

Е. Е. ГРИГОРЬЕВА^{1,2}, Р. Ш. ШТАНЧАЕВ^{1,2}, Г. З. МИХАЙЛОВА^{1,2},
Н. Р. ТИРАС^{1,2}, Д. А. МОШКОВ^{1,2}

ИЗМЕНЕНИЯ МОТОРНОЙ АСИММЕТРИИ ЗОЛОТЫХ РЫБОК И СТРУКТУРЫ ИХ МАУТНЕРОВСКИХ НЕЙРОНОВ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ ОДНОСТОРОННЕЙ ЗРИТЕЛЬНОЙ ДЕПРИВАЦИЕЙ

Поступила 23.03.10

Изучали влияние односторонней энуклеации глаза на моторную асимметрию мальков золотой рыбки и морфометрические характеристики их маутнеровских нейронов – МН (данные объемной реконструкции по серийным срезам). Энуклеация правого или левого глаза у рыбок-амбидекстров приводила при плавании к стойкому предпочтению выполнения поворотов в сторону зрительной деафферентации и к сдвигу исходного коэффициента моторной асимметрии (КМА) в среднем на 25 %. Ипсилатеральная энуклеация глаза у рыбок-правшей и левшей усиливала исходную моторную асимметрию на 20 %. Контралатеральная энуклеация глаза у рыбок-правшей и левшей приводила к инверсии моторной асимметрии с уменьшением КМА в среднем на 50 %, причем все подвергнутые операции рыбки стойко (три месяца и более) предпочитали поворачиваться в сторону удаленного глаза. Данные морфологических исследований свидетельствовали о заметном уменьшении вентрального дендрита МН, контралатерального стороне энуклеации; в то же время этот нейрон, судя по сдвигу моторной асимметрии рыбки, становился функционально доминирующим. Полученные данные согласуются с ранее выдвинутым предположением о реципрокной связи между уровнем функциональной активности МН и размерами его вентрального дендрита. Избирательное уменьшение размеров вентрального дендрита МН, на который проецируются зрительные входы, видимо, было вызвано действием некоего эндогенного трофического фактора. Действие этого фактора усиливалось после энуклеации глаза и соответственной дисфункции контралатерального зрительного входа. Таким фактором может быть, например, специфическое локальное изменение баланса нейротрансмиттерных влияний на вентральный дендрит МН. В нейрофизиологическом аспекте уменьшение размеров вентрального дендрита МН, выступая первичным звеном в цепи событий, приводящих к перестройке поведения, обуславливает усиление интегральной функциональной активности МН и сдвиг моторной асимметрии рыбки, тем самым компенсируя одностороннюю потерю зрения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: моторное поведение рыб, маутнеровские нейроны, вентральный дендрит, зрительная деафферентация, моторная асимметрия.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из главных задач нейробиологии является расшифровка механизмов нейронной пластичности. На базе этого феномена формируются особенности

мозга в целом и его отдельных систем, существенно влияющие на процессы управления поведением животных. В частности, нейронная пластичность определяет формирование латерализации моторного поведения, обуславливающей спонтанный выбор преимущественно правой или левой стороны поворота в условиях локомоции [1, 2]. При этом качественно и количественно изменяющиеся потоки сенсорных стимулов, поступающих в мозг, по-разному обрабатываются морфофункционально асимметричными правой и левой половинами последнего [3].

Значительное влияние на моторные компоненты

¹ Пушинский государственный университет (РФ).

² Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушино, Моск. обл. (РФ).

Эл. почта: grigorieva2003@mail.ru (Е. Е. Григорьева);

rshtanch@mail.ru (Р. Ш. Штанчаев);

mihailova_g@rambler.ru (Г. З. Михайлова);

ntiras@mail.ru (Н. Р. Тирас);

d_moshkov@mail.ru (Д. А. Мошков).

поведения оказывает зрение. С помощью зрения мозг, детектируя разные цели во внешнем окружении и оценивая их в аспекте опасности или привлекательности, организует адекватные реакции животного на действие таких стимулов в виде той или иной формы поведения. Большой интерес в этом отношении представляет поведение рыб, ориентировочные реакции и локомоция которых в существенной мере зависят от зрения. Данные моторные феномены у рыб реализуются практически исключительно с помощью хвостового плавника. Шея и многозвенные конечности у этих животных отсутствуют, что упрощает анализ зависимости моторной асимметрии от зрительной стимуляции. В настоящее время накоплено достаточно много экспериментальных данных о взаимосвязи зрительной афферентации у рыб с поведенческой латерализацией, а также о предпочтении использования одного из двух глаз в организации моторного поведения, т. е. об асимметрии самой зрительной функции [4–8].

Зрительную асимметрию животных часто выявляют или индуцируют в эксперименте, прибегая к монокулярной зрительной депривации [9–11]. Кроме того, такую асимметрию можно модифицировать (увеличивать или уменьшать вплоть до ее инверсии) с помощью специфической зрительной стимуляции [12, 13]. Применение манипуляций с закрыванием глаз или визуальной стимуляции, однако, открывает возможности для решения далеко не всех проблем, связанных со зрительно-моторной асимметрией на системном уровне. Например, генетически обусловленные асимметрии не поддаются модификации, а комплементарность полушарий мозга препятствует получению однозначных выводов [14]. Упомянутый выше подход не позволяет достичь достаточно адекватного понимания взаимосвязей зрительной асимметрии, латерализации моторного поведения и пластичности нервной системы на клеточном уровне, причем даже в случаях экспериментов на низших позвоночных. Это обусловлено высокой сложностью организации мозга позвоночных. Часто практически невозможно установить связь между функциональной нагрузкой на афферентный вход конкретного нейрона, его морфологическими характеристиками (например, размером его отдельных частей) и особенностями поведения животного [15–17].

Имеются веские основания полагать, что за латерализацию моторной функции рыб, а также

близких им по устройству двигательного аппарата хвостатых амфибий и личинок (головастиков) бесхвостых амфибий в основном ответственны расположенные в продолговатом мозгу парные маутнеровские нейроны (МН) [18]. Известно, что размеры правого и левого МН у отдельных индивидуумов золотых рыбок заметно различаются [19]. В случае повреждения одного из МН рыбы при выполнении реакции избегания (*startle reflex*) осуществляют повороты только в сторону, противоположную оставшемуся интактным нейрону [20]. Результаты последующих экспериментов позволили установить, что асимметрия моторного поведения золотых рыбок и структурная асимметрия их МН находятся в прямой связи. Доминирование одного нейрона над «зеркально» расположенным его двойником, которое проявляется в преимущественном выполнении рыбкой поворотов в контралатеральную сторону (адекватный показатель латерализации моторного поведения рыбки) [21], прямо коррелирует с более крупными размерами данного доминирующего МН [22]. Такая морфофункциональная асимметрия МН позволила исследовать специфические особенности их структурной лабильности в условиях различных экспериментальных воздействий – усилении или ослаблении сенсорной нагрузки на афферентные входы МН под влиянием различных видов естественной стимуляции или деафферентации [23].

Таким образом, выбор МН как объекта исследования при изучении роли отдельных клеточных компартментов в создании интегральной функциональной активности нейрона и функциональной асимметрии двигательных центров мозга представляется весьма перспективным. Добиться избирательных структурных перестроек МН рыб ранее, однако, удавалось лишь с помощью «прицельного» воздействия на вестибулярный аппарат. При этом специфические изменения претерпевали только латеральные дендриты и сомы МН, к которым непосредственно поступает слуховая и вестибулярная информация по соответствующим моносинаптическим путям [24–26]. В то же время роль афферентных входов к МН от зрительного анализатора (передача влияний от данных входов опосредована тектумом) остается не полностью изученной. Упомянутые входы проецируются на вентральные дендриты МН. Было показано, что унилатеральная зрительная депривация путем энуклеации глаза вызывает у головастиков лягушек и мальков золотых рыбок значительные структурные измене-

ния в одном из МН по сравнению с другим [23, 27, 28]. Подобные данные [23, 29] впервые позволили предположить, что в основе изменений моторного поведения рыбок в этих случаях могут лежать реципрокные взаимоотношения функционирования вентрального дендрита МН с общей функциональной активностью указанной клетки. Определенные противоречивость и неполнота полученных сведений, однако, не дают возможности убедительно подтвердить такое предположение. Детали взаимосвязи структурных изменений вентральных дендритов МН с моторной асимметрией рыб пока изучены не в полной мере. В настоящей работе мы пытались выяснить, что же именно происходит в МН при унилатеральной зрительной деафферентации. Мы определяли, как влияет экспериментально вызванное прекращение зрительного притока в одно полушарие среднего мозга рыб на структурную асимметрию МН (в частности, размеры их дендритов) и как соответствующие эффекты связаны с изменением моторной асимметрии золотых рыбок.

