

# 江豚视网膜结构、神经节细胞计数及其分布特征

李俊凤 吴奇久

(中国科学院生物物理研究所)

江豚 (*Neophocaena asiacorientalis*) 是水生哺乳动物, 其最大的特点是具有出色的回声定位能力, 因此, 对江豚的研究多集中于听觉方面。其视觉所起的作用不大被研究者注意, 尤其对视觉系统的解剖学和组织学方面的研究尚未见过报导。本实验对江豚视网膜的神经节细胞进行了某些定量研究, 同时还观察了其视网膜的一般组织结构, 以分析其视网膜的发达程度。

为了探索各种动物的视网膜在视觉信息加工中的作用, 一些研究者如马图瑞那 (Maturana), 雅各布森 (Jacobson), 卡利尼那 (Kalini-na), 范布伦 (Van Buren), 斯通 (Stone) 对青蛙、猴、猫等动物的视网膜做过一些定量研究。这些研究都是利用普通光学显微镜进行的。本实验应用图象分析计算机 (Quatimet 720 image analysis Computer 简称图象分析计算机) 进行分析可较正确而快速地获得江豚视网膜神经节细胞的数量、比例及其密度分布的资料。

## 材料和方法

实验材料为两只江豚的 4 只眼球。先用 10% 中性福马林作眼球内固定, 然后将眼球取出放入上述固定液中固定两周。剥出完整视网膜, 2 只视网膜做成整封片, 在 60°C 温度下用福马林蒸气熏干, 甲酚紫染色。染色后的标本用图象分析计算机进行测定。事先在视网膜左方及下方画出坐标轴 Y 和 X, 从两轴相交的零点开始, 从左向右扫描随机取样测定。每个视野的测量面积是 0.018 平方微米, 视野之间的距离彼此相等 (均为 1.2 毫米)。最下一排测完后, 再向上移一排, 上下排间距也是 1.2 毫米。依次将整个视网膜测完, 共测定了 287 个视野。

通过自动计数, 获得了每个视野内的神经节细胞数 (由于样品个别部位被色素上皮覆盖, 计算机不能正确计算, 故有 39 个视野未获得数据), 然后用统计学方法算出视网膜神经节细胞总数, 在测量每个视野中的神经节细胞数时, 同时测出每个细胞的直径, 然后分别计算大小细胞之比例。

另外 2 只视网膜做常规石蜡切片, 在普通光学显微镜下测量视网膜厚度, 外核层细胞核数与神经节细胞数之比, 并观察了视网膜各层的一般结构。

## 结 果

### (一) 神经节细胞的密度分布 (见图 1)

从图 1 中可以看出, 每平方毫米视网膜上的神经节细胞数最少为 375 个, 最多为 970 个, 大多数为每平方毫米 500—700 个。神经节细胞的密度分布在整个视网膜上看不出有什么明显的不均匀性, 未见到细胞密度集中的中央区。虽然某些区域细胞密度较大, 但未形成象鸟类和某些哺乳动物视网膜的“视条纹”(Visual streak)。从随机取样的 t 检验结果看, 江豚视网膜周边及中央部的神经节细胞密度分布无显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

### (二) 神经节细胞大小的测量及其分布

江豚视网膜整封片基本为圆形, 视乳头位于中央。鼻颞侧方向和上下方向上的直径分别为 34 和 36 毫米。视网膜神经节细胞从形态学上明显分为直径大小不同的两类 (见图 2, 4, 5, 6)。大细胞直见图 2, 4, 4, 6)。从图 2, 4, 6 可以看出, 视网膜三个部分的神经节细胞密度分布差别不甚明显。大细胞直径一般都在 10 微米 ( $\mu\text{m}$ ) 以上, 最大为 29 微米。小细胞直径一

