

КРАТКИЕ НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 612.84

Г. Г. ДЕМИРЧОГЛЯН, М. В. БЫКОВ, Х. О. НАГАПЕТЯН, О. А. МАРГАРЯН

К ВОПРОСУ О ВЫЯВЛЕНИИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО
МИКРОРЕЛЬЕФА СЕТЧАТКИ ЛЯГУШКИ И СЛОЖНОГО
ГЛАЗА НАСЕКОМОГО С ПОМОЩЬЮ СКАНИРУЮЩЕГО
ЭЛЕКТРОННОГО МИКРОСКОПА

Как известно, деятельность фоторецепторов связана с появлением электрических явлений, позволяющих осуществлять электрофизиологические и биофизические исследования начальных механизмов зрения. Однако до сих пор не представлялось возможным получать информацию о характере электрического рельефа фоторецепторных поверхностей, образуемого из-за функциональной неоднородности таких систем, наличия разного типа фоторецепторов и сложных функциональных взаимодействий между ними, несущих глубокий биологический смысл (например, латеральное торможение Хартлайна).

Появившиеся недавно методы электроретинотопоскопии [1, 6] позволяют вести наблюдения за электрическими изменениями, происходящими одновременно в пятидесяти участках сетчатки, или, с помощью электронно-вакуумных преобразователей типа «Уникон», в 10000 элементах на см² (2,8) и более. Между тем, например, в сетчатке позвоночных животных и человека имеется около 140 000 колбочек на мм² в макулярной области (общее число колбочек в сетчатке человека составляет 7 млн, а палочек—120 млн). Очевидно, поэтому, что осуществление электрического контактирования с каждым из таких элементов в отдельности представляет задачу чрезвычайной сложности. Кроме того, применяемые в современной нейрофизиологии микроэлектродные методы вносят, вследствие соизмеримости диаметра кончика стеклянного электрода и размеров фоторецепторов, существенные искажения в ход наблюдаемых явлений. В связи с этим необходимы поиски новых «бесконтактных» методов выявления микрораспределения электрического микрорельефа рецепторных поверхностей. С этой точки зрения наше внимание привлекает созданный сравнительно недавно растровый сканирующий электронный микроскоп.

В отличие от обычных просвечивающих электронных микроскопов, он дает возможность непосредственно исследовать непрозрачные объекты. Система магнитных или электростатических линз растрового электронного микроскопа образует чрезвычайно острый электронный пучок—зонд, которым как бы «прощупывается» исследуемый образец. Попадая

на образец, он сканирует по его поверхности, создавая поток рассеянных и вторичных электронов. Количество последних зависит от угла падения электронного пучка, заряда данного микроучастка поверхности образца и ряда других физических явлений. Часть электронного тока с образца

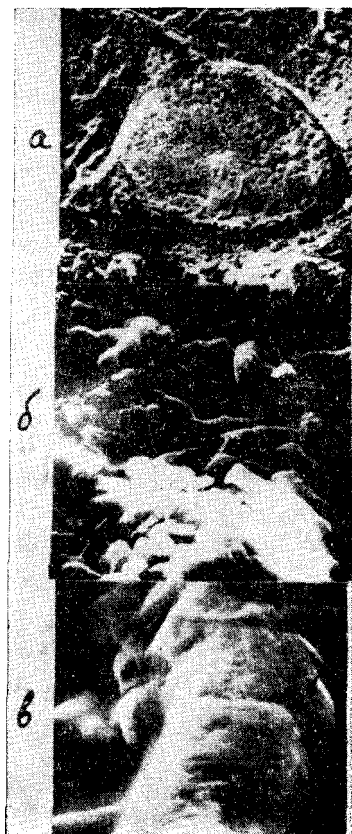


Рис. 1. Электронные микрофотографии сетчатки лягушки. а—участок зрительного нерва и прилегающих к ним рецепторов (рецепторная поверхность). Увеличение 50; б—участок сетчатки с палочками (увеличение 100); в—единичный фоторецептор (палочка). Увеличение 16000.

собирается коллектором попадает на усилитель, образуя видеосигнал, который модулирует ток в луче кинескопа. Развертка последнего синхронна с таковой первичного пучка. Таким образом, на экране электронно-лучевой трубки создается телевизионное изображение рельефа поверхности исследуемого объекта.