МЕТОДИКА

Экспериментальный объект. В опытах по изучению влияния односторонней энуклеации глаза на моторное поведение рыб было использовано 70 мальков золотых рыбок *Carassius auratus* (породы оранда) трех-шестимесячного возраста (длина около 3 см). Рыбок получали от генетически однородных пар производителей из одного и того же рыбо-разводного хозяйства (Москва). С каждой рыбкой работали отдельно на протяжении всего эксперимента; все это время рыбок содержали в индивидуальных мини-аквариумах емкостью около 1 л.

Тестирование поведения рыбок. По специально разработанной методике [21] у рыбок определяли коэффициент моторной асимметрии (КМА), вычисляя отношение числа поворотов при плавании в предпочитаемую сторону к суммарному количеству поворотов в обе стороны. Для первичного отбора рыбок, обладающих моторной асимметрией, их тестировали в течение 5–15 дней приблизительно в одно и то же время суток в узком прямолинейном канале, подсчитывая в течение 5 мин число полных (на угол более 90 град) поворотов, совершенных вправо, и число полных поворотов влево. Во время тестирования внешние факторы, способные повлиять на свободное поведение рыбки при выборе ею стороны поворота (посторонние звуки,

движения вблизи тест-аквариума с рыбкой, изменения освещенности, перепады температуры воды и т. д.), сводились к минимуму. Соответственно значениям среднего КМА, вычисленного для каждой рыбки на основании результатов тестирования, предварительно отбирали явных рыбок-правшей и рыбок-левшей с относительно постоянной степенью латерализации, а также рыбок-амбидекстров, не проявлявших предпочтения стороны поворотов. У рыбок, обладающих моторной асимметрией, значения КМА существенно превышали 0.5. Очевидно, что чем данный коэффициент выше, тем сильнее асимметрия. У амбидекстров значения КМА были близки к 0.5. По нашим подсчетам, относительные количества правшей, левшей и амбидекстров в рандомизированных популяциях мальков золотых рыбок составляют около 23, 17 и 60 % соответственно. Если в ходе эксперимента на рыбках-правшах и левшах наблюдали сдвиг КМА до значений меньше 0.5, это рассматривалось как свидетельство смены предпочитаемой стороны поворотов, т. е. инверсии моторной асимметрии рыбки.

Односторонняя зрительная деафферентация. Для анализа влияния зрительной информации на моторную асимметрию использовали методику хирургической энуклеации глаза [23]. Было сформировано три подопытные группы рыбок, каждая из которых включала в себя по две подгруппы. Подгруппы 1а и 1б составили рыбки-амбидекстры, подвергнутые энуклеации правого (а) или левого (б) глаза. Подгруппы 2а и 2б состояли из рыбок-правшей (а) и левшей (б), подвергнутых ипсилатеральной энуклеации правого (а) или левого (б) глаза соответственно. В подгруппы 3а и 3б входили рыбки-правши (а) и левши (б) с контралатеральной энуклеацией левого (а) и правого (б) глаз. Перед операцией рыбку подвергали холодовой анестезии, помещая ее на 1–2 мин в воду со льдом. С помощью ножниц-пинцета Жирара для микрохирургических операций удаляли полностью глазное яблоко, предварительно аккуратно отделив соединительную ткань, мышцы и зрительный нерв. После энуклеации оперированную рыбку на 1–2 ч помещали в раствор метиленового синего, разбавленный до 15 мг/л, или в очень разбавленный раствор KMnO_4 . На протяжении периода реабилитации (не менее двух недель) каждая оперированная рыбка содержалась в отдельном мини-аквариуме со слабым раствором (3 мг/л) метиленового синего. Моторную асимметрию оперированных рыбок в предварительных экспериментах оценивали через две недели, один,

полтора, два и два с половиной месяца после операции, проводя трех–семядневное тестирование их поведения. В дальнейшем при тестировании оперированных рыбок мы ограничивались сроком один месяц после операции; это представлялось нам оптимальным в аспекте успешного выявления стойких изменений моторной асимметрии (рис. 1).

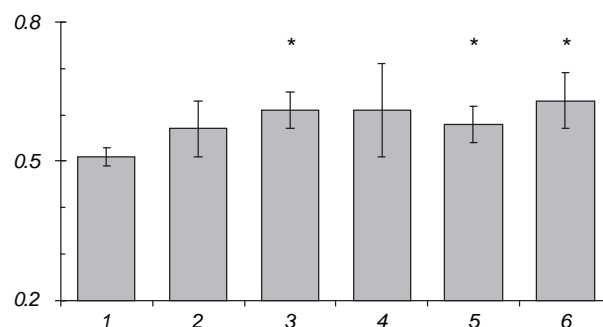
Трехмерная реконструкция МН. Для морфологических исследований из групп подопытных и контрольных рыбок было отобрано 15 особей. Трехмерную реконструкцию МН проводили по серийным гистологическим срезам продолговатого мозга, фиксированного и залитого согласно протоколу, используемому в электронной микроскопии. В методики, опубликованные ранее [22, 23], были внесены некоторые модификации (настройка света, по Кёлеру, перед каждой фотосъемкой, автоматизация сборки панорамного изображения среза и т. д.). Это позволило заметно улучшить качество срезов и повысить точность расчетов клеточных объемов. Так, рассчитанная для срезов нескольких препаратов мозга толщиной 3 и 6 мкм погрешность измерения объемов сомы составляла $(4.0 \pm 2.0) \cdot 10^3$ мкм³. Для аксона соответствующие погрешности равнялись (8.0 ± 5.0) , для вентрального дендрита – (1.5 ± 1.0) , для латерального дендрита – (2.4 ± 1.5) , для аксонной чаши – (3.0 ± 2.8) и для суммы (сома+латеральный+вентральный дендриты) – $(9.0 \pm 4.3) \cdot 10^3$ мкм³. Таким образом, если сравнивать наши данные с результатами первоначальных морфометрических исследований МН, нам удалось снизить инструментальную ошибку измерений суммарного объема нейрона от $30 \cdot 10^3$ – $40 \cdot 10^3$ мкм³ до примерно $5 \cdot 10^3$ – $10 \cdot 10^3$ мкм³. В данной работе, как и ранее [23], реконструкция МН охватывала тела (соматические части), латеральные и вентральные дендриты (до их бифуркаций) и аксоны до их пересечения друг с другом.

Во всех случаях контролем служили группы рыбок из той же экспериментальной серии, но не подвергнутые соответствующему воздействию.

