

ВЫДЕЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ОГИБАЮЩЕЙ ЗВУКОВОГО СИГНАЛА НЕЙРОНАМИ КОХЛЕАРНОГО ЯДРА ЛЯГУШКИ

© 2015 г. Н.Г. Бибиков

АО «Акустический институт им. академика Н.Н. Андреева», 117036, Москва, ул. Шверника, 4

E-mail: nbibikov1@yandex.ru

Поступила в редакцию 15.02.15 г.

Внеклеточно регистрировали ответы одиночных нейронов слухового центра продолговатого мозга травяной лягушки при действии длительных сигналов характеристической частоты, модулированных повторяющимися отрезками низкочастотного (0–15, 0–50 и 0–150 Гц) шума. Корреляционным методом оценивали эффективность различных участков огибающей в обеспечении генерации нейроном импульсного разряда. Осуществляя эти операции при разных временных интервалах между сигналом и ответом, оценивали задержки, при которых выявлялись максимумы. Выявлены два значимых участка огибающей, причем в большинстве случаев наиболее эффективным был участок нарастания амплитуды от среднего значения до максимума, а вторым по эффективности был участок падения амплитуды от максимума до среднего значения. Такой тип ответа наблюдался у подавляющего большинства клеток при диапазонах модулирующих частот сигнала 0–150 и 0–50 Гц. Эти клетки в своей реакции осуществляли однополупериодное детектирование огибающей. Однако у некоторых нейронов отмечалось более явное предпочтение к участкам нарастания амплитуды, в том числе даже тем, где ее значение было ниже среднего. Особенно ярко такое предпочтение к нарастающим участкам проявлялось при наиболее низкочастотной огибающей (0–15 Гц) и при больших глубинах модуляции. Данные показывают, что уже на уровне продолговатого мозга осуществляется специализация нейронных элементов слухового пути по отношению к выделяемым временным особенностям непрерывного звукового стимула. Такое разнообразие наиболее ярко проявляется при действии сигналов со сравнительно медленно меняющейся амплитудой.

Ключевые слова: слуховая система, амплитудная модуляция, временные признаки, детектирование огибающей, скорость нарастания амплитуды, амфибии, адаптация.

В течение длительного времени исследователи слуховой системы чаще всего изучали реакции нейронов слухового пути на короткие стимулы, предъявляемые в тишине. Между тем совершенно очевидно, что в реальности существенно важные звуки обычно представлены на фоне иных звуков в режиме частичной или полной адаптации. Уже давно было показано, что реакция нейрона на изменения амплитуды в коротких отрезках сигнала может радикально отличаться от его же реакции в режиме полной адаптации [1]. Исследования роли адаптации в обеспечении низких дифференциальных порогов в широком динамическом диапазоне проводили ранее главным образом на амфибиях [1–5], и лишь в последние годы особенности влияния адаптации на кодирование параметров звукового сигнала начали исследовать у млекопитающих [6] и у беспозвоночных [7]. Несомненным является тот факт, что ответы нейрона на изменения амплитуды в адаптированном режиме могут принципиально меняться по сравнению

с начальной стадией реакции на сигнал. В частности, у многих нейронов незначительные изменения амплитуды никак не отражаются в реакциях на тональные отрезки длительностью несколько сотен миллисекунд, но вызывают четкий, хорошо синхронизированный ответ в ситуации полной адаптации, когда между этими участками звучит непрерывный немодулированный сигнал [1]. Также в адаптированном режиме ответ может быть вызван не только увеличением, но и локальным уменьшением амплитуды сигнала [8,9].

Хорошо известно, что акустический сигнал передается в мозг исключительно в форме импульсации волокон слухового нерва, каждое из которых воспроизводит динамику амплитуды сигнала в диапазоне частот, соответствующем настройке иннервируемой волосковой клетки. При сопоставлении ответа клетки с динамикой амплитуды сигнала возникает естественный вопрос о том, какие из особенностей огибающей

с наибольшей вероятностью вызывают появление выходной импульсации исследуемого нейрона. К решению этой проблемы обычно привлекается метод обратной триггерной корреляции [10], согласно которому животному предъявляется широкополосный сигнал, и участок этого сигнала, непосредственно предшествующий генерации каждого импульсного разряда (спайка), синхронно суммируется на всем протяжении звучания. Метод имеет различные модификации. В частности, при исследовании механизмов кодирования изменений амплитуды вместо широкополосного шума предъявляется тон характеристической для нейрона частоты, модулированный сравнительно широкополосным шумом [11]. В настоящее время наиболее распространен вариант метода, при котором животному предъявляются широкополосные сигналы различной частотно-временной структуры, а временной корреляционный анализ производится по отдельным частотным каналам [12,13].

Однако первоначальные надежды на то, что этот метод позволит легко выявить «частотно-временной код нейрона», т.е. достаточно сложную последовательность изменений несущей или огибающей звукового сигнала, которая и приводит к генерации импульсного ответа, оправдался далеко не полностью. Основной причиной этого является то, что метод обратной триггерной корреляции формально применим лишь к линейным системам или к системам, включающим пороговую схему, но в остальном остающимся близкими к линейным [10]. Между тем уже на самой периферии слуха осуществляются такие принципиально нелинейные процессы, как однополупериодное детектирование и латеральное частотное торможение.

И все же при исследовании периферических отделов слуховой системы метод обратной триггерной корреляции дает приемлемые результаты. В частности, Фурье-преобразование полученных функции обычно неплохо соответствует частотно-пороговым кривым, оцененным с использованием синусоидальных и(или) синусоидально-модулированных стимулов [14,15].

Тем не менее при исследовании последующих этапов слухового пути метод обратной триггерной корреляции оказывается менее эффективным. Если говорить о кодировании несущей частоты, то это происходит, прежде всего, вследствие повышения инерционности системы. Если же иметь в виду исследование механизмов выделения огибающей, то недостаточная эффективность метода связана с тем, что метод обратной триггерной корреляции на самом деле применим только к линейным сис-

темам, в то время как количество нелинейных операций, осуществляемых над сигналом, существенно возрастает с каждым последовательным уровнем слухового пути. В любом нейроне с его синаптическим аппаратом и множеством разнообразных ионных каналов кроме пороговой процедуры осуществляется большое число других нелинейных операций, в том числе даже обладающих свойством памяти. К числу последних следует отнести эффекты пре- и постсинаптической пластичности, а также процессы изменения возбудимости клетки после генерации спайка, длительность которого в нейронах слуховой системы может составлять десятки миллисекунд [16,17]. Это приводит к тому, что получаемые функции обратной триггерной корреляции обычно не позволяют адекватно воспроизвести и промоделировать реакцию на сравнительно сложные сигналы [18–22].

В особой степени это относится к сравнительно низкочастотным изменениям сигнала. Эти компоненты огибающей при действии широкополосного источника оказываются как бы замаскированными существующими на их фоне более высокочастотными колебаниями. При этом нельзя не отметить, что именно сравнительно плавные, низкочастотные изменения сигнала являются наиболее существенными при восприятии практически всех сигналов, жизненно важных для человека и животных (речь, музыка, коммуникационные звуки). Широкополосный сигнал таких участков, как правило, просто не содержит. Кроме того, простейшая интерпретация данных, полученных с помощью метода обратной триггерной корреляции, при которой максимум функции всегда расценивается как следствие возбуждающего входа, а минимум – как следствие торможения, далеко не всегда является адекватной.

