

ЦРНОГОРСКА АКАДЕМИЈА НАУКА И УМЈЕТНОСТИ  
ГЛАСНИК ОДЈЕЉЕЊА ПРИРОДНИХ НАУКА, 5, 1986.

ЧЕРНОГОРСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК И ИСКУССТВ  
ГЛАСНИК ОДЈЕЉЕЊА ПРИРОДНИХ НАУКА, 5, 1986.

THE MONTENEGRIN ACADEMY OF SCIENCES AND ARTS  
GLASNIK OF THE SECTION OF NATURAL SCIENCES, 5, 1986.

---

UDK 594.2

Ђорђе Коњевић и Никола Ковачевић\*

РЕГУЛАТОРНА НЕУРОНСКА МРЕЖА РИТМА СРЧАНИХ  
ОТКУЦАЈА У МОРСКОГ ЗЕЦА *Aplysia depilans*

THE NEURONAL NETWORK REGULATING THE HEART BEAT  
IN SEA HERE *Aplysia depilans*

Извод

Описана је популација нервних ћелија абдоминалне ганглије морског зеца *Aplysia depilans* која улази у састав регулаторне неуронске мреже ритма срчаних откуцаја. Еферентна компонента ове мреже тестирана је хиперполаризацијом или деполаризацијом ћелија централног нервног система, а аферентна на основу реакција неурона централног нервног система изазваних тактилном стимулацијом срца. Од 17 на овај начин идентификованих неурона, 8 су мотонеурони а 9 сензорни.

Abstract

The nerve cells population of the abdominal ganglion of sea here *Aplysia depilans* which are involved in the neural network regulating heart beat was analyzed. The efferent influence of this network was tested by hyper- or depolarisation of the central nervous system cells and afferent by the kind of reaction of the central nervous system cells caused by tactile heart stimulation. Among 17 identified neurones, 8 are moto- and 9 sensory neurons.

УВОД

Интрацелуларним регистровањем неуронске активности и истовременом детекцијом физиолошких функција могуће је кван-

---

\* Ђорђе Коњевић, Никола Ковачевић, Завод за биологију мора — Котор.

титативно одредити учешће појединих нервних ћелија у регулаторним неуронским мрежама. У ту сврху, биолошки модел на коме се врше експерименти треба да испуњава неколико услова:

а) димензије нервних ћелија морају бити довољне за извођење интрацелуларног регистровања (пречник тела ћелије или аксона да буде већи од 50  $\mu\text{m}$ );

б) могућност детектовања одговарајуће физиолошке функције истовремено са неуронском активношћу;

в) модел треба да одржава стабилну физиолошку функцију преко 10 часова;

г) централни нервни систем (ЦНС) одабраног модела треба да садржи релативно мали број нервних ћелија (испод  $10^5$ ).

Изгледа да је практично немогуће одабрати биолошки модел који ће испуњавати све наведене услове. Димензије су тела нервних ћелија, нпр., код већине организама испод 50  $\mu\text{m}$ , а број нервних ћелија у ЦНС-у је код свих кичмењака често врло велики. Људски мозак, нпр., садржи око  $10^{12}$  нервних ћелија, а број веза којима се остварује комуникација између њих много је пута бројнија. Спецификација неуронске мреже која регулише поједине физиолошке функције код овако комплексног мозга заиста је тешка.

Неурофизиолози овај су проблем решили коришћењем виших бескичмењака (мекушци, црви, ракови, инсекти), чији ЦНС садржи свега око  $10^5$  нервних ћелија. Оне су, поред тога, често довољно велике (пречник тела изнад 100  $\mu\text{m}$ ), а такође и пигментисане, што олакшава њихову визуелну идентификацију.

Поједине физиолошке функције бескичмењака често су стереотипне тако да испуњавају и услов б), а, због споријег метаболизма у односу на кичмењаке, и услов в) је испуњен. Тако је, нпр., могуће одржавати стабилне физиолошке функције и на изолованом препарату бескичмењака у подесном медијуму и на нижим температурама преко 10 часова.

За изучавање регулаторних нервних мрежа извесних физиолошких функција, у нашем Заводу је развијен семиинтактни препарат морског зеца (*Aplysia depilans*) који припада класи *Gastropoda*, а супкласи *Opisthobranchia*. Сличан препарат је развијен и код друге врсте морског зеца (Kandel, 1976), а неуробиолошка истраживања на њему допринела су открићу низа принципа неуронске организације.

У овом раду анализиране су моторна и сензорна компонента неуронске мреже које регулишу ритам срчаних откуцаја функцију код *Aplysia depilans*. Ритмички откуцаји срца представљају подесну физиолошку функцију, који се, због довољно велике амплитуде срчане контракције, могу релативно лако регистровати савременим оптоелектронским уређајима.