Статистические расчеты. Статистическую обработку результатов тестирования поведения рыбок проводили с использованием программы «Microsoft Excel», пакета программ «Microsoft Office 2003», а также программы «KyPlot V2 Beta 15 (32-bit)». Достоверность межгрупповых различий данных определяли при помощи *t*-теста Стьюдента. Числовые данные представлены как средние арифметические \pm доверительный интервал (уровень значимости 95 %).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

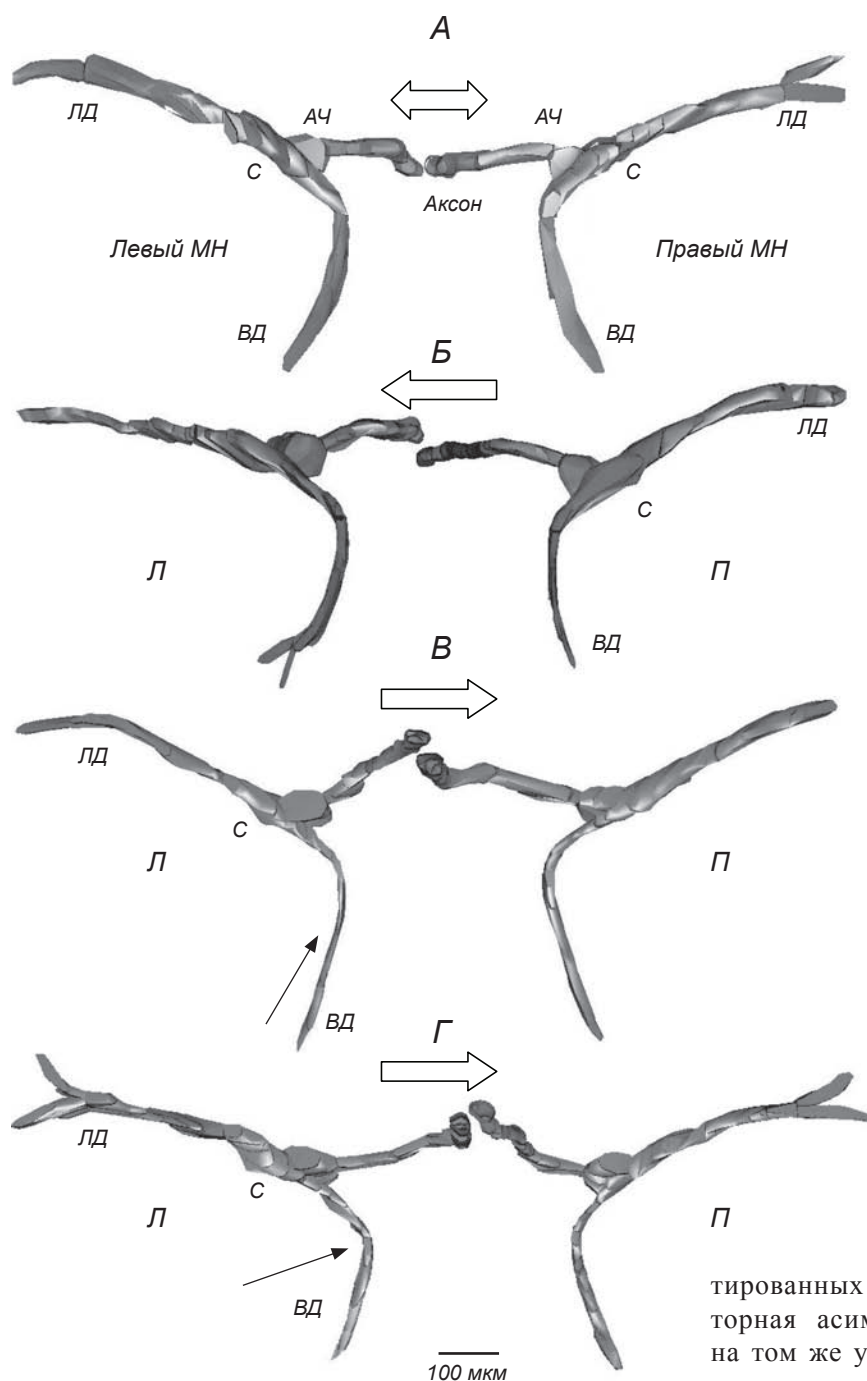
Изменение показателей моторного поведения и структуры МН рыбок-амбидекстров после односторонней зрительной деафферентации. Первоначальные эксперименты были проведены без «привязки» к показателю латерализации поведения рыбок с целью выяснить, способно ли в принципе повреждение зрительного входа с одной стороны тела у животных, обладающих преимущественно монокулярным зрением (а золотые рыбки относятся именно к таким животным), привести к каким-либо изменениям моторного поведения. Оказалось, что энуклеация правого или левого глаза приводит к развитию выраженной моторной асимметрии у рыбок-амбидекстров. При этом у всех рыбок с унитарной зрительной деафферентацией наблюдалось предпочтение «слепой» стороны при совершении поворотов (иначе говоря, той стороны, на которой располагался удаленный глаз). Результаты тестирования таких рыбок показали, что уже через две недели после операции у них отмечалась стойкая моторная асимметрия, аналогичная таковой у изначально латерализованных интактных рыбок-правшей и левшей (КМА по результатам однократного тестирования составлял в среднем 0.57 ± 0.06 ; $n = 14$). В ходе тестирования тех же рыбок через месяц после зрительной деафферентации было установлено, что КМА несколько увеличивался, а главное, становился менее вариативным в пределах



Р и с. 1. Влияние односторонней энуклеации глаза на моторную асимметрию рыбок-амбидекстров ($n = 14$).

По вертикали – средние значения коэффициента моторной асимметрии (КМА): 1 – до операции, 2 – через две недели, 3 – через один месяц, 4 – через полтора, 5 – через два, 6 – через два с половиной месяца после операции. Звездочкой отмечены случаи достоверных отличий КМА оперированных рыбок от предоперационного значения ($P < 0.05$).

Р и с. 1. Вплив односторонньої енуклеації ока на моторну асиметрію рыбок-амбидекстрів ($n = 14$).