Представляется, что для изучения того, какие временные особенности сигнала вызывают ответ клетки, помимо различных методов обратной триггерной корреляции, возможно применение более прямых методик, в основе которых фактически не лежит никаких специальных предположений. Например, можно предварительно выделить участки огибающей, обладающие характерными особенностями, а затем попытаться выяснить, на какие именно из этих участков (и, соответственно, особенностей) реагирует исследуемый нейронный элемент. Именно такой подход применен в данной работе. Предъявляемый животному акустический сигнал представлял собой длительный тон, модулированный по амплитуде повторяющимися отрезками низкочастотного шума. В каждом из этих отрезков было выделено четыре харак-

терных участка огибающей: интервалы нарастания и спада амплитуды при мгновенных значениях амплитуды выше средней и такие же интервалы при мгновенной амплитуде сигнала ниже средней. Изучали, какие из этих участков вызывают наиболее эффективную реакцию исследуемого нейрона и при каких задержках это происходит. Параллельно для каждой из исследованных клеток были получены стандартные функции корреляции между формой предъявляемых фиксированных отрезков модулирующего шума и динамическими изменениями реакции исследуемого нейрона. Такая процедура близка к построению функции обратной триггерной корреляции с учетом того, что воздействующий сигнал является не непрерывным, а периодически повторяющимся.

Указанный подход был использован для анализа механизмов выделения огибающей одиночными нейронами одного из периферических отделов слуховой системы лягушки – дорсального ядра продолговатого мозга, в которое поступают все волокна от периферических слуховых рецепторов. Некоторые результаты, полученные этим методом, были описаны нами ранее [23].

МЕТОДЫ

Поскольку методы обращения с животными, процедура регистрации импульсной активности и описание используемых сигналов были приведены в ряде предыдущих работ [5,9,11], мы остановимся на этих аспектах по возможности кратко. Во время операции для дорсального подхода к зоне стволовых отделов головного мозга лягушек подвергали холодовому или эфирному наркозу в соответствии с общепринятыми правилами обращения с холоднокровными животными [24,25]. Регистрацию импульсной активности осуществляли в звукоизолированной камере. Во время опыта животное было обездвижено аллоферинном, температура тела составляла 19–22°C.

Импульсную активность одиночных нейронов регистрировали стеклянными электродами, заполненными 2,5 М раствором NaCl. Электрод перемещали в дорсовентральном направлении через сосудистое сплетение с помощью микроманипулятора с шаговым двигателем (минимальный шаг 4 мкм). Момент входа электрода в дорсальное ядро продолговатого мозга (гомолог кохлеарного ядра млекопитающих) легко выявлялся по резкому появлению вызванной нейронной мультиклеточной активности при действии поискового стимула, которым обычно служил шумовой отрезок длительностью 100 мс и уровнем звукового давления 80 дБ.

После обнаружения одиночного нейрона при достаточном превышении амплитуды спайка над фоновой активностью (более чем в 5–10 раз) аудиовизуальным способом определяли его характеристическую частоту и порог. Импульсная активность регистрируемых одиночных нейронов с помощью триггера Шмидта преобразовывалась в последовательность стандартных электрических импульсов длительностью 0,5 мс, которые через аналогово-цифровой преобразователь передавались на компьютер для последующей обработки.

В основном эксперименте животному предъявляли длительный тон с несущей частотой, оптимальной для исследуемой клетки, который был модулирован по амплитуде повторяющимися отрезками шума. Регистрацию всегда осуществляли в режиме практически полной адаптации, при котором отсутствовал выраженный отрицательный тренд средней частоты импульсации. Формирование модулирующей функции производили генератором шумов фиксированной формы Г-5-54. Генератор Г3-110 с входом для осуществления амплитудной модуляции служил для формирования несущей.

Глубину модуляции, определявшуюся значением уровня сигнала на выходе генератора Г-5-54, предварительно калибровали. Выражали ее в процентном отношении среднеквадратичного значения модулирующего шума к среднему значению амплитуды несущей. Использовали глубину модуляции от 10 до 30%. Отметим, что при этом мгновенные значения амплитуды могли варьировать значительно сильнее (до трех значений стандартного отклонения). Модуляцию производили в линейной шкале, что вело к асимметрии изменений амплитуды в шкале децибел. Например, изменение уровня на 90% соответствовало падению мощности на 20 дБ, а возрастанию – менее чем на 6 дБ.

Всего было использовано три частотных диапазона модулирующих шумов (0–15; 0–50 и 0–150) и в каждом из частотных диапазонов было по три сигнала, различающихся по своей длительности и по своей форме. Отметим, что изменение полосы модулирующих частот могло осуществляться методом сжатия, т.е. соответствующим изменением длительности при сохранении конкретной формы сигнала. В качестве несущей всегда использовали оптимальную частоту исследуемого нейрона, которая в представленном материале варьировала обычно от 0,3 до 2,0 кГц с выраженным максимумом распределения в диапазоне 0,5–0,7 кГц. Наивысшая частота модулирующей функции была ниже несущей частоты, по крайней мере, в четыре раза. Акустический сигнал поступал от динамическо-

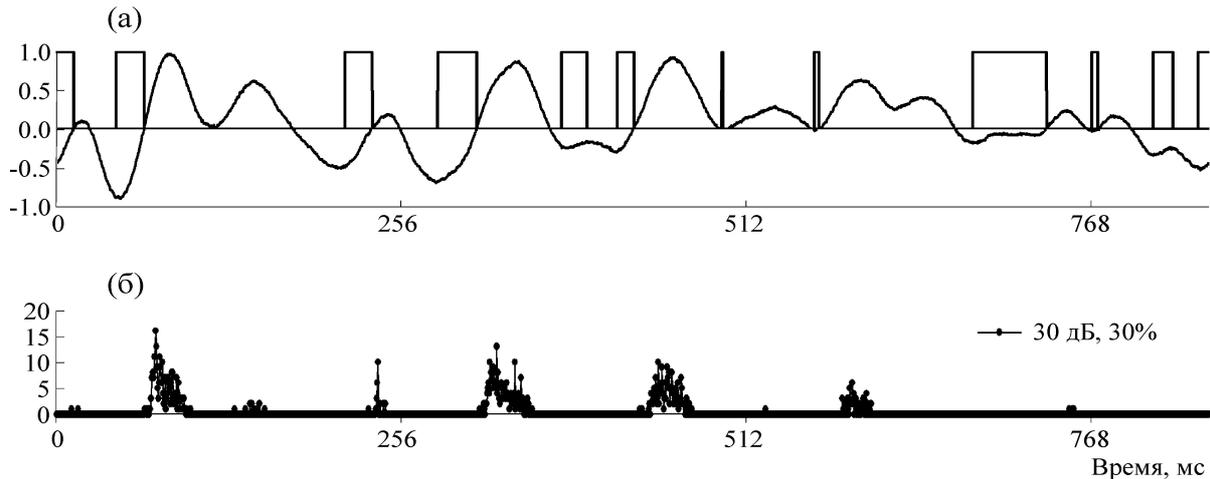


Рис. 1. (а) – Форма периодически повторяющегося шумового участка огибающей тонального сигнала длительностью 768 мс в полосе частот 0–15 Гц. Ломаной линией между значениями 0 и 1 указан один из выделенных участков огибающей: нарастание амплитуды при ее значениях ниже среднего. (б) – Циклическая гистограмма реакции нейрона дорсального ядра продолговатого нерва на такой сигнал. Частота несущей – 0,84 кГц, средний уровень немодулированной несущей – 20 дБ над порогом реакции, среднееквадратичное значение глубины модуляции (в процентах) указано в правом верхнем углу гистограммы.

го телефона через звукопровод на барабанную перепонку, ипсилатеральную исследуемой области мозга, и измерялся калиброванным телефоном с насадкой.