554										512 446									
542	608		563							616	608	563	570	600	670	596			
570	663	600	625	529	570					646	X	492	600	692	554	671			
549	700	667	479	742	X	538	542	704	488	563	663	583	592	776					
671	708	638	588	742	X	X	X	733	717	596	625	658	621	667	X				
708	638	579	563	670	713	X	700	750	970	X	600	708	567	454	446	600			
596	575	592	X	621	X	783	704	X	X	583	713	554	758	483	529	725	621	588	
604	737	667	549	566	683	600	767	758	812	754	488	500	529	492	667	592	625	500	
629	617	675	588	671	554	796	642	X	746	X	483	700	500	621	654	550	783		
688	467	517	650	650	617	529	500	570		X	458	625	554	675	546	X	X		
X	X	617	542	525	567	763	754	796		X	554	563	646	563	521	650	X		
X	504	X	679	783	663	X	725	754	438	X	650	738	517	592	725	638	579	679	667
X	658	X	X	X	758	654	596	767	729	521	504	729	504	571	725	583	546	596	586
575	650	438	792	592	613	704	650	729	688	642	754	567	375	521	713	567	542	575	467
583	754	688	738	733	788	750	704	688	829	646	671	663	629	617	X				
704	712	X	712	792	542	520	525	717	671	704	654	700	588						
692	667	X	613	750		508	746	538	413	X	575	563	471						
617	700	479				596	592	588	X	X	692	X	475						
	700	763								X	X	500	467						

图1 江豚视网膜的神经节细胞密度分布及计数(图象分析计算机测定值)。每格中的数字为每平方米( $\text{mm}^2$ )视网膜上的神经节细胞的个数,它是根据每个视野的面积和测得的数据换算出来的。X代表未测得数据的视野。

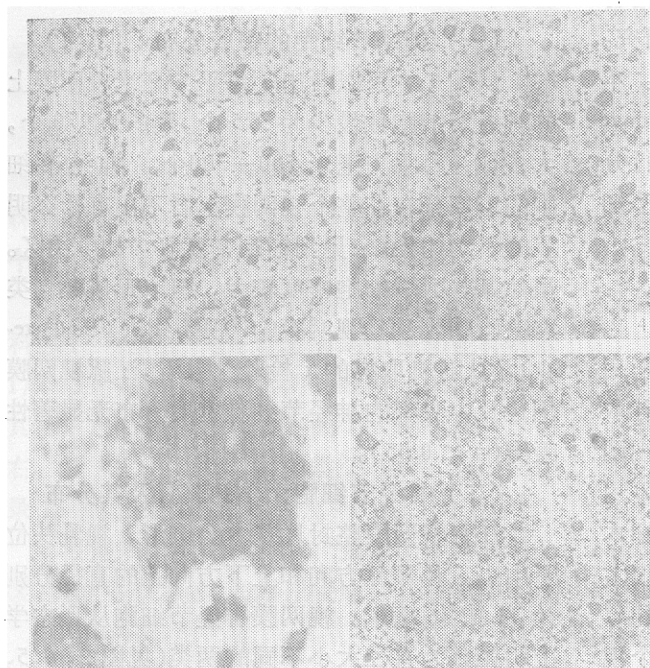


图2 江豚视网膜中央区神经节细胞的密度分布,整封片, $\times 130$ ; 图4 江豚视网膜中间区神经节细胞的密度分布,整封片, $\times 130$ ; 图5 神经节细胞的放大,一种神经节细胞较大呈多角形,核染色很深,核膜不甚清晰。另一种较小,多为圆形, $\times 1580$ ; 图6 江豚视网膜周边区神经节细胞的密度分布。整封片, $\times 130$ 。

般都在  $10\mu\text{m}$  以下,最小为2微米。本实验在离视乳头3、8.5和16毫米的圆形区域内(相当于视网膜中央、中间和周边部),用图象分析计算机抽样测量了各10个视野中上述大小两类细胞的比例,然后用统计学方法求出三个不同区域中大小细胞所占的平均比值,结果见表1。

从表1可以看出,视网膜中央到周边部大小细胞的比例略有变化,中央部小细胞所占比例较高,而在周边和中间部,小细胞比例有所下降,大细胞比例略有增高,但变化不显著。整个视网膜上直径在  $10\mu\text{m}$  以上的神经节细胞的数量约占  $9 \pm 0.5\%$ 。

(三) 神经节细胞总数 其计算方法是,首先求出248个扫描视野所得数据(如图1所示)的平均值(即神经节细胞在每平方米视网膜上的平均值),然后乘以用光学显微镜测得的视网膜总面积( $7.05$ 平方厘米),得到的江豚视网膜神经节细胞总数为  $427,800 \pm 15,000$