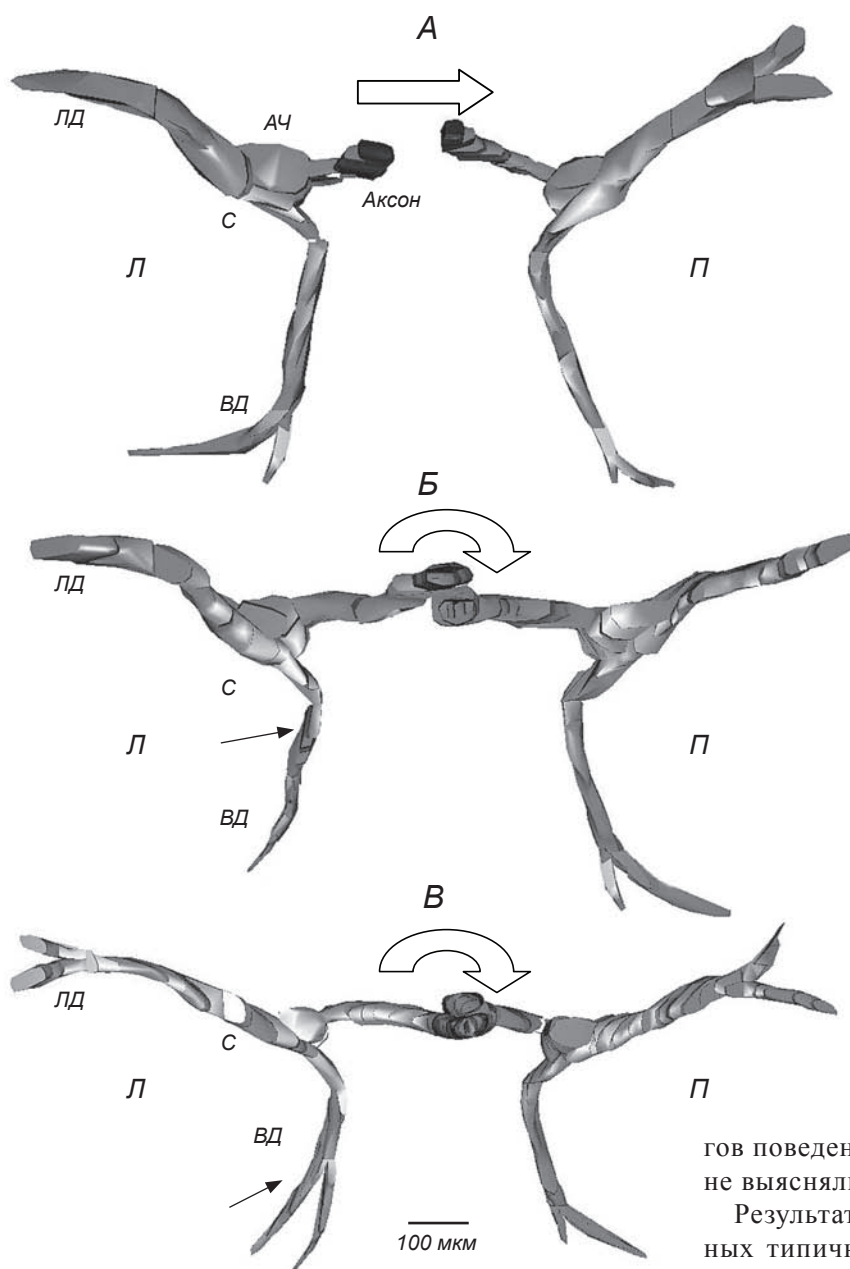


Р и с. 2. Изображения маутнеровских нейронов (МН) рыбок-амбидекстров, полученные с помощью трехмерной реконструкции. А – контроль (интактная рыбка); Б – после энуклеации левого, В и Г – правого глаза. С – сома МН; ЛД и РД – латеральный и вентральный дендриты соответственно; АЧ – аксонная чаша; Аксон – начальный сегмент аксона; Л и П – левая и правая стороны мозга соответственно. Стрелками указаны наблюдаемые эффекты – утончение (В) и укорочение (Г) ВД левого МН. Широкими белыми стрелками обозначены равновероятное вовлечение обоих МН в инициацию поворотов у интактных рыбок-амбидекстров (А), функциональное доминирование правого МН после энуклеации левого глаза (Б) и функциональное доминирование левого МН после энуклеации правого глаза (В, Г).

Р и с. 2. Зображення маутнерівських нейронів рыбок-амбидекстрів, отримані за допомогою тривимірної реконструкції.

группы (0.61 ± 0.04). Поэтому в дальнейшем при проверке влияния односторонней энуклеации глаза на моторную асимметрию рыбок и структуру их МН мы придерживались именно данного промежутка времени, т. е. четыре-пять недель после деафферентации. Характерно, что тестирование в более поздние периоды не выявляло значительных модификаций двигательного поведения деафферен-

тированных рыбок (рис. 1). Другими словами, моторная асимметрия сохранялась приблизительно на том же уровне, что и через две-четыре недели после операции. Результаты тестирования двигательного поведения рыбок-амбидекстров с одним энуклеированным глазом показали, что сдвиг моторной асимметрии в «слепую» сторону через месяц после операции был достоверным. Среднее значение КМА (с учетом послеоперационной латерализации) сдвигалось от 0.51 ± 0.02 до 0.64 ± 0.04 ($n = 23$). Относительное усиление асимметрии поворотов в «слепую» сторону составляло $27.1 \pm 8.9\%$ по сравнению с предпочтением соответствующей



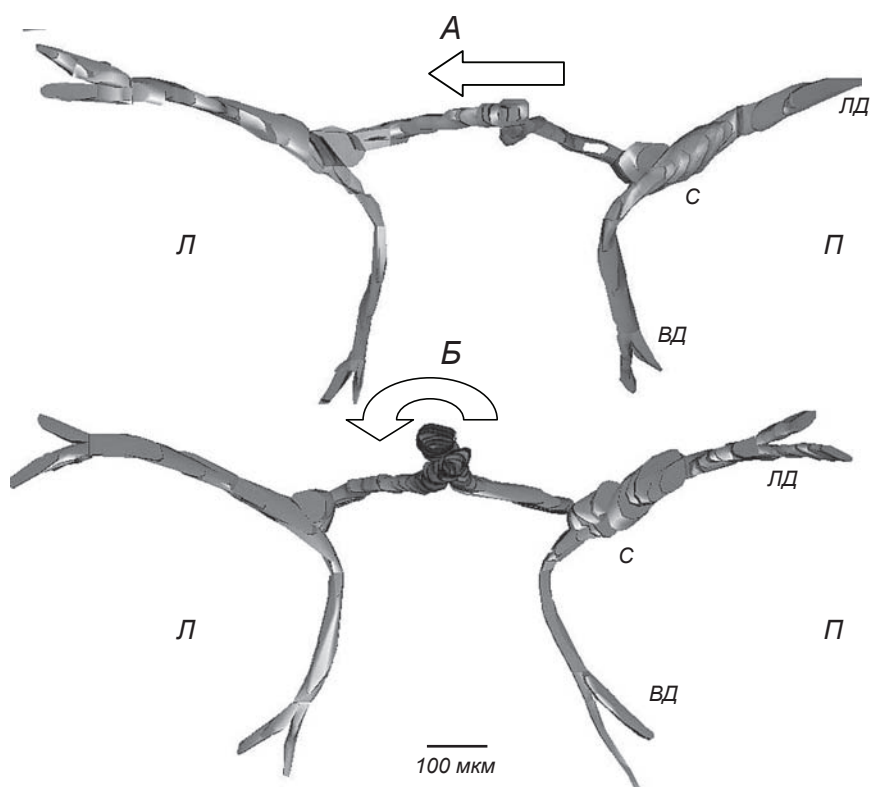
Р и с. 3. Изображения маутнеровских нейронов (МН) рыбок-правшей до и после ипсилатеральной энуклеации глаза. *A* – контроль (интактная рыбка-правша); *B* и *V* – после энуклеации. Стрелками указаны наблюдаемые эффекты – укорочение вентрального дендрита (ВД) левого МН (*B*) и смещение места дихотомии ВД левого МН (*B*). Широкими белыми стрелками обозначены исходная моторная асимметрия (*A*) и усиление исходной моторной асимметрии (*B*, *V*). Остальные обозначения те же, что и на рис. 2.

Р и с. 3. Зображення маутнерівських нейронів рибок-правшів до та після іпсилатеральної енуклеації ока.

стороны до операции ($P = 4.4 \cdot 10^{-7}$). Таким образом, односторонняя зрительная деафферентация амбидекстров почти всегда приводила к латерализации их моторного поведения в определенную сторону, причем такой сдвиг зависел от стороны энуклеации глаза. Только в двух из 23 случаев эффект носил обратный характер – происходило усиление моторной асимметрии в сторону интактного глаза. Этот сдвиг был незначительным, изменение КМА составляло порядка 8 % исходного значения. Причину таких исключений в характере изменения поведения подобных рыбок и корреляцию «аномальных» сдви-

гов поведения с изменениями структуры их МН мы не выясняли.

Результаты объемной реконструкции МН отдельных типичных рыбок-амбидекстров в периоды до и после операции представлены на рис. 2. Видно, что в подтверждение наших прежних данных [22] у контрольной рыбки с отсутствием выраженной моторной латерализации МН по размерам приблизительно одинаковы (*A*). В то же время у рыбки с удаленным левым глазом, после операции ставшей отчетливой левшой, вентральный дендрит правого МН имел заметно меньшие размеры по сравнению с контролем и с вентральным дендритом левого нейрона (*B*). То же самое (только «зеркальным образом») происходило, если у рыбки-амбидекстра удаляли правый глаз. Она становилась правшой, а вентральный дендрит левого МН уменьшался. По-



Р и с. 4. Изображения маутнеровских нейронов (МН) рыбок-левшей до и после ипсилатеральной энуклеации глаза.

А – контроль (интактная рыбка-левша); *Б* – после энуклеации. На *Б* стрелкой указан наблюдаемый эффект – смещение места дихотомии вентрального дендрита правого МН ближе к соме. Широкими белыми стрелками обозначены исходная моторная асимметрия (*А*) и усиление исходной моторной асимметрии (*Б*). Остальные обозначения те же, что и на рис. 2.