Во время эксперимента компьютер фиксировал моменты возникновения всех спайков, а также синхрои́мпульсов, генерируемых в начале каждого модулирующего отрезка. Осуществляли синхронное суммирование спайков, возникающих в ответ на последовательно предъявляемые периоды огибающей. Получаемую экспериментальную выборку указанного распределения будем называть циклической гистограммой, отличая ее от фазовой гистограммы, которая используется при исследовании синусоидальной модуляции. После опыта стандартным методом получали функцию корреляции между циклической гистограммой и огибающей сигнала. Поскольку переходные процессы в огибающей отсутствовали (точки начала и конца модулирующего отрезка совпадали), при построении корреляционной функции сдвиг также осуществлялся циклически.

Далее переходили к сравнительному анализу эффективности возбуждения исследуемой клетки на различных участках огибающей. Выделяли: интервал нарастания амплитуды от среднего значения до максимума (I-й участок), интервал падения амплитуды от максимума до среднего значения (II-й участок), интервал падения амплитуды от среднего значения до минимума (III-й участок), интервал роста амплитуды от минимума до среднего значения (IV-й участок).

Для пояснения предлагаемого подхода на рис. 1а в качестве примера показана форма повторяющегося отрезка модуляции в диапазоне частот 0–15 Гц при одной из используемых длительностей. Дополнительно, также в качестве примера единичными значениями указаны интервалы, составляющие IV-й участок, т.е. соответствующие нарастанию амплитуды при мгновенных амплитудах ниже среднего. На рис. 1б приведена циклическая гистограмма реакции одного из нейронов дорсального ядра на иллюстрированный сигнал.

Мы попытались ответить на вопрос о том, какие именно из четырех выделенных участков сигнала оптимальны для вызова импульсной реакции исследуемого нейрона. Для этого значения циклической гистограммы, приходящиеся на каждый из четырех выделенных участков, суммировали. Величину этой суммы получали вначале при отсутствии сдвига гистограммы относительно формы огибающей. Затем осуществляли циклический сдвиг гистограммы относительно формы огибающей с шагом в 0,5 мс, каждый раз подсчитывая общую сумму значений гистограммы, приходящуюся на каждый из четырех участков. Такие расчеты осуществляли для всех из сдвигов от нулевого до $N - 1$, где N – общее число бинов циклической гистограммы. Эту операцию можно описать как получение корреляционной функции между ответом нейрона и функцией, определенной на том же временном отрезке и представленной единичными значениями на участках с соответствующими особенностями формы огибающей.

На рис. 1а именно такая функция представлена для IV-го участка (нарастание амплитуды при уровнях ниже среднего). Определяли наибольшее из всех полученных значений этой суммы, фиксируя, на какой из четырех участков огибающей приходится это значение и при какой задержке оно получено. В окрестности именно этой задержки (интервал ± 5 мс) подсчитывали суммы значений гистограммы, приходящиеся на каждое из трех других участков сигнала, нормируя их по отношению к значению, полученному на том же интервале вокруг наибольшего максимума. После проведения этих расчетов все те же операции осуществляли для второго по значимости (по величине максимума) из четырех выделяемых участков сигнала.

Отметим, что в экспериментальную базу данной работы частично включены данные, приведенные в статье [26].

РЕЗУЛЬТАТЫ

В настоящей работе исследовано более 50-ти одиночных нейронов дорсального ядра продолговатого мозга. Однако следует заметить, что исследование осуществляли при значительном наборе модулирующих функций (три частотных диапазона при трех-четырех формах сигнала) и с использованием различных значений глубины модуляции и среднего уровня несущей. В результате только немногие из исследованных клеток были изучены при полном наборе параметров, а для каждого конкретного набора параметров число изученных нейронов было невелико. Поэтому в настоящей работе мы сосредоточимся на анализе конкретных примеров и качественной характеристике свойств исследованной популяции. В значительной степени такой подход оправдывается и тем, что свойства большинства исследованных клеток были довольно схожи.

В качестве типичного примера рассмотрим результаты анализа реакции нейрона при действии тонального сигнала характеристической частоты (0,84 кГц), модулированного шумом с максимальной использованной в настоящей работе шириной полосы (0–150 Гц). Циклические гистограммы, приведенные на рис. 2а–г, иллюстрируют ответ клетки на период модуляции, форма которой показана ниже (рис. 2д). Три верхних ряда (рис. 2а–в) соответствуют увеличивающемуся среднему значению уровня несущей частоты, а четвертый ряд (рис. 2г) иллюстрирует, как изменился ответ клетки при уменьшении глубины модуляции. Сопоставление приведенных циклических гистограмм с формой огибающей ясно показывает, что дан-

ная клетка при данных параметрах модулирующей функции четко воспроизводит изменения амплитуды сигнала, соответствующие положительной части модулирующей функции, т.е. нейрон осуществляет однополупериодное выпрямление огибающей сигнала. На рис. 2е приведены графики функций взаимной корреляции между иллюстрированными циклическими гистограммами и формой сигнала. Все они демонстрируют тот факт, что спайк нейрона обычно возникает с задержкой около 6–7 мс после локального максимума сигнала.

В таблице, приведенной на рис. 2ж, представлены данные об относительной эффективности четырех выделяемых нами участков (нарастание выше среднего, спад выше среднего, спад ниже среднего, нарастание ниже среднего). В первом столбце таблицы указаны параметры используемых сигналов, а во втором – степень (первая или вторая) предпочтения участка огибающей. В ячейках, соответствующих предпочитаемому участку, указаны две цифры: относительное значение площади корреляционной функции на участке 20 мс вокруг максимума и значение задержки, при которой наблюдался этот максимум. Во всех остальных ячейках указано отношение значения площади корреляционной функции на участке 20 мс вокруг максимума для данного участка к максимальному значению при данной задержке.

Как видно из рис. 2ж, во всех без исключения случаях участком сигнала, вызывающим наилучший ответ, является участок нарастания амплитуды от среднего значения до максимума. Вторым по эффективности вызова ответной реакции является II-й участок, на котором амплитуда падала от максимального до среднего значения. Заметим также, что даже при сдвиге, оптимальном для II-го участка, площади под кривой в диапазоне 20 мс вокруг максимального значения для I-го и II-го участков были почти идентичны. В то же время площадь под корреляционными функциями на участках, не соответствующих нахождению амплитуды ниже среднего, обычно более чем вдвое уступала площади под указанными двумя оптимальными участками. Таким образом, приведенный анализ ясно демонстрирует реальность однополупериодного выпрямления огибающей, которое можно было предполагать из качественного сопоставления формы циклических гистограмм с формой огибающей. Используемый нами подход выявляет также существенное превышение эффективности нарастающего участка амплитуды перед падающим. Задержки, оптимальные для получения максимальных значений корреляции ответа с участками огибающей, вполне