表 1 大小两类神经节细胞在视网膜不同区域的分布

项目	中央区(%)	中间区(%)	周边区(%)
10 $\mu\text{m}$ 以下	91.4 $\pm$ 0.9	90.6 $\pm$ 0.8	90.7 $\pm$ 1.1
10 $\mu\text{m}$ 以下	8.6 $\pm$ 0.9	9.4 $\pm$ 0.8	9.3 $\pm$ 1.1

( $p < 0.05$ )。

(四) 外核层细胞数和神经节细胞数之比

在视网膜切片中随机取 25 个样品区每个样品区之间的距离为 100 $\mu\text{m}$ ，测出每个样品区中外核层细胞数和神经节细胞数。结果为：外核层细胞数最多为 170 个，最少为 5 个。二者的比值在 8.1:1—28:1 之间波动，平均比值为 16:1。

(五) 视网膜的一般结构

1. 视网膜厚度测量 江豚视网膜也明显地分为 10 层(见图 3)。由于不同部位视网膜各

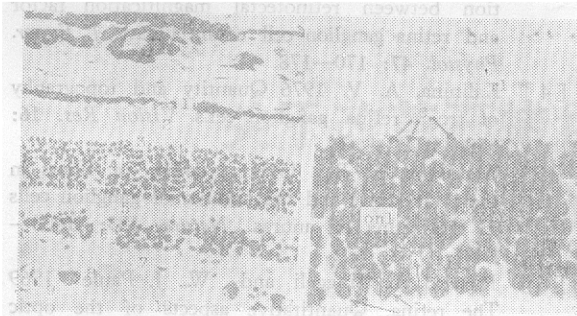


图 3 江豚视网膜切片。1.色素上皮层, 2.视杆视锥层, 3.外界膜, 4.外核层, 5.外网织层, 6.内核层, 7.内网织层, 8.神经节细胞层, 9.视神经纤维层, 10.内界膜 $\times$ 380;

图 7 视网膜切片。外核层放大。C 为视锥细胞核, 呈圆形, 染色较浅, 多靠近视杆视锥层 (rl), R 为视杆细胞核, onl 为外核层。 $\times$ 1580

表 2 江豚视网膜各层厚度

层次	名称	厚度( $\mu\text{m}$ )
1	色素上皮层	11
2	视杆视锥层	31
3	外界膜	2
4	外核层	41
5	外网织层	20
6	内核层	22
7	内网织层	23
8	神经节细胞层	20
9	视神经纤维层	8
10	内界膜	2
总计		180

层厚度略有差别, 所以对各层厚度各测量了 10 个数据, 取其平均值, 结果见表 2。

从表 2 可以看出, 江豚视网膜比猴、猫等哺乳动物的视网膜(厚约 250 $\mu\text{m}$ )薄。其中, 外核层的厚度约为内核层的两倍(41:22), 也是神经节细胞层厚度的两倍(41:20)。

2. 视网膜一般形态观察 色素上皮层较薄, 由一层细胞组成, 细胞核为圆形, 细胞质中含有一些黄褐色颗粒。外核层中细胞核较密集, 大多数为视杆细胞核, 其体积较小, 呈圆形, 核中染色质多, 染色深。同时可以见到视锥细胞核(见图 7), 数量很少, 胞核体积大, 染色质较分散, 因此胞核染色深浅不均匀。此类胞核多靠近外界膜。外核层中的细胞核大约排成 10 层。内核层中细胞核数量较少, 核内含有大量染色质颗粒。神经节细胞层中的细胞较稀疏, 胞体大, 并有少数神经节细胞移位进入内网织层。从视网膜整封片上, 可以看到两种形态不同的神经节细胞(见图 5), 一种胞体大, 呈多角形, 核质染色较浅; 另一种胞体较小, 胞体呈圆形, 染色较深。

讨 论

1. 神经节细胞的密度分布对视敏度有很大影响。有些研究者<sup>[4,7]</sup>认为, 视觉较发达的动物其神经节细胞的密度分布有以下特点: (1) 视网膜上有神经节细胞密度分布极高的中央区或“视条纹”, 视条纹的方向是从中央区向鼻侧和颞侧方向水平伸展; 离中央区越远神经节细胞的密度越低。视网膜中央区与周边区的神经节细胞之比约为 4:1, 人类的这一比值甚至达到 40:1。(2) 中央区小细胞比例很高, 越往周边区小细胞比例有所下降, 而大细胞比例增高。在江豚视网膜上看不到神经节细胞密度分布很高的中央区或视条纹, 中央区和周边区神经节细胞的密度分布无显著性差异; 中央区和周边区大小细胞比例虽稍有不同, 但基本上差别不大。从这些特点可以看出, 江豚视网膜与视觉发达的动物的视网膜有很大差别。

