

УДК 612.014.421

**О ПАРАМЕТРАХ СТИМУЛА, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ РЕАКЦИИ  
ЦЕРКАЛЬНЫХ ИНТЕРНЕЙРОНОВ**

© 1997 г. Д.Н. ЛАПШИН, Г.И. РОЖКОВА, В.Ю. ВЕДЕНИНА

*Институт проблем передачи информации РАН  
127994, Москва, Б. Каретный пер., 19*

Поступила в редакцию 10.02.97 г.

Используя метод стимуляции линейно-изменяющимися сигналами, исследовали идентифицируемые нейроны 10-3а и 9-1b церкальной системы сверчка с целью выяснения параметра ветрового стимула (скорость, ускорение и т.д.), определяющего их реакции. Было обнаружено, что для нейрона 10-3а таким фактором является ускорение потока воздуха, а для нейрона 9-1b - производная ускорения. Поскольку нейрон 10-3а ранее считался чувствительным к скорости, полученные результаты указывают на необходимость переосмысления некоторых прежних данных и соответствующей коррекции стратегии исследований.

*Ключевые слова:* насекомые, церкальная система.

**Введение**

В работе [1] описан метод стимуляции ветрочувствительных систем насекомых, обеспечивающий возможность надежного выявления того параметра ветрового стимула (действующего фактора), который определяет реакции исследуемого элемента - рецептора или центрального нейрона. В настоящей работе приводятся и обсуждаются первые результаты исследования в данном аспекте центральных нейронов церкальной системы сверчка. Эта система хорошо подходит для оценки эффективности предложенного метода, так как многие входящие в нее нейроны надежно идентифицируются по морфологическим и физиологическим признакам и детально изучены рядом авторов [2]. С точки зрения конкретного отбора объектов исследования представлялось целесообразным протестировать как нейроны, для которых действующий фактор считался установленным, так и нейроны, о которых было трудно что-либо сказать по данным, полученным традиционными методами (синусоидальная стимуляция). В соответствии с такой установкой, в проверочных экспериментах наибольшее внимание было уделено нейронам типа 10-3а и 9-1b (обозначения соответствуют классификации [3]).

Нейрон 10-3а - один из гигантских и наиболее изученных нейронов церкальной системы сверчка. Его характерными чертами являются тонический тип реакций, синхронизация разрядов со звуковыми волнами и хорошо выраженная чувствительность к направлению стимула [2, 4, 6]. Анализ его частотных характеристик привел к предположению [4], что он является детектором скорости воздушного потока. Все последующие данные [6-8], включая исследования по афферентации 10-3а [7], казалось, подтверждали это мнение. Представлялось интересным проверить эту гипотезу с помощью новой методики.

Что касается нейрона 9-1b, то он пока исследован мало, но, как уже известно, обладает весьма интересными свойствами [5, 9], которые непросто объяснить с позиций устоявшихся представлений: высокой избирательностью к частотам 30 Гц и ниже, тормозной реакцией на частотах выше 100 Гц, отсутствием синхронизации ответов со звуковой волной и сильным привыканием. Относительно этого нейрона интересно было получить хотя бы первые данные о возможном действующем факторе.

### Материалы и методы

Исследования проводили на сверчках *Acheta domesticus*, имаго и личинках последнего возраста. Животных брали из лабораторной культуры. При подготовке препарата насекомое фиксировали растопленным воском на пластинке вентральной стороной вверх и обнажали коннективы на выходе терминального брюшного ганглия, вырезая над ними небольшое окно в кутикуле. Это окно окружали невысокой стенкой из вощенной бумаги, и получавшуюся ванночку заполняли физиологическим раствором.

Реакции церкальных интернейронов регистрировали с помощью стеклянных микроэлектродов (боросиликатное стекло, сопротивление кончика 50-100 МОм), перемещаемых вертикально посредством микроманипулятора и вводимых в коннективы, которые перед этим приподнимали и закрепляли на специальном крючке. Оболочку выбранного коннектива предварительно обрабатывали коллагеназой для облегчения вхождения микроэлектрода. Для морфологической идентификации исследуемых клеток в аксон из микроэлектрода в конце опыта вводили люминесцентный краситель Lucifer yellow.