Сканирующий электронный микроскоп имеет разрешающую способность порядка $50\text{--}100\text{ \AA}$, что примерно на порядок меньше, чем у просвечивающих электронных микроскопов. Однако благодаря большой глубине резкости (превосходящей в триста раз таковую для оптических микроскопов), быстроты и простоты приготовления образцов, он имеет

большие перспективы для применения в различных областях науки и техники [3]. Уже первые применения растрового электронного микрофотографирования открыли новые возможности и для биологических исследований [4, 7, 9].

В наших экспериментах изолированная сетчатка глаза лягушки (*R. temporaria*), а также сложный глаз сверчка (*Gryllodea*), препарированные при красном освещении из глаза темноадаптированных животных или в полной темноте при помощи электронно-оптического преобразователя, располагались на металлической подставке, затем высушивались и на них производилось напыление тонкого слоя германия, чтобы избежать искажения изображения за счет зарядки препарата электронным пучком. В отдельных экспериментах глаза насекомых просматривались без напыления германия и без предварительного их высушивания, т. е. в живом состоянии. Образцы помещались в камеру растрового английского электронного микроскопа «Стереоскан» и проводилось изучение поверхностного микрорельефа как рецепторной, так и нервной поверхностей сетчатки. В ряде экспериментов изображение строилось используя адсорбированные в объекте электроны (в режиме наведенного тока), что характеризовало распределение сопротивлений по поверхности образца.

На рис. 1 представлен электронный микрограф рецепторной поверхности сетчатки лягушки. Хорошо виден участок перерезанного зрительного нерва. Четко выявляется оболочка нерва. Внутри нее видны темные островки—сечения нервных волокон. Вокруг соска начинается мозаика фоторецепторов. На рис. виден также участок рецепторной мозаики, прилегающий к границе зрительного нерва. На этом же рисунке хорошо видны отдельные фоторецепторы (палочки), как бы «сваленные» в разных направлениях. При увеличении в 2000 раз выявляются детали поверхностного строения отдельных фоторецепторов. Обращает внимание не отмеченная ранее в литературе «бугристость» поверхности фоторецепторов. При увеличении в 16000 раз выявляется сложная структура отдельной палочки, содержащей большое количество двойных мембран.

Если сравнить полученные нами в вакууме электронные микрографии сетчатки с микрофотографией рецепторной поверхности изолированной ретины лягушки, находящейся в воздухе (например, Бауман, [5]), то можно установить известное сходство световой и электрической картин рецепторной мозаики, а также существенное различие. Сканирующая микрограмма подчеркивает особенности микроструктуры и распределения потенциала по поверхности внешних сегментов фоторецепторов. Вместе с тем, не следует забывать, что высушивание сетчатки и, возможно, деформация ее поверхности, возникающая при препарировании и при помещении ее в вакуум, создают нарушения стройной ориентации фоторецепторов, имеющей место в интактной, влажной сетчатке, а также могут в определенной мере изменить и саму биологическую структуру.

Необходимо отметить еще одну интересную особенность. Работая с препаратами в режиме наведенного в ней тока и выделяя видеосигнал

строки глаза насекомого, мы заметили, что на отдельных его участках регистрировались колебания тока луча, которые, вероятно, могли быть вызваны процессами прямого возбуждения фоторецепторов электронным пучком (рис. 2). Ответы подобного типа возникали при сканировании