2. 有的研究者表明, 夜行动物与昼行动物

视网膜上视杆视锥细胞数与神经节细胞数之比存在很大差别。有些纯昼行动物这二者之比接近 1:1, 而有些夜行动物的这个比值可达几千:1, 也就是说, 有许多光感受细胞的纤维与一个神经节细胞有对应联系。同时, 昼行动物内核层细胞比外核层细胞多, 夜行动物则相反。我们获得的结果是, 江豚视网膜的光感受细胞与神经节细胞之比是 16:1; 外核层厚度约为内核层厚度的两倍, 而且在光感受细胞中视杆细胞占优势。从这些特点来看, 江豚视网膜与夜行动物视网膜类型较为接近。

3. 直接计算动物视网膜神经节细胞总数的资料不多。根据现有的资料来看<sup>[4,6,8]</sup>, 青蛙视网膜神经节细胞总数约为 100 万个; 鸽子约为 480 万个; 狗约为 75 万个; 人类约为 200 万个。这些数值均大大超过江豚视网膜神经节细胞的总数 43 万个, 并且, 这些动物的视网膜面积比江豚视网膜要小的多, 因此就单位面积内的神经节细胞数来看, 鸽子是 4,000/mm<sup>2</sup>, 猫是 6,000/mm<sup>2</sup>, 人类密度最大处可达 80,000/mm<sup>2</sup>。而江豚的这个数值仅为 500~700/mm<sup>2</sup>。

4. 一般说来, 具有回声定位能力的动物其视觉都有不同程度的退化, 在与生存有密切关系的活动——捕食、避敌中, 回声定位起着决定性的作用。因此, 生物学家往往把研究重点集中在与回声定位直接相关的听觉方面。有些研究工作者认为, 这些动物的视觉系统已经萎缩, 视觉刺激对它们不起什么作用。但是有些研究工作者在实验室观察了回声定位功能很出色的蝙

蝠之后, 他们认为蝙蝠不但能辨别亮度, 而且有些蝙蝠还具有简单模式识别的能力。对江豚的视觉行为实验, 目前尚未见报导。但根据本实验以及我们对其视神经的研究结果<sup>[1]</sup>表明, 视觉发达动物的视网膜和视神经中所具有的成分, 在江豚视网膜和视神经中都能找到, 也就是说, 此种动物具有视觉功能的神经基础。因此, 在江豚的行为活动中, 除依靠回声定位的作用外, 其视觉可能也起着一定作用。

### 参 考 文 献

- [1] 吴奇久 李俊凤 1984 江豚视神经和白豨豚视神经的比较研究。动物学报 30(4): 331—336。
- [2] Glickstein, M. 1976 The vertebrate eye. In Evolution of Brain and Behavior in Vertebrates (Ed. Masterton, R. B.) John Wiley and sons, New York, Toronto, London and Sydney, 53—71.
- [3] Jacobson, M. 1962 The representation of the retina on the optic tectum of the frog. correlation between retinotectal magnification factor and retina ganglion cell count. Quart. J. Exper. Physiol. 47: 170—178.
- [4] Kalinina, A. V. 1976 Quantity and topography of frog's retina ganglion cells. Vision Res. 16: 929—934.
- [5] Maturana, H. R. 1959 Number of fibers in the optic nerve and the number of ganglion cells in the retina of anuras. Nature 183: 1406—1407.
- [6] Richard, L. Binggeli and W. J. Paule 1969 The retina. Quantitative aspects of the optic nerve and ganglion cell layer. J. Comp. Neuro. 137: 1—18.
- [7] Stone, J. 1965 A quantitative analysis of the distribution of ganglion cell in the cat's retina. J. Comp. Neurol. 124: 337—352.
- [8] Van Buren, J. M. 1963 The retinal ganglion cell layer. Charles C Thomas, Springfield, Illinois.