

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПОВЕДЕНИЯ
ЖИВОТНЫХ: ВОСПРИЯТИЕ ВНЕШНИХ СТИМУЛОВ,
ДВИГАТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ, ОБУЧЕНИЕ И ПАМЯТЬ**

УДК 612.825.5

**УСТОЙЧИВОСТЬ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ДОМЕНОВ
ОРИЕНТАЦИОННОЙ И ДИРЕКЦИОНАЛЬНОЙ
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ПЕРВИЧНОЙ ЗРИТЕЛЬНОЙ
КОРЫ КОШКИ К ВОЗДЕЙСТВИЮ ПРОПОФОЛА**

© 2019 г. В. С. Бугрова, И. В. Бондарь*

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук, Москва, Россия

* e-mail: bondar@ihna.ru

Поступила в редакцию 02.03.2018 г.

После доработки 16.04.2018 г.

Принята к публикации 14.05.2018 г.

Использование метода оптического картирования по внутреннему сигналу позволяет на популяционном уровне изучать активность функциональных доменов первичной зрительной коры в ответ на изменения в стимульной ситуации. Введение кратковременной инъекции пропофола на фоне стабильной анестезии дает возможность выяснить, насколько разные функциональные домены коры устойчивы к системному воздействию фармакологических агентов. Это вещество было выбрано для проведения экспериментов, поскольку данные литературы указывают на его родство к ГАМК_A-рецепторам. Опыты были проведены на 7 взрослых клинически здоровых кошках. При анализе экспериментальных данных было выявлено статистически достоверное различие между ответами дирекционных и ориентационных колонок: сигнал в ориентационных доменах в 1.6 раза превысил ответ в модулях дирекционной селективности. В ходе анализа изменений структуры оптических карт (т.е. характерного паттерна распределения функциональных колонок на участке зрительной коры) было показано падение уровня корреляции между областями интереса на 60% для дирекционных карт и 40% для ориентационных. Ориентационные колонки оказались более устойчивы к действию пропофола. Дополнительно был проведен анализ стабильности относительно кодирования определенных ориентаций в коре, который показал наибольшую устойчивость функциональных элементов коры, детектирующие близкие к вертикальным ориентации.

Ключевые слова: первичная зрительная кора, функциональные домены ориентационной и дирекционной селективности, оптическое картирование по внутреннему сигналу, пропофол

DOI: 10.1134/S0044467719020047

Базовые свойства нейронов первичной зрительной коры — чувствительность к ориентации отрезков линий и направлению движения — позволяют этим клеткам определять границы движущихся зрительных объектов и отслеживать их перемещения в пространстве. Интерес к исследованию механизмов, лежащих в основе таких специфических функций *зрительной системы*, позволил сформулировать несколько гипотез об их происхождении.

Часть исследователей предполагают, что за чувствительность к направлению движения

ответственны уже функциональные единицы периферической части *зрительной системы*. Дополнительно к этому есть мнение, что важную роль в дирекционной чувствительности играют скорее локальные сети первичной зрительной коры [Moore et al., 2010; Priebe, 2016]. Современные методы исследования мозга позволяют направленно изменять свойства нейронных сетей для выяснения особенностей их функционирования [Grinvald, 1988; Zepeda, 2004; Kalatsky, Stryker, 2003; Кулешова, 2017]. Так, в экспе-

риментах на мышах использовали генетические методы для исследования формирования дирекциональной чувствительности и ее взаимосвязи с активностью сетчатки [Hillier et al., 2017]. У животных с нормальным генотипом в коре головного мозга преобладают нейроны, чувствительные к движению стимула в направлении от головы животного к хвосту. Такого рода изменения в потоке зрительной информации свойственны при перемещении мыши в пространстве. У мутантов по гену *FRMD7* нарушается чувствительность нейронных элементов сетчатки к смещениям зрительных объектов в горизонтальном направлении. В коре таких животных исчезала предпочтительная чувствительность нейронов к движению стимулов в переднезаднем направлении. Подобный результат был получен и при специфической инактивации звездчатых амакриновых клеток с помощью токсина дифтерии, который использовали на популяции генетически модифицированных мышей. Авторы делают вывод о том, что следует различать чувствительность нейронов к изменениям в потоке зрительной информации, которая связана с перемещением животного в пространстве, а также все остальные виды дирекциональной чувствительности. Нейронные механизмы, обеспечивающие эти функции, могут быть локализованы как в сетчатке, так и в коре головного мозга.

Важную роль в появлении селективных свойств у нейронов зрительной коры может играть синхронизированный разряд клеток латерального коленчатого тела [Stanley et al., 2012; Kelly et al. 2014]. Нейроны этой структуры могут отвечать одинаково хорошо на все возможные ориентации и направления движения стимулов, т.е. не демонстрировать выраженной селективности к характеристикам зрительного стимула. Однако было обнаружено, что степень скоррелированности разрядов (т.е. близкой по времени генерации потенциалов действия) пар нейронов демонстрирует высокую селективность к ориентации и направлению движения стимула.

Современные подходы к изучению нейрофизиологических основ различных функций мозга позволяют на популяционном уровне оценить кодирование признаков изображения активностью функциональных доменов зрительной коры. Оптическое картирование [Grinvald, 1988; Zepeda, 2004; Kalatsky, Stryker, 2003] по внутреннему сигналу позволяет

быстро получать корковые функциональные карты и на основе вычисляемых по ним параметров — амплитуды сигнала и структуры отдельных областей интереса — отслеживать изменения, связанные с экспериментальными воздействиями. Под внутренним сигналом понимают изменения оптических свойств ткани коры головного мозга, связанные с увеличением концентрации дезоксигемоглобина при активации групп нейронов. Предложенный В. Калацким [Kalatsky, Stryker, 2003] метод непрерывного оптического картирования позволяет одновременно получать и сравнивать функциональные карты дирекциональной и ориентационной чувствительности [Vanni et al., 2010].