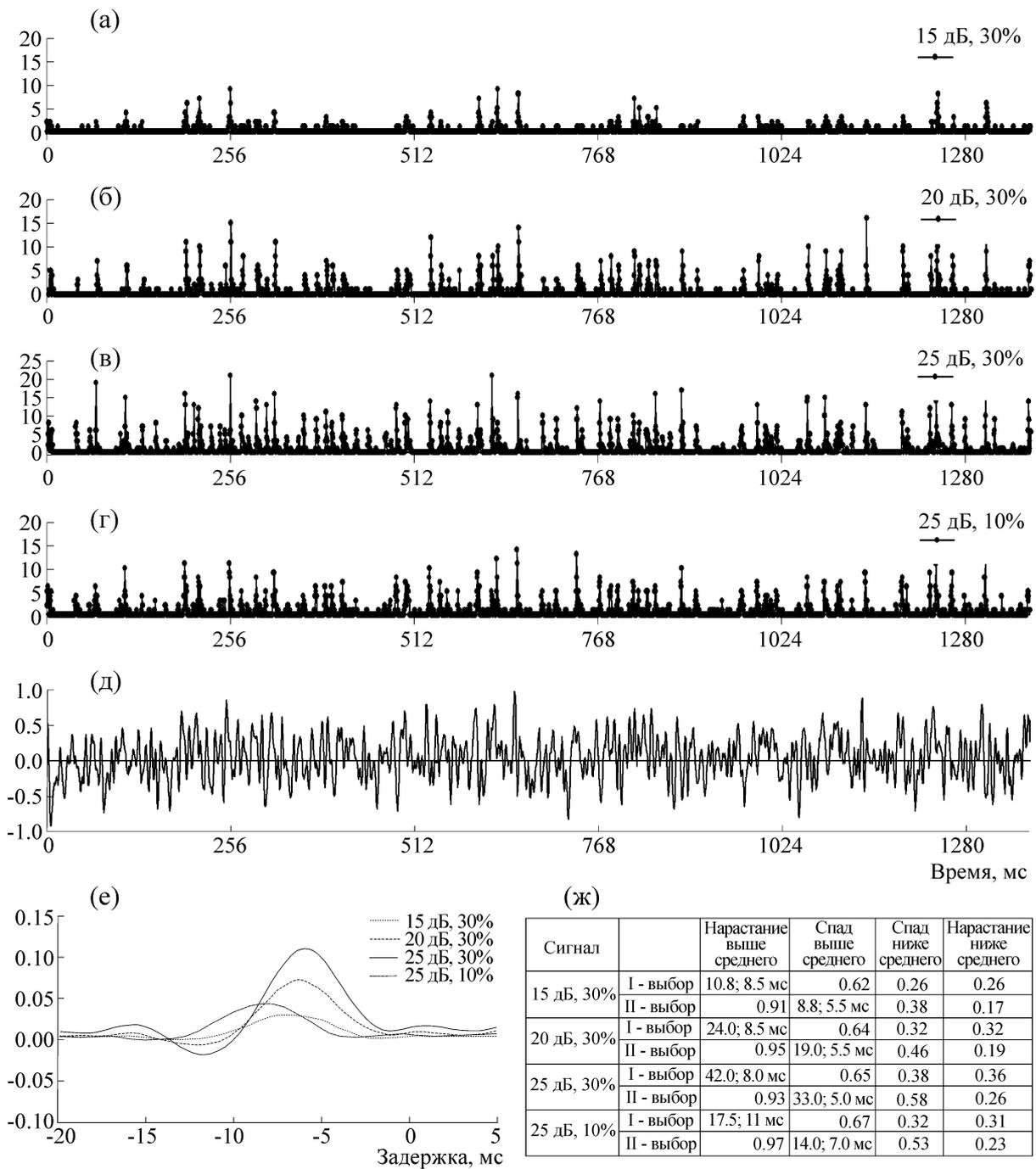


Рис. 2. (а–г) – Циклические гистограммы реакции нейрона дорсального ядра на тональный сигнал, модулированный шумом в полосе 0–150 Гц. Частота несущей – 0,67 кГц, средний уровень немодулированной несущей над порогом реакции (дБ) и среднееквадратичное значение глубины модуляции (%) указаны в правом верхнем углу каждой гистограммы. (д) – Форма периодически повторяющегося шумового участка огибающей длительностью 1370 мс. (е) – Графики функций взаимной корреляции между формой модулирующего отрезка и циклической гистограммой реакции исследуемой клетки. (ж) – Таблица, характеризующая предпочтение клетки к определенным участкам огибающей (объяснения в тексте).

соответствуют и нашему качественному анализу, и виду корреляционных функций, приведенных на рис. 2е.

Среди 15-ти клеток, исследованных при полосе частот модуляции 0–150 Гц, десять воспроизводили огибающую сигнала, причем во

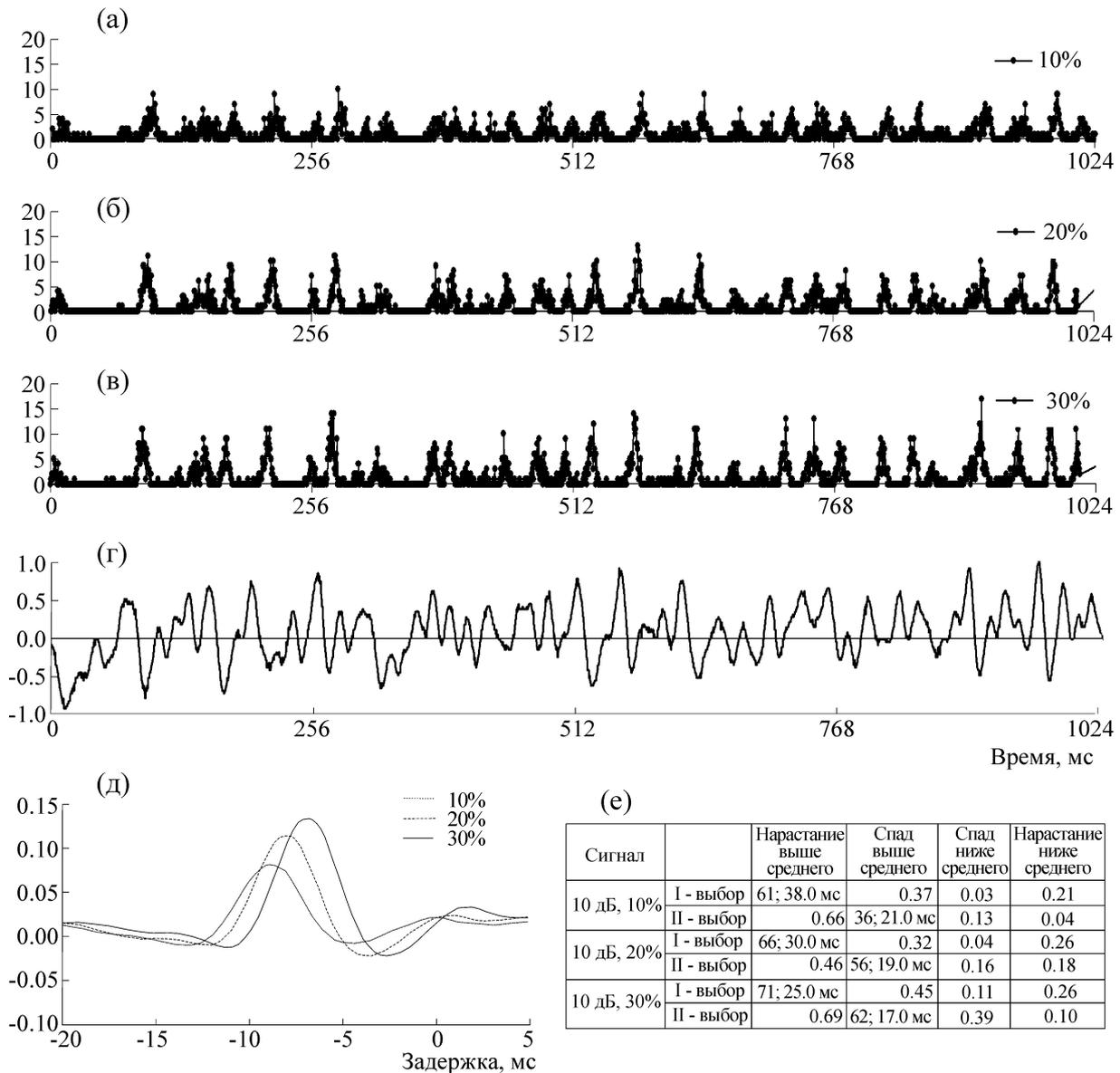


Рис. 3. (а–в) – Циклические гистограммы реакции нейрона дорсального ядра на тональный сигнал, модулированный шумом в полосе 0–50 Гц. Частота несущей – 0.57 кГц, средний уровень немодулированной несущей – 20 дБ, среднеквадратичное значение глубины модуляции указано в правом верхнем углу каждой гистограммы. (г) – Форма периодически повторяющегося шумового участка огибающей длительностью 1024 мс. (д) – Графики функций взаимной корреляции между формой модулирующего отрезка и циклической гистограммой реакции. (е) – Таблица, характеризующая предпочтение клетки к определенным участкам огибающей (объяснения в тексте).

