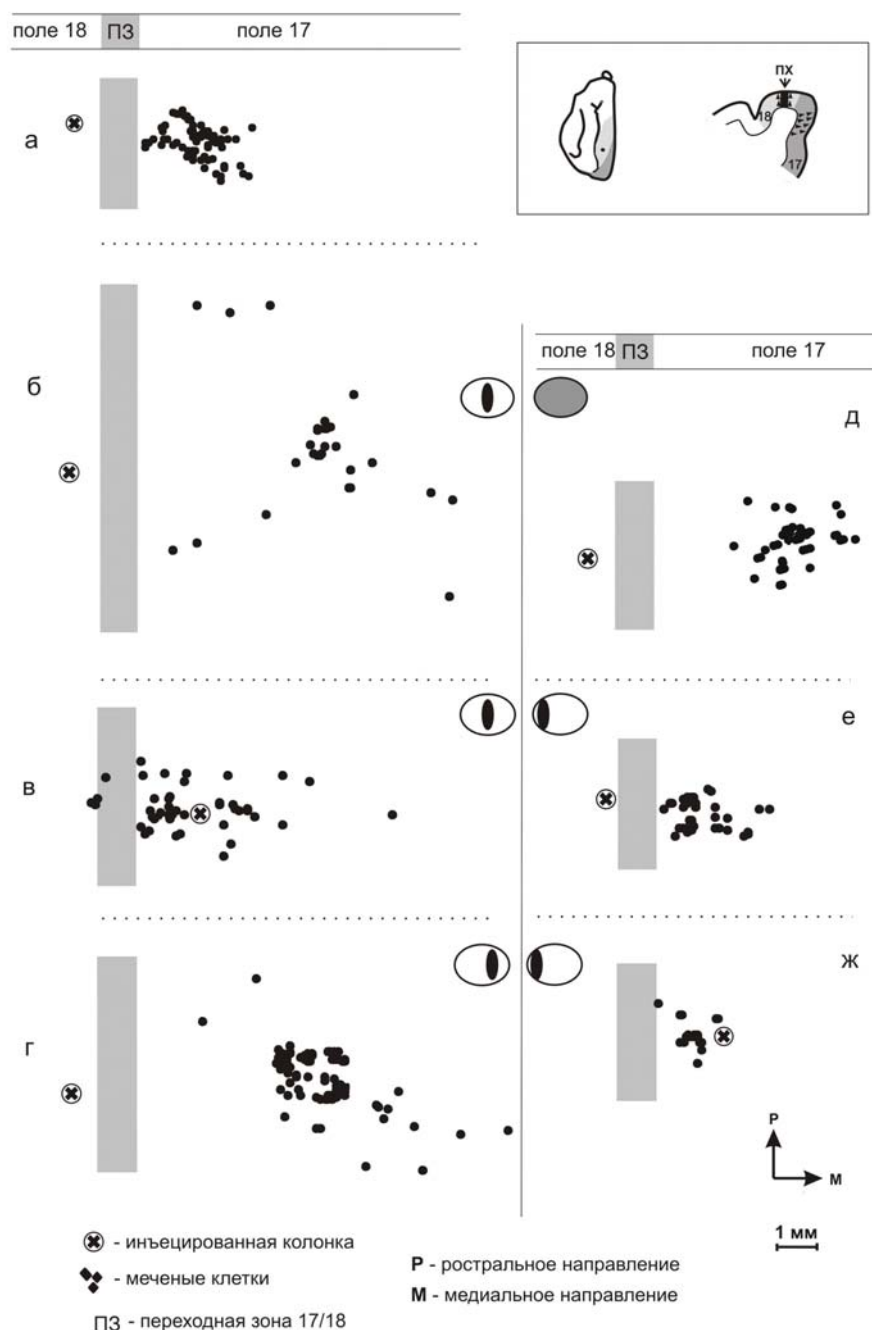


Рис. 2. Тангенциальное распределение меченых клеток в поле 17 после введения ПХ в колонки полей 17 и 18 у интактных кошек (а), у монокулярно депривированных кошек (б, д), у кошек с унилатеральным (в, е) и билатеральным (г, ж) косоглазием. Вид на выпрямленную поверхность коры. На вставке схематически представлено левое полушарие мозга и его фронтальный срез, отмечено положение инъекционной колонки поля 18 и меченых клеток полей 17 и 18.