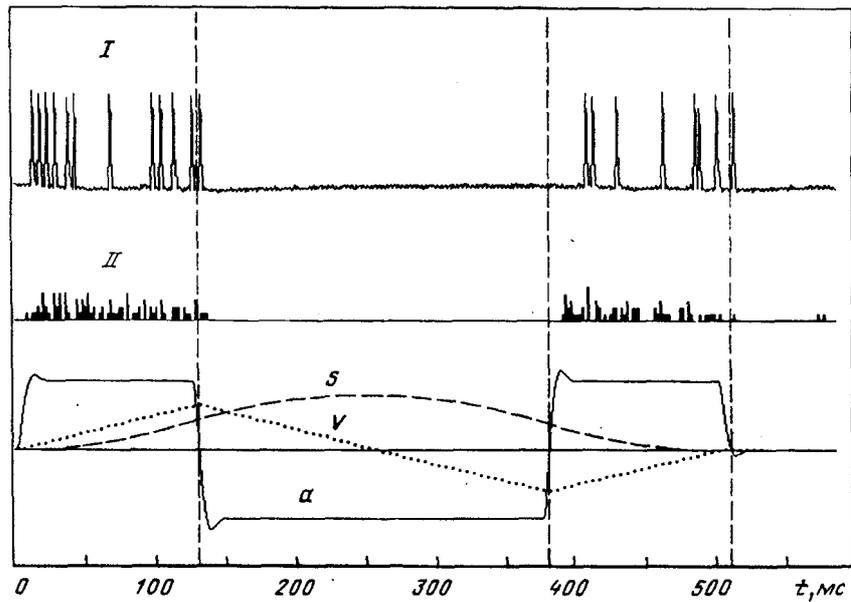
Ветровую стимуляцию осуществляли по методике, описанной в работе [1]. Основные параметры стимула: длительность управляющего сигнала - 0,5 с, амплитуда максимального смещения - 3 мм, максимальная скорость - 23 мм/с, ускорение на стационарных участках - 192 мм/с<sup>2</sup>.

Обработка электрофизиологических данных была проведена с помощью электронной системы "Эксперт" в составе компьютера IBM PC-486.

### Результаты

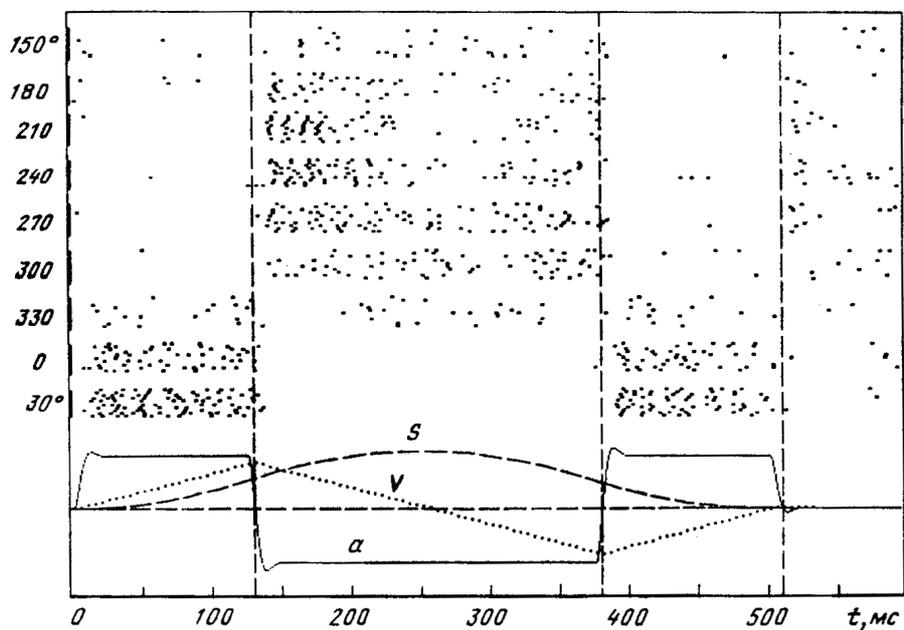
Нейрон 10-3а церкальной системы сверчка был исследован в трех экспериментах, результаты которых оказались сходными. На рис. 1 приведен пример реакции нейрона 10-3а на линейно изменяющиеся ветровые стимулы. Направление стимуляции (30°) было близко к тому, которое считается оптимальным для данного нейрона [2, 6]. На осциллограмме (рис. 1, I) видно, что разряды нейрона приурочены к положительным прямоугольным участкам функции ускорения стимула (рис. 1, а, интервалы 0-125 и 380-515 мс). Это подтверждает и гистограмма, построенная путем накопления ответов на десять предъявлений (рис. 1, II). Латентный период реакций на перепады ускорения варьировал в пределах 10-20 мс.

