

УДК: 51-76

Современные подходы к моделированию активности культур нейронов *in vitro*

©2012 Анохин К.В., Бурцев М.С., Ильин В.А., Киселев И.И., Кукин К.А., Лахман К.В., Параскевов А.В., Рыбка Р.Б., Сбоев А.Г., Твердохлебов Н.В.

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»,
Москва, 123182, Россия

Аннотация. Одной из широко используемых экспериментальных моделей современной нейронауки являются нейрональные культуры *in vitro*. Культивирование нейронных сетей на мультиэлектродных матрицах дает возможность получать большой объем информации о динамике активности нейронов, а также воздействовать на клетки при помощи электрической стимуляции. Это делает нейрональные культуры удобным инструментом исследования адекватности теоретических моделей нейронных сетей. В обзоре рассмотрены работы, представляющие основные подходы к компьютерному моделированию динамики активности в культурах нейронов.

Ключевые слова: нейрон, нейрональная культура, синаптическая пластичность, мультиэлектродная матрица, спайковая динамика нейронных сетей.

1. ВВЕДЕНИЕ

Для понимания принципов работы мозга, необходимо иметь информацию об активности больших распределенных популяций нейронов, и ее связи с поведением. Это значит, что идеальный метод исследования должен обладать клеточным разрешением для всего объема мозга и временным разрешением, позволяющим регистрировать потенциалы действия отдельных нейронов. Обычно мозг животного содержит огромное число нейронов и межнейронных связей, образующих чрезвычайно сложную трехмерную пространственную структуру, состоящую из клеток различных типов упорядоченных в пространстве. Размер и «трехмерность» нейронных сетей мозга вызывает значительные трудности при его изучении. Современная нейробиология обладает широким спектром инструментов, позволяющих исследовать мозг на различных временных и пространственных масштабах ([1], рис. 1). Однако, эти методы либо не имеют клеточного разрешения, как функциональный магнитно-резонансный имиджинг или электроэнцефалография, либо, как мультиэлектродная или оптододная [2, 3] регистрация, дают только локальную информацию не позволяя одновременно регистрировать активность всей популяции клеток, образующих функциональную систему, в мозге животного (*in vivo*).

Поиск экспериментальных моделей сетей нервных клеток, удовлетворяющих требованиям клеточного разрешения и возможности регистрации динамики активности каждого нейрона, активно ведется в области исследования нейрональных культур [4, 5]. Нейрональная культура – это сеть нейронов, выращенная в чашке (*in vitro*) [6]. Для культивирования обычно используют нервные клетки, взятые из коры головного мозга или гиппокампа эмбриона крысы или мыши. Клетки высаживают на плоскую поверхность и снабжают питательной средой. За счет обработки поверхности

специальным покрытием, улучшающим сцепление клетки с подложкой, удается выращивать монослойные (толщиной 1-3 клетки) культуры. Электрическая активность клеток нейрональной культуры обычно регистрируется массивом плоских микроэлектродов (т. н., мультиэлектродной матрицей, англ. multi-electrode array (MEA) [7, 8]), встроенных в диэлектрическую подложку.

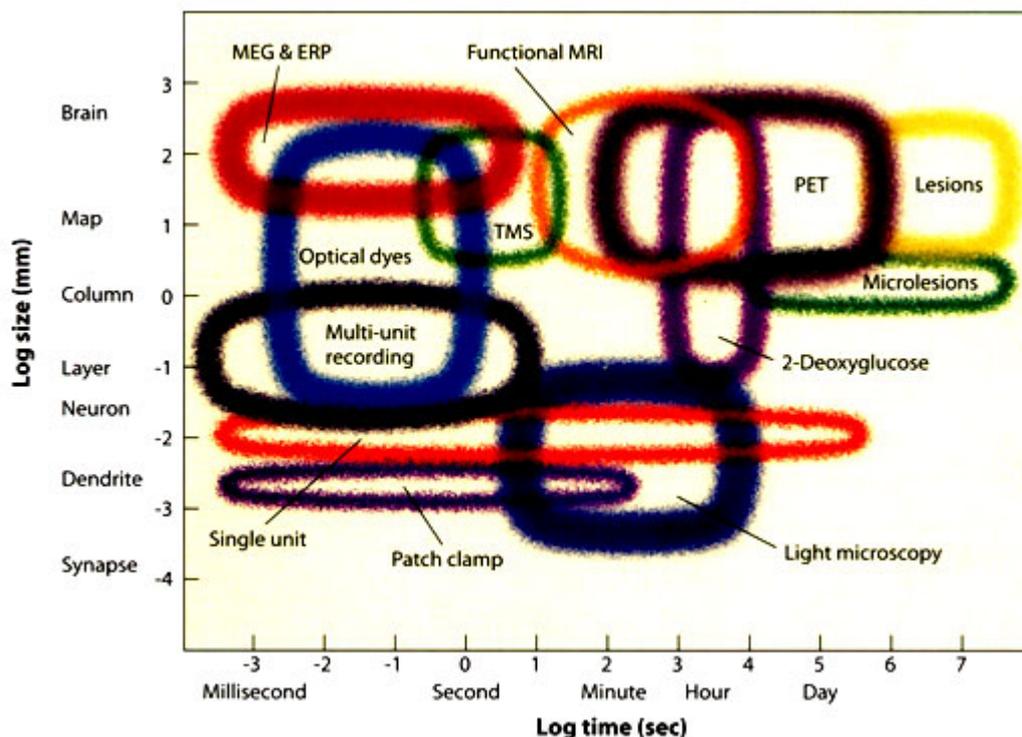


Рис. 1. Диапазоны пространственного и временного разрешения различных методов исследования активности мозга (из [1]).

Важным преимуществом монослойных нейрональных культур *in vitro* перед сетями нейронов *in vivo* является удобство исследования всеми методами световой и флуоресцентной микроскопии, что открывает возможность использовать инструменты молекулярной биологии для визуализации маркеров внутриклеточных процессов.

Таким образом, доступность структурной и функциональной диагностики дает возможность количественно сравнивать экспериментальные результаты с предсказаниями моделирования, что сделало культуры нейронов популярным объектом исследований, сопоставляющих результаты моделирования популяционной активности с экспериментальными данными [9–16].

Популяционная активность в нейронных сетях *in vitro* обладает следующими характерными особенностями:

- (1) Существует характерная спонтанная спайковая активность сформированной нейрональной культуры, когда с интервалом 3 - 7 с на большинстве электродов наблюдаются пачки (англ. bursts) импульсов длительностью ~ 100 - 300 мс [9]. Общие черты подобной «пачечной» активности воспроизводятся в численных экспериментах [9, 11, 12, 15–18]. Судя по результатам моделирования явление «пачечной» активности видимо связано с синаптической пластичностью и наличием пейсмеркерных нейронов.
- (2) Распределение спайков внутри «пачки» обладает характерными статистическими закономерностями [12, 13, 17, 19]. Однако вопрос о релевантности статистических

характеристик спайковой динамики нейрональных сетей *in vitro* и *in vivo*, несмотря на некоторые положительные результаты [20–22], остается открытым.

Фундаментальным свойством мозга является способность к обучению, и это определяет актуальность создания экспериментальных [14, 23–29] и теоретических моделей [15, 30] обучения нейрональных сетей *in vitro*. Для того чтобы реализовать обучение нейрональную сеть надо поместить в проблемную ситуацию для которой необходимо найти решение, обычно для этого используется соединение культуры с робототехнической платформой в нейрогибридную систему при помощи двустороннего интерфейса. В подобной системе сигналы с сенсоров робота преобразуются в стимулирующие импульсы, подаваемые на нейроны, а активность клеток кодируется в управляющие сигналы.

Тем не менее, в связи с текущим несовершенством методов регистрации различных параметров культур нейронов, а также не до конца изученными механизмами, обеспечивающими обработку информации в культуре, компьютерное моделирование является актуальным подходом для изучения принципов функционирования культуральных сетей. Цель данного обзора – осветить основные направления, задачи и перспективные идеи исследований в области моделирования нейрональных культур *in vitro*. За последнее десятилетие данная область существенно расширилась, и в рамках множества исследований были разработаны различные подходы для воспроизведения нейрональной активности и пластичности в сети. В рамках данного обзора стояла задача представления спектра возможных подходов, без детального анализ каждого из них.

Структура обзора организована следующим образом. Во второй части обзора описаны модели нейрона и синапса, широко применяемые в моделировании спайковой активности нейрональных культур. Третья часть обзора посвящена обзору моделей популяционной активности в культурах. Наконец, в завершающей части сделаны выводы и обозначены перспективные направления исследования нейрональных культур.

2. МОДЕЛИ ДИНАМИКИ НЕЙРОНА И СИНАПСА

При симуляции динамики нейрональных культур, важную роль играет выбор моделей основных элементов нейрональной культуры – нейронов и синапсов, поскольку от этого зависит правдоподобность результатов моделирования. Для сетей с малым количеством нейронов и/или синаптических связей можно использовать сложные биофизические модели с десятками параметров. Однако, при моделировании нейрональных культур, состоящих из десятков тысяч нейронов и сотен тысяч синапсов, неизбежно приходится находить компромисс между детализацией моделей и доступными вычислительными ресурсами [31]. В данном разделе рассмотрены модели динамики нейрона и синапса, наиболее часто применяемые при моделировании спайковой активности нейрональных культур.

Модель «нейрон – пороговый интегратор» с учётом тока утечки (в англоязычной терминологии, *leaky integrate-and-fire (LIF) neuron* [32–34]), вследствие ее вычислительной простоты, является одной из самых популярных при моделировании больших (по числу нейронов) нейронных сетей. Уравнение подпороговой динамики LIF-нейрона имеет вид:

$$C_m \frac{dV}{dt} = -(V - V_{rest}) / R_m + I_{syn} + I_{ext}, \quad (1)$$

где V , C_m и R_m – трансмембранный потенциал, электрическая емкость и сопротивление мембраны нейрона, соответственно. В отсутствие синаптического (I_{syn}) и внешнего (I_{ext}) токов, потенциал на мембране за время $\tau_m = C_m R_m \sim 10$ мс релаксирует к потенциалу

покоя V_{rest} . Когда V достигает порога V_{th} , нейрон генерирует спайк, а потенциал в течение интервала τ_{ref} (т. н. периода рефрактерности) имеет постоянное значение V_{reset} . При удачном подборе параметров, LIF-модель удовлетворительно воспроизводит частотную модуляцию спайковой активности биологического нейрона. Однако эта модель не способна воспроизвести такие существенные детали как форма спайка, профиль изменения потенциала между спайками, пачечную активность нейрона, адаптацию нейрона к постоянной стимуляции виде относительно медленного увеличения межспайковых интервалов и т. д. [31]. Тем не менее, на основе данной модели построено множество модификаций, которые расширяют ее возможности и повышают сходство с динамикой биологического нейрона [33, 35, 36].

Среди моделей, учитывающих динамику потенциал-зависимых ионных каналов мембраны нейрона, наиболее популярной остается модель Ходжкина-Хаксли [37], изначально предложенная для описания распространения спайка по аксону. Помимо трансмембранного потенциала V , в модель входят три т.н. воротные переменные (m , h и n), описывающие текущие состояния ионных каналов, определяющих проницаемость мембраны для ионов Na^+ и K^+ . Уравнения модели имеют вид:

$$\begin{aligned} C \frac{dV}{dt} &= -[g_{Na} \cdot m^3 \cdot h \cdot (V - V_{Na}) + g_K \cdot n^4 \cdot (V - V_K) + g_L \cdot (V - V_L)] + I_{syn} + I_{ext}, \\ \frac{dm}{dt} &= \alpha_m (1 - m) - \beta_m m, \\ \frac{dh}{dt} &= \alpha_h (1 - h) - \beta_h h, \\ \frac{dn}{dt} &= \alpha_n (1 - n) - \beta_n n, \end{aligned} \tag{2}$$

где C – удельная емкость мембраны нейрона, g_{Na} , g_K , g_L и V_{Na} , V_K , V_L – максимальные удельные проводимости мембраны и стационарные потенциалы реверсии (относительно потенциала покоя) для ионов Na^+ , K^+ и тока утечки (определяемого в основном ионами Cl^-). Коэффициенты в уравнениях для m , h и n нетривиальным образом зависят от потенциала V :

$$\begin{aligned} \alpha_m &= \frac{a_1 (a_2 - V)}{\exp\left(\frac{a_2 - V}{a_3}\right) - 1}, \quad \beta_m = b_1 \cdot \exp\left(\frac{-V}{b_2}\right), \\ \alpha_h &= c_1 \cdot \exp\left(\frac{-V}{c_2}\right), \quad \beta_h = \frac{d_1}{\exp\left(\frac{d_2 - V}{d_3}\right) + 1}, \\ \alpha_n &= \frac{e_1 (e_2 - V)}{\exp\left(\frac{e_2 - V}{e_3}\right) - 1}, \quad \beta_n = f_1 \cdot \exp\left(\frac{-V}{f_2}\right). \end{aligned}$$

Коэффициенты a_1 , a_2 , a_3 , b_1 , b_2 , c_1 , c_2 , d_1 , d_2 , d_3 , e_1 , e_2 , e_3 , f_1 , f_2 определяются из сравнения с экспериментальными зависимостями. В оригинальной работе Ходжкина-Хаксли [38], для аксона кальмара, эти коэффициенты имеют следующие значения (потенциал V - в мВ): $a_1 = 0.1$, $a_2 = 25$, $a_3 = 10$, $b_1 = 4$, $b_2 = 18$, $c_1 = 0.07$, $c_2 = 20$, $d_1 = 1$, $d_2 = 30$, $d_3 = 10$, $e_1 = 0.01$, $e_2 = 10$, $e_3 = 10$, $f_1 = 0.125$, $f_2 = 80$. Отметим, что пороговый потенциал испускания

спайка возникает в модели «автоматически», вследствие нелинейности уравнений.