Исследование функциональной анатомии методом оптического картирования проводится в условиях общей анестезии животного. Пропофол — один из возможных анестетиков — по данным литературы, воздействует на ГАМКа-рецепторы. Эти рецепторы включены в мембраны пирамидных клеток, и действие пропофола усиливает хлоридный ток через их мембраны, что приводит к торможению реакции нейронов [Yip et al., 2013]. По всей видимости, именно опосредованное ГАМКа-рецепторами торможение играет важную роль в формировании ориентационной чувствительности. Ранее было показано, что выключение ГАМКа-рецепторов изменяет селективные свойства нейронов первичной зрительной коры [Katzner et al., 2011]. При этом меняется именно коэффициент усиления ответа нейронов первичной зрительной коры, но не входной сигнал из латерального коленчатого тела. Интересно, что ориентационная чувствительность устойчива к внутриклеточной блокаде тормозных токов [Nelson et al., 1994]. Эти данные были получены при воздействии бикикуллина, который может блокировать ГАМК-ергическую передачу, однако для этого вещества показаны побочные эффекты. Мы использовали в качестве системного действующего агента пропофол. Очевидно, такого рода эксперимент не позволит оказать узконаправленное воздействие на определенные элементы нейронной сети, однако наши эксперименты выявят “базовое” поведение популяций нейронов при анализе зрительной информации.

Целью настоящей работы является изучение чувствительности к специфическому фармакологическому воздействию функциональных доменов первичной зрительной ко-

ры, вовлеченных в анализ характеристик зрительного стимула.

Предполагается решить следующие задачи:

1. По функциональным картам поверхности первичной зрительной коры оценить амплитуду ответа ориентационных и дирекционных колонок на предъявление зрительного стимула.

2. С помощью корреляционного анализа исследовать стабильность функциональной структуры на ориентационных и дирекционных картах.

3. Охарактеризовать устойчивость функциональных доменов первичной зрительной коры в ответ на фармакологическое воздействие в соответствии с особенностями кодирования определенных признаков изображения.

МЕТОДИКА

Эксперименты проведены на 8-ми взрослых кошках. Все манипуляции с животными выполнялись в соответствии с требованиями Директивы Совета Европейского Сообщества (86/609/ЕЕС) об использовании животных для экспериментальных исследований и были одобрены этической комиссией ИВНД и НФ РАН.

Для подготовки животного к эксперименту проводили вводную анестезию с помощью вентранквила (0.4 мг/кг) и ксилазина (20 мг/кг). На этой стадии кошке ставили внутривенный катетер, что позволяло перейти к использованию основного анестетика. Препаратом выбора был пропофол. Непрерывная внутривенная инфузия физраствора, содержащего глюкозу и пропофол (5 мг/мл), со скоростью 1.5–2 мл/час, обеспечивала контролируемый уровень анестезии животных. Функциональное состояние животного отслеживали по содержанию CO_2 в выдыхаемом воздухе (3.8–4.0%), уровню насыщения крови кислородом (99.0%) и частоте сердечных сокращений (120–160 уд./мин). Температуру тела поддерживали на постоянном уровне 38.5°C.

Животное закрепляли в стереотаксическом аппарате. Местная анестезия была обеспечена введением лидокаина. Трепанационное отверстие диаметром 16 мм в затылочной части черепа обеспечивало оптический доступ к коре на границе зрительных полей 17 и 18 обоих полушарий. Для сохранения функциональности нервной ткани на время всего длительного эксперимента место

трепанации закрывали агарозой с низкой точкой плавления и покровным стеклом (18 × 18 мм), что обеспечивало возможность регистрации отраженного света от поверхности зрительной коры.

Длительность одной сессии по исследованию стабильности функциональных карт составляла 60 мин. Влияние пропофола на амплитуду оптического сигнала и структуру функциональных карт проводили на фоне стабильного уровня анестезии. Дополнительную дозу (3 мг/кг) пропофола вводили одновременно через 15 мин с момента начала эксперимента, что позволяло использовать первую часть экспериментальных данных для построения первой функциональной карты, относительно которой проводили дальнейшие сравнения.

В качестве зрительных стимулов использовали решетки, в которых чередуются светлые и темные полосы с пространственной частотой 0.2 цикл/град. Такая пространственная частота и контраст на уровне 100% позволяют оптимально активировать поля 17 и 18 зрительной коры кошки. При предъявлении на мониторе компьютера для зрительной стимуляции решетки одновременно плавно меняли ориентацию в диапазоне 0–360° и сдвигались в разных направлениях [Kalatsky, Stryker, 2003]. Такой подход позволяет параллельно активировать функциональные модули коры, чувствительные как к ориентации зрительного стимула, так и к направлению его движения. Длительность одного цикла стимуляции – время, за которое на мониторе последовательно сменяются все возможные ориентации и направления движения, – составляет 60 с. Таким образом, определенная ориентация и движение в заданном направлении будут повторяться один раз в минуту. Как показывает опыт предыдущих исследований, для построения функциональных карт высокого качества необходимо более 10 циклов стимуляции, поэтому в наших экспериментах функциональные карты построены в результате накопления данных в течение 10 циклов.

В экспериментах была использована ССД-камера (“Dalsa”, США) со светочувствительной ПЗС-матрицей, имеющей 1024 × 1024 светочувствительных элемента. Размер матрицы составлял 12 × 12 мм, что позволяет при использовании “макроскопа” – оптической системы для фокусировки изображения на матрице камеры с увеличением, равным 1, – регистрировать сигнал с поверхности коры

размером 12×12 мм. Камеру с оптоволоконным осветителем (красный свет с длиной волны $630 \mu\text{m}$) размещали над трепанационным отверстием. Переднюю фокальную плоскость устанавливали на глубине около $700 \mu\text{m}$ от поверхности коры, чтобы избежать артефактов движения крови по крупным сосудам пиальной оболочки. Аппаратно-программный комплекс для регистрации внутреннего оптического сигнала разработан В. Калацким [Kalatsky, Stryker, 2003].

