

## Streszczenie

U gryzoni jądro ciała kolankowatego bocznego wzgórza (ang. *lateral geniculate nucleus*, LGN) to kompleks trzech struktur różniących się zarówno pod względem morfologicznym, elektrofizjologicznym, jak i funkcjonalnym. Wyróżnia się: grzbietową część ciała kolankowatego bocznego (ang. *dorsal lateral geniculate nucleus*, dLGN), brzuszną część ciała kolankowatego bocznego (ang. *ventral lateral geniculate nucleus*, vLGN) oraz znajdujący się między nimi listek ciała kolankowatego bocznego (ang. *intergeniculate leaflet*, IGL). Aktywność neuronalna tych struktur jest silnie zależna od pobudzenia różnych typów fotoreceptorów znajdujących się w siatkówce oka: pręcików, czopków S, czopków M oraz komórek melanopsynowych. Informacja z tych trzech rodzajów fotoreceptorów, zostaje przetworzona przez dLGN, który stanowi pierwszą stację przekąźnikową pomiędzy siatkówką, a pierwszorzędowną korą wzrokową ssaków (ang. *primary visual cortex*, V1) i jest silnie zaangażowany w klasyczne funkcje wzrokowe związane z tworzeniem obrazu, czyli widzeniem. Co ciekawe, aktywność samego dLGN, związana jest z ogólnym stanem wzbudzenia mózgowia, takim jak np. sen wolnofalowy, sen paradoksalny, czy stan czuwania. W warunkach laboratoryjnych, modelem cyklu snu i czuwania jest aktywacja korowa (ang. *cortical activation*) oraz deaktywacja korowa (ang. *slow wave activity*, SWA), wyróżniana w zapisie ECoG u zwierząt wprowadzonych w stan głębokiego znieczulenia za pomocą dootrzewnowego podania uretanu (ang. *urethane*, karbaminian etylu). Te dwa stany mózgowia naprzemiennie występujące w sygnale ECoG są również związane z tzw. erupcyjnym (ang. *bursting*) oraz tonicznym wzorem generowania potencjałów czynnościowych przez dLGN. Środkowa część kompleksu – IGL, zaangażowana jest w integrację bodźców fotycznych (pochodzących z siatkówki), jak i niefotycznych otrzymywanych z układów niespecyficznych mózgowia, takich jak: cholinergiczny, serotonergiczny, czy oreksynergiczny. vLGN, funkcjonalnie definiowany przez swoje połączenia, jest najsłabiej poznaną częścią LGN i jedynie jego boczna część otrzymuje unerwienie z siatkówki.

Celem niniejszej pracy, było dokonanie elektrofizjologicznej charakterystyki światłoczułych neuronów LGN, ze szczególnym uwzględnieniem jego grzbietowej części. Szczegółowe cele dotyczyły: i) sprawdzenia, czy spontaniczna oraz wywoływana światłem aktywność neuronów dLGN jest zależna od fazy ogólnego stanu mózgowia obserwowanego w zapisie ECoG podczas znieczulenia uretanowego; ii) scharakteryzowania aktywności neuronalnej dLGN w odpowiedzi na bodźce świetlne o różnej charakterystyce spektralnej, przy użyciu różnych

wartości stymulacyjnych; iii) zbadania infrawolnej aktywności oscylacyjnej IGL oraz zdolności neuronów IGL/vLGN do kodowania intensywności światła białego.

Badania przedstawione w niniejszej rozprawie doktorskiej wykonałam jedno- oraz wielokanałową metodą zewnątrzkomórkowej rejestracji aktywności neuronalnej *in vivo*, które połączyłam z rejestracją ECoG, stymulacją świetlną siatkówki oraz farmakologicznym wyciszeniem aktywności korowej za pomocą lokalnego podania muscimolu (ang. *muscimol*). Wszystkie eksperymenty przeprowadziłam na dorosłych samcach szczura szczepu Long Evans, które wybrałam do badań ze względu na pełną pigmentację oka oraz prawidłowo rozwinięty układ wzrokowy.