Большинство областей меченых клеток имели овальную форму, длинная ось которой ориентирована медиолатерально (рис. 2, в, е). Меченые клетки были расположены в кластерах, при этом периодичность группирования клеток не отличалась от нормы. Расстояние между рядами кластеров –  $1,0 \pm 0,1$  мм ( $p < 0,05$ ), расстояние между кластерами в рядах –  $0,9 \pm 0,3$  мм ( $p < 0,05$ ). Как и у монокулярно депривированных кошек, глаздоминантные колонки интактного глаза были связаны с клетками поля 17, занимающими более обширную территорию, чем у интактных кошек (рис. 2, в). В большинстве случаев увеличение протяженности областей меченых нейронов до  $5,6 \pm 0,9$  мм ( $p < 0,05$ ) отмечалось в медиолатеральном направлении, то есть в направлении смещения глаз. Для колонок, получающих входы из отклоненного глаза (рис. 2, е), протяженность областей меченых клеток поля 17 в этом направлении была достоверно меньше нормы и составляла  $2,7 \pm 0,5$  мм ( $p < 0,05$ ). Таким образом, при унилатеральном косоглазии происходит изменение протяженности нейронных связей колонок, получающих входы как из интактного, так и из отклоненного глаза. При этом протяженность связей колонок отклоненного глаза уменьшается, а колонок интактного глаза - увеличивается (рис. 3).

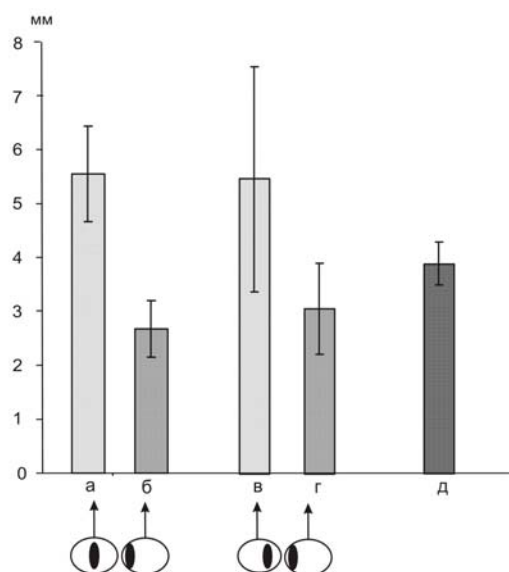


Рис. 3. Протяженность нейронных связей в поле 17 вдоль проекции горизонтального меридиана поля зрения для разных типов глаздоминантных колонок у кошек с унилатеральным (а, б) и билатеральным (в, г) косоглазием. Глазные входы колонок: а - интактный глаз, б - отклоненный глаз, в - менее отклоненный глаз, г - более отклоненный глаз, д - протяженность связей у интактных кошек.

У кошек с билатеральным косоглазием наблюдалось как увеличение или уменьшение протяженности нейронных связей, так и отсутствие изменений. У большинства колонок изменение протяженности связей отмечалось в медиолатеральном направлении. Меченые клетки были расположены в кластерах, при этом расстояние между рядами которых составляло  $1,0 \pm 0,2$  мм ( $p < 0,05$ ), расстояние между кластерами в рядах –  $0,8 \pm 0,1$  мм ( $p < 0,05$ ), что не отличалось от интактных кошек. В результате сравнения углов отклонения левого и правого глаз все инъецированные колонки были разделены на колонки, управляемые из более отклоненного глаза (4 колонки), и колонки, управляемые из менее отклоненного глаза (8 колонок). Анализ протяженности связей в медиолатеральном направлении показал, что у большинства колонок, получающих вход из менее отклоненного глаза, длина областей меченых клеток была больше нормы, а у большинства колонок, получающих вход из более отклоненного глаза - меньше нормы (рис. 3). Таким образом, при билатеральном и

унилатеральном косоглазии наблюдается сходный характер изменений в протяженности связей колонок вдоль направления, совпадающего с проекцией оси смещения глаз.