На рис. 2 представлены реакции этого же нейрона на стимулы разных направлений. Из рисунка видно, что при развороте камеры на 180° относительно первоначального положения 30° (что равнозначно инверсии знака стимулирующего сигнала) произошла адекватная перегруппировка спайков в ответах нейрона (рис. 2, угол 210°). На других углах разворота камеры реакции были менее выражены, что особенно заметно при направлении 330°. Так как по обе стороны от этого угла (300 и 0°) во временной структуре ответов наблюдается четкая структурная инверсия, можно считать, что вблизи направления 330° нейрон имел минимальную чувствительность. В этом случае средняя частота его разрядов характеризовала динамику спонтанной активности, которая была сходной с таковой на участках после окончания действия стимула. Анализ распределения спайков позволяет



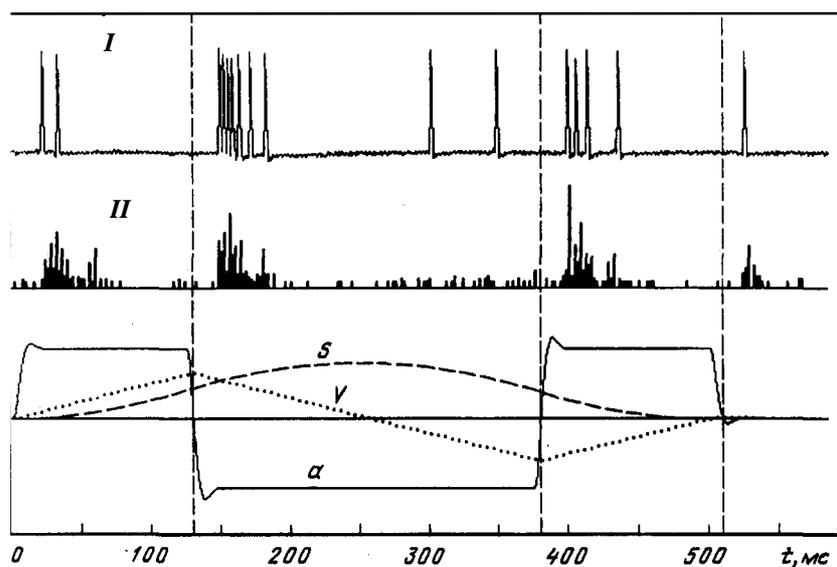
**Рис. 1.** Пример реакции нейрона 10-3а.

Отведение от правого коннектива, выше ТБГ. Угол разворота акустической камеры относительно насекомого  $30^\circ$ . I - осциллограмма реакции, амплитуда спайков - 66-70 мВ; II - гистограмма распределения спайков во времени, количество предъявлений стимула - 10, ширина канала накопления - 2 мс; S, V и a - графики соответственно смещения, скорости и ускорения воздушного потока. По горизонтальной оси - время от начала стимуляции. Вертикальными пунктирными линиями отмечены моменты перехода функции ускорения через нуль.