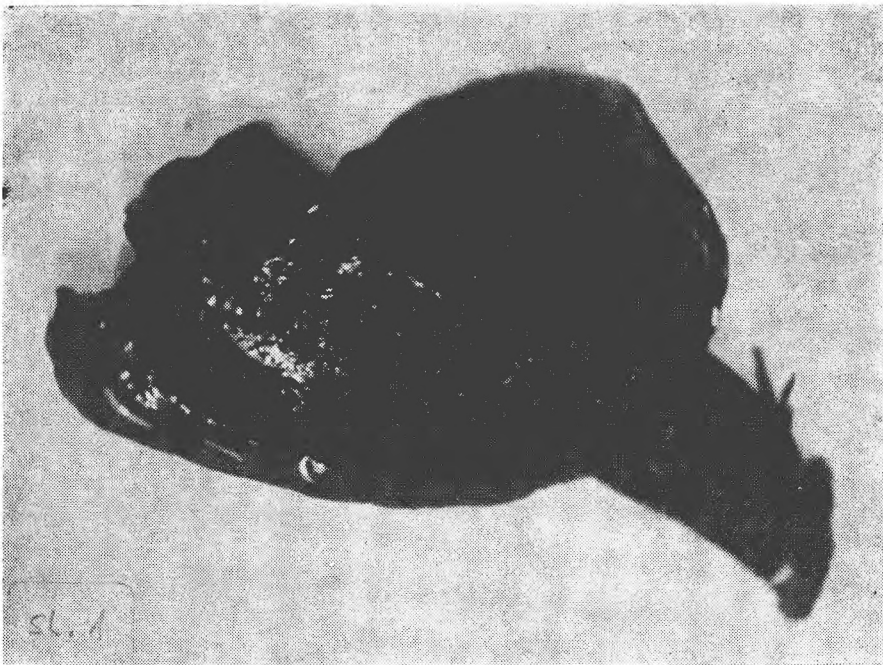
Срце мекушаца, слично као и код сисара, поседује сопствени водич ритма, а неуронски механизми ЦНС-а могу убрзавати или успоравати његову фреквенцију.

Моторну компоненту неуронске мреже која регулише фреквенцију срчаних откуцаја изучавали смо посматрањем њене промене изазване вештачком променом неуронског пражњења (деполаризација или хиперполаризација мембране). Одређивањем ефеката изазваних тактилном срчаном стимулацијом на неуронско пражњење, одредили смо и сензорну компоненту регулаторне нервне мреже.

Идентификовали смо 8 еферентних и 9 аферентних неурона.

#### МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

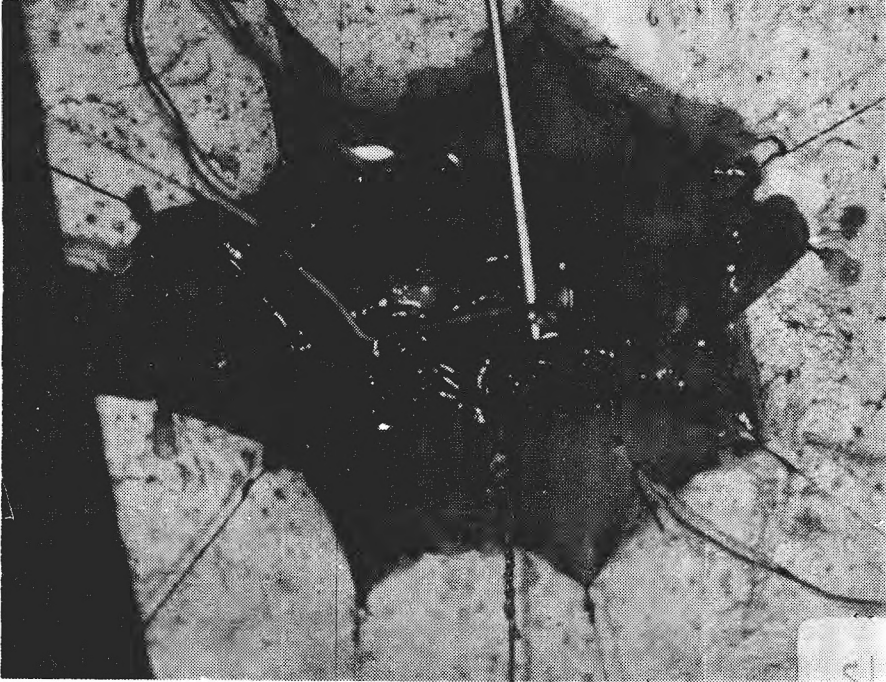
Животиње за експерименте сакупљали смо у приобалном подручју јужног Јадрана (Будва и Дубровник) у летњем периоду. Одржаване су у акваријуму са проточном морском водом. Свакодневно су прехрањиване морском салатом (*Ulva lactuca*). Телесна маса за експерименте коришћених животиња износила је од 150 до 300 г. На сл. 1 *Aplysia depilans* у ситуацији када слободно плива.



Сл. 1. *Aplysia depilans* у ситуацији када слободно плива

Fig. 1. The Photograph of *Aplysia depilans* in free running situation

Експериментални препарат припреман је на следећи начин: животиња је фиксирана у комори са термостатираном морском водом (15°C), вентралном страном окренутом нагоре. Лонгитудинално на стопалу је направљен рез, а затим одстрањен дигестивни тракт. Тиме постају видљиве све структуре ЦНС-а, који се састоји од неколико ганглија. На сл. 2 имамо тако припремљен препарат.



Сл. 2. Семи-интактни експериментални препарат *Aplysiae depilans*

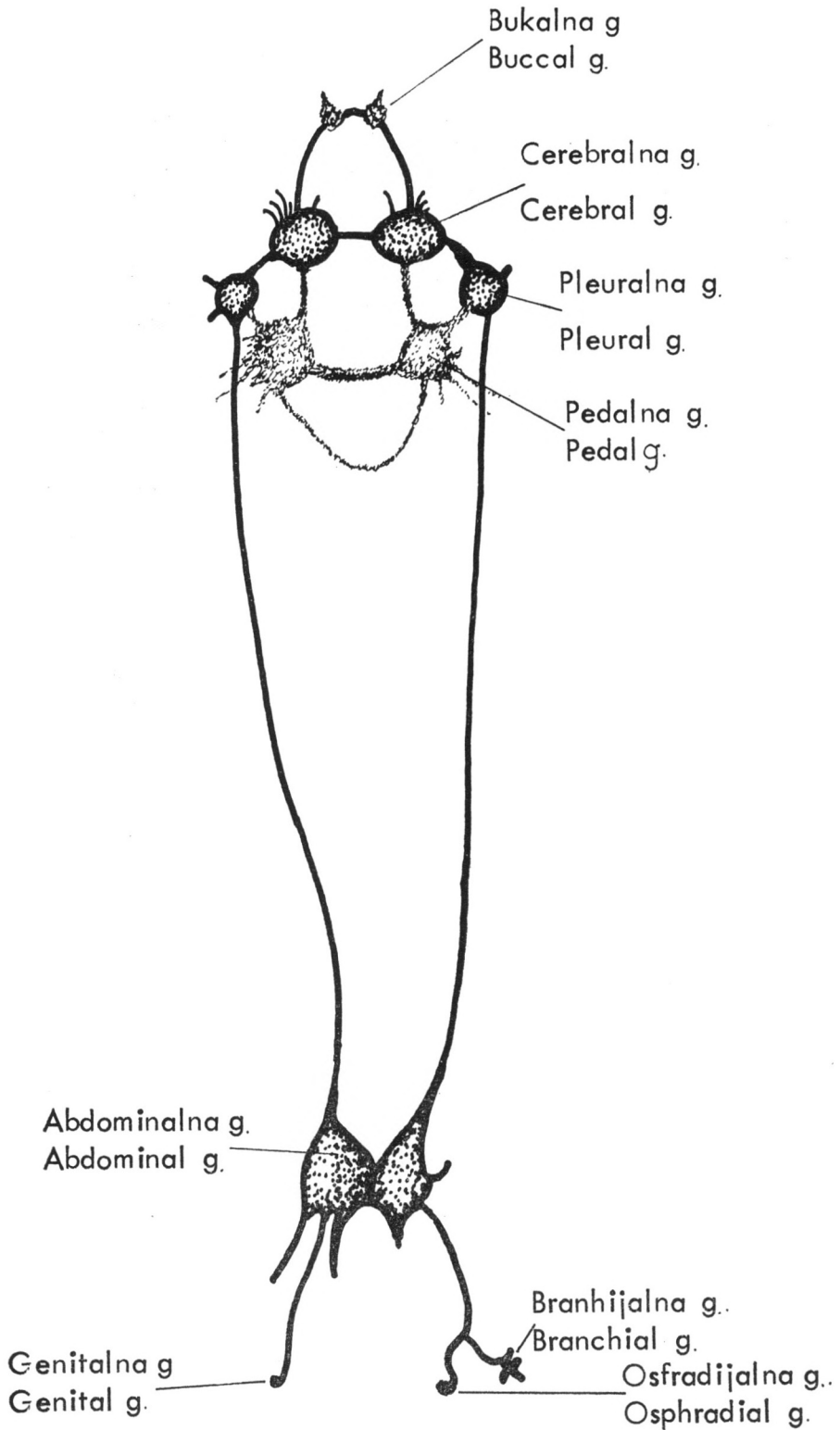
Fig. 2. Semi-intact eksperimental preparation of *Aplysia depilans*

На сл. 3 приказан је схематски ЦНС *Aplysia*. Састоји се од 8 ганглија, од којих 5 парних, а повезане су међусобно сноповима нервних влакана.

Церебрална, букална, плеурална и педална ганглија смештене су на површини езофагуса око кога чине прстен. Ове ганглије инервишу тентакуле (два пара на глави), очи, букалну мускулатуру, параподије и стопало. Плеурална ганглија је са две везе

Сл. 3. Централни нервни систем *Aplysiae*

Fig. 3. The central nervous system of *Aplysia*



(дужине око 5 см) повезана са абдоминалном ганглијом која је смештена у области абдомена. У ствари, абдоминална ганглија састављена је из 4 ганглиона: абдоминалног, гениталног, бронхијалног и осфрадијалног. Док ганглије око езофагуса инервишу главу, стопало, већину соматских функција, органе за исхрану, стопало, локомоторни систем и систем за копулацију, докле абдоминална ганглија инервише ппашт и већину висцералних функција: васкуларни систем, респираторни орган, екскрецијски систем, као и органе за репродукцију. Свака ганглија, поред дискретног скупа нервних ћелија, садржи и већи број потпурних (глијаних) ћелија.

Абдоминална ганглија која путем перикардијалног нерва инервише срце, била је фиксирана на подлогу од плексигласа превучену слојем еластичне гуме (sylgard 184) на коју се помоћу игала од нерђајућег челика растегне абдоминална ганглија, служећи се при томе лупом за дисекцију. Подлога је помоћу поливинилског штапа причвршћена на микроманипулатор (бела дебља црта од средине препарата на горе, сл. 2).

Срце се дисекцијом околног ткива изложи тако да се изнад њега може поставити сензор срчане контракције, као и танка канила у бронхијалну вену. Овом канилом вршена је перфузија срца са морском водом ради одржавања интракардијалног притиска који обезбеђује нормалну ритмику срчаних откуцаја (15—20 откуцаја/мин.).

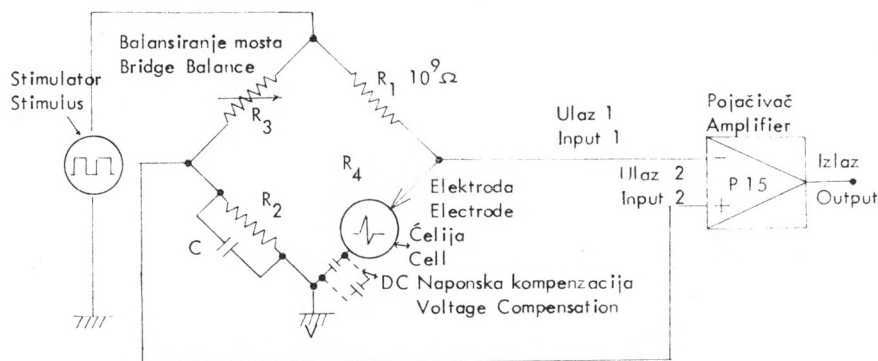
Сензор оптоелектронског уређаја (Vèrò, 1976) био је постављен 1 см изнад срца, а каблом је повезан са оптоелектронским уређајем.

Стимулацију срца изводили смо тактилно, благим додиривањем на махове површине срца.

Мембрански потенцијал неурона ЦНС-а регистровали смо стакленим микропипетама (спољњи пречник врха око 0,5  $\mu\text{m}$ ) напуњеним 2,5 М раствором калијум хлорида. Омски отпор тако добијених микроелектрода износио је од 6 до 12 Mohm-а. Електрична веза између раствора KCl електроде остварена је помоћу сребрног проводника превученог слојем среброхлорида (Ag—AgCl проводник). Референтна електрода коју сачињава Ag—AgCl проводник била је постављена на електрички неутрално ткиво животиње. Детекцијом биоелектричних потенцијала путем Ag—AgCl проводника избегнута је појава поларизационих потенцијала који неизбежно настају на додирним површинама чврстих и течних супстанција.

Добијени биоелектрични сигнал (разлика потенцијала између активне-микроелектроде и референтне електроде) одвођен је на улаз појачавача (модификован модел P15, Grass Ins., Quincy, Mass., USA). Појачан сигнал са излаза појачавача обсервиран је осцилоскопом (модел 5103N, Tektronix Inc., Denver, Col., USA) са чијег је екрана сниман фотографском камером (модел PC-2A, Nihon Kohden Kogio Co., Ltd., Japan).

Вештачка промена мембранског потенцијала испитиваних неурона била је остварена електронским импулсима добијаним из електронског стимулатора (модел S88, Grass). Истом активном електродом регистрована је неуронска активност и вршена стимулација ћелије. Да би се избегао артефакт изазван стимулирајућом струјом која мора пролазити кроз активну электроду, ова је била укључена у једну грану Wheatstone-овог моста као што је показано на сл. 4.



Сл. 4. Електрични мост којим је могуће истом електродом стимулисати ћелију и регистровати мембрански потенцијал

Fig. 4. Electrical Bridge by which it is possible to use a single micro-electrode for the stimulation the cell and recording of cell membrane potential

Као што се види на слици, једна дијагонала моста повезана је са стимулатором, а друга са улазом појачавача. У случају равнотеже моста, тј. када је испуњен услов:

$$R_1/R_4 = R_3/R_2$$

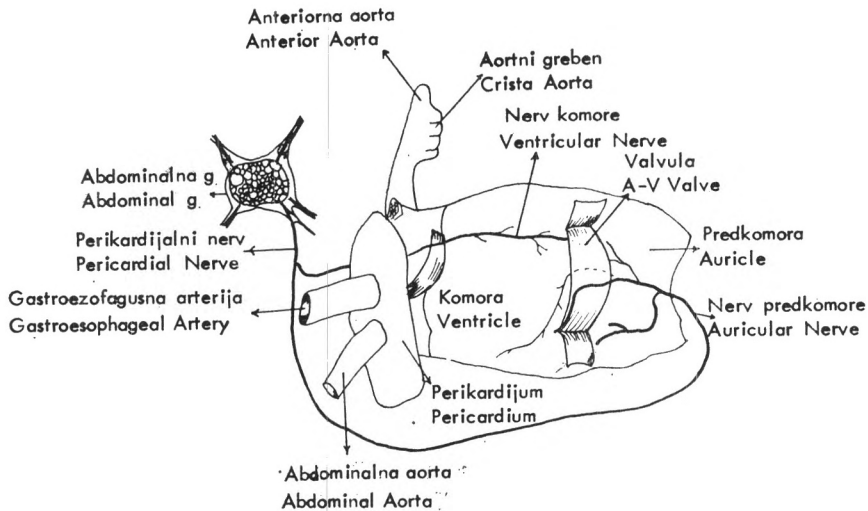
не постоји разлика потенцијала у другој дијагонали моста изазвана струјом стимулације, а крајеви ове дијагонала повезани су са улазним колом појачавача (улаз 1 и 2). Реално се на улазу појачавача јавља само мембрански потенцијал ћелије и то између његовог улаза 1 и земљења. Струја стимулације одређена је углавном отпором  $R_1$ , јер се отпор електроде може занемарити у односу на њега, а одабрана му је тако висока вредност да се може занемарити његов атенуирајући ефект на мембрански потенцијал.

С обзиром да је срце *Aplysia* инервисано абдоминалном ганглијом, извршили смо експлорацију неурона само ове ганглије у односу на њихов еферентни утицај, или реактивност изазвану тактилном срчаном стимулацијом. Међутим, није искључена могућност да и друге структуре ЦНС-а (в. сл. 3) такође учествују у неуронском регулаторном механизму ритма срчаних откуцаја.

Неуроне абдоминалне ганглије означавао смо према усвојеној номенклатури код *Aplysia californica* (Frazier et al., 1967; Kandel et al., 1967). Ова номенклатура састоји се од три врсте ознака. Ћелије које се на бази одређених критеријума (морфолошких и електрофизиолошких) могу идентификовати као посебне јединке, означене су арапским бројевима којима претходи слово R или L, већ према томе да ли ћелија припада десној или левој страни ганглије. У случају када више ћелија задовољава исте критеријуме, додаје им се посебан арапски број као индекс (напр. L9<sub>1</sub> и L9<sub>2</sub> идентификоване на левој страни абдоминалне ганглије).

## РЕЗУЛТАТИ

Анатомија васкуларног система код *Aplysia*. Циркулаторни систем код *Aplysia* је отворен (Eales, 1921). Срце пумпа крв кроз три веће артерије (гастроезофагеална, абдоминална и антериорна, сл. 5).



Сл. 5 Дијаграмски приказ инервације срца *Aplysiae*  
Fig. 5. Diagram of innervation of *Aplysia* heart

Проласком кроз ткиво крв се скупља у венским шупљинама близу плашта и враћа се у срце кроз шкрге и бубреге. Венске шупљине је описао Eales (1921) и потпуно су мишићног састава.

Срце је код *Aplysia* шупљинско (преткомора и комора) са миогеним водичем ритма (Straub, 1901; Straub, 1904).



Инервисано је двема гранама перикардијалног нерва (в. сл. 5). Након појаве перикардијалног нерва из абдоминалне ганглије, грана се на нерв коморе и нерв преткоморе. Нерв коморе простире се према вентралном пределу перикардијума и даље уздуж његовог латералног дела на преткомору. Уласком у комору простире се уздуж луминалне површине и при томе се интензивно грана. Завршава се својим огранцима на граници коморе и преткоморе. Нерв преткоморе, након уласка у њу, грана се у 4 нерва. Форма инервације слична је као у неких других врста мекушаца (Matsui, 1971; Ripplinger, 1957; Volkmer—Ribeiro, 1970).

Сензорна компонента регулаторне неуронске мреже ритма срчаних откуцаја. Експлорацијом идентификованих (гигантских) неурона абдоминалне ганглије на реактивност изазвану тактилноом стимулацијом срца, утврдили смо код њих постојање и тип реакција. Добијени резултати сумарно су приказани у табели 1.

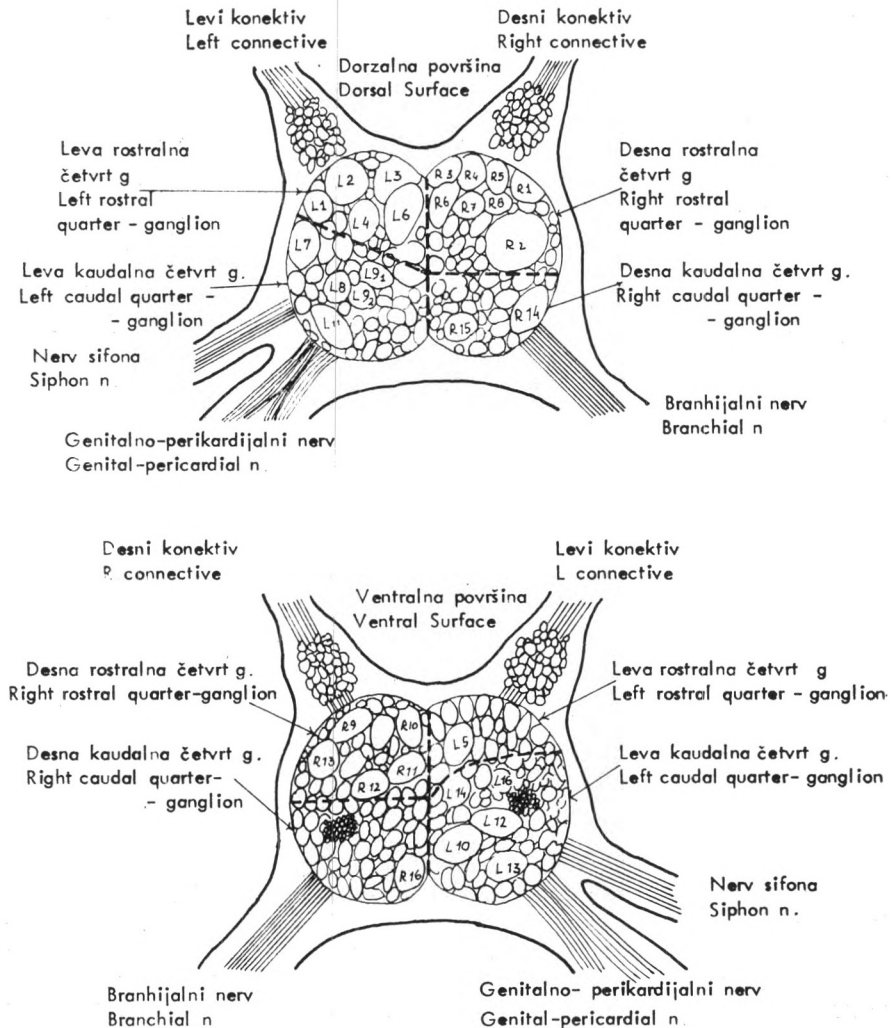
ТАБЕЛА 1.

Ознака неурона	Врста реакције
R14	Након почетне инхибиције следи ексцитација.
R15	Пражњење из салви прелази у тонично.
L4, L7, L9 <sub>1</sub> , L9 <sub>2</sub> , L10	Повећање фреквенције тоничког пражњења.
L11	Само хиперполаризацијом ћелије настаје пражњење.
L13	Незнатну почетну инхибицију следи закаснела ексцитација уз појаву ексцитаторних постсинаптичких потенцијала (ЕПСП).

Сензорни неурони нису локализовани на одређеним позицијама абдоминалне ганглије, већ су (по обе њене површине) дифузно дистрибуирани. Ова чињеница јасно се види на сл. 6, где схематски приказујемо дијаграм дорзалне и вентралне површине абдоминалне ганглије и најчешћи положај свих њених гигантских неурона.

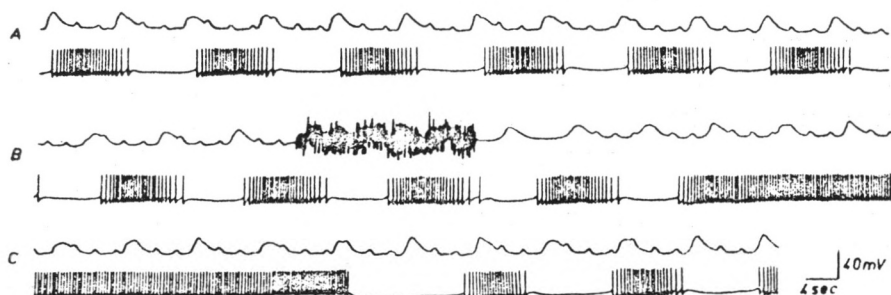
Код осталих гигантских неурона који нису наведени у табели 1, импулсно пражњење не мења се ни за време нити после стимулације срца.

Као што се види из табеле 1, већина неурона (L4, L7, L9<sub>1</sub>, L9<sub>2</sub> и L10) повећава фреквенцију импулсног пражњења стимулацијом срца. Код ћелија R14 и L13 након почетне инхибиције, следи повећање импулсне активности. Неурон L11 реагује са кашњењем. Вероватно је укључен у сложени интегративни неуронски процес. Због кашњења у преносу информација у ЦНС-у на синаптичким везама, може бити узрокована његова закаснела реактивност.



Сл. 6. Шематски приказ обе површине абдоминалне ганглије *Aplysiae* са ознакама идентификованих неурона и њиховим најчешћим положајем  
 Fig. 6. Diagram of both surface of both surface of *Aplysia* abdominal ganglion indicating labeled the most common position of the identified cells

Неурони са формом пражњења импулсних салви (R15, L4 и L10), срчаном стимулацијом мењају карактер пражњења: прелазе у тонично пражњење које је више фреквенције од оне пре стимулације. Овај феномен је илустрован на сл. 7, на којој је приказан оригиналан запис импулсног пражњења неурона R15, пре и након стимулације срца.



Сл. 7. Реакција неурона R15 на тактилну стимулацију срца. А — контролни запис; В, С — континуално регистровање након стимулације. Горњи траг на записима показује срчану контракцију, а доњи интрацелуларно регистровање из неурона

Fig. 7. Reaction of neuron R15 to tactile stimulation of the heart. A — control; B, C — continuous recording after stimulation. The upper trace shows contraction of the heart, and lower trace intracellular recordings from the neuron

Као што се види на слици, импулсне салве ишчезавају након стимулације срца (латенца приближно 25 s) и настаје континуално импулсно пражњење. Након 70 до 80 s континуалног импулсног пражњења, оригинална форма импулсних салви поново се успоставља.

ТАБЕЛА 2.

Ознака неурона	Врста срчане реакције на	
	Деполаризацију хелије (D)	Хиперполаризација хелије (H)
R14	Дуготрајном D-ом престају откуцаји срца.	Повећава се амплитуда срчане контракције.
L4	Смањује се амплитуда срчане контракције.	„
L7	Са закашњењем повећава се фреквенција срчаних откуцаја.	Продужена H у почетку смањује, а затим повећава фреквенцију срчаних откуцаја.
L9 <sub>1</sub> , L9 <sub>2</sub>	Престају откуцаји срца.	Повећава се амплитуда контракције и фреквенције срчаних откуцаја.
L10	Смањује се амплитуда контракције, а затим престају срчани откуцаји.	Повећава фреквенцију срчаних откуцаја, а пражњење у форми салви нормализује ритам срчаних откуцаја.
L11	„	Дуготрајном H-ом престају откуцаји срца.
L13	„	Смањује се амплитуда срчане контракције.

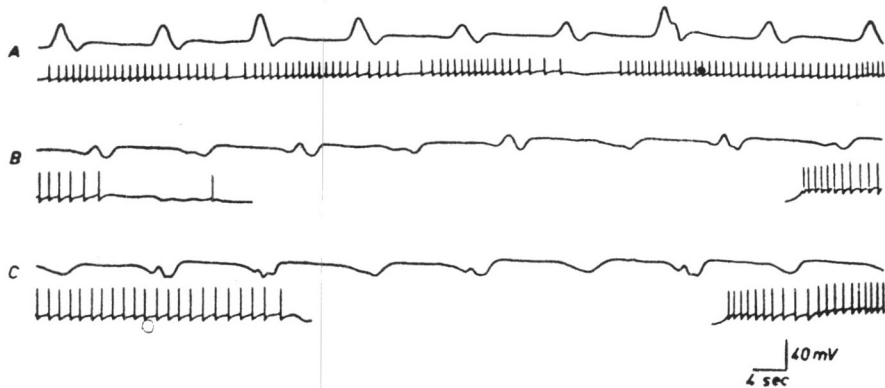
Моторна компонента регулаторне неуронске мреже ритма срчаних откуцаја. Експлорацијом гигантских неурона абдоминалне ганглије у односу на њихово моторно (еферентно) деловање на карактер ритма срчаних откуцаја, идентификовали смо 8 мотонейрона. Добијени резултати сумарно су приказани у табели 2.

Слично као и сензорни, и мотонейрони су такође дифузно дистрибуирани по дорзалној и вентралној површини абдоминалне ганглије. Они су углавном лоцирани на левој каудалној четврти ганглије из које и потиче перикардијални нерв.

Ћелија L7 због закаснелог деловања не представља мотонейрон, већ може да представља неурон укључен у координациони неуронски механизам којим се синхронизују активности свих мотонейрона.

Деполаризација ћелија R14, L4, L9, L10 смањује или зауставља срчане откуцаје, а ћелија L11 и L13 не изазива никакав ефект.

Хиперполаризација ћелија R14, L4, L9 и L10 повећава фреквенцију срчаних откуцаја, а понекад и амплитуду срчане контракције. Дуготрајна хиперполаризација ћелије L7, за кратко време смањује, а затим повећава фреквенцију срчаних откуцаја. Продуженом хиперполаризацијом ћелије L11 потпуно се заустављају срчани откуцаји. Хиперполаризација ћелије L13 узрокује смањење амплитуде срчане контракције. Ово својство ћелије L13 приказано је оригиналним записом на сл. 8.



Сл. 8. Ефект ћелије L13 на амплитуду срчане контракције. А — контролни запис; В, С — хиперполаризација мембране ћелије L13. Горњи траг на записима показује срчану контракцију, а доњи интрацелуларну неуронску активност

Fig. 8. Effect of the cell L13 on the amplitude of heart contraction. A — control; B, C — hyperpolarization of the soma membrane of cell L13. Upper trace shows contractions of the heart, and lower give intracellular activity of the neuron

Као што се са слике види, хиперполаризација ћелије L13, мада смањује амплитуду срчане контракције, не изазива детектабилан утицај на фреквенцију срчаних откуцаја.

Хиперполаризација ћелије L9 изазива донекле супротан ефект у односу на ћелију L13 (наиме, она изазива повећање амплитуде срчане контракције, али не и повећање фреквенције срчаних откуцаја).

Хиперполаризација неурона R14 смањује амплитуду срчане контракције, а ефект се одражава и након престанка хиперполаризације.

Деполаризација ћелије L10 никада не изазива ексцитацију срчане активности, него чак смањује амплитуду његове контракције, а затим и потпуно изостанак срчаних откуцаја. Њеном дуго-трајном хиперполаризацијом у почетку се смањује фреквенција срчаних откуцаја, а затим се континуална форма импулсног пражњења трансформише у салве. Откривена је корелација између карактера пражњења ове ћелије и ритма срчаних откуцаја. При високим фреквенцијама континуалног пражњења, престају срчани откуцаји, а при пражњењу форме салви, или када ћелија мирује, ритам је срчаних откуцаја регуларан.

#### ДИСКУСИЈА

Од укупно 1 500 нервних ћелија, колико их има у абдоминалној ганглији *Aplysia* (Coggeshall, 1967), анализирали смо 17 (8 мото- и 9 сензорних) неурона. Ови неурони, приказани у табелама 1 и 2, представљају интегративни део регулаторне мреже ритма срчаних откуцаја. Ову тврдњу заснивамо на детектованим ефектима које мотоневрони непосредно изазивају вршећи модификацију ритма срчаних откуцаја, као и изазваној реактивности у 9 гигантских неурона услед тактилне стимулације срца. Не можемо, међутим, тврдити да смо описали комплетну популацију нервних ћелија која улази у састав регулаторне неуронске мреже ритма срчаних откуцаја. Међутим, чињеница да активност описаних мотоневрона изазива промену фреквенције срчаних откуцаја у опсегу који је понекад и већи од њене природне вредности, сугерише да описани мотоневрони сачињавају углавном моторну компоненту ове мреже.

Добијени резултати (упореди табеле 1 и 2) показују да већина мотоневрона реагује на тактилну стимулацију срца. С обзиром на то што је детектован већи број сензорних него мотоневрона, указује да се у ЦНС-у одвија неуронска интеграција. Као резултат ове интеграције долази до синхронизације пражњења мотоневрона и настајања моторног акта. Функцију синхронизације обављају интернеурони, што је доказано код друге врсте *Aplysia* (Koester et al., 1974). Синхронизатори импулсног пражњења мотоневрона морају постојати и код *Aplysia depilans* јер смо експериментално утврдили симултаним регистровањем неуронске ак-

тивности из парова мотонeurона да међу њима не постоји непосредна синаптичка веза. Функцију синхронизатора код *Aplysia californica* врши neuron L10 (Koester et al., 1974). Међутим, код *Aplysia depilans* neuron хомологан ћелији L10 не изазива ексцитацију срца, већ штавише, повећање фреквенције њеног импулсног пражњења, смањење амплитуде срчане контракције, а затим и потпун изостанак откуцаја срца (в. табелу 2). Интересантно је да интернеuron L10 код *Aplysia californica* може иницирати моторни програм без учешћа спреге са периферије (Koester et al., 1974). Аналогно томе је показано такође на неким врстама инсеката да ЦНС може контролисати моторну секвенцу летења без утицаја повратне спреге са периферијских структура (Wilson, 1961). Истраживања и на другим врстама бескичмењака показала су да један neuron (комадна ћелија) може тригерисати комплетан моторни програм (Davis and Kennedy, 1971; Kennedy et al., 1969; Wiersma and Ikeda, 1964; Wiersma, 1938). Данас је евидентно, такође, да је овај принцип примењен и код кичмењака (Burke, 1971; De Long, 1971).

С обзиром да је описана популација neuronа која сачињава регулаторну neuronску мрежу ритма срчаних откуцаја распоређена дифузно по целој абдоминалној ганглији сутерише њену мултифункционалност. Мада у овом раду не располажемо таквим доказима, наводимо пример код *Aplysia californica* код које исти мотонeurон може да инервише три органа — сифон, плашт и шкрге (Koester et al., 1974).

Која ће од мноштва функција neuronске мреже бити у датом тренутку доминантна, зависи од тренутних потреба организма. Оваква функција neuronских мрежа могла би се упоредити са функционалним својствима сензорних система у сисара. Њихов сензорни систем, нпр., располаже могућношћу активирања појединачног сензорног модалитета за преузимање доминантне улоге у одређеном тренутку у коме он за организам има најзначајнију улогу.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Burke, R. E. (1971): Central control of movement. IV. Control sistem operating on spinal reflex mechanisms. *Neurosci. Res. Progr. Bull.* 9: 60—85.
- Coggeshall, R. E. (1967): A light and electron microscopic study of the abdominal ganglion of *Aplysia californica*. *J. Neurophysiol.* 30: 1263—1287.
- Davis, W. J. and Kennedy, D. (1972): Command interneurons controlling swimmeret movements in lobsters. *J. Neurophysiol.* 35: 1—29.
- De Long, M. (1971): Central control of movement. I. Central patterning of movement. *Neurosci. Res. Progr. Bull.* 9: 1—30.
- Eales, N. B. (1921): *Aplysia* Liverpool Marine Biol. Comm., Memorirs № 24: 183—266.
- Frazier, W. T., Kandel, E. R., Kupfermann, I., Waziri, R. and Coggeshall, R. E. (1967): Morphological and functional properties of identified neurons in the abdominal ganglion of *Aplysia californica*. *J. Neurophysiol.* 30: 1288—1351.

- Kandel, E. R., Frazier, W. T., Waziri, R. and Coggeshall, R. E. (1967): Direct and common connections among identified neurons in *Aplysia*. *J. Neurophysiol.* 30: 1352—1376.
- Kandel, E. R. (1976): *Cellular Basis of Behavior: An Introduction to Behavioral Neurophysiology*: San Francisco: W. H. Freeman.
- Kennedy, D., Selvestion, A. I. and Remler, M. P. (1969): Analysis of restricted neural networks. *Science* 164: 1488—1496.
- Koester, J., Mayeri, E., Liebeswar, G. and Kandel, E. R. (1974): Neural control of circulation in *Aplysia*. II. Interneurons. *J. Neurophysiol.* 37: 476—496.
- Matsuik, K. (1945): Physiological studies on the heart of marine mollusc *Dolabella*. *Sci. Rept. Tokyo, Bunrika Daigaku, sect. B7*, 55:
- Ripplinger, J. (1957): Contribution a l'etude dela physiologie du coeur et de son innervation extrinsèque chez l'escargot (*Helix pomatia*). *Ann. Sci. Univ. Besancon, Zool. Physiol.* 8: 1—179.
- Straub, W. (1901): Zur Physiologie des Aplysien herzens. *Arch. Ges. Physiol.* 86: 504—532.
- Straub, W. (1904): Fortgesetzte Studien am Aplysienherzen (Dynamik, Kreislauf und dessen Inervation) nebst Bemerkungen zur vergleichenden Muscelphysiologie. *Arch. Ges. Physiol.* 103: 429—449.
- Vèrò, M. (1976): Movement indicator for biological objects with electro-optical sensing devices. *Annal. Biol. Tihany* 43: 37—42.
- Volkmer-Ribeiro, C. (1970): Enterochromaffin properties of granular cells in the heart of the snails *Helix aspersa* and *Strophocheilus oblongus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 37: 481—492.
- Wiersma, A. G. and Ikeda, K. (1964): Interneurons commanding swimmeret movements in the crayfish *Procambarus clarkii*. *Comp. Biochem. Physiol.* 12: 509—525.
- Wilson, D. M. (1961): The central nervous control of flight in a locust. *J. Exptl. Biol.* 39: 471—490.

THE NEURONAL NETWORK REGULATING THE HEART BEAT  
IN SEA HERE *APLYSIA DEPILANS*

S u m m a r y

by

Đ. Konjević and N. Kovačević

The neural network regulating the heart beat of the sea here *Aplysia depilans* was analyzed. The investigation were carried out on the semi-intact animals. The *Aplysia* was immobilized in the experimental chamber containing sea water at 15°C. Central nervous system and heart and heart nerve were exposed. The heart contraction, the extracellular activity of the heart nerve and intracellular activity of the central neurones included in the neural network of heart beat regulation was made according to the reaction to the tactile heart stimulation and modifications of the heart beat under artificial stimulation of the central neurones.

As a result of our investigation 17 neurones involved in heart beat regulation have been identified. They are scattered throughout both surface of the abdominal ganglion. The motoneurons are not interconnected; each cell forms independent parallel motor pathway capable of producing powerful motor effects. It is possible to conclude according our results that the 8 moto- and 9 sensory neurones account for at least the major portion of the regulatory neural net of heart rate in *Aplysia depilans*.