W pierwszym bloku doświadczalnym uzyskałam wyniki, w których wyróżniłam cztery rodzaje zależności, pomiędzy aktywnością neuronalną rejestrowaną w dLGN, a naprzemiennie występującymi fazami ogólnego stanu wzbudzenia mózgowia, obserwowanego w sygnale ECoG. Wyróżniłam neurony w których: aktywność dLGN poprzedzała zmiany w zapisie ECoG (FR → ECoG); zapis ECoG był sygnałem wiodącym (ECoG → FR); zmiana wzoru aktywności dLGN występowała w tym samym czasie co zmiana fazy widocznej w ECoG (ECoG = FR); nie zaobserwowano korelacji pomiędzy dwoma sygnałami (not correlated). Modulacja spontanicznej aktywności dLGN przez ogólny stan wzbudzenia mózgowia, przejawiała się zarówno poprzez zmiany wzorca aktywności neuronalnej dLGN (pojawienie się aktywności erupcyjnej), jak i przez podwyższenie/obniżenie średniej częstotliwości generowanych potencjałów czynnościowych pomiędzy fazami ECoG. Ponadto, pokazałam że amplituda odpowiedzi wywoływana światłem białym pozostaje stała w trakcie zmian ogólnego stanu wzbudzenia mózgowia. Jednakże, szczegółowa analiza histogramów okołostymulacyjnych (ang. *peristimulus time histograms*) wykazała, że typ odpowiedzi w 32% zarejestrowanych neuronów jest zależny od fazy znieczulenia uretanowego. W kolejnych doświadczeniach wykazałam, że zahamowanie aktywności V1 przez powierzchniowe podanie muscimolu, wpływa zarówno na opisane zależności pomiędzy dLGN, a ogólnym stanem wzbudzenia mózgowia, ale także moduluje wrażliwość świetlną neuronów dLGN. Dodatkowo wykazałam, że komórki dLGN odpowiadające na światło w sposób toniczny są zaangażowane w kodowanie zmian intensywności światła białego w fazie aktywacji korowej.

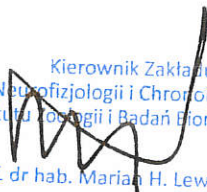
W drugim bloku doświadczalnym oprócz światła białego zastosowałam również światło monochromatyczne w zakresie 340 – 490 nm oraz światło o barwie żółtej uzyskane poprzez zastosowanie filtra odcinającego krótkie długości fali ze spektrum światła białego. W obrębie dLGN zidentyfikowałam dwa rodzaje komórek odpowiadających przeciwnie na światło żółte i UV. Pierwszy rodzaj komórek „Żółte ON, UV OFF” był rejestrowany najczęściej (86%

komórek odpowiadających przeciwnie). Charakteryzował się on zwiększeniem aktywności neuronalnej w odpowiedzi na światło żółte oraz zahamowaniem tej aktywności w świetle ultrafioletowym. Te same komórki reagowały podwyższeniem częstotliwości generowanych potencjałów czynnościowych w trakcie trwania pulsu światła białego i obniżeniem aktywności neuronalnej w ciemności. Odpowiedzi na światło komórek drugiego typu „Żółte OFF, UV ON” były antagonistyczne do typu pierwszego. Oprócz tego, większość neuronów zlokalizowanych w dLGN odpowiadała zarówno na spektrum z zakresu światła ultrafioletowego (340-380 nm), jak i niebieskiego (380 – 490 nm). Co ciekawe, wyodrębniono także niewielką grupę komórek preferujących tylko światło ultrafioletowe. W związku z tym, przetestowano, czy neurony zdolne do kodowania światła białego, kodują także zmiany w intensywności światła UV. Zidentyfikowano 20% takich komórek. Ponadto, pokazano, że zdolność kodowania światła białego przez komórki dLGN jest zakłócona przy użyciu filtra górnoprzepustowego 525 nm.

Wyniki otrzymane w trzecim bloku doświadczalnym dotyczą aktywności neuronalnej IGL/vLGN. W przypadku IGL pokazałam, że w przeciwieństwie do szczurów albinotycznych, u zwierząt pigmentowanych wzorec aktywności neuronalnej, określane mianem infrawolnych oscylacji ( $< 0.01$  Hz), występuje zarówno w warunkach pełnego oświetlenia, jak i w ciemności. Dodatkowo, scharakteryzowałam wrażliwość i zdolność do kodowania intensywności światła białego przez IGL i vLGN.