У кошек с косоглазием и одновременным торзионным отклонением глаз(а) было обнаружено увеличение размера области меченых клеток в ростокаудальном направлении (рис. 4, А). Вдоль этого направления можно было выделить от 3 до 5 рядов меченых клеток в пределах расстояния  $4,3 \pm 0,6$  мм ( $p < 0,05$ ). Однако такие изменения связей были выявлены только у колонок, получающих входы из ипсилатерального глаза (рис. 4, Б). Таким образом, торзионное отклонение глаз вызывает увеличение протяженности нейронных связей в ростокаудальном направлении у колонок, получающих входы через неперекрестные зрительные пути.

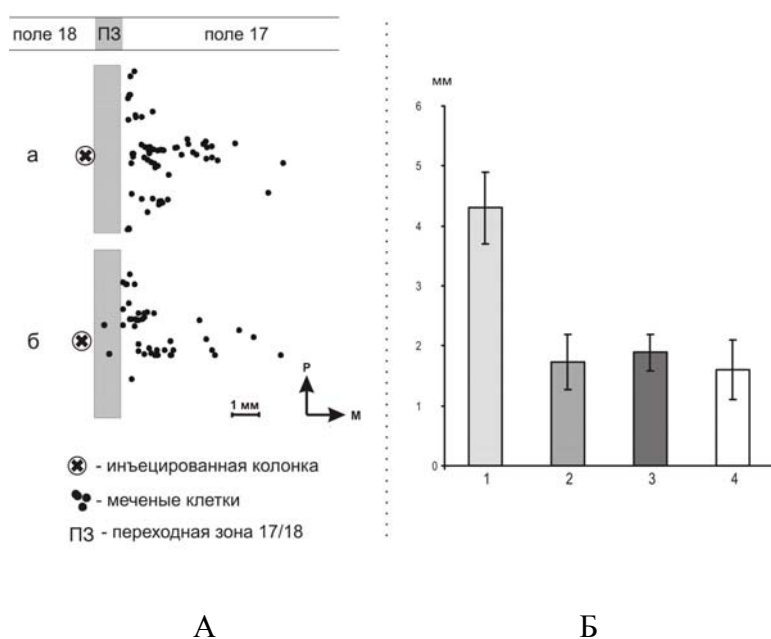


Рис. 4. А – Распределение меченых нейронов у кошек с косоглазием и одновременным торзионным отклонением глаза. (а – билатеральное косоглазие, б – унилатеральное косоглазие); Б - Протяженность области меченых клеток поля 17 в ростокаудальном направлении у кошек с косоглазием и торзионным отклонением глаз для колонок, получающих входы из ипсилатерального (1) и контралатерального (2) глаз, у кошек с косоглазием без торзионного отклонения глаз (3), у интактных кошек (4).

### Исследование межполушарных связей колонок полей 17, 18

У интактных кошек каллозальные клетки и их аксонные терминалы в противоположном полушарии локализуются в несимметричных (относительно средней линии мозга) участках коры двух полушарий [Olavarría, 2001; Алексеенко и др., 2002]. При введении маркера в колонки поля 17 или 18 меченые клетки выявляются в другом полушарии только в переходной зоне между этими полями, ширина которой составляет 1 мм [Raune, 1994], а при введении маркера в колонку переходной зоны меченые клетки выявляются в полях 17 и 18. Результаты, полученные при введении ПХ в колонки полей 17 и 18 коры интактных кошек 4-5-месячного возраста, согласуются с данными вышеописанных исследований (рис. 5, а).

У кошек с нарушением бинокулярного зрения так же, как и у интактных животных, была выявлена асимметрия в расположении каллозально связанных участков коры двух полушарий (рис. 5, б, в). Однако при введении ПХ в колонки поля 17 или 18 у большинства исследованных колонок полей 17 и 18 наблюдалось расширение зоны каллозальных клеток.

