

VILNIAUS UNIVERSITETAS

AGNĖ VAIČELIŪNAITĖ

Elgsenos ir stimulo parametrų poveikis informacijos apdorojimui
pelės ankstyvojoje regos sistemoje

Daktaro disertacijos santrauka
Biomedicinos mokslai, biofizika (02 B)

Vilnius, 2015

Disertacija rengta 2009 – 2015 metais Vilniaus universitete, Lietuvoje ir Tuebingeno universitete, Vokietijoje.

Mokslinis vadovas: – prof. dr. Osvaldas Rukšėnas (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, biofizika – 02B).

Konsultantas – dr. Laura Busse (Tuebingeno universitetas, Werner Reichardt integruotų neuromokslų centras, biomedicinos mokslai, biologija – 01B).

Disertacija ginama Vilniaus universiteto Biofizikos mokslo krypties taryboje:

Pirmininkas - prof. dr. Aleksandr Bulatov (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, biomedicinos mokslai, biofizika – 02B)

Nariai:

Prof. habil. dr. Algis Povilas Bertulis-Čerkelis (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, biomedicinos mokslai, biofizika – 02B)

Doc. dr. Gytis Svirskis (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas biomedicinos mokslai, biofizika – 02B)

Dr. Kastytis Dapšys (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, biofizika – 02B)

Doc. dr. Inga Griškova-Bulanova (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, biofizika – 02B)

Oponentai:

Dr. Nelson Totah (Max Planck biologinės kibernetikos institutas, Tuebingenas, Vokietija, biomedicinos mokslai, biologija – 01B)

Dr. Gytis Barnauskas (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, biomedicinos mokslai, biofizika – 02B)

Disertacija bus ginama viešame Biofizikos mokslo krypties tarybos posėdyje 2015 m. kovo mėn. 31 d. 15 val. Gamtos mokslų fakulteto biofizikos auditorijoje.

Adresas: Čiurlionio 21/27, Vilnius, Lietuva.

Disertacijos santrauka išsiuntinėta 2015 m. vasario mėn. 28 d.

Disertaciją galima peržiūrėti Vilniaus universiteto bibliotekoje.

Autorinės teisės:

Šiame disertacijos darbe panaudotos mūsų publikuotų straipsnių dalys ir paveikslukai:

- **Vaiciūnaitė A**, Eriskien S, Franzen F, Katzner S, Busse L. Spatial integration in mouse primary visual cortex. *J Neurophysiol*. 2013 Aug;110(4):964-72.
- Eriskien S, **Vaiciūnaitė A**, Jurjut O, Fiorini M, Katzner S and Busse L. Effects of locomotion extend throughout the mouse early visual system. *Current Biology*. 2014 Dec;15;24(24):2899-907.

Journal of Neurophysiology ir *Current Biology* suteikia teises naudoti dalis ar visą tekstą disertacijos darbuose.

J. Neurophysiol.: “Disertacijos. APS leidžia panaudoti visą publikuotą straipsnį disertacijoje be papildomų mokesčių. Citavimas privalomas.”

About | Testimonial | Jobs | Store | FASEB Directory

Awards | Careers | Education | Meetings | Membership | Publications

» **Copyright**

home / publications / information for authors / copyright

Login

In this section

- Cost of Publication
- Authorship Changes
- Manuscript Formatting Requirements
- Manuscript Composition
- Preparing Figures
- Data Repository Standards
- Data Supplements
- Special Instructions for Physiological Reviews
- Special Instructions for Physiology in Medicine
- Peer Review Policy

Copyright

The APS Journals are copyrighted for the protection of authors and the Society. The Mandatory Submission Form serves as the Society's official copyright transfer form.

Rights of Authors of APS Articles

For educational purposes only, authors may make copies of their own articles or republish parts of these articles (e.g., figures, tables), without charge and without requesting permission, provided that full acknowledgement of the source is given in the new work. Authors may not post a PDF of their published article on any website; instead, links may be posted to the article on the APS journal website. Posting of articles or parts of articles is restricted and subject to the conditions below:

- **Theses and dissertations.** APS permits whole published articles to be reproduced without charge in dissertations and posted to thesis repositories. Full citation is required.
- **Open courseware.** Articles, or parts of articles, may be posted to a public access courseware website. Permission must be requested from the APS. A copyright fee will apply during the first 12 months of the article's

Curr Biol.: “Autoriai gali naudoti pilnus savo straipsnius ar jų dalis mokslo, nekomerciniais tikslais:

- <...>
- straipsnio panaudojimas disertacijoje.
- <...>

The screenshot shows the Elsevier website interface. At the top, there is a search bar with the text "Type here to search on Elsevier.com" and a magnifying glass icon. To the right of the search bar are links for "Advanced search" and "Follow us:" with social media icons for Facebook, LinkedIn, Twitter, and YouTube. The main content area is a white box with a dark border, titled "Personal (scholarly) purposes". Below the title, it states: "Authors can use their articles, in full or in part, for a wide range of scholarly, non-commercial purposes as outlined below:". This is followed by a bulleted list of six items: "Share copies of the article and distribute them via email to colleagues for their research use (also known as 'scholarly sharing').", "Share the article for personal use or for the author's own classroom teaching.", "Use the article at a conference, meeting or for teaching purposes.", "Allow the author's employers to use the article for other internal purposes (such as training).", "Include the article in a printed compilation of the author's works, such as collected writings and lecture notes.", and "Inclusion the article in a thesis or dissertation". The final bullet point is "Use the article in full or in part to prepare other derivative works, including expanding the article to book-length form, with each work to include full acknowledgement of the article' original publication." Below the list, a paragraph states: "These rights apply for all Elsevier authors who publish their article as either a subscription article or an open access article. In all cases we require that all Elsevier authors always include a full acknowledgement and, if appropriate, a link to the final published version hosted on Science Direct." At the bottom of the white box, there is a navigation bar with five buttons: "Authors rights", "Government employees", "Rights granted to Elsevier", "Enforcement", and "Copyright & open access". The background of the website is dark grey with a sidebar on the left containing various menu items like "Journal", "Comparative", "At a glance", "Elsevier", "Mission", "Senior management", "Subject information", "Publishing", "Corporate", "Open access", "Universal access", "Policies", "Accessibility", and "Article withdrawal".

Turinys

TURINYS	5
SANTRUMPOS	8
ĮVADAS	9
1 METODAI	13
1.1 I metodų dalis: “Išorinis slopinimas pelės pirminėje regos žievėje: priklausomybė nuo žievės sluoksnio ir anestezijos poveikis”	13
1.1.1 Eksperimentai su anestezuotais gyvūnais	14
1.1.2 Eksperimentai su budriais gyvūnais	14
1.1.3 Eksperimentai su budriais gyvūnais naudojant optogenetiką	16
1.1.4 Fotostimuliacija	16
1.1.5 Histologija	17
1.1.6 Vizualinė stimuliacija	18
1.1.7 Duomenų analizė	20
1.2 II metodų dalis: Judėjimas, kaip dėmesio požymius primenantis reiškinys, pelių ankstyvojoje regos sistemoje	21
1.2.1 Elektrofiziologinių duomenų registracija	21
1.2.2 Vizualinė stimuliacija	23
1.2.3 Duomenų analizė	23
1.2.4 Gyvūno judesiai (lokomocija)	24
1.2.5 Neuroninių vienetų išskyrimas ir veikimo potencialų rūšiavimas	24
1.2.6 Neuroniniai atsakai, kurių trigeris – judesys	26
1.2.7 Neuronų selektyvumas	26
1.2.8 Linijinis modelis	27

1.2.9 ŠKK registruotų duomenų analizė	27
1.2.10 Vyzdžio padėties ir dydžio analizė	28
2 REZULTATAI:	30
2.1 Rezultatai I: “Išorinis slopinimas pelės pirminėje regos žievėje: priklausomybė nuo žievės sluoksnio ir anestezijos”	30
2.1.1 Selektivumo stimulo dydžiui pasiskirstymas žievės sluoksniuose	31
2.1.2 Erdvinės sumacijos skirtumai skirtingose smegenų budrumo būsenose	34
2.1.3 Laikinė erdvinės sumacijos dinamika	39
2.1.4 Parvalbumininių interneuronų įtaka erdvinei sumacijai	41
2.2 Rezultatai II: “Judėjimas, kaip dėmesio požymius primenantis reiškinys, pelių ankstyvoje regos sistemoje”	43
2.2.1 Su judesiu susijusios neuroninių atsakų moduliacijos	43
2.2.2 Judesio sukeltos moduliacijos skirtinguose V1 sluoksniuose	45
2.2.3 Ar judesio sukeltos moduliacijos V1 kyla iš požievio struktūrų?	48
2.2.4 Judėjimas ir vyzdžio dydis	51
3 DISKUSIJA	54
3.1 I diskusijos dalis: “Išorinis slopinimas pelės pirminėje regos žievėje: priklausomybė nuo žievės sluoksnio ir anestezijos”	54
3.2 II diskusijos dalis: Judėjimo, kaip dėmesio požymius primenančio reiškinio poveikis pelių ankstyvajai regos sistemai	59
4 IŠVADOS	66
5 LITERATŪROS SĄRAŠAS	67

6 REZULTATŲ PRISTATYMAS	78
PADĖKA	84
AUTORIAUS INDĖLIS	84

Santrumpos

AAV – adeno asocijuotas viruso vektorius

ChR2 – angl. *channelrhodopsin-2*

CSD – srovės šaltinio tankis (angl. *current source density*)

DAPI – fluorescentinis dažas 4',6-diamidino-2-phenylindole

DiD – fluorescentinis agentas 1,1'-Dioctadecyl-3,3,3',3'-Tetramethylindodicarbocyanine, 4-Chlorobenzenesulfonate Salt

fMRI – funkcinio magnetinio rezonanso smegenų įvaizdinimo metodas

G – granuluotas sluoksnis

GABA – gama amino sviesto rūgštis (angl. *gamma amino butyric acid*)

hmr – pusė maksimalaus atsako (angl. *half-maximum response*)

I – infragranuluotas sluoksnis

i.p. – į pilvaplėvės ertmę (angl. *intraperitoneal*)

LC – mėlynoji dėmė (*locus coeruleus*)

LED – pluoštinis šviesos diodas (angl. *light-emitting diode*)

LFP – vietinio lauko potencialai (angl. *local field potential*)

NFB – natrio fosfato buferis

PFA – paraformaldehido tirpalas

PV+ - parvalbumininiai interneuronai

RL – recepcinis laukas (angl. *receptive field*)

S – supragranuluotas sluoksnis

s.c. – po oda (angl. *subcutaneous*)

s.e.m. – standartinė vidurkio paklaida (angl. *standard error of the mean*)

ŠKK – šoninis kelinis kūnas (angl. *dorsal lateral geniculate nucleus - dLGN*)

SOM+ - somatostatininiai interneuronai

V1 – pirminė regos žievė (angl. *primary visual cortex*)

VP – veikimo potencialai (angl. *spikes*)

YFP – geltonai fluorescensuojantis baltymas (angl. *Yellow Fluorescent Protein*)

SI – slopinimo indeksas

Ivadas

Daugelis neuronų pirminėje regos žievėje (V1) yra selektyvūs stimulo dydžiui demonstruodami išorinį slopinimą regimajam stimului, jei pateikiamas stimulus viršija klasikinių recepcinių lauką (RL) (Allman et al 1985, Blakemore & Tobin 1972, Gilbert & Wiesel 1990, Knierim & van Essen 1992, Nelson & Frost 1978). Labai svarbu suprasti išorinio slopinimo neuroninį mechanizmą, nes tai vienas iš pagrindinių regimojo suvokimo aspektų: regimojo stimulo svarbos skaičiavimai atliekami lokalią informaciją integruojant globaliame kontekste (Sachdev et al 2012).

Tikėtina, kad išorinis slopinimas yra skirtingų neuroninių tinklų ir mechanizmų kombinacija. Erdvinė sumacija (angl. *spatial integration*) iki šiol plačiausiai buvo tyrinėjama aukštesnės eilės žinduoliuose ir pastebėta, kad išorinis slopinimas yra daugiakomponentis reiškinys, susidedantis iš tiesioginio perdavimo (angl. *feedforward*) (pvz., (Alitto & Usrey 2008, Solomon 2002, Webb et al 2005)), grįžtamojo ryšio (angl. *feedback*) (pvz., (Angelucci et al 2002, Bair et al 2003)) ir horizontalių tarpžievinių grandinių (pvz., (Angelucci et al 2002, Gilbert et al 1996, Reynaud et al 2012, Somers et al 1998)). Iki šiol nėra žinoma kokia yra šių, skirtingų ryšių, įtaka erdvinei sumacijai bei kokių tipų ląstelės dalyvauja.

Panaudojus naujausius genetinius metodus pelių modelyje, neseniai buvo charakterizuoti erdvinės sumacijos neuroniniai tinklai V1 2/3 sluoksnyje, kurie turėjo somatostatiną ekspresuojančių (SOM+) slopinančių interneuronų (Adesnik et al 2012). Šio tipo interneuronai patys turi ganėtinai silpną išorinį slopinimą, tačiau, pateikus didelių dydžių regimuosius stimulus, gali slopinti arti esančias piramidines ląsteles. Taip pat pastebėta, kad optogenetinė SOM+ interneuronų hiperpolarizacija susilpnina išorinį slopinimą (Adesnik et al 2012, Nienborg et al 2013).

Kitų interneuronų įtaka išoriniam slopinimui nėra žinoma. Parvalbuminą ekspresuojantys (PV+) interneuronai yra pagrindinė GABAerginių (angl. *gamma-aminobutyric acid*) interneuronų klasė pelių V1 (Gonchar et al 2007). Palyginus PV+

interneuronus su bendra V1 neuronų populiacija, PV+ ląstelių RL yra didesni, o išorinis slopinimas silpnesnis (Adesnik et al 2012). Be to, manoma, kad PV+ interneuronai dalyvauja stiprinimo kontrolėje (angl. *gain control*) ir atsako normalizavime (Atallah et al 2012), kurie, kaip tikima, yra pagrindiniai elementai norint išmatuoti išorinį slopinimą (apžvelgta (Carandini & Heeger 2012)). Dėl to, greičiausiai, PV+ interneuronai įtakoja išorinį slopinimą, tačiau tiksli įtaka nėra žinoma.

Išorinis slopinimas labiausiai ištyrinėtas 2/3 V1 sluoksnyje. Mažai yra žinoma apie išorinio RL slopinimo pasiskirstymą skirtinguose pelės žievės sluoksniuose. Vienintelio tyrimo (Van den Bergh et al 2010) apie sluoksnių išorinio slopinimo pasiskirstymą autoriai nepastebėjo jokios RL savybių priklausomybės nuo sluoksnio, kuri būdinga tokiems žinduoliams, kaip katės ar primatai. Pastarasis tyrimas buvo atliktas naudojant anestezuotus gyvūnus ir tai galėjo turėti įtakos slopinantiems pelės V1 neuroniniams tinklams (Adesnik et al 2012, Haider et al 2013).

Neuroniniai atsakai priklauso ne tik nuo sensorinio įėjimo, bet ir yra stipriai moduluojami gyvūno elgsenos. Primatų elgsena gali būti lengvai kontroliuojama panaudojant įvairias eksperimentų paradigmas, pavyzdžiui manipuluojančias selektyvų dėmesį (Noudoost 2010). Iki šiol tokios paradigmos tyrimuose su graužikais nėra išvystytos, tad elgsena dažnai yra skirstoma tik į dvi būsenas: aktyvią ir pasyvią. Aktyvi būsena yra siejama su desinchronizuotu aktyvumu, o pasyvi – su sinchronizuotomis fluktuacijomis (Harris & Thiele 2011). Yra manoma, kad aktyvi graužikų būsena turi panašumų ir gali būti lyginama su primatų dėmesiu (Harris & Thiele 2011, Maimon 2011).

Naujausi tyrimai, tyrinėjantys pelių V1 sensorinio apdorojimo pokyčius priklausančius nuo budrumo būsenos, charakterizavo kaip gyvūno judesiai moduluoja pavienio neurono aktyvumą. Judėjimo metu, V1 2/3 ir 4 sluoksnių neuronų membranos yra labiau depoliarizuotos (Andermann et al 2013, Bennett et al 2013, Keller et al 2012, Niell & Stryker 2010, Polack et al 2013) ir sustiprėja selektyvumas (angl. *tuning gain*) (Niell & Stryker 2010, Polack et al 2013). Šie pokyčiai gyvūno judėjimo metu gali būti moduluojami noradrenerginės sistemos (Polack et al 2013). Be to, judesio metu

pavieniai neuronai atsako į regimąjį stimulą patikimiau, nes atskirų stimuliavimų metu membranos potencialo ir neuronų atsakų variabilumas yra sumažinti (Bennett et al 2013, Polack et al 2013).

Nors minėtieji moksliniai darbai nekelia abejonių, kad pavienių neuronų aktyvumas yra moduluojamas judesio, vis tik nėra žinoma kaip gyvūno judesiai veikia su rega susijusius požievinius centrus ir neuronų populiacijas skirtinguose V1 sluoksniuose. Išskyrus vieną tyrimą, atliktą dviejų-fotonų vaizdinimo metodu (Andermann et al 2013), su judesiu susijusių atsakų sluoksninis pasiskirstymas V1 iki šiol nebuvo tirtas. Vyrauja nuomonė, kad su judesiu susijusios sensorinių neuronų stiprinimo moduliacijos būdingos tik smegenų žievei. Ši nuomonė remiasi pirmuoju straipsniu šia tema, kurį publikavo Niell ir Stryker (Niell & Stryker 2010) ir teigė neradę su judesiu susijusių atsakų pokyčių šoniniame keliniam kūne (ŠKK). Tačiau, naujausioje studijoje (Polack et al 2013), autoriai tyrė su judesiu susijusių membranos potencialo depoliarizaciją 4-ame, iš gumburo informaciją priimančiame, regimosios žievės sluoksnyje, ir bent iš dalies tirtas savybes galėjo priskirti ŠKK poveikiui.

Tikslas

Ištirti kaip stimulo parametrai ir gyvūno elgsena veikia informacijos apdorojimą pelės gumbure ir pirminėje regos žievėje.

Darbo uždaviniai

- Ištirti pelės V1 erdvinės sumacijos sluoksninį profilį;
- Išnagrinėti laikinę išorinio slopinimo dinamiką;
- Nustatyti parvalbumininių interneuronų įtaką išoriniam slopinimui;
- Įvertinti anestezijos poveikį erdvinei sumacijai;
- Ištirti gyvūno judėjimo poveikį ŠKK lygyje;
- Patikrinti ar gyvūno judėjimas susijęs su vyzdžio išsiplėtimu;

Darbo naujumas

Abi šio darbo dalys pateikia naujų žinių regos neuromoksluose. Mes radome, kad panašiai, kaip tyrimuose, atliktuose su aukštesnės eilės žinduoliais, budriose pelėse išorinis slopinimas stipriausias yra paviršiniuose sluoksniuose ir išsivysto laikui bėgant. Mes parodėme, kad du, plačiausiai regos sistemos eksperimentuose su anestezuotais graužikais naudojami anestetikai, iš esmės keičia gaunamus rezultatus: anestezija ne tik susilpnina išorinį slopinimą, bet taip pat panaikina sluoksninį specifiškumą ir sulėtina laikinę slopinimo dinamiką. Mes taip pat atradome, kad PV+ interneuronai veikia erdvinę sumaciją moduliudami stimulo gebėjimą sužadinti. Be to, mes parodėme, kad pelės judėjimas moduliuoja pavienių V1 neuronų stiprinimą su tam tikru sluoksniniu pasiskirstymu, bei sumažina neuronų populiacijos atsakų tarpneuronines koreliacijas. Priešingai tam, kas šiuo metu yra manoma, mes atradome, kad judėjimas moduliuoja atsakus net ŠKK lygyje. Galiausiai, mes pirmieji parodėme, kad pelių judėjimas sukelia vyzdžio išsiplėtimą. Kartu šie rezultatai rodo, kad regos sistemoje smegenų budrumo lygis formuoja neuronų aktyvumą ankstesnėse informacijos apdorojimo stadijose, nei manyta.

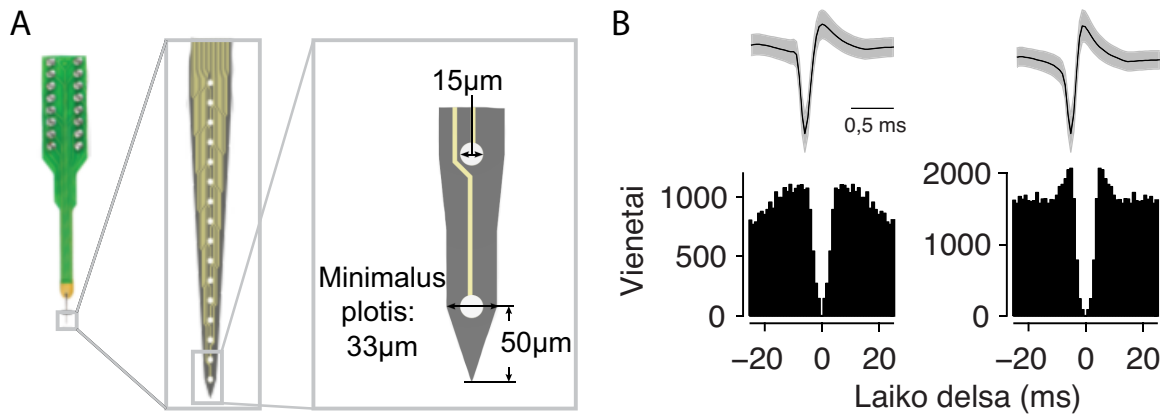
Ginamieji teiginiai

- Pirminei regos žievei yra būdingas sluoksninis selektyvumo stimulo dydžiui pasiskirstymas;
- Pelių V1 erdvinei sumacijai būdinga laikinė dinamika;
- PV+ interneuronai gali formuoti išorinį slopinimą sumažindami regimojo stimulo aktyvinantį poveikį;
- Anestezija moduliuoja erdvinę sumaciją;
- Judėjimas padidina atsako dažnį jau gumburo lygmenyje;
- Judėjimo poveikis gali būti stebimas jau akies lygmenyje.

1 Metodai

1.1 I metodų dalis: “Išorinis slopinimas pelės pirminėje regos žievėje: priklausomybė nuo žievės sluoksnio ir anestezijos poveikis”

Eksperimentai buvo atlikti su suaugusiomis pelėmis. Procedūros buvo atliekamos Tübingeno universiteto, Werner Reichardt Integruotų neuromokslų centre, Vokietijoje, vadovaujantis Neuromoklų draugijos standartais, Vokietijos gyvūnų apsaugos įstatymais ir patvirtintos vietos valdžios institucijų. Licencijos: CIN1/10, CIN3/11, CIN1/13 ir CIN4/12. Duomenys buvo registruojami atlikus kraniotomiją (<1mm²) 3mm lateraliai nuo kaukolės vidurio linijos ir 1,1mm į priekį nuo skersinio sinuso (angl. *transverse sinus*) (Wang et al 2011). Užląsteliniam neuronų registravimui V1 buvo naudojami 16 kanalų silicio elektrodai (Neuronexus, modelis A1x16-3mm50-177, atstumas tarp kanalų - 50 μm) (Pav. 1). RL pozicijos, neurono geriausiai skiriamos orientacijos ir selektyvumo kontrastui matavimai buvo atliekami realiu laiku naudojant aukštu dažniu filtruotus signalus, kurie viršijo fiksuotą slenkstį (dažniausiai buvo naudojamas 4,5-6,5 SD). Poeksperimentinei analizei naudojant NDManager programinės įrangos paketą (Hazan et al 2006) buvo išskiriami veikimo potencialai (VP) kiekvienam elektrodo kanalui atskirai iš nefiltruotų duomenų, kurie buvo registruojami 30 kHz dažniu. Šiuo atveju VP detekcijai buvo panaudotas automatiškai nustatytas slenkstis (Quiroga et al 2004) ir padauginama iš dviejų, kad išvengtų klaidingo slenkščio, kurį galėtų peržengti triukšminio lygio signalas. Ši procedūra užtikrino aukštos kokybės daugybinio neuronų (angl. *multi-unit*) aktyvumo tyrimą (Pav. 1B). Atliekant pirmąją darbo dalį, nebuvo optimalios strategijos didelio tankio daugiakanalių elektrodų VP rūšiavimui (Einevoll et al 2012), mes neatlikome sisteminio VP rūšiavimo. Tad šio baigiamojo darbo dalyse, kur minima erdvinė sumacija pirminėje regos žievėje ir anestezijos įtaka, mes naudojame terminą “neuroniniai vienetai” (angl. *units*) turėdami omenyje daugelio neuronų aktyvumą viename elektrodo kontakte.



Pav. 1. A: 16-kanalų linijinis silicio elektrodas (Adaptuota iš NeuroNexus katalogo). B: Veikimo potencialų autokorelogramų pavyzdžiai.

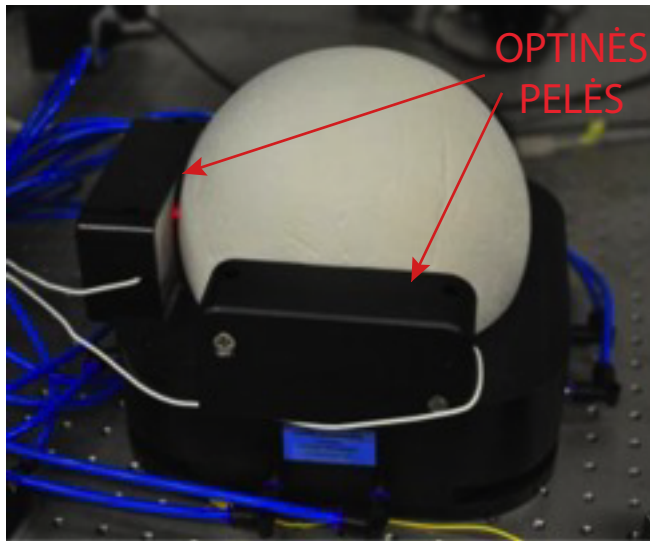
1.1.1 Eksperimentai su anestezuotais gyvūnais

Šešios C57BL/6J pelės buvo anestezuotos naudojant 3% izofluraną (*Isoflurane*) anestezijos indukcijai. Anestezijos palaikymui operacijos metu buvo naudojamas uretanas (*Urethane*, 750 mg/kg, i.p.) ir izofluranas (1-2%). Analgezijai buvo naudotas buprenorfinas (*Buprenorphine*, 0.1 mg/kg, s.c.), o bronchų sekrecijai sumažinti - atropinas (*Atropine*, 0.3 mg/kg, s.c.). Gyvūno temperatūra buvo palaikoma 37°C naudojant grįžtamojo ryšio kontrolės šildomąją sistemą (WPI, ATC-1000 DC Temperature Controller). Prie kaukolės dantų cementu (*Tetrik EvoFlow*, Ivoclar Vivadent) buvo pritvirtintas pagal užsakymą pagamintas metalinis galvos laikiklis. Kontrolinis vielinis elektrodas buvo įkištas į smegenėles, o vielinis elektrodas skirtas įžeminimui – į kaukolės raumenis. Duomenų registracijos metu, izoflurano anestezijos lygis buvo sumažinamas iki ~0,5%.