Модель Ходжкина-Хаксли (Х-Х) хорошо описывает форму одиночного спайка, а так же множество других свойств, и признана наиболее биологически-релевантной среди общепринятых моделей спайковой динамики нейрона. Однако сравнительная сложность этой модели ограничивает ее применение при симуляции динамики нейронных сетей, состоящих из большого ($>10^3$) числа нейронов.

В качестве популярной модели промежуточной сложности (между LIF-нейроном и моделью Х-Х) выступает модель нейрона, предложенная Е. М. Ижикевичем [39]. (Отметим, что она идейно близка к более ранней модели ФитцХью-Нагумо [40, 41], которая содержит более высокую, кубическую, степень нелинейности.) В отличие от LIF-нейрона, модель Ижикевича дает реалистичную форму одиночного спайка, обеспечивает «автоматическое» возникновение порогового потенциала, а так же позволяет описать пачечную активность одного нейрона [31]. Уравнения оригинальной модели [39] имеют вид:

$$\begin{aligned} \frac{dv}{dt} &= (0.04v^2 + 5v + 140) - u + I, \\ \frac{du}{dt} &= a(bv - u), \end{aligned} \quad (3)$$

с дополнительным сбросом (во избежание расходимости) потенциала после спайка:

$$\text{если } v \geq v_{peak}, \text{ то } \begin{cases} v \leftarrow c \\ u \leftarrow u + d \end{cases}.$$

Здесь v – потенциал мембраны нейрона в мВ, t – время в мс, u – «переменная восстановления», отражающая активацию калиевых и деактивацию натриевых каналов мембраны и обеспечивающая отрицательную обратную связь по отношению к динамике потенциала v . Выражение $0.04v^2 + 5v + 140$ получено путем аппроксимации динамики возникновения спайка в кортикальном нейроне (крысы). Потенциал покоя в модели принимает значения в интервале от -70 до -60 мВ, в зависимости от параметра b , описывающего чувствительность переменной восстановления к подпороговым флуктуациям мембранного потенциала (типичное значение $b = 0.2$). Как и в модели Х-Х, модель Ижикевича не содержит пороговый потенциал испускания спайка в виде постоянного параметра, т. е. порог является свойством динамических уравнений: в зависимости от предыдущей динамики потенциала, порог варьируется в интервале от -55 мВ до -40 мВ. Параметр a описывает временной масштаб изменения u (типично, $a = 0.02$). Значение v_{peak} ограничивает амплитуду спайка ($v_{peak} = 30$ мВ в [39]). Параметры c и d задают, соответственно, значения v и u после испускания нейроном спайка; их типичные значения $c = -65$ мВ и $d = 2$. Наконец, переменная I (в пА [42]) описывает входящие синаптические и/или внешние токи.

Как уже отмечалось выше, важным компонентом любого исследования динамики модельных нейрональных культур является выбор модели синапса, определяющей представление входящего синаптического тока I_{syn} в уравнении динамики трансмембранного потенциала нейрона. Одна из наиболее часто используемых форм записи I_{syn} для случая нейронной сети, состоящей из N нейронов, имеет вид [33, 43]:

$$I_{syn}^{(j)} = \sum_{i=1}^N W_{ij} \delta(t - t_{sp}^{(i)} - t_{ij}), \quad (4)$$

где W_{ij} – синаптический вес (характеристика, количественно описывающая силу синаптической связи между i -м пресинаптическим нейроном и постсинаптическим нейроном, имеющим «сетевой» номер j), $\delta(\dots)$ – дельта-функция Дирака, $t_{sp}^{(i)}$ – момент

испускания спайка i -м нейроном, и t_{ij} - задержка, вызванная конечной скоростью распространения спайка от i -го нейрона к j -му. Отметим, что в такой форме записи синаптический вес W_{ij} имеет смысл эффективного электрического заряда, прошедшего через синапс в момент $t = t_{sp}^{(i)} + t_{ij}$.

Если значения синаптических весов W_{ij} нейронной сети зависят от спайковой динамики нейронов, т. е. являются функциями времени, то говорят о феномене синаптической пластичности, который на данный момент считается основой для таких процессов как память и обучение [43].

Известно, что при передаче сигнала между нейронами синапс расходует молекулы нейротрансмиттера (вещества, активирующего рецепторы на постсинаптической мембране). В период между передачей сигналов, количество нейротрансмиттера восстанавливается до некоторого стационарного значения. Однако, если сигналы проходят достаточно часто, то синапс не успевает восстановить ресурс нейротрансмиттера, необходимый для «полноценной» передачи очередного сигнала, что, естественно, приводит к ухудшению работы синапса (т. н. синаптической депрессии). Сравнительно простая модель, описывающая этот процесс, имеет вид [9]:

$$\frac{dW_{ij}}{dt} = -(W_{ij} - \bar{W}_{ij}) / \tau_{syn}, \quad (5)$$

если $t = t_{sp}^{(i)} + t_{ij}$, то $W_{ij} \leftarrow (1 - \beta)W_{ij}$,

где $0 < \beta < 1$ – коэффициент истощения, \bar{W}_{ij} - стационарное значение синаптического веса, τ_{syn} - время восстановления синапса.

В литературе синаптическую пластичность разделяют на кратковременную и долговременную. Под кратковременной синаптической пластичностью обычно понимают явления, вызванные влиянием переходных процессов, связанных с передачей одного сигнала через синапс, на способность синапса передавать заданную временную последовательность сигналов. Другими словами, в этих явлениях синапс выступает в роли частотного фильтра [44]. Синаптическую пластичность, зависящую от задержки между спайками пре- и пост-синаптического нейронов, и приводящую к долговременным изменениям связи между нейронами, называют долговременной.

Одной из популярных моделей кратковременной СП является модель Цодикса-Маркрама [32, 44], детально описывающая синаптическую депрессию и феноменологически учитывающая возрастание синаптической эффективности при регулярном, но нечастом (т. е., не приводящем к синаптической депрессии) «использовании» синапса. В частности, выражение для полного входящего синаптического тока для j -го нейрона в сети из N нейронов имеет вид [32]:

$$I_{syn}^{(j)}(t) = \sum_{i=1}^N A_{ij} y_{ij}(t), \quad (6)$$

где A_{ij} - максимальное значение парциального синаптического тока от i -го пресинаптического нейрона к j -му постсинаптическому нейрону, а безразмерный коэффициент $0 \leq y_{ij}(t) \leq 1$ определяет какая доля от A_{ij} дает вклад в реальный ток в данный момент времени. Функцию $y_{ij}(t)$ находят из следующей системы

дифференциальных уравнений [32] (индексы i и j опущены):

$$\begin{aligned}\frac{dx}{dt} &= \frac{z}{\tau_{rec}} - u \cdot x \cdot \delta(t - t_{sp}), \\ \frac{dy}{dt} &= -\frac{y}{\tau_1} + u \cdot x \cdot \delta(t - t_{sp}), \\ \frac{dz}{dt} &= \frac{y}{\tau_1} - \frac{z}{\tau_{rec}}, \\ \frac{du}{dt} &= -\frac{u}{\tau_{facil}} + U(1-u) \cdot \delta(t - t_{sp}).\end{aligned}\tag{7}$$

Здесь x , y и z – доли синаптических ресурсов в восстановленном (потенциальном), активном и неактивном состоянии, соответственно ($x + y + z \equiv 1$), u – та часть восстановленных ресурсов, которая переходит в активное состояние при приходе нового пресинаптического спайка, t_{sp} – момент испускания спайка пресинаптическим нейроном, τ_{rec} – время восстановления после синаптической депрессии ($x \ll 1$). Далее, τ_1 – характерное время затухания постсинаптического тока, U – коэффициент возрастания величины u с приходом каждого пресинаптического спайка, τ_{facil} – время релаксации величины u к исходному значению. Отметим, что типичное соотношение времен релаксации имеет вид $\tau_1 \ll \tau_{rec} < \tau_{facil}$, при этом $\tau_1 \sim 1-10$ мс.

При моделировании долговременной синаптической пластичности часто используется модель spike-timing dependent plasticity (STDP) [45, 46] и её модификации. Модель STDP описывает изменение синаптического веса в зависимости от задержки между моментами испусканий спайков пресинаптическим и постсинаптическим нейронами. В частности, если возникновение спайка на пресинаптическом нейроне предшествует генерации спайка на постсинаптическом нейроне, то синаптический вес увеличивается, иначе – уменьшается. Таким образом, модель STDP отражает принцип причинности: усиление синаптической связи происходит тогда, когда спайк на пресинаптическом нейроне может быть причиной возникновения спайка на постсинаптическом нейроне. Базовая формальная реализация STDP имеет вид [47]:

$$\Delta W = \begin{cases} A_+(W) \cdot \exp(-\Delta t / \tau_+), & \text{если } \Delta t \geq 0 \\ -A_-(W) \cdot \exp(\Delta t / \tau_-), & \text{если } \Delta t < 0 \end{cases},\tag{8}$$

где ΔW – изменение синаптического веса, $\Delta t = t_{sp}^{(pre)} - t_{sp}^{(post)}$ – интервал между появлением последующих спайков на пресинаптическом и постсинаптическом нейронах, τ_+ и τ_- – характерные времена, определяющие интервал времени, на котором возможно возникновение результирующих корреляционных эффектов, A_+ и A_- – некоторые коэффициенты, которые отражают максимально возможную степень изменения синаптического веса W и могут зависеть от его текущего значения. Для того, чтобы синаптические веса в процессе динамики нейронной сети не принимали аномальных значений, обычно вводят интервал $W_{min} < W < W_{max}$ их допустимых значений и, соответственно, определяют функции $A_+(W)$ и $A_-(W)$ следующим образом:

$$\begin{aligned}A_+(W) &= (W_{max} - W) \cdot A_+, \\ A_-(W) &= (W - W_{min}) \cdot A_-, \end{aligned}\tag{9}$$

где A_+ и A_- – положительные константы.

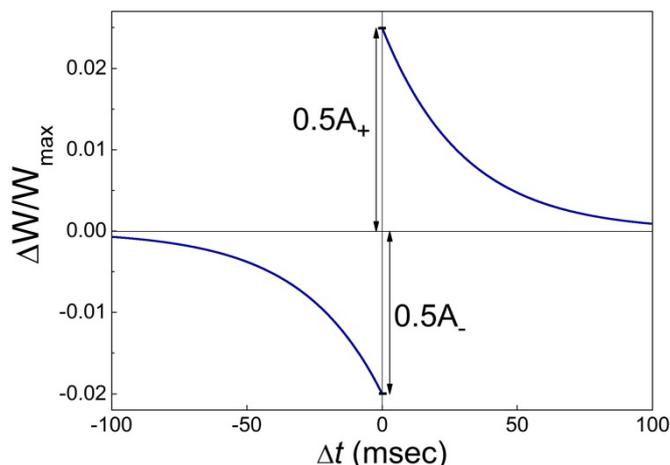


Рис. 2. Изменение синаптического веса в модели STDP (уравнения (8), (9)). Параметры: $W_{min} = 0$, $W_{max} = 1$, $W = (W_{min} + W_{max})/2$, $\tau_+ = 30$ мс, $\tau_- = 20$ мс, $A_+ = 0.05$, $A_- = 0.04$.

В заключение данного раздела кратко рассмотрим два основных метода задания топологии межнейронных связей, типично используемых при моделировании спайковой динамики нейрональных культур.

Практически всегда межнейронные связи задаются случайным образом. В самом простейшем случае, когда взаимное пространственное расположение нейронов предполагается несущественным при образовании межнейронных связей, любые два нейрона сети образуют одностороннюю синаптическую связь друг с другом с некоторой вероятностью p [11, 16, 32]. Другим популярным случаем, применяемым, когда расстояние между нейронами принимается во внимание, является следующий: сначала нейроны случайным образом распределяются по ограниченной плоскости, а затем задается гауссово распределение (обычно с ненулевым средним значением) вероятности образования межнейронной связи в зависимости от расстояния между двумя нейронами [15].

3. МОДЕЛИРОВАНИЕ ПОПУЛЯЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНАЛЬНЫХ КУЛЬТУР

Синхронизация пачечной активности отдельных нейронов, приводящая к популяционной пачечной активности нейрональной культуры, является объектом интенсивных теоретических исследований. В частности, предложены модели для описания (I) профиля популяционной «пачки» [11, 48] и (II) распределения интервалов времени между последующими пачками на уровне нейрона и на уровне нейрональной культуры [9, 11, 49].