Часть меченых клеток находилась в переходной зоне 17/18, в тех участках, ретинотопические координаты которых соответствуют координатам исследуемой колонки. Остальные клетки располагались за пределами переходной зоны в полях 17 и 18 и были сгруппированы в кластеры, удаленные от клеток переходной зоны на расстояние  $1,0 \pm 0,1$  мм в сторону поля 17 и  $1,1 \pm 0,3$  мм в сторону поля 18. Известно, что с такой периодичностью расположены в полях 17 и 18 глазодоминантные колонки, получающие вход из одного и того

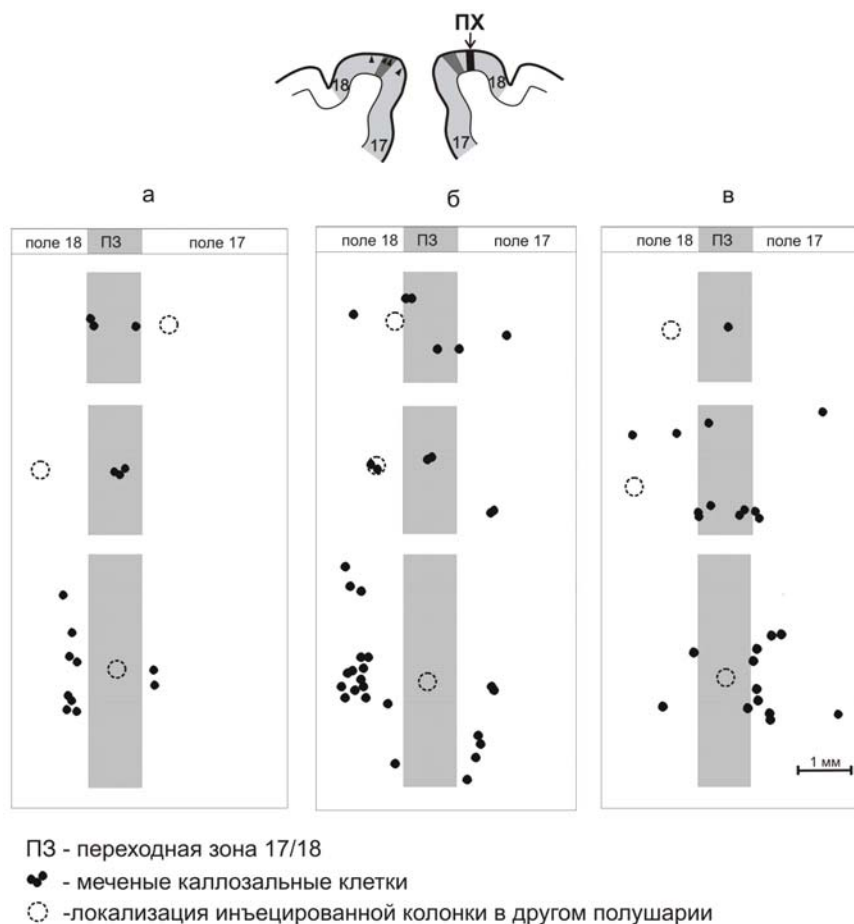


Рис. 5. Локализация меченых каллозальных клеток после введения пероксидазы хрена (ПХ) в отдельные корковые колонки полей 17 и 18 у intactных кошек (а), у кошек косоглазием (б), монокулярно депривированных кошек (в). Вид на выпрямленную поверхность коры. Вверху на фронтальном срезе мозга схематически показано местоположение инъецированной колонки и меченых каллозальных клеток.

же глаза [Löwel, Singer, 1987]. Таким образом, при нарушении бинокулярного зрения происходит только количественная реорганизация межполушарных связей полей 17, 18 при сохранении их глазоспецифичности. Следует отметить, что в коре у intactных кошек глазодоминантные колонки, у которых были обнаружены межполушарные связи, локализовались вблизи проекции центрального вертикального меридиана поля зрения (азимут - до  $7^\circ$ , высота - от  $-37^\circ$  до  $+5^\circ$ ). Однако у кошек с косоглазием и монокулярно депривированных кошек межполушарные связи были выявлены у колонок полей 17 и 18, более удаленных от проекции вертикального меридиана (до  $20^\circ$ ), что указывает на расширение каллозально-реципиентной зоны.

При введении ПХ в колонку переходной зоны, как и у интактных кошек, меченые клетки локализовались в противоположном полушарии за пределами переходной зоны 17/18, в близко расположенных к ней колонках полей 17 и 18, и отсутствовали в переходной зоне (рис. 5, нижний ряд). Расширения зоны каллозальных клеток на территорию соседней гиперколонки не наблюдалось. Однако у монокулярно депривированных кошек были выявлены редкие эктопические меченые клетки на территории корковых полей. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что более значительные изменения межполушарных связей наблюдаются у глазодоминантных колонок корковых полей 17 и 18, чем у колонок переходной зоны 17/18. Выявленное расширение межполушарных связей колонок полей 17 и 18 может обеспечить более надежное объединение проекций двух полуполей зрения в разных полушариях.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты нейрофизиологических исследований зрительной коры [Hubel, Wiesel, 2005] свидетельствуют о снижении активности нейронов депривированного глаза при монокулярной депривации и нейронов отклоненного глаза при унилатеральном косоглазии. Полученные нами данные указывают, что нейроны таких колонок имеют меньшую протяженность связей. Наблюдаемое при этом увеличение протяженности связей у нейронов интактного глаза по сравнению с нормой свидетельствует о конкурирующих взаимодействиях между нейронами, получающими входы из разных глаз, при формировании внутрикорковых связей. Подобные различия в изменениях связей колонок, получающих вход из менее отклоненного и более отклоненного глаз, наблюдались и у части животных с билатеральным косоглазием. Редукция протяженности связей приводит к ограничению латеральных функциональных взаимодействий между корковыми нейронами [Kasamatsu et al., 1998], в результате чего снижается их пространственная разрешающая способность. Вследствие этого ухудшается острота зрения глаза, снижается контрастная чувствительность, т.е. возникает амблиопия.

В данной работе показано, что снижение освещенности сетчатки, а также отсутствие паттернового зрения при сшивании век одного глаза и рассогласование сигналов от разных глаз при косоглазии с одновременным нарушением подвижности отклоненного глаза приводят к сходным изменениям связей нейронов колонок депривированного и отклоненного глаза. Однако полученных данных недостаточно для того, чтобы оценить различия в изменениях связей нейронов этих колонок. В обоих случаях вероятность выявления укороченных нейронных связей снижается, возможно, из-за уменьшения размера корковых колонок и ветвления терминалей аксонных коллатералей клеток [Hubel et al., 1975].

Выявленные в работе изменения протяженности нейронных связей глазодоминантных колонок могут обуславливать известные различия в степени синхронизации ответов монокулярных клеток [Roelfsema et al., 1994], что может повлиять на процессы выделения

фигуры из фона, интеграции контуров у животных и пациентов с амблиопией глаза [Kozma, Kiorpes, 2003, Simmers et al., 2003].

Известно, что граница разделения полей зрения глаз на полуполя, представленные в разных полушариях, проходит через область максимальной остроты зрения. Обнаруженное нами расширение зон межполушарных связей при депривации и косоглазии может обеспечить более надежное объединение проекций левой и правой половин поля зрения глаза, что, вероятно, необходимо для компенсации утраченных бинокулярных межполушарных связей.

### **ВЫВОДЫ**

1. Нарушение бинокулярного зрения в ранний постнатальный период развития кошек вызывает количественные изменения пространственной организации моносинаптических внутри- и межполушарных связей нейронов зрительной коры. Эти изменения выявляются на уровне связей отдельных глазодоминантных колонок полей 17 и 18.
2. Уни- и билатеральное конвергентное косоглазие, монокулярная депривация вызывают увеличение протяженности внутрислошарных связей колонок доминирования интактного глаза и уменьшение протяженности связей колонок доминирования депривированного или отклоненного глаза. При билатеральном косоглазии наблюдается тенденция к уменьшению протяженности связей колонок более отклоненного глаза и увеличению протяженности связей колонок менее отклоненного глаза. Это свидетельствует о том, что конкурентные взаимодействия между нейронами, получающими входы из разных глаз, отражаются и на протяженности их внутрискорковых связей.
3. Направления в коре, вдоль которых происходит изменение протяженности связей колонок доминирования интактного глаза, различаются у кошек с разными формами нарушения бинокулярного зрения. У кошек с конвергентным косоглазием протяженность связей увеличивается вдоль оси, совпадающей с направлением смещения глаз(а), у кошек с косоглазием и одновременным торзионным отклонением глаз протяженность связей увеличивается также и вдоль ортогонального направления, у монокулярно депривированных кошек - вдоль разных направлений. Это указывает, что формирование распределения связей в коре зависит от различий освещенности двух сетчаток и пространственного расположения изображений объектов на них.
4. При косоглазии и при монокулярной депривации сохраняется асимметрия в расположении каллозально связанных участков коры двух полушарий, а также глазоспецифичность межполушарных связей. Наблюдаемое при этом расширение зоны каллозальных клеток может обеспечить более надежное объединение проекций левой и правой половин поля зрения глаза, что необходимо для компенсации утраченных бинокулярных связей.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Топорова С.Н., Алексеенко С.В., Шкорбатова П.Ю. Различия афферентации корковых колонок полей 17 и 18 коры кошки нейронами наружного коленчатого тела // IV

международная конференция по функциональной нейроморфологии «Колосовские чтения-2002»: Тез. докл. – СПб, 2002. – с. 286.

2. Топорова С.Н., Шкорбатова П.Ю., Алексеенко С.В. Особенности организации межполушарных связей полей 17, 18, коры у кошек с косоглазием // Сб. «Пластичность и структурно-функциональная взаимосвязь коры и подкорковых образований мозга»: Тез. докл. – Москва, 2003. – с. 94.

3. Shkorbatova P.Y., Alexeenko S.V., Toporova S.N., Makarov F.N. Callosal connections of single cortical column in strabismic cats // Materials of 14<sup>th</sup> European Students Conference: Abstract. – Berlin, 2003. – p. 242.

4. Шкорбатова П.Ю., Топорова С.Н., Алексеенко С.В., Макаров Ф.Н. Межполушарные связи корковых колонок полей 17 и 18 у кошек с унилатеральным косоглазием // Морфология. – 2004. – т.125, №3. – с. 60-62.

5. Топорова С.Н., Шкорбатова П.Ю., Алексеенко С.В., Макаров Ф.Н. Изменение микроструктуры нейронных связей в зрительных полях 17, 18 коры кошки при экспериментальном косоглазии // XIX Всероссийский съезд Физиологического общества им. И.П. Павлова: Тез. докл. – Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2004. – т.90. № 8. – с.346.

6. Шкорбатова П.Ю., Топорова С.Н. Межполушарные связи корковых колонок зрительных полей 17, 18 головного мозга у кошек с бинокулярным косоглазием // VII конгресс Международной ассоциации морфологов: Тез. докл. – Морфология. – 2004. – т.126, №4. – с.123.

7. Топорова С.Н., Шкорбатова П.Ю. Гистохимическое исследование распределения нейронов с различной интенсивностью окраски при выявлении пероксидазы хрена у кошек с билатеральным косоглазием // Всероссийская конференция «Механизмы синаптической передачи»: Тез. докл. – Москва, 2004. – с.93.

8. Шкорбатова П. Ю. Микроархитектура внутрислошарных связей отдельной корковой колонки у кошек с унилатеральным косоглазием // 4-я молодежная научная конференция института физиологии Коми НЦ УрО РАН «Физиология человека и животных: от эксперимента к клинической практике»: Тез. докл. – Сыктывкар, 2005. – стр. 59.