1.1.2 Eksperimentai su budriais gyvūnais

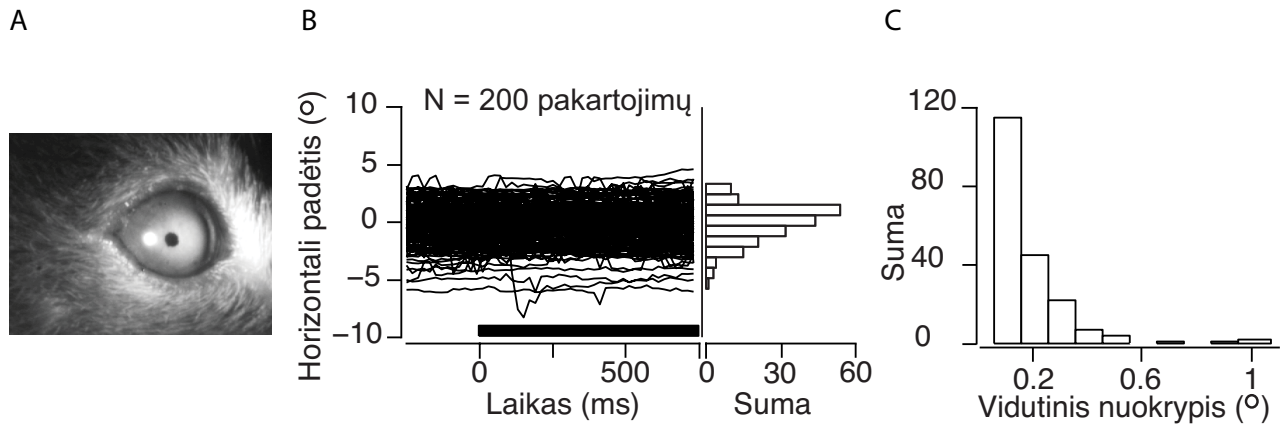
Naudojant izoflurano anesteziją (3% indukcijai ir 1-2% palaikymui), šešioms C57BL/6J pelėms buvo pritvirtinti galvos laikikliai ir į kaukolę virš smegenėlių įgrežti miniatiūriniai varžtukai skirti kontrolei ir įžeminimui. Operacijos metu po oda buvo suleisti atropinas (0.3 mg/kg, s.c.), antibiotikai (*Baytril*, 5 mg/kg, s.c.) bei analgetikai (*Buprenorphine*, 0.1 mg/kg, s.c.). Tris dienas po operacijos gyvūnui buvo švirksčiami

tos pačios rūšies antibiotikai ir ilgesnio veikimo analgetikai (*Carprofen*, 5 mg/kg, s.c.). Tada pelės buvo treniruojamos įtvirtinant galvos laikiklius ir leidžiant pelei bėgti ant oro srovės pakelto ir laisvai judančio polistirolu kamuolio (Pav. 2) (Dombeck et al 2007). Gyvūnui pripratus prie kamuolio, atlikome kraniotomiją virš V1 ir po kiekvienos duomenų registracijos sesijos, kuri truko 3-4 valandas, “uždarėme” kraniotomiją Kwik-Cast (WPI) silikonu. Tam, kad būtų išvengta bet kokia anestezijos įtaka, duomenų registracija buvo atliekama sekančią dieną po kraniotomijos. Kamuolio judesius registruojome 90Hz dažniu naudojant dvi kompiuterio optines peles, kurios buvo sujungtos su mikrokontroleriu (Arduino Duemilanove).



Pav. 2. Ant oro srovės pakeltas polistirolu kamuolys. Dvi optinės pelės kamuolio judesių aptikimui.

Akių judesiai buvo stebimi naudojant infraraudonųjų spindulių apšvietimą ir video kamerą (Guppy AVT, kadrų dažnis – 50 Hz) su artinimo objektyvu (Navitar Zoom 6000). Registruotų akių judesių amplitudė buvo pakankamai maža (vieno pakartojimo metu – 1-2 laipsniai) (Pav. 3). Be to, pašalinus iš analizės stimulo pateikimo pakartojimus kurių metu buvo akių judesiai – pelės V1 selektyvumo kreivė stimulo dydžiui nepasikeitė (Adesnik et al 2012). Eksperimentų metu, patalpoje buvo tamsu, ir vienintelis šviesos šaltinis buvo kompiuterio monitorius, kuriame buvo pateikiami stimulai.



Pav. 3. Akių judesių analizė. A: Pelės akies judesių registracijos vaizdas eksperimentų metu. B: Dešinėje: horizontali akies padėtis laipsniais (200 pakartojimų), horizontali juoda juostelė žymi stimulo pateikimą; kairėje: akies padėties išsibarstymas tarp pakartojimų. C: Akies padėties vidutinis nuokrypis atskirų pakartojimų metu.

1.1.3 Eksperimentai su budriais gyvūnais naudojant optogenetiką

Septynioms PV-IRES-cre pelėms (B6;129P2-Pvalb^{tm1(cre)Arbr}/J, The Jackson Laboratory) buvo atliktos galvos laikiklio pritvirtinimo operacijos tuo pačiu būdu, kaip aprašyta aukščiau. Šiuo atveju papildomai operacijos metu per mažo skersmens kraniotomiją virš V1 (3mm lateraliai nuo kaukolės vidurio linijos ir 1,5mm į priekį nuo skersinio sinuso) buvo suleidžiamas adeno-asocijuotas virusas AAV2/1.EF1a.DIO.hChR2(H134R)-EYFP.WPRE.hGH arba AAV2/9.EF1a.DIO.hChR2(H134R)-EYFP.WPRE.hGH (UPenn Vector Core). Virusas buvo suleidžiamas naudojant stiklinę pipetę, įtvirtintą į Picospritzer III (Parker) prietaisą. Pipetė buvo nuleidžiama į ~750 μm gylį ir iš viso buvo suleidžiama 100-150 nl viruso laipsniškai kas 100 μm traukiant pipetę į viršų. Po operacijos kraniotomija buvo “uždaroma” Kwik-Cast (WPI) silikonu. Užląstelinė neuronų registracija buvo atliekama 3-4 savaites po viruso suleidimo. Šiai registracijai buvo atliekama ~1mm kraniotomija virš V1 kaip aprašyta aukščiau.

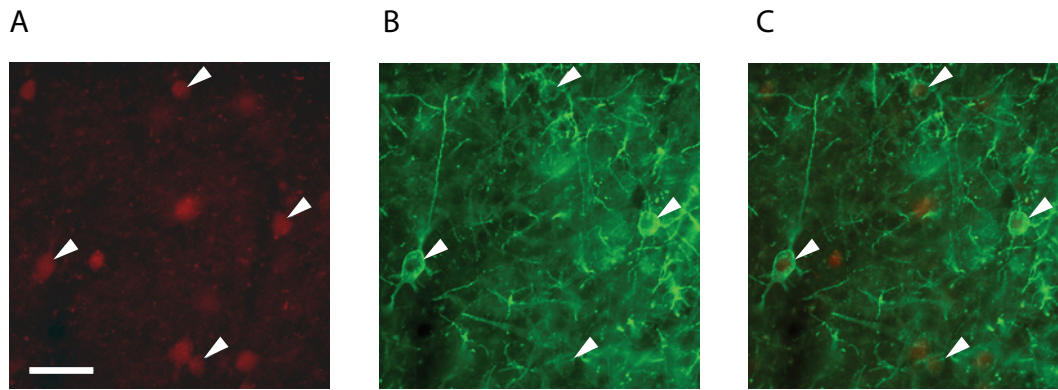
1.1.4 Fotostimuliacija

Fotostimuliacija buvo atliekama naudojant 200 μm skersmens pluoštinį šviesos diodą (angl. *LEDs - light-emitting diode; Doric lenses*), kurio skleidžiamos šviesos bangos ilgis 473nm. Ši mėlyno spektro šviesa buvo generuojama ir jos intensyvumas reguliuojamas

LED įtaisu (LEDD1B, Thorlabs). Šviestukas buvo įtvirtinamas į laikiklį ir priartinamas prie V1 kraniotomijos mažiau nei 1mm atstumu. 250 ms LED šviesos impulsai buvo pateikiami regimojo stimulo pateikimo viduryje, 22 mW/mm² intensyvumu.

1.1.5 Histologija

Histologinei analizei atlikti, pelės buvo anestezuotos pentobarbitaliu (*Narcoren*, 200 mg/kg) ir atlikta perfuzija per širdį naudojant 0,2M natrio fosfato buferį (NFB) (angl. *sodium phosphate buffer - PBS*) po kurio sekė 4% paraformaldehido tirpalas (PFA) skiestas NFB. Toliau smegenys buvo patalpintos 24 valandoms į 4% PFA tirpalą ir tada praplautos 3 kartus NFB. Naudojant vibrotomą (Microm HM 650 V-Thermo Scientific), smegenys buvo supjaustytos 60 µm storio pjūviais, kurie buvo laikomi blokuojančiame skystyje (10% *Roche blocking reagent for Elisa* NFB tirpale su 0.3% *Triton-X 100* detergento) vieną valandą, kambario temperatūroje. Tada 24 valandas pjūviai laikomi anti-PV pirminių antikūnų tirpale (Sigma; 1:2000 blokuojančiame skystyje ištirpinto su NFB ir 0.3% *Triton-X 100* detergento), 4°C temperatūroje. Po to vėl praplauti 3 x 10 min. NFB tirpalu ir palikti inkubuotis antrinių antikūnų tirpale Alexa 647 (Invitrogen, 1:1000 blokuojančiame skystyje ištirpinto su NFB ir 0.3% *Triton-X 100* detergento). Pjūviai, praplauti 3 x 10min. NFB tirpalu, buvo pritvirtinti prie objektinio stiklelio ir užlašinus Vectashield (Vector Laboratories) uždengiami dengiamuoju stikleliu. Preparatai buvo stebimi fluorescenciniu mikroskopu (Zeiss Imager.Z1m fluorescent microscope) ir ieškoma V1 ląstelių, kuriose būtų matomas geltonai fluorescensuojantis baltymas (Yellow Fluorescent Protein (YFP)) ir Alexa-647 (Pav. 4).



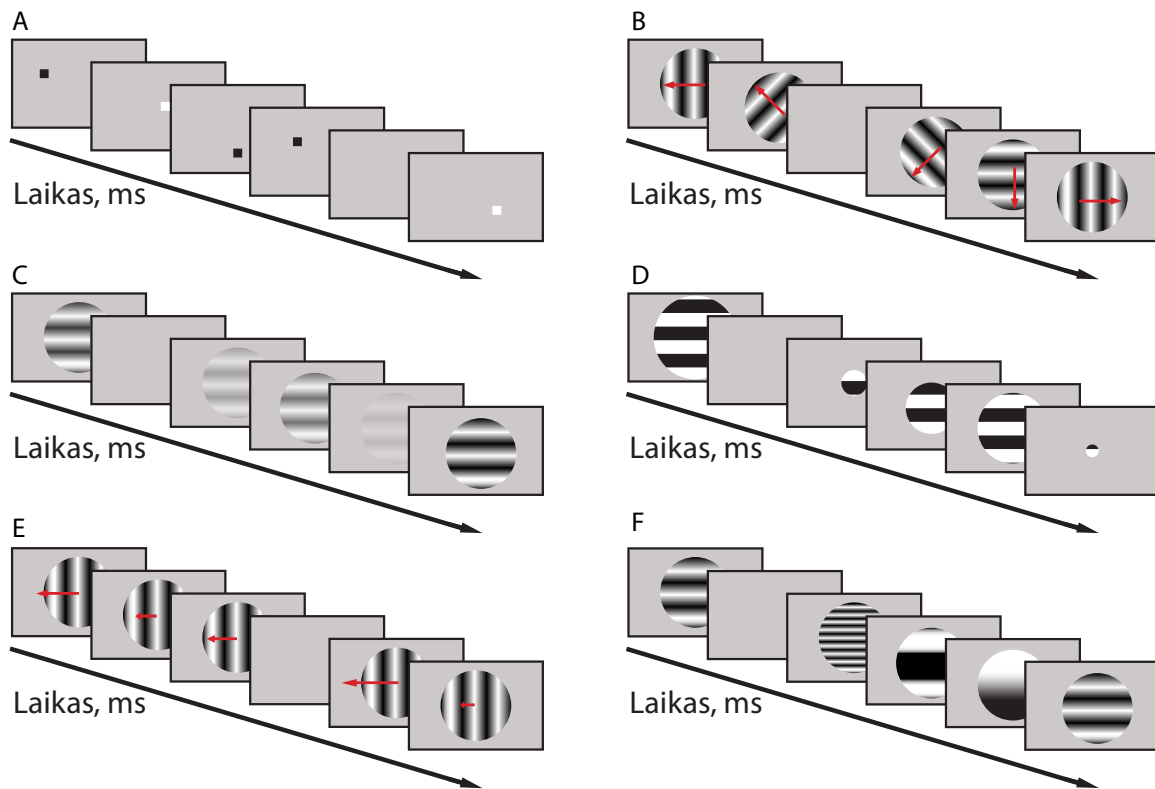
Pav. 4. PV+ interneuronų ChR2-eYFP transfekcija. A: PV ląstelių imunodažymas. B: ChR2-EYFP ekspresija. C: persidengimas. Rodyklės nurodo ląsteles, kuriose persidengia imunodažymas ir ChR2-EYFP ekspresija. Mastelio juosta, 50 μ m.

Iš analizės mes pašalinome vieno gyvūno duomenis, nes optogenetinės fotostimuliacijos metu nebuvo pastebėta jokių atsako dažnio pokyčių. Histologinė analizė patvirtino nesėkmingą viruso ekspresiją. Taip pat mes pašalinome duomenis, registruotus iš PV+ interneuronų, kuriuos identifikavome pagal trumpalaikį ir stiprų atsaką į stimuliaciją mėlyna šviesa.

1.1.6 Vizualinė stimuliacija

Regimieji stimulai buvo pateikti Expo programinės įrangos pagalba (EXPO; <https://sites.google.com/a/nyu.edu/expo/home>) sukalibruotame LCD monitoriuje (Samsung 2233RZ, vidutinis ekrano skaistis 50 cd/m²).

Prieš atliekant selektyvumo stimulo dydžiui eksperimentus, atlikome *ON* ir *OFF* receptinių laukų paiešką pateikdami išsibarsčiusio triukšmo (angl. *sparse noise*) stimulą (Liu et al 2009). Stimulą sudaro 4 laipsnių skersmens balti ir juodi kvadratėliai, kurie atsitiktine tvarka pateikiami 40 laipsnių lauke (Pav. 5A). Vieno kvadratėlio rodymo trukmė - 180 ms. Vėlesni stimulai buvo pateikiami į centrą iš suvidurkintų RL skirtinguose kanaluose.



Pav. 5. Stimulų rinkinys naudotas eksperimentų metu. A: išsibarsčiusio triukšmo stimulus. B: stimulus, skirtas tirti orientacijos selektyvumą. C: stimulus, skirtas tirti kontrasto selektyvumą. D: stimulus, skirtas tirti dydžio selektyvumą. E: stimulus, skirtas tirti laikinio dažnio selektyvumą. F: stimulus, skirtas tirti erdvinio dažnio selektyvumą.

Eksperimentų metu buvo atliekama analizė realiame laike, tad stimulo dydžio selektyvumui nustatyti eksperimento metu (Pav. 5D) buvo pasirinkta orientacija, kuriai neuronai buvo selektyvūs prieš tai atliktame - stimulo orientacijos selektyvumo - eksperimente (Pav. 5B). Orientacijos nustatymui buvo naudojamos 8 kryptių, pilno kontrasto, 2 s trukmės gardelės (erdvinis dažnis – 0,02 ciklai/°, laikinis dažnis 1,5 ciklai/s). Šie, erdvinis ir laikinis, dažniai atspindi optimalias vertes, būdingas pelių V1 (Marshall et al 2011). Orientacijos selektyvumui graužikų V1 yra būdinga “druskos – pipirų” (angl. *salt-and-pepper*) organizacija (Ohki et al 2005), tad sunku iš daugybinio neuronų aktyvumo (angl. *multiunit*) nustatyti optimalią orientaciją. Tačiau, mes stengėmės optimizuoti stimulo orientaciją pasirinkdami orientaciją, kurią pateikus buvo stebimas didžiausias neuroninis aktyvumas ir VP formos “švariausios”.

Selektyvumo stimulo dydžiui eksperimentų metu mes pateikėme 750 ms trukmės sinusoidines gardeles su 500 ms tarpstimuliniu intervalu. Gardelės buvo 4 – 67 laipsnių skersmens, vienos orientacijos ir centruotos pagal anksčiau nustatytą RL centrinių koordinatų vidurkį.

Selektyvumui stimulo dydžiui nustatyti optogenetinių eksperimentų metu mes pusėje pakartojimų depoliarizavome PV+ interneuronus viduryje regimojo stimulo pateikimo stimuliuodami 250 ms trukmės mėlynos šviesos pulsais. Regimieji stimulai su šviesos stimuliacija ir be, buvo pateikiami pseudo – atsitiktine tvarka. Optogenetiniai eksperimentai buvo atlikti tik su budriais gyvūnais.

Spontaninio atsako dažniui apskaičiuoti, į kiekvieno regimojo stimulo eksperimentą buvo įtrauktas tuščio ekrano režimas (vidutinis skaistis). Elektrodo kanalų padėties nustatymui V1 sluoksniuose, mes pateikėme visame ekrane, 100% kontrasto “šachmatų lentos” regimąjį stimulą. Vienas langelis – 25 laipsniai, laikinis dažnis – 1,5 ciklai/s.

1.1.7 Duomenų analizė

Selektyvumo regimojo stimulo dydžiui kreivėms aprašyti buvo naudojamas “*Ratio-to-Gaussian*” modelis (Cavanaugh et al 2002):

$$R(x) = K_c L_c(x) / (1 + K_p L_p(x)),$$

$$\text{kur } L_c(x) = (w_c * \text{erf}\left(\frac{x}{w_c}\right))^2 \text{ and } L_p(x) = \left(w_p * \text{erf}\left(\frac{x}{w_p}\right)\right)^2$$

Čia R yra atsakas, L_c centre vykstančio aktyvumo pakelto kvadratu suma, L_p – periferijos mechanizmo aktyvumo pakelto kvadratu suma, x yra stimulo skersmuo, K_c , K_p , w_c , ir w_p yra stiprinimo bei centro/periferijos dydžio parametrai. Modelyje mes visada naudojome $w_c < w_p$. RL centro dydį mes nustatėme pagal didžiausią neuroninį atsaką pateiktoms skirtingo dydžio gardelėms. RL periferijos dydį apibrėžėme kaip skersmenį, ties kuriuo neuronų atsakas pasiekia asimptotę (pvz., stimulo padidėjimas vienu laipsniu nebeperžengia 0,5% atsako dažnio padidėjimo slenksčio). Slopinimo intensyvumą mes nustatėme apskaičiuodami slopinimo indeksą: $SI = (R_{opt} -$

R_{slop}/R_{opt} , kur R_{opt} yra maksimalus atsakas į optimalų stimulą (atsako pikas), o R_{slop} – asimptotinis atsakas. Vadovaujantis Van den Bergh et al. darbu (2010), neuronus, kurių $SI > 0,1$, mes laikėme slopinamais. Mes pašalinome iš analizės tuos registruotus vienetus (angl. *unit*), kurių maksimalus atsako dažnis buvo mažesnis nei 1 VP/s arba jei taikyto modelio patikimumas buvo $< 85\%$.

Mes apskaičiavome srovės šaltinio tankį (angl. *current source density* – CSD) naudodami vietos lauko potencialų (angl. *local field potential* – LFP) antro laipsnio išvestinę (Mitzdorf 1985). Duomenys gauti pateikiant “šachmatų lentos” stimulą. Ten, kur buvo pastebimas pirmasis srovės įlinkimas, mes apibrėžėme kaip ketvirtą (L) V1 sluoksnį (Maier et al 2011) ir kitus registruotus kanalus priskyėme supragranuliuiotam, granuliuiotam ir infragranuliuiotam sluoksniams. Be to, kad visus registruotus elektrodo kanalų duomenis suskirstėme į šias tris kategorijas, taip pat mūsų rezultatus įvertinome kaip reliatyvaus žievės gylio funkciją, kur 0 reprezentuoja ketvirto sluoksnio vidurį (nustatyto CSD analize). Tada mes panaudojome regresijos modelį (angl. *a local robust regression*) gludinto vidurkio (angl. *smoothed average*) apskaičiavimui (MATLAB funkcija *smooth*, metodas *rlowess*).

Erdvinės sumacijos laikinei dinamikai tirti, mes sulygiavome visų neuroninių vienetų normalizuotus neuroninius atsakus pagal stimulo atsiradimą. Atsako latenciją mes apibrėžėme kaip pirmus 20 iš eilės einančius laiko vienetus (1 ms intervalas), kurių aktyvumas viršijo spontaninio aktyvumo linijos (angl. *baseline*) (0 – 200 ms prieš stimulo atsiradimą) standartinę nuokrypį (angl. *standard deviation* – SD) 2,85 karto.

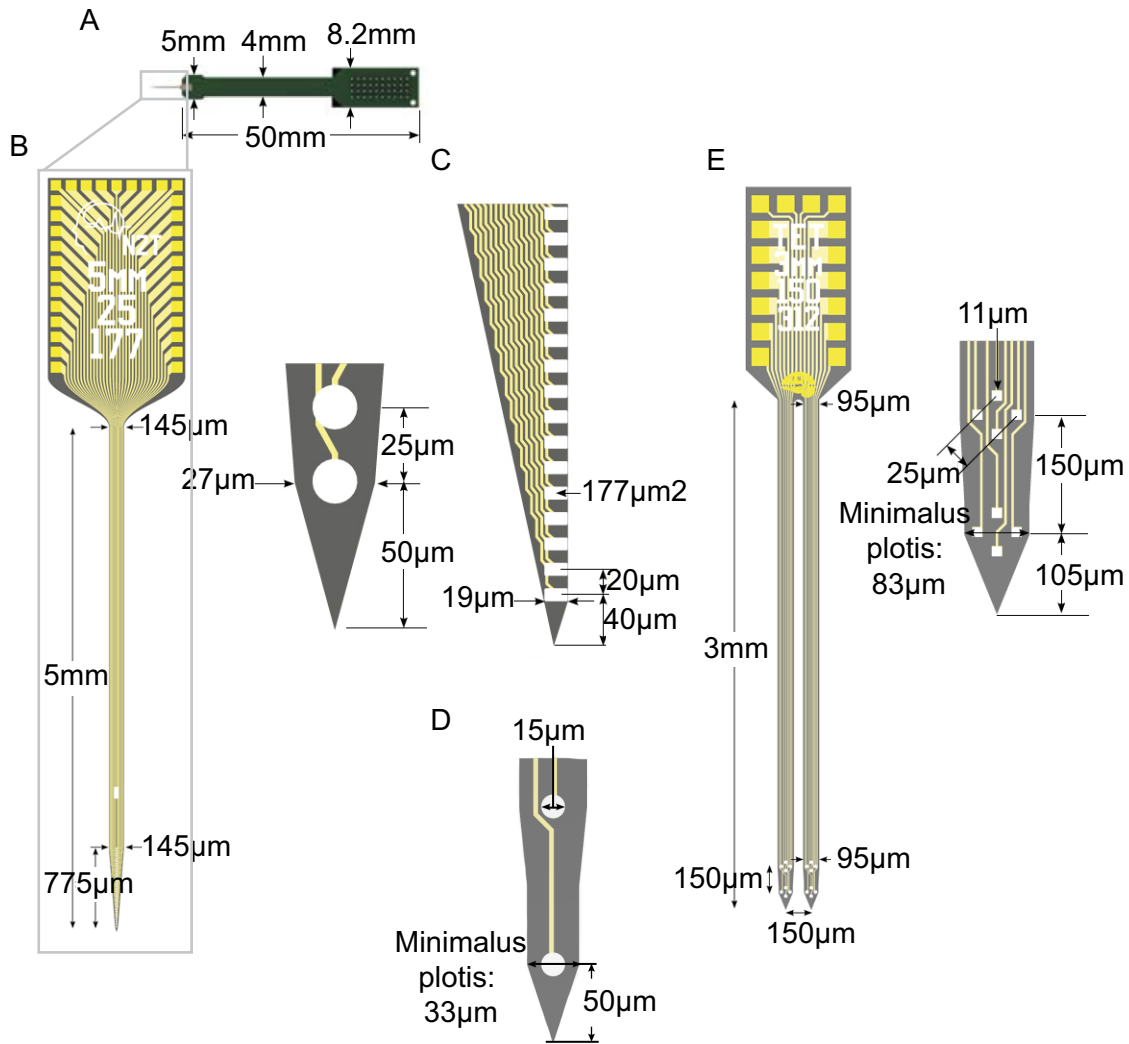
1.2 II metodų dalis: Judėjimas, kaip dėmesio požymius primenantis reiškinys, pelių ankstyvojoje regos sistemoje

1.2.1 Elektrofiziologinių duomenų registracija

Kaip aprašyta pirmoje metodų dalyje “Eksperimentai su budriais gyvūnais”, pelėms buvo implantuoti galvos laikikliai ir miniatiūriniai kontrolės/ įžeminimo varžtukai. Po prijaikinimo ir treniruočių, pelės galva buvo įtvirtinama laikiklyje ir leidžiama laisvai

bėgti ant oro pagalvės pakelto kamuolio. Akies ir kamuolio judesiai taip pat buvo registruojami.

Užląstelinė neuronų registracija buvo atliekama 16 ar 32 kanalų linijiniais silicio elektrodais (Neuronexus, A1x16-3mm-50-177 (Pav. 6D), A1x32-3mm-25-177 (Pav. 6B), A1x32Edge-5mm-20-177-A32 (Pav. 6C)) arba tetrodais (Neuronexus, A2x2-tet-3mm-150-150-121 (Pav. 6E)). Visi elektrodai buvo įvesti statmenai smegenų paviršiui. V1 neuronų registracijai, linijiniai elektrodai buvo įvedami iki ~900 μm ir tetrodai iki ~600 μm žemiau smegenų paviršiaus. ŠKK neuronų registracijai (stereotaksinės koordinatės: 2,5 mm kaudaliai nuo bregmos ir 2 mm lateraliai nuo vidurio linijos (Franklin & Paxinos 2008, Grubb & Thompson 2003)) buvo naudojami tik linijinės konfigūracijos elektrodai ir įvedami į 3 mm gylį. Sprendimas ar registruojamas neuronų aktyvumas priklauso ŠKK buvo daromas pagal būdingas ŠKK RL charakteristikas, tokias kaip RL progresija elektrodų kanaluose, pirmenybės teikimas aukšties laikiniams dažniams ir F1 atsakų paplitimas pateikiant kryptingai judančias gardeles (Grubb & Thompson 2003, Piscopo et al 2013).



Pav. 6. Elektrodu konfigūracijos. A: 32-kanalų silikoninis elektrodas. B: Padidintas linijinio elektrodo galiukas. C: Padidintas “krašto” elektrodo galiukas. D: Padidintas 16-kanalų elektrodo galiukas. E: padidintas tetrodo konfigūracijos elektrodas ir jo galiukas. (Adaptuota iš NeuroNexus katalogo).

1.2.2 Vizualinė stimuliacija

Vizualinė stimuliacija buvo atlikta tuo pačiu būdu, kaip aprašyta pirmoje metodų dalyje, “Vizualinė stimuliacija”.