Для обработки экспериментальных данных использовали анализ Фурье, позволяющий надежно выделять картирующий сигнал из совокупности физиологических периодических сигналов, связанных с дыханием, сердцебиением и вазомоторными изменениями кровотока. Для построения функциональных карт анализировали изменения оптического сигнала, регистрируемого от коры, как функцию времени. “Целевая” частота была задана частотой повторения идентичных условий зрительной стимуляции, которая составляла 60 с. Поскольку разные участки коры обладают различной чувствительностью к ориентации зрительного стимула и направлению его движения, то максимальная их активация будет наблюдаться со сдвигом относительно начала цикла стимуляции. Анализ изменений интенсивности отраженного света определяли для каждой точки коры, которая отображалась на матрице камеры. Исходный сигнал для анализа представляет собой значение интенсивности отраженного света для одной точки каждого кадра записи, длительность которой составляла 10 мин (1/6 часть всего времени регистрации активности коры во время экспериментов с пропופолом). Частота оцифровки сигнала составляла 7.8 Гц. Для каждой точки определяли фазу цикла стимуляции, которая вызывала максимальный отклик. На итоговых функциональных картах фазу максимального отклика изображали определенным цветом, что соответствовало конкретной ориентации или направлению движения зрительного стимула. На таких “фазовых” картах четко выявляется рисунок активации ориентационных колонок, поскольку в этом случае фаза цикла стимуляции соответствует изменениям ориентации зрительного стимула. Кроме того, используя разные гармоники спектра Фурье, можно было построить также функциональные карты чувствительности коры к направлению движения. Функциональные карты

использовали для дальнейшего анализа, в ходе которого изучали как сохранность пространственной структуры карты, так и изменения усредненных амплитудных характеристик. Численные значения, которые лежат в основе построения амплитудных карт, получены при вычислении изменения интенсивности отраженного света относительно базового уровня (дробные изменения количества отраженного света $\times 10^{-4}$). Дополнительную обработку карт проводили с помощью программ, созданных в среде программирования Matlab.

На рис. 1 проиллюстрирован наш подход к выделению областей интереса, которые были использованы для дальнейшего анализа. Выделение проводили с помощью программы для анализа экспериментальных данных, написанной в среде программирования Матлаб. Области интереса выбирали по амплитудным картам, на которых градации серого цвета отражают амплитуду ответа популяции нейронов в определенной точке коры. Черные точки на ориентационных картах (рис. 1(а)) и черные линии на дирекциональных (рис. 1(б)) соответствуют тем местам на поверхности коры, от которых не регистрируют изменений в ответ на любую ориентацию стимула либо направление его движения. Такие области в литературе называют “локусами сингулярности”. Мы выбирали для дальнейшего анализа такие области на функциональных картах, которые не содержали локусов сингулярности. Как правило, для каждого животного было выделено порядка 100 областей интереса. Для приведенного на рис. 1 примера для ориентационной карты было выделено 104 области интереса (а), тогда как для дирекциональной карты — 97 областей интереса. Размер одной такой области составляет 11×11 точек изображения (всего в одной области 121 пикселя функциональной карты для анализа). Одна точка изображения на ориентационной или дирекциональной карте получена в результате усреднения сигнала с четырех светочувствительных элементов ПЗС-матрицы.

Особенности расположения трепанационного отверстия позволяют нам регистрировать сигнал одновременно от 17 и 18 полей зрительной коры. Области интереса располагали по возможности равномерно в указанных областях. Вся запись экспериментальных данных была разделена после этого на 10-минутные интервалы, для которых строи-

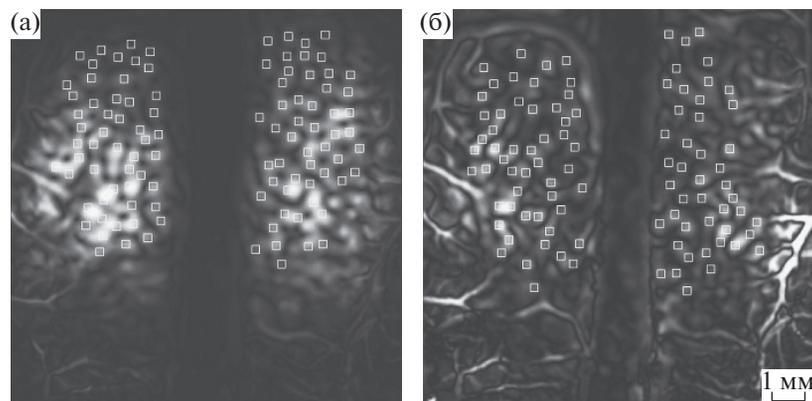


Рис. 1. Примеры амплитудных карт ориентационной (а) и дирекциональной чувствительности (б). Карты были получены в эксперименте с идентификационным номером с026. Участки коры с минимальным ответом на стимул показаны черным цветом. “Локусы сингулярности” на ориентационной карте выглядят как черные точки, а на дирекциональных — как черные линии. Квадратами очерчены области интереса, для которых рассчитывали значения амплитуды и коэффициента корреляции для последующего анализа.

Fig. 1. Examples of amplitude maps for the orientation (a) and directional sensitivity (b). The maps were obtained in the experiment with identification number c026. Cortical sites with a minimal response to the stimulus are shown in black. “Loci of singularity” on the orientation map look like black dots, and on directional ones they look like black lines. Squares outline areas of interest for which the amplitude and correlation coefficient values were calculated for subsequent analysis.

ли отдельные функциональные карты. Для каждой области интереса были возможны сравнения между картами, как в плане изменения амплитуды ответа, так и структурных изменений. Сравнение амплитуды проводили по среднему значению амплитуды, нормированному по отношению к значению в первой “эталонной” карте. Структурные изменения отслеживали, рассчитывая коэффициент корреляции между областями интереса с первой картой и последующими картами.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В первую очередь следует отметить, что кратковременное введение дополнительной дозы пропофола вызывает изменение интенсивности отраженного света в отдельной точке на “сырых” картах. На рис. 2 показаны регистрируемые в ходе эксперимента увеличения количества отраженного от поверхности головного мозга света, полученные для одной точки изображения, но для последовательно регистрируемых кадров в течение всего эксперимента с пропофолом. Эксперименты были проведены на 8 животных, и в каждом случае хорошо заметно увеличение количества отраженного света после введения дополнительной дозы пропофола, что свидетельствует о снижении метаболизма в конкретном участке мозга, коррелирующего с

уменьшением концентрации дезоксигемоглобина. Расположенная сверху кривая соответствует усредненному ответу по всем животным. Изменение интенсивности отраженного света на необработанных картах колеблется в диапазоне с 0.05 до 4.7% от базового уровня, что соответствует регистрируемым в других экспериментах изменениям внутреннего оптического сигнала.