Podsumowując, wyniki mojej pracy doktorskiej uzupełniają oraz poszerzają wiedzę z zakresu fizjologii ciała kolankowatego bocznego wzgórza mózgu szczura. Przedstawiam w nich szczegółową analizę spontanicznej i wywoływanej światłem aktywności neuronalnej tej struktury. Pokazuję, w jaki sposób cykliczne zmiany ogólnego stanu wzbudzenia mózgowia, mogą modulować jedną z podstawowych, bardzo ważnych funkcji neuronów dLGN, jaką jest kodowanie intensywności oświetlenia występującego w otoczeniu zwierzęcia. W pracy tej, udokumentowałam także występowanie dwóch rodzajów komórek, odpowiadających przeciwnie na światło żółte i UV, których aktywność związana jest prawdopodobnie ze wspólnym unerwieniem dochodzącym do dLGN z czopków S i innych fotoreceptorów. Pokazałam również, że niewielka grupa komórek dLGN specjalizuje się w detekcji zmian intensywności światła ultrafioletowego, które występuje naturalnie w środowisku przed świtem i po zmierzchu. Ponadto, pokazałam, że zmiana spektrum światła poprzez użycie filtra górnoprzepustowego 525 nm (podobnego do filtrów stosowanych w chirurgii zaćmy) wpływa na zdolność neuronów dLGN do kodowania intensywności światła białego występującego w środowisku. Wyniki moich badań, jako pierwsze pokazują, nie tylko różnice w aktywności IGL

między zwierzętami albinotycznymi i pigmentowanymi, ale także charakteryzują wrażliwość światłą neuronów zarówno IGL, jak i vLGN.

Kierownik Zakładu  
Neurofizjologii i Chronobiologii  
Instytutu Fiziologii i Badań Biomedycznych  
  
Prof. dr hab. Marian H. Lewandowski

## Abstract

Thalamic lateral geniculate nucleus (LGN) is a complex set of three physiologically and anatomically distinct structures: the dorsal lateral geniculate nucleus (dLGN), the intergeniculate leaflet (IGL) and the ventral lateral geniculate nucleus (vLGN). Similarly to other subcortical visual system structures, all of these nuclei are densely innervated by the contralateral retina, where different types of photoreceptors detect even the smallest changes in intensity and spectral composition of environmental light. Despite many similarities, each photoreceptor class possess distinct maximum sensitivity. In rodents, S-cones ( $\lambda_{\max} = 360$  nm), M-cones ( $\lambda_{\max} = 510$  nm) and intrinsically photosensitive retinal ganglion ( $\lambda_{\max} = 480$  nm) cells are activated by light. As a result, neuronal signals travel via the retinal ganglion cells to three parts of the LGN. In the dLGN, a structure critical for conventional visual processing, light information is transmitted in the state-dependent manner, which means that dLGN activity reflect different behavioural states, such as vigilance or sleep. In acute *in vivo* studies, different brain states observed during natural sleep cycle are mimicked by urethane anaesthesia, which enables observations of cortical activation (small amplitude, dominant theta frequency) and cortical slow wave activity (SWA, high amplitude, dominant delta frequency) alternating rhythmically on the ECoG trace. At the cellular level, signal transmission in the dLGN is associated with two switching firing modes, bursting and tonic, both have been reported during wakefulness; however, the bursting mode prevails during slow-wave sleep. Further, from the dLGN, light information is sent to the primary visual cortex (V1), which also feedback to the dLGN influencing its activity. In terms of the IGL, light information is integrated with non-photoc signals and is transmitted to the master biological clock which orchestrates circadian rhythms throughout the body. In the vLGN, only its external part receives visual input from the retina, but its functional significance is less understood.

In this study, I thoroughly characterized the light-sensitive LGN cells with particular emphasis put on dorsal part of the complex (dLGN). Three main aims of the present thesis are as follows: i) understanding the physiology of the light-sensitive dLGN cells under state-dependent changes induced by urethane, ii) characterization of dLGN neuronal activity under various light spectra with particular attention put on short-wavelength light, iii) investigation of light encoding properties of the IGL/vLGN, and IGLs' infra-slow oscillatory activity pattern in pigmented rat.