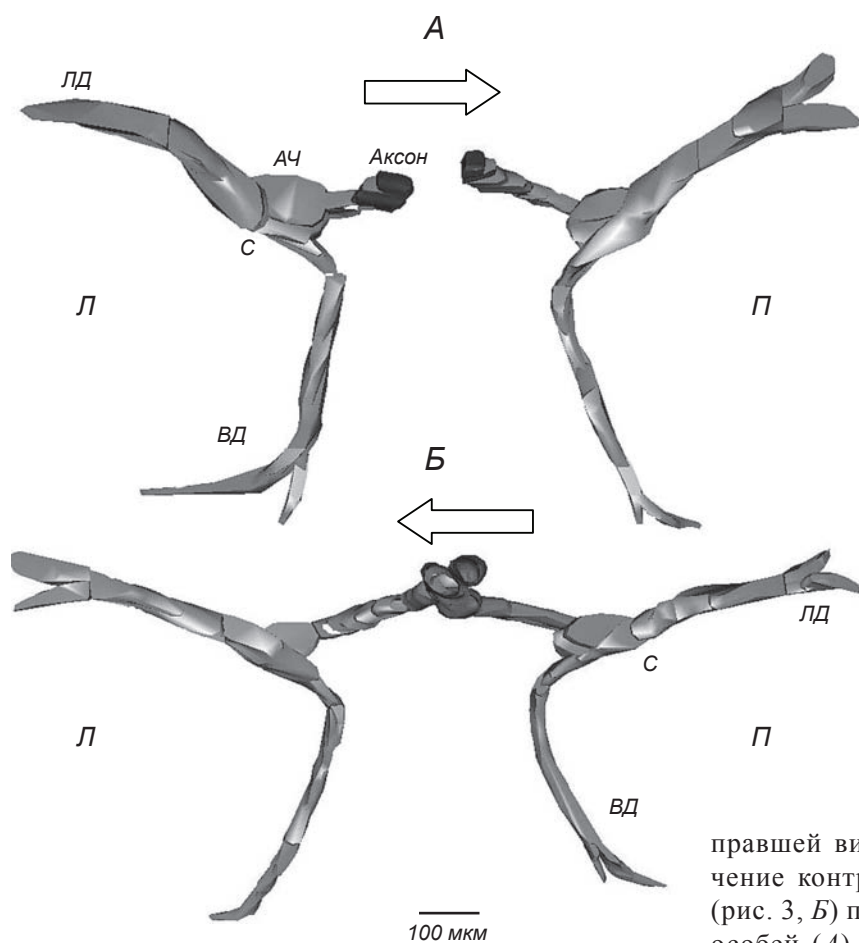
Р и с. 4. Зображення маутнерівських нейронів рыбок-лівшів до та після іпсилатеральної енукеації ока.

следнее происходило за счет приблизительно равномерного по всей длине заметного уменьшения толщины этого дендрита (*В*) или его укорочения (*Г*).

Таким образом, изменение моторного поведения рыбок-амбидекстров после односторонней энуклеации глаза (т. е. более частое совершение поворотов в «слепую» сторону при свободном плавании, что свидетельствует об усилении интегральной функции МН, контралатерально удаленному глазу) демонстрирует отчетливую обратную корреляцию с размерами вентрального дендрита упомянутого нейрона. В то же время изменение функциональной активности МН и связанное с ней предпочтительное стороны поворотов именно в «слепую» сторону, возможно, представляет собой адаптацию рыбки к изменившимся условиям жизни. Известно, что соответственно расположению глаз у золотых рыбок тестируемой породы существует заметная область бинокулярного перекрытия зрительных полей (около 40 град в горизонтальном плане). «Слепая зона», расположенная сзади, составляет около 20 град в горизонтальной плоскости [30]. Вследствие этих особенностей зрительных полей рыбка в условиях свободного плавания с большей вероятностью повернет (собственно, вынуждена повернуть) в «слепую» сторону, чтобы рассмотреть не-

видимое после удаления глаза пространство. При таком повороте требуемый эффект достигается быстрее и с меньшими усилиями. Индуцированные односторонней энуклеацией глаза морфофункциональные сдвиги можно объяснить с привлечением полученных в нашей лаборатории данных о структурных изменениях МН у рыбок, изначально не имевших левого глаза ($n = 2$). Потеряв глаз в силу каких-то естественных причин, рыбки становились ярко выраженными левшами (средний КМА составлял 0.72). Морфометрический анализ МН одной из этих рыбок показал, что размеры вентрального дендрита правого (контралатерального) МН были втрое меньшими, чем у левого МН [31]. Несомненно, данные рыбки были вынуждены направлять плавание в сторону отсутствующего глаза и научились поворачиваться преимущественно в левую сторону, чтобы компенсировать одностороннюю слепоту. Можно предположить, что именно с такой компенсаторной перестройкой моторного поведения тесно связаны специфические структурные изменения вентрального дендрита доминантного МН, выражающиеся в уменьшении его размеров.

Влияние ипсилатеральной энуклеации глаза на моторную асимметрию рыбок-правшей и рыбок-левшей и на структуру их МН. Было обнаружено,



Р и с. 5. Изображения маутнеровских нейронов (МН) рыбок-правшей до и после контралатеральной энуклеации глаза.

А – контроль (то же, что и на рис. 3, *А*); *Б* – после энуклеации. Широкими белыми стрелками обозначены исходная моторная асимметрия (*А*) и индуцированная моторная асимметрия (*Б*). Остальные обозначения те же, что и на рис. 2.

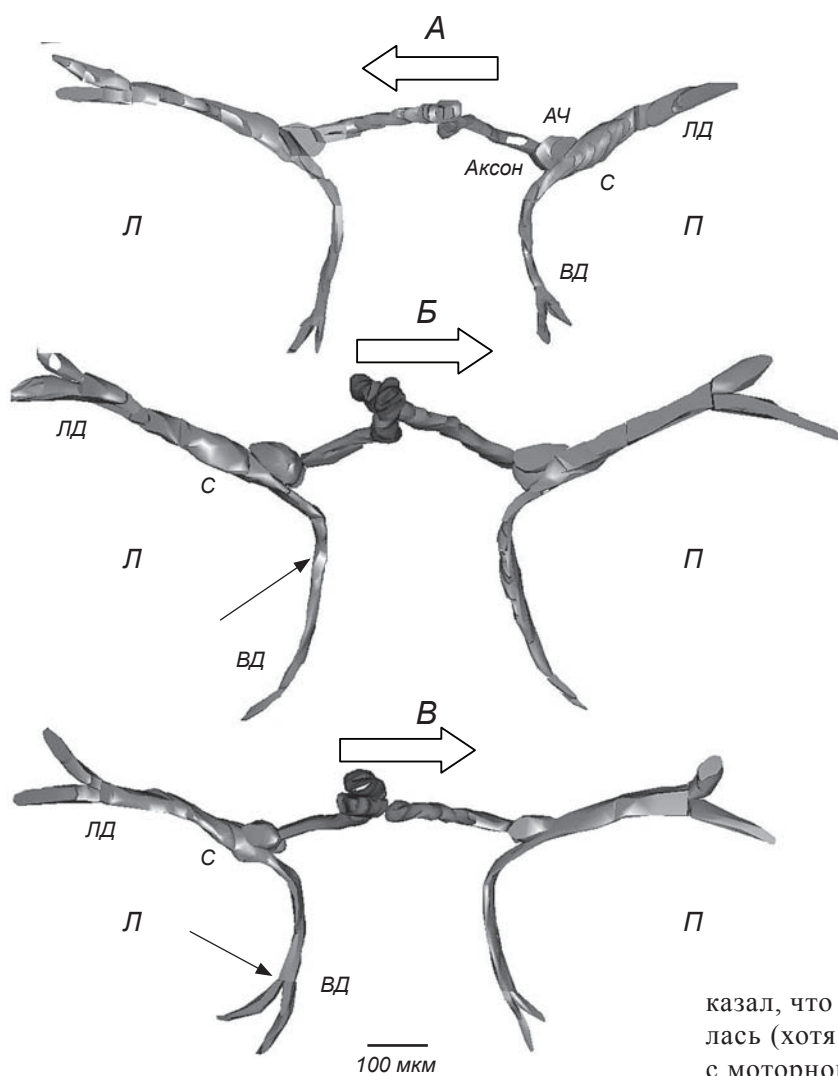
Р и с. 5. Зображення маутнерівських нейронів рыбок-правшів до та після контралатеральної енукеації ока.

что через месяц после ипсилатеральной зрительной деафферентации моторная асимметрия рыбок-правшей и левшей становилась более отчетливой. КМА рыбок-левшей ($n = 11$), до операции составлявший в среднем 0.55 ± 0.02 , становился равным 0.67 ± 0.03 . КМА правшей ($n = 10$) увеличивался от 0.55 ± 0.02 до 0.67 ± 0.04 . Среднее значение КМА после операции возрастало, таким образом, примерно на 18 % по сравнению с предоперационным средним КМА (различия были значимыми; $P < 0.001$). Во всех случаях у рыбок усиливалось предпочтение поворачиваться в «слепую» сторону, т. е. в сторону энуклеации глаза.