всех случаях анализ оптимальных участков сигнала оказался идентичным: наивысшая корреляция наблюдалась на I-м участке модуляции, а вторым являлся участок спада амплитуды при ее значениях выше среднего. В случае эффективной реакции эти особенности сохранялись при всех использованных нами вариациях уровня несущей и глубины модуляции.

На рис. 3 приведены результаты исследования реакции другой клетки на сигнал, модулированный в полосе частот 0–50 Гц, при уров-

не несущей 20 дБ над порогом и при трех значениях глубины модуляции. При данных параметрах сигнала еще более четко проявляется осуществление операции однополупериодного выпрямления модуляции. Нейрон воспроизводит большинство особенностей изменения амплитуды на I-м и II-м участках, причем снова несомненное преимущество имеет первый участок. Участки, соответствующие уровню сигнала ниже среднего, имеют относительно невысокий вес. Обратим также внимание на то, что

у данного нейрона задержка ответа клетки относительно максимумов амплитуды сигнала значительно больше, чем у клетки, данные для которой были представлены на рис. 2. При этом в обоих случаях значения задержки максимума функции корреляции (рис. 2е и рис. 3д) и оптимальных задержек сдвига огибающей для I-го и II-го участков (рис. 2ж и 3е) возрастают с уменьшением глубины модуляции. Влияние среднего уровня тональной несущей представляется гораздо более слабым (рис. 2е,ж).

Среди 26-ти клеток, исследованных при полосе частот модуляции 0–50 Гц, 18 воспроизводили огибающую сигнала, причем в 15-ти случаях анализ оптимальных участков сигнала оказался идентичным: наивысшая корреляция наблюдалась на I-м участке модуляции, а вторым являлся участок спада амплитуды при ее значениях выше среднего. У двух клеток вторым по эффективности явился участок нарастания амплитуды от минимума до среднего уровня, а у одной из клеток именно этот IV-й участок оказался наиболее эффективным.

Наибольшее разнообразие в реакциях нейронов было выявлено при действии сигнала, модулированного низкочастотным шумом. Рис. 4 иллюстрирует свойства клетки, которая сравнительно четко воспроизводит положительную волну огибающей. Приведены ответы при двух уровнях сигнала и двух значениях глубины модуляции. В большинстве случаев сохраняется оптимальная реакция на I-й и II-й участки. Однако при наибольшем уровне и наибольшей глубине модуляции возбуждение вызывает и участок нарастания амплитуды от минимума до среднего значения. Уже из этого примера следует, что при варьировании параметров сигнала и, прежде всего, глубины его модуляции возможны изменения тех участков сигнала, которые чаще всего вызывают ответ клетки. Более ясно этот факт представлен на рис. 5, где приведены результаты анализа реакции еще одного нейрона на сигнал с той же формой амплитудной модуляции при трех значениях ее глубины. Видно, что, несмотря на сохранение неизменным среднего уровня сигнала, ответ резко возрастает при увеличении среднеквадратичного отклонения амплитуды от 10 до 15%. При этом уменьшается задержка реакции и, хотя оптимальным остается участок нарастания амплитуды от среднего значения до максимума, вторым по эффективности оказывается уже участок нарастания амплитуды от минимума до среднего. Дальнейшее увеличение глубины модуляции приводит к еще более радикальному изменению предпочтения участков модуляции, вызывающих ответ клетки. В этом случае наи-

большой эффект вызывал IV-й участок, соответствующий нарастанию амплитуды от минимума до среднего значения. С учетом того, что вторым по эффективности являлся I-й участок, можно сказать, что ответ нейрона вызывался теми участками сигнала, на которых происходило нарастание амплитуды. Рассматривая непосредственно циклические гистограммы ответа на эти сигналы (рис. 5б,в), легко заметить, что наибольшие пики возникали вслед за участками перехода амплитуды от минимальных значений к значениям, превышающим среднее. Теми же свойствами характеризовалась и клетка, иллюстрированная рис. 1б.

При полосе частот модуляции 0–15 Гц было исследовано 22 клетки, из которых 20 были способны воспроизводить форму модулирующего сигнала. При этом большинство клеток, исследованных при разных значениях глубины модуляции, демонстрировали изменение основного или дополнительного из двух предпочтительных участков. Ясно прослеживалась тенденция к переходу от воспроизведения мгновенной амплитуды к воспроизведению ее производной при более выраженной модуляции.

ОБСУЖДЕНИЕ

У большинства клеток продолговатого мозга лягушки, исследованных нами при сравнительно высоких частотах модуляции, нейронная импульсация эффективно воспроизводила положительную полуволну модулирующей функции. Если детектирование несущей проявляется уже на уровне волосковых клеток [27], то факт детектирования огибающей, хотя естественно следует из любой пороговой модели возбуждения нервной клетки, далеко не всегда отражается в существующих моделях периферии слуховой системы. Заметим, что этот эффект явно проявляется во многих аспектах функционирования слуховой системы. Так, для адекватного воспроизведения зависимости ответов высокочастотных нейронов медиального ядра верхней оливы от интерауральной задержки в модель необходимо было ввести именно операцию детектирования огибающей [28].

Результаты этой работы показывают, что наиболее эффективным обычно являлся участок огибающей, соответствующий нарастанию сигнала от среднего уровня до максимума. Эффект предпочтения реакции к фронту нарастания амплитуды сигнала отмечался и на других объектах. Так, в слуховой коре бодрствующей обезьяны регистрировали фазовые гистограммы реакции на период низкочастотной (обычно ниже 10 Гц) синусоидальной амплитудной мо-

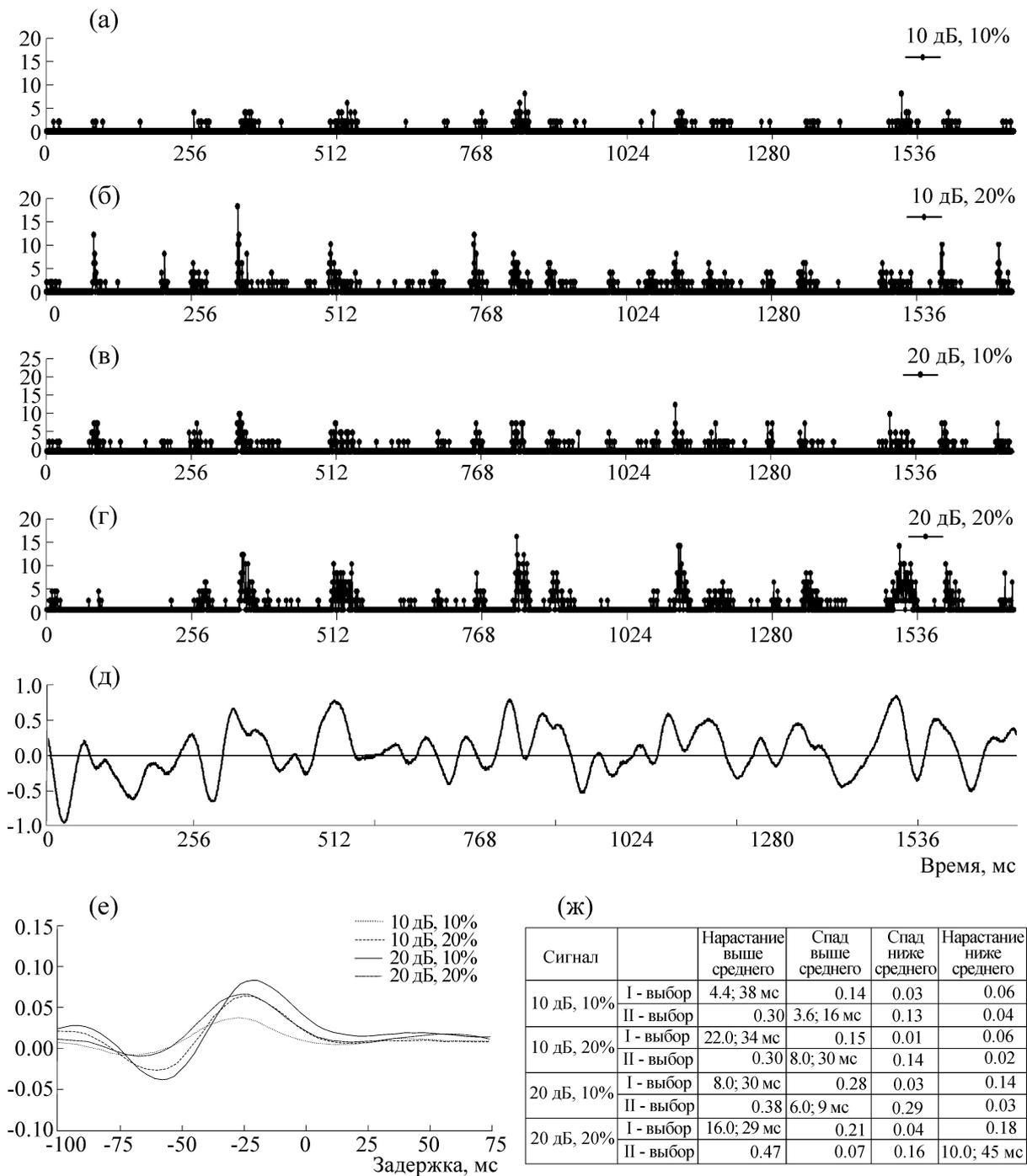


Рис. 4. (а–г) – Циклические гистограммы реакции нейрона дорсального ядра на тональный сигнал, модулированный шумом в полосе 0–15 Гц. Частота несущей – 0,46 кГц, средний уровень немодулированной несущей – 20 дБ), среднееквадратичное значение глубины модуляции указано в правом верхнем углу каждой гистограммы. (д) – Форма периодически повторяющегося шумового участка огибающей длительностью 1712 мс. (е) – Графики функций взаимной корреляции между формой модулирующего отрезка и циклической гистограммой реакции исследуемой клетки. (ж) – Таблица, характеризующая предпочтение клетки к определенным участкам огибающей (объяснения в тексте).

дуляции. Ясно, что при этом каждый уровень сигнала достигается дважды – на участке нарастания и спада амплитуды. Наблюдали асимметрию ответа, которая обычно сводилась к

предпочтению реакции на участке нарастания амплитуды, причем этот параметр сильно варьировал у разных клеток [29].

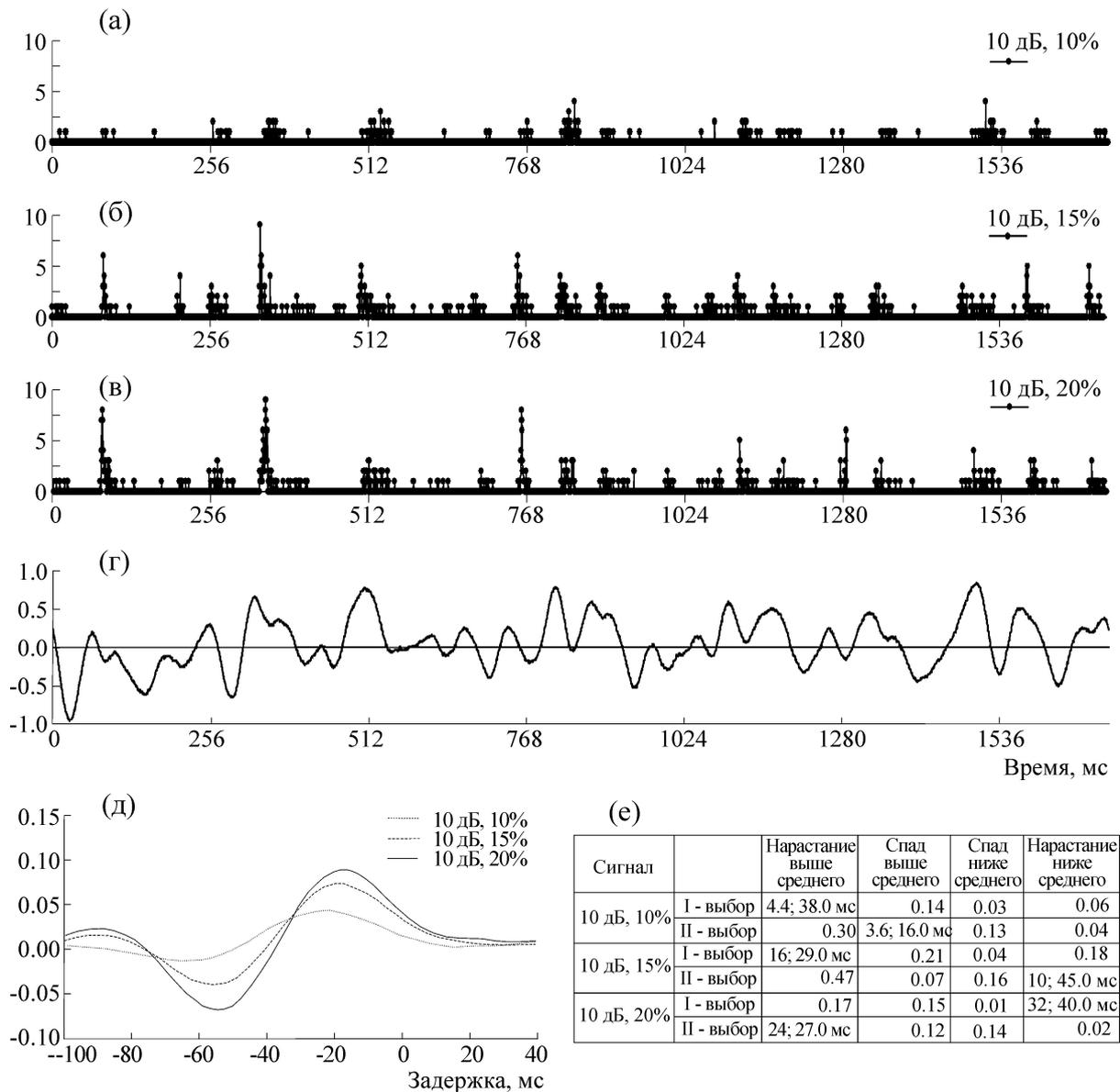


Рис. 5. (а–в) – Циклические гистограммы реакции нейрона дорсального ядра на тональный сигнал, модулированный шумом в полосе 0–15 Гц. Частота несущей – 0,55 кГц, средний уровень немодулированной несущей 20 дБ, среднееквадратичное значение глубины модуляции указано в правом верхнем углу каждой гистограммы. (г) – Форма периодически повторяющегося участка огибающей. (д) – Графики функций взаимной корреляции между формой модулирующего отрезка и циклической гистограммой реакции. (е) – Таблица, характеризующая предпочтение клетки к определенным участкам огибающей (объяснения в тексте).

В другой работе, также выполненной на нейронах коры бодрствующей обезьяны [30], исследовали ответы на тональные отрезки, модулированные повторяющимися отрезками одной фиксированной формы. Оценивали эффективность различных участков сигнала (включение, выключение, нарастание и спад амплитуды) для генерации нейроном импульсных разрядов. Такая оценка осуществлялась только при одной фиксированной (15 мс) задержке ответа относительно сигнала, что фактически предполагало

существование для всех клеток коры одного латентного периода реакции (sis). При этом разные нейроны существенно различались по тем участкам огибающей, которые вызвали у них оптимальный ответ. Однако, поскольку авторы не осуществляли сканирование по временной оси, такие результаты частично могли определяться именно разнообразием задержек ответов в различных клетках коры.

Целью работы [31] было исследование эффективности воспроизведения огибающей сиг-

нала нейронами заднего холма кошки. В качестве несущей использовали широкополосный шум, модулированный на 100% либо синусоидальной периодической функцией, либо импульсной при длительности каждого отрезка менее 1 мс. В качестве оценки реакции авторы использовали смещенную автокорреляционную функцию. Выявлено четкое воспроизведение формы сигнала большинством нейронов заднего холма кошки. Заметим, однако, что при таком подходе трудно определить, воспроизводит ли клетка амплитуду сигнала или ее производную, поскольку производная синусоиды отличается от исходной функции только фазовым сдвигом, а при импульсной форме сигнала моменты нарастания и максимума амплитуды фактически совпадают.

Естественно допустить, что предпочтение к нарастающему участку амплитуды определяется значительной ролью в реакциях клетки памяти о ее прошлом состоянии. Такая память вполне может обуславливаться обычным эффектом рефрактерности. Спайк, возникший на фронте нарастания амплитуды, подавляет ответ на близко расположенный участок сигнала, соответствующий спаду амплитуды от максимума до среднего уровня. Наиболее ярко этот эффект проявляется при широкополосном модулирующем шуме.

Из наших данных, однако, следует, что выделение именно I-го участка огибающей имеет место и на низких модулирующих частотах, когда интервалы между нарастающим и спадающим участками огибающей составляют уже десятки миллисекунд. Это свидетельствует о том, что память о предшествующем состоянии клетки не ограничивается классической «рефрактерностью» с постоянными времени в единицы миллисекунд, а продолжается в течение значительно большего времени. Мы используем для описания этого феномена термин «обобщенная рефрактерность» или «постспайковое снижение возбудимости» [16,17]. Другие авторы в этом случае используют термин «адаптация» [32], что, на наш взгляд, представляется не вполне правомерным, поскольку адаптация предполагает подстройку системы к действующему сигналу, а не просто ослабление реакции. На самом деле могут существовать разнообразные механизмы временного снижения возбудимости клетки после поступления входного сигнала (причем не только после генерации выходного спайка). В работе [33] при моделировании реакции нейронов слуховой коры хорька на узкополосный шум, дополнительно модулированный огибающей речевого сигнала, введен механизм синаптической депрессии. Это

позволило существенно улучшить воспроизведение в модели реального ответа примерно в половине исследованных клеток. Отметим, что эффект синаптической депрессии феноменологически может проявляться в предпочтении вероятности генерации спайка именно на участках нарастания амплитуды, что вполне соответствует выявленному в настоящей работе предпочтению реакции. Однако следует обратить внимание на то, что синаптическая депрессия может приводить только к ухудшению воспроизведения малых изменений амплитуды в течение действия стимула. Между тем в наших работах, выполненных на нейронах слухового пути амфибий [1,2,5], наблюдался противоположный эффект, а именно усиление реакции на малую амплитудную модуляцию на протяжении длительности амплитудно-модулированного отрезка.

Несомненно, что конкретные механизмы предпочтения реакции к участкам сигнала с нарастающей амплитудой могут быть весьма разнообразны. Одним из наиболее вероятных является механизм адаптации порога. Внутриклеточное исследование нейронов заднего холма совы показало, что при переходе от мембранного потенциала к спайковой активности существуют, по крайней мере, два параметра, влияющие на величину порога [34,35]. Порог нейрона возрастает при увеличении частоты входящих пресинаптических потенциалов и падает при росте скорости нарастания мембранного потенциала. Второй фактор может быть прямо связан с выявленным нами предпочтением нейронов к участкам сигнала, соответствующим нарастанию амплитуды, в том числе даже там, где значения амплитуды оказываются ниже среднего (рис. 5). Весьма убедительные доказательства того, что именно фронт нарастания стимула может определять реакцию некоторых нейронов, были получены для клеток – октопусов кохлеарного ядра [36]. В этом случае были выявлены конкретные ионные механизмы, ответственные за такую особенность. При изучении бинаурального кодирования огибающей в медиальном ядре верхней оливы авторы также пришли к заключению, что на детектор совпадений поступают входы, воспроизводящие не саму амплитуду сигнала, а фронт ее нарастания [28].

К факторам, определяющим реакцию нейрона на динамику огибающей, несомненно, следует добавить и зависимость порога от импульсной активности самой клетки. Она может ограничиваться привычным понятием сравнительно короткой рефрактерности, но может продолжаться и значительно дольше, чем не-

сколько миллисекунд. При этом есть основания считать, что определенная часть постспайкового повышения порога является накапливающейся и суммируется при частом следовании импульсов клетки. Именно с наличием такого суммирующегося постспайкового подъема порога мы связываем эффект кратковременной адаптации в волокнах слухового нерва [37]. Кроме того, в центральных отделах слухового пути не исключена и возможность существования определенного временного участка после генерации спайка, на котором наличие импульса будет повышать возбудимость клетки. Что касается нейронов слуховой коры, т.е. все основания считать, что влияние контекста самого сигнала и вызванной им импульсной активности на последующую реакцию нейрона может продолжаться в течение нескольких секунд [38].