9. Шкорбатова П. Ю. Изменение внутренних связей нейронов поля 17 зрительной коры кошек с уни- и билатеральным косоглазием // Всероссийская конференция молодых исследователей «Физиология и медицина»: Тез. докл. – Вестник молодых ученых.– СПб, 2005. – с. 140.

10. Шкорбатова П.Ю., Алексеенко С.В. Пространственная реорганизация горизонтальных связей поля 17 коры кошки, вызванная ротацией глаза // Морфология. – 2005. – т.127, № 2. – с. 69-71.

11. Toporova S.N, Shkorbatova P.Y., Alexeenko S.V. Unilateral versus bilateral experimental strabismus: interhemispheric connections of single cortical columns in areas 17, 18 // Perception. – 2005. – v. 34, suppl. – p. 146.



12. Alexeenko S.V., Shkorbatova P.Y., Toporova S.N. Unilateral versus bilateral experimental strabismus: long-range connections of ocular dominance columns in striate cortex // Perception. – 2005. – v. 34, suppl. – p. 190.
13. Shkorbatova P.Y., Toporova S.N., Alexeenko S.V. The effects of eye torsion on long-range neuronal connections in cat striate cortex // Perception. – 2005. – v. 34, suppl. – p. 228.
14. Алексеенко С.В., Топорова С.Н., Шкорбатова П.Ю. Изменение структуры внутрикорковых связей глазодоминантных колонок при конвергентном косоглазии // Сб. статей Всероссийской научной конференции с международным участием «Структурно-функциональные и нейрохимические закономерности асимметрии и пластичности мозга». – Москва, изд-во Икар, 2005. – стр. 9-11.
15. Алексеенко С.В., Шкорбатова П.Ю., Топорова С.Н., Межполушарные связи зрительной коры у кошек с билатеральным косоглазием // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2005. – т.91. № 8. – с.949-955.
16. Топорова С.Н., Шкорбатова П.Ю., Алексеенко С.В., Макаров Ф.Н. Изменение структуры нейронных связей в зрительной коре мозга кошек с экспериментально вызванным билатеральным косоглазием // Морфология. – 2005. – т.128, №5. – с. 29-32.
17. Шкорбатова П.Ю., Топорова С.Н., Алексеенко С.В. Протяженность горизонтальных связей глазодоминантных колонок зрительной коры у кошек с косоглазием // XIII Международное Совещание и VI школа по эволюционной физиологии: Тез. докл. – Санкт-Петербург, ВВМ, 2006. – с.251.
18. Топорова С.Н., Шкорбатова П.Ю., Алексеенко С.В. Количественная характеристика нейронных связей отдельных колонок зрительных полей 17, 18 у кошек с экспериментальным конвергентным косоглазием // Морфология. – 2006. – т.129, №2. – с. 95.
19. Alexeenko S.V., Toporova S.N., Shkorbatova P.Y. Structural changes in visual cortex of strabismic cats. // Perception. – 2006. – v. 35 suppl. – p.170.
20. Шкорбатова П.Ю. Топорова С.Н., Макаров Ф.Н., Алексеенко С.В. Внутрикорковые связи глазодоминантных колонок полей 17 и 18 при экспериментальном косоглазии у кошки // Сенсорные системы. – 2006. – т. 20, № 4. – с. 1-10.
21. Алексеенко С.В., Топорова С.Н., Шкорбатова П.Ю. Нейронные связи глазодоминантных колонок коры головного мозга кошек при монокулярной депривации // Рос. Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2007. – т.93, № 9. – с. 1024-1032.
22. Алексеенко С. В., Топорова С. Н., Шкорбатова П. Ю. Межполушарные связи глазодоминантных колонок зрительной коры кошек с нарушениями бинокулярного зрения // Рос. Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2008. – т.94, №6. – с. 627-636.
23. Alexeenko S.V., Toporova S.N., Shkorbatova P.Y. Binding of visual hemifields is provided by reciprocal and non-reciprocal interhemispheric connections within primary cortical areas // Perception. – 2008. – v.37 suppl. – p.59.