

STRESZCZENIE

Aby pomyślnie wchodzić w interakcję ze światem zewnętrznym zwierzęta potrzebują w sposób ciągły monitorować środowisko i podejmować odpowiednie, nakierowane na nie działania. Wiadomo, że neurony dopaminergiczne zlokalizowane w części zbitnej istoty czarnej (*substantia nigra pars compacta*, SNc) oraz brzusznyemu polu nakrywki (*ventral tegmental area*, VTA) kontrolują nakierowane na cel uczenie, zachowania orientacyjne i ruch w stronę istotnych bodźców zewnętrznych. Te funkcje są realizowane głównie przez silne unerwienie dopaminergiczne docierające do prążkowie (*striatum*). W celu optymalizacji wyboru procedur motorycznych przez organizm neurony dopaminergiczne wykonują obliczenia bazując na informacjach pochodzących z wielu źródeł. Informacja o bodźcach ze środowiska zewnętrznego dostarczana jest do neuronów dopaminergicznych śródmózgowia głównie przez wzgórze górne (*superior colliculi*, SC) – rejon mózgu przetwarzający informacje sensoryczne z przeciwległej strony ciała, podczas gdy informacje o innym charakterze dostarczane są przez rozległe wejścia z niemal całego mózgu. Kierunek ruchu zwierząt, w dużej mierze, zależy od asymetrii wyrzutu dopaminy pomiędzy lewym i prawym prążkowie. Z tych powodów, lateralizacja unerwienia zstępującego z SC do brzusznego śródmózgowia nabiera znaczenia, jako że jednostronna aktywacja systemu dopaminergicznego promuje ruch zwierząt w przeciwległą stronę. Co więcej, jednostronne zahamowanie układu dopaminergicznego promuje ruch w tym samym kierunku. Dlatego też, lateralizacja zstępującego unerwienia z SC do silnego źródła unerwienia hamującego układ dopaminergiczny może również być istotna. Przednio-przyśrodkowe jądro nakrywki (*rostromedial tegmental nucleus*, RMTg) jest uważane za takie właśnie źródło.

Celem tej pracy było opisanie, zarówno w sposób anatomiczny jak i elektrofizjologiczny, unerwienia pochodzącego z SC, które dociera do różnych struktur brzusznego śródmózgowia, mianowicie SNc, VTA i RMTg, uwzględniając jego lateralizację. W tym celu, wykorzystałem różne metody znakowania szlaków neuronalnych, jak i zewnątrzkomórkowe rejestracje aktywności elektrycznej pojedynczych i wielu komórek jednocześnie (w preparacie *in vivo* oraz *ex vivo*) w połączeniu z metodami optogenetycznymi.

Używając transsynaptycznych metod znakowania szlaków neuronalnych pokazałem, że SC unerwia przede wszystkim neurony tożsamostronnego SNc i VTA, z naciskiem na SNc. Jednocześnie, używając wstecznego, postępowego

i transsynaptycznego znakowania szlaków neuronalnych pokazałem, że SC unerwia RMTg w przeciwległej półkuli mózgu. Co więcej, zademonstrowałem, że neurony RMTg unerwiane przez przeciwległe SC wysyłają gęste unerwienie do rejonów brzuszno-śródmózgowia zawierających neurony dopaminergiczne.

Aby zbadać fizjologię bezpośredniego i pośredniego połączenia z SC do VTA/SNc oraz RMTg, przeprowadziłem rejestracje elektrofizjologiczne pojedynczych neuronów jak i wielu neuronów z użyciem macierzy wieloelektrodowych (w tym sond krzemowych) *in vivo*, oraz *ex vivo*; wszystko to w połączeniu z optogenetyką. Wyniki uzyskane na drodze rejestracji elektrofizjologicznych *in vivo* z wykorzystaniem sond krzemowych pokazały, że jednostronna optogenetyczna stymulacja SC pobudza przede wszystkim neurony RMTg zlokalizowane przeciwstronnie. Rejestracje aktywności pojedynczych komórek SNc i VTA *in vivo* pokazały tylko niewielką tendencję w stronę przewagi odpowiedzi pobudzających po stymulacji tożsamostronnego, w porównaniu do przeciwstronnego, SC. Rejestracje wielokanałowe *ex vivo* pokazały, że bezpośrednia optogenetyczna aktywacja zakończeń aksonalnych pochodzących z tożsamostronnego SC, w przeciwieństwie do tych pochodzących z przeciwstronnego SC, była w stanie aktywować neurony w brzuszno-śródmózgowiu. W dodatku, pokazałem, że aktywacja neuronów RMTg monosynaptycznie unerwianych przez przeciwstronny SC wyraźnie hamuje neurony dopaminergiczne śródmózgowia. Podobnie, aktywacja zakończeń aksonalnych pochodzących z przeciwstronnego SC w obrębie RMTg była w stanie zahamować aktywność elektryczną części komórek dopaminergicznych.