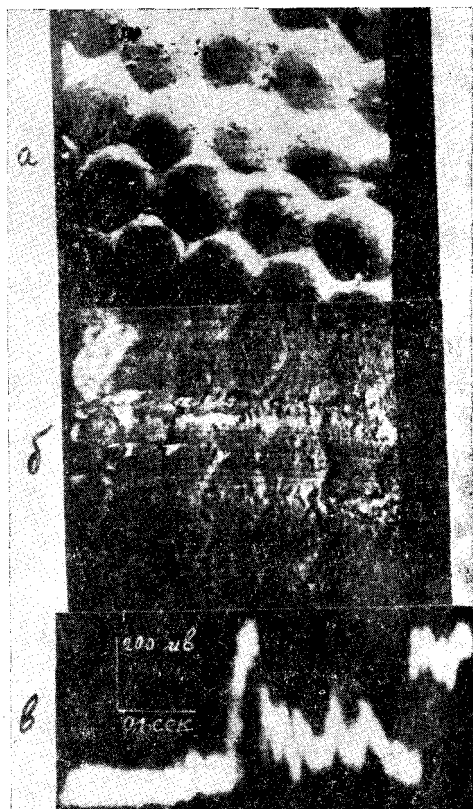


Рис. 2. Электронные микрофотографии фасеточно-го глаза сверчка и видеосигнал отдельной строки. а—вид отдельных фасеток в отраженном режиме работы микроскопа (увеличение — 850); б—то же в режиме наведенного тока; в—осциллограмма, отражающая возникновение наведенного тока в препарате при сканировании электронным пучком.

сетчатки электронным пучком только в отдельных направлениях и, вероятно, соответствовали областям с сохранившейся электронной возбудимостью. Не следует забывать, что тончайший электронный пучок (диаметром до $200 \text{ \AA}$) в наших экспериментах одновременно выполнял роль супермикрореза и раздражающего агента.

В заключение необходимо отметить, что изложенные в данной статье наблюдения носят пока лишь предварительный характер. Столь сложный вопрос, каким является выявление электрического микрорельефа фоторецепторных поверхностей, требует дальнейших углубленных ис-

следований, разработки специальных радиотехнических методов повышения чувствительности микроскопа и сохранения функциональных свойств препаратов. Исследования в этом направлении в настоящее время нами продолжаются совместно с кафедрой электроники Московского государственного университета им. Ломоносова.

Лаборатория зрительной рецепции
АН АрмССР

Поступило 19.III 1970 г.

Հ. Գ. ԴԵՄԻՐՉՕԳԼՅԱՆ, Մ. Վ. ԲԻԿՈՎ, Խ. Հ. ՆԱՀԱՊԵՏՅԱՆ, Հ. Հ. ՄԱՐԳԱՐՅԱՆ

**ԱԶՔԻ ՑԱՆՑՆԵՈՒ ԷԼԵԿՏՐԱԿԱՆ ՄԻԿՐՈՌԵԼՅԵՑԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒ-
ԹՅՈՒՆԸ ՍԿԱՆԱՅՆՈՂ ԷԼԵԿՏՐՈՆԱՅԻՆ ՄԻԿՐՈՍԿՈՊԻ ՕԳՆՈՒԹՅԱՄԲ**

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուստորային էլեկտրոնային միկրոսկոպի կիրառումը կենսաբանական օբյեկտների ուսումնասիրության նպատակով հանդիսանում է նոր և նպատակաւաց հետազոտության մեթոդ: Այդ մեթոդի օգնութլամբ հնարավոր է անմիջականորեն ուսումնասիրել վակուումում գտնվող անթափանցիկ օբյեկտների մակերեսը նրանց զոնդելով էլեկտրոնային խրձով:

Այդ մեթոդի կիրառումը թույլ է տվել տվյալ աշխատանքում ստանալ տվյալներ միջատների բարդ աչքի և գորտի աչքի ցանցենու ռեցեպտորային մակերեսի միկրոռելյեֆի բնույթի, ֆոտոռեցեպտորների կառուցվածքի առանձրնահատկութլունների մասին:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Демирчоглян Г. Г., Ливанов М. Н. Биофизика клетки, изд. «Наука», М., 1965.
2. Демирчоглян Г. Г., Нагапетян Х. О., Сыприкова Н. И., Карапетян Г. С. XI съезд Всесоюзного физиологического общества им. Павлова, т. II, (тезисы научных сообщений), изд. «Наука», Л., 1970.
3. Спивак Г. В., Самарин Г. В., Быков М. В. Успехи физических наук, 12, 1969.
4. Barlett G. A. Science, 158, 3806, 1967.
5. Baumann Ch. Graefes Arch. Klin. Exp. Ophthalm. 172, 125, 1967.
6. Demirchoghlian G. G. VIII, Inter. Symp. Electoretinography, Erfurt, 1967.
7. Demirchoghlian G. G., Bicov M. V., Nahapetian Ch. O., Markarian O. A. Proc. VII CEM, 3, 852, Grenoble, 1970.
8. Demirchoghlian G. G., Nahapetian Ch. O., VIII, Intern. Sump. ERG, Istambul, 1969.
9. Echlin P. Scientific Amer., 218, 481, 1968.