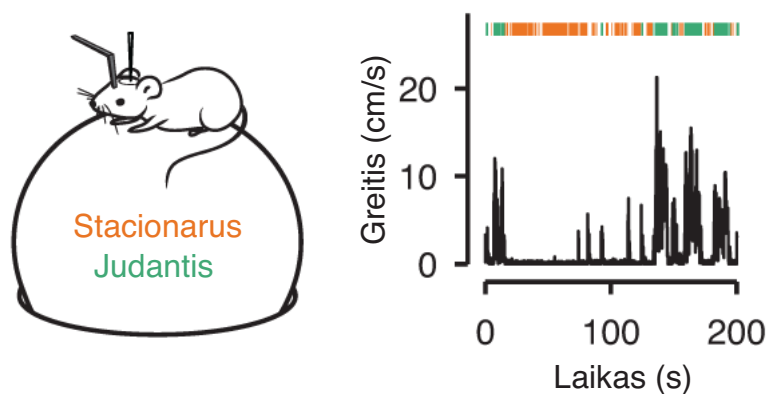
1.2.3 Duomenų analizė

Duomenų išsibarstymas (angl. *error bars*) žymimas kaip vidurkis +/- s.e.m., nebent tekste nurodoma kitaip. Duomenų statistiniam patikimumui įvertinti naudojome

porinį t-testą. Visų duomenų kokybė liko nepakitusi, jei buvo naudoti kiti, lygiaverčiai neparametriniai testai.

1.2.4 Gyvūno judesiai (lokomocija)

Gyvūno judėjimo greitis buvo skaičiuojamas pagal Euklido (angl. *Euclidean norm*) trijų statmenų komponentių greičius (Pav. 7) (Dombeck et al 2007). Gyvūnas buvo laikomas judančiu, jei judėjimo greitis (angl. *locomotion*) peržengdavo 1 cm/s (Niell & Stryker 2010), ir nejudančiu/ramybės būsenoje (angl. *stationary*), jei greitis buvo mažesnis nei 0,25 cm/s mažiausiai 0,4 s. Šios sąlygos buvo taikomos norint įsitikinti, kad ramybės būsenos metu nėra įtraukiami mažos amplitudės kamuolio judėjimo periodai, kurie dažniausiai sukeliama pelei judinant ūsus. Neuroniniais atsakais, kurių triggeris – judesys buvo laikomi tik tie, kurių metu greitis buvo mažesnis už judesio slenkstį mažiausiai 0,5 s prieš peržengiant ir mažiausiai 0,5 s po slenksčio peržengimo. Ieškant judesio moduliacijų regimųjų stimulų selektyvumo eksperimentų metu, buvo imami tie pakartojimai, kurių metu gyvūnas neperžengdavo ramybės ar budrumo judėjimo slenksčio mažiausiai 80% stimulo pateikimo laiko.

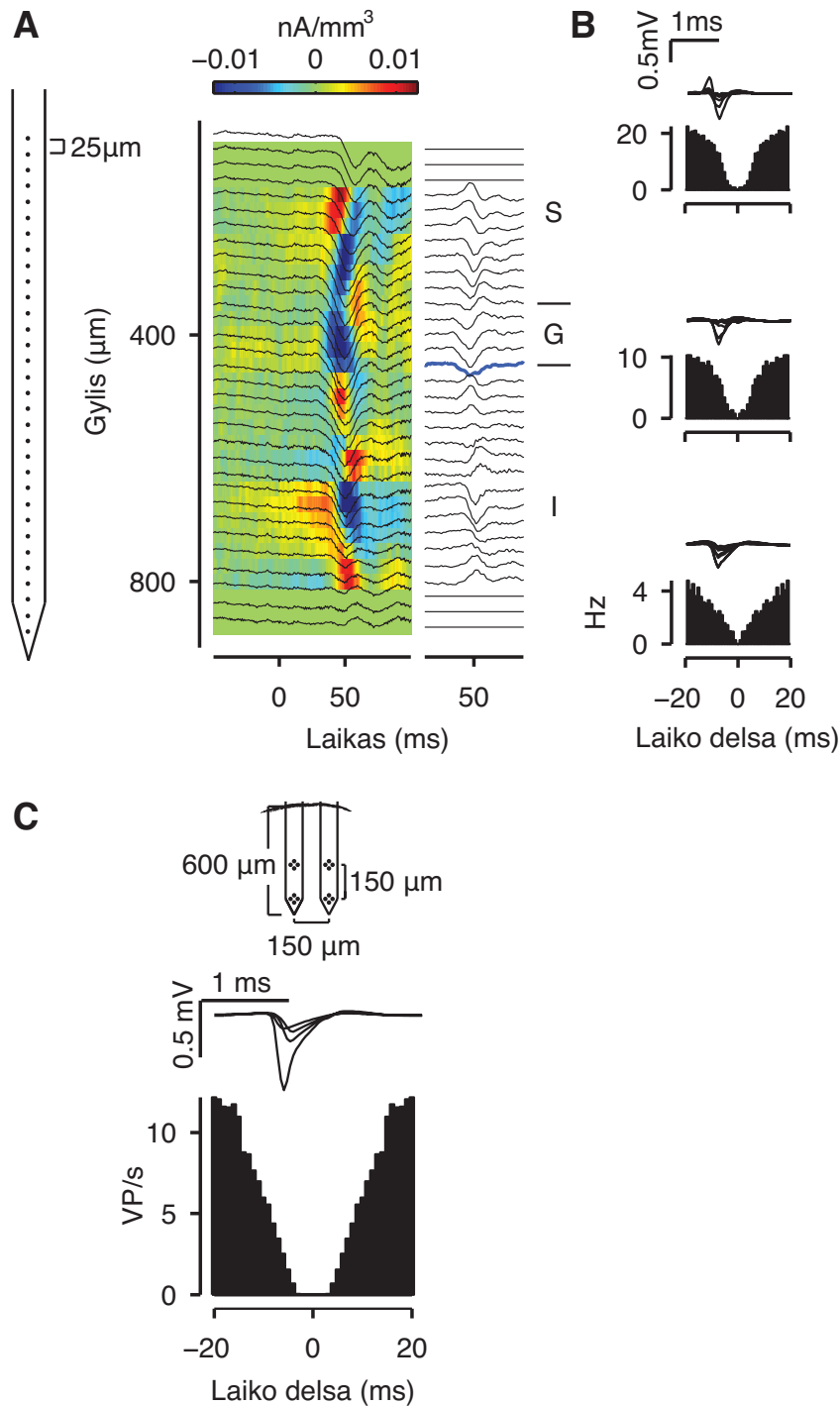


Pav. 7. Eksperimentinė sąranka ir greičio įrašo padalinimas į stacionarų (oranžinė) ir judėjimo (žalia) periodus.

1.2.5 Neuroninių vienetų išskyrimas ir veikimo potencialų rūšiavimas

Plačios juostos (angl. *wideband*) užlįsteliniai signalai buvo skaitmeninami 30 kHz dažniu (Blackrock microsystems) ir analizuojami naudojant NManager programinės

įrangos paketą (Hazan et al 2006). LFP buvo skaičiuojami filtruojant signalą (angl. *downsampling*) iki 1250 Hz. Iš duomenų, kurie buvo registruojami linijiniais elektrodais, mes padarėme CSD analizę (aprašyta pirmosios metodų dalies “Duomenų analizė”) (Pav. 8A) (Mitzdorf 1985).



Pav. 8. Pavyzdinių neuronų atsakai registruoti linijinės ir tetrodo konfigūracijų elektrodais. A: Kairėje: scheminis linijinio 32-kanalų elektrodo paveikslas. Viduryje:

CSD paveikslas (spalvota) ir persidengiančios LFP kreivės (juoda). Dešinėje: CSD kreivės. Mėlyna pastorinta linija žymi CSD poliškumo inversiją, kuri žymi manomą apatinę 4 sluoksnio ribą. S: supragranulinis, G: granulinis, I: infragranulinis. B: Numanomų sluoksnių reprezentacinių neuronų veikimo potencialų (VP) bangos ir autokorelogramos registruotos linijinės konfigūracijos elektrodu. N = 64 pradžios. C: Pavyzdinio neurono VP bangos ir autokorelograma registruotos tetrodo konfigūracijos elektrodu.

Tam, kad izoliuoti atskirus neuronus, kurie buvo registruojami linijiniais elektrodais, mes sugrupavome šalia esančius kanalus į penkis lygiaverčius “virtualius tetrodus/oktrodus” (vienoje grupėje 4 kanalai su 1 kanalo persidengimu 16 kanalų elektroduose ir 8 kanalai su 2 elektrodų persidengimu 32 kanalų elektroduose). Klasteriai buvo rankiniu būdu peržiūrimi programinės įrangos Klusters pagalba (Pav. 8B,C) (Hazan et al 2006). Renkant duomenis ŠKK, mes nustatėme viršutinį ir apatinį kanalus, esančius ŠKK ribose, pagal atsaką į regimąjį stimulą ir visi neuroniniai vienetai, kurie buvo registruoti aukščiau ar žemiau esančiuose kanaluose buvo eliminuoti iš tolimesnės analizės.

1.2.6 Neuroniniai atsakai, kurių trigeris – judesys

Neuroninių atsakų, kurių trigeris – judesys analizei, mes pasirinkome tuos neuronus, kurie turėjo mažiausiai 10 judesių (angl. *locomotion onsets*) ir kurių atsako dažnis didesnis nei 1,5 VP/s vienos sekundės laikotarpyje kiekvieno judesio viduryje.

1.2.7 Neuronų selektyvumas

Selektyvumo kreivėms regimojo stimulo orientacijai nustatyti buvo naudojamas Gauso modelis, kur dviejų smaigių (180 laipsnių skirtumu) sumos galėjo turėti skirtingas amplitudes, bet vienodą plotį ir nekintantį spontaninio aktyvumo lygį (Katzner et al 2011). Su judesiu susijusių orientacijos selektyvumo moduliacijų analizei (Pav. 15C (II rezultatų dalyje)), kreives mes skaičiavome judesio ir ramybės būsenoms atskirai. Populiacijos orientacijos selektyvumo kreivėms (Pav. 15D (II rezultatų dalyje)) mes išvedėme vidurkį iš sulygiuotų individualių selektyvumo kreivių, kurioms jau buvo pritaikytas modelis. Kontrasto atsako funkcijų apskaičiavimui buvo panaudotas

hiperbolinio santykio modelis (angl. *a hyperbolic ratio function*) (Albrecht & Hamilton 1982): $R_c = R_0 + R_{\max} * c^n / (c_{50}^n + c^n)$, kur c yra stimulo kontrastas. Funkcija turi keturis parametrus: spontaninio aktyvumo atsakas R_0 , atsakas į stimulą R_{\max} , pusinio įsotinimo kontrastas c_{50} , ir eksponentė n .

1.2.8 Linijinis modelis

Tam, kad galėtume palyginti su judesiu susijusių atsakų moduliacijas V1 tarp spontaninio ir vizualiai sužadinto neuroninių aktyvumų (Pav. 15B (II rezultatų dalyje)), mes panaudojome kovariacijos analizę (ANCOVA) su vidutiniu atsako dažniu 0,5 s prieš judesio atsiradimą (ramybės būseną (angl. *stationary*) kaip tęstinį kintamąjį (angl. *continuous variable*) ir vizualinę stimuliaciją (spontaninis aktyvumas vs. vizualiai sužadintas) kaip kategorišką veiksnį (angl. *categorical factor*) modeliuoti vidutinį atsako dažnį 0,5 s po judesio atsiradimo.

Ryšių tarp r_{signal} ir r_{sc} palyginimui ramybės ir judėjimo būsenų periodais mes panaudojome ANCOVA r_{signal} kaip tęstinį kintamąjį ir gyvūno aktyvumo būseną (ramus ar judantis) kaip kategorišką veiksnį modeliuoti r_{sc} .

Atsakų santykiui (angl. *ratio of response*) analizuoti prieš ir po judesio atsiradimo skirtinguose sluoksniuose (Pav. 16C,D (II rezultatų dalyje)) mes atlikome *Kruskal-Wallis* ANOVA su sluoksniu faktoriumi (supragranuliuotas, granuliuotas ar infragranuliuotas).

1.2.9 ŠKK registruotų duomenų analizė

ŠKK duomenų analizė buvo atliekama taip pat, kaip ir duomenų, registruotų V1. Analizėje buvo naudojamos ŠKK neuronų atsako į regimąjį stimulą moduliacijos (Pav. 17D-G), kurių atsako dažnis buvo > 1 VP/s ir bent 5 judėjimo ir 5 ramybės būsenos pakartojimai kiekvienai pilno kontrasto judančios gardelės sąlygai. Atsako komponentai F1 ir F0 buvo apskaičiuoti naudojant Fourier analizę kiekvienam pakartojimui atskirai ir vėliau apskaičiuojamas visų pakartojimų vidurkis. Pliūpsniais (angl. *bursts*) buvo laikomi tos VP grupės, kurių intervalai tarp potencialų buvo < 4 ms,

po kurių sekė bent 100 ms periodas be generuojamų VP (Grubb & Thompson 2005, Niell & Stryker 2010).

1.2.10 Vyzdžio padėties ir dydžio analizė

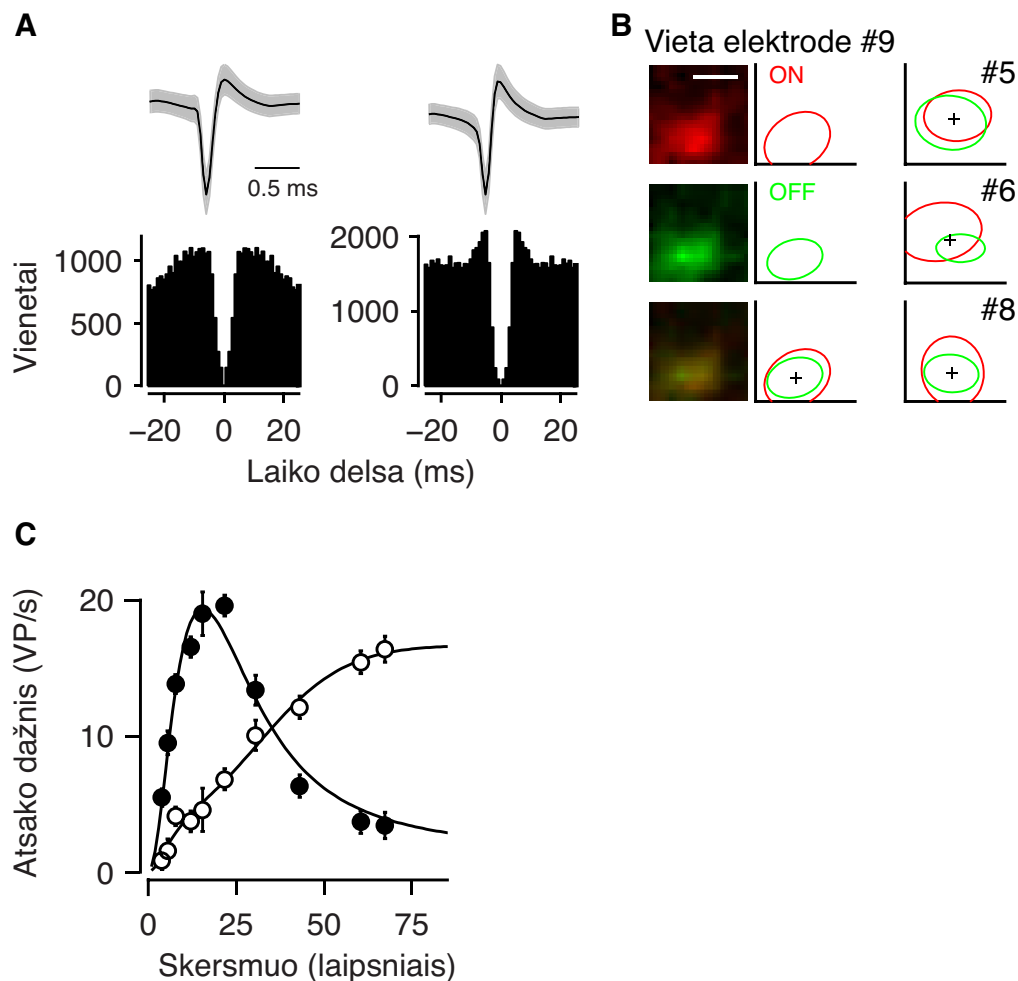
Akies padėties analizę mes atlikome, pirmiausia, nustatydami simetrišką 15 x 15 ekrano taškų *Gaussian* filtrą G su 5 ekrano taškų sigma (imgaussian, MATLAB). Vyzdžio aptikimui, mes, visų pirma, apskaičiavome dvejetainį vaizdą B , kur esant $G \cdot I_{\text{eye}} < \lambda$, buvo keičiamas slenkstis. Tada, mes atlikome 50 ekrano taškų morfologinę praplėtimo operaciją (bwareaopen, MATLAB), ir nustatėme objekto ribas (bwboundaries, MATLAB). Tais atvejais, kada buvo aptinkama daugiau objektų, mes naudojome apvaliausios formos objektą. Rasto vyzdžio padėties ir dydžio įvertinimui, mes pritaikėme elipsę. Akies vaizdo plokštumai paralelės suradimui ir korekcijai, mes naudojome orientyrą, kuriuo galėjo būti arba 1-asis Purkinje infraraudonos šviesos atvaizdas, arba taškas šalia ašarų kanalo medialiniame akies kampe (Wallace et al 2013). 1-asis Purkinje atvaizdas buvo aptinkamas pritaikant radialinių požymių išskyrimą (fastradial, MATLAB), tada nustatant slenkstį (graythreshold, MATLAB) ir išskiriant objekto ribas (bwboundaries, MATLAB). Tais atvejais, kai nebuvo galimybės panaudoti 1-ojo Purkinje atvaizdo, pirmąjo kadro medialiniame akies kampe rankiniu būdu buvo padedamas taškas, aplink kurį buvo išskiriamas 50 x 50 ekrano taškų plotas. Visuose tolimesniuose kadruose mes ieškojome to pačio taško sumažindami skirtumą tarp kiekvieno 50 x 50 ekrano taškų ploto ir orientyro vaizdo, vadovaudamiesi publikuotomis procedūromis (Wallace et al 2013). Mes paskaičiavome santykinius vyzdžio padėties pokyčius kiekviename kadre atimant orientyro poziciją iš vyzdžio pozicijos. Vyzdžio padėties pokyčiams paversti į kampo pokyčius, mes darėme prielaidą, kad akies sukimosi centras yra 1,041 mm už vyzdžio (Stahl et al 2000). Akies greitis buvo apskaičiuojamas pagal formulę $\dot{E}(i) = (E(i+1) - E(i-1)) / 2dt$, kur $\dot{E}(i)$ yra akies greitis laiko taške i , $E(i)$ – akies padėtis laike i , ir dt – imties intervalas (Sakatani & Isa 2007). Mes apibrėžėme sakadas kaip akies padėties pokyčius, kurių amplitudė didesnė nei 2 laipsniai (Saleem et al 2013). Žinant, kad

vidutiniškai pelės akies sakados trunka šiek tiek daugiau nei 50 ms (Sakatani & Isa 2007), mes aptikome sakadas kiekviename laiko taške *i* imant vidutinį 60 ms prieš ir po akies padėties skirtumą, centruojant ties *i*.

2 Rezultatai:

2.1 Rezultatai I: "Išorinis slopinimas pelės pirminėje regos žievėje: priklausomybė nuo žievės sluoksnio ir anestezijos"

Mes atlikome užląstelinį pirminės regos žievės (V1) registravimą anestezuotuose ir budriuose gyvūnuose. Veikimo potencialus (VP) mes išskyrėme iš užregistruotų duomenų ir, dažniausiai, gaudavome aukštos kokybės daugialąstelinį aktyvumą (Pav. 9A). Pirmiausia atlikome receptinių laukų (RL) paiešką visuose elektrodo kanaluose (Pav. 9B) naudodami išsibarsčiusio triukšmo regimąjį stimulą, kuriame mirksi juodi ir balti kvadratėliai pilkame fone (Liu et al 2009). Kaip ir buvo tikėtasi, RL išilgai elektrodo persikloja su nedidele paklaida ($6,7 \pm 0,7$ laipsnių). Ši paklaida apytiksliai yra 1/3 budrių gyvūnų V1 registruojamų RL dydžio (budrios būsenos metu $19,8 \pm 1,9$ laipsniai, $n = 44$, vs. anestezijos metu $32,7 \pm 1,5$ laipsniai, $n = 76$, ANOVA, $F(1,114) = 9,9$, $p = 0,002$) ir sutampa su duomenimis, kurie pateikti ankstesnių autorių (Bonin et al 2011, Smith & Hausser 2010). Toliau mes išmatavome selektyvumą stimulo dydžiui pateikdami skirtingo dydžio gardeles, centruotas pagal prieš tai nustatytą RL centrų vidurkį (Pav. 9C). Kai kurių neuronų atsakai didėjo asimptotiškai didinant stimulo dydį (tuščiaviduriai apskritimai); kitų neuronų atsakai pasiekę piką ties tam tikru stimulo dydžiu, toliau didinant gardeles apimtį buvo slopinami (pilnaviduriai apskritimai).

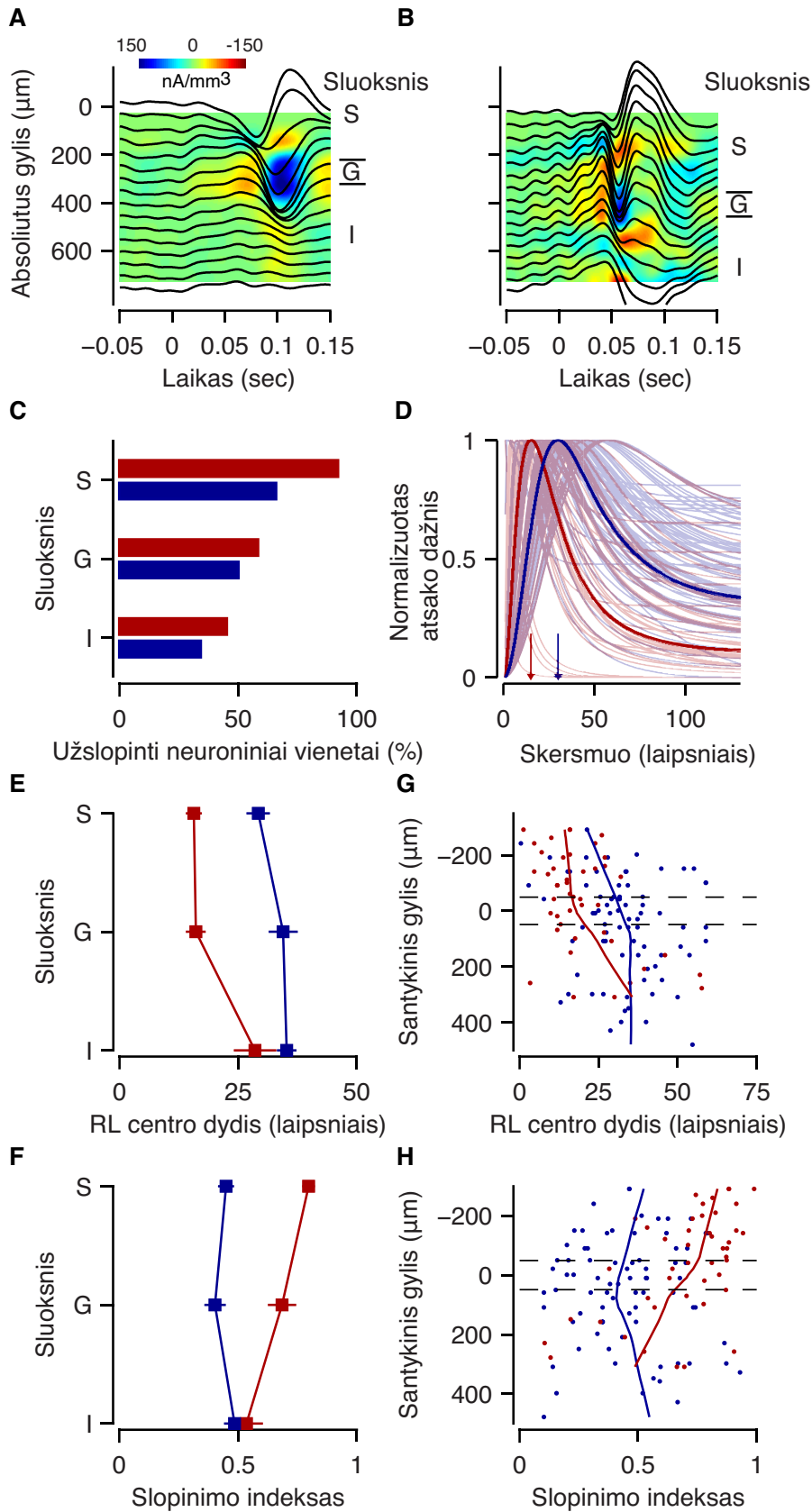


Pav. 9. Duomenų užrašymo ir analizės metodai. A: Pavyzdinio neuroono signalo bangos (angl. *waveforms*) ir autokorelogramos gautos iš įrašų 16-kanalų elektrodu. **B:** Kairėje: vieno elektrodo kanalo ON (raudona) ir OFF (žalia) RL sublaukų žemėlapiai ir jų persidengimas kartu su elipsėmis, gautomis panaudojus modelį. Dešinėje: RL kontūrai kituose 3, tuo pačiu metu registruotuose, elektrodo kanaluose. Balta mastelio juosta: 20 laipsnių. Ta pati skalė taikoma ir pritaikyto modelio RL kontūrams. Juodas kryžiuokas: vidutinė RL vieta. **C:** Pavyzdiniai neuronai be (tuščiaviduriai simboliai) ir su išoriniu slopinimu (pilnaviduriai simboliai) registruoti skirtingų eksperimentų metu. Visi šiame paveikslėlyje esantys pavyzdiniai duomenys gauti eksperimentų su budriais gyvūnais metu. Čia ir vėlesniuose paveikslėliuose šešėliai ir klaidos juostelės nurodo +/- s.e.m.