Интересную попытку воспроизведения формы амплитудной модуляции непосредственно по основе вызванной сигналом импульсной активности волокон слухового нерва кузнечика была осуществлена в работе [39]. Автор акцентировал внимание на том, что число спайков в пачке, возникающей в ответ на каждое значение локального максимума амплитуды, превышающего средний уровень сигнала, содержит важную информацию об амплитуде и ширине этого максимума. Таким образом, эти клетки в значительной мере соответствуют нейронам, которые выделяют участки сигнала, расположенные выше среднего значения. Заметим, что автор использовал главным образом высокие частоты модуляции (шум с верхней граничной частотой 200 Гц). При этих условиях именно воспроизведение положительной фазы модулирующего сигнала было характерно и для нейронов дорсального ядра лягушки. При низких частотах модуляции даже в исследованных нами нейронах периферии слуховой системы механизмы воспроизведения огибающей сигнала усложняются. Происходит это, прежде всего, вследствие повышения эффективности тех участков огибающей, на которых амплитуда сигнала нарастает. На более высоких уровнях слухового пути можно ожидать существенно большего разнообразия тех временных особенностей огибающей, которые вызывают оптимальную реакцию одиночных нейронов. Однако уже на уровне нейронов второго порядка такое разнообразие становится очевидным. При этом индивидуальность нейронов в отношении выделения различных особенностей огибающей более ярко проявляется для низких частот модуляции, которые особенно важны при восприятии жизненно-важных стимулов. Заметим, например, что и разборчивость речи, и степень

возбуждения фронтальной зоны коры резко снижаются при двукратном увеличении средней частоты следования слогов [40].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В полностью адаптированном режиме большинство слуховых нейронов второго порядка, расположенных в дорсальном ядре продолговатого мозга лягушки, осуществляют операцию однополупериодного выпрямления огибающей тональных сигналов, модулированных низкочастотным шумом. При этом наиболее эффективным для генерации нейроном импульсного разряда обычно является участок нарастания амплитуды от среднего значения до максимума. Изменение спектра модулирующих частот могло приводить к изменению предпочитаемых участков, при этом при наиболее низкочастотной огибающей (0–15 Гц) независимо от значения текущей амплитуды оптимальными нередко являлись участки нарастания уровня.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант 12-04-13070. Программное обеспечение осуществлялось С.В. Низамовым.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Н. Г. Бибиков, Акуст. журн. **34** (3), 400 (1988).
2. Н. Г. Бибиков, Биофизика **49** (1), 107 (2004).
3. Н. Г. Бибиков, Сенсорные системы **27** (3), 195 (2013).
4. N. G. Bibikov and O. N. Grubnik, in *Acoustical signal processing in the central auditory system* (Plenum Press, New York, 1997), pp. 271–277.
5. N. G. Bibikov and S. V. Nizamov, *Hear. Res.* **101** (1), 23 (1996).
6. I. Dean, N. S. Harper, and D. McAlpine, *Nat. Neurosci.* **8**, 1684 (2005).
7. K. J. Hildebrandt, J. Benda, and R. M. Hennig, *J. Comp. Physiol. A* **201**, 39 (2015).
8. Г. А. Бахтин и Н. Г. Бибиков, Акуст. журн. **19** (4), 614 (1974).
9. Н. Г. Бибиков, Сенсорные системы **21** (1), 72 (2007).
10. E. De Boer and H. R. De Jongh, *J. Acoust. Soc. Amer.* **63** (1), 115 (1978).
11. Н. Г. Бибиков, Сенсорные системы **1** (3), 353 (1987).
12. A. M. Aertsen and P. I. Johannesma, *Biol. Cybern.* **42**, 133 (1981).
13. N. C. Rabinowitz, B. D. Willmore, J. W. Schnupp, and A. J. King, *J. Neurosci.* **32** (33), 11271 (2012).
14. J. J. Eggermont, P. I. M. Johannesma, and A. Aertsen, *Quarterly Rev. Biophys.* **16**, 341 (1983).
15. A. R. Møller, *Brain res.* **57** (2), 443 (1973).
16. Н. Г. Бибиков, Сенсорные системы **3** (3), 364 (1990).
17. Н. Г. Бибиков, О. Б. Овчинников и С. В. Низамов, Биофизика **46** (3), 545 (2001).

18. P. A. Valentine and J. J. Eggermont, *Hear. Res.* **196**, 119 (2004).
19. P. Gill, J. Zhang, S. M. Woolley, et al., *J. Comput Neurosci* **21** (1), 5 (2006).
20. B. Gourevitch, A. Norena, G. Shaw, and J. J. Eggermont, *Cereb. Cortex* **19**, 1448 (2009).
21. T. M. Elliott and F. E. Theunissen, *PLoS Comp. Biol.* **5** (3), e1000302 (2009).
22. A. Calabrese, J. W. Schumacher, D. M. Schneider, et al., *PLoS One* **6**, e16104 (2011).
23. Н. Г. Бибиков и С. В. Низамов, в сб. *Труды 17-й Всероссийской конф. «Нейроинформатика»* (2015), т. 3, p. 191.
24. Н. М. Kaplan, *Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* **28**, 1541 (1969).
25. M. A. Suckow, L. A. Terril, C. F. Grigdesby, and P. A. March, *Pharmacol. Biochem. Behav.* **63**, 39 (1999).
26. Н. Г. Бибиков, *Акуст. журн.* **60** (5), 555. (2014).
27. I. J. Russell and P. M. Sellick, *J. Physiol.* **284** (1), 261 (1978).
28. Y. Gai, V. C. Kotak, D. H. Sanes, and J. Rinzel, *J. Neurophysiol.* **112**, 802 (2014).
29. B. J. Malone, B. H. Scott, and M. N. Semple, *J. Neurosc.* **30** (2), 767 (2010).
30. Y. Zhou and X. Wang, *J. Neurosc.* **30** (49), 16741 (2010).
31. Y. Zheng and M. A. Escabí, *J. Neurosc.* **28** (52), 14230 (2008).
32. Y. Wang and J. L. Peña, *J. Neurosc.* **33** (49), 19167 (2013).
33. S. V. David and S. A. Shamma, *J. Neurosc.* **33** (49), 19154 (2013).
34. J. L. Peña and M. Konishi, *J. Neurosc.* **22** (13), 5652 (2002).
35. B. Fontaine, J. L. Peña, and R. Brette, *PLoS Comp. Biol.* **10** (4), e1003560 (2014).
36. M. J. Ferragamo and D. Oertel, *J. Neurophysiol.* **87** (5), 2262 (2002).
37. Н. Г. Бибиков и Г. А. Иваницкий, *Биофизика* **30** (1), 141 (1985).
38. H. Asari and A. M. Zador, *J. Neurophysiol.* **102** (5), 2638 (2009).
39. H. G. Eyherabide, A. Rokem, A. V. Herz, and I. Sarmiento, *Frontiers Comp. Neurosci.* **2**, Art. 3 (2008).
40. Y. Lerner, C. J. Honey, M. Katkov, and U. Hasson, *J. Neurophysiol.* **111**, 2433 (2014).

Some Features of Sound Signal Envelope by the Frog's Cochlear Nucleus Neurons

N.G. Bibikov

JSC "Andreev Acoustics Institute", ul. Shvernika 4, Moscow, 117036 Russia

The responses of single neurons in the medullar auditory center of the grass frog were recorded extracellularly under the action of long tonal signals of the characteristic frequency modulated by repeating fragments of low-frequency (0–15 Hz, 0–50 Hz or 0–150 Hz) noise. Correlation method was used for evaluating the efficacy of different envelope fragments to ensure generation of a neuron pulse discharge. Carrying out these evaluations at different time intervals between a signal and a response the maximum delays were assessed. Two important envelope fragments were revealed. In majority of units the most effective was the time interval of the amplitude rise from mean value to maximum, and the fragment where the amplitude fall from maximum to mean value was the second by the efficacy. This type of response was observed in the vast majority of cells in the range of the envelope frequency bands 0–150 and 0–50 Hz. These cells performed half-wave rectification of such type of the envelope. However, in some neurons we observed more strong preference toward a time interval with growing amplitude, including even those where the amplitude value was smaller than the mean one. These properties were observed mainly for low-frequency (0–15 Hz) modulated signals at high modulation depth. The data show that even in medulla oblongata specialization of neural elements of the auditory pathway occurs with respect to time interval features of sound stimulus. This diversity is most evident for signals with a relatively slowly varying amplitude.

Key words: auditory system, amplitude modulation, time interval features, envelope detection, the rate of amplitude growth, amphibian, adaptation