Морфометрический анализ 3D-реконструированных МН рыбок этих подгрупп до и после ипсилатеральной энуклеации глаза показал, что и у рыбок-правшей, и у левшей происходили закономерные изменения структуры их доминантных МН, определяющих предпочитаемый рыбами выбор стороны поворотов (рис. 3; 4). Так, у МН рыбок-

правшей визуально заметным становилось истончение контралатерального вентрального дендрита (рис. 3, *Б*) по сравнению с дендритами у интактных особей (*А*), а также со своей «зеркальной» парой у правого нейрона. В некоторых случаях происходило укорочение контралатерального вентрального дендрита, о чем можно судить по смещению точки его бифуркации по направлению к соме (*Б*). В МН рыбок-левшей наблюдались аналогичные сдвиги, обусловленные энуклеацией левого глаза (рис. 4). Видно, что после операции вентральный дендрит правого МН существенно укорачивался и утончался. При этом объем МН, доминирующего функционально и по размеру, также несколько уменьшался за счет уменьшения вентрального дендрита. Тем не менее, функциональная активность данного нейрона значительно увеличивалась, о чем говорило усиление моторной асимметрии рыбки. Таким образом, при анализе влияния ипсилатеральной энуклеации глаза на моторную асимметрию рыбок-правшей и левшей, как и в случае с амбидекстрами, подтверждалось наше предположение о реципрокной связи размеров вентрального дендрита с уровнем функциональной активности МН, сделанное ранее [23].

Влияние контралатеральной энуклеации глаза на моторную асимметрию рыбок-правшей и левшей и



Р и с. 6. Изображения маутнеровских нейронов (МН)рыбок-левшей до и послеконтралатеральной энуклеации глаза.

A – контроль (то же, что и на рис. 4, *A*); *B* и *V* – после энуклеации. Стрелками указаны наблюдаемые эффекты – истончение вентрального дендрита (*ВД*) левого МН (*B*) и смещение гочки дихотомии *ВД* левого МН (*V*). Широкими белыми стрелками обозначены структурно-функциональное доминирование правого (контралатерального) нейрона над левым (исходная моторная и структурная асимметрия – *A*) и индуцированное деафферентацией изменение морфофункциональной асимметрии (*B*, *V*). Остальные обозначения те же, что и на рис. 2.

Р и с. 6. Зображення маутнерівських нейронів рибок-лівшів до та після контралатеральної энуклеації ока.

на структурную асимметрию МН. Анализ влияния контралатеральной энуклеации глаза на моторную асимметрию рыбок-правшей ($n = 8$) показал, что через месяц после удаления левого глаза средний КМА у них изменялся от 0.56 ± 0.03 до 0.35 ± 0.04 . Это свидетельствовало об инверсии моторной асимметрии, т. е. о том, что рыбки становились ярко выраженными левшами. То же самое можно сказать и о поведении рыбок-левшей после энуклеации правого глаза. Среднее значение КМА у них изменялось от 0.56 ± 0.02 до 0.41 ± 0.03 ($n = 8$), что также указывало на инверсию моторной асимметрии (на то, что рыбки стали правшами). Выборочный анализ моторной асимметрии в отдаленные сроки после энуклеации глаза у двух рыбок-левшей, сменивших предпочтение стороны поворотов, по-

казал, что инверсия сохранялась и даже увеличивалась (хотя и недостоверно; $P = 0.09$) по сравнению с моторной асимметрией у этих рыбок через месяц после энуклеации. Результаты тестирований свидетельствовали о том, что после контралатеральной энуклеации глаза КМА у рыбок-правшей и левшей снижался в среднем на 47 % ($P < 0.01$).

Результаты визуальной оценки структурных изменений МН рыбок после контралатеральной энуклеации глаза позволили говорить об изменениях объемных соотношений правого и левого нейронов (рис. 5; 6). Ипсилатеральный по отношению к исходно предпочитаемой стороне поворотов МН, ставший функционально доминантным (судя по инверсии моторной асимметрии рыбок), становился крупнее контралатерального за счет перераспределения объемов латеральных дендритов и тел нейронов. На этом фоне изменения размеров вентральных дендритов выглядели менее очевидными, хотя и достаточно специфичными. Анализ размеров компартов МН типичных рыбок-правшей до и после

энуклеации левого глаза выявил заметное истончение и укорочение вентрального дендрита у правого МН, ставшего после операции функционально доминирующим (рис. 5, *Б*). Аналогичные изменения (только зеркальные) наблюдались у рыбки-левши с удаленным правым глазом (рис. 6). В данном случае уменьшался в объеме вентральный дендрит левого МН (*Б*). У другой рыбки-левши после контралатеральной зрительной деафферентации отмечалось укорочение левого вентрального дендрита на четверть относительно первоначальной длины в контроле и по сравнению с зеркально расположенным дендритом-двойником (*В*).

Таким образом, и после контралатеральной энуклеации глаза можно наблюдать заметные изменения структуры вентральных дендритов МН, обусловленные прекращением притока зрительной информации к этим дендритам и стойким изменением моторного поведения рыбок. Эффект в виде инверсии моторной асимметрии рыбки и структурной асимметрии ее МН был впервые обнаружен нами ранее [23]. Несовершенство применяемых нами в то время методик исследования морфофункциональных корреляций на уровне МН не позволило провести в этих случаях адекватный анализ влияния унилатеральной энуклеации глаза на структуру МН и их индивидуальных дендритов. В настоящей же работе в методику трехмерной реконструкции были внесены существенные изменения, что позволило значительно уменьшить инструментальную ошибку.

Главный вопрос, который требует ответа, заключается в причине наблюдаемых морфофункциональных корреляций. Усиление моторной асимметрии по сравнению с исходной после ипсилатеральной энуклеации глаза можно объяснить резким изменением паттерна зрительного притока к МН. Один нейрон продолжает функционировать, как и прежде, в то время как другой оказывается почти полностью лишенным зрительных влияний (за исключением информации, поступающей через ретикуло-спинальные нейроны). В этой связи представляется существенным, что ипсилатеральная энуклеация глаза у рыбок-правшей и левшей приводит к уменьшению размера вентрального дендрита МН, контралатеральной стороне энуклеации. Данный эффект может быть обусловлен двумя причинами – или непосредственно деафферентацией иннервируемой структуры, или длительным функциональным напряжением интактного входа. Можно предположить, что во втором случае МН,

не подвергшийся зрительной деафферентации, берет на себя основную нагрузку по переработке зрительной информации. В результате этого происходят его «утомление» и общее снижение активности, что, возможно, и обуславливает усиление функционирования деафферентированного нейрона за счет редуцирования объема зеркально расположенного МН и ослабления его активности. Полученные данные в целом согласуются с результатами опытов по воздействию оптокинетической стимуляции рыбок на их МН [13, 29]. Однако такое заключение противоречит данным об избирательном локальном уменьшении только вентрального дендрита, причем у МН, к которому перестал поступать зрительный приток. Поэтому более вероятной следует признать первую версию объяснения подобных изменений – о трофическом влиянии нефункционирующего афферентного пути на вентральный дендрит. Следует сказать, что, помимо отмеченных изменений размеров вентральных дендритов, у МН рыбок, которые были подвергнуты контралатеральной энуклеации, можно было наблюдать также изменения размеров сомы и латеральных дендритов. Это проявлялось как нарушение пропорций между размерами правого и левого нейронов. Подобные изменения можно отнести за счет прямого эффекта перенесенной операции – энуклеации глаза, болезненной и стрессогенной по своей сути, кардинально изменяющей поведение рыбки и необратимо инвертирующей ее моторную асимметрию. Стрессовый характер операции, безусловно, влияет как на поведение рыбок, так и на структуру мозга данной особи и его отделов. Структуры ЦНС, безусловно, в той или иной мере перестраиваются при стрессе; указанные влияния далеко не однозначны и требуют специальных исследований. В то же время нет оснований предполагать, что основную роль в модификации моторной асимметрии рыбок после унилатеральной энуклеации глаз играют не модификации их МН, являющихся командными (иницирующими поворот тела рыбки) [32], а некие изменения другого рода. Такими могут оказаться, например, неспецифические системные изменения гомеостаза мозга (гуморального характера) либо перестройки структуры нейронов в других отделах мозга или даже некоторые изменения анатомических особенностей тела рыбки вследствие операции. Однако, учитывая влияние интегральных и частных морфологических изменений МН на моторную асимметрию [13, 20, 22, 23, 29, 33] и естественные вариации, отмечаемые в структуре этих

клеток, влияние изменений вентрального дендрита на функциональную активность МН все же следует признать главной причиной перестройки моторного поведения рыбок, наблюдающейся в условиях наших экспериментов.

Относительно механизмов, обуславливающих локальную изменчивость структуры отдельных частей МН (в том числе их вентральных дендритов), можно предположить следующее. Известно, что уменьшение размеров сомы и латерального дендрита МН связано с изменениями актинового компонента цитоскелета этих клеток [34–37]. Характеристики указанного компартмента находятся под довлеющим контролем дофамина и глутамата – трансмиттеров основных возбуждающих входов, расположенных на данных частях МН. В то же время показано, что главным возбуждающим нейромедиатором, управляющим функциональным состоянием вентрального дендрита МН, является серотонин, а влияния дофамина и глутамата относительно слабее, хотя вклад этих агентов тоже значителен [32]. Влияет ли вызванное энуклеацией глаза нарушение баланса взаимодействия трех указанных нейротрансмиттерных систем с вентральным дендритом МН на состояние цитозольного актина или актина синаптических контактов, пока остается неизвестным. Этот аспект представляется перспективным для дальнейших специальных комплексных исследований. Возможен также механизм воздействия на структуру и функцию МН, не связанный с модификациями цитоскелета и обусловленный нарушением серотонинергической передачи. Установлено, что активация серотонинергических синапсов облегчает высвобождение глицина из терминалей химических тормозных синапсов, расположенных на мембране МН [38, 39]. Действительно, аппликация одного из активаторов серотонинергической передачи (киоторфина) вызывает двукратное снижение функциональной активности МН [40]. Можно предположить, что блокирование серотонинергической передачи, наоборот, будет приводить к ослаблению тормозных влияний, а значит, к повышению активности МН. Это и наблюдается в экспериментах с использованием унилатеральной энуклеации глаза. Возможность существования трансрецепторного механизма влияния серотонина на МН открывает определенные перспективы для исследований в данном направлении. Например, явный интерес представляет выяснение роли кальциевых каналов и протекторного действия ионов кальция на цитоскелет нейрона

при изменениях активности серотонинергического пути [41]. Какой из упомянутых механизмов реально вовлечен в морфофункциональную регуляцию состояния МН, осуществляемую через влияния на вентральный дендрит этих клеток, и является решающим, покажут дальнейшие исследования.

Изложенные выше результаты показывают, насколько важную роль играет поступление зрительной афферентации к МН (соответствующая импульсация приходит исключительно через тектальные входы к вентральным дендритам данных нейронов) в поддержании функциональной латерализации моторного поведения золотых рыбок. Эти сведения позволяют подойти к выяснению причин специфического действия односторонней зрительной депривации (энуклеации глаза) на поведенческую моторную асимметрию рыбок и структуру их медуллярных командных нейронов (МН). В нейрофизиологическом плане уменьшение размеров вентрального дендрита, выступая первичным звеном в цепи перестройки моторного поведения, обуславливает усиление функциональной активности соответствующего МН, приводит к сдвигу моторной асимметрии рыбок, что в определенной степени компенсирует одностороннюю потерю зрения.

Работа проводилась при финансовой поддержке грантов Президента РФ «Ведущие научные школы» № 217. 2008. 4; РФФИ № 09-04-00451-а; Аналитической ведомственной целевой программы «Развитие научного потенциала высшей школы», проект № 3840, и Федерального агентства по науке и инновациям (Федеральная целевая программа «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России»), номер государственного контракта 02.740.11.0301.

*С. С. Григор'ева^{1,2}, Р. Ш. Штанчаев^{1,2}, Г. З. Михайлова^{1,2}
Н. Р. Тирас^{1,2}, Д. А. Мошков^{1,2}*

ЗМІНИ МОТОРНОЇ АСИМЕТРІЇ ЗОЛОТИХ РИБОК І СТРУКТУРИ ЇХ МАУТНЕРІВСЬКИХ НЕЙРОНІВ, ЗУМОВЛЕНІ ОДНОБІЧНОЮ ЗОРОВОЮ ДЕПРИВАЦІЄЮ

¹ Пуштинський державний університет (РФ).

² Інститут теоретичної та експериментальної біофізики РАН, Пушино, Моск. обл. (РФ).

Резюме

Вивчали вплив однобічної енуклеації ока на моторну асиметрію мальків золотої рибки та морфометричні характеристики їх маутнерівських нейронів – МН (дані об'ємної реконструкції за серійними зрізами). Енуклеація правого або лівого ока у рибко-амбидекстрів призводила при плаванні