В работе [11] модель LIF-нейрона (уравнение (1)) и модель синапса Ц-М (уравнения (6), (7)) [18] были дополнены однородным разбросом значений электрического сопротивления (R_m) мембраны нейрона, гауссовым (с ненулевым средним) внешним шумом на уровне внешнего тока (I_{ext}), а так же введением динамического порогового потенциала (V_{th}) испускания спайка,

$$\frac{dV_{th}^{(i)}}{dt} = -(V_{th}^{(i)} - \bar{V}_{th}^{(i)}) / \tau_{th} + \eta_i \delta(t - t_{sp}^{(i)}), \quad (10)$$

где коэффициенты η_i случайным образом (однородно) выбраны на отрезке $[-0.05, 0.05]$ относительно $\bar{V}_{th}^{(i)}$ - стационарного значения V_{th} для i -го нейрона сети, τ_{th} - время, принятое равным типичной длительности («ширине») популяционной пачки ($\tau_{th} = 100$

мс). (Остальные обозначения аналогичны используемым в предыдущем разделе.) Отметим, что подобный выбор η_i означает, что в модели есть два типа нейронов – у одних порог повышается в течение популяционной пачки, у других – понижается.

Модельная нейронная сеть содержала $N = 30$ нейронов: 27 возбуждающих (т. е. дающих положительный вклад в сумму в правой части уравнения (6), условно $A_{ij} > 0$) и 3 тормозящих ($A_{ij} < 0$). (При этом значения величин A_{ij} различались в зависимости от типов пре- и постсинаптического нейронов.) Межнейронные связи задавались случайным образом, с вероятностью $p = 0.25$ образования односторонней связи для любых двух нейронов сети.

В качестве плотности вероятности внешнего шума было выбрано нормальное распределение со средним значением, меньшим, чем стационарный порог генерации спайка (при этом дисперсия распределения была выбрана так, чтобы шум мог приводить к спайкам), поэтому средняя частота активации нейронов в интервалах между популяционными пачками была низкая. Данное обстоятельство позволяло синапсам полностью восстанавливаться, что повышало синхронность генерации нейронами спайков, т. е. сужало ширину популяционной пачки. С другой стороны, разброс значений R_m для каждого нейрона уменьшал корреляцию активности нейронов в процессе одного «пачечного» события. Совокупный эффект, с дополнительным учетом динамического порога (уравнение (10)), приводил к удовлетворительному сходству с экспериментальными данными (рис. 3 А-С).

В предварительной серии экспериментов авторы [11] обнаружили, что распределения разностей последующих интервалов между спайками отдельных нейронов (при генерации популяционной пачки) и разностей последующих интервалов между популяционными пачками хорошо описываются распределением Леви (Lévy), которое, в частности, имеет бесконечную дисперсию и степенной «хвост» функции распределения. Отметим, что использование упрощенной модели синапса (уравнение (5)) в предыдущих работах (например, в [9]), в отличие от результатов моделирования [11] (рис. 3 D, E), приводило к отсутствию степенного «хвоста» у функции распределения, т. е. к несоответствию с результатами экспериментов.

Спонтанная спайковая активность нейронов и, в частности, спонтанная «пачечная» активность целой нейрональной культуры, обычно моделируется с помощью шума входного «внешнего» тока (уравнения (1-3)). В работе [48] рассмотрен альтернативный подход для получения «пачечной» популяционной активности - наличие в нейронной сети небольшого количества пейсмекерных (англ. pacemaker) нейронов [50–52], способных спонтанно, с определенной частотой, генерировать спайки. Как и в предыдущей работе [11], авторы [48] отмечают, что индукция активности сети шумом приводит к нереалистичному профилю пачечной популяционной активности, при этом внедрение нейронов-пейсмекеров приводит к существенно более реалистичному профилю.

В частности, модельная нейронная сеть в [48] состояла из $N = 5000$ нейронов, случайным образом соединенных друг с другом. Выбранная топология сети отнесена авторами к типу scale-free network (сеть без характерного масштаба), что означает, что доля $P(k)$ узлов сети, имеющих k связей с другими узлами, при больших значениях k задается выражением $P(k) \sim ck^{-\gamma}$, где c – нормировочная константа, а параметр $\gamma > 0$ обычно лежит в интервале $2 < \gamma < 3$. Топология сети определялась двумя параметрами: 1) максимальным числом K_{max} синапсов приходящихся на один нейрон и 2) Максимальной задержкой D_{max} за счет распространения спайка по аксону нейрона.

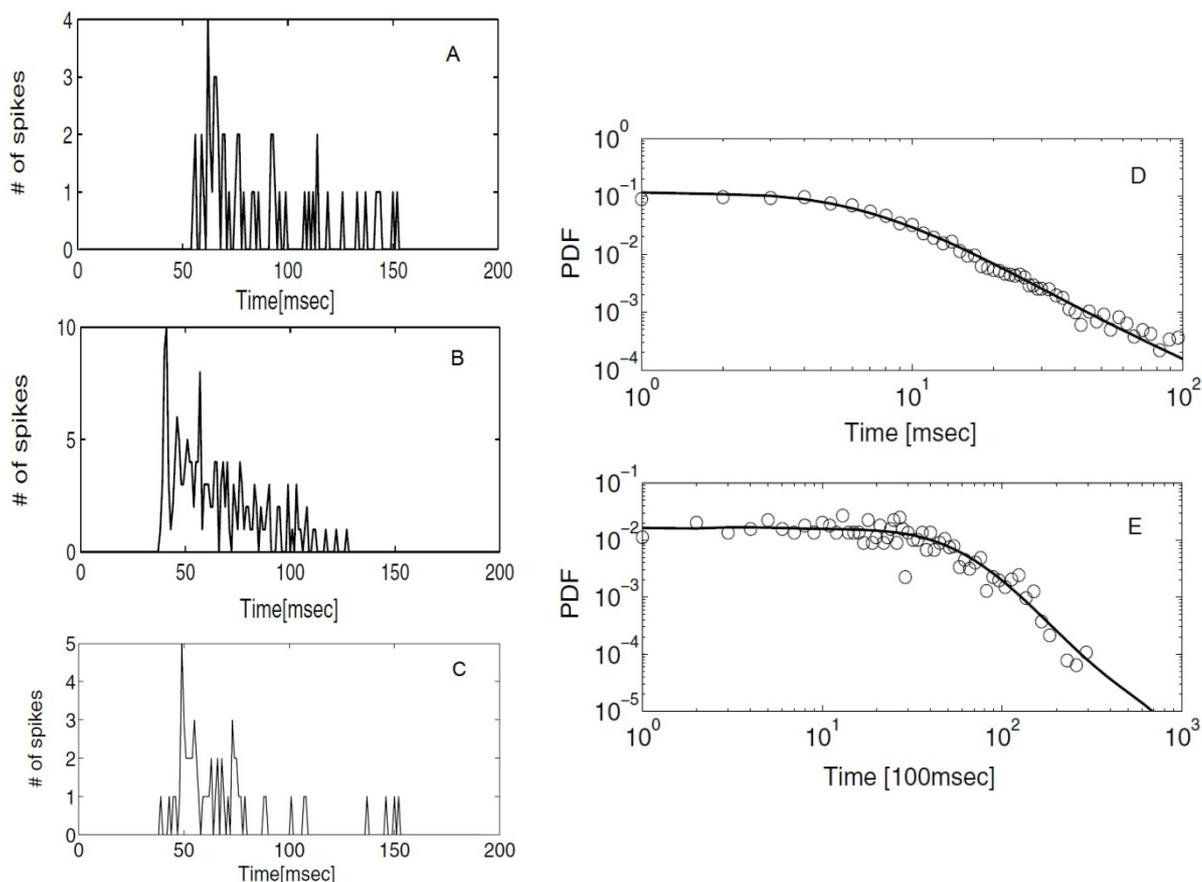


Рис. 3. (Слева) Распределение полного числа спайков внутри популяционной пачки: (А) экспериментальные данные; (В) результаты моделирования с учетом внешнего шума, но без учета разброса по R_m и динамического порога $V_{th}(t)$; (С) то же, но с учетом и разброса по R_m и динамического порога. (Справа) Плотность функции распределения вероятности (англ. probability density function - PDF) для (D) разностей последующих интервалов между спайками отдельных нейронов (при генерации популяционной пачки) и (E) разностей последующих интервалов между популяционными пачками. Окружности – данные моделирования, непрерывные линии – распределения Леви. Все рисунки взяты из [11].

Число синапсов у данного нейрона и задержка для каждой межнейронной связи выбирались случайным образом из интервалов $(0, K_{max})$ и $(1, D_{max})$ мс, соответственно. Полное число нейронов состояло из доли R возбуждающих нейронов и $(1-R)$ тормозящих нейронов (тип нейрона, «возбуждающий»/«тормозящий», определялся знаком «+»/«-» перед синаптическим весом, соответственно). В качестве динамической модели отдельного нейрона использовалась модель Ижикевича [39].

Целью статьи было исследовать форму популяционных пачек (рис. 4) в зависимости от параметров K_{max} , D_{max} и R для трех случаев.

(I) Стационарная (в среднем) спайковая активность нейронной сети возникает за счет шума на уровне постсинаптических потенциалов для каждого нейрона. Шум моделируется последовательностью прямоугольных импульсов длительностью 1 мс и с амплитудами, нормально распределенными в интервале 0 – 8 мВ. Промежутки между импульсами задавались пуассоновским распределением, со средним значением J частоты следования импульсов, которое варьировалось от 0 до 1 кГц. Синаптические веса были выбраны статическими, но при этом синаптические токи (см. уравнение (4)) во всех трех случаях имели дополнительную релаксационную динамику – в отсутствие приходящих спайков значение синаптического тока экспоненциально (а не мгновенно) спадало до нуля.

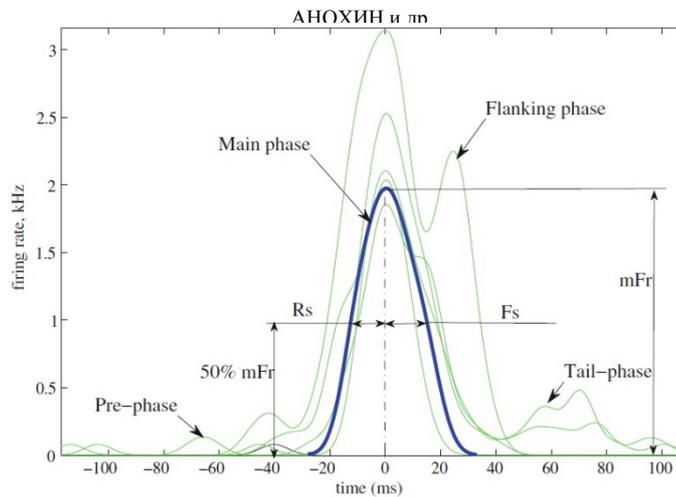


Рис. 4. Тонкие линии зеленого цвета - огибающие («формы») типичных популяционных пачек, наблюдаемых в экспериментах [48], выравненные по своим пиковым значениям. Основную фазу (main phase) отдельной пачки, выделенной толстой синей линией, характеризуют тремя параметрами: максимальной амплитудой пика (mFr), шириной возрастающей части на полувысоте (Rs) и шириной убывающей части на полувысоте (Fs). Рисунок взят из [48].

(II) Во втором случае стационарная спайковая активность сети задавалась нейронами-пейсмекерами, которые в отсутствие входящих сигналов от других нейронов генерировали спайки с частотами в диапазоне от 0 до 0.26 Гц, при этом шум отсутствовал ($J = 0$) для всех нейронов. Сначала доля пейсмекерных нейронов варьировалась от 12% до 16% (от общего числа нейронов в сети), а их исходящие синаптические веса выбирались из диапазона [0, 1] мВ одинакового для всех нейронов. Затем доля пейсмекеров была задана 4%, с исходящими синаптическими весами из диапазона [0, 3] мВ, т. е. имеющими в среднем втрое большее значение, чем веса синапсов, связывающие два обычных нейрона. Как и в первом случае, все синаптические веса были статическими.

(III) Третий случай отличается от второго лишь тем, что теперь были рассмотрены динамические синаптические веса в дискретной реализации модели Цодикса-Марккрама (уравнения (6), (7)) и интервал значений «исходящих» синаптических весов нейрон-пейсмекеров дополнительно увеличен в четыре раза, до [0, 12] мВ.

Для каждого из описанных выше случаев параметры K_{max} , D_{max} и R варьировались следующим образом: K_{max} – в интервале от 100 до 1100 с шагом 100, D_{max} – от 5 до 25 мс (при шаге симуляций $dt = 1$ мс), R – 70, 80 и 90%.

Экспериментальные результаты, с которыми сравнивались результаты моделирования, были записаны с МЭА, содержащей 60 электродов. Поэтому в симуляциях было выбрано такое же количество нейронов для регистрации популяционной спайковой активности. В частности, каждую минуту симуляций случайным образом выбирались 60 нейронов и, когда каждый из выбранных нейронов испускал в среднем по 2 спайка в интервале 10 мс, регистрировалась популяционная пачка. Отметим, что профиль пачек дополнительно сглаживался с помощью гауссовского фильтра (шириной 5 мс).

Результаты численных экспериментов с моделью представлены на рис. 5 (для случая (I)) и рис. 6 (для случаев (II) и (III)). Из левой части рис. 5 видно, что средняя частота генерации спайков и, соответственно, возникновение популяционных пачек, пороговым образом зависят от средней частоты шума. При этом форма пачки в симуляциях существенно отличается от экспериментальных наблюдений (вставка на рис. 5 справа). Если в сети присутствуют нейроны-пейсмекеры, то передний фронт пачки становится более реалистичным, однако задний фронт по-прежнему не соответствует результатам экспериментов: модельная популяционная пачка получается симметричной, в то время как в экспериментах задний фронт пачки имеет небольшое

«плато». Авторы предполагают, что это расхождение может быть вызвано двумя причинами: 1) стохастичностью и независимостью задания межнейронных связей и аксональных задержек в модельной нейронной сети, т. е. отсутствием в модели информации о топологии реальной биологической нейросети; 2) слишком малым числом нейронов в модельной сети.

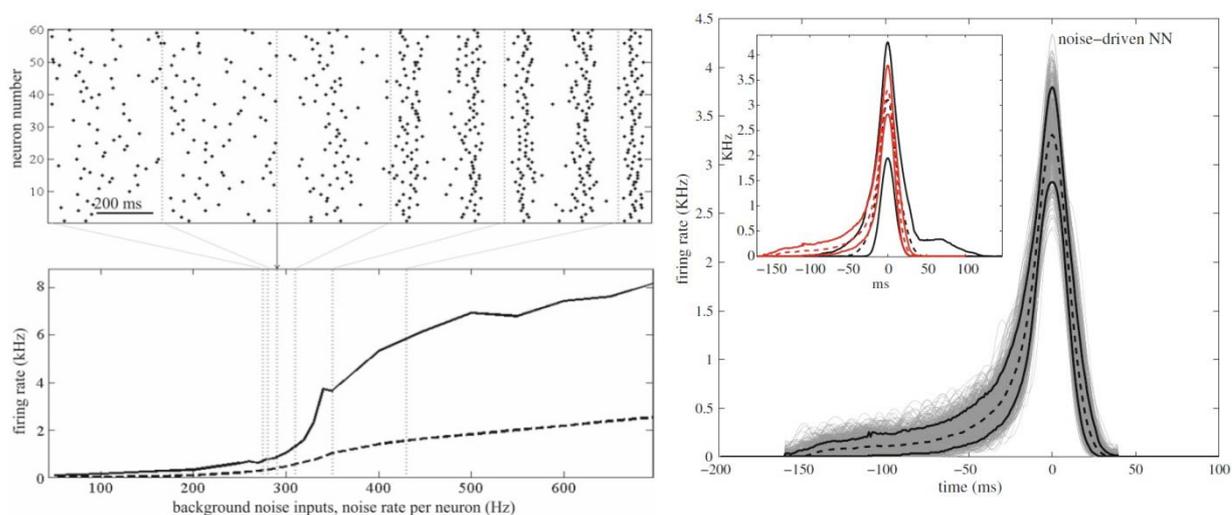


Рис. 5. Слева: (Вверху) Комбинированный растр популяционной спайковой активности, полученный при моделировании динамики нейронной сети с пуассоновским «внутренним» шумом (см. случай (I) в тексте) при плавном увеличении средней частоты J шума. Фрагменты растра (длительностью 400 мс каждый), соответствующие постоянному значению J , отделены друг от друга вертикальными пунктирными линиями. (Внизу) Сплошная кривая - средняя (в интервале 100 мс при постоянном значении J) частота испускания спайков как функция средней частоты шума, пунктирная кривая - стандартное отклонение. Линии между верхним и нижним графиками показывают значения J , используемые при записи соответствующих фрагментов растра популяционной активности. Справа: Типичный профиль популяционной пачки в случае (I) при $K_{max} = 1000$, $D_{max} = 15$ мс, и $R = 70\%$. Черная пунктирная линия - статистическая медиана, черные сплошные линии - перцентили. Вставка: Модельные (красные линии) и экспериментальные (черные линии) перцентили и медианы для типичной формы пачки. Все рисунки взяты из [48].

Оригинальный подход к задаче о влиянии топологии нейрональной культуры на ее спайковую активность рассмотрен в статье [49]. В отличие от других работ, в большинстве которых рассматриваются «точечные» модели нейрона (т. е. модели, не учитывающие его пространственной структуры), авторы сфокусировались на эффекте образования межнейронных связей за счет ветвящихся дендритов нейрона. Оказалось, что увеличение числа дендритных ветвей нейрона, типичное при формировании биологической нейронной сети, приводит к существенному изменению спайковой динамики, как на уровне отдельных клеток, так и для всей сети.

В частности, авторами работы с помощью покрытия поли-L-лизинем только электродов МЕА, удалось вырастить нейрональную культуру, состоящую из периодического массива кластеров нейронов (рис. 7 слева). Каждый кластер содержал, в среднем, по 60 нейронов. При этом плотность связей между нейронами внутри кластера значительно (не менее, чем на один порядок величины) превосходила, плотность связей между кластерами (которых так же было 60, в соответствии с числом электродов МЕА). В таких условиях взаимодействие между нейронами внутри кластера, очевидно, происходит гораздо чаще (из-за большой плотности межнейронных связей) и быстрее (малая длина связей), чем между нейронами, принадлежащими двум разным кластерам. Отметим, что топология связей между кластерами в неявном виде (т. е. без вычисления статистических характеристик) была отнесена к типу small-world network, когда в сети существует некоторая доля связей, непосредственно

соединяющих узлы, находящиеся далеко друг от друга.

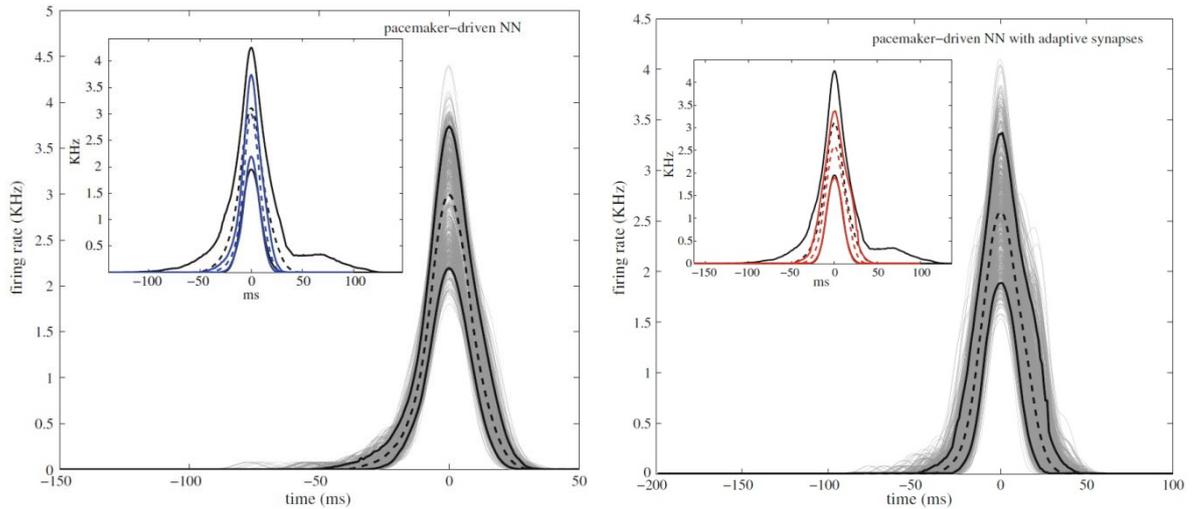


Рис. 6. Типичные профили популяционных пачек при наличии нейронов-пейсмекеров (по аналогии с рис. 5 (справа)). Слева: Случай (II) статических синаптических весов; $K_{max} = 1100$, $D_{max} = 15$ мс, $R = 70\%$ и 14% пейсмекерных нейронов. На вставке слева: Модельные (синие линии) и экспериментальные (черные линии) перцентили и медианы. Справа: Случай (III) динамических синаптических весов; $K_{max} = 1000$, $D_{max} = 15$ мс, $R = 80\%$ и 4% пейсмекерных нейронов с увеличенными «исходящими» синаптическими весами (см. основной текст). На вставке справа: Модельные (красные линии) и экспериментальные (черные линии) перцентили и медианы профиля популяционной пачки. Все рисунки взяты из [48].

Для описания обобщенной спайковой динамики на уровне отдельного кластера авторы ввели концепцию мета-нейрона, т. е. ансамбля из небольшого числа реальных нейронов, выполняющих одну макроскопическую функцию. Фактически, модель мета-нейрона была реализована в программном пакете NEURON [53] в виде многокомпонентного нейрона (состоящего из компонент - сомы, аксона и дендритов) имеющего конечные пространственные размеры (например, размер сомы был выбран сопоставимым с размером электрода MEA).

Распространение электрических импульсов по мембране сомы и аксона описывалось в рамках модели Ходжкина-Хаксли [37], а по дендритам, неветвящиеся участки которых аппроксимировались цилиндрами, – в рамках теории пассивного (т. е. в случае, когда электрическое сопротивление мембраны дендрита не зависит разности потенциалов между основаниями цилиндра) электрического кабеля [54].

Динамика синапса описывалась одной переменной – отношением числа рецепторов, связанных с молекулами нейротрансмиттера, к полному числу рецепторов на постсинаптической мембране [54]. Доля связанных рецепторов, как функция времени, определялась из дифференциального уравнения первого порядка, аналогичного уравнениям (2) для воротных переменных в модели Ходжкина-Хаксли.

Модельная нейронная сеть состояла из 60 мета-нейронов, регулярно расположенных на плоскости (рис. 7 справа), 60-75% из которых были возбуждающими, а остальные – тормозящими. Топология сети задавалась двумя различными способами. (I) Межнейронные связи формировались по правилу «один - со многими», когда каждый мета-нейрон мог образовывать несколько (не более 30) случайных связей (как возбуждающих, так и тормозящих) с соседними мета-нейронами, а так же небольшое количество связей с любыми другими мета-нейронами вне зависимости от расстояния до них. Таким образом, чем ближе друг от друга находились два мета-нейрона, тем большее число связей было между ними. (II) Для оценки влияния топологии сети на её динамические свойства, предыдущее правило

образования межнейронных связей было заменено «один – с соседями», когда каждый мета-нейрон связан только с ближайшими соседями, т. е. имеет 8 исходящих связей.

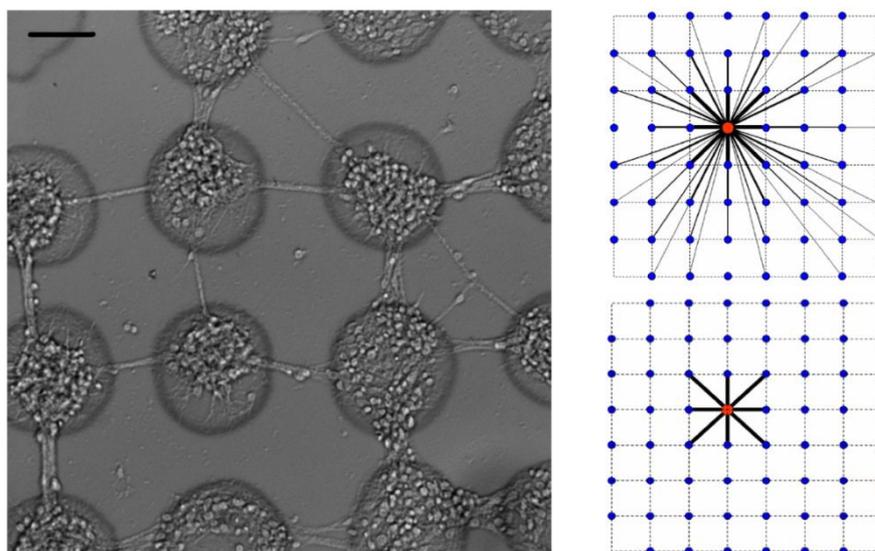


Рис. 7. Слева: Фотография периодически-кластеризованной нейрональной культуры (кортикальные нейроны крысы, менее 3 недель *in vitro*) на поверхности МЭА. Кластеры нейронов расположены на электродах МЭА. Линейка 100 мкм. Справа: (Вверху) Правило связи «один - со многими» (англ. one-to-many, OTM). Красная точка изображает выделенный мета-нейрон, соединенный со многими другими мета-нейронами, обозначенными синими точками. Различная толщина связей между точками отражает полное число связей между двумя нейронами: чем толще линия, тем больше связей. (Внизу) Правило связи «один - с соседями» (англ. one-to-neighbors, OTN). Все рисунки взяты из [49].

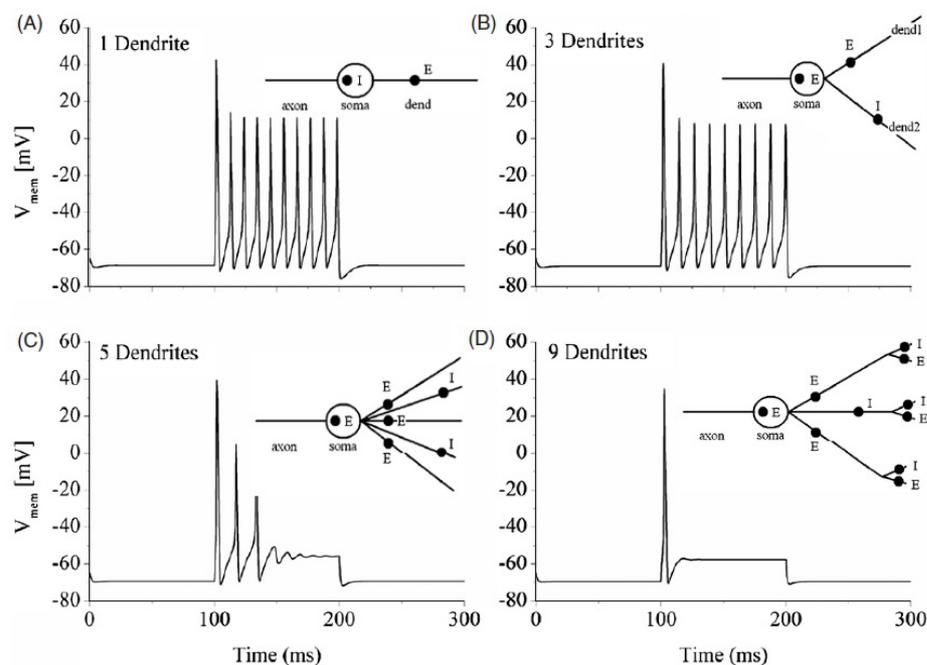


Рис. 8. Спайковая активность одного изолированного мета-нейрона, в ответ на одну и ту же внешнюю стимуляцию (импульс тока длительностью 100 мс), в зависимости от числа дендритов нейрона (вставки в верхнем правом углу каждого графика): (A) одна дендритная ветвь, (B) две, (C) пять, (D) девять. Каждый неветвящийся участок дендрита содержал один «входящий» синапс (E – возбуждающий, I – тормозящий). Внешняя стимуляция подавалась на все входящие синапсы одновременно. Все рисунки взяты из [49].

В зависимости от числа дендритов, а так же от количества возбуждающих/тормозящих синапсов приходящихся на каждый дендрит, мета-нейрон, в ответ на стимуляцию прямоугольным импульсом тока длительностью 100 мс, демонстрировал различные виды ответной спайковой активности (рис. 8), поэтому были рассмотрены 4 сети, состоящие из мета-нейронов, имеющих одинаковое число дендритов (рис. 9). Для моделирования незатухающей спайковой активности нейронной сети, в каждую компоненту мета-нейрона на уровне ионных каналов, задающих ток утечки в модели Ходжкина-Хаксли, был добавлен гауссовский источник шума. Регистрация спайковой активности проводилась с одного, случайно выбранного в сети, мета-нейрона (рис. 9). Пачечная активность наблюдалась как на уровне отдельных мета-нейронов, так и на уровне целой сети. Оказалось, что спайковая активность мета-нейронов и сети существенно зависит от сложности дендритного дерева мета-нейрона. В частности, когда каждый мета-нейрон имел лишь один дендрит, наблюдалась слабая активность, в виде редких аperiodичных спайков (рис. 9 А). В случае трёх дендритов на мета-нейрон, при тех же параметрах источника шума возникала частая периодическая активность (рис. 9 В). При дальнейшем увеличении числа дендритов мета-нейрона активность становилась пачечной (рис. 9 С и D). Такая зависимость согласуется с экспериментальными данными об изменении характерной спонтанной спайковой активности нейрональной культуры в зависимости от её возраста (рис. 10).

В качестве дополнительной проверки авторы промоделировали динамику сети, образованной из 60 «точечных» нейронов (соотношение возбуждающих и тормозящих нейронов не изменялось), описываемых моделью Ижикевича, с топологией межнейронных связей, по-прежнему определяемой правилом «один - со многими». Оказалось, что в широком диапазоне параметров спайковая активность сети не демонстрирует пачки, а лишь изменяется, при увеличении амплитуды шума, от редкой аperiodической к частой периодической (тонической) активности, в которой участвуют сразу все нейроны сети. Отсутствие пачек было связано со слишком малым количеством моделируемых «точечных» нейронов.

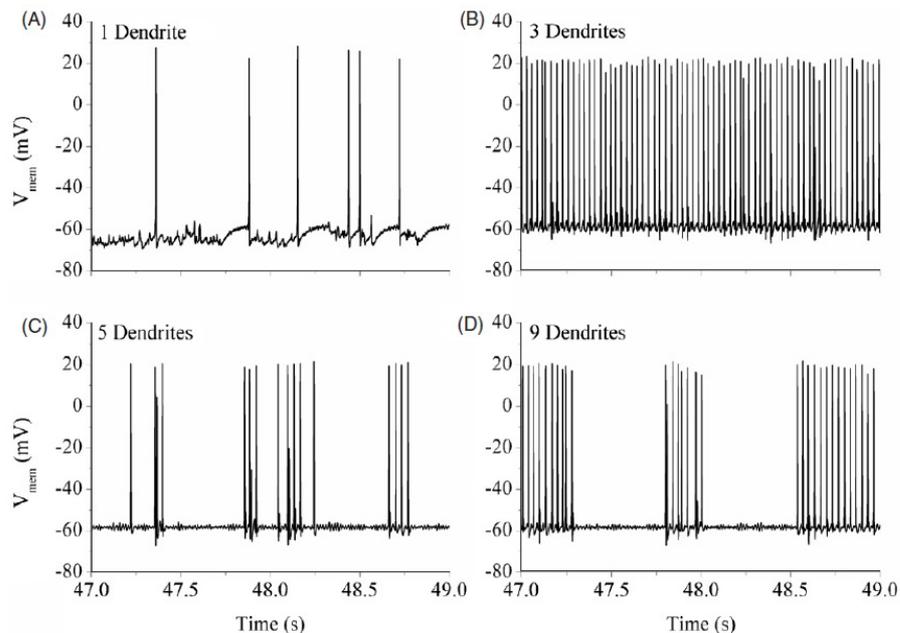


Рис. 9. Спайковая активность одного из мета-нейронов в модельной сети, созданной по правилу «один - со многими», в зависимости от сложности дендритного дерева: (А) одна дендритная ветвь, (В) две, (С) пять, (D) девять. Все рисунки взяты из [49].

Спайковая динамика сетей, в которых топология связей между мета-нейронами была задана правилом «один – с соседями», качественно отличалась и от результатов моделирования с правилом связности «один - со многими» (рис. 11) и от экспериментальных результатов. Такое расхождение подтверждает функциональную важность наличия связей между мета-нейронами (или нейронными кластерами), находящимися на относительно большом расстоянии друг от друга.

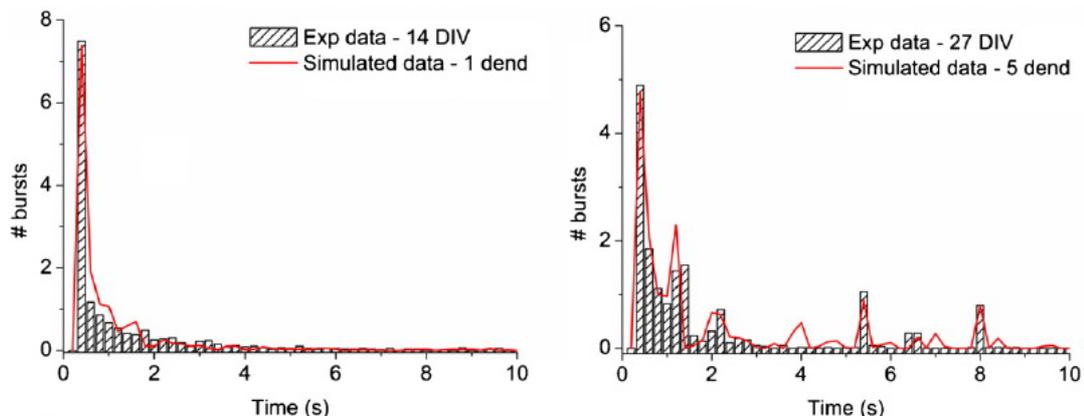


Рис. 10. Распределение интервалов между популяционными пачками. Красные сплошные линии – результаты моделирования для сети, созданной по правилу «один - со многими», гистограммы – экспериментальные данные. Слева: для модельной сети из мета-нейронов с одним дендритом и реальной нейрональной культуры возрастом 14 дней (англ. days in vitro, DIV). Справа: для модельной сети из мета-нейронов с пятью дендритами и нейрональной культуры возрастом 27 дней. Все рисунки взяты из [49].

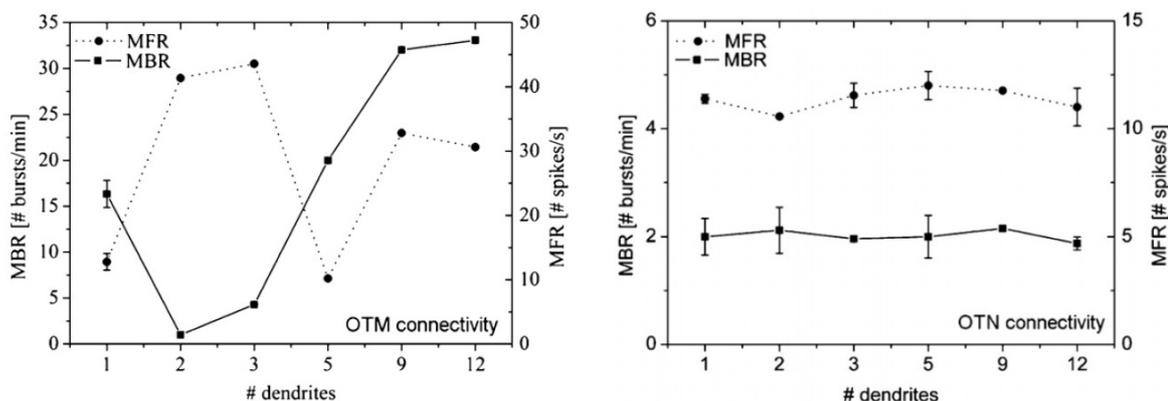


Рис. 11. Зависимость средней частоты генерации спайков (англ. mean firing rate, MFR) и средней частоты генерации популяционных пачек (англ. mean bursting rate, MBR) от количества дендритов мета-нейрона для сетей, созданных по правилу «один - со многими» (слева) и по правилу «один - с соседями» (справа). Все рисунки взяты из [49].

Для исследования продолжительных динамических изменений, происходящих в нейрональной культуре при воздействии на нее внешними стимулами, необходимо включить в её модель механизм долговременной пластичности синаптических связей. В работе [55] рассмотрено влияние случайной фоновой стимуляции на спайковую динамику нейрональной культуры и индуцированную тетанусом (высокочастотной стимуляцией) синаптическую пластичность. В качестве модели культуры использовалась сеть из 1000 LIF-нейронов, случайным образом расположенных на квадратной площадке $3 \times 3 \text{ мм}^2$ (рис. 12, слева) и соединенных друг с другом примерно 50 000 синаптических связей (полное число исходящих синаптических связей у одного нейрона имело гауссово распределение, со средним значением 50 и

среднеквадратичным отклонением 33), при этом топология сети относилась к типу small-world network (рис. 13 слева). Задержки, учитывающие распространение спайков по аксонам, были пропорциональны расстояниям между нейронами. Зависимость синаптической эффективности (т. е. вероятности высвобождения молекул нейротрансмиттера) от частоты приходящих спайков определялась дискретной реализацией модели Цодикса-Марккрама [32], описывающей только синаптическую депрессию. Семьдесят процентов нейронов имели возбуждающие синапсы, долговременная модуляция весов которых (т. е. динамика коэффициентов A_{ij} в уравнении (6)) определялась моделью STDP (уравнения (8), (9)). У остальных 30% нейронов все синапсы были тормозящими и не обладали долговременной пластичностью. Для моделирования спонтанной незатухающей спайковой активности сети, каждый нейрон независимо испытывал гауссовский шум на уровне флуктуаций трансмембранного потенциала. При этом у 30% нейронов дисперсия шума была достаточной, чтобы генерировать спайки, у остальных нейронов шум приводил лишь к подпороговым флуктуациям.

Для взаимодействия нейронной сети с МЕА, на площадку с нейронами была спроецирована периодическая сетка из 64 электродов (рис. 12, справа). Каждый электрод имел конечную площадь и мог использоваться для стимуляции, в среднем, 76 близлежащих нейронов.

Все возбуждающие синапсы изначально имели одинаковое значение 0.05 (в безразмерных единицах) и могли варьироваться в диапазоне от нуля до 0.1 за счет эффекта STDP. При максимальном значении синаптического веса, любой входящий спайк с 50% вероятностью вызывал генерацию спайка на постсинаптическом нейроне, в том числе, за счет взаимодействия от входящего спайка с внутренним шумом постсинаптического нейрона (рис. 13, справа вверху). Тормозящие синаптические веса имели, в среднем по времени, фиксированное значение -0.05 .

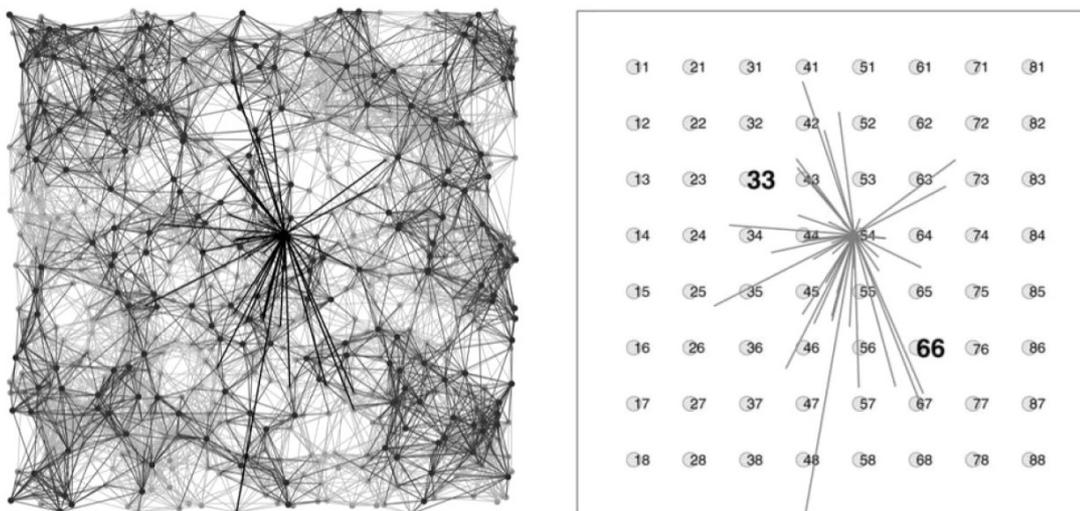


Рис. 12. Слева: Пространственная структура модельной нейронной сети. Показаны все нейроны (точки) и 15% синаптических связей (соединительные линии между точками; светло-серые – оканчивающиеся возбуждающими синапсами, темно-серые – тормозящими). Справа: Расположение 64 модельных электродов МЕА, изображенных серыми окружностями (цифры у окружности – номера строки и столбца матрицы). Электроды 33 и 66 использовались для высокочастотной стимуляции (т. н. тетануса). Связи нейрона, выделенного жирной точкой на рисунке слева, изображены исходящими светло-серыми линиями. Рисунки взяты из [55].

В течение 2 часов моделируемого времени релаксационная синаптическая динамика нейронной сети, за счёт эффекта STDP, приходила к устойчивому стационарному состоянию: большинство синаптических весов ($93 \pm 2\%$) в пяти независимых

симуляциях имели значения меньше, чем 0.01, либо большие, чем 0.09. Такое – бимодальное - устойчивое распределение весов (рис. 13, справа внизу) согласуется с результатами других авторов [47] и было использовано в качестве начального состояния в последующих численных экспериментах по влиянию внешней стимуляции нейронов на коллективную синаптическую динамику нейронной сети. В частности, использовалась внешняя (т. е. через электроды МЕА) стимуляция двух типов: «тетанус» (англ. tetanization – высокочастотная стимуляция) и «фоновые» стимулы. Тетанус определялся как одновременная стимуляция нейронной сети через два электрода МЕА (под номерами 33 и 66, см. рис. 12 справа) с частотой 20 Гц в течение 10 сек. либо 5 мин., в зависимости от серии экспериментов. Стимуляция приводила к вынужденной генерации спайков всеми нейронами, находящимися в непосредственной близости от этих двух электродов. Тетанус использовался, чтобы индуцировать изменение паттерна синаптических весов нейронной сети. Фоновые стимулы могли подаваться на все 64 электрода, при этом интервалы между стимулами для данного электрода были случайными величинами и определялись пуассоновским процессом со средней частотой 1/64 Гц. Таким образом, сеть получала, в среднем, один фоновый стимул в секунду со всего массива электродов.

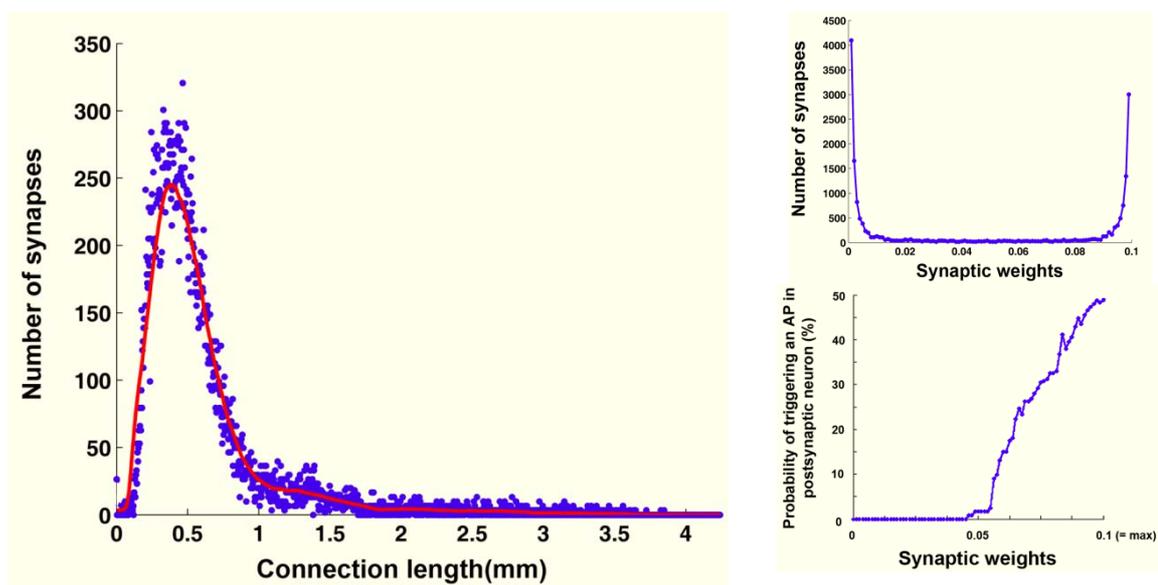


Рис. 13. Слева: Распределение длин связей между нейронами, полученное в результате моделирования. Распределение задержек, возникающих из-за конечной длины межнейронной связи и скорости распространения спайка (которая предполагалась постоянной и одинаковой для всех нейронов, с численным значением 0.3 м/с), имеет аналогичный вид. Справа: (Вверху) Зависимость вероятности генерации спайка постсинаптическим нейроном от величины «входящего» синаптического веса. (Внизу) Распределение значений синаптических весов модельной нейронной сети в состоянии устойчивого равновесия, возникающего в результате 2 часов спонтанной спайковой динамики. Все рисунки взяты из [55].

Чтобы исследовать влияние тетануса и фоновой стимуляции на коллективную динамику синаптических весов, были проведены следующие четыре эксперимента для каждой из пяти реализаций нейронной сети:

1) «Короткий» - спонтанная активность записывалась в течение 10 минут (т. н., прететанический интервал, англ. pretetanization period), после чего применялся тетанус на протяжении 10 секунд. После его окончания спонтанная активность сети записывалась в течение 50 минут (т. н., посттетанический интервал, англ. posttetanization period) .

2) «Длинный» - то же, что и «Короткий», но тетанус применялся в течение 5 минут.

3) «Короткий + фоновая стимуляция» – то же, что и «Короткий», но при этом фоновая стимуляция продолжалась в течение всего эксперимента.

4) «Длинный + фоновая активация» – то же, что и «Длинный», но при этом фоновая активация на протяжении всего эксперимента.

Для визуализации паттернов спайковой активности и синаптической пластичности в модельной сети, были использованы две векторные характеристики - Центр Активности (ЦА) и Центр Весов (ЦВ), по аналогии с центром масс.

ЦА учитывает величину совокупной спайковой активности сети, а так же «неоднородность» её пространственного распределения. ЦА определяется как:

$$CA(t) = \frac{\sum_{i=1}^{1000} A(i) [X(i), Y(i)]}{\sum_{i=1}^{1000} A(i)} = [X_{CA}, Y_{CA}], \quad (11)$$

где $A(i)$ - количество спайков, генерируемое i -м нейроном в интервале времени $[t, t+TW]$ (TW - заданное временное окно), $X(i)$ и $Y(i)$ - горизонтальное и вертикальное расстояние от i -го нейрона до центра квадратной площадки, по которой распределены нейроны, X_{CA} , Y_{CA} – координаты вектора ЦА. Траектория ЦА в интервале времени от t_0 до t_1 с шагом $\Delta t = TW/5$ ($< TW$ для получения достаточно гладкой траектории) определялась следующим образом:

$$trajectory(t_0, t_1) = [CA(t_0), CA(t_0 + \Delta t), CA(t_0 + 2\Delta t), \dots, CA(t_1)]. \quad (12)$$

Определение вектора ЦВ можно представить формально аналогичным образом:

$$CW(t) = \frac{\sum_{i=1}^N W(i) [X(i), Y(i)]}{\sum_{i=1}^N W(i)}, \quad (13)$$

где N - полное число возбуждающих синапсов, $W(i)$ - вес i -го возбуждающего синапса в момент времени t , $X(i)$ и $Y(i)$ - горизонтальное и вертикальное расстояние от постсинаптического нейрона i -го синапса до центра квадратной площадки, на которой расположены нейроны. Траектория ЦВ задается по аналогии с уравнением (12):

$$trajectory(t_0, t_1) = [CW(t_0), CW(t_0 + \Delta t), CW(t_0 + 2\Delta t), \dots, CW(t_1)]. \quad (14)$$

Результаты моделирования представлены на рис. 14. Стимуляция тетанусом приводит к смещению ЦВ. При этом в отсутствии фоновой стимуляции («короткий» эксперимент) наблюдается обратимое смещение ЦВ в процессе стимуляции (рис. 14 А), когда после стимуляции ЦВ возвращается в исходное стабильное состояние. В случае «длинного» эксперимента, когда стимуляция тетанусом длится относительно долго, после выключения стимуляции наблюдается длительный дрейф ЦВ в отличное от первоначального стабильное состояние (рис. 14 В). В обоих численных экспериментах с постоянной фоновой активностью ЦВ стабилизируется после окончания тетануса: отсутствует как возвращение к предыдущему стабильному состоянию (рис. 14 С), так и дрейф ЦВ, с образованием другого стабильного состояния (рис. 14 D). Таким образом, авторами показано, что фоновая стимуляция стабилизирует ЦВ и позволяет контролировать изменение синаптических весов с помощью длительности воздействия тетануса. Подобный феномен объясняется тем, что фоновая стимуляция подавляет продолжающуюся после окончания тетануса инерционную спайковую активность сети, которая индуцирует изменение синаптических весов. Получается, что спонтанная

спайковая активность нейронной сети косвенно влияет на веса синапсов до тех пор, пока не будет достигнут стационарный паттерн активности и аттрактор в пространстве ЦВ. Отметим, что изучение динамики синаптической пластичности в реальной нейрональной культуре затруднено по многим причинам, поэтому моделирование подобных процессов на данный момент является практически единственным инструментом для их изучения.

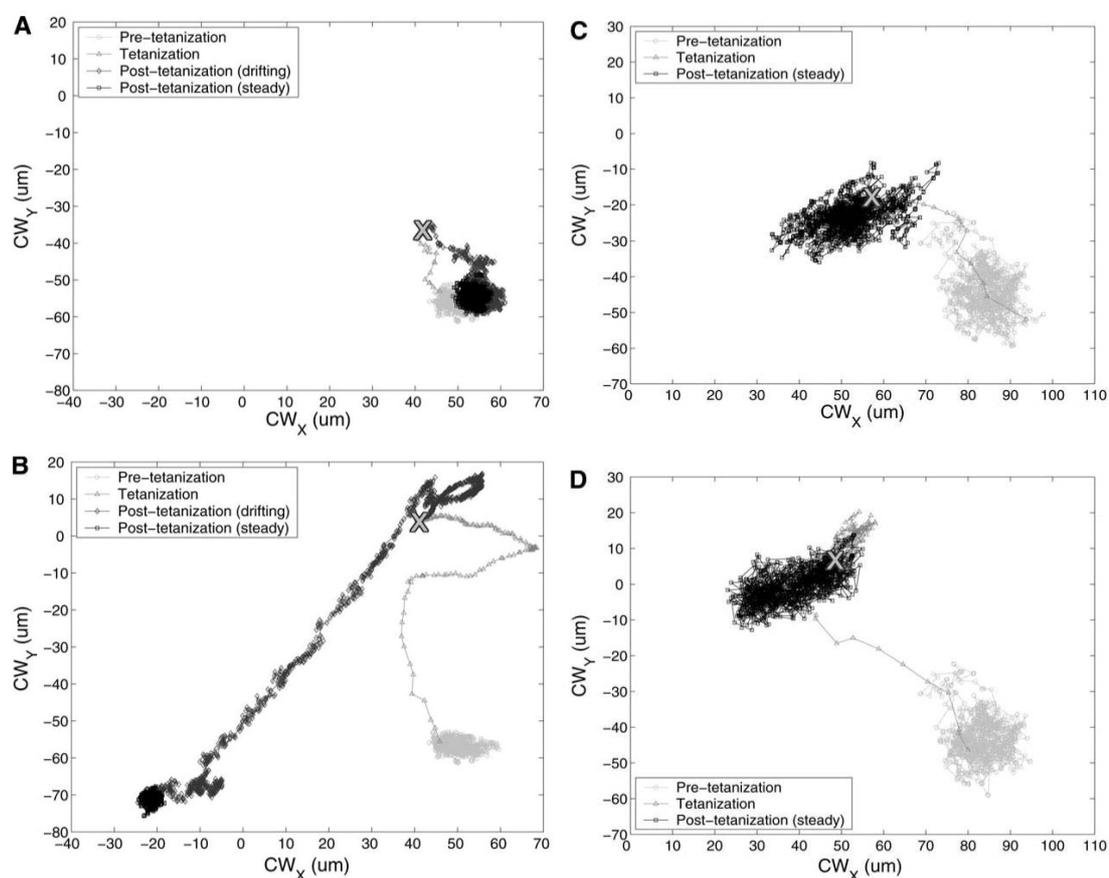


Рис. 14. Сравнение траекторий вектора ЦВ для четырех видов эксперимента: **А)** «Короткий», **В)** «Длинный», **С)** «Короткий + фоновая стимуляция», **Д)** «Длинный + фоновая стимуляция». Точка, соответствующая моменту выключения тетануса, отмечена символом «X». Случайная фоновая стимуляция стабилизирует значения синаптических весов сети после стимуляции тетанусом, уменьшая эффект возврата (ср. **А)** и **С)**) и дрейфа (ср. **В)** и **Д)**) траекторий ЦВ после 10 сек. и 5 мин. стимуляции тетанусом, соответственно. Рисунки взяты из [55].