При анализе экспериментальных данных в первую очередь нам хотелось выяснить, насколько различается сила ответа в дирекциональных и функциональных картах. Как было отмечено ранее, выделение фиксированных областей интереса (ОИ) осуществляли вручную, ориентируясь на ориентационные колонки и избегая точек сингулярности, в которых сигнал на ориентацию или направление движения минимален. Для каждой ОИ рассчитывали среднюю амплитуду ответа по амплитудным картам. Итоговые данные показаны на рис. 3. Распределение черного цвета (обозначено в легенде к рис. 3 как “1”) отражает средние амплитуды в ОИ, регистрируемые в дирекциональных колонках (число областей интереса равно 584), тогда как распределение амплитуд ответов на ориентацию стимула представлено гистограммой светлого цвета (обозначено в легенде к рис. 3 как “2”; число областей интереса равно 756). Среднее значение для амплитуд ответа ори-

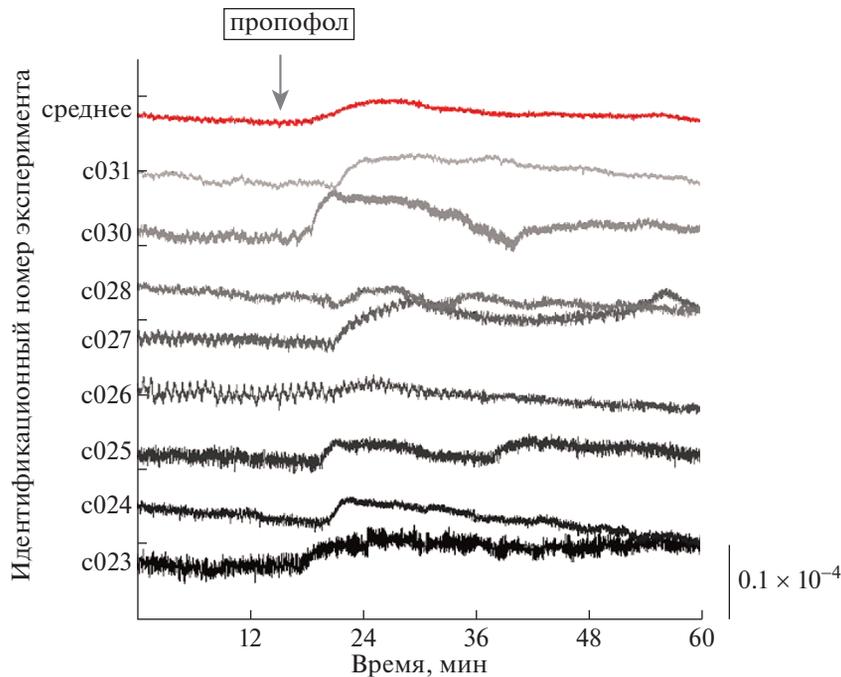


Рис. 2. Изменение интенсивности отраженного света в одной точке коры во время экспериментов по системному введению пропофола. Момент подачи пропофола указан стрелкой. Верхний график представляет усредненный результат по 8-ми животным. Отдельные эксперименты обозначены идентификационными номерами c023–c031. Калибровочная планка соответствует изменению количества отраженного от поверхности коры света относительно базового на величину 0.1×10^{-4} .

Fig. 2. Change in the intensity of reflected light at one point of the cortex during experiments on the systemic administration of propofol. The arrow indicates the moment of propofol administration. The upper graph represents the average result for 8 animals. Individual experiments are indicated by identification numbers c023–c031. The scale bar corresponds to a change in the amount of reflected from the cortical surface light relative to the base level by a value of 0.1×10^{-4} .

ентационных колонок составило $7.11 (\pm 4.16)$, тогда как для дирекциональных колонок аналогичное значение было равно $4.46 (\pm 3.11)$. Тест Колмогорова–Смирнова подтверждает достоверность различий на уровне высокой статистической значимости ($p < 0.001$). Таким образом, регистрируемый с помощью оптического картирования сигнал в ориентационных колонках коры в 1.6 раза превышает ответ дирекциональных колонок.

Далее мы исследовали особенности изменения ответа функциональных доменов коры под воздействием кратковременного введения дополнительной дозы пропофола. Для этой цели мы вычисляли среднюю амплитуду в каждой области интереса, а затем для каждого животного строили зависимости амплитуды отклика во времени, нормированные относительно первого значения, полученного для конкретной ОИ на функциональной карте до введения пропофола (рис. 4). Момент введения пропофола приходился на

точку на графике (обозначены стрелками), соответствующей второй карте (15 мин эксперимента). Уже для следующей точки на графике (30 мин от начала эксперимента) можно отметить падение амплитуды в среднем приблизительно на 40% (рис. 4 (а, в)). Подобное наблюдение характерно как для ориентационных, так и для дирекциональных карт. Мы не обнаружили статистически значимых различий между значениями на максимуме эффекта, соответствующих точке на графике 30 мин. Следует обратить внимание, что снижение активности функциональных модулей наблюдается, по крайней мере, в течение 45 мин, следующих за моментом введения дополнительной дозы пропофола.

Аналогичный анализ был проведен и для выявления изменений в структуре функциональных карт (рис. 4 (б, г)). В этом случае вычисляли коэффициенты корреляции между амплитудой ответа области интереса для первой карты (до введения дополнительной дозы

пропофола) размером 11×11 точек изображения и амплитудами ответа соответствующих регионов на следующих за фармакологическим воздействием картах. Падение уровня корреляции составило для карт чувствительности к направлению движения порядка 60%, тогда как для ориентационной чувствительности такое падение было не столь значительным: около 40%. Таким образом, под воздействием пропофола наиболее сильно страдает дирекциональная чувствительность.