Podsumowując, powyższe rezultaty sugerują, że SC, przetwarzające informacje sensoryczne z przeciwległej strony ciała, mogą bezpośrednio zwiększać aktywność tożsamostronnego układu dopaminergicznego, jednocześnie, za pośrednictwem RMTg, hamując przeciwstronny układ dopaminergiczny. W ten sposób, badany obwód może przyczyniać się do powstawania asymetrii w ilości dopaminy wydzielanej do lewego i prawego prądkowia. Jak już wspomniano, kierunek ruchu zwierząt jest, w dużej mierze, manifestacją międzypółkulowych różnic w stężeniu prądkowiowej dopaminy. Jako że SC otrzymuje informacje sensoryczne tylko z przeciwległej strony ciała, pozwala to przypuszczać, że opisany obwód mózgu przyczynia się do zachowań orientacyjnych i zbliżania w zależności od kierunku przychodzących bodźców sensorycznych.

Promotor
1.2
TOMASZ BEASIAK
Kamil Proszel

ABSTRACT

In order to successfully interact with the external world, animals need to constantly assess the environment and choose proper actions directed toward it. Dopaminergic (DA) neurons of the midbrain located within the substantia nigra pars compacta (SNc) and the ventral tegmental area (VTA) are well known to control animals' goal-directed learning and related orienting and approach toward relevant external stimuli. These functions are executed predominantly by the robust dopaminergic innervation reaching the striatum. To optimise the choice of motor actions by the organism the dopaminergic neurons perform calculations based on the information from a variety of sources. The information about the environmental stimuli is provided to the midbrain dopaminergic neurons predominantly by the superior colliculus (SC), a brain region processing sensory information from the contralateral side of the body, while other information is delivered by the extensive input projections from all over the brain. The direction of animals' movement depends, to a great extent, on the asymmetry of dopamine release between the left and right striatum. For these reasons, the lateralisation of the innervation descending from the SC to the ventral midbrain gains importance, as unilateral activation of the dopaminergic system might bias the animals' movement towards one side. Moreover, unilateral inhibition of the dopaminergic system might have a similar, yet opposite effect on the lateralization of movement. Therefore, the lateralization of the descending innervation from the SC to a potent source of inhibitory innervation reaching the dopaminergic system might also be important in this regard. The rostromedial tegmental nucleus (RMTg) is considered to be such strong input.

The aim of this work was to describe, both anatomically and electrophysiologically, the SC-originating projections reaching different targets in the ventral midbrain, namely the SNc, the VTA and the RMTg, taking the laterality into account. In order to do that I used various neuronal tract-tracing methods as well as single- and multiunit electrophysiological recordings (*in vivo* and *ex vivo*) combined with optogenetic methods.

By using transsynaptic tract-tracing methods I demonstrated that SC innervates predominantly neurons of the ipsilateral SNc and VTA, with emphasis on the SNc. Simultaneously, using retrograde, anterograde and transsynaptic tract-tracing methods I showed that SC innervates RMTg located in the contralateral hemisphere. Moreover, I showed that RMTg neurons innervated by the contralateral SC send dense projection to the ventral midbrain regions containing dopaminergic neurons.

To study the physiology of direct and indirect innervation from SC to VTA/SNc and RMTg, I performed single unit and multielectrode array (including silicon probes) electrophysiological recordings *in vivo* and *ex vivo*, all combined with optogenetics. Obtained results of *in vivo* multiunit electrophysiological recordings using silicon probes revealed that unilateral optogenetic SC activation excited primarily RMTg neurons located contralaterally. Single unit *in vivo* recordings in the SNc and VTA showed only a slight tendency toward the prevalence of excitations upon ipsilateral, as compared to contralateral, SC stimulation. Multiunit *ex vivo* recordings revealed that direct optogenetic activation of axon terminals descending from the ipsilateral SC, rather than contralateral SC, was able to activate neurons within the ventral midbrain. Finally, I showed that activating RMTg neurons monosynaptically innervated by the contralateral SC strongly inhibits midbrain dopaminergic neurons. Similarly, the activation of contralateral SC-originating axon terminals within the RMTg was able to inhibit the electrical activity of a portion of dopaminergic cells.

Together, these results suggest that SC processing sensory information from the contralateral side of the body might directly increase the activity of the ipsilateral DA system, while simultaneously via RMTg inhibiting the contralateral DA system. In this way, the studied brain circuit might contribute to the asymmetry in DA released in the left and right striatum. As already mentioned, the direction of animals' movement is, to a great extent, a manifestation of the hemispherical differences in striatal dopamine levels. According to the fact that SC receives sensory information only from the contralateral side of the body, this leads to a belief that the described brain circuit contributes to orienting and approach behaviours based on the direction of incoming sensory stimuli.

Promotor
1.
TOMASZ BEASIAK

Kamil Prasad