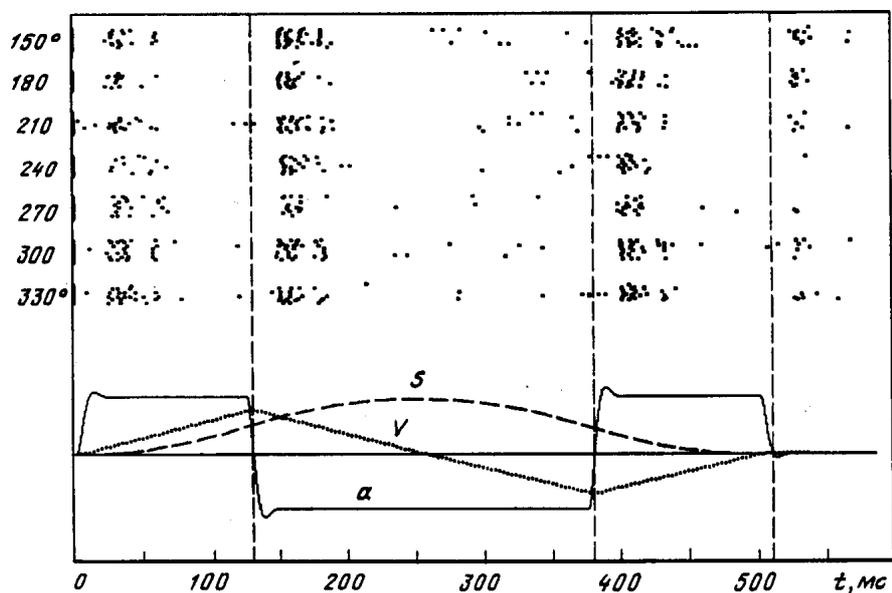


**Рис. 2.** Зависимость реакций нейрона 10-3а от угла поворота стимулирующей камеры относительно продольной оси тела насекомого.

По вертикальной оси - угол поворота камеры, по горизонтальной - время от начала стимуляции. Точкам соответствуют отдельные спайки в ответах нейрона. С каждого направления предъявляли по 10 стимулов (10 строк). S, V и a - то же, что на рис. 1.



**Рис. 3.** Пример реакции нейрона 9-1b. Отведение от левого коннектива. Угол разворота акустической камеры относительно насекомого  $30^\circ$ . *I* - осциллограмма реакции, амплитуда спайков 68-77 мВ; *II* - гистограмма распределения спайков во времени, количество предъявлений стимула 70, ширина канала накопления 2 мс; *S*, *V* и *α* - то же, что на рис. 1.



**Рис. 4.** Зависимость реакций нейрона 9-1b от угла поворота оси стимулирующей камеры относительно тела насекомого. Обозначения те же, что на рис. 2.

предположить, что нейрон не только возбуждался на интервалах положительного ускорения, но и тормозился при смене направления вектора стимула на противоположное (рис. 2, углы 0 и 30°, интервалы 130-380 мс). На этих участках спонтанная активность нейрона была резко снижена по сравнению с постстимульными интервалами.

Хотя связь паттерна реакций нейрона 10-3а с ускорением очевидна, нельзя исключить некоторого влияния скоростной компоненты сигнала на его ответы. Так, в первой четверти стимула при 30° сила ответов больше, чем в последней четверти (рис. 1,2). Эту разницу можно объяснить тем, что в первом случае скорость и ускорение имели одно направление, тогда как в последнем направлении скорости противоположно направлению ускорения.

По аналогичной схеме было проведено тестирование нейрона 9-1b (всего 4 эксперимента). Пример его реакции приведен на рис. 3. Видно, что максимальные ответы наблюдались спустя 12-25 мс после переключения направления ускорения. Количество спайков в разрядах увеличивалось в среднем пропорционально модулю амплитуды скачка на графике ускорения. Реакции этого нейрона на стимулы разных направлений представлены на рис. 4. Изменение направления потока воздуха не оказывало существенного влияния на ответы нейрона, т.е. диаграмма направленности по ускорению была близка к круговой.

### Обсуждение

Результаты, полученные с применением линейно изменяющихся сигналов, свидетельствуют о том, что для нейрона 10-3а действующим фактором является ускорение воздушного потока, а для нейрона 9-1b - производная ускорения. Что касается нейрона 9-1b, то данный вывод в целом не противоречит уже известным его свойствам [5, 9].

Тот факт, что в нервной системе сверчков может осуществляться анализ производных стимула, представляется естественным: операция дифференцирования устраняет постоянную или медленно меняющуюся составляющую скорости ветра - фактор, который ограничивал бы реализацию высокой чувствительности церкальной системы.