Дополнительно мы провели детальное исследование сохранности структуры в отдельных областях интереса функциональных карт. Результаты анализа данных показаны на рис. 5. При анализе структуры ориентационных и дирекционных колонок мы обнаружили, что в некоторых случаях изменения носят радикальный характер, тогда как в довольно большом числе случаев структура ориентационных или дирекционных карт в пределах одной области интереса не меняется. Для данных, полученных на одном животном, можно построить распределение коэффициентов корреляции, вычисленных по отношению к “эталонной” карте. Для ориентационной чувствительности выявлено довольно большое число высоких коэффициентов корреляции (рис. 5(a)). Как видно на рис. 5 (б), высокие значения коэффициентов корреляции для определенной части ОИ сохраняются для всех ориентационных карт даже после введения дополнительной дозы пропофола. В то же время выделенные на дирекционных картах ОИ таким свойством не обладают (данные на графике не представлены). Популяционный анализ показывает, что для всех животных доля стабильных областей интереса для ориентационных функциональных карт составляет порядка 60%, тогда как стабильность структуры на дирекционных картах сохраняется лишь в 10% случаев (рис. 5 (в)). Итак, функциональные модули ориентационной чувствительности оказались более устойчивыми к действию пропофола, чем домены, селективные к направлению движения стимула.

Нами был проведен анализ предпочтительных ориентаций, кодирующих положение стимула в пространстве в стабильных и нестабильных областях интереса. Отдельно для стабильных и нестабильных ОИ были подсчитаны точки изображения, которые соответствуют определенным ориентациям. Гистограммы для соответствующих распре-

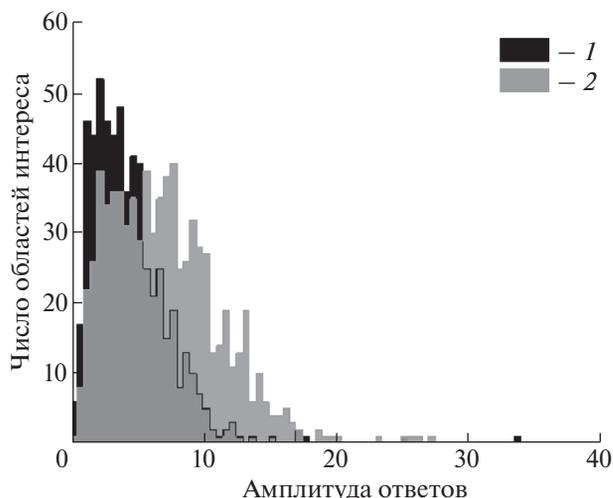


Рис. 3. Сравнение амплитуды ответа между функциональными картами ориентационной и дирекциональной чувствительности. Распределение интенсивности ответов для областей интереса на ориентационных картах (обозначено в легенде как “2”, $N = 756$) отличается от аналогичного распределения для областей интереса на функциональных картах дирекциональной чувствительности (обозначено в легенде как “1”, $N = 584$). Различия по тесту Колмогорова–Смирнова высоко достоверны ($p < 0.001$).

Fig. 3. Comparison of the amplitude of the response between the functional maps of the orientation and directional sensitivity. The distribution of the response intensities for the regions of interest on orientation maps (indicated in the legend as “2”, $N = 756$) differs from the dark histogram, for the construction of which the regions of interest were used on the functional maps of the directional sensitivity (indicated in the legend as “1”, $N = 584$). The Kolmogorov–Smirnov test is high significant ($p < 0.001$).

делений представлены на рис. 6. Темным цветом (обозначен в легенде как “2”) показаны ориентации, составляющие преимущественно стабильные ОИ, а светло-серым — для нестабильных. Таким образом, кодирование вертикальных ориентаций стимула наиболее устойчиво к воздействию пропофола, опосредованного эффектом на ГАМК_A-рецепторы. Видно, что большую стабильность демонстрируют те области первичной зрительной коры, которые заняты анализом информации о близких к вертикальным ориентациях. Одновременно большая часть нестабильных областей (распределение “1” на рис. 6) локализована в тех участках поверхности мозга, которые анализируют информацию о горизонтальных ориентациях зрительного стимула.

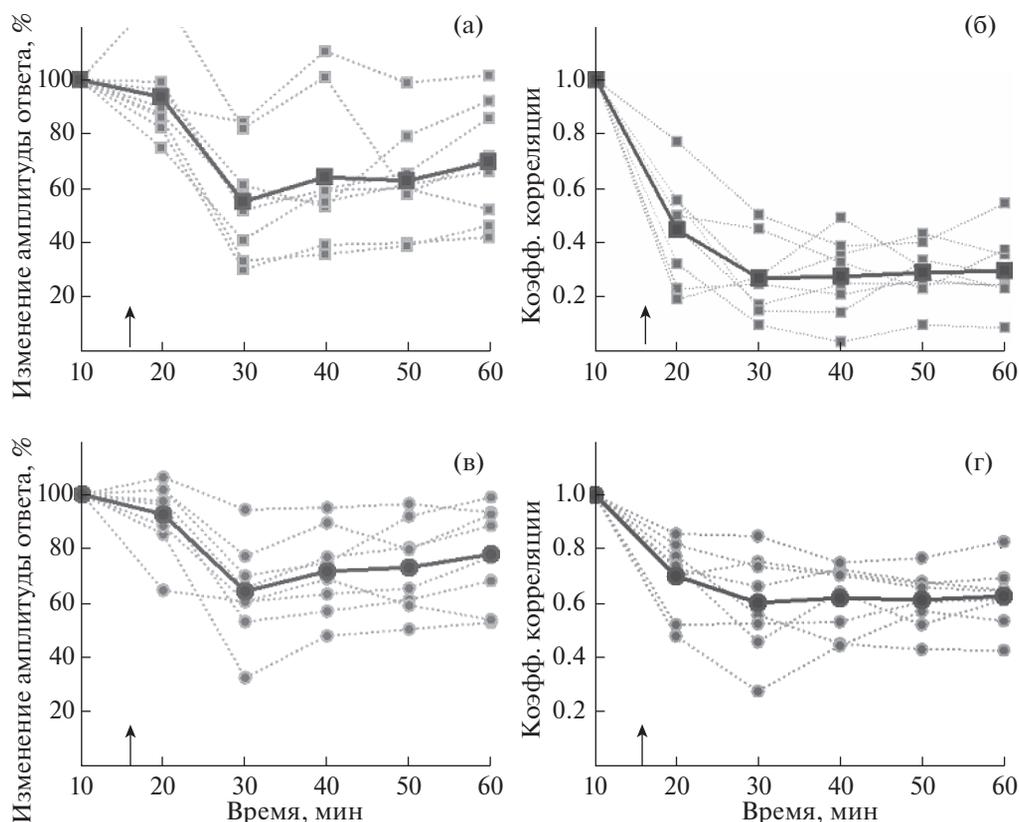


Рис. 4. Нормированные графики падения амплитуды оптического сигнала (а, в) и изменения структуры функциональных карт, выраженные через корреляцию между областями интереса (б, г). а, б – изменение функциональных свойств дирекционных модулей; в, г – ориентационных. Светло-серым цветом показаны графики для экспериментов на разных животных, а темно-серым отображены усредненные кривые.