до стійкої переваги виконання поворотів у бік зорової деаферентації та до зміщення вихідного коефіцієнта моторної асиметрії (КМА) у середньому на 25 %. Іпсилатеральна енуклеція ока у рибок-правшів і лівшів посилювала вихідну моторну асиметрію на 20 %. Контралатеральна енуклеція ока у рибок-правшів і лівшів призводила до інверсії моторної асиметрії зі зменшенням КМА в середньому на 50 %, причому всі рибки, що зазнали операції, стійко (три місяці й більше) віддавали перевагу поворотам у бік видаленого ока. Дані морфологічних досліджень свідчили про помітне зменшення розмірів вентрального дендрита МН, контралатерального щодо боку енуклеції; у той же час цей нейрон, виходячи зі зменшення моторної асиметрії рибки, ставав функціонально домінуючим. Отримані дані узгоджуються з раніше висунутим припущенням про реципрокний зв'язок між рівнем функціональної активності МН і розмірами його вентрального дендрита. Вибіркове зменшення розмірів вентрального дендрита МН, на котрий проектується зорові входи, вірогідно, було викликане дією якогось ендогенного трофічного фактора. Дія цього фактора посилювалася після енуклеції ока та відповідної дисфункції контралатерального зорового входу. Таким фактором може бути, наприклад, специфічна локальна зміна балансу нейротрансмітерних впливів на вентральний дендрит МП. У нейрофізіологічному аспекті зменшення розмірів вентрального дендрита МН, виступаючи первинною ланкою в низці подій, що призводять до перебудови поведінки, зумовлює посилення інтегральної функціональної активності МН і зрушення моторної асиметрії рибки, тим самим компенсуючи одну-бічну втрату зору.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Э. Кэндел, *Клеточные основы поведения*, Мир, Москва (1980).
2. A. Pascual, K.-L. Huang, J. Neveu, and T. Preat, "Brain asymmetry and long-term memory," *Nature*, **427**, No. 6975, 605-606 (2004).
3. J. N. Carlson, L. W. Fitzgerald, R. W. Jr. Keller, et al., "Lateralized changes in prefrontal cortical dopamine activity induced by controllable and uncontrollable stress in the rat," *Brain Res.*, **630**, Nos. 1/2, 178-187 (1993).
4. V. A. Sovrano, A. Bisazza, and G. Vallortigara, "Lateralization of response to social stimuli in fishes: a comparison between different methods and species," *Physiol. Behav.*, **74**, Nos. 1/2, 237-244 (2001).
5. G. Vallortigara and L. J. Rogers, "Survival with an asymmetrical brain: advantages and disadvantages of cerebral lateralization," *Behav. Brain Sci.*, **28**, No. 4, 575-589 (2005).
6. V. A. Nepomnyashchikh and E. I. Izvekov, "Variability of the behavioral laterality in Teleostei (Pisces)," *J. Ichthyol.*, **46**, Suppl. 2, S235-S242 (2006).
7. A. Bisazza, M. Dadda, and C. Cantalupo, "Further evidence for mirror-reversed laterality in lines of fish selected for leftward and rightward when facing a predator model," *Behav. Brain Res.*, **156**, 165-171 (2005).
8. V. A. Sovrano and R. J. Andrew, "Eye use during viewing a reflection: behavioral lateralization in zebrafish larvae," *Behav. Brain Res.*, **167**, 226-231 (2006).
9. D. H. Hubel and T. N. Wiesel, "The period of susceptibility to the physiological effects of unilateral eye closure in kittens," *J. Physiol.*, **206**, No. 2, 419-436 (1970).
10. C. Blakemore and R. C. van Sluyters, "Reversal of the physiological effects of monocular deprivation in kittens: further evidence for a sensitive period," *J. Physiol.*, **237**, No. 1, 195-216 (1974).
11. S. Yaman, L. von Fersen, G. Dehnhardt, et al., "Visual lateralization in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*): evidence for a population asymmetry?" *Behav. Brain Res.*, **142**, Nos. 1/2, 109-114 (2003).
12. L. J. Rogers and C. Deng, "Light experience and lateralization of the two visual pathways in the chick," *Behav. Brain Res.*, **98**, No. 2, 277-287 (1999).
13. Р. Ш. Штанчаев, Г. З. Михайлова, Н. Ю. Дектярёва и др., "Влияние оптокинетической стимуляции на моторную асимметрию у золотой рыбки", *Нейрофизиология / Neurophysiology*, **39**, № 2, 133-145 (2007).
14. M. Skiba, B. Diekamp, and O. Gontorkon, "Embryonic light stimulation induces different asymmetries in visuoperceptual and visuomotor pathways of pigeons," *Behav. Brain Res.*, **134**, Nos. 1/2, 149-156 (2002).
15. C. Tailby, L. L. Wright, A. B. Metha, et al., "Activity-dependent maintenance and growth of dendrites in adult cortex," *PNAS*, **102**, No. 12, 4631-4636 (2005).
16. H. Cuntz, A. Borst, and I. Segev, "Optimization principles of dendritic structure," *Theor. Biol. Med. Model.*, **4**, No. 21, 1-8 (2007).
17. Q. Wen, A. Stepanyants, G. N. Elston, et al., "Maximization of the connectivity repertoire as a statistical principle governing the shapes of dendritic arbors," *PNAS*, **106**, No. 30, 12536-12541 (2009).
18. R. J. Wassersug and M. Yamashita, "Assessing and interpreting lateralized behaviors in anuran larvae," *Laterality*, **7**, No. 3, 241-260 (2002).
19. J. M. Moulton and S. E. Barron, "Asymmetry in the Mauthner cells of the goldfish brain," *Copeia*, **4**, No. 6, 836-837 (1967).
20. R. DiDomenico, J. Nissanov, and R. C. Eaton, "Lateralization and adaptation of a continuously variable behavior following lesions of a reticulospinal command neuron," *Brain Res.*, **473**, No. 1, 15-28 (1988).
21. Г. З. Михайлова, А. В. Арутюнян, И. М. Санталова и др., "Асимметрия моторного поведения золотой рыбки в узком канале", *Нейрофизиология / Neurophysiology*, **37**, № 1, 52-60 (2005).
22. Г. З. Михайлова, В. Д. Павлик, Н. Р. Тирас и др., "Корреляция размеров маутнеровских нейронов с предпочтением золотых рыбок поворачиваться вправо или влево", *Морфология*, **127**, № 2, 16-19 (2005).
23. Г. З. Михайлова, Н. Р. Тирас, В. Д. Павлик и др., "Морфологические характеристики маутнеровских нейронов золотых рыбок с измененной асимметрией моторного поведения", *Нейрофизиология / Neurophysiology*, **38**, № 1, 18-31 (2006).
24. Ch. B. Kimmel, S. L. Powell, and R. J. Kimmel, "Specific reduction of development of the Mauthner neuron lateral dendrite after otic capsule ablation in *Brachydanio rerio*," *Develop. Biol.*, **91**, No. 2, 468-473 (1982).
25. Д. А. Мошков, *Адаптация и ультраструктура нейрона*, Наука, Москва (1985).
26. L. A. Goodman and P. G. Model, "Superinnervation enhances

- the dendritic branching pattern of the Mauthner cell in the developing axolotl,” *J. Neurosci.*, **8**, No. 3, 776-791 (1988).
27. Е. Н. Безгина, Д. А. Мошков, В. А. Никитин и др., “Морфогенез маутнеровских нейронов головастиков шпорцевой лягушки в условиях ранней односторонней энуклеации глаза”, *Морфология*, **115**, № 3, 49-52 (1999).
 28. Е. Н. Безгина, Е. Н. Мошков, Л. Н. Савельева и др., “Реакция эндоплазматического ретикулума на частичную денервацию маутнеровских нейронов головастиков шпорцевой лягушки”, *Цитология*, **42**, № 5, 508-515 (2000).
 29. Р. Ш. Штанчаев, Г. З. Михайлова, Н. Ю. Дектярёва и др., “Изменения вентрального дендрита маутнеровского нейрона золотой рыбки под воздействием оптокинетической стимуляции”, *Морфология*, **132**, № 6, 29-34 (2007).
 30. В. И. Гусельников, Б. В. Логинов, *Зрительный анализатор рыб*, Изд-во МГУ, Москва (1976).
 31. Е. Е. Григорьева, Р. Ш. Штанчаев, Г. З. Михайлова, Н. Р. Тирас, “Избирательное влияние односторонней энуклеации глаза мальков золотой рыбки на структуру и функцию их маутнеровских нейронов”, в кн: *Материалы XV Международной конференции по нейрокибернетике (Ростов-на-Дону, 23–25 сентября 2009 г.)*, Т. 1, Ростов н/Д (2009), с. 4-7.
 32. H. Korn and D. S. Faber, “The Mauthner cell half a century later: a neurobiological model for decision-making?” *Neuron*, **47**, No. 1, 13-22 (2005).
 33. Н. А. Коканова, Г. З. Михайлова, Р. Ш. Штанчаев и др., “Морфофункциональные изменения маутнеровских нейронов золотой рыбки после аппликации β-амилоида”, *Морфология*, **136**, № 6, 43-47 (2009).
 34. Д. А. Мошков, Л. Л. Павлик, Н. Р. Тирас и др., “Ультраструктурные признаки синаптической памяти в афферентных смешанных синапсах маутнеровских нейронов при естественной модификации двигательной функции”, *Нейрофизиология / Neurophysiology*, **35**, № 3, 88-97 (2003).
 35. Е. Н. Безгина, Л. Л. Павлик, Г. З. Михайлова и др., “Морфофункциональные исследования взаимодействия глутамата и дофамина с маутнеровскими нейронами”, *Нейрофизиология / Neurophysiology*, **38**, № 5, 411-421 (2006).
 36. Н. Р. Тирас, Г. З. Михайлова, Д. А. Мошков, “Эффекты, вызываемые полимеризующим актин пептидом, в маутнеровских нейронах золотой рыбки”, *Нейрофизиология / Neurophysiology*, **38**, № 6, 389-400 (2006).
 37. D. A. Moshkov, G. Z. Mikhailova, E. E. Grigorieva, and R. Sh. Shtanchaev, “Role of different dendrites in the functional activity of the central neuron that controls goldfish behavior,” *J. Integr. Neurosci.*, **8**, No. 4, 441-451 (2009).
 38. Th. Petrov, T. Seitanidou, A. Triller, et al., “Differential distribution of GABA- and serotonin-containing afferents on an identified central neuron,” *Brain Res.*, **559**, No. 1, 75-81 (1991).
 39. J. Mintz, T. Gotow, A. Triller, et al., “Effect of serotonergic afferents on quantal release at central inhibitory synapses,” *Science*, **245**, No. 4914, 190-192 (1989).
 40. S. G. Kolaeva, T. P. Semenova, I. M. Santalova, et al., “Effects of L-thyrosyl-L-arginine (kyotorphin) on the behavior of rats and goldfish,” *Peptides*, **21**, No. 9, 1331-1336 (2000).
 41. И. М. Санталова, Т. А. Мавлютов, Д. А. Мошков, “Морфофункциональные изменения Маутнеровских нейронов при воздействии нейропептида киоторфина”, *Морфология*, **122**, № 5, 46-49 (2002).