To achieve these goals I employed single- and multi-channel extracellular recordings *in vivo*, and combined them with various light stimulations, ECoG recordings, and pharmacological

approach. As the laboratory model I chose male, adult Long Evans rat, due to its full pigmentation and well-developed visual system.

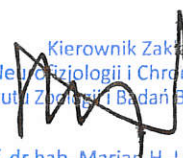
In the first part of the study, I revealed four different relationships that occurred *in vivo*, between the spontaneous neuronal activity of the dLGN and brain state-dependent changes reflected in the ECoG pattern. I classify dLGN cells as neurons in which the activity followed (ECoG → FR) or preceded (FR → ECoG) brain state changes, neurons correlated with ECoG in a time lag 0 (ECoG = FR) and not correlated cells. Additionally, I found that within those groups there were cells increasing firing rate during the cortical activation state, and those that exhibited higher spike rate during the SWA state. Moreover, the linkage between dLGN firing and cyclic changes in the general brain state was also evident, when I examined the bursting activity. In the subsequent experiments I have shown that the amplitude of light responses remained constant under alternating brain states, and that the majority of cells exhibited the same type of light response during both cortical activation and SWA states. However, detailed analysis of photoresponse profiles revealed that in 32% of neurons type of light-induced response depended on the ECoG phase of urethane anaesthesia. Further to this, I demonstrated that sustained (tonic) responses of the dLGN are involved in encoding white light intensity increments, but this basic property is modulated by the phase of urethane anaesthesia. Besides, I also described how pharmacological attenuation of cortical feedback influenced observed relationships between dLGN activity and ECoG states, and whether it affected light sensitivity of this structure.

In the second part of the study, I applied a broader range of light parameters to investigate how light sensitive dLGN neurons respond to different spectral composition of light. Firstly, with the use of monochromatic (340 – 490 nm) light pulses and chromatic background I documented the presence of two types of spectrally opponent cells: “Yellow ON UV OFF” and “Yellow OFF UV ON”. Secondly, I showed that the majority of cells responded evenly to almost all wavelengths from the 340 – 490 nm spectrum. Interestingly, however, some neurons preferred UV light range (340-380 nm) or blue light range (380 – 490 nm). In addition, I tested, if dLGN cells, which encode white light intensity also possess the ability to accurately track small UV light increments, which in relation to natural scenes are associated with dawn and dusk periods of the day. At the end of this experimental block, I demonstrated that light encoding ability of dLGN is disrupted after the use of 525 nm cut off filter, which mimic action of filters commercially available in intraocular lenses.

In the final part of the study I focused on the IGL and the vLGN. In the IGL, both under photopic and scotopic conditions I recorded a characteristic, highly rhythmic pattern, known as infra-slow (<0.01 Hz) oscillatory activity (ISO). I have shown that in contrast to the previous work

conducted in albino rat strains, pigmented rats' ISO is not diminished under scotopic conditions. In addition, I described basic neuronal responses of the IGL and the vLGN to full light spectrum, and investigated encoding properties of those structures.

In summary, my results presented in this thesis provide a detailed analysis of spontaneous and light-induced activity of the thalamic lateral geniculate nucleus in vivo. I have shown that cyclic changes in the general brain state strongly modulate spontaneous activity and light encoding properties of the dLGN neurons, and highlight the role of anaesthesia in interpretations of findings from ongoing acute experiments. I have also documented the presence of spectrally opponent cells within the pigmented rat dLGN, which are putatively driven by combined, opposite polarity input arising from S-cones and other photoreceptors. Furthermore, I presented data that enrich our understanding of how light encoding property of the dLGN is affected by the use of spectral filter, due to the use of similar filters in cataract surgery. Finally, this is the first study documenting light intensity-coding phenomenon in the IGL/vLGN, which may putatively be involved in synchronization of neuronal activity between various subcortical visual system structures.

  
Kierownik Zakładu  
Neurofizjologii i Chronobiologii  
Instytutu Zdzisława i Badań Biomedycznych

Prof. dr hab. Marian H. Lewandowski