

Summary

While animals move through their surroundings, they must constantly adapt their movements to changing environmental conditions or internal needs. In legged animals, such adaptations may include altering the walking direction from forward to backward. This change in direction requires a high degree of flexibility from the nervous system and the neuronal networks that control leg movement. It is now widely accepted that neuronal circuits called central pattern generators (CPGs) contribute to producing the rhythmic phases, while sensory feedback switches between phases and adjusts the motor output to ensure coordinated and adaptive leg movements. Forward walking has been extensively studied, and much is known about the neuronal control mechanisms; however, considerably less is known about the adaptations that facilitate backward walking.

Stick insects are well-suited to explore such mechanisms due to their large size, their relatively simple nervous system, and the electrophysiological techniques available. In the stick insect leg, the three main joints involved in stepping, i.e., the thorax-coxa (ThC), coxa-trochanter (CTr), and femur-tibia (FTi) joints, are governed by antagonistic muscles that move the different leg segments throughout the step cycle. For the middle legs, the main difference between forward and backward stepping lies in the timing of activation of the ThC joint muscles, the protractor and retractor coxae, which move the leg back and forth. These muscles reverse their activation timing compared to forward stepping to reverse the direction of the stance phase, while the timing of the other antagonistic muscle pairs remains largely unchanged. This dissertation aimed to gain new insights into the neuronal control mechanisms underlying leg stepping and modifications within the network that contribute to the generation of backward stepping. The findings are presented in three studies, each exploring different yet complementary aspects involved in generating and adapting leg stepping.

In the first study, we pharmacologically activated the premotor networks of the deafferented mesothoracic ganglion and recorded motor neuron (MN) activity extra- and intracellularly to investigate the synaptic drive underlying the rhythmic modulation of the MNs' membrane potential. We show that all MN pools, except for one, receive phasic inhibitory synaptic input. Surprisingly, the rhythmic activity of depressor MNs of the CTr joint relies primarily on phasic excitatory synaptic input. We could thus show that the CPGs of the three main leg joints do not operate all in the same way but use distinct mechanisms to rhythmically drive MN activity.

In the second study, we stimulated leg load sensors, i.e., trochanteral/femoral campaniform sensilla, in a semi-intact preparation during fictive forward and backward stepping of the middle leg to explore how load feedback affects protractor and retractor MN activity. We show that load feedback can initiate and maintain the activity of the functional stance MN pool, which is the retractor MN pool during forward stepping and the protractor MN pool during backward stepping. We further provide evidence that this task-dependent reversal of load effects is gated by intersegmental signals reporting the movement of the adjacent legs.

Finally, in the third study, we used the same preparation and recorded the activity of premotor nonspiking interneurons (NSIs) during forward and backward stepping to explore modifications in their activity pattern that contribute to the generation of backward stepping. We found that NSIs within the CTr and FTi premotor networks exhibit similar activity patterns during both forward and backward stepping, whereas ThC NSIs show changes, such as a reversal or reduction in activity during backward

stepping. Moreover, these changes in ThC NSI activity appear to be supported by task- and phase-dependent effects of load feedback.

Together, the findings of this dissertation contribute to a better understanding of the fundamental mechanisms underlying rhythmic motor activity for walking, as well as the central and sensory processes involved in generating backward stepping.

Zusammenfassung

Während sich Tiere durch ihre Umgebung bewegen, müssen sie ihre Bewegungen ständig an wechselnde Umgebungsbedingungen oder innere Bedürfnisse anpassen. Bei Tieren mit Beinen kann eine solche Anpassung beispielsweise darin bestehen, die Laufrichtung von vorwärts auf rückwärts zu ändern. Eine solche Richtungsänderung erfordert ein hohes Maß an Flexibilität des Nervensystems und der neuronalen Netzwerke, die die Beinbewegungen steuern. Es ist mittlerweile allgemein anerkannt, dass neuronale Schaltkreise, sogenannte zentrale Mustergeneratoren (CPGs), zur Erzeugung der rhythmischen Phasen des Laufens beitragen, während sensorisches Feedback zum Wechsel zwischen den Phasen beiträgt und den motorischen Output anpasst, um koordinierte und adaptive Beinbewegungen zu gewährleisten. Das Vorwärtslaufen wurde bereits umfassend untersucht, und über die neuronalen Steuerungsmechanismen ist viel bekannt; weitaus weniger ist jedoch über die neuronalen Anpassungen bekannt, die das Rückwärtslaufen ermöglichen.

Stabheuschrecken eignen sich aufgrund ihrer Größe, ihres vergleichsweise simplen Nervensystems und der verfügbaren elektrophysiologischen Techniken hervorragend zur Erforschung solcher Mechanismen. Im Bein der Stabheuschrecke werden die drei für das Laufen maßgeblichen Hauptgelenke, nämlich das Thorax-Coxa-Gelenk (ThC), das Coxa-Trochanter-Gelenk (CTr) und das Femur-Tibia-Gelenk (FTi), von antagonistischen Muskeln gesteuert, die die verschiedenen Beinsegmente während des Schrittzklus bewegen. Für die Mittelbeine liegt der Hauptunterschied zwischen Vorwärts- und Rückwärtsschritten im zeitlichen Ablauf der Aktivierung der ThC-Gelenkmuskeln Protraktor und Retraktor coxae, die das Bein vor- und zurückbewegen. Während sich die zeitliche Aktivierung dieser Muskeln gegenüber dem Vorwärtsschritt umkehrt, wodurch sich die Richtung der Stemmphase umkehrt, bleibt die zeitliche Aktivierung der übrigen antagonistischen Muskelpaare weitgehend unverändert. Ziel dieser Dissertation war es, neue Einblicke in die neuronalen Steuerungsmechanismen zu gewinnen, die dem Beinschritt zugrunde liegen, sowie in die Anpassungen innerhalb des Netzwerks, die zum Rückwärtsschritt beitragen. Die Ergebnisse werden in drei Studien vorgestellt, die jeweils unterschiedliche, sich jedoch ergänzende Aspekte der Erzeugung und Anpassung des Beinschritts untersuchen.

In der ersten Studie haben wir die prämotorischen Netzwerke des deafferentierten mesothorakalen Ganglions pharmakologisch aktiviert und die Aktivität der Motoneurone (MNe) extra- und intrazellulär aufgezeichnet, um den synaptischen Antrieb zu untersuchen, der der rhythmischen Modulation des Membranpotentials der MNe zugrunde liegt. Wir konnten zeigen, dass alle MN-Gruppen, auch MN-Pools genannt, mit Ausnahme eines einzigen, phasische inhibitorische synaptische Eingänge erhalten. Überraschenderweise beruht die rhythmische Aktivität der Depressor-MNe des CTr-Gelenks in erster Linie auf phasischen erregenden synaptischen Eingängen. Wir konnten somit zeigen, dass die CPGs der drei Hauptbeingelenke nicht alle auf dieselbe Weise funktionieren, sondern unterschiedliche Mechanismen nutzen, um rhythmische Aktivität in den MNen zu erzeugen.

In der zweiten Studie haben wir in einem semi-intakten Präparat die Belastungssensoren der Beine, d. h. die trochanteralen/femorale campaniformen Sensillen, während fiktiver Vorwärts- und Rückwärtsschritte des Mittelbeins stimuliert, um zu untersuchen, wie sich Belastungsrückkopplung auf die Aktivität der Protraktor- und Retraktor-MNe auswirkt. Wir konnten zeigen, dass Belastungsrückkopplung die Aktivität des funktionellen Stemmphasen-MN-Pools initiieren und aufrechterhalten kann, der beim Vorwärtsschritt der Retraktor-MN-Pool und beim Rückwärtsschritt

der Protraktor-MN-Pool ist. Darüber hinaus liefern wir Hinweise darauf, dass diese aufgabenabhängige Umkehrung der Belastungseffekte durch intersegmentale Signale unterstützt wird, die über die Bewegung der benachbarten Beine informieren.

Schließlich haben wir in der dritten Studie dasselbe Präparat genutzt und die Aktivität prämotorischer, nicht spikender Interneuronen (NSIs) während Vorwärts- und Rückwärtsschritten aufgezeichnet, um Veränderungen in ihrem Aktivitätsmuster zu untersuchen, die zum Rückwärtsschritt beitragen. Wir konnten feststellen, dass NSIs innerhalb der prämotorischen Netzwerke des CTr und FTi-Gelenks sowohl beim Vorwärts- als auch beim Rückwärtsschritt ähnliche Aktivitätsmuster aufweisen, während ThC-NSIs Veränderungen zeigen, beispielsweise eine Umkehrung oder Verringerung der Aktivität beim Rückwärtsschritt. Darüber hinaus scheinen diese Veränderungen in der ThC-NSI-Aktivität durch aufgaben- und phasenabhängige Effekte der Belastungsrückkopplung unterstützt zu werden.

Insgesamt tragen die Ergebnisse dieser Dissertation zu einem besseren Verständnis der grundlegenden Mechanismen bei, die der rhythmischen motorischen Aktivität beim Laufen zugrunde liegen, sowie der zentralen und sensorischen Prozesse, die an der Erzeugung von Rückwärtsschritten beteiligt sind.