Fig. 4. Normalized plots of the optical signal amplitude (а, в) and changes in the structure of functional maps, expressed through the correlation between the areas of interest (б, г). а, б – change the functional properties of the directional modules; в, г – orientation. Light-gray color shows graphs for experiments on different animals, while dark gray shows the averaged curves.

Таким образом, мы проанализировали вызванные дополнительным воздействием пропрофола изменения активности в ориентационных и дирекционных колонках первичной зрительной коры кошки. При анализе функциональных карт до фармакологического воздействия оказалось, что в целом активность колонок дирекционной чувствительности слабее, чем активность ориентационных колонок. Пропрофол оказывает более выраженное воздействие на структуру дирекционных колонок. Повышенную стабильность к системному фармакологическому воздействию демонстрируют функциональные домены коры, которые детектируют ориентации зрительного стимула, близкие к вертикальной.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные нами результаты можно кратко описать следующим образом: а) элементы функциональной дирекционной чувствительности отличаются сниженной амплитудой ответов по сравнению с ориентационной; б) воздействие пропрофола характеризуется снижением активности ориентационных и дирекционных колонок; в) функциональные модули по-разному реагируют на воздействие пропрофолом в плане сохранности их структуры: ориентационные колонки демонстрируют большую стабильность; г) среди функциональных модулей коры наиболее стабильными являются популяции клеток, кодирующие вертикальные ориентации.

Несмотря на значительные успехи в области анализа и моделирования процессов ко-

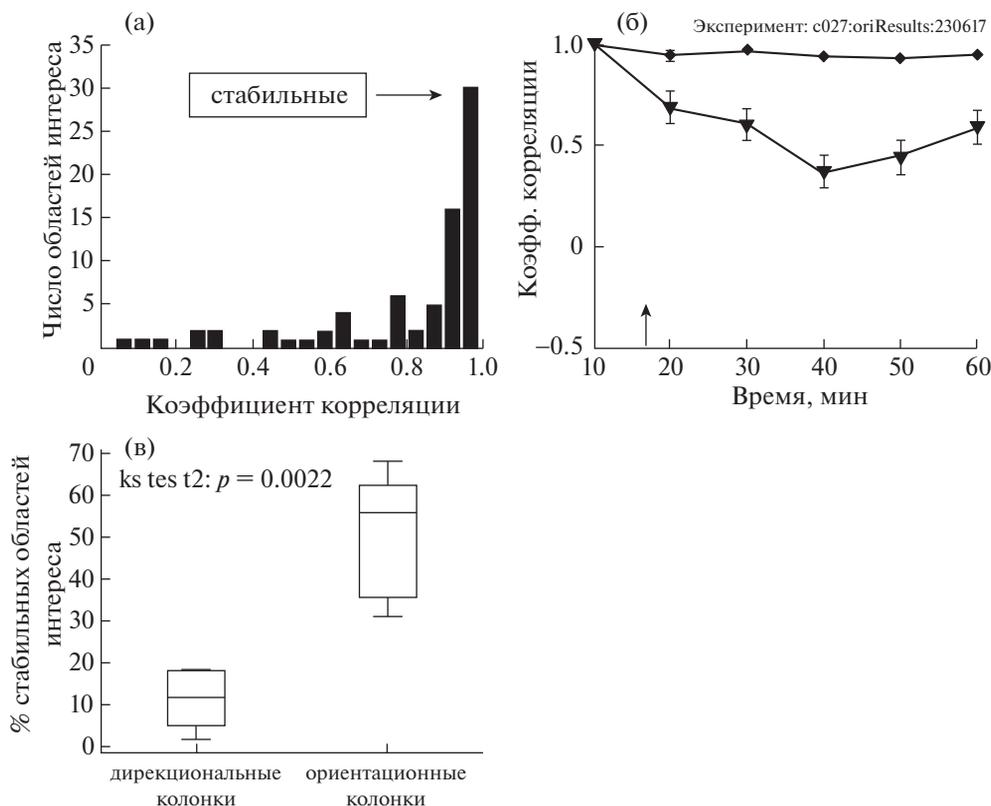


Рис. 5. Стабильность структуры в области интереса на примере колонок ориентационной чувствительности. а – гистограмма распределения коэффициентов корреляции для стабильных и нестабильных ОИ. б – изменение коэффициента корреляции во времени для стабильных (кривая с точками в виде ромбов) и нестабильных (треугольные точки) ОИ. в – доля (в %) стабильных ОИ для дирекционных и ориентационных модулей.

Fig. 5. Stability of the structure in the field of interest on the example of the speakers of orientation sensitivity. а – histogram of correlation coefficients distribution for stable and unstable OI. б – change in the correlation coefficient in time for stable (curve with points in the form of rhombuses) and unstable (triangular points) OI. в – the percentage of stable and unstable OI for directional and orientation modules.

дирования отдельных признаков изображения на разных уровнях зрительной системы, мы еще далеки от полного понимания того, как происходит выделение информации об ориентации стимула и его направления движения на уровне коры. Наиболее распространенной является теория, предложенная еще Д. Хьюбелом и Т. Визелом, которые обнаружили селективность нейронов первичной зрительной коры к ориентации границ света и тени [Hubel, Wiesel, 1962]. В их оригинальной модели было выдвинуто предположение, что некоторое число клеток наружного колленчатого тела с рецептивными полями небольшого размера посылают свои аксоны одной клетке первичной зрительной коры. Предполагается, что отдельные рецептивные поля нейронов ЛКТ ориентированы вдоль одной определенной оси. В последующих

экспериментах с блокадой локальной сети первичной зрительной коры [Charman et al., 1991] было экспериментально доказано, что предполагаемый сценарий имеет под собой реальный морфологический субстрат. Другие исследователи [Ferster et al., 1996] доказали, что для формирования ориентационной чувствительности в коре важна синхронизованная работа клеток НКТ. Похожие результаты были получены при использовании канального родопсина для отключения тормозных интернейронов [Lien, Scanziani, 2013]. Тем не менее бытует мнение, что в проявлениях селективности по отношению к ориентации стимула важную роль должны играть локальные сети собственно первичной зрительной коры, которые усиливают приходящий из ЛКТ сигнал [Volgushev et al., 1996; Vidyasagar et al., 1996]. Сила сигнала в первичной зри-

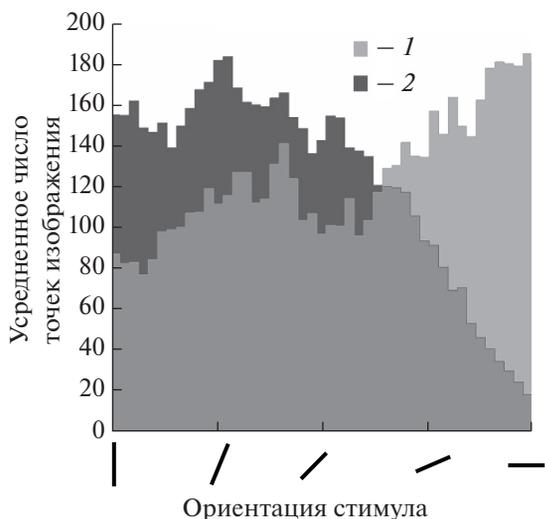


Рис. 6. Кодирование ориентаций в стабильных и нестабильных областях интереса. Темно-серым цветом показано распределение предпочитаемых ориентаций для стабильных ОИ. Заметно явное преобладание доменов с вертикальной ориентацией. Светло-серым цветом показано распределение ориентаций для нестабильных ОИ.

Fig. 6. Coding of orientations in stable and unstable areas of interest. A dark gray color shows the distribution of preferred orientations for stable OI. Noticeably a clear predominance of domains with a vertical orientation. A light gray color shows the distribution of orientations for unstable OI.

тельной коре может отражать степень вовлеченности ее клеток в процессы обработки информации. Ранее было показано, что BOLD-сигнал связан с подпороговой активностью нервных элементов коры [Logothetis et al., 2001]. Фактически, мы регистрируем тот же тип сигнала в наших экспериментах по оптическому картированию. Величина оптического отклика коры отражает энергетику процессов обработки информации в ней. Следовательно, можно предположить, что именно формирование ориентационной чувствительности требует вовлечения значительного числа клеток, что ведет к увеличению потребления энергии. Поэтому в нашем случае мы наблюдали достоверные различия в амплитуде оптического сигнала, полученного в ходе анализа функциональных карт ориентационной и дирекциональной чувствительности.

Воздействие пропофола снижает уровень сигнала в функциональных модулях ориентационной и дирекциональной чувствительности. Судя по всему, системное влияние про-

пофола, несмотря на уже достаточный для анестезии уровень, может дополнительно инактивировать ГАМКа-рецептор. Эти элементы клеточной мембраны расположены как на тормозных, так и на возбуждающих нейронах. Скорее всего, потенциация ГАМКа-рецепторов вызывает снижение уровня торможения, что сказывается на специфическом корковом усилении афферентного сигнала, приходящего от клеток наружного колленчатого тела [Katzner et al., 2011]. В результате это приводит к падению регистрируемого от функциональных модулей коры специфического сигнала.

Нами было обнаружено, что значительная доля ориентационных колонок (до 60%) сохраняет свою структуру практически неизменной в условиях системного воздействия пропофола. Можно предположить, что в соответствии с современными теоретическими представлениями о кодировании стимула в первичной зрительной коре, пропофол влияет на коэффициент усиления сигнала, но это влияние критически не сказывается на характере горизонтальных межнейронных связей, которые и определяют функциональную архитектуру стриарной коры.

Проведенный анализ предпочтительных ориентаций в наиболее стабильных колонках показал высокую устойчивость функциональных модулей, которые задействованы в анализе вертикальных ориентаций стимула. Здесь мы вновь сталкиваемся, по всей видимости, с так называемым эффектом наклонных ориентаций. Изначально этот феномен был обнаружен в психофизических экспериментах. Позднее он был подтвержден в опытах по регистрации нейронной активности методом оптического картирования [Li et al., 2003; Shen et al., 2008]. В предыдущих работах нам не удалось обнаружить увеличения представительства нейронов, кодирующих базисные ориентации по сравнению с промежуточными [Иванов и др., 2006; Лямзин и др., 2009]. Однако в настоящем исследовании мы наблюдаем скорее функциональные различия, которые связаны с устойчивостью к системным фармакологическим воздействиям. Это может быть связано с тем, что базисные ориентации (а именно, вертикаль) обеспечиваются более надежными нейронными сетями, поскольку вертикальная ориентация может служить своеобразной точкой отсчета, относительно которой осуществляется формирование всей остальной ориентационной