Новые данные о нейроне 10-3а оказались весьма неожиданными, поскольку, как уже было отмечено выше, этот нейрон считается чувствительным к скорости [6, 7], а не к ускорению. Однако по нашим данным, связь реакций нейрона с ускорением очевидна, а влияние скоростной составляющей, если и имеет место, то в незначительной степени. Естественен вопрос: как объяснить это противоречие? Внимательно анализируя конкретные материалы, а не мнения авторов, можно прийти к предварительному выводу, что противоречия в основном возникают при интерпретации результатов. Например, авторы [4, 7] считают нейрон 10-3а датчиком скорости лишь на основании анализа его частотно-пороговой кривой, снятой в относительно узком частотном диапазоне (2-100 Гц), тогда как этот нейрон чувствителен и к более высокочастотным стимулам [2]. Кроме того, исследуя связи нейрона 10-3а с рецепторами путем их повреждения, авторы [4, 7] пришли к заключению, что основные возбуждающие сигналы поступают от рецепторов скорости. Однако наряду с этими рецепторами, авторы попутно уничтожали и рецепторы ускорения, что не было учтено в их окончательном выводе [7]. Суммируя все известные данные, можно предположить, что нейрон 10-3а в действительности связан как с рецепторами скорости, так и с рецепторами ускорения. Их относительный вклад в реакции интернейрона может зависеть от ряда обстоятельств: возраста, физиологического состояния препарата, параметров стимула и т.д.

В целом, результаты проведенных экспериментов указывают на необходимость переосмысления некоторых известных данных и соответствующей коррекции стратегии исследований.

Работа выполнена при поддержке международного научного фонда "Volkswagen - Stiftung", код проекта: Az. I/69911.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Лашин Д.Н., Рожкова Г.И.* Установка для исследования ветрочувствительных систем насекомых // Сенсорные системы. 1997. Т. 11. №2. С. 168-174.
2. *Рожкова Г.И.* Нейрофизиология церкальной системы насекомых. М.: Наука, 1993. 176 с.
3. *Jacobs G.A., Murphey R.K.* Segmental origins of the cricket giant interneuron system // J. Comp. Neurol. 1987. V. 265. №1. P. 145-157.
4. *Kanou M., Shimozawa T.* A threshold analysis of cricket cercal interneurons by an alternating air-current stimulus//J. Comp. Physiol. 1984. V. 154. №3. P. 357-365.
5. *Kämper G.* Abdominal ascending interneurons in crickets: responses to sound at the 30-Hz calling-song frequency//J. Comp. Physiol. 1984. V. 155. P. 507-520.
6. *Miller J., Jacobs G., Theunissen F.* Representation of sensory information in the cricket cercal sensory system. 1. Response properties of the primary interneurons // J. Neurophysiol. 1991. V. 66. №5. P.1680-1689.
7. *Shimozawa T., Kanou M.* Varieties of filiform hairs: Range fractionation by sensory afferents and cercal interneurons of a cricket // J. Comp. Physiol. 1984. V. 155. №4. P. 485-493.
8. *Shimozawa T., Kanou M.* The aerodynamics and sensory physiology of range fractionation in the cercal filiform sensilla of the cricket *Gryllus himaculatus* II J. Comp. Physiol. 1984. V. 155. №4. P. 495-505.
9. *Vedenina V., Rozhkova G., Byzov A., Kämper G.* Low-pass behaviour of interneurons in the cricket cercal system // Proceeding of the 24th Gottingen Neurobiology Conference. 1996. P. 157.

### ON THE STIMULUS PARAMETERS DETERMINING RESPONSES OF CERCAL INTERNEURONS

**D.N.LAPSHIN, G.I. ROZHKOVA, V.Yu. VEDENINA**

*Institute of Information Transmission RAS  
127994 Moscow, Bolshoy Karetniy per. 19*

The identified cercal interneurons 10-3a and 9-1b of the cricket were studied using a method of stimulation by means of linearly changing signals in order to reveal which parameter (velocity, acceleration, etc.) of a wind stimulus determine the responses. It was found that, for the neuron 10-3a, the driving factor was the air flow acceleration while for the neuron 9-1b, it was the derivative of acceleration. Since earlier, the neuron 10-3a was considered as velocity-sensitive unit, the results obtained in this study indicated that some previous data should be revised and that the strategy of investigation should be corrected accordingly.