2.1.1 Selektyvumo stimulo dydžiui pasiskirstymas žievės sluoksniuose

Mes atlikome pagrindinius dydžio nustatymo matavimus budrių ir anestezuotų pelių skirtinguose regimosios žievės sluoksniuose (Pav. 10). Šioje rezultatų dalyje mes pateikiame 68 neuroninius vienetus (angl. *units*) registruotus 6 budriose pelėse ir 163

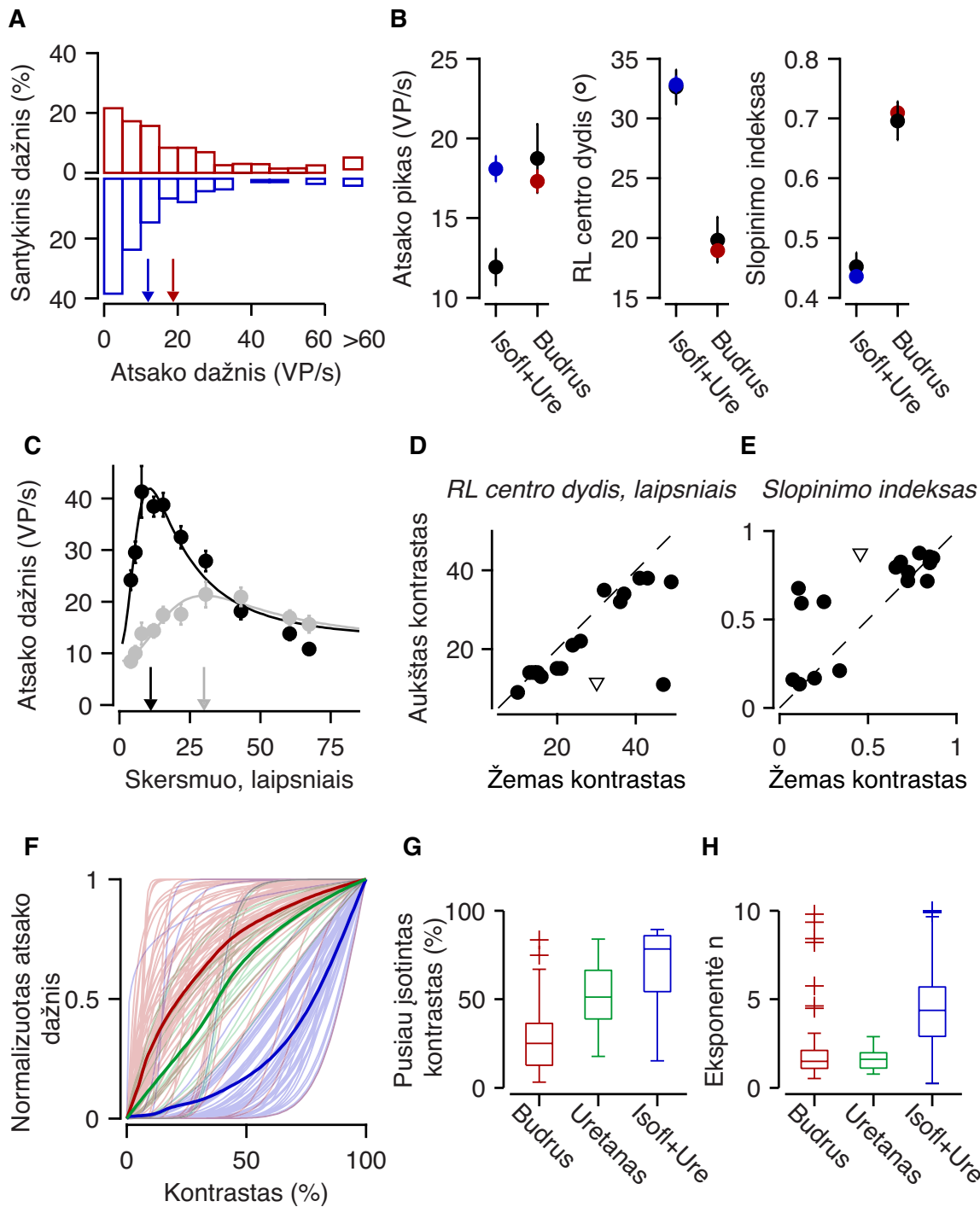
neuroninius vienetus registruotus 6 anestezuotose pelėse. Naudojant CSD analizę (Mitzdorf 1985), mes priskyrimė elektrodo kanalų neuroninius atsakus supragranuliuotam, granuliuotam ar infragranuliuotam sluoksniui (Pav. 10A, B). Visus atsakus, kurių SI > 0,1, mes priskyrimė slopinamiems (Van den Bergh et al 2010) ir pastebėjome, kad slopinamų neuroninių vienetų proporcijos priklauso nuo smegenų budrumo lygio (budrus gyvūnas vs. anestezuotas) ir žievės sluoksnio (supragranuliuotas vs. granuliuotas vs. infragranuliuotas) (Log-linijinė analizė, AIC = 19,21) (Pav. 10C). Išorinis slopinimas labiau išreikštas budriuose nei anestezuotuose gyvūnuose (65% vs. 47%, $p = 0,012$, *chi-square* testas) ir RL stipriau slopinami supragranuliuotame sluoksnyje nei infragranuliuotame (75% vs. 37%, $p < 0,0001$, *chi-square* testas). Atrinkus selektyvumo stimulo dydžiui kreives, turinčias išorinį slopinimą, (Pav. 10D) paaiškėjo, kad pagrindinės erdvinės sumacijos savybės priklauso nuo smegenų budrumo lygio ir žievės sluoksnio (Pav. 10E, F). RL centro dydis mažesnis budriuose gyvūnuose nei anestezuotuose ($19,8 \pm 1,9$ laipsnio, $n = 44$, vs. $32,7 \pm 1,5$ laipsnio, $n = 76$, ANOVA, $F(1,114) = 9,9$, $p = 0,002$) ir didėja leidžiantis į gilesnius žievės sluoksnius (ANOVA, $F(2,114) = 13,8$ $p < 0,0001$) (Pav. 10 E). Taip pat ir slopinimo intensyvumas V1 didesnis budrių gyvūnų palyginus su anestezuotais (SI = $0,70 \pm 0,03$, $n = 44$, vs. $0,45 \pm 0,02$, $n = 76$, ANOVA, $F(1,114)=30,8$, $p < 0,0001$). Išorinio slopinimo sluoksninis pasiskirstymas priklauso nuo smegenų budrumo lygio (ANOVA, $F(2,114) = 6,3$, $p = 0,003$): tiriant budrius gyvūnus pastebėta, kad supragranuliuotame sluoksnyje išorinis slopinimas yra stipresnis nei infragranuliuotame (SI = $0,80 \pm 0,03$, $n = 23$, vs. $0,54 \pm 0,07$, $n = 14$, t-testas, $p = < 0,0001$). Įdomu, kad tiriant anestezuotus gyvūnus, nebuvo pastebėta statistiškai reikšmingo slopinimo pokyčio tarp žievės sluoksnių (ANOVA, $F(2,73) = 0,8$, $p = 0,5$) (Pav. 10 F). Panašus profilis buvo pastebėtas kada RL centro dydis ir išorinis slopinimas buvo grafiškai vaizduojami kaip funkcija centruojant žievės gylį pagal 4 sluoksnį (Pav. 10 G, H). Statistiškai patikimų skirtumų nerasta tarp granuliuoto ir kitų žievės sluoksnių nei RL centro dydžio, nei išorinio slopinimo atvejais ($p > 0,1$).



Pav. 10. Erdvinė sumacija keičiasi kartu su smegenų budrumo būseną bei žievės sluoksniu. A, B: Srovės šaltinio tankio (CSD) profilis, gautas anestezijos (A) ir budrumo (B) būsenose. C: Slopinamų neuronų (SI > 0,1) dalis skirtinguose sluoksniuose. Raudona - budrūs, mėlyna - anestezuoti. D: Visų registruotų neuronų selektyvumo stimulo dydžiui kreivės pritaikius modelį. Vidurkis pavaizduotas ištisine linija. Rodyklės vaizduoja vidutinį RL centro dydį. E, F: RL centro dydis (E) ir slopinimo indeksas (F) skirtinguose žievės sluoksniuose. G, H: Tas pat skirtinguose sluoksniuose, kurių santykinis gylis nustatytas identifikavus granuliuotą sluoksnį (pritaikius CSD analizę). Punktyrinės linijos nurodo viršutinę ir apatinę 4-to sluoksnio ribas. S - supragranuliotas, G - granuliuotas, I - infragranuliuotas.

2.1.2 Erdvinės sumacijos skirtumai skirtingose smegenų budrumo būsenose

Toliau, mes aiškinomės ar aptikti erdvinės sumacijos skirtumai skirtingose smegenų budrumo būsenose gali būti paaiškinti atsako dažnio pokyčiais. Pirmiausiai, mes palyginome vidutinius atsako dažnius abejose būsenose (anestezija vs. budrus) ir pastebėjome, kad regimojo stimulo sužadintas atsako dažnio pikas iš tiesų didesnis budrumo būsenoje palyginus su anestezija ($18,7 \pm 2,2$, $n = 68$, vs. $11,9 \pm 1,2$ VP/s, $n = 163$, t-testas, $p < 0,01$, Pav. 11 A). Toliau mes atrinkome duomenis, kurių atsako dažniai buvo panašūs. Net sutampant atsako dažniams, erdvinės sumacijos skirtumai (tiek RL centro dyžio, tiek išorinio slopinimo) skirtingose smegenų budrumo būsenose išliko (Pav. 11B). Tad vien atsako dažnių skirtumai skirtingose smegenų būklėse negali paaiškinti aptiktų erdvinės sumacijos skirtumų.



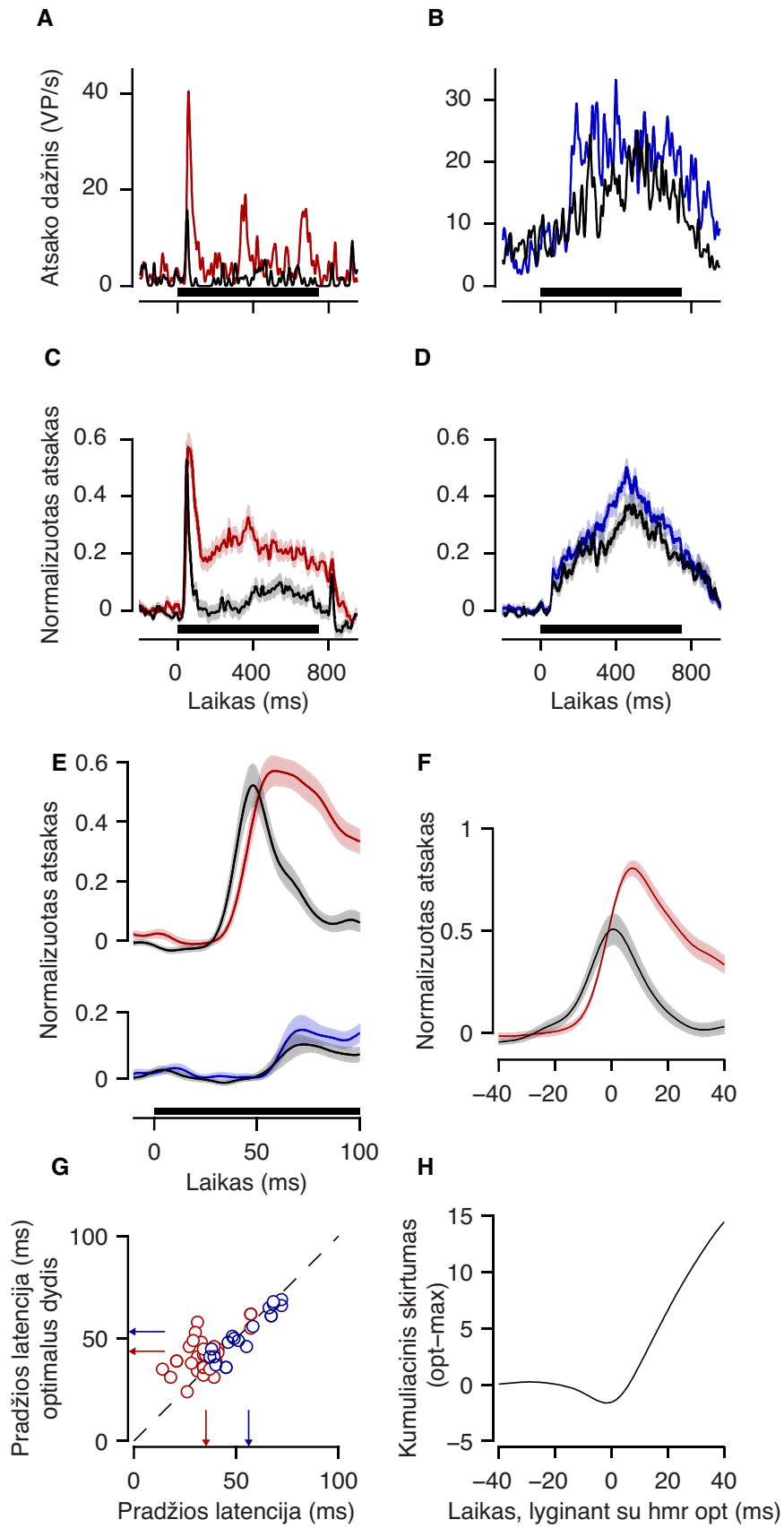
Pav. 11. Anestezija moduliuoja išorinį slopinimą paveikdama kontrasto normalizaciją. A: Regimojo stimulo sužadinto atsako dažnio piko pasiskirstymas budrumo (raudona) ir anestezijos (mėlyna) metu. B: Erdvinės sumacijos skirtumai skirtinguose smegenų būsenose išlieka suvienodinus atsako dažnius. Juoda: originaliųjų duomenų rinkinys; raudona/mėlyna: sutampančių atsako dažnių duomenų rinkinys. Kairėje: atsako dažnio piko. Viduryje: receptinio lauko centro dydis. Dešinėje: slopinimo stiprumas. C: Pavyzdinis neuroninis vienetas su selektyvumu stimulo dydžiui esant 100% (juoda) ir 18% (pilka) kontrastui. Rodyklės nurodo RL centro dydžius. D: Sklaidos lauko grafikas

vaizduojantis RL centrų dydžius esant aukštam ir žemam kontrastams. E: Tas pats, tik slopinimo stiprumas (SI). Trikampiai (D-E) nurodo pavyzdinę ląstelę vaizduotą C dalyje. F: Kontrasto atsako funkcijos esant budriai būsenai (raudona), anestezijai izofluranu ir uretanu (mėlyna) ir anestezijai tik uretanu (žalia). Paryškintos linijos reprezentuoja vidurkius. G, H: Hiperbolinio santykio funkcijos parametru (semisatūracijos kontrasto c_{50} (G) ir eksponentės n (H)) pasiskirstymas esant skirtingoms smegenų budrumo būsenoms.

Neuroniniai atsakai, registruoti anestezijos metu, priminė atsakus, kurie buvo stebimi pateikus žemo kontrasto stimulą (palyginti Pav. 10 D ir Pav. 11 C), tad mes iškėlėme hipotezę, kad anestezija moduluoja išorinį slopinimą veikdama kontrasto normalizaciją. Mes iškėlėme hipotezę, kad anestezija sumažina jautrumą stimulo kontrastui ir pateiktas aukšto kontrasto stimulus atrodo mažesnio kontrasto nei iš tikro yra.

Šiai hipotezei patikrinti, mes atlikome selektyvumo stimulo dydžiui eksperimentus su skirtingais kontrasto lygiais ir išmatavome anestezijos poveikį atsakams į pateikto stimulo kontrastą. Rezultatai palaikė mūsų iškeltą hipotezę. Visų pirma, mes patvirtinome, kad, kaip katėse ar beždžionėse, erdvinė sumacija pelių V1 priklauso nuo stimulo kontrasto (Pav. 11 C). Esant aukštam stimulo kontrastui (juodi apskritimai), šiame pavyzdyje pateikto neuroninio vieneto RL dydis buvo mažas ir pateiktas didelio skersmens stimulus užslopinė neuroninį aktyvumą priartindamas atsakus prie spontaninio VP generavimo lygio. Esant žemo kontrasto stimului, RL centro skersmuo padidėja ir sumažėja slopinimas (pilki apskritimai). Ši skirtingo kontrasto stimulų įtaka buvo būdinga visai registruotai neuronų populiacijai (Pav. 11 D, E): esant aukšto kontrasto stimului RL centro dydis buvo mažesnis ($21,9 \pm 3,2$ vs. $27,9 \pm 2,7$ laipsniai skersmens, $n = 17$, $p = 0,02$, porinis t-testas) ir slopinimas stipresnis (SI $0,63 \pm 0,07$ vs. $0,51 \pm 0,08$, $p = 0,03$, porinis t-testas). Antra, mes atradome, kad anestezija sumažina jautrumą stimulo kontrastui (Pav. 11 F). Registruojant neuroninius vienetus su kontrasto įsisotinimu, pusinio įsotinimo kontrastas c_{50} buvo mažesnis ($27,3 \pm 2,3$, $n = 58$ vs. $67,5 \pm 7,5\%$, $n = 13$, $p < 0,0001$, t-testas) budriuose gyvūnuose (raudonos linijos) nei anestezuotuose izofluranu ir

uretanu (mėlynos linijos). Taip pat, kreivių nuožulnumas buvo statesnis budrumo būsenoje nei anestezijos ($2,1 \pm 0,3$ vs. $4,4 \pm 0,3$, $p < 0,0001$, t-testas). Nemaža dalis neuroninių vienetų, registruotų anestezuotuose gyvūnuose, nepasiekė atsakų išsotinimo (25,8%), kai budriuose gyvūnuose beveik visi neuroniniai vienetai išsotino (97,9%). Taip pat mes atlikome selektyvumo kontrastui eksperimentus su gyvūnais, kurie buvo anestezuoti tik uretanu (žalios linijos). Pastebėjome, kad kontrasto selektyvumo kreivės buvo panašesnės į registruotas budrumo būsenoje, tačiau vis vien jautrumas buvo mažesnis ($c_{50} = 52,6 \pm 5,2\%$, $n = 15$, t-testas, $p < 0,001$, Pav. 11 G; eksponentė $n = 1,6$, ns, Pav. 11 H). Kartu šie rezultatai palaiko idėją, kad izoflurano/uretano anestezija įtakoja išorinį slopinimą darydama poveikį kontrasto normalizacijai. Trečia, anestezija įtakojo neuronų atsakų dinamiką (Pav. 12). Budrios būsenos metu stimulo atsiradimas sužadino stiprius, trumpalaikius atsakus, tuo tarpu anestezijos metu registruotiems neuroniniams atsakams nebuvo būdingas staigus amplitudės pokytis į stimulo atsiradimą. Šis smegenų būsenos efektas atsako dinamikai buvo būdingas tiek pavieniams neuroniniams vienetams (Pav. 12 A, B), tiek visai populiacijai (Pav. 12 C, D). Taip pat, atsakai į abu - optimalų ir didžiausią - pateiktus stimulus buvo greitesni gyvūnui esant budrioje būsenoje (atsako latencija $40,0 \pm 1,2$ ms, $n = 44$) nei anestezijos metu ($54,7 \pm 2,7$ ms, $n = 51$, $p < 0,0001$, Pav. 11 E-G).

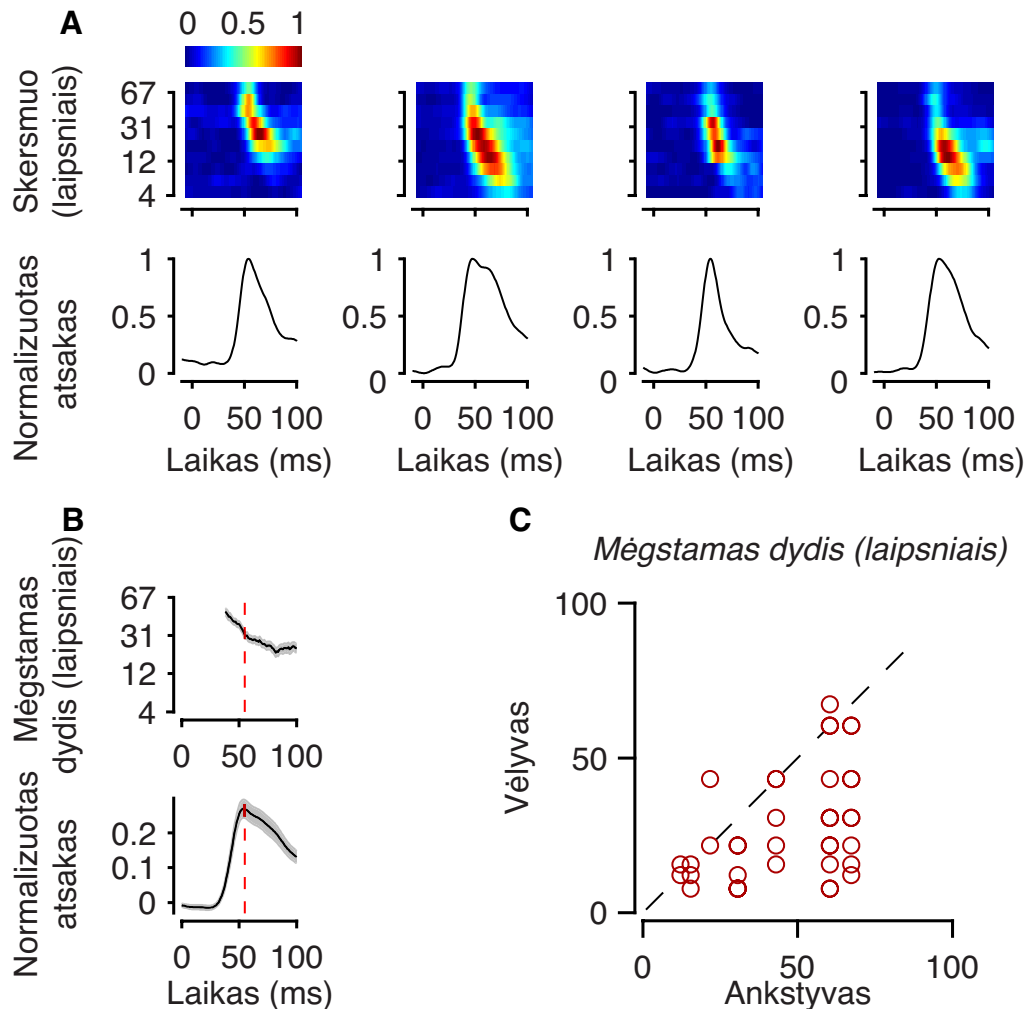


Pav. 12. Atsakų dinamika į optimalų (spalvos) ir maksimalų (A-F juoda) stimulo dydžius. Horizontali juoda juostelė žymi stimulo pateikimą. A: Pavyzdinis neuronas užregistruotas budrumo. B: Pavyzdinis neuronas užregistruotas anestezijos metu. C: Populiacijos vidurkis budrios būsenos metu. D: Populiacijos vidurkis anestezuotos būsenos metu. E: 100 pirmųjų vidutinio atsako milisekundžių; duomenys tie patys, kaip C ir D dalyse. F: Vidutinis budraus gyvūno neuroninis atsakas sulygiuotas su puse maksimalaus atsako į optimalaus dydžio stimulą (hmr opt). Spalvos nurodo tą patį, kaip ir E dalyje. G: Pradžios latencijų pasiskirstymas esant budrumo (raudona) ir anestezuotai (mėlyna) būsenoms. Rodyklės nurodo populiacijų vidurkius. H: Kumuliacinis skirtumas tarp atsakų į optimalaus dydžio ir maksimalaus dydžio stimulus.

2.1.3 Laikinė erdvinės sumacijos dinamika

Toliau mes nustatėme laikinę erdvinės sumacijos dinamiką. Mes pastebėjome, kad budrios būsenos metu (Pav. 12 E, viršutinė dalis), bet ne anestezijos metu (Pav. 12 E, apatinė dalis), atsakai į didelį stimulą (juodos kreivės) buvo greitesni nei į optimalų stimulo dydį (kuriam neuronas teikia pirmenybę) (spalvotos kreivės). Ši stimulo dydžio įtaka pradžios latencijai buvo būdinga visai registruotų neuroninių vienetų populiacijai (Pav. 12 G). Budrios būsenos metu, atsakų į maksimalų ir optimalų stimulus, latencijų vidurkiai buvo $35,1 \pm 1,5$ ms ir $43,7 \pm 1,5$ ms ($p < 0,0001$, t-testas). Anestezijos metu latencijos padidėjo iki $53,3 \pm 3,6$ ms ir $56,0 \pm 3,9$ ms ($p = 0,6$, t-testas). Šie pastebėjimai rodo, kad esant budriai būsenai, optimalus stimulo dydis progresyviai mažėja stimulo pateikimo pradžioje. Šis laikinis pokytis taip pat buvo stebėtas didžiausio pateikto stimulo atveju, kai suvidurkinti ir normalizuoti atsakai buvo sulygiuoti arba su pusės maksimalaus atsako į optimalų stimulą (Pav. 12 F), arba kumuliaciniu atsako skirtumu į optimalų/maksimalų dydžius (Pav. 12 H). Tada mes apskaičiavome atsakus į visus pateiktus stimulo dydžius skirtingais laiko periodais ir pastebėjome, kad “mėgstamas” stimulo dydis greitai (per mažiau nei 50 ms) keičiasi iš didelio į mažesnio skersmens (Pav. 13 A, viršutinė dalis). Šioje analizėje mes pastebėjome disociaciją tarp “mėgstamo” stimulo dydžio ir generuojamo atsako dažnio, kurio negalima paaiškinti “ledkalnio efektu” tam tikrame laiko taške, kur stipresni atsakai galėtų iššaukti ankstesnes latencijas (taip pat žiūrėti (Ruksenas et al 2007)) (Pav. 13 A, apatinė dalis; Pav. 13 B). Net po to, kai maksimalus atsako dažnis yra pasiekiamas, “mėgstamo” stimulo dydis ir toliau mažėja (t-testas, $p < 0,0001$) (Pav. 13

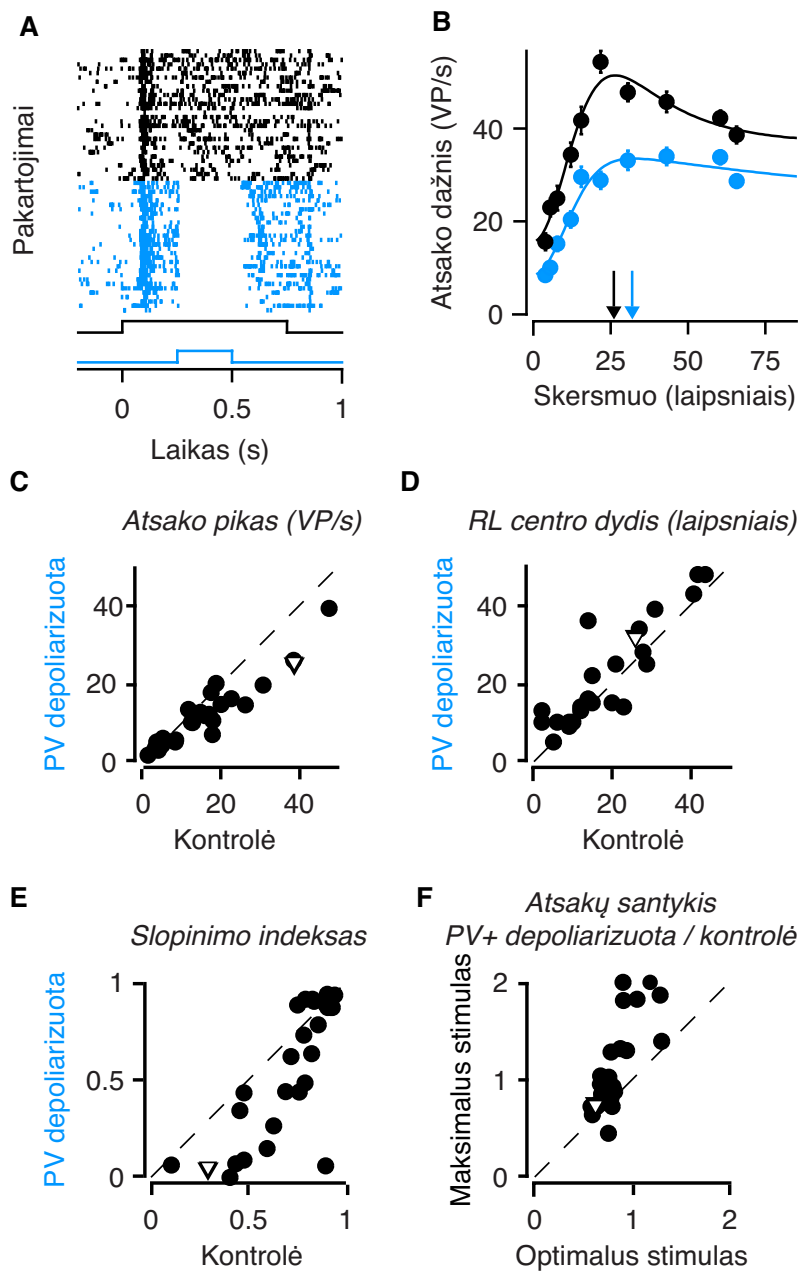
B). “Mėgstamo” stimulo dydžio laikinės progresijos įvertinimui mes nustatėme “mėgstamo” stimulo dydį atsako atsiradimo taške (žiūrėti metoduose) ir 40 ms po to, kada tikėtinas atsako pikas. Populiacijoje, tirtuose laiko taškuose, “mėgstamo” dydžio stimulus mažėjo nuo $48,3 \pm 2,9$ iki $26,7 \pm 2,6$ laipsnių skersmens ($p < 0,0001$, t-testas) (Pav. 13 C).