чувствительности. Данные по анализу изображений показывают, что вертикальные ориентации преобладают во внешней среде [Coppola et al., 1998]. Такое преобладание будет обеспечивать функциональные элементы зрительной системы постоянной нагрузкой, что будет способствовать формированию специфических нейронных сетей, занятых в анализе этих ориентаций. В онтогенезе представительство вертикальных линий появляется в первую очередь, что может быть связано с особенностями жесткой генетической детерминированности функциональной архитектуры зрительной коры [Chapman, Bonhoeffer, 1998].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В экспериментах по оптическому картированию нами были оценены эффекты кратковременного воздействия пропофола на функциональные карты первичной зрительной коры кошки. Было показано, что наиболее чувствительными к воздействию пропофолом оказались функциональные домены коры, которые детектируют направление движения стимула. Одновременно высокой стабильностью обладают модули, анализирующие близкие к вертикальным ориентации стимула. Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что дополнительные системные фармакологические воздействия следует принимать в расчет при анализе данных оптического картирования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Иванов Р.С., Бондарь И.В., Салтыков К.А., Шеевлев И.А. Площадь зон оптической активации поля 17 коры мозга кошки при предъявлении решеток разной ориентации. Журн. высш. нервн. деят. 2006. 4: 516–522.
- Кулешова Е.П. Оптогенетика – новые возможности для электрофизиолога. Журн. высш. нервн. деят. 2017. 67 (5): 18–31.
- Лямзин Д.Р., Бондарь И.В., Иванов Р.С. Обработка функциональных карт зрительной коры мозга, полученных по внутреннему оптическому сигналу. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2009. 9 (4): 335–346.
- Chapman B., Zahs K.R., Stryker M.P. Relation of cortical cell orientation selectivity to alignment of receptive fields of the geniculocortical afferents that arborize within a single orientation column in ferret visual cortex. J Neurosci. 1991. 11 (5): 1347–58.
- Chapman B., Bonhoeffer T. Overrepresentation of horizontal and vertical orientation preferences in developing ferret area 17. Proc Natl Acad Sci USA. 1998. 95 (5): 2609–14.
- Coppola D.M., Purves H.R., McCoy A.N., Purves D. The distribution of oriented contours in the real world. PNAS. 1998. 95: 4002–4006.
- Ferster D., Chung S., Wheat H. Orientation selectivity of thalamic input to simple cells of cat visual cortex. Nature. 1996. 380 (6571): 249–52.
- Grinvald A., Frostig R.D., Lieke E., Hildesheim R. Optical imaging of neuronal activity. Physiol. Rev. 1988. 68 (4): 1285–1366.
- Hillier D., Fiscella M., Drinnenberg A., Trenholm S., Rompani S.B., Raics Z., Katona G., Juettnner J., Hierlemann A., Rozsa B., Roska B. Causal evidence for retina-dependent and -independent visual motion computations in mouse cortex. Nat Neurosci. 2017. 20 (7): 960–968.
- Hubel D.H., Wiesel T.N. Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. J. Physiol. 1962. 160: 106–54.
- Katzner S., Busse L., Carandini M. GABA_A inhibition controls response gain in visual cortex. J Neurosci. 2011. 31 (16): 5931–41.
- Kelly S.T., Kremkow J., Jin J., Wang Y., Wang Q., Alonso J.M., Stanley G.B. The role of thalamic population synchrony in the emergence of cortical feature selectivity. PLoS Comput Biol. 2014. 10 (1): e1003418.
- Li B., Peterson M.R., Freeman R.D. Oblique effect: a neural basis in the visual cortex. J Neurophysiol. 2003. 90 (1): 204–17.
- Lien A.D., Scanziani M. Tuned thalamic excitation is amplified by visual cortical circuits. Nat Neurosci. 2013. 16 (9): 1315–23.
- Logothetis N.K., Pauls J., Augath M., Trinath T., Oeltermann A. Neurophysiological investigation of the basis of the fMRI signal. Nature. 2001. 412 (6843): 150–7.
- Nelson S., Toth L., Sheth B., Sur M. Orientation selectivity of cortical neurons during intracellular blockade of inhibition. Science. 1994. 265 (5173): 774–7.
- Moore C.I., Carlen M., Knoblich U., Cardin J.A. Neocortical interneurons: from diversity, strength. Cell. 2010. 142 (2): 189–93.
- Priebe N.J. Mechanisms of Orientation Selectivity in the Primary Visual Cortex. Annu Rev Vis Sci. 2016. 2: 85–107.
- Shen W., Liang Z., Shou T. Weakened feedback abolishes neural oblique effect evoked by pseudo-natural visual stimuli in area 17 of the cat. Neurosci Lett. 2008. 437 (1): 65–70.
- Stanley G.B., Jin J., Wang Y., Desbordes G., Wang Q., Black M.J., Alonso J.M. Visual orientation and di-

- rectional selectivity through thalamic synchrony. *J. Neurosci.* 2012. 32 (26): 9073–88.
- Yip G.M., Chen Z.W., Edge C.J., Smith E.H., Dickinson R., Hohenester E., Townsend R.R., Fuchs K., Sieghart W., Evers A.S., Franks N.P. A propofol binding site on mammalian GABAA receptors identified by photolabeling. *Nat Chem Biol.* 2013. 9 (11): 715–20.
- Vanni M.P., Provost J., Casanova C., Lesage F. Bimodal modulation and continuous stimulation in optical imaging to map direction selectivity. *Neuroimage.* 2010. 49 (2): 1416–1431.
- Vidyasagar T.R., Pei X., Volgushev M. Multiple mechanisms underlying the orientation selectivity of visual cortical neurones. *Trends Neurosci.* 1996. 19 (7): 272–7.
- Volgushev M., Vidyasagar T.R., Pei X. A linear model fails to predict orientation selectivity of cells in the cat visual cortex. *J Physiol.* 1996. 1 (3): 597–606.
- Zepeda A, Arias C, Sengpiel F. Optical imaging of intrinsic signals: recent developments in the methodology and its applications. *J Neurosci Methods.* 2004. 136 (1): 1–21.

SUSTAINABILITY OF THE ORIENTATIONAL AND DIRECTIONAL FUNCTIONAL DOMAINS IN THE PRIMARY VISUAL CORTEX OF CAT TO THE IMPACT OF PROPOFOL

V. S. Bugrova and I. V. Bondar[#]

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

[#] e-mail: bondar@ihna.ru

Using the method of intrinsic optical mapping makes it possible at the population level to study the activity of functional domains of the primary visual cortex in response to changes in the stimulus situation. The introduction of a short-term injection of propofol against a background of stable anesthesia makes it possible to determine how different functional domains of the cortex are resistant to the systemic effects of the pharmacological agents. This substance was selected for experiments, since literature data indicate its affinity for GABA receptors. The experiments were carried out on 7 adult clinically healthy cats. When analyzing the experimental data, a statistically significant difference was found between the responses of the directional and the orientation columns: the signal in the orientation domains was 1.6 times higher than the response in the directional selectivity modules. In the course of analyzing changes in the structure of optical maps, the correlation level between the areas of interest was shown to drop by about 60% for directional maps, and 40% for orientation maps. The orientation columns proved to be more resistant to the action of propofol. In addition, a stability analysis was performed on the coding of certain orientations in the cortex, which showed the greatest stability of the functional elements of the cortex, detecting close to vertical orientations.

Keywords: primary visual cortex, functional domains of orientation and directional selectivity, optical imaging of intrinsic signal, propofol