В качестве продолжения предыдущего исследования, авторы использовали обнаруженный эффект стабилизации ЦВ для создания модельной адаптивной системы на основе моделей нейрональной культуры и мобильного робота (анимата) [15]. В данной работе в качестве модели робота, управляемого нейрональной культурой, использовался замкнутый цикл стимуляции культуры и регистрации управляющего воздействия. Подобный подход является перспективным с точки зрения изучения механизмов обработки информации в нейрональных культурах и соотнесения этих данных с экспериментальными исследованиями в области поведенческой нейробиологии. При постановке «задачи» перед культурой мы придаем регистрируемой активности культуры некоторый смысл и можем исследовать феномены активности и пластичности, интерпретируя их в терминах поведения и научения.

Поведенческая задача, которая ставилась перед роботом, состояла в необходимости сохранять пространственное положение в центре определенного круга. При этом круг

был поделен на четыре равных сектора и через некоторые промежутки времени культуре подавался специально сформированный сигнал стимуляции – контекстно-зависимая последовательность импульсов (CPS), уникальная и постоянная (в рамках одного эксперимента) для каждого из четырех секторов, что потенциально могло позволить культуре распознавать текущее положение. В рамках данной методики управляющее воздействие, определяющее вектор направления движения робота в среде, декодировалось с помощью вычисления Центра Активности нейрональной культуры в ответ на текущую CPS. Если поведение агента в конкретный момент времени являлось удовлетворительным (осуществлялось смещение по направлению к центру круга), то культура подвергалась случайной фоновой стимуляции (до следующей подачи CPS), которая стабилизирует значения синаптических весов в сети. В случае неудовлетворительного поведения проводилась стимуляция специально сконфигурированной шаблонной обучающей последовательностью (PTS), которая, напротив, должна была индуцировать пластичность в нейрональной культуре. При этом PTS обязательно включала в себя часть соответствующей последовательности CPS (для возможности ассоциации обучающего сигнала с «сенсорной» информацией, поступающей из среды). В качестве второй части PTS брались различные комбинации электродов и времен межсигнальной задержки, что позволяло составить пул обучающих последовательностей для каждого из секторов круга. Выбор конкретной PTS последовательности в единичном такте индукции обучения осуществлялся случайно, однако вероятности выбора тех PTS, которые приводили к эффективному изменению поведения, увеличивали в процессе моделирования, что позволяло подбирать оптимальное кодирование обучающего сигнала.

Для формирования отображения вычисляемого ЦА нейрональной культуры в вектор направления движения робота, перед началом каждого из экспериментов проводилась сессия с множественной подачей четырех случайно выбранных CPS. В дальнейшем осуществлялось усреднение наблюдаемых Центров Активности для каждого из четырех «сенсорных» сигналов. Данная процедура позволяла построить первичную форму отображения так, чтобы при нахождении в каждом из секторов робот осуществлял правильное движение к центру круга.

Авторы работы исследовали возможность адаптации культуры при изменении функции отображения ЦА в направление движения. Подобная методика может являться аналогией помещению реального животного в другую среду или изменению первичного задания. Для этого к культуре применялась CPS, которая была первично ассоциирована с первым сектором, когда он находился в третьем секторе и наоборот. Таким образом, проверялось способна ли культура к смещению своего ЦА в ответ на модифицированную «сенсорную» информацию за счет механизма синаптической пластичности (STDP), позволяющему решить задачу нахождения в центре круга. Проведенные симуляции показывают, что в большинстве случаев культура способна успешно адаптироваться к изменившимся экспериментальным условиям (рис. 15).

После подтверждения гипотезы о возможности эффективной адаптации нейрональной культуры к изменившимся условиям среды в рамках разработанной методики, авторы осуществили проверку необходимости механизмов синаптической пластичности в сети для эффективной коррекции поведения робота.

Авторы показали, что процессов кратковременной памяти (кратковременной депрессии в используемой модели частотно-зависимых синапсов) недостаточно для корректировки поведения и необходимо учитывать долговременные изменения в синапсах модельной сети. Для данной цели проводились дополнительные эксперименты по адаптации к новым условиям среды при выключенном механизме синаптической пластичности STDP.

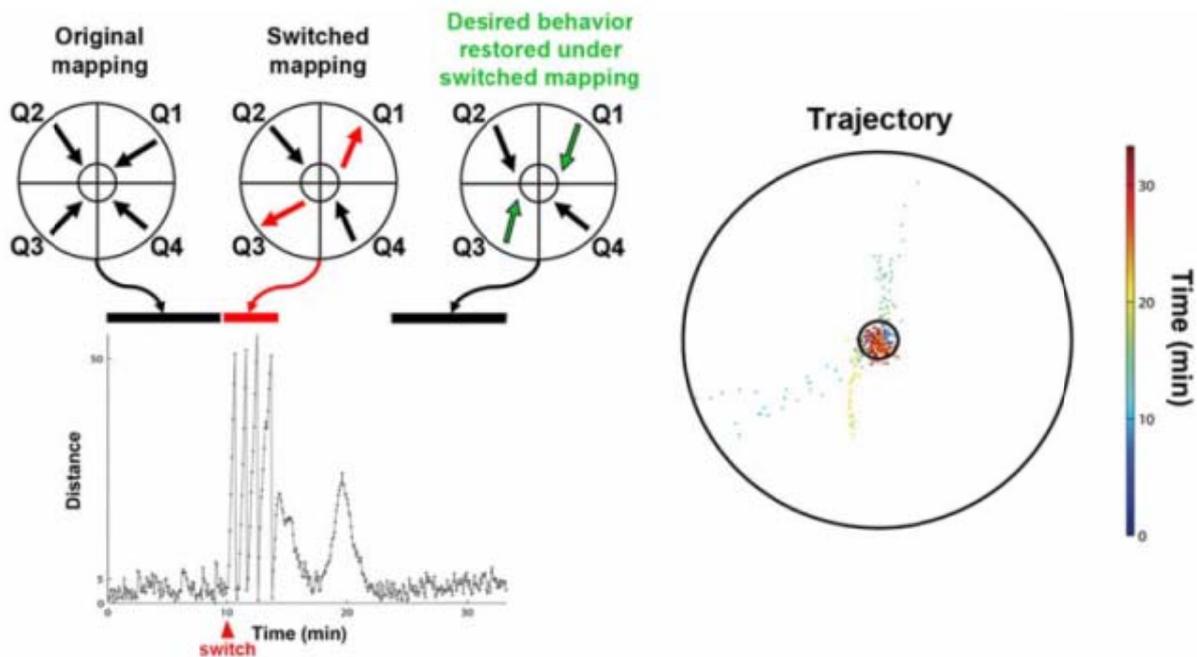


Рис. 15. Адаптация к изменившимся «сенсорным» сигналам. Показана динамика изменения расстояния от центра круга с течением времени. При этом переключение механизма кодирования сенсорной информации происходило через десять минут после начала моделирования. В те моменты, когда робот достигал границы круга, его перемещали обратно в изначальное положение – центр круга (отвесные горизонтальные линии на нижнем графике). Рисунок взят из [15].

Результаты моделирования (рис. 16) показывают, что долговременная пластичность является необходимым механизмом для эффективной адаптации модельной культуры к изменившимся условиям окружающей среды (в данном случае к изменившемуся «сенсорному» кодированию).

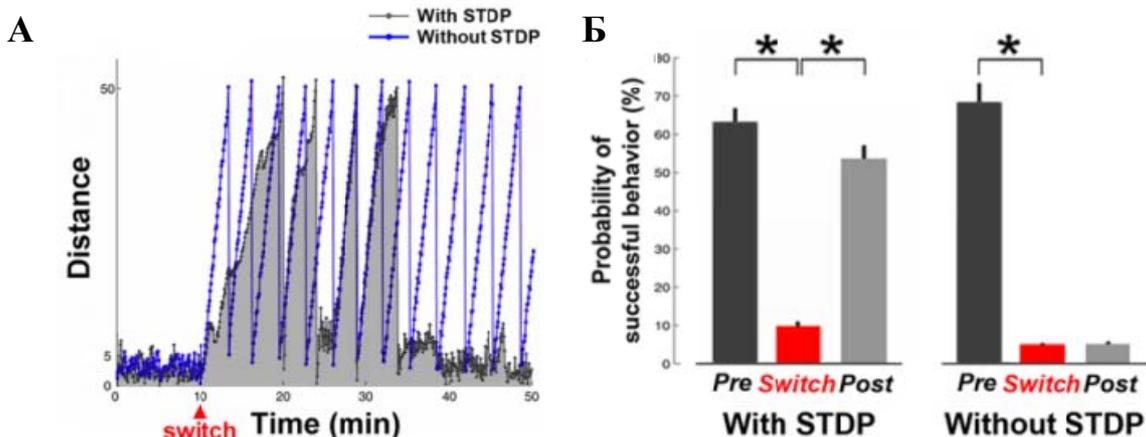


Рис. 16. Сравнение реализации адаптивного поведения с синаптической пластичностью и без нее. А) Динамика расстояния от робота до центра круга для экспериментов с включенной пластичностью и без нее. Б) Усредненные вероятности реализации эффективного поведения до переключения «сенсорного» кодирования, сразу после переключения и в конце моделирования (* означает статистически значимую разницу - знаковый критерий Уилкоксона) Рисунок взят из [15].

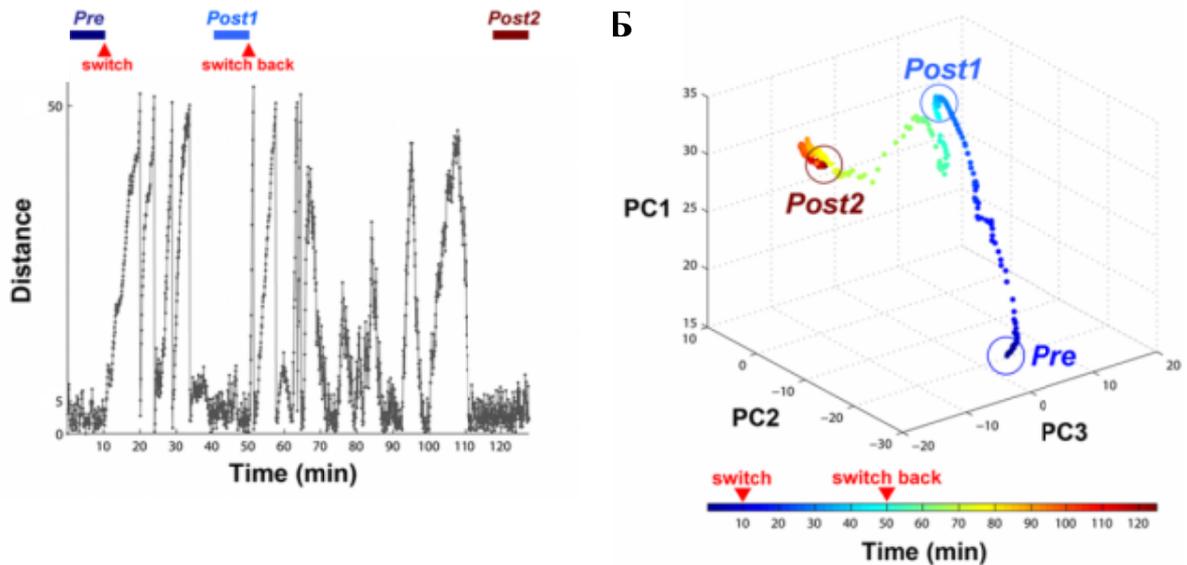


Рис. 17. Оценка уникальности структуры модельной сети, позволяющей генерировать эффективное поведение робота. **А)** Динамика расстояния от робота до центра круга в условиях первичной адаптации к изменившейся схеме «сенсорного» кодирования, а затем обратной адаптации к изначальной схеме. **Б)** Визуализация изменения первых трех главных компонент общего вектора весовых коэффициентов сети в процессе проведения эксперимента. Рисунки взяты из [15].

Затем авторы работы продемонстрировали, что конфигурация модельной сети (распределение весов синаптических связей), которая может обеспечивать успешное поведение в рамках поставленной перед роботом задачи, не является уникальной (рис. 17). Для этого в условиях схожего эксперимента после успешной адаптации модельной культуры к изменению схемы «сенсорного» кодирования осуществлялось обратное переключение к исходной схеме. Таким образом проверялось соответствие весовых коэффициентов сети после успешной адаптации к исходной схеме кодирования с теми весами, которые были в сети до начала проведения эксперимента. Для упрощения процедуры сравнения, учитывая что сумарный вектор всех синаптических связей является чрезвычайно высоко-размерным, применялся метод выделения главных компонент в пространстве весовых коэффициентов модельной сети. Первые три выделенные главные компоненты использовались для визуализации изменений синаптических коэффициентов в течение всей длительности эксперимента. Результаты данного эксперимента показывают, что реализация одного и того же успешного поведения может осуществляться в случаях различной структуры весов в сети (рис. 17 Б).

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Не смотря на то, что нейрональные культуры являются гораздо более простым объектом исследования, чем нейронные сети *in vivo*, они демонстрируют богатый репертуар динамических явлений, часть из которых ещё лишь предстоит изучить. Например, остается необъясненной устойчивостью пачечного режима спонтанной популяционной активности по отношению к различным реализациям топологии нейрональной культуры, а так же процессы, определяющие задний фронт профиля популяционной пачки. Вполне вероятно, что некоторые вопросы будут решены за счет увеличения числа моделируемых нейронов и межнейронных связей до величин, адекватных реальным системам.

Среди возможных направлений для дальнейших исследований можно выделить разработку моделей для решения задач:

- идентификации конкретной нейрональной культуры по статистическим свойствам её спайковой динамики;
- воспроизведения развитийной динамики пачечной активности;
- описания генерации повторяющихся последовательностей активаций нейронов, формирующих пачки;
- анализа возможных механизмов обучения в нейрональной культуре, и разработки алгоритмов машинного обучения на их основе.

Статья подготовлена при финансовой поддержке ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технического комплекса России на 200702013 годы», госконтракт № 07.514.12.4031.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Churchland P.S., Sejnowski T.J. Perspectives on Cognitive Neuroscience. *Science*. 1988. V. 242. № 4879. P. 741–745.
2. Deisseroth K., Feng G., Majewska A.K., Miesenböck G., Ting A., Schnitzer M.J. Next-Generation Optical Technologies for Illuminating Genetically Targeted Brain Circuits. *J. Neurosci*. 2006. V. 26. № 41. P. 10380–10386.
3. Kravitz A.V., Kreitzer A.C. Optogenetic manipulation of neural circuitry in vivo. *Current Opinion in Neurobiology*. 2011. V. 21. № 3. P. 433–439.
4. Soe A.K., Nahavandi S., Khoshmanesh K. Neuroscience goes on a chip. *Biosensors and Bioelectronics*. № 0.
5. Hierlemann A., Frey U., Hafizovic S., Heer F. Growing Cells Atop Microelectronic Chips: Interfacing Electrogenic Cells In Vitro With CMOS-Based Microelectrode Arrays. In: *Proceedings of the IEEE*. 2011. V. 99. № 2. P. 252–284.
6. Cultured neuronal network [Online]. *Wikipedia*. URL: http://en.wikipedia.org/wiki/Cultured_neuronal_network (дата обращения 06.07.2012).
7. Gross G.W. Simultaneous Single Unit Recording in vitro with a Photoetched Laser Deinsulated Gold Multimicroelectrode Surface. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. 1979. V. BME-26. № 5. P. 273–279.
8. Pine J. Recording action potentials from cultured neurons with extracellular microcircuit electrodes. *Journal of Neuroscience Methods*. 1980. V. 2. № 1. P. 19–31.
9. Segev R., Shapira Y., Benveniste M., Ben-Jacob E. Observations and modeling of synchronized bursting in two-dimensional neural networks. *Physical Review E*. 2001. V. 64. № 1. P. 011920.
10. Segev R., Benveniste M., Shapira Y., Ben-Jacob E. Formation of electrically active clusterized neural networks. *Physical review letters*. 2003. V. 90. № 16. P. 168101–168101.
11. Persi E., Horn D., Volman V., Segev R., Ben-Jacob E. Modeling of Synchronized Bursting Events: The Importance of Inhomogeneity. *Neural Computation*. 2004. V. 16. № 12. P. 2577–2595.
12. Beggs J.M., Plenz D. Neuronal avalanches in neocortical circuits. *Journal of Neuroscience*. 2003. V. 23. № 35. P. 11167.
13. Pasquale V., Massobrio P., Bologna L.L., Chiappalone M., Martinoia S. Self-organization and neuronal avalanches in networks of dissociated cortical neurons. *Neuroscience*. 2008. V. 153. № 4. P. 1354–1369.
14. Bakkum D.J., Chao Z.C., Potter S.M. Spatio-temporal electrical stimuli shape behavior of an embodied cortical network in a goal-directed learning task. *Journal of Neural Engineering*. 2008. V. 5. P. 310–323.
15. Chao Z.C., Bakkum D.J., Potter S.M. Shaping Embodied Neural Networks for Adaptive Goal-directed Behavior. *PLoS Comput Biol*. 2008. V. 4. № 3. P. e1000042.
16. СИМОНОВ А.Ю., КАЗАНЦЕВ В.Б. Модель возникновения лавинообразных

- биоэлектрических разрядов в нейронных сетях мозга. *Письма в ЖЭТФ*. 2011. V. 93. № 8. P. 516–521.
17. Segev R., Baruchi I., Hulata E., Ben-Jacob E. Hidden neuronal correlations in cultured networks. *Physical Review-Series A*. 2004. V. 92. № 11. P. 118102–118300.
 18. Tsodyks M., Uziel A., Markram H. Synchrony generation in recurrent networks with frequency-dependent synapses. *J Neurosci*. 2000. V. 20. № 1. P. 825–835.
 19. Wagenaar D.A., Pine J., Potter S.M. An extremely rich repertoire of bursting patterns during the development of cortical cultures. *BMC neuroscience*. 2006. V. 7. № 1. P. 11.
 20. Robinson H.P., Kawahara M., Jimbo Y., Torimitsu K., Kuroda Y., Kawana A. Periodic Synchronized Bursting and Intracellular Calcium Transients Elicited by Low Magnesium in Cultured Cortical Neurons. *J Neurophysiol*. 1993. V. 70. № 4. P. 1606–1616.
 21. Meister M., Wong R.O., Baylor D.A., Shatz C.J. Synchronous Bursts of Action Potentials in Ganglion Cells of the Developing Mammalian Retina. *Science*. 1991. V. 252. № 5008. P. 939–943.
 22. Engel A.K., König P., Kreiter A.K., Schillen T.B., Singer W. Temporal coding in the visual cortex: new vistas on integration in the nervous system. *Trends in Neurosciences*. 1992. V. 15. № 6. P. 218–226.
 23. Shahaf G., Marom S. Learning in Networks of Cortical Neurons. *J. Neurosci*. 2001. V. 21. № 22. P. 8782–8788.
 24. Marom S., Eytan D. Learning in ex-vivo developing networks of cortical neurons. *Development, Dynamics and Pathology of Neuronal Networks: from Molecules to Functional Circuits*. Elsevier, 2005. V. Volume 147. P. 189–199.
 25. DeMarse T.B., Wagenaar D.A., Blau A.W., Potter S.M. The Neurally Controlled Animat: Biological Brains Acting with Simulated Bodies. *Auton Robots*. 2001. V. 11. № 3. P. 305–310.
 26. DeMarse T.B., Dockendorf K.P. Adaptive flight control with living neuronal networks on microelectrode arrays. In: *Proc. of 2005 IEEE International Joint Conference on Neural Networks (IJCNN2005) (Montreal, Canada)*. 2005. V. 3. P. 1548–1551.
 27. Novellino A., D'Angelo P., Cozzi L., Chiappalone M., Sanguineti V., Martinoia S. Connecting Neurons to a Mobile Robot: An In Vitro Bidirectional Neural Interface. *Computational Intelligence and Neuroscience*. 2007. V. 2007. P. 1–13.
 28. le Feber J., Stegenga J., Rutten W.L.C. The Effect of Slow Electrical Stimuli to Achieve Learning in Cultured Networks of Rat Cortical Neurons. *PLoS ONE*. 2010. V. 5. № 1. P. e8871.
 29. Warwick K., Xydas D., Nasuto S.J., Becerra V.M., Hammond M.W., Downes J.H., Marshall S., Whalley B.J. Controlling a mobile robot with a biological brain. *Defence Science Journal*. 2010. V. 60. № 1. P. 5–14.
 30. Mulas M., Massobrio P., Martinoia S., Chiappalone M. A simulated neuro-robotic environment for bi-directional closed-loop experiments. *Paladyn. Journal of behavioral robotics*. 2011. V. 1. P. 179–186.
 31. Izhikevich E.M. Which model to use for cortical spiking neurons? *Neural Networks, IEEE Transactions on*. 2004. V. 15. № 5. P. 1063–1070.
 32. Tsodyks Misha, Uziel A., Markram H. T Synchrony Generation in Recurrent Networks with Frequency-Dependent Synapses. *J. Neurosci*. 2000. V. 20. № 1. P. RC50–RC50.
 33. Koch C. *Biophysics of computation: information processing in single neurons*. Oxford University Press, USA, 2005.
 34. Gerstner W., Kistler W.M. *Spiking neuron models: Single neurons, populations, plasticity*. Cambridge Univ Pr, 2002.
 35. Burkitt A.N. A review of the integrate-and-fire neuron model: I. Homogeneous synaptic input. *Biological cybernetics*. 2006. V. 95. № 1. P. 1–19.

36. Burkitt A.N. A review of the integrate-and-fire neuron model: II. Inhomogeneous synaptic input and network properties. *Biological cybernetics*. 2006. V. 95. № 2. P. 97–112.
37. Hodgkin A.L., Huxley A.F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *The Journal of physiology*. 1952. V. 117. № 4. P. 500–544.
38. Hodgkin A.L., Huxley A.F., Katz B. Measurement of current-voltage relations in the membrane of the giant axon of Loligo. *The Journal of physiology*. 1952. V. 116. № 4. P. 424–448.
39. Izhikevich E.M. Simple model of spiking neurons. *Neural Networks, IEEE Transactions on*. 2003. V. 14. № 6. P. 1569–1572.
40. Fitzhugh R. Impulses and physiological states in theoretical models of nerve membrane. *Biophysical journal*. 1961. V. 1. № 6. P. 445–466.
41. Nagumo J., Arimoto S., Yoshizawa S. An active pulse transmission line simulating nerve axon. In: *Proceedings of the IRE*. 1962. V. 50. № 10. P. 2061–2070.
42. Izhikevich E.M., Edelman G.M. Large-scale model of mammalian thalamocortical systems. In: *Proceedings of the national academy of sciences*. 2008. V. 105. № 9. P. 3593.
43. Dayan P., Abbott L.F., Abbott L. *Theoretical neuroscience: Computational and mathematical modeling of neural systems*. 2001.
44. Tsodyks M.V., Markram H. The neural code between neocortical pyramidal neurons depends on neurotransmitter release probability. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1997. V. 94. № 2. P. 719.
45. Bi G., Poo M. Synaptic modification by correlated activity: Hebb's postulate revisited. *Annual review of neuroscience*. 2001. V. 24. № 1. P. 139–166.
46. Sjöström P.J., Rancz E.A., Roth A., Häusser M. Dendritic excitability and synaptic plasticity. *Physiological reviews*. 2008. V. 88. № 2. P. 769–840.
47. Song S., Miller K.D., Abbott L.F. Competitive Hebbian learning through spike-timing-dependent synaptic plasticity. *Nature neuroscience*. 2000. V. 3. P. 919–926.
48. Gritsun T.A., Le Feber J., Stegenga J., Rutten W.L. Network bursts in cortical cultures are best simulated using pacemaker neurons and adaptive synapses. *Biological cybernetics*. 2010. V. 102. № 4. P. 293–310.
49. Massobrio P., Martinoia S. Modelling small-patterned neuronal networks coupled to microelectrode arrays. *Journal of Neural Engineering*. 2008. V. 5. P. 350.
50. Richards C.D., Shiroyama T., Kitai S.T. Electrophysiological and immunocytochemical characterization of GABA and dopamine neurons in the substantia nigra of the rat. *Neuroscience*. 1997. V. 80. № 2. P. 545–557.
51. Latham P.E., Richmond B.J., Nelson P.G., Nirenberg S. Intrinsic dynamics in neuronal networks. I. Theory. *Journal of Neurophysiology*. 2000. V. 83. № 2. P. 808–827.
52. Latham P.E., Richmond B.J., Nirenberg S., Nelson P.G. Intrinsic dynamics in neuronal networks. II. Experiment. *Journal of neurophysiology*. 2000. V. 83. № 2. P. 828–835.
53. Carnevale N.T., Hines M.L. *The NEURON book*. Cambridge Univ Pr, 2006.
54. *Modeling in the Neurosciences: From Biological Systems to Neuromimetic Robotics*. 2nd ed. Eds. Reeke G.N. et al. CRC Press, 2005. 736 p.
55. Chao Z.C., Bakkum D.J., Wagenaar D.A., Potter S.M. Effects of random external background stimulation on network synaptic stability after tetanization. *Neuroinformatics*. 2005. V. 3. № 3. P. 263–280.

Материал поступил в редакцию 28.06.2012, опубликован 30.07.2012.