

УДК 576.333:004.81

АНАЛИЗ КОГНИТИВНЫХ СВОЙСТВ НЕЙРОННЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ МЕТОДОВ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

© 2014 г. **О.В. Вишневский^{1,2}, Н.И. Путинцев¹,
Т.А. Запара³, А.С. Ратушняк³**

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия;

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт цитологии и генетики

Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия;

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Конструкторско-технологический институт вычислительной техники
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: ratushniak.alex@gmail.com

Поступила в редакцию 17 октября 2014 г. Принята к публикации 5 ноября 2014 г.

Решение задач реинжиниринга когнитивных систем, т. е. разработки устройств, обладающих когнитивными свойствами, на основе их биологических прототипов, невозможно без понимания особенностей архитектуры биологических систем, информационных свойств и молекулярной организации основных элементарных ячеек, образующих эту архитектуру, – нервных клеток. Создание аналогов обучения позволяет исследовать активность отдельных клеток не только в условиях поведенческих реакций с естественными стимулами, но и в опытах на изолированных препаратах с использованием как раздражений периферических образований, так и воздействий на отдельные структуры клеток. Нами разработан программно-инструментальный комплекс NeuroFeedBack, включающий в себя систему живых нейронов и нейрокомпьютерный интерфейс с обратной связью. Комплекс обеспечивает прием и обработку входных сигналов, поступающих с нейронов, их визуализацию и хранение, а также формирование выходных подкрепляющих стимулов на нейроны. С помощью этого комплекса проведен анализ функциональной активности нейронов из правого парietального ганглия моллюска *Lymnaea stagnalis* в рамках трех моделей подкрепления. Показано, что в условиях биологической обратной связи происходит оптимизация активности нейрона, дающая ему возможность минимизировать количество получаемых подкрепляющих стимулов. Полученные результаты позволили создать гибридную роботизированную систему, в которой живые нейронные системы с помощью нейрокомпьютерного интерфейса способны решать навигационные задачи, управляя в реальном времени электронно-механическим устройством, функционирующим в реальных времени и среде. Так, использование предложенных программ подкрепления позволило гибридной роботу находить светящуюся лампочку и достигать ее в течение нескольких минут.

Ключевые слова: нейрон, нейронные системы, когнитивные свойства, биологическая обратная связь, гибридный робот.

ВВЕДЕНИЕ

При непрерывно возрастающем количестве информационных потоков возникает проблема их обработки, анализа, принятия решений, предсказания последствий этих решений. Осу-

ществление таких когнитивных задач является насущной необходимостью во всех областях жизнедеятельности человека. При этом информационные мощности современных систем обработки данных последовательного типа в известной мере приближаются к предельным

возможностям, и понятно, что существующие концепции их развития требуют серьезных изменений. Наиболее важной задачей представляется разработка новых биологически инспирированных архитектур и информационных устройств, в том числе обладающих таким свойством, как когнитивность (лат. *cognitio*, познание, изучение, осознание, способность к восприятию, переработке, хранению внешней информации, познанию внешней среды, ориентировке в ней и т. д.). В многочисленных многоуровневых определениях когнитивности редко учитывается то, что в ее основе лежат стабилизация гомеостаза объекта, понижение внутренней энтропии за счет опережающего отражения, предсказания состояния внешней среды и внутриклеточных систем. Поэтому целью работ, необходимых для реинжиниринга, т. е. конструирования на основе биологических прототипов, молекулярных информационных устройств, представляется выявление особенностей архитектуры биологических систем, информационных свойств и молекулярной организации основных элементарных ячеек, образующих эту архитектуру, – нервных клеток. Одним из подходов, который позволяет проводить такие исследования, является создание аналогов обучения (Кэндел, 1980). Такие аналоги позволяют исследовать активность отдельных клеток не только в условиях поведенческих реакций с естественными стимулами, но и в опытах на изолированных препаратах с использованием как раздражений периферических образований, так и воздействий на отдельные структуры клеток. При этом эффект, регистрируемый в эксперименте, оценивается по изменению поведенческих проявлений, а чаще по характеру пластических изменений, вызванных применяемыми воздействиями. Под пластическими изменениями понимают относительно устойчивые функциональные перестройки в системах нейронов, которые превышают по длительности время обычных синаптических и импульсных процессов и определяют эффективность и направленность межнейронных связей (Костюк, 1983). Пластичность проявляется в изменении реактивности к раздражителю при его повторных воздействиях или ассоциации с действием других факторов и является основной и наиболее специфической