Pav. 13. Atsakų į stimulo dydį trukmė. A: Viršutinė eilutė: keturių pavyzdinių neuronų atsakai į įvairaus dydžio stimulus laike. Apatinė eilutė: vidutinio atsako dažnio į įvairaus dydžio stimulus vystymasis laike tiems patiems 4 pavyzdiniams neuroniniams vienetams. B: Disociacija registruotų neuronų populiacijoje tarp atsako dažnio dinamikos ir mėgstamo dydžio dinamikos. Viršuje: mėgstamo dydžio vystymasis. Apačioje: vidutinio atsako dažnio vystymasis. Atsakai normalizuoti pagal atsako pikus visose stimulo sąlygose. C: Kiekvieno neurono mėgstamo stimulo dydis atsako pradžioje - “ankstyvas” ir 40 ms vėliau - “vėlyvas” (esant budriai gyvūno būsenai).

2.1.4 Parvalbumininių interneuronų įtaka erdvinei sumacijai

Galiausiai, mes patikrinome PV+ interneuronų įtaką erdvinei sumacijai. Mes ekspresavome šviesai jautrius katijonų kanalus *channelrhodopsin 2* (ChR2) PV-Cre transgeninių pelių linijos pirminėje regos žievėje, suleidami adeno-asocijuotą viruso vektorių (AAV) (žiūrėti Pav. 4 metodų dalyje). Tada atlikome selektyvumo stimulo dydžiui eksperimentus, kur pusėje pakartojimų mėlyna šviesa stimuliuojome PV+ interneuronus. Kadangi registruojant kelių neuronų (angl. *multiunit*) atsakus, dažniausiai atspindimas piramidinių ląstelių aktyvumas, paprastai šviesos stimuliacijos metu buvo stebimas neuronų atsako dažnio sumažėjimas (Pav. 14 A). Be to, mes radome, kad PV+ interneuronų aktyvacija įtakojo dvi pagrindines erdvinės sumacijos savybes: RL centro dydis padidėjo, o išorinis slopinimas susilpnėjo (Pav. 14 B). Šie pokyčiai buvo būdingi visiems registruotiems neuronams populiacijoje (Pav. 14 C-F). Apibendrinus gautus duomenis galima teigti, kad PV+ interneuronai sumažino atsakų dažnį ($24,7 \pm 3,6$ iki $20,0 \pm 2,7$ VP/s, porinis t-testas, $n = 28$, $p < 0,002$). Ypač svarbus atradimas, kad RL padidėjo nuo $16,2 \pm 1,8$ iki $23,3 \pm 3,3$ laipsnių (porinis t-testas, $p < 0,004$) ir išorinis slopinimas susilpnėjo nuo $SI = 0,71 \pm 0,04$ iki $SI = 0,55 \pm 0,07$ (porinis t-testas, $p < 0,001$). Kartu su slopinimo sumažėjimu, pakito ir atsakų santykis į optimalų bei maksimalų stimulo dydžius fotostimuliacijos vs. kontrolės metu ($0,79 \pm 0,04$ vs. $1,22 \pm 0,22$, porinis t-testas, $p < 0,05$). Mes taip pat radome, kad PV+ interneuronų aktyvacija turi labai panašų efektą kaip ir sumažintas stimulo kontrastas (palyginti Pav. 11 C-E ir Pav. 14 B-D). Šie rezultatai rodo, kad pelių V1 PV+ interneuronai gali dalyvauti išoriniame slopinime, sumažindami stimulo gebėjimą sužadinti.

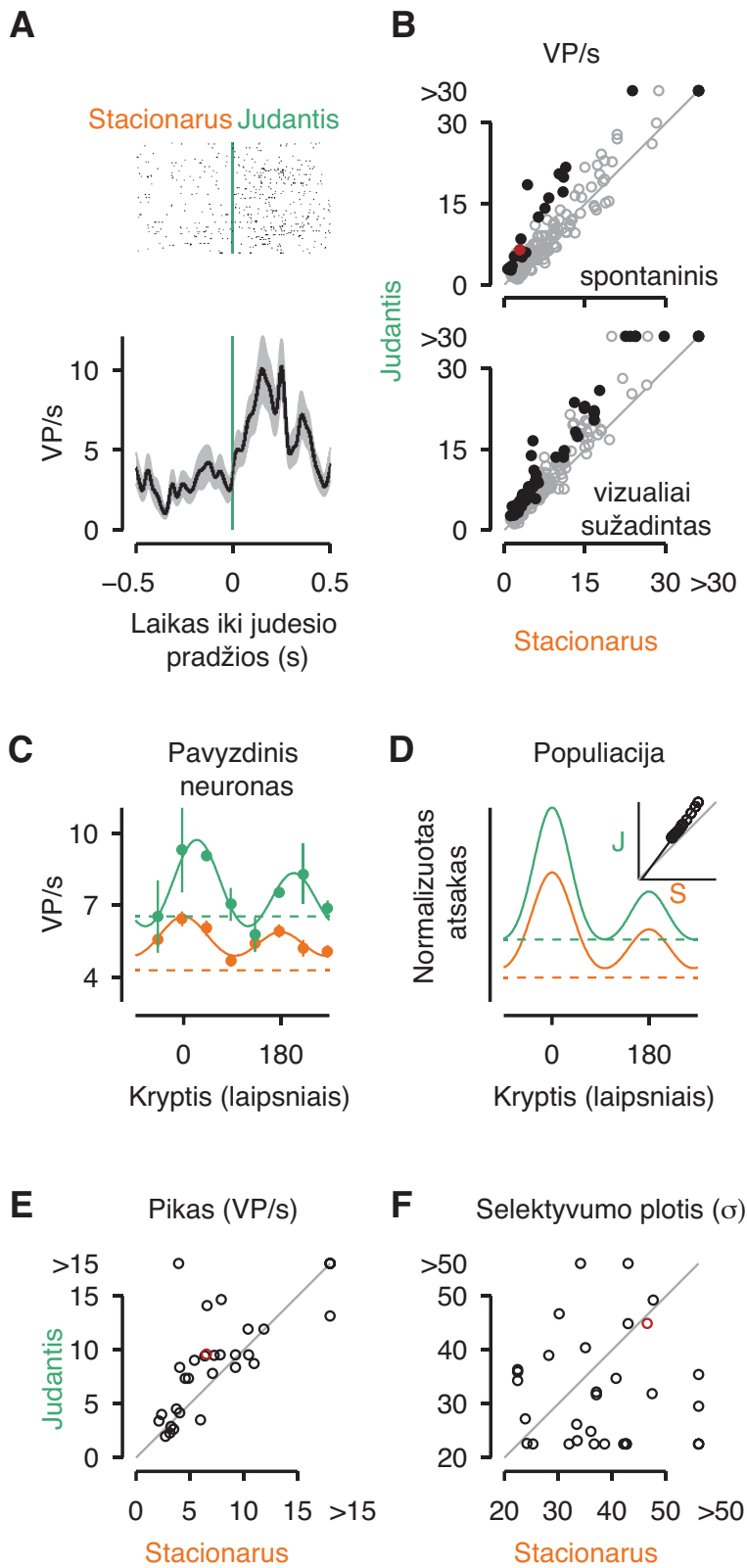


Pav. 14. PV+ interneuronų įtaka erdvinei sumacijai. A: Rastrinis atsakų grafikas į 15,5 laipsnių gardelę be (juoda) ir su (mėlyna) optogenetine PV+ interneuronų depoliarizacija. Horizontali juoda juostelė žymi stimulo pateikimą. Mėlyna juostalė – fotostimuliacija. B: Selektyvumo stimulo dydžiui kreivė. Spalvų reikšmės tokios pačios kaip (A). Rodyklės nurodo RL centro dydį. C-E: Atsako piko (C), RL centro dydžio (D) ir slopinimo stiprumo (E) pokyčiai esant PV+ interneuronų depoliarizacijai. F: Atsakų santykis į optimalų ir maksimalų dydžius, optinės stimuliacijos ir kontrolės sąlygomis. C-F apverstas trikampis žymi pavyzdinius neuroninius vienetus pateiktus A ir B.

2.2 Rezultatai II: “Judėjimas, kaip dėmesio požymius primenantis reiškiny, pelių ankstyvoje regos sistemoje”

2.2.1 Su judesiu susijusios neuroninių atsakų moduliacijos

Apskaičiuoti su judesiu susijusių atsakų moduliacijas individualiuose neuronuose, mes fiksavome peles galvos laikiklyje virš laisvai judančio ant oro pagalvės pakelto polistirolo kamuolio ir registravome užląstelinius vieno neurono atsakus pelių viršutiniuose V1 sluoksniuose judėjimo ir ramybės būsenų metu. Mes radome neuroninių atsakų pastiprinimą sulyg judesio atsiradimu (angl. *locomotion onset*) tiek spontaninio, tiek vizualiai sužadinto aktyvumo metu (Pav. 15 A, B). Spontaninio aktyvumo metu, pvz., paliekant vientiso skaisčio pilką ekraną eksperimento metu, individualių neuronų atsako dažnis sulyg judesio atsiradimu padidėdavo (Pav. 15 A). Šis padidėjimas būdingas visai neuronų populiacijai ($22,3\% \pm 4,4$; $p < 0,001$, $N = 176$ neuronai; Pav. 15 B, viršutinė dalis). Panašiai atsako dažnis padidėjo sulyg judesio atsiradimu ir stimulo sužadinto aktyvumo metu ($28,8\% \pm 2,3$; $p < 0,001$, $N = 232$ neuronai; Pav. 15 B, apatinė dalis). Bendrai įvertinus, šis atsakas buvo stipresnis sužadinto nei spontaninio aktyvumo metu ($p = 0,015$, ANOVA), be to daugiau neuronų rodo šį pokytį esant regimajam stimului ($23,3\%$ vs. $11,9\%$, $p = 0,003$, *chi-square* testas). Mes radome, kad judėjimas neįtakoja selektyvumo orientacijai (Pav. 15 C-F). Palyginus selektyvumo stimulo orientacijai kreives esant ar nesant judesiui, pastebėjome, kad kai kurių neuronų aktyvumas išauga multiplikatyviu būdu (Pav. 15 C). Nepaisant neuronų variabilumo, populiacijos vidurkis taip pat pademonstravo stiprinimo moduliaciją judėjimo metu (Pav. 15 D) ir padidėjusį atsako piką $34,1\% \pm 11,6$ (Pav. 15 E, $p = 0,011$, $N = 31$), tačiau nebuvo pastebėta selektyvumo pokyčių (Pav. 15 F, $p = 0,21$).



Pav. 15. Gyvūno judėjimas sustiprina pelės V1 neuronų atsako dažnius. A: Pavyzdinio neurono, registruoto V1 spontaninio aktyvumo metu, veikimo potencialų (VP) rastrai (viršuje) ir VP tankio funkcija (apačioje) sulygiuoti su judesio pradžios tašku. N = 116

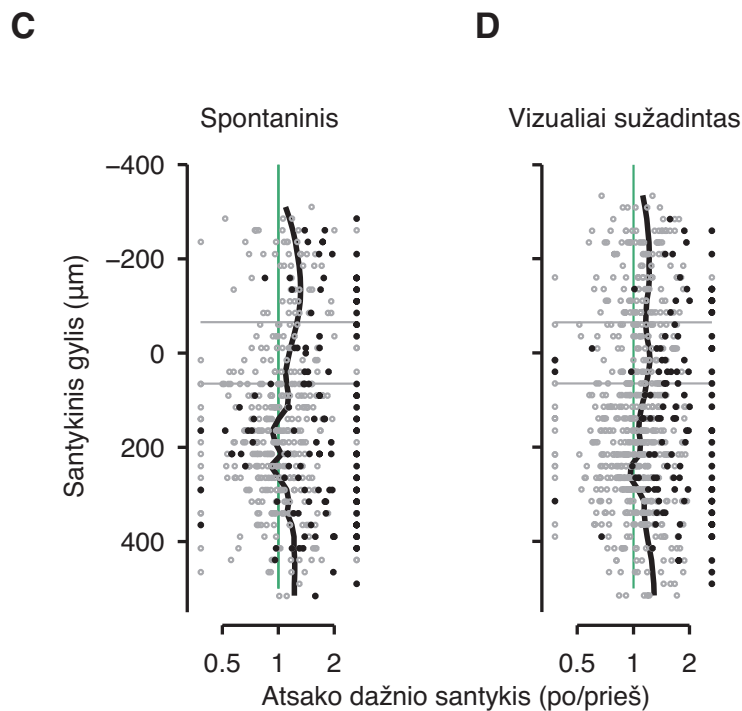
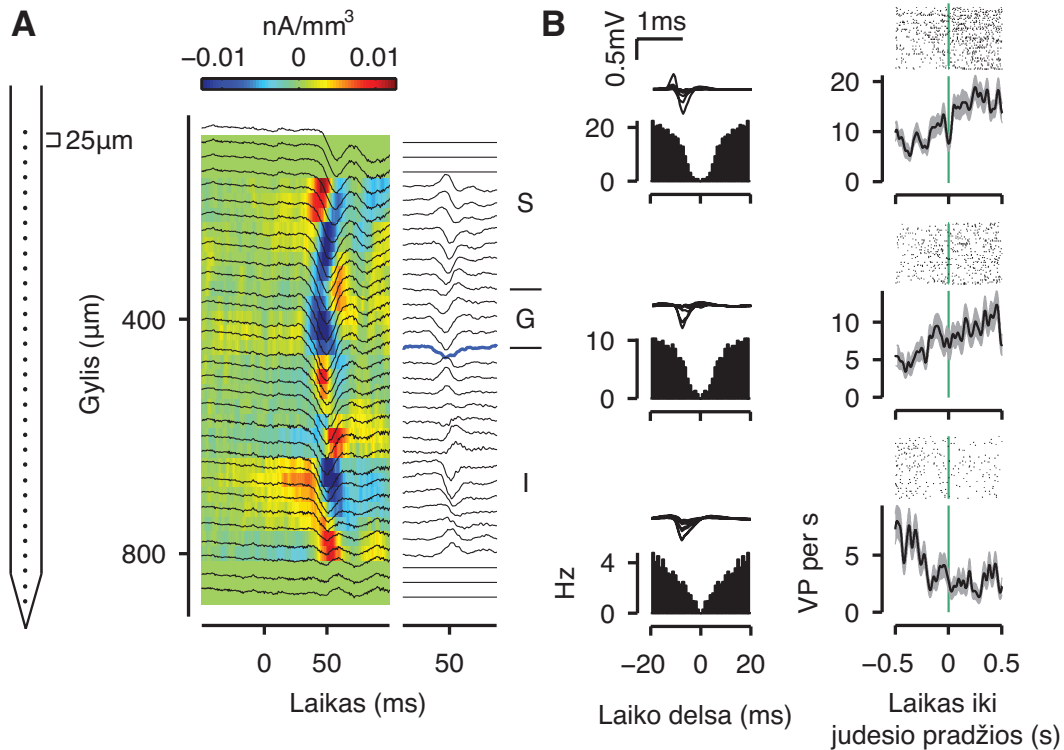
pradžią. B: Neuronų atsakų dažniai 500 ms lange prieš ir po gyvūno judėjimo pradžios esant spontaniniam aktyvumui (viršuje, N = 176) ir esant vizualiai sužadintam aktyvumui (apačioje, N = 232). C: Pavyzdinio neurono selektyvumas kryptčiai judesio (žalia) ir stacionarios (oranžinė) būsenos pakartojimuose. Ištininė linija – pritaikytas *Sum-of-Gaussians* modelis; brūkšninė linija – atsakas į vidutinio skaisčio pilką ekraną. D: Tas pats, kas pavaizduota C dalyje, tik suvidurkintos ir sulygiuotos pagal “mėgstamą” kryptį pritaikyto modelio kreivės populiacijoje. (N = 31). Įklija rodo populiacijos selektyvumo kreivę paskaičiuotą 10 laipsnių žingsniais judėjimo ir stacionarioje būsenų sąlygomis, juoda linija gauta apskaičiuojant regresiją $y = -0.55 + 1.35 * x$). E: Atsako pikas judėjimo vs. stacionariu periodais. F: Tas pats, kas pavaizduota E, tik apskaičiuotas selektyvumo plotis. Pavyzdinės ląstelės pavaizduotos raudonai, pilnaviduriai simboliai – neuronai, kuriuose moduliacijos buvo statistiškai patikimos; klaidos juostelės (angl. *error bars*) reprezentuoja standartinį nuokrypį nuo vidurkio.

2.2.2 Judesio sukeltos moduliacijos skirtinguose V1 sluoksniuose

Dauguma ankstesnių studijų, tyrusių su judesiu susijusias moduliacijas, labiausiai domėjosi viršutiniais V1 sluoksniais (Bennett et al 2013, Keller et al 2012, Niell & Stryker 2010), tad mes ištyrėme ar judėjimo įtaka turi sluoksninį pasiskirstymą. Tam, kad registruoti neuroninius atsakus visuose V1 sluoksniuose vienu metu, mes naudojome linijinius daugiakontakčius elektrodus ir atlikome vizualiai sužadintų LFP atsakų CSD analizę elektrodo kontaktų lokalizacijai žievėje nustatyti (Pav. 16 A). 4 sluoksnis buvo nustatomas pagal CSD poliariškumo inversiją ir pagal tai elektrodo kanalai buvo priskiriami supragranuliuotam, granuliuotam ir infragranuliuotam sluoksniams. Toliau mes įvertinome atsako dažnį sulyg judesio atsiradimu ir pastebėjome, kad duomenys buvo panašūs į pavaizduotus šio darbo 15 paveiksle - gyvūnui judant spontaninio aktyvumo metu stebimas atsako padidėjimas supragranuliuotame ir granuliuotame sluoksniuose (Pav. 16 B, viršutinė ir vidurinė dalys). Be šito padidėjimo, judesio pradžia sumažino aktyvumą kai kurių neuronų (Pav. 16 B, apatinė dalis), kurie, kaip manoma, susitelkę viršutinėje infragranuliuoto sluoksnio dalyje. Kokybiškai įvertinti šiuos skirtumus tarp sluoksnių populiacijoje, mes analizavome atsakų pasiskirstymą prieš ir po judesio atsiradimo. Mes radome, kad neuronai, esantys viršutinėje infragranuliuoto sluoksnio dalyje sumažina aktyvumą tiek spontaninio (Pav. 16 C, $p = 0,004$, *Kruskal-Wallis, interaction term*), tiek vizualiai

sužadinto aktyvumo metu (Pav. 16 D, $p < 0,001$, *Kruskal-Wallis, interaction term*). Ši, pakankamai didelė neuronų grupė, kuri sumažina atsakus judesio metu, panašu kad atsveria kituose sluoksniuose esančių neuronų su judesiu susijusių atsakų padidėjimą, tad suvidurkinus populiacijos atsakus, buvo stebimas tik nedidelis moduluojantis efektas. Mažas su judesiu susijusių atsakų skaičius viršutinėje infragranuliuoto sluoksnio populiacijoje, kurių aktyvumas judesio metu padidėdavo, neturėtų būti vertinamas kaip atsako moduliacijos trūkumas, bet, greičiausiai, kaip įvairovės padidėjimas.

Šis mažas infragranuliuoto sluoksnio neuronų su judesiu susijusios atsako moduliacijos vidurkis negali būti paaiškintas mažu atsako dažniu (kuris galėtų būti mažų moduliacijų priežastis), nes atsako dažnis infragranuliuotame sluoksnyje viršija supragranuliuoto sluoksnio aktyvumą (spontaninis aktyvumas: $7,6 \text{ VP/s} \pm 0,4$ vs. $5,0 \text{ VP/s} \pm 0,5$, $p = 0,003$; regimojo stimulo sužadintas aktyvumas: $8,1 \text{ VP/s} \pm 0,4$ vs. $5,9 \text{ VP/s} \pm 0,4$, $p = 0,004$, post-hoc analizė). Taip pat tai negali būti paaiškinta maža intimi, nes infragranuliuoto sluoksnio registruotų neuronų populiacija buvo didžiausia.



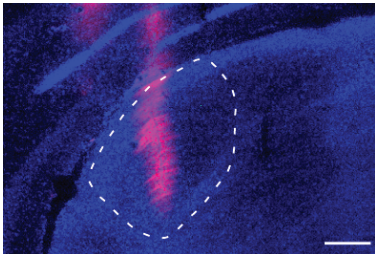
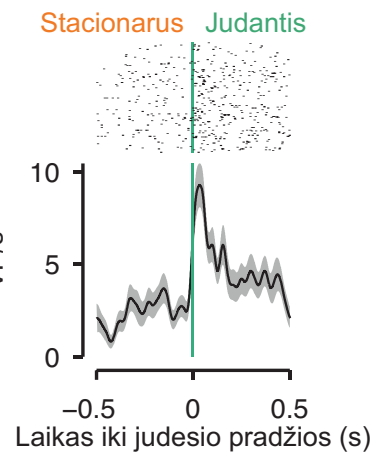
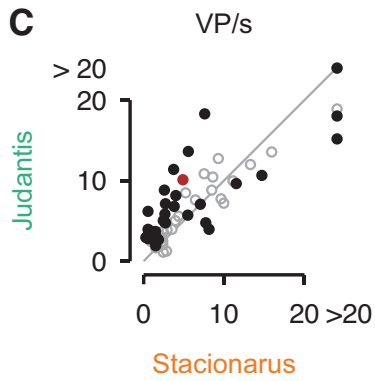
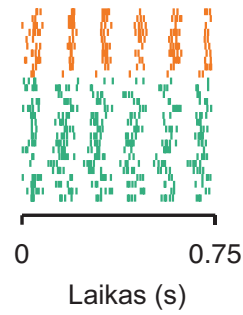
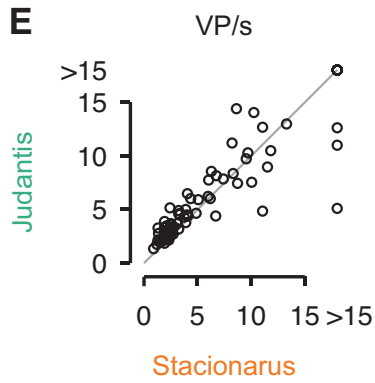
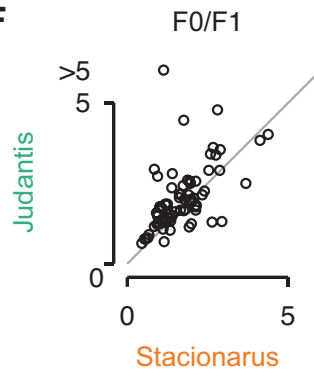
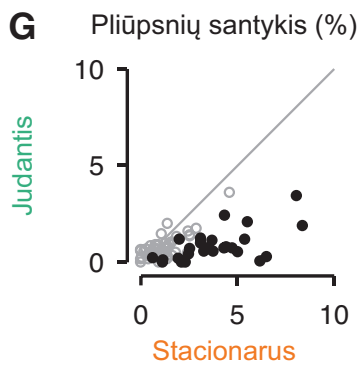
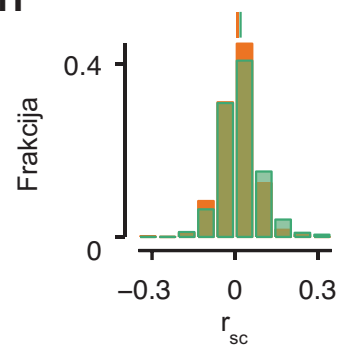
Pav. 16. Judesio inicijuotos moduliacijos infragranuliuotuose sluoksniuose yra įvairialypės. A: Kairėje: scheminis linijinio 32-kanalų elektrodo paveikslas. Viduryje: CSD paveikslas (spalvota) ir persidengiančios LFP kreivės (juoda). Dešinėje: CSD kreivės. Mėlyna pastorinta linija žymi CSD poliškumo inversiją, kuri žymi manomą apatinę 4 sluoksnio ribą. S: supragranulinis, G: granulinis, I: infragranulinis. B: Kairėje: numanomų sluoksnių reprezentacinių neuronų veikimo potencialų (VP) bangos ir

autokorelogramos. Dešinėje: Pavyzdinių neuronų VP rastrai ir VP tankio funkcijos sulgytuos su judesio pradžia spontaninio aktyvumo metu. N = 64 pradžios. C: Spontaninio aktyvumo santykis tarp 500 ms po ir 500 ms prieš judesio pradžią (abscisė) kaip santykinio gylio numanonam 4 sluoksniui funkcija (ordinatė). Juoda vientisa linija reprezentuoja bėgimo vidurkį; pilkos linijos žymi numanomas 4 sluoksniu ribas. Duomenų taškai už abscisės diapazono reprezentuoja reikšmes, mažesnes nei 0,5 ir didesnes nei 2. Juodi duomenų taškai atstovauja neuronus, kurių individualios moduliacijos buvo statistiškai patikimos. D: Tas pats, kaip ir C, tik vizualiai sužadinto aktyvumo metu.

2.2.3 Ar judesio sukeltos moduliacijos V1 kyla iš požievio struktūrų?

Toliau mes tyrėme ar judėjimo moduliacijos V1 kyla iš požievio struktūrų. Pirmiausia, mes registravome neuroninius atsakus pelės ŠKK (Pav. 17 A) ir radome, kad priešingai, nei buvo tikima, gyvūno judėjimas padidina neuronų atsako dažnį jau gumburo lygyje. 17 B paveiksle pavaizduota ŠKK ląstelė, kurios atsako dažnis trumpam padidėja sulyg judesio atsiradimu. Šitoks padidėjimas buvo būdingas registruotoms visame ŠKK ląstelėms (Pav. 17 C, $p = 0,0013$, $N = 93$ neuronai, *Wilcoxon signed-rank* testas), tačiau padidėjimas buvo mažesnis ir kintamesnis (mediana $11,5\% \pm 98,4$ m.a.d.) palyginus su atsako padidėjimu V1 (mediana $25,9\% \pm 25,4$ m.a.d.). Be to, kad neuroninis aktyvumas trumpam padidėja sulyg judesio atsiradimu, mes taip pat radome, kad ekrane pateiktos gardelės sukėlė didesnę neuroninio atsako dažnį, jei gyvūnas stimulo pakartojimo metu bėgo vs. ramybės būsenoje (Pav. 17 D, E). Įdomu, tačiau papildomi VP nebuvo glaudžiai susiję su laikiniu stimulo dažniu, nes F1 atsako komponentė liko nepakitusi judėjimo ir ramybės sąlygomis ($p = 0,95$, *Wilcoxon signed-rank* testas). Visa tai kartu vedė į F0/F1 santykio medianos padidėjimą judėjimo metu (Pav. 17 F, $p < 0,001$, *Wilcoxon signed-rank* testas), kas rodo, kad atsako dažnio padidėjimas buvo nebūtinai specifinis laikui. Pakartojant ankstesnius rezultatus (Niell & Stryker 2010), mes taip pat pastebėjome, kad judėjimo metu sumažėjo neuronų VP pliūpsnių skaičius ($2,0\% \pm 0,2$ vs. $0,7\% \pm 0,09$, $p < 0,001$, $N=73$ neuronai; Pav. 17 G). Kadangi mes radome judėjimo poveikį neuroninio atsako dažniui, tiek ŠKK, tiek V1, toliau mes tyrėme ar V1 neuronų populiacijos judesio sukelta dekoreliacija taip pat stebima jau gumburo

lygyje. Mes apskaičiavome VP koreliacijas ŠKK ląstelių poroms spontaninio aktyvumo metu (Pav. 17 H) ir radome šiek tiek didesnę koreliaciją judesio metu palyginus su ramybės periodais ($r_{sc} = 0,02 \pm 0,003$ vs. $0,01 \pm 0,003$, $p < 0,001$). Peršasi išvada, kad tarpneuroninės koreliacijos sumažėjimas V1 nekyla iš dekoreliuotų tiesioginio perdavimo gumburo įėjimo, bet, greičiausiai, atsiranda pačioje žievėje.

A**B****C****D****E****F****G****H**

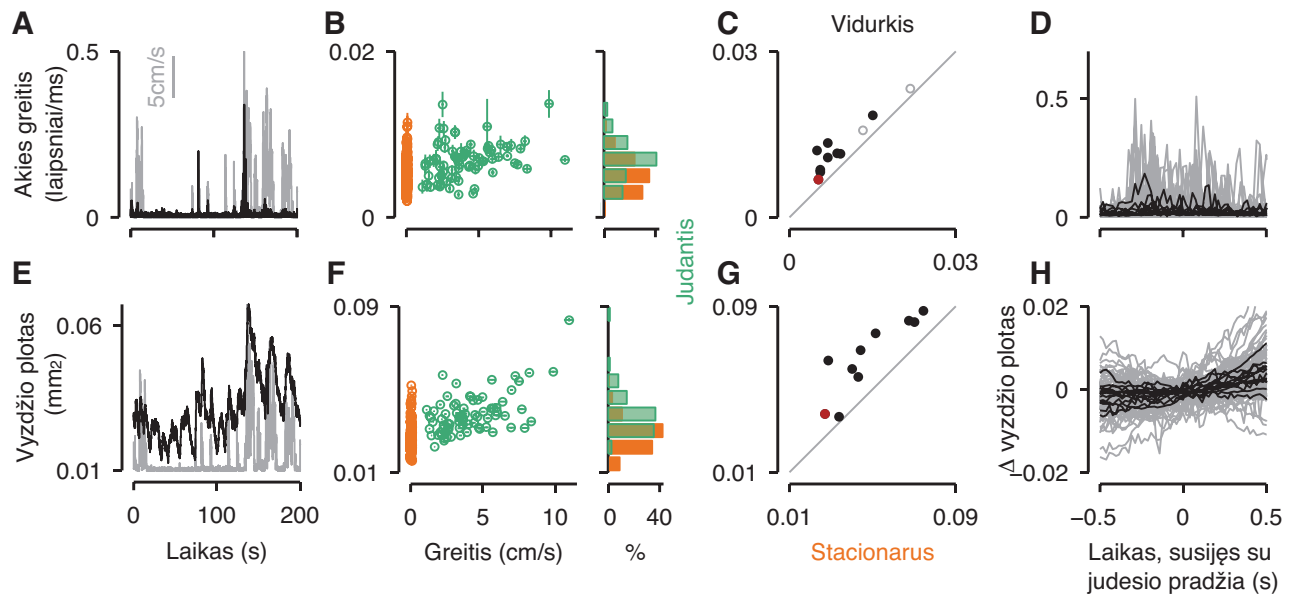
Pav. 17. Judėjimo poveikis gumburo lygmenyje. A: Koronalinis smegenų pjūvis; šoninis kelinis kūnas (ŠKK) apvestas baltu kontūru. Mėlyna, DAPI; raudona, DiD. Mastelio juosta 200 μm. B: Pavyzdinio ŠKK neurono VP rastras (viršuje) ir VP tankio funkcija (apačioje) sulygiuotos su judesio pradžia. N = 130 pradžių. C: Atsako dažniai 0,5 s prieš vs. 0,5 s po judesio pradžios (N = 93 neuronai). D: Pavyzdinio neurono VP rastrai pateikus judančias gardeles. Pakartojimai suskirstyti į periodus gyvūnui judant (žalia) ir stacionarioje būsenoje (oranžinė). N = 28 pakartojimai. E: Vidutinis atsako dažnis skirtingų pakartojimų metu į pilno kontrasto (100%) gardeles gyvūnui judant (žalia) ir stacionarioje būsenoje (oranžinė) (N = 73 neuronai). F: Tas pats, kas pavaizduota E dalyje, tik F1/F0 atsako komponentų santykiui. G: Tas pats, tik pliūpsnių santykiui. H: VP skaičiaus koreliacijų pasiskirstymas populiacijoje tarp vienu metu registruotų neuronų porų (N = 628) spontaninio aktyvumo metu judėjimo (žalia) ir stacionarioje (oranžinė) būsenose.

2.2.4 Judėjimas ir vyzdžio dydis

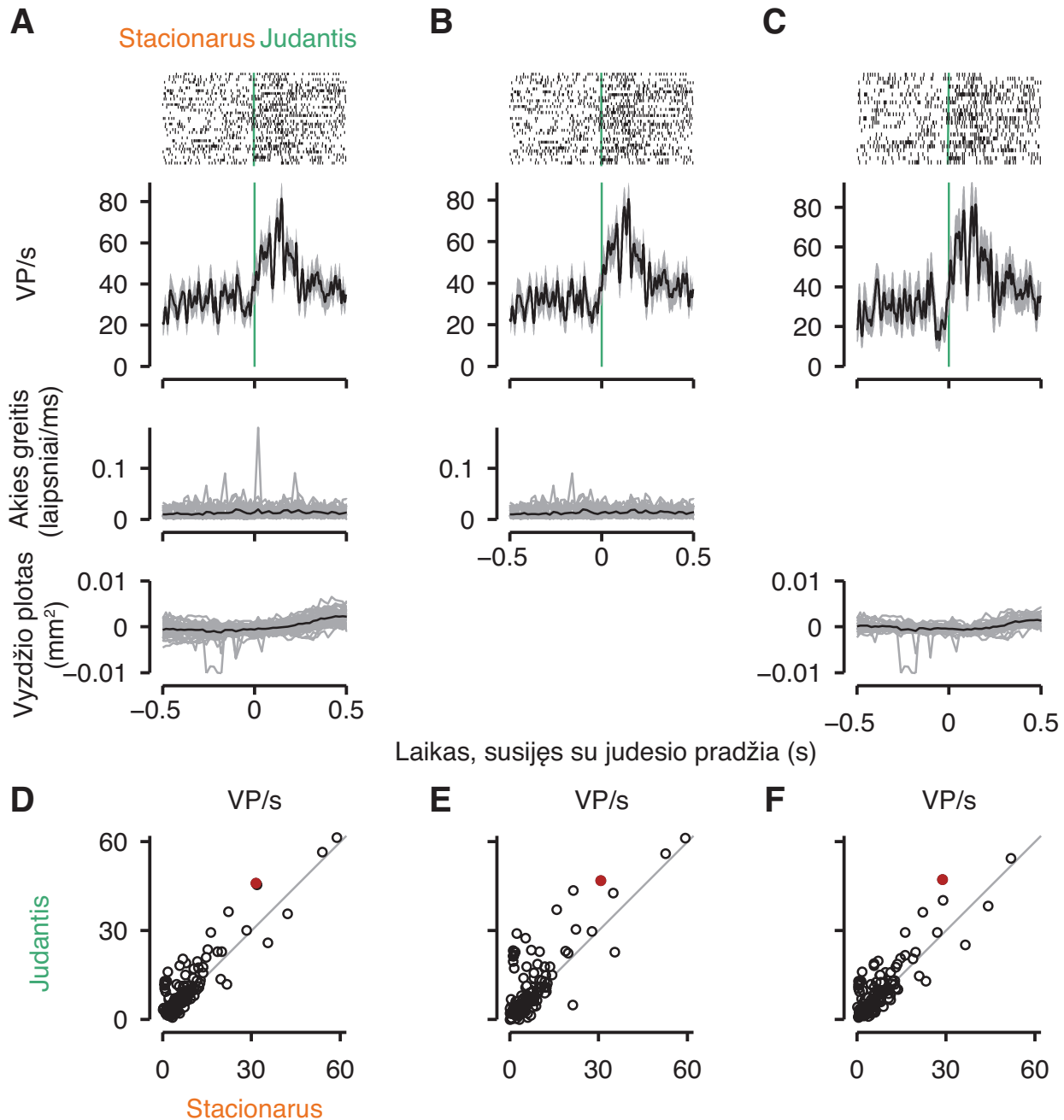
Žinodami, kad vyzdžio dydis yra patikima žymė dėmesingumo būsenai nustatyti, galiausiai mes iškėlėme klausimą, ar gyvūno judėjimo įtaka gali būti stebima akyje (Pav. 18). Dėmesio tyrimai, atlikti su žmonėmis, ilgai pasiklovė vyzdžio išsiplėtimu esant nuolatiniam apšvietimui, kaip neinvaziniu metodu dėmesingumui stebėti (Bradshaw 1967). Panaudodami vaizdo kamerą ir infraraudonųjų spindulių apšvietimą, mes išmatavome vyzdžio padėtį bei dydį esant pilkam ekranui ir pasikeitimus koreliavome su pasikeitimais gyvūno būsenoje.

Eksperimento metu fiksuojant galvą pastebėjome, kad sakadų dažnis buvo gana mažas (0,94 Hz ± 0,29); tačiau, vis vien, sakados buvo dažnesnės gyvūnui judant (1,54 Hz ± 0,29) lyginant su ramybės (stacionariais) periodais (0,34 Hz ± 0,23, p < 0,001; Pav. 18 A-D). Labiau nustebino rezultatai, gauti detaliau pažvelgus į priklausomybę tarp vyzdžio dydžio ir gyvūno bėgimo greičio (Pav. 18 E). Tai ištirti mes kiekvieną vidutinį greitį judėjimo ir ramybės būsenose palyginome su vidutiniu vyzdžio dydžiu atitinkamose būsenose (Pav. 18 F, Pirsono koreliacija = 0,56, p < 0,001 gyvūnui judant). Nors vyzdžio dydis gana plačiai varijavo, mes pastebėjome, kad šio, konkretaus, eksperimento metu vidutinis vyzdžio plotas buvo didesnis (39,7%, p < 0,001, dviejų imčių t-testas) gyvūnui judant nei stacionarioje būsenoje. Šis efektas buvo būdingas visų eksperimentų metu: lyginant su stacionaria gyvūno būseną,

judėjimo metu vyzdys buvo $\sim 45,0\% \pm 9,1$ didesnis (Pav. 18G, $p < 0,001$). Mes taip pat pastebėjome, kad sulyginus vyzdžio duomenis su judesio pradžiomis, vyzdys gyvūnui inicijuojant judesį išsiplečia (Pav. 18 H). Tai buvo stebima tiek individualių judesio pradžių metu (Pav. 18H, pilkos kreivės), tiek tarp skirtingų eksperimentų (Pav. 18 H, juodos kreivės). Nei vyzdžio išsiplėtimas, nei akių judesiai negalėjo paaiškinti trumpalaikio judėjimo poveikio ŠKK ar V1 (Pav. 19).



Pav. 18. Judėjimo poveikis akies greičiui ir vyzdžio dydžiui. A: Akies greičio (juoda) ir judėjimo greičio (pilka) laike pavyzdys. B: Vidutinio akies greičio periodai gyvūnui judant (žalia) ir stacionarioje būsenoje (oranžinė), kaip vidutinio judėjimo greičio per periodą funkcija. Dešinėje: akies greičio pasiskirstymas. $N = 160$ periodų. C: Akies greičio reikšmių išsibarstymo vidurkis judėjimo ir stacionarios būsenos perioduose, $N = 13$ įrašų sesijų. D: Judesio pradžios inicijuotas akies greitis. Pilkos linijos reprezentuoja individualias pradžas, juodos linijos – sesijų vidurkiai. Klaidos juostelės nurodo \pm s.e.m. E: Vyzdžio dydžio (juoda) ir judėjimo greičio (pilka) laike pavyzdys. F: Vidutinio vyzdžio dydžio periodai gyvūnui judant (žalia) ir stacionarioje būsenoje (oranžinė), kaip vidutinio judėjimo greičio per periodą funkcija. Dešinėje: ribiniai vyzdžio dydžio skirstiniai. $N = 160$ periodų. G: Vyzdžio dydžio reikšmių išsibarstymo vidurkis judėjimo ir stacionarios būsenos perioduose, $N = 13$ įrašų sesijų. H: Judesio pradžios inicijuotas vyzdžio dydis. Pilkos linijos reprezentuoja individualias pradžas, juodos linijos – sesijų vidurkiai.



Pav. 19. Neuroniniai atsakai į gyvūno judėjimo pradžias pašalinus pakartojimus, kurių metu stebėtos sakados ar išsiplėtęs vyzdis. A: Judesio inicijuotas atsakas pavyzdiniame neurone (viršuje), akies greityje (viduryje) ir vyzdžio plote (apačioje). Visi pakartojimai. B: tas pats, tik pašalinus pakartojimus kurių metu stebėtos sakados. C: Tas pats, tik pašalinus 30% pradžių su stipriausiais vyzdžio išsiplėtimais. D: Visų neuronų atsakai prieš ir po judėjimo pradžios (N = 188). E: Tas pats, tik pašalinus pakartojimus kurių metu stebėtos sakados. F: tas pats, tik pašalinus 30% pradžių su stipriausiais vyzdžio išsiplėtimais. Klaidos juostelės nurodo +/- s.e.m.

3 Diskusija

Šio darbo tikslas yra ištirti kaip stimulo parametrai ir gyvūno elgsena keičia regimosios informacijos apdorojimą pelės ankstyvojoje regos sistemoje. Vienas iš aktualiausių šiuolaikinių regos tyrimų klausimų - kaip žieviniai neuronai įgauna jiems būdingas atsako savybes. Vyrauja bendras sutarimas, kad tame gali dalyvauti daugelis skirtingų mechanizmų, tačiau, nėra aišku, kokia yra kiekvieno jų įtaka.

Stimulo parametrai gali moduluoti regimuosius atsakus juos slopindami. Be to, neuroninius atsakus veikia ne tik stimulo parametrai, bet ir elgsena. Tyrimų su primatais metu pastebėta, kad vienas tokių moduliatorių gali būti selektyvus dėmesys (pvz., (Roberts et al 2007)). Potencialiai panašus reiškinys graužikuose stebimas kai informacijos apdorojimas vyksta skirtingose smegenų aktyvumo būsenose (pvz., (Harris & Thiele 2011)). Tačiau kaip dėmesingumas ar aktyvi būseną keičia sensorinės žievės neuroninius atsakus ir įtakoja suvokimo sprendimus?

Šiame darbe aprašome kaip išorinis slopinimas (stimulo parametrai – vidinis kontekstas) ir smegenų budrumo būseną (elgsena – išorinis kontekstas) keičia neuroninius atsakus į regimąjį stimulą. Mes susitelkėme ne tik į anestezijos ir budrumo būsenas, bet taip pat budrumo būseną suskirstėme į judėjimo ir ramybės (stacionarią). Atlikdami šiuos tyrimus mes naudojome *in-vivo* užląstelinės neuronų registracijos ir neuroninių grandinių suardymo (optogenetinė fotostimuliacija) metodus pelėse.

3.1 I diskusijos dalis: “Išorinis slopinimas pelės pirminėje regos žievėje: priklausomybė nuo žievės sluoksnio ir anestezijos”

Mes tyrėme pelių V1 erdvinės sumacijos sluoksninį profilį ir PV+ interneuronų įtaką. Analogiškai, kas yra matoma aukštesnės eilės žinduoliuose, mes taip pat pademonstravome, kad daugeliui pelės V1 neuronų būdingas išorinis slopinimas, kuris labiausiai išreikštas viršutiniuose žievės sluoksniuose. Erdvinė sumacija stipriai

priklauso nuo smegenų budrumo būsenos: izofluranu/uretanu anestezuotų gyvūnų erdvinės sumacijos priklausomybė nuo sluoksnio susilpnėja, išorinis slopinimas sumažėja, RL centro skersmuo padidėja ir atsakai tampa lėtesni ir ilgesni. Ši smegenų budrumo lygio įtaka erdvinei sumacijai iš dalies gali būti paaiškinta darant prielaidą, kad anestezija veikia kontrasto normalizaciją V1. Galiausiai, mes pristatome rezultatus, kad optogenetinė PV+ interneuronų depoliarizacija veikia erdvinę sumaciją padidindama RL skersmenį ir susilpnindama išorinį slopinimą, kas, viską sudėjus kartu, primena sumažinto stimulo kontrasto poveikį.

Mūsų neuronų registracija anestezuotose gyvūnuose ir erdvinės sumacijos charakteristikos pakartojo anksčiau aprašytą centro-periferijos sąveiką pelės V1. Mes radome, kad anestezijos metu RL centro (mediana = 32.4° skersmens) ir periferijos dydžiai (mediana = 98.7° skersmens) palyginami su anksčiau publikuotais (medianos 28.85° ir 92.5°), taip pat, nerasta slopinimo intensyvumo priklausomybės nuo žievės sluoksnio (Van den Bergh et al 2010). Šių parametrų priklausomybės nebuvimas pateikus aukšto kontrasto regimąjį stimulą kontrastuoja su duomenimis, gautais aukštesnės eilės gyvūnų modeliuose, kur, paprastai, išorinis slopinimas yra labiausiai išreikštas paviršiniuose sluoksniuose (Levitt & Lund 2002, Sceniak et al 2001, Shushruth et al 2009).

Mūsų rezultatai, gauti naudojant budrius gyvūnus, buvo visiškai kitokie nei naudojant anesteziją, bet, nepaisant didesnio pelių RL-ų skersmens, buvo panašūs į duomenis, gautus naudojant aukštesnės eilės žinduolius. Mes pastebėjome, kad budrių gyvūnų V1 erdvinė sumacija priklauso nuo žievės sluoksnio: RL centro skersmuo mažiausias ir išorinis slopinimas stipriausias viršutiniuose sluoksniuose.

Neseniai publikuoti moksliniai darbai, atlikti supragranuliuotame V1 sluoksnyje, parodė konkrečias erdvinės sumacijos tarpžievines grandines, kur svarbiausi yra SOM+ interneuronai (Adesnik et al 2012). SOM+ interneuronai apima *Martinotti* ląsteles, kurios turi aksonų kolaterales pirmame V1 sluoksnyje ir sudaro sinapsinius ryšius su toli esančiais piramidinių ląstelių dendritais (Silberberg & Markram 2007, Wang et al 2004). 2/3 sluoksnių SOM+ interneuronai dažniausiai inervuojami

horizontalių žievėje esančių aksonų ir, skirtingai nei piramidinės ląstelės, neturi išorinio slopinimo (Adesnik et al 2012). Netgi atvirksčiai, SOM+ neuronų atsako dažnis padidėja, kai stimuliuojama RL periferija ir tai leidžia šioms ląstelėms didėjant pateikto stimulo dydžiui, reguliuoti piramidinių ląstelių atsako dažnį (Adesnik et al 2012). Šios neuroninės grandinės, tikėtina, atsakingos už ganėtinai stiprų išorinį slopinimą paviršiniuose sluoksniuose, kurių mes stebėjome ir savo eksperimentų metu. Mūsų duomenys rodo, kad PV+ interneuronai taip pat prisideda prie erdvinės sumacijos pelės V1, bet, greičiausiai, netiesiogiai, bendrai veikdami stimulo sužadynamumą. PV+ neuronai dažniausiai yra greitai veikimo potencialą generuojantys slopinantys interneuronai, kurių taikynys – ląstelės kūnas (apžvelgta (Markram et al 2004)). Yra parodyta, kad šie neuronai žievėje dalyvauja tiesioginio perdavimo slopinime (pvz., (Swadlow 2003, Yoshimura & Callaway 2005)). Mes parodėme, kad, skirtingai nei SOM+, PV+ interneuronai turi būti depoliarizuoti tam, kad sumažintų išorinį slopinimą. Padidinus PV+ neuronų aktyvumą, greičiausiai, jie kontroliuoja bendrą atsaką neuroniniame tinkle ir taip sumažina sužadynamumą stimului. Mūsų ištirtas PV+ interneuronų poveikis erdvinei sumacijai iš tiesų turi panašų efektą, kaip ir sumažintas pateikto stimulo kontrastas (taip pat žiūrėti: (Nienborg et al 2013)). Kartu su bendra stimulo sužadynamumo moduliacija, pastaruoju metu pradėdama tikėti, kad PV+ interneuronai dalyvauja stiprinimo kontrolėje (Atallah et al 2012, Ma et al 2010, Wilson et al 2012).

Ar interneuronai tuo pačiu būdu sąveikauja ir dalyvauja erdviniame sumavime primatuose, dar nėra aišku. Beždžionės V1 orientacijos selektyvumo išorinis slopinimas, kartu su orientacijos nebuvimu ankstyvuosiuose regos sistemos lygiuose buvo kaip įrodymas, kad tarpžieviniai neuroniniai tinklai ir grįžtamasis ryšys yra pagrindiniai erdvinės sumacijos veiksniai (Angelucci & Bressloff 2006). Neseniai buvo parodyta, kad pelių ŠKK neuronai yra selektyvūs orientacijai (Cruz-Martin et al 2014, Marshel et al 2012, Piscopo et al 2013). Šis pastebėjimas iliustruoja galimus skirtumus tarp gyvūnų rūšių tiesioginio perdavimo, šoninio ir grįžtamojo ryšio grandinių vaidmens išoriniam slopinimui.

Reikėtų atsargiai vertinti tiesioginių RL dydžių ir slopinimo intensyvumo palyginimą tarp šiame darbe aprašyto pelių V1 ir ankstesniuose darbuose kačių ir beždžionių V1, visų pirma, dėl metodinių skirtumų. Ankstesni erdvinės sumacijos darbai atlikti su aukštesnės eilės žinduoliais dažniausiai buvo daromi naudojant registraciją iš vienos ląstelės ir optimizavus stimulo parametrus (orientaciją, erdvinį ir laikinį dažnius) konkrečiam neuronui, iš kurio registruojamas nervinis atsakas. Tai skiriasi nuo mūsų atliktų eksperimentų, kurių metu mes vienu metu įrašinėjome daugelio neuronų aktyvumą ir pritaikėme daugumoje elektrodo kanalų registruotų neuronų suvidurkintus “mėgstamus” stimulo parametrus. Yra darbų, kurie aprašo stimulo orientacijos, erdvinio dažnio ir pozicijos svarbą apskaičiuojant erdvinę sumaciją (pvz., (Osaki et al 2011, Shushruth et al 2012, Tailby et al 2007)). Taigi, kiek mažesnis nei idealus atitikimas tarp stimulo savybių bei neuronų “mėgstamų” parametrų galėjo įtakoti mūsų rezultatų variabilumą. Nepaisant to, mūsų duomenys gauti naudojant anestezuotus gyvūnus sutampa su tais, kuriuos gavo Van den Bergh et al., (2010), kurie registravo pavienius neuronus ir pritaikė stimulo savybes konkrečiam neuronui. Tai rodo, kad mūsų procedūros neturi sisteminių paklaidų.

Mes taip pat aprašėme, kad izoflurano/uretano anestezija stipriai veikia neuroninių atsakų savybes regos žievėje. Izofluranas dažnai buvo vengiamas regos tyrimuose dėl tokių šalutinių poveikių kaip laikinio profilio pakitimas sinapsių perdavime (Ries & Puil 1999), bendro neuroninio aktyvumo redukcijos (Villeneuve & Casanova 2003) ir sumažėjusio jautrumo kontrastui (Solomon et al 1999). Bet, nepaisant to, izofluranas yra dažnai naudojamas anestezuotų regos tyrimų metu (pvz., (Bonin et al 2011, Runyan et al 2010, Smith & Hausser 2010)), nes tai leidžia preciziškai reguliuoti anestezijos gylį net dirbant su tokio mažo gyvūnu, kaip pelė. Kitas populiarus anestetikas tokiuose tyrimuose su graužikais – uretanas (pvz., (Niell & Stryker 2008, Van den Bergh et al 2010)), kuris sumažina bendrą neuronų sužadynamumą (Girman et al 1999, Sceniak & Maciver 2006) nekeisdamas sinapsinio perdavimo ir nekeisdamas neuronų selektyvumo savybių (Sceniak & Maciver 2006). Atsižvelgiant į šiuos faktus, būtų galima visus smegenų būsenos efektus išoriniam slopinimui

pirmiausia priskirti izofluranui. Tačiau, kontrolinių eksperimentų metu, naudojant tik uretaną, mes pastebėjome nors ir mažiau, bet vis tik susilpnėjusį slopinimo efektą ir mažesnę jautrumą stimulo kontrastui lyginant su eksperimentais, atliktais su budriais gyvūnais. Mes padarėme išvadą, kad išorinis slopinimas negali būti pilnai iširtas esant izoflurano ar uretano anestezijai (taip pat žiūrėti (Adesnik et al 2012, Haider et al 2013)).

Mūsų duomenys, rodantys stiprią smegenų budrumo lygio moduliaciją stimulo dydžio selektyvumui, sutampa su neseniai publikuotais duomenimis, kurie buvo atlikti viduląsteliniu neuronų registracijos metodu pelės V1 (Haider et al 2013). Autoriai parodė, kad chlorprotikseno (angl. *chlorprothixene*) ir izoflurano ar uretano anestezijos metu atsakai buvo pastovūs laike ir plačiai erdviškai išsibarstę lyginant su atsakais registruotais budriuose gyvūnuose. Jų sinapsinio laidumo registracija atskleidė, kad slopinimo vyravimas budrumo būsenoje yra atsakingas už laikinius ir erdvinius atsakų apribojimus.

Mes iškėlėme hipotezę, kad erdvinės sumacijos skirtumai tarp budrių ir anestezuotų smegenų kyla dėl anestezijos metu sumažinto slopinimo, kuris keičia kontrasto normalizacijos mechanizmus. Kontrasto normalizacija jau buvo naudota kaip sėkmingas modelis išoriniam slopinimui tirti (Carandini & Heeger 2012). Primatų ir kačių V1, centro-periferijos sąveikos erdvinės ir laikinės savybės priklauso nuo regimojo stimulo kontrasto (Kapadia et al 1999, Sadakane et al 2006, Sceniak et al 1999, Schwabe et al 2010, Webb et al 2005). Šiame darbe mes parodėme, kad panašiai stimulo kontrastas įtakoja išorinį slopinimą ir pelių V1, kur žemesnis stimulo kontrastas lemia didesnius RL centro dydžius ir silpnesnį slopinimą (taip pat žiūrėti (Ayaz et al 2013, Nienborg et al 2013)). Kadangi anestezija iš esmės sumažina jautrumą stimulo kontrastui, slopinimo susilpnėjimas ir lėtesnė atsakų trukmė anestezijos metu gali būti siejama su anestezijos poveikiu kontrasto normalizacijai: pateiktas pilno (100%) kontrasto stimulus gali sukelti atsakų lygį, kuris būtų palyginamas su budriuose gyvūnuose registruotais atsakais į mažesnio kontrasto stimulą.

Mes padarėme išvadą, kad pelės V1 yra vertinga modelinė sistema erdvinės sumacijos neuroninių grandinių mechanizmams regos žievėje tirti. Vien tarpžievinių slopinančių neuronų, kurie formuoja erdvinę sumaciją keliais skirtingais būdais, yra aprašytos bent dvi sistemos – SOM+ ir PV+ slopinantys neuronai. Genetinių metodų pritaikymas ateityje gali padėti suprasti tiesioginio perdavimo, tarpžievines ir grįžtamojo ryšio tarpusavio sąveikas.

3.2 II diskusijos dalis: Judėjimo, kaip dėmesio požymius primenančio reiškinio poveikis pelių ankstyvajai regos sistemai

Šioje dalyje mes tyrėme judėjimo poveikį V1 ir ŠKK neuronų populiacijų atsakams ir pristatome tris pagrindinius atradimus: Pirmiausia, be to, kad judėjimas didina individualaus neurono aktyvumą, gyvūno judėjimas sumažina tarpneuronines V1 neuronų atsakų koreliacijas populiacijos lygyje. Antra, gyvūnui judant padidėja atsakų dažnis ŠKK, judėjimo sukelta neuronų populiacijos atsakų dekoreliacija būdinga tik žieviniams neuronams. Trečia, didėjant gyvūno judėjimo greičiui, išsiplečia vyzdys. Anksčiau šie pastebėjimai nebuvo aprašyti.

Daugelis sutinka, kad judesiai sustiprina vizualiai sužadintus atsakus viršutiniuose V1 sluoksniuose, tačiau koks gyvūno judesių poveikis spontaniniam aktyvumui – ginčytina. Kelios mokslinės studijos rodo su judesiu susijusio spontaninio aktyvumo padidėjimą (Andermann, 2013; Ayaz, 2013; Keller, 2012; Saleem, 2013), kitos nerado jokių pokyčių veikimo potencialų generavimui (Niell & Stryker 2010) ar piramidiniams neuronams (Polack et al 2013), kitose net aprašomas aktyvumo sumažėjimas (Bennett et al 2013). Mūsų darbas padeda išaiškinti šį klausimą pateikdamas aiškius įrodymus, kad gyvūnui judant spontaninis aktyvumas padidėja. Mes manome, kad viena priežasčių, dėl ko gaunami tokie įvairūs rezultatai, yra skirtingos populiacijų imtys ir skirtingi analizės metodai. Net viršutiniuose V1 sluoksniuose mes radome heterogenišką efektą: lokomocija veikė neuronus teigiamai,

neigiamai ar visai nedarė įtakos. Dėl mažų imčių gali būti sunku stebėti pastovias moduliacijas. Be to, su judesiu susijusios moduliacijos gali būti geriausiai atkleistos naudojant judesio inicijuotą analizę (angl. *locomotion-triggered*), kuri daugelyje studijų nebuvo taikyta. Mes parodėme, kad spontaninio aktyvumo metu, judėjimo poveikis interneuroninėms VP koreliacijoms yra didžiausias. Taigi, mes darome išvadą, kad judėjimas gali daryti didelę įtaką VP generavimo aktyvumui, net esant spontaniniam neuronų aktyvumui.

Dauguma mokslinių darbų aprašo su judesiu susijusias atsakų moduliacijas tik paviršiniuose sluoksniuose (Bennett et al 2013, Keller et al 2012, Niell & Stryker 2010, Polack et al 2013). Kaip rodo mūsų registracija iš visų sluoksnių, tai nėra blogas pasirinkimas, nes didžiausias su judesiu susijęs poveikis atsakams išties matomas viršutiniuose sluoksniuose. Apskritai, užgranuliniai sluoksniai yra grįžtamųjų ryšių "taikynys" (Douglas & Martin 2004, Felleman & Van Essen 1991, Rockland & Pandya 1979). Be moduliacijų paviršiniuose sluoksniuose, mes taip pat randame su judesiu susijusius atsako dažnio pokyčius granuliuotame sluoksnyje. Šie pastebėjimai kartu su mūsų duomenimis, kad gyvūnui judant, matomas ŠKK neuronų atsako dažnio pastiprėjimas, verčia pagalvoti apie tiesioginio perdavimo įnašą į judėjimo sukeltą poveikį pirminėje regos žievėje. Remiantis šiais rezultatais, taip pat galime interpretuoti su judesiu susijusių membranos depoliarizaciją 4 žievės sluoksnyje (Polack et al 2013), kuri, bent iš dalies, gali atspindėti padidėjusį ŠKK neuronų išėjimo signalą. Galiausiai, neseniai publikuotas mokslinis darbas, atliktas dviejų fotonų kalcio vaizdinimo metodu, pademonstravo giliuosiuose sluoksniuose esančius neuronus su stipriu išoriniu slopinimu judesio pradžioje (Andermann et al 2013). Šis pastebėjimas sutampa su mūsų duomenimis, kad su judesiu susiję atsakai yra įvairialypiai ir sutampa išoriškai slopinamų ląstelių sąlyginis žievės gylis. Tačiau vis dar nėra aišku kaip judesių sukeltas neuroninių atsakų išorinis slopinimas giliuosiuose sluoksniuose galėtų pakisti į su judesiu susijusius padidėjusius atsakus kituose žievės sluoksniuose. Visgi, išorinį slopinimą turinčių ląstelių paplitimas infragranuliuotuose sluoksniuose puikiai sutampa su rezultatais, kurie rodo, kad 6 sluoksnio aktyvumo sumažėjimas

daro įtaką stiprinimo padidėjimui viršutiniuose sluoksniuose (Olsen et al 2012). Pionieriniame darbe apie judėjimo įtaką regos struktūrų aktyvumui Niell ir Stryker (Niell & Stryker 2010) teigė, kad gyvūno judėjimo sustiprinti neuroniniai atsakai būdingi tik regos žievės neuronams. Čia mes prieštaraujame šiam teiginiui pateikdami aiškius įrodymus, kad judesiai gali sustiprinti neuroninius atsakus net pelės ŠKK. Kadangi mūsų rasti su judesiu susiję pokyčiai ŠKK mažesni ir variablesni nei V1, nėra keista, kad iki šiol šie pokyčiai nebuvo aprašyti. Bet naudojant anksčiau šiai neuronų populiacijai nenaudotą judesio inicijuotų suvidurkintų atsakų (angl. *Locomotion-triggered average response*) analizę, pokyčiai gali būti aptinkami net pavieniuose ŠKK neuronuose. Nepaisant šio pastebėjimo, mūsų duomenys sutampa su Niell ir Stryker rezultatais (Niell & Stryker 2010), kad gyvūnui judant, sumažėja ŠKK neuronų pliūpsninis aktyvumas. Be to, kaip ir Niell ir Stryker, mes taip pat radome statistiškai nepatikimą atsako komponentės skirtumą į skirtingus laikinio dažnio stimulus. Tai parodo, kad padidėjęs atsakas ŠKK gyvūnui judant, nėra laikiniai specifiškas. Tačiau vis dar atviras klausimas, kur pirmiausia gyvūno judesių sukeltos ŠKK atsako moduliacijos atsiranda - ŠKK ar atspindi L6 žievės – gumburo grįžtamąjį ryšį (Sillito et al 2006) ir kokia kitų požievinių kelių įtaka (Saalmann & Kastner 2009).

Keista, tačiau stebėtina didelė priklausomybė tarp gyvūno judėjimo ir vyzdžio dydžio iki šiol nebuvo plačiai nagrinėta. Yra tik plačiai žinomi tyrimai su žmonėmis, kurių metu buvo tiriama priklausomybė tarp vyzdžio išsiplėtimo ir budrumo būsenos (Bradshaw 1967, Yoss et al 1970). Vyzdžio išsiplėtimas esant nuolatiniam apšvietimui yra viena orientacinio atsako komponentė, kuri parengia organizmą reagavimui į kritiškai pasikeitusią aplinką (Sokolov 1963). Tačiau kokia yra funkcinė vyzdžio išsiplėtimo reikšmė vaizdo apdorojimui? Viena prielaidų yra ta, kad vyzdžio išsiplėtimas gali padidinti regos jautrumą (Lynn 1966, Wang et al 2012). Nors vyzdžio išsiplėtimas dažniausiai siejamas su geresniu užduoties atlikimu, eksperimentų metu gauti rezultatai yra gana išsibarstę (Nieuwenhuis et al 2010, Wang et al 2012). Pelės vyzdžio išsiplėtimas gali padidinti tinklainės apšvietimą daugiau nei 20 kartų (Pennesi

et al 1998). Yra žinoma, kad efektyvus stiprinimo kontrolės mechanizmas prasideda jau ankstyvuosiuose vaizdo apdorojimo etapuose (Carandini 2012).

Pastaraisiais metais paskelbtos dvi mokslinių darbų apžvalgos (Harris & Thiele 2011, Maimon 2011) iškėlė gana provokuojančią hipotezę, kad graužikuose tirtas nuo budrumo priklausantis informacijos apdorojimas gali įtraukti tokius procesus kaip dėmesys, tirtus primatuose. Mūsų darbe mes tiesiogiai patikrinome šią hipotezę ir gauti rezultatai patvirtino, kad visi tirti judėjimo efektai iš tiesų panašūs į dėmesio požymius primatuose. Pirma, nors eksperimentiškai gauti duomenys, kad V1 sluoksniuose dėmesio poveikio rezultatai gana išsibarstę, yra duomenų, kad beždžionėse dėmesio sukeltas atsako dažnio padidėjimas stipriausias paviršiniuose žievės sluoksniuose (Mehta et al 2000). Antra, populiacijos atsakų dekoreliacija yra vienas dėmesio požymių: buvo parodyta kad vizualinis dėmesys sumažina variabilumą tarp pakartojimų individualiuose neuronuose ir susilpnina interneuronines koreliacijas (Cohen & Maunsell 2009, Cohen & Newsome 2008, Mitchell et al 2009). Be to, atrodo, kad būtent dekoreliacijos labiau nei atsako dažnio pokyčiai pagerina vaizdo kokybę dėmesio metu (Cohen & Maunsell 2009). Pelėse, gyvūnui judant, stebimas padidėjęs elgseninis jautrumas kontrasto aptikimo užduočių metu (Bennett et al 2013), tačiau ar šis efektyvumo padidėjimas pasiektas padidėjus atsako dažniui, populiacijos atsakų dekoreliacijai ar kitų veiksnių, vis dar lieka nežinoma. Trečia, vizualinio dėmesio įtaka buvo pastebėta ir ŠKK lygyje (McAlonan et al 2008, O'Connor et al 2002, Schneider 2011, Schneider & Kastner 2009). Dauguma šių, dėmesio, darbų buvo atlikti funkcinio magnetinio rezonanso vaizdinimo (fMRI) metodu su žmonėmis, kurių metu tirti erdvinis (O'Connor et al 2002, Schneider & Kastner 2009) ir požymiu paremtas (angl. *feature based*) (Schneider 2011) dėmesys sustiprino atsaką. Šiuos rezultatus patiprina ir viena su beždžionėmis atlikta studija, kurioje autoriai rado su dėmesiu susijusių neuroninių atsakų padidėjimą ŠKK magno- ir parvoląstelėse (McAlonan et al 2008). Visa tai kartu sudėjus, mūsų rezultatai pateikia naujų įrodymų, kad graužikų judėjimą ir primatų dėmesį sieja bendri procesai.

Nepaisant šių panašumų tarp gyvūno judesių ir dėmesio įtakos, yra ir nemažas skirtumas. Viena dėmesio savybių yra selektyvumas, pvz., dėmesio sukeltos moduliacijos yra apribotos erdvės, į kur yra nukreiptas dėmesys (Moran & Desimone 1985, Treue & Maunsell 1996), objekto savybių (McAdams & Maunsell 1999, Treue & Martinez-Trujillo 1999) ar pačio objekto (Roelfsema et al 1998). Tam, kad pasiekti tokį selektyvumą, dėmesio moksliniai tyrimai dažniausiai atliekami kruopščiai lyginant skirtingas sąlygas, kuriose yra identiška sensorinė stimuliacija, užduoties sunkumas ir sujaudinimas, tad skiriasi tik dėmesio fokusas. Gyvūno judesių įtakos eksperimentuose remiamasi palyginimu tik tarp dviejų sąlygų – elgsenos buvimu vs. nebuvimu. Tai gali turėti papildomus, nekontroliuojamus faktorius, tokius kaip motyvacijos būseną ar sujaudinimo laipsnis. Nepaisant selektyvumo skirtumo, panašumai tarp dėmesio ir gyvūno judesių įtakos yra teikiantys vilčių bei atveria galimybę graužikų modeliuose tirti bendrus procesus, esančius mikro neuroninių grandinių lygyje.

Kelių neurofarmakologinių eksperimentų metu buvo tiesiogiai tirtas neuromoduliatorių vaidmuo dėmesingoje būsenoje (Herrero et al 2008, Thiele 2013). Neseniai publikuotame straipsnyje (Polack et al 2013), kuriame buvo tiriama gyvūno judėjimo įtaka, autoriai pasiūlė, kad judėjimo metu išlaikyti toninę depoliarizaciją yra būtinas norepinefrinas. Norepinefrino svarba taip pat yra aprašyta ir sensomotorinėje vibrisių žievėje (angl. *barrel cortex*), kur noradrenerginių kelių blokavimas budriame gyvūne sukelia “į ramybę-panašią” (angl. *quiescent-like*) žievės dinamiką (Constantinople & Bruno 2011). Pagrindinis norepinefrino šaltinis smegenyse – mėlynoji dėmė (lot. *locus coeruleus* (LC)) ir buvo pastebėta, kad katei vaikstant, LC aktyvumas padidėja (Rasmussen et al 1986). Taip pat pastebėta, kad ir pelėse LC yra priežastiniais ryšiais susijęs su gyvūno judėjimu (Carter et al 2010). Nors mes tiesiogiai ir netyrėme ryšio tarp norepinefrino ir elgsenos, tačiau mūsų duomenys sutampa su norepinefrino sukeliama poveikiu. Visų pirma, sudėjus visus duomenis, gautus anatomijos (Szabadi 2013), elektrofiziologijos (Aston-Jones & Cohen 2005), farmakologijos (Phillips et al 2000) ir žmogaus smegenų vaizdinimo (Murphy et al 2014, Sterpenich et al 2006) metodais galima daryti prielaidą, kad norepinefrinas,

esant tam tikram pastoviam apšvietimui, lemia vyzdžio išsiplėtimą. Antra, pastebėta, kad žiurkių LC elektros stimuliacija (Holdefer & Jacobs 1994) ir kačių ŠKK farmakologinis poveikis (norepinefrino agonistų injekcija) (Funke et al 1993) sumažina pliūpsninį VP generavimo režimą. Trečia, norepinefrinas gali dalyvauti žievės desinchronizacijoje, kuri, savo ruožtu, gali sietis su mūsų pastebėta populiacijos atsakų dekoreliacija (Harris & Thiele 2011). Galiausiai, žiurkių regos žievės išoriniai sluoksniai yra gausiau inervuoti nopradrenerginėmis ląstelėmis (Morrison et al 1978), ir tai taip pat sutampa su mūsų sluoksniniu tirtų moduliacijų profiliu.

Remiantis mūsų rezultatais pirmoje ir antroje darbo dalyse, galima daryti išvadą, kad vaizdo atsakus gali moduluoti ne tik regimasis stimulus, tačiau ir elgsena bei budrumo būseną.

Šiame darbe aprašyti rezultatai pateikia įrodymus, kad žievės ir požiečio lygių neuroniniai atsakai yra nepaprastai selektyvūs tiek stimulo parametrams, įvertinus išorinį slopinimą (1 dalis), tiek elgsenos parametrams, įvertinus skirtumus tarp anestezijos ir budrumo būsenų (1 dalis), bei skirtumus pačioje budrumo būsenoje (2 dalis). Abiejų dalių parametrų moduliacijos turi panašų poveikį regimosios žievės sluoksniams: didžiausias stimulo ir elgsenos parametrų poveikis stebimas viršutiniuose sluoksniuose, kur dauguma neuronų jungiasi horizontalioje plotmėje ir į kur projektuojasi grįžtamieji ryšiai. Tačiau, yra ir skirtumų: erdvinė sumacija palaipsniui didėja apatiniuose sluoksniuose, o su judesiu susijęs slopinamasis poveikis labiausiai išreikštas viršutinėje infragranuliuoto sluoksnio dalyje, - numanomame penktame sluoksnyje. Diskutuotina, ar nuo smegenų aktyvumo priklausantis informacijos apdorojimas vyksta kaip du skirtingi procesai ar kaip palaipsniui besikeičiantis kontinuumas. Kaip ir kituose šiuolaikiniuose tyrimuose (Niell & Stryker 2010, Wester & McBain 2014, Zaghera & McCormick 2014), šiame darbe mes taip pat pademonstravome, kad net gyvūnui esant budrumo būsenoje, egzistuoja keli informacijos apdorojimo režimai skirtingose judėjimo aktyvumo stadijose. Mes pastebėjome kelis panašumus tarp anestezuotos (lyginant su budria būseną) ir

ramybės (lyginant su judančiu gyvūnu) pelių būsenų: krenta atsako dažnis ir sumažėja orientacijos selektyvumo kreivės amplitudė. Tai, kad sumažėja stiprinimas (angl. *gain*), iš dalies gali būti paaiškinta pakitusia neuromoduliatorių pusiausvyra (Polack et al 2013) ar pasikeitusiu membranos potencialu (Bennett et al 2013). Be šių panašumų, taip pat randama ir skirtumų: anestezijos metu sumažėja jautrumas stimulo kontrastui, o judėjimo metu kinta stimulo kontrasto stiprinimas. Įdomu tai, kad išorinis slopinimas mažėja ne tik anestezuotos būsenos metu, bet ir gyvūnui bėgant.

Apibendrinus, ši disertacija demonstruoja, kaip informacijos apdorojimas, net ir ankstyvosios regos sistemos neuronuose, gali būti įtakojamas tiek regimojo stimulo parametru, tiek elgsenos.

4 Išvados

1. Pelės V1 erdvinės sumacijos sluoksninis profilis yra panašus į aukštesnio lygmens žinduolių: RL centro dydis yra mažiausias ir išorinis slopinimas yra stipriausias paviršiniuose sluoksniuose;
2. Išorinio slopinimo stiprumas laikui bėgant didėja;
3. PV+ interneuronai dalyvauja formuojant pelių V1 selektyvumą stimulo dydžiui: RL centro dydis didėja ir išorinis slopinimas mažėja;
4. Ervinis sumavimas yra stipriai įtakojamas anestezijos būklės: esant isoflurano/uretano anestezijai, sluoksninis erdvinės sumacijos pasiskirstymas sumažėja, išorinis slopinimas susilpnėja, RL dydis padidėja, o neuroniniai atsakai sulėtėja;
5. Su gyvūno judėjimu susijęs atsako padidėjimas gali būti stebimas jau ŠKK lygyje;
6. Gyvūno judėjimo greitis koreliuoja su vyzdžio išsiplėtimu.

5 Literatūros sąrašas

1. Adesnik H, Bruns W, Taniguchi H, Huang ZJ, Scanziani M. 2012. A neural circuit for spatial summation in visual cortex. *Nature* 490: 226-31
2. Albrecht DG, Hamilton DB. 1982. Striate cortex of monkey and cat: contrast response function. *J Neurophysiol* 48: 217-37
3. Alitto HJ, Usrey WM. 2008. Origin and Dynamics of Extraclassical Suppression in the Lateral Geniculate Nucleus of the Macaque Monkey. *Neuron* 57: 135-46
4. Allman J, Miezin F, McGuinness E. 1985. Stimulus specific responses from beyond the classical receptive field: neurophysiological mechanisms for local-global comparisons in visual neurons. *Annu Rev Neurosci* 8: 407-30
5. Andermann ML, Gilfoy NB, Goldey GJ, Sachdev RNS, Wölfel M, et al. 2013. Chronic Cellular Imaging of Entire Cortical Columns in Awake Mice Using Microprisms. *Neuron*
6. Angelucci A, Bressloff PC. 2006. Contribution of feedforward, lateral and feedback connections to the classical receptive field center and extra-classical receptive field surround of primate V1 neurons. *Prog Brain Res* 154: 93-120
7. Angelucci A, Levitt JB, Walton EJS, Hupe J-M, Bullier J, Lund JS. 2002. Circuits for local and global signal integration in primary visual cortex. *J Neurosci* 22: 8633-46
8. Aston-Jones G, Cohen JD. 2005. An integrative theory of locus coeruleus norepinephrine function: adaptive gain and optimal performance. *Annu Rev Neurosci* 28: 403-50
9. Atallah BV, Bruns W, Carandini M, Scanziani M. 2012. Parvalbumin-Expressing Interneurons Linearly Transform Cortical Responses to Visual Stimuli. *Neuron* 73: 159--70
10. Ayaz A, Saleem AB, Schölvinck ML, Carandini M. 2013. Locomotion Controls Spatial Integration in Mouse Visual Cortex. *Curr Biol* 23: 890-94

11. Bair W, Cavanaugh JR, Movshon JA. 2003. Time course and time-distance relationships for surround suppression in macaque V1 neurons. *J Neurosci* 23: 7690-701
12. Bennett C, Arroyo S, Hestrin S. 2013. Subthreshold Mechanisms Underlying State-Dependent Modulation of Visual Responses. *Neuron* 80: 350--57
13. Blakemore C, Tobin EA. 1972. Lateral inhibition between orientation detectors in the cat's visual cortex. *Exp Brain Res* 15: 439-40
14. Bonin V, Histed MH, Yurgenson S, Reid RC. 2011. Local Diversity and Fine-Scale Organization of Receptive Fields in Mouse Visual Cortex. *The Journal of Neuroscience* 31: 18506--21
15. Bradshaw J. 1967. Pupil size as a measure of arousal during information processing. *Nature* 216: 515-16
16. Carandini M. 2012. From circuits to behavior: a bridge too far? *Nat Neurosci* 15: 507--09
17. Carandini M, Heeger DJ. 2012. Normalization as a canonical neural computation. *Nat Rev Neurosci* 13: 51--62
18. Carter ME, Yizhar O, Chikahisa S, Nguyen H, Adamantidis A, et al. 2010. Tuning arousal with optogenetic modulation of locus coeruleus neurons. *Nat Neurosci* 13: 1526-33
19. Cavanaugh JR, Bair W, Movshon JA. 2002. Nature and interaction of signals from the receptive field center and surround in macaque V1 neurons. *J Neurophysiol* 88: 2530-46
20. Cohen MR, Maunsell JHR. 2009. Attention improves performance primarily by reducing interneuronal correlations. *Nat Neurosci* 12: 1594-600
21. Cohen MR, Newsome WT. 2008. Context-Dependent Changes in Functional Circuitry in Visual Area MT. *Neuron* 60: 162-73
22. Constantinople CM, Bruno RM. 2011. Effects and mechanisms of wakefulness on local cortical networks. *Neuron* 69: 1061-8

23. Cruz-Martin A, El-Danaf RN, Osakada F, Sriram B, Dhande OS, et al. 2014. A dedicated circuit links direction-selective retinal ganglion cells to the primary visual cortex. *Nature* 507: 358-61
24. Dombek DA, Khabbaz AN, Collman F, Adelman TL, Tank DW. 2007. Imaging Large-Scale Neural Activity with Cellular Resolution in Awake, Mobile Mice. *Neuron* 56: 43-57
25. Douglas RJ, Martin KAC. 2004. Neuronal circuits of the neocortex. *Annual Review of Neuroscience* 27: 419-51
26. Einevoll GT, Franke F, Hagen E, Pouzat C, Harris KD. 2012. Towards reliable spike-train recordings from thousands of neurons with multielectrodes. *Curr Opin Neurobiol* 22: 11-7
27. Felleman DJ, Van Essen DC. 1991. Distributed hierarchical processing in the primate cerebral cortex. *Cereb Cortex* 1: 1-47
28. Franklin KBJ, Paxinos G. 2008. *The mouse brain in stereotaxic coordinates*. Elsevier.
29. Funke K, Pape HC, Eysel UT. 1993. Noradrenergic modulation of retinogeniculate transmission in the cat. *J Physiol* 463
30. Gilbert CD, Das A, Ito M, Kapadia M, Westheimer G. 1996. Spatial integration and cortical dynamics. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 615-22
31. Gilbert CD, Wiesel TN. 1990. The influence of contextual stimuli on the orientation selectivity of cells in primary visual cortex of the cat. *Vision Research* 30: 1689--701
32. Girman SV, Sauv e Y, Lund RD. 1999. Receptive field properties of single neurons in rat primary visual cortex. *J Neurophysiol* 82: 301-11
33. Gonchar Y, Wang Q, Burkhalter A. 2007. Multiple distinct subtypes of GABAergic neurons in mouse visual cortex identified by triple immunostaining. *Front Neuroanat* 1: 3

34. Grubb MS, Thompson ID. 2003. Quantitative characterization of visual response properties in the mouse dorsal lateral geniculate nucleus. *J Neurophysiol* 90: 3594-607
35. Grubb MS, Thompson ID. 2005. Visual response properties of burst and tonic firing in the mouse dorsal lateral geniculate nucleus. *J Neurophysiol* 93: 3224-47
36. Haider B, Häusser M, Carandini M. 2013. Inhibition dominates sensory responses in the awake cortex. *Nature* 493: 97-100
37. Harris KD, Thiele A. 2011. Cortical state and attention. *Nat Rev Neurosci*
38. Hazan L, Zugaro M, Buzsaki G. 2006. Klusters, NeuroScope, NDManager: A free software suite for neurophysiological data processing and visualization. *Journal of Neuroscience Methods* 155: 207-16
39. Herrero JL, Roberts MJ, Delicato LS, Gieselmann MA, Dayan P, Thiele A. 2008. Acetylcholine contributes through muscarinic receptors to attentional modulation in V1. *Nature* 454: 1110-14
40. Holdefer RN, Jacobs BL. 1994. Phasic stimulation of the locus coeruleus: effects on activity in the lateral geniculate nucleus. *Exp Brain Res* 100: 444-52
41. Kapadia MK, Westheimer G, Gilbert CD. 1999. Dynamics of spatial summation in primary visual cortex of alert monkeys. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 12073-8
42. Katzner S, Busse L, Carandini M. 2011. GABA_A Inhibition Controls Response Gain in Visual Cortex. *J Neurosci* 31: 5931-41
43. Keller GB, Bonhoeffer T, Hübener M. 2012. Sensorimotor mismatch signals in primary visual cortex of the behaving mouse. *Neuron* 74: 809-15
44. Knierim JJ, van Essen DC. 1992. Neuronal responses to static texture patterns in area V1 of the alert macaque monkey. *J Neurophysiol* 67: 961-80
45. Levitt JB, Lund JS. 2002. The spatial extent over which neurons in macaque striate cortex pool visual signals. *Vis Neurosci* 19: 439-52
46. Liu B-h, Li P, Sun YJ, Li Y-t, Zhang LI, Tao HW. 2009. Intervening inhibition underlies simple-cell receptive field structure in visual cortex. *Nat Neurosci* 13: 89-96

47. Lynn R. 1966. *Attention, Arousal and the Orientation Reaction*. Oxford: Pergamon Press.
48. Ma W-p, Liu B-h, Li Y-t, Josh Huang Z, Zhang LI, Tao HW. 2010. Visual Representations by Cortical Somatostatin Inhibitory Neurons--Selective But with Weak and Delayed Responses. *Journal of Neuroscience* 30: 14371--79
49. Maier A, Aura CJ, Leopold DA. 2011. Infragranular Sources of Sustained Local Field Potential Responses in Macaque Primary Visual Cortex. *Journal of Neuroscience* 31: 1971--80
50. Maimon G. 2011. Modulation of visual physiology by behavioral state in monkeys, mice, and flies. *Curr Opin Neurobiol* 21: 559-64
51. Markram H, Toledo-Rodriguez M, Wang Y, Gupta A, Silberberg G, Wu C. 2004. Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nat Rev Neurosci* 5: 793-807
52. Marshel JH, Garrett ME, Nauhaus I, Callaway EM. 2011. Functional Specialization of Seven Mouse Visual Cortical Areas. *Neuron* 72: 1040--54
53. Marshel JH, Kaye AP, Nauhaus I, Callaway EM. 2012. Anterior-posterior direction opponency in the superficial mouse lateral geniculate nucleus. *Neuron* 76: 713-20
54. McAdams CJ, Maunsell JH. 1999. Effects of attention on orientation-tuning functions of single neurons in macaque cortical area V4. *J Neurosci* 19: 431-41
55. McAlonan K, Cavanaugh J, Wurtz RH. 2008. Guarding the gateway to cortex with attention in visual thalamus. *Nature* 456: 391-94
56. Mehta AD, Ulbert I, Schroeder CE. 2000. Intermodal selective attention in monkeys. I: distribution and timing of effects across visual areas. *Cereb Cortex* 10: 343-58
57. Mitchell JF, Sundberg KA, Reynolds JH. 2009. Spatial attention decorrelates intrinsic activity fluctuations in macaque area V4. *Neuron* 63: 879-88
58. Mitzdorf U. 1985. Current source-density method and application in cat cerebral cortex: investigation of evoked potentials and EEG phenomena. *Physiological Reviews* 65: 37-100

59. Moran J, Desimone R. 1985. Selective attention gates visual processing in the extrastriate cortex. *Science* 229: 782-84
60. Morrison JH, Grzanna R, Molliver ME, Coyle JT. 1978. The distribution and orientation of noradrenergic fibers in neocortex of the rat: An immunofluorescence study. *Journal of Comparative Neurology* 181: 17-39
61. Murphy PR, O'Connell RG, O'Sullivan M, Robertson IH, Balsters JH. 2014. Pupil diameter covaries with BOLD activity in human locus coeruleus. *Human Brain Mapping* 35: 4140-54
62. Nelson JI, Frost BJ. 1978. Orientation-selective inhibition from beyond the classic visual receptive field. *Brain Research* 139: 359--65
63. Niell CM, Stryker MP. 2008. Highly Selective Receptive Fields in Mouse Visual Cortex. *J Neurosci* 28: 7520-36
64. Niell CM, Stryker MP. 2010. Modulation of Visual Responses by Behavioral State in Mouse Visual Cortex. 65: 472-79
65. Nienborg H, Hasenstaub A, Nauhaus I, Taniguchi H, Huang ZJ, Callaway EM. 2013. Contrast dependence and differential contributions from somatostatin- and parvalbumin-expressing neurons to spatial integration in mouse v1. *J Neurosci* 33: 11145-54
66. Nieuwenhuis S, De Geus EJ, Aston-Jones G. 2010. The anatomical and functional relationship between the P3 and autonomic components of the orienting response. *Psychophysiology* 48: 162-85
67. Noudoost B. 2010. Top-down control of visual attention. *Curr Opin Neurobiol* 20: 183-90
68. O'Connor DH, Fukui MM, Pinsk MA, Kastner S. 2002. Attention modulates responses in the human lateral geniculate nucleus. *Nat Neurosci* 5: 1203-09
69. Ohki K, Chung S, Ch'ng YH, Kara P, Reid RC. 2005. Functional imaging with cellular resolution reveals precise micro-architecture in visual cortex. *Nature* 433: 597-603

70. Olsen SR, Bortone DS, Adesnik H, Scanziani M. 2012. Gain control by layer six in cortical circuits of vision. *Nature* 483: 47--52
71. Osaki H, Naito T, Sadakane O, Okamoto M, Sato H. 2011. Surround suppression by high spatial frequency stimuli in the cat primary visual cortex. *Eur J Neurosci* 33: 923-32
72. Pennesi ME, Lyubarsky AL, Pugh ENJ. 1998. Extreme responsiveness of the pupil of the dark-adapted mouse to steady retinal illumination. *Investigative ophthalmology and visual science* 39: 2148-56
73. Phillips MA, Szabadi E, Bradshaw CM. 2000. Comparison of the effects of clonidine and yohimbine on spontaneous pupillary fluctuations in healthy human volunteers. *Psychopharmacology (Berl)* 150: 85-89
74. Piscopo DM, El-Danaf RN, Huberman AD, Niell CM. 2013. Diverse visual features encoded in mouse lateral geniculate nucleus. *J Neurosci* 33: 4642-56
75. Polack P-O, Friedman J, Golshani P. 2013. Cellular mechanisms of brain state-dependent gain modulation in visual cortex. *Nat Neurosci* 16: 1331-9
76. Quiroga RQ, Nadasdy Z, Ben-Shaul Y. 2004. Unsupervised spike detection and sorting with wavelets and superparamagnetic clustering. *Neural Comput* 16: 1661-87
77. Rasmussen K, Morilak DA, Jacobs BL. 1986. Single unit activity of locus coeruleus neurons in the freely moving cat. I. During naturalistic behaviors and in response to simple and complex stimuli. *Brain Res* 371: 324-34
78. Reynaud A, Masson GS, Chavane F. 2012. Dynamics of Local Input Normalization Result from Balanced Short- and Long-Range Intracortical Interactions in Area V1. *The Journal of Neuroscience* 32: 12558--69
79. Ries CR, Puil E. 1999. Ionic mechanism of isoflurane's actions on thalamocortical neurons. *J Neurophysiol* 81: 1802-9
80. Roberts M, Delicato LS, Herrero J, Gieselmann MA, Thiele A. 2007. Attention alters spatial integration in macaque V1 in an eccentricity-dependent manner. *Nat Neurosci* 10: 1483-91

81. Rockland KS, Pandya DN. 1979. Laminar origins and terminations of cortical connections of the occipital lobe in the rhesus monkey. *Brain Res* 179
82. Roelfsema PR, Lamme VA, Spekreijse H. 1998. Object-based attention in the primary visual cortex of the macaque monkey. *Nature* 395: 376-81
83. Ruksenas O, Bulatov A, Heggelund P. 2007. Dynamics of spatial resolution of single units in the lateral geniculate nucleus of cat during brief visual stimulation. *J Neurophysiol* 97: 1445-56
84. Runyan CA, Schummers J, Van Wart A, Kuhlman SJ, Wilson NR, et al. 2010. Response Features of Parvalbumin-Expressing Interneurons Suggest Precise Roles for Subtypes of Inhibition in Visual Cortex. *Neuron* 67: 847--57
85. Saalmann YB, Kastner S. 2009. Gain control in the visual thalamus during perception and cognition. *Curr Opin Neurobiol* 19: 408-14
86. Sachdev RNS, Krause MR, Mazer JA. 2012. Surround suppression and sparse coding in visual and barrel cortices. *Front Neural Circuits* 6: 43
87. Sadakane O, Ozeki H, Naito T, Akasaki T, Kasamatsu T, Sato H. 2006. Contrast-dependent, contextual response modulation in primary visual cortex and lateral geniculate nucleus of the cat. *Eur J Neurosci* 23: 1633-42
88. Sakatani T, Isa T. 2007. Quantitative analysis of spontaneous saccade-like rapid eye movements in C57BL/6 mice. *Neurosci Res* 58: 324-31
89. Saleem AB, Ayaz A, Jeffery KJ, Harris KD, Carandini M. 2013. Integration of visual motion and locomotion in mouse visual cortex. *Nat Neurosci* 16: 1864-9
90. Sceniak MP, Hawken MJ, Shapley R. 2001. Visual Spatial Characterization of Macaque V1 Neurons. *Journal of Neurophysiology* 85: 1873-87
91. Sceniak MP, Maciver MB. 2006. Cellular actions of urethane on rat visual cortical neurons in vitro. *J Neurophysiol* 95: 3865-74
92. Sceniak MP, Ringach DL, Hawken MJ, Shapley R. 1999. Contrast's effect on spatial summation by macaque V1 neurons. *Nat Neurosci* 2: 733-39
93. Schneider KA. 2011. Subcortical mechanisms of feature-based attention. *J Neurosci* 31: 8643-53

94. Schneider KA, Kastner S. 2009. Effects of sustained spatial attention in the human lateral geniculate nucleus and superior colliculus. *J Neurosci* 29
95. Schwabe L, Ichida JM, Shushruth S, Mangapathy P, Angelucci A. 2010. Contrast-dependence of surround suppression in Macaque V1: experimental testing of a recurrent network model. *Neuroimage* 52: 777-92
96. Shushruth S, Ichida JM, Levitt JB, Angelucci A. 2009. Comparison of spatial summation properties of neurons in macaque V1 and V2. *J Neurophysiol* 102: 2069-83
97. Shushruth S, Mangapathy P, Ichida JM, Bressloff PC, Schwabe L, Angelucci A. 2012. Strong Recurrent Networks Compute the Orientation Tuning of Surround Modulation in the Primate Primary Visual Cortex. *The Journal of Neuroscience* 32: 308--21
98. Silberberg G, Markram H. 2007. Disynaptic inhibition between neocortical pyramidal cells mediated by Martinotti cells. *Neuron* 53: 735-46
99. Sillito AM, Cudeiro J, Jones HE. 2006. Always returning: feedback and sensory processing in visual cortex and thalamus. *Trends Neurosci* 29: 307-16
100. Smith SL, Hausser M. 2010. Parallel processing of visual space by neighboring neurons in mouse visual cortex. *Nat Neurosci* 13: 1144--49
101. Sokolov EN. 1963. *Perception and the conditioned reflex*. New York: Macmillan.
102. Solomon JA. 2002. Noise reveals visual mechanisms of detection and discrimination. *J Vis* 2: 105-20
103. Solomon SG, White AJ, Martin PR. 1999. Temporal contrast sensitivity in the lateral geniculate nucleus of a New World monkey, the marmoset *Callithrix jacchus*. *J Physiol* 517 (Pt 3): 907-17
104. Somers DC, Todorov EV, Siapas AG, Toth LJ, Kim DS, Sur M. 1998. A local circuit approach to understanding integration of long-range inputs in primary visual cortex. *Cereb Cortex* 8: 204-17

105. Stahl JS, van Alphen AM, De Zeeuw CI. 2000. A comparison of video and magnetic search coil recordings of mouse eye movements. *Journal of Neuroscience Methods* 99: 101-10
106. Sterpenich V, D'Argembeau A, Deseilles M, Balteau E, Albouy G, et al. 2006. The locus ceruleus is involved in the successful retrieval of emotional memories in humans. *J Neurosci* 26: 7416-23
107. Swadlow HA. 2003. Fast-spike interneurons and feedforward inhibition in awake sensory neocortex. *Cereb Cortex* 13: 25-32
108. Szabadi E. 2013. Functional neuroanatomy of the central noradrenergic system. *Journal of psychopharmacology* 27: 659-93
109. Tailby C, Solomon SG, Dhruv NT, Majaj NJ, Sokol SH, Lennie P. 2007. A New Code for Contrast in the Primate Visual Pathway. *J Neurosci* 27: 3904-09
110. Thiele A. 2013. Muscarinic signaling in the brain. *Annu Rev Neurosci* 36: 271-94
111. Treue S, Martinez-Trujillo JC. 1999. Feature-based attention influences motion processing gain in macaque visual cortex. *Nature* 399: 575-79
112. Treue S, Maunsell JHR. 1996. Attentional modulation of visual motion processing in cortical areas MT and MST. *Nature* 382: 539-41
113. Van den Bergh G, Zhang B, Arckens L, Chino YM. 2010. Receptive-field properties of V1 and V2 neurons in mice and macaque monkeys. *The Journal of Comparative Neurology* 518: 2051-70
114. Villeneuve MY, Casanova C. 2003. On the use of isoflurane versus halothane in the study of visual response properties of single cells in the primary visual cortex. *J Neurosci Methods* 129: 19-31
115. Wallace DJ, Greenberg DS, Sawinski J, Rulla S, Notaro G, Kerr JND. 2013. Visual response properties of burst and tonic firing in the mouse dorsal lateral geniculate nucleus. *Nature* 498: 65-69
116. Wang Q, Gao E, Burkhalter A. 2011. Gateways of Ventral and Dorsal Streams in Mouse Visual Cortex. *Journal of Neuroscience* 31: 1905--18

117. Wang Q, Sporns O, Burkhalter A. 2012. Network Analysis of Corticocortical Connections Reveals Ventral and Dorsal Processing Streams in Mouse Visual Cortex. *The Journal of Neuroscience* 32: 4386--99
118. Wang Y, Toledo-Rodriguez M, Gupta A, Wu C, Silberberg G, et al. 2004. Anatomical, physiological and molecular properties of Martinotti cells in the somatosensory cortex of the juvenile rat. *J Physiol* 561: 65-90
119. Webb BS, Dhruv NT, Solomon SG, Tailby C, Lennie P. 2005. Early and late mechanisms of surround suppression in striate cortex of macaque. *J Neurosci* 25: 11666-75
120. Wester JC, McBain CJ. 2014. Behavioral state-dependent modulation of distinct interneuron subtypes and consequences for circuit function. *Curr Opin Neurobiol* 29: 118-25
121. Wilson NR, Runyan CA, Wang FL, Sur M. 2012. Division and subtraction by distinct cortical inhibitory networks in vivo. *Nature* 488: 343--48
122. Yoshimura Y, Callaway EM. 2005. Fine-scale specificity of cortical networks depends on inhibitory cell type and connectivity. *Nat Neurosci* 8: 1552-9
123. Yoss RE, Moyer NJ, Hollenhorst RW. 1970. Pupil size and spontaneous pupillary waves associated with alertness, drowsiness, and sleep. *Neurology* 20: 545-54
124. Zaghera E, McCormick DA. 2014. Neural control of brain state *Curr Opin Neurobiol* 29: 178-86

Interaktyvūs šaltiniai:

<http://jaxmice.jax.org/strain/008069.html> cited 23.05.2014

<https://sites.google.com/a/nyu.edu/expo/home> cited 10.02.2014

6 Rezultatų pristatymas

Darbe pristatyti rezultatai išspausdinti mokslinėse publikacijose:

1. Erisken S, **Vaiceliunaite A**, Jurjut O, Fiorini M, Katzner S and Busse L. Effects of locomotion extend throughout the mouse early visual system. *Current Biology*. 2014 Dec;15;24(24):2899-907.
2. **Vaiceliunaite A**, Erisken S, Franzen F, Katzner S, Busse L. Spatial integration in mouse primary visual cortex. *J Neurophysiol*. 2013 Aug;110(4):964-72.

Neįtrauktos į disertaciją publikacijos:

1. Egle Danieliene, Egle Gabryte, Romualdas Danielius, Mikas Vengris, **Agne Vaiceliunaite**, Vaidotas Morkunas, Osvaldas Ruksenas. Corneal stromal ablation with femtosecond ultraviolet pulses in rabbits. *J J Cataract Refract Surg*. 2013 Feb; 39(2):258-67.
2. Vengris M, Gabryte E, Aleknavicius A, Barkauskas M, Ruksenas O, **Vaiceliunaite A**, Danielius R. Corneal shaping and ablation of transparent media by femtosecond pulses in deep ultraviolet range. *J Cataract Refract Surg*. 2010 Sep; 36(9):1579-87.

Rezultatų pristatymas mokslinėse konferencijose:

1. **Vaiceliunaite, A.**, Erisken, S., Jurjut, O., Katzner, S. and Busse, L. (2014). The influence of cortical feedback on visual information processing in mouse dorsolateral geniculate nucleus. *Neuroscience 2014, SfN's 44th annual meeting, Washington, DC, USA. Stendinis pranešimas.*
2. Erisken S, **Vaiceliunaite A**, Jurjut O, Fiorini M, Katzner S and Busse L. (2014). Effects of locomotion on pre-cortical and cortical neural populations in the mouse visual system. *Neuroscience 2014, SfN's 44th annual meeting, Washington, DC, USA. Žodinis pranešimas.*

3. Fiorini, M., **Vaiciunaite, A.**, Eriskien, S., Jurjut, O., Katzner, S. and Busse, L. (2014). A critical role of NMDA receptors in parvalbumin interneurons for visual information processing in mouse V1. Neuroscience 2014, SfN's 44th annual meeting, Washington, DC, USA. Stendinis pranešimas.
4. O. Jurjut O, Eriskien S, **Vaiciunaite A**, Busse L, Katzner S. (2014). Learning improves robustness of spiking activity in mouse primary visual cortex. Neuroscience 2014, SfN's 44th annual meeting, Washington, DC, USA. Stendinis pranešimas.
5. **Vaiciunaite, A.**, Eriskien, S., Fiorini, M., Jurjut, O., Katzner, S. and Busse, L. (2014). Influence of cortico-thalamic feedback on visual information processing in mouse dorsolateral geniculate nucleus. Bernstein Conference on Computational Neuroscience (BCCN), Göttingen, Germany. Stendinis pranešimas.
6. Fiorini, M., **Vaiciunaite, A.**, Eriskien, S., Jurjut, O., Katzner, S. and Busse, L. (2014). A critical role of NMDA receptors in parvalbumin interneurons for visual information processing in mouse V1. Bernstein Conference on Computational Neuroscience (BCCN), Göttingen, Germany. Stendinis pranešimas.
7. **Vaiciunaite, A.**, Eriskien, S., Fiorini, M., Jurjut, O., Katzner, S. and Busse, L. (2014). The influence of cortical feedback on size tuning in mouse lateral geniculate nucleus. FENS Forum of Neuroscience, Milan, Italy. Stendinis pranešimas.
8. Fiorini, M., **Vaiciunaite, A.**, Merseburg, A., Isbrandt, D. and Busse, L. (2014). Effects of HCN channel deficiency in forebrain neurons on stimulus selectivity and oscillatory activity in mouse primary visual cortex. FENS Forum of Neuroscience, Milan, Italy. Stendinis pranešimas.
9. **Vaiciunaite, A.**, Eriskien, S., Katzner, S. and Busse, L. (2013). The influence of cortical feedback on size tuning in mouse lateral geniculate nucleus. FENS-IBRO-

HERTIE winter school 2013, University center Obergurgl, Austria. Žodinis pranešimas.

10. **A. Vaiceliunaite**, S. Eriskienė, A. Wal, S. Katzner, L. Busse. (2013). The influence of cortical feedback on size tuning in mouse lateral geniculate nucleus. The 5th annual conference of Lithuanian Neuroscience Association, Vilnius, Lithuania. Stendinis pranešimas.
11. Eriskienė, S., **Vaiceliunaite, A.**, Katzner, S. and Busse, L. (2013). Effects of locomotion on response properties and functional connectivity in mouse primary visual cortex. Bernstein Conference on Computational Neuroscience (BCCN), Tübingen, Germany. Stendinis pranešimas.
12. Eriskienė, S., **Vaiceliunaite, A.**, Katzner, S. and Busse, L. (2013). Effects of locomotion on network activity in mouse primary visual cortex. European Visual Cortex Meeting (EVCP), Sv. Kriz Zacetje, Croatia. Stendinis pranešimas.
13. Eriskienė, S., **Vaiceliunaite, A.**, Franzen, F., Wal, A., Katzner, S. and Busse, L. (2013). Effects of locomotion on network activity in mouse primary visual cortex. The 10th Göttingen meeting of the German Neuroscience Society. Stendinis pranešimas.
14. **A. Vaiceliunaite**, S. Eriskienė, A. Wal, S. Katzner, L. Busse. (2013). The influence of cortical feedback on size tuning in mouse lateral geniculate nucleus. The 4th German Neurophysiology PhD Meeting, Tübingen, Germany. Stendinis pranešimas.
15. **Vaiceliunaite A.**, Eriskienė S, Franzen F, Katzner S, Busse L. (2013). Spatial integration in mouse visual system. Cold Spring Harbor Laboratory meeting: Vision: A Platform for Linking Circuits, Perception & Behavior. Lloyd Harbor, New York, USA. Žodinis pranešimas.
16. **A. Vaiceliunaite**, S. Eriskienė, F. Franzen, O. Ruksenas, S. Katzner, L. Busse. (2012). Surround suppression in mouse primary visual cortex: laminar dependence and effects of anesthesia. Neuroscience 2012, SfN's 42nd annual meeting, New Orleans, USA. Stendinis pranešimas.

- 17.S. Erisken, **A. Vaiceliunaite**, F. Franzen, Z. Khastkhodaei, S. Katzner, L. Busse. Effects of locomotion on response properties and functional connectivity in mouse V1. Neuroscience 2012, SfN's 42nd annual meeting, New Orleans, USA. Stendinis pranešimas.
- 18.**A. Vaiceliunaite**, S. Erisken, F. Franzen, O. Ruksenas, S. Katzner, L. Busse. (2012). Surround suppression in mouse primary visual cortex: laminar dependence and effects of anesthesia. Second Joint CIN-NIPS Symposium, Tübingen, Germany. Stendinis pranešimas.
- 19.**A. Vaiceliunaite**, Z. Khastkhodaei, S. Erisken, F. Franzen, O. Ruksenas, S. Katzner, L. Busse (2012). Surround suppression in mouse primary visual cortex: laminar dependence and effects of anesthesia. 3rd Networks Symposium, Berlin, Germany. Stendinis pranešimas.
- 20.**A. Vaiceliunaite**, Z. Khastkhodaei, S. Erisken, F. Franzen, O. Ruksenas, S. Katzner, L. Busse. (2012). Surround suppression in mouse primary visual cortex: laminar dependence and effects of anesthesia. The 8th FENS forum of "Neuriscience", Barcelona, Spain. Stendinis pranešimas.
- 21.Egle Danieliene, Romualdas Danielius, Egle Gabryte, Osvaldas Ruksenas, **Agne Vaiceliunaite**, Mikas Vengris. (2010). Corneal stromal ablation by femtosecond UV pulses: in vivo study. World Ophthalmology Congress 2010 ICC, Berlin, Germany. Žodinis pranešimas.
- 22.M. Vengris, E. Gabryte, O. Ruksenas, **A.Vaiceliunaite**, E. Danieliene, R. Danielius. (2010). Femtosecond solid-state laser for refractive eye surgery. International Conference on Laser Applications in Life Sciences. Oulu, Finland. Žodinis pranešimas.
- 23.E. Gabrytė, M. Vengris, R. Danielius, O. Rukšėnas, **A.Vaičeliūnaitė** (2010). Efficient ablation of ex vivo cornea using the fifth harmonic of femtosecond Yb:KGW laser. Biomedical engineering: Proceedings of International conference. Kaunas: Technologija, p. 176-178. Žodinis pranešimas.

24. O. Ruksenas, M. Vengris, E. Gabryte, **A. Vaičeliūnaitė**, E. Danieliene, R. Danielius. (2009). Rabbit eye as a model system for corneal ablation using femtosecond UV pulses. LASA winter meeting. Animal models of disease. Birmingham, United Kingdom. Stendinis pranešimas.
25. **A. Vaičeliūnaitė**, O. Rukšėnas. (2009). The research of rat's visual system. First scientific conference of Lithuanian association of neurosciences. Vilnius, p. 22. Žodinis pranešimas.
26. E. Gabrytė, M. Vengris, R. Danielius, O. Rukšėnas, **A. Vaičeliūnaitė** (2009). Efficient ablation of ex vivo cornea using the fifth harmonic of femtosecond Yb:KGW laser // Biomedical engineering: Proceedings of International conference. Kaunas: Technologija, p. 176-178. Žodinis pranešimas.

Išsilavinimas

2009.10 – dabar

Doktorantė, Vilniaus Universitetas, Lietuva ir Tuebingeno Universitetas, Vokietija

Darbo vadovai

Prof. Dr. Osvaldas Rukšėnas, Dr. Laura Busse

2006.09 – 2008.06

Biologijos magistro kvalifikacinis laipsnis, neurobiologijos programa, Vilniaus Universitetas, Lietuva

2002.09 – 2006.06

Biologijos bakalauro kvalifikacinis laipsnis, biologijos programa, Vilniaus Universitetas, Lietuva

Darbo patirtis

2010.11 – 2013.09

Jaunesnioji mokslo darbuotoja, Vilniaus Universitetas, Lietuva

2006.11 – 2010.11

Vyriausioji specialistė, Vilniaus Universitetas, Lietuva

Apdovanojimai ir finansavimas

2013.12

FENS-IBRO-HERTIE 2013 žiemos mokyklos dalyvė, Obergurgl centro Universitetas, Austrija. 2013.12.8-15.

2013.06

Cold Spring Harbor Laboratory vasaros mokyklos “Vision: A Platform for Linking Circuits, Perception & Behavior” dalyvė. Lloyd Harbor, Niujorkas, JAV. 2013.06.12-25.

2012.10 – 2013.07

DAAD stipendija Dr. Lauros Busse laboratorijoje, Tuebingeno Universitete, Vokietijoje (10000 eurų)

2012.07

FENS forumo 2012 kelionės dotacija (750 eurų)

2011.09 – 2012.10

Erasmus studijų stipendija Dr. Lauros Busse laboratorijoje, Tuebingeno Universitete, Vokietijoje (5400 eurų)

2010.05 – 2010.08

Erasmus praktikos stipendija Prof. Cornelius Schwarz laboratorijoje, Tuebingeno Universitete, Vokietijoje (1200 eurų)

Padėka

Visų pirma, labiausiai norėčiau padėkoti savo vadovams prof. Dr. Osvaldui Rukšėnui ir dr. Laura Busse. Be šių dviejų puikių žmonių, ši disertacija nebūtų išvydusi dienos šviesos. Didelis ačiū ERASMUS ir DAAD stipendijoms, kurių dėka galėjau atlikti darbą Dr. Laura Busse laboratorijoje. Taip pat, aš be galo dėkinga mano “matlabo guru” – Sinem Erisken. Mano ypatingas ačiū už kantrybę ir palaikymą mano mylimiems tėveliams, sesei ir Carstenui. Taip pat aš labai dėkinga dr. Laura Busse ir dr. Steffen Katzner laboratorijoms (kiekvienam laboratorijų nariui). Taip pat, labai džiaugiuosi kad visu tuos metus, manęs nepamiršo ir palaikė draugai likę Lietuvoje. Ačiū ir mano visiems kitiems draugams. Ačiū neurobiologijos ir biofizikos katedrai (ypač Ramunei ir Aidui) Galiausiai norėčiau tarti didelį dėkui visai komisijai ir oponentams.

Autoriaus indėlis

Agnė Vaičeliūnaitė dalyvavo įrenginėjant laboratoriją ir sudarant eksperimentus. Agnės indėlis pirmoje ir antroje dalyse šiek tiek skyrėsi.

Indėlis pirmoje dalyje:

Agnė atliko visas chirurgines operacijas, viruso injekcijas, eksperimentus, perfuzijas, histologines procedūras ir regimojo stimulo sudarymą. Duomenų analizė ir straipsnio rašymas buvo atlikti Agnės Vaičeliūnaitės ir Lauros Busse. Sinem Erisken ir Steffen Katzner koregavo straipsnį.

Indėlis antroje dalyje:

Agnė Vaičeliūnaitė, Sinem Erisken, Ovidiu Jurjut, Matilde Fiorini ir Redas Dulinskas atliko chirurgines operacijas ir eksperimentus duomenų gavimui iš pelių V1. Agnė atliko visas chirurgines operacijas, perfuzijas ir histologines procedūras duomenų gavimui iš pelių ŠKK. Agnė ir Sinem Erisken atliko ŠKK eksperimentus. Sinem Erisken ir Laura Busse atliko duomenų analizę bei straipsnio rašymą. Agnė Vaičeliūnaitė, Steffen Katzner, Ovidiu Jurjut ir Matilde Fiorini koregavo straipsnį.