функциональной характеристикой нервных клеток (Котляр, 1986). Клеточные аналоги обучения для изучения мембранных механизмов пластических реакций разрабатывались с использованием нейронов моллюсков (Alkon, 1984; Balaban *et al.*, 2004). Теоретико-экспериментальный анализ информационных свойств, функциональной архитектуры и молекулярных конструкций нейронов и нейронных систем, лежащих в основе когнитивности, является актуальной задачей.

Подходом, ориентированным на решение такой задачи, является создание гибридных комплексов, включающих живые нейроны или простые нейронные системы, управляющие техническими устройствами или компьютерными эмуляциями (DeMarse *et al.*, 2001; Shkolnik, 2003; Bakkum *et al.*, 2004, 2007; Cozzi *et al.*, 2005; Kudoh *et al.*, 2006, 2011; Novellino *et al.*, 2007; Hayashi *et al.*, 2010, 2011; Mussa-Ivaldi *et al.*, 2010; Warwick *et al.*, 2010; Tessadori *et al.*, 2012). Это позволяет приблизить условия существования нейронов *in vitro* к естественным путям организации обратных связей через окружающую среду. При этом в случае достаточно развитого интерфейса нейрон как молекулярная информационная машина может встраиваться в системы управления и оптимизировать работу технических устройств. Анализ работы нейрона в таких условиях, возможно, позволит экспериментально уточнить характеристики ключевых информационных процессов в живой клетке.

МЕТОДЫ

Работа проведена на изолированных центральных ганглиях моллюска *Lymnaea stagnalis* в возрасте 0,5–1,5 лет. Регистрировалась активность нейронов из правого париетального ганглия (рис. 1), входящих в систему центрального контроля дыхательной активности.

Методика получения изолированных ганглиев и нейронов описана в работе М.А. Костенко (1972). Эксперименты проводились с помощью аппаратно-программного комплекса (рис. 2).

Регистрация спонтанной и вызванной импульсной активности нейронов осуществлялась стеклянными внутриклеточными микроэлектродами, заполненными 2,5 М КСl (сопротивление 5–15 Мом при диаметре кончика 0,5–1 мкм).

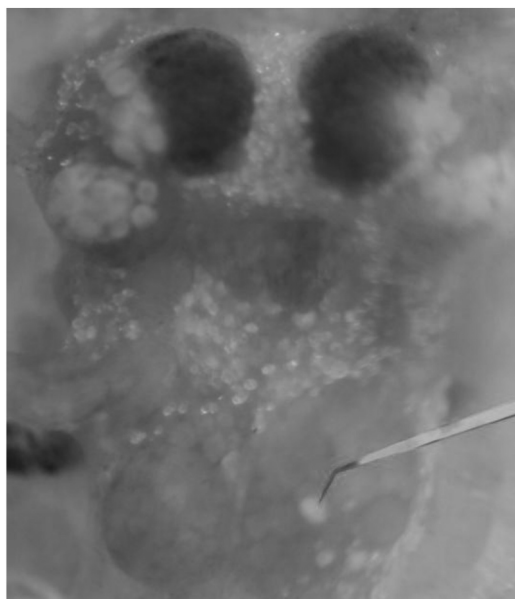


Рис. 1. Центральный ганглий моллюска *Lymnaea stagnalis* с введенным в нейрон правого париетального ганглия внутриклеточным микроэлектродом.

Fig. 1. Central ganglia of *Lymnaea stagnalis* with an intracellular microelectrode introduced into a neuron of the right parietal ganglion.

Поиск фоновых активных нейронов проводился под визуальным контролем трехкоординатным шаговым микроманипулятором (PatchStar Scientifica). Визуализация рабочего поля достигалась с помощью оптической системы. Импульсная активность усиливалась, преобразовывалась аналого-цифровым преобразователем (LCard) и поступала в управляющий комплекс на базе ЭВМ, где осуществлялись обработка сигнала и программное построение подкрепляющих стимулов, подаваемых на внутриклеточный электрод с помощью цифро-аналогового преобразователя. Длительность подкрепляемых раздражением межимпульсных интервалов (МИ) определялась их средней продолжительностью на контрольном фоновом участке, а амплитуда стимулов, подаваемых с цифро-аналогового преобразователя, выбиралась ниже уровня, оказывающего непосредственное тормозящее или возбуждающее влияние на импульсную активность исследуемого нейрона.

Использованы несколько алгоритмов формирования стимулов. В качестве программы

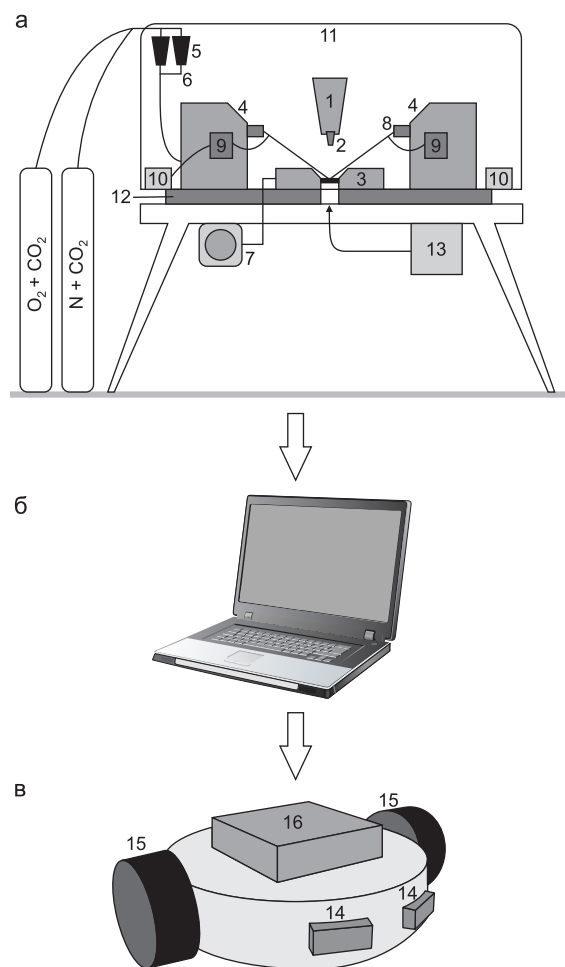


Рис. 2. Схема аппаратно-программного комплекса для анализа функциональной активности нейронов и нейронных систем.

а – комплекс регистрации и анализа нейрональной активности. 1 – видеокамера; 2 – оптическая система; 3 – камера для культивирования нейронов; 4 – микроманипуляторы; 5, 6 – проточная система поддержания физиологического состава среды; 7 – насос проточной системы; 8 – микроэлектроды; 9, 10 – усилители-преобразователи сигнала; 11 – экранированная камера с электромагнитным экраном; 12 – виброзащитный стол; 13 – осветитель со световодом. б – система управления. Аппаратный комплекс визуализации и контроля нейрональной активности. в – гибридный робот. 14 – датчики света гибридного робота; 15 – сервоприводы робота; 16 – Wi-Fi модуль.

Fig. 2. System for the analysis of the functional activity of neurons and neural systems.

а – complex for the registration and analysis of neuronal activity. 1 – camcorder; 2 – optical system; 3 – chamber for culturing neurons; 4 – micromanipulators; 5, 6 – flow system maintaining the physiological composition of the medium; 7 – pump; 8 – microelectrodes; 9, 10 – signal amplifier-converters; 11 – shielded chamber with an electromagnetic shield; 12 – vibration-proof table; 13 – fiber illuminator. б – control system. Hardware system for visualization and control of neuronal activity. в – hybrid robot. 14 – light sensors of the hybrid robot; 15 – robot actuators; 16 – Wi-Fi module.

выработки нейрональной пластической реакции была выбрана модель с автостимуляцией (Василевский и др., 1972; Ратушняк и др., 1976). При этом вне клеточной системы организовывалась обратная связь, позволяющая нейрону своим выходным сигналом корректировать работу внешних устройств, изменяя программу подачи стимулов. В экспериментах, проведенных на спонтанно активных клетках, управляющим параметром являлась длительность межимпульсных интервалов. Использовались два варианта формирования стимулов. В первом варианте (подкрепление длинных МИ) применяли подпороговую стимуляцию, которая вызывала смещения мембранного потенциала (МП) на 1–2 мВ и подавалась спустя время, равное средней фоновой длине МИ до начала стимуляции, и продолжалась до следующего за этим эндогенным потенциалом действия (ПД) нейрона

(рис. 3, а). Во второй серии экспериментов (подкрепление коротких МИ) включение подпороговой стимуляции происходило спустя интервал, равный 5–10 % от среднего МИ, вычисленного на фоновом участке работы нейрона (рис. 3, б), а выключение стимуляции – по достижении среднего фонового значения МИ либо при возникновении следующего эндогенного ПД.

При ассоциированном воздействии (рис. 4) характеристики первого из сигналов, подаваемого на внутриклеточный микроэлектрод, подбирались по ответной реакции. Условием являлось появление небольших (0,1–2 мВ) подпороговых колебаний МП на стимул.

Второй сигнал подавался с задержкой, и его характеристики (амплитуда и длительность) выбирались из условия получения клеточного ответа – ПД на каждое предъявление сигнала

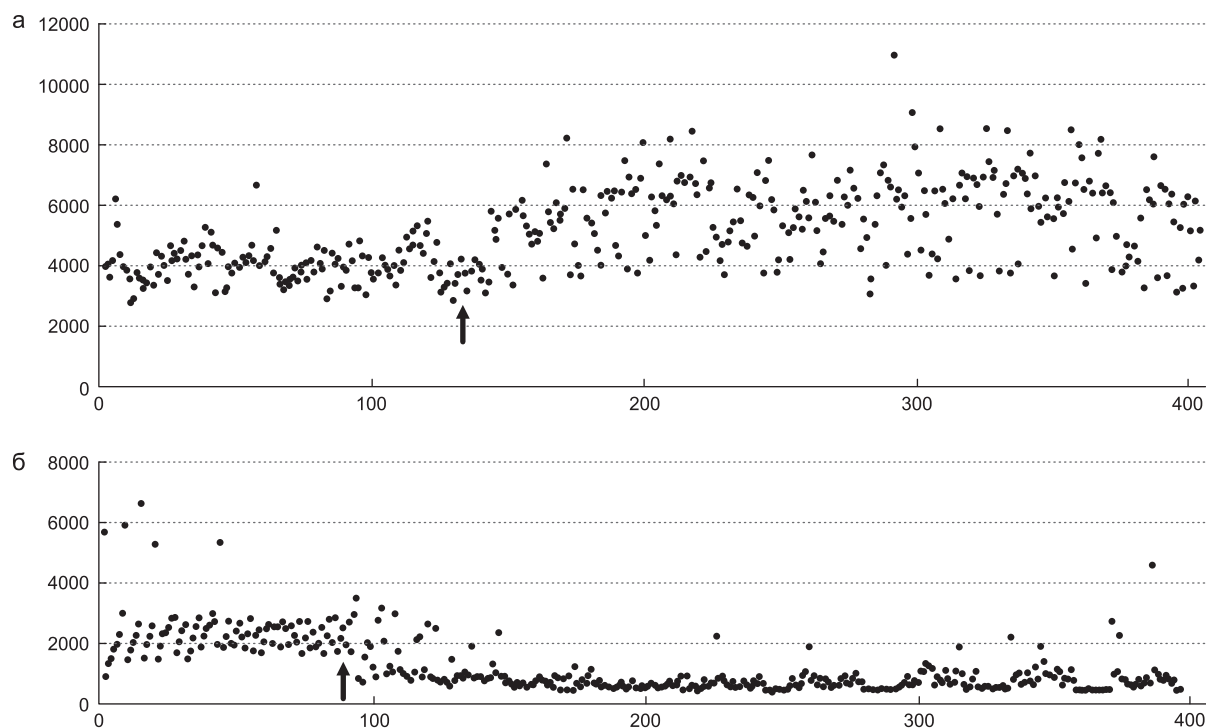


Рис. 3. Пример развития реакции нейрона на автоподкрепления подпороговой стимуляцией, согласно модели подкрепления коротких (а) и длинных (б) МИ.

а – первая серия экспериментов; б – вторая серия экспериментов. ↑ – начало стимуляции. По оси ординат – значение межимпульсного интервала; по оси абсцисс – время (в секундах).

Fig. 3. Example of a neuron response to subthreshold stimulation by biofeedback in the mode with short (a) and long (b) intervals between action potentials.

a – the first series of experiments; b – the second series of experiments. ↑ – the beginning of stimulation; X-axis, time, s; Y-axis, interpulse interval.

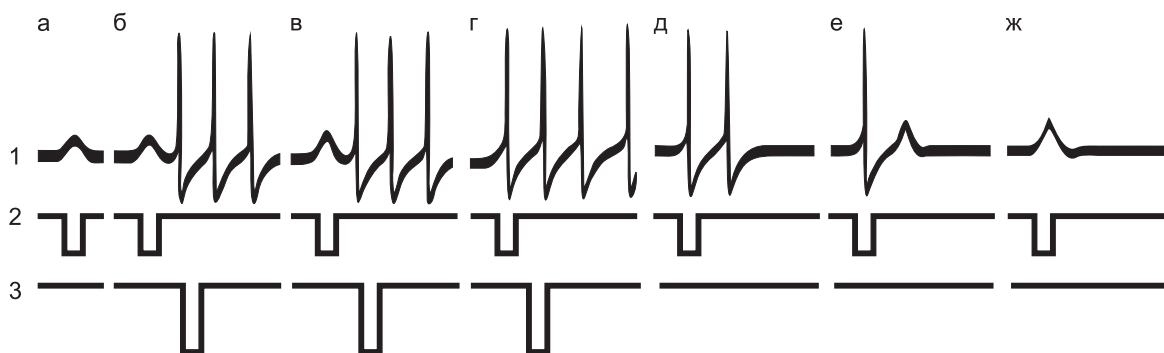


Рис. 4. Схема эксперимента по изучению характеристик нейрональной активности в модели ассоциативной стимуляции.

а – изменение мембранного потенциала в ответ на подпороговую стимуляцию; б – ответы нейрона на парную подпороговую и надпороговую стимуляцию, АД наблюдается только в ответ на надпороговый стимул; в – в результате применения первых 15–60 сочетанных стимулов происходит увеличение амплитуды подпорогового ответа; г – генерация АД на исходно подпороговые стимулы после 20–30 парных стимулов; д – устойчивая генерация АД при продолжении стимуляции только изначально подпороговыми стимулами; е – постепенное угасание ответов на первый стимул, в отсутствие второго (надпорогового); ж – прекращение генерации АД. 1 – ответы нейрона; 2 – входной подпороговый стимул; 3 – входной надпороговый стимул.

Fig. 4. Design of the study of neuronal activity in the associative stimulation model.

а – subthreshold stimuli alter the membrane potential; б – in paired stimulation (a subthreshold stimulus followed by a suprathreshold one), action potential (AD) is induced in response only to the suprathreshold stimulus; в – application of the first 15–60 paired stimuli results in an increase in the response to the suprathreshold stimulus; г – action potential is induced in response to initially subthreshold stimuli after the subsequent 20–30 paired stimuli; д – continuation of stimulation only with initially subthreshold stimuli consistently evokes AP; е – step-by-step decay of the responses to the first stimulus with the absence of the second (suprathreshold) stimulus; ж – termination of AP generation. 1 – neuron responses; 2 – the input subthreshold stimulus; 3 – the input suprathreshold stimulus.

(рис. 4, а). То есть он гарантированно приводил к срабатыванию большинства ионных каналов клетки.

Для решения задач регистрации в реальном времени нейрональной активности, ее анализа и формирования подкрепляющего сигнала в соответствии с одной из трех использованных нами моделей был разработан программный комплекс HubroFeedBack, созданный с помощью среды Microsoft Visual Studio с использованием библиотеки Lusbari. Он включал в себя модули: а) выделения потенциала действия из входного потока (усиленного сигнала, получаемого с внутриклеточного электрода, введенного в нейрон); б) оценки текущего межимпульсного интервала; в) оценки среднего текущего межимпульсного интервала (усредненный МИ, полученный в течение 5 с); г) оценки среднего фонового межимпульсного интервала (усредненный МИ, полученный в течение 5 мин на нейронах без стимуляции); д) формирования подкрепляющих стимулов, подаваемых по обратной связи на внутриклеточный электрод,

согласно одной из трех моделей подкрепления. В качестве таких стимулов могли выступать как отдельные импульсы требуемой длины и амплитуды, так и серии импульсов заданной частоты. Визуальное наблюдение за входным и выходным потоками осуществлялось с помощью программы PowerGraph. Выделение программы потенциала действия сопровождалось звуковым сигналом, что облегчало исследователю оценку хода эксперимента и настройки параметров системы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования нами проанализированы 68 нейронов из правого париетального ганглия *Lymnaea stagnalis*, обладающих спонтанной активностью и способных отвечать на стимул (Kyriakides *et al.*, 1989; Syed *et al.*, 1990).

Было показано, что при применении подпороговой стимуляции, зависящей от функциональной активности клетки, эта активность изменялась в 91 % случаев.

При этом изменение активности нейронов в модели стимуляции подкрепления длинных МИ в 19 % случаев сопровождалось уменьшением длительности межимпульсных интервалов. В 8 % длительность интервалов увеличивалась, а в 73 % – оставалась неизменной или изменялась разнонаправленно.

При применении модели подкрепления коротких МИ в 21 % случаев происходило увеличение длительности межимпульсных интервалов. В 5 % случаев длительность интервалов уменьшалась, а в 74 % – оставалась неизменной или изменялась разнонаправленно. При этом наблюдался различный характер перестроек активности, от монотонного до двух- и многофазного. Применение стимуляции, согласно ассоциативной модели, в 14 % случаев приводило к перестройке ответов на подпороговый стимул.

Функциональная пластичность нейронов при автостимуляции

Пластические реакции при автостимуляции были выбраны с целью приблизиться к оценке основных функциональных свойств нейрона как активной системы. Работа проведена на спонтанно активных клетках, генерирующих потенциалы действия без преднамеренных воздействий экспериментатора. Длина межимпульсных интервалов в таком фоновом потоке, как правило, несколько варьирует от импульса к импульсу. В исходном потоке рассчитывалось фоновое среднее значение МИ, которое в дальнейшем использовалось как пороговое в программах подкрепления. Использовались две программы внешней обратной связи, вызывающей автостимуляцию – подкрепление длинных и подкрепление коротких межимпульсных интервалов. При этом в первом случае на клетку подавался стимул, который вызывал подпороговый сдвиг МП на 1–2 мВ (порог генерации ПД при деполяризации 5–7 мВ) в том случае, если длина межимпульсного интервала превышала заданный порог. Во втором случае подпороговый стимул следовал спустя время, равное 5–10 % от значения фонового среднего МИ, рассчитанного на участке до включения стимуляции. Выключение стимуляции происходило по достижении

среднего фонового значения МИ либо при появлении следующего ПД. При таких режимах стимуляции подкрепление длинных интервалов приводило к переходу клетки в режим более частой генерации ПД (сокращения МИ) (рис. 3, б). При подкреплении коротких интервалов значение МИ увеличивалось (рис. 3, а). При такой стимуляции клетка в ряде случаев переходила в режим генерации пачек, состоящих из 3–7 импульсов, разделенных интервалом между пачками, превышающим пороговое значение. При этом наблюдалось уменьшение суммарного количества вызванных подкреплений. Можно отметить, что, как правило, такое уменьшение суммарного количества вызванных подкреплений наблюдалось для обеих примененных моделей стимуляции.

В работе Я.И. Вербного и А.Я. Могилевского (1993) внутриклеточная стимуляция нейронов также была «привязана» к определенным временным компонентам спонтанной активности. Однократный надпороговый стимул подавался в случае, если МИ оказывался больше или меньше средних фоновых МИ. Организованная таким образом внешняя стимуляция, ассоциированная с определенными компонентами эндогенной ритмики, позволяет, по мнению авторов, рассматривать ее как ассоциативную внутриклеточную стимуляцию. Только ассоциативная, а не случайная или ритмическая стимуляция в эксперименте позволяла клетке реализовать адаптивные перестройки спайковой активности (Вербный, Могилевский, 1993). Данные о влиянии как над-, так и подпороговой внутриклеточной стимуляции свидетельствуют о том, что адаптивные перестройки – оптимизация внешних воздействий – могут происходить помимо пластических синаптических изменений. В этой работе применялась надпороговая стимуляция, вызывавшая генерацию ПД и, вероятно, метаболические изменения в нейроне. В наших экспериментах применение подпороговых стимулов можно рассматривать как информационное воздействие на клетку. Вероятно, внутриклеточная стимуляция, соотнесенная с определенными временными компонентами спонтанной активности, может вызвать активацию механизмов эндонейрональной пластичности (Mozzachiodi, Burne, 2010).

Функциональная пластичность нейронов при сочетанных локальных и генерализованных воздействиях (ассоциативное обучение)

Раздражение сомы подпороговыми воздействиями проводили внутриклеточной стимуляцией по алгоритму, приближенному к выработке условного рефлекса (рис. 4). Параметры подпороговых стимулов подбирали так, чтобы первоначально они вызывали только подпороговые ответы (рис. 4, а). Амплитуда подпороговых ответов при этом не превышала 1–3 мВ (потенциал покоя нейронов $-55 \div -70$ мВ). Параметры надпороговых стимулов через внутриклеточный электрод подбирали так, чтобы их применение вызывало генерацию 1–2 ПД. Подпороговый и надпороговый стимулы наносили попарно: подпороговый подавали первым и через определенный интервал (50–100 мсек) подавали надпороговый стимул. Время, за которое МП нейрона (после генерации ПД) возвращался к потенциалу покоя (ПП), определяло выбор этого интервала. В каждом конкретном случае для определения межстимульного интервала на микроэлектроды подавали стимул, вызывающий ПД. Нанесение парных стимулов было нерегулярным, с интервалом между парами 5–15 с.

В 69 % случаев многократное применение подпорогового электрического стимула (в сочетании с надпороговым) сопровождалось изменением нейрональной реакции. В результате применения первых 15–60 сочетанных стимулов происходило увеличение амплитуды подпорогового ответа (рис. 4, б). При продолжении стимуляции на исходно подпороговые стимулы нейрон начинал отвечать генерацией ПД (рис. 4, в). На этой стадии (с 20–30 стимула) ПД могли чередоваться с подпороговыми ответами. После 30–35 сочетанных стимулов генерация ПД в ответ на ранее неэффективный стимул становилась более регулярной. Стимул вызывал генерацию ПД (ответ на второй стимул пары при этом не изменялся). Продолжение стимуляции только ранее подпороговыми стимулами приводило к устойчивой генерации ПД (рис. 4, г). В наших экспериментах в 14 % случаев такая стимуляция не вызывала возвращения к исходной подпороговой реакции в течение значительного времени. Для того чтобы определить время, в течение

которого сохраняются модификации ответа нейрона, на участок сомы подавали одиночные стимулы (с интервалом 0,5–1 мин). Обнаружили, что модификация ответа (на первоначально подпороговый стимул) сохранялась в течение 5–7 мин (20–80 стимулов). Затем ответы на стимул постепенно угасали и становились подпороговыми (рис. 4, д, е), как это и было до проведения парной стимуляции. Интересно отметить, что в 17 % случаев ответ на второй (надпороговый) стимул пары изменялся – он становился подпороговым.

Важно отметить, что такие модификации нейрональной активности, индуцируемые как одиночной, так и парной стимуляцией, не вызывали изменений ПП сомы нейрона. То есть они обусловлены не простым смещением мембранного потенциала, а, вероятно, сложными перестройками внутриклеточных сигнальных систем.

Разработка гибридной роботизированной системы

Описанные выше подходы были использованы для создания гибридной системы, в которой живой нейрон смог бы управлять электронно-механическим устройством, маневрирующим в реальной среде и решающим такие навигационные задачи, как, например, достижение источника света. Для этой цели на базе платы STM-32VL-DISCOVERY была разработана роботизированная платформа, представляющая собой круглую тележку (рис. 5), снабженную двумя двигателями и оснащенную датчиками света, установленными в передней части тележки. Сигналы с этих датчиков передавались на центральный компьютер с помощью Wi-Fi роутера TP-Link TL-MR3020. Через него же с компьютера на двигатели тележки подавались управляющие команды. Связь осуществлялась с использованием протокола IP через сокет Windows. Для взаимодействия центрального компьютера с нейроном использовался аналого-цифровой и цифро-аналоговый преобразователь LCard E-154, работавший на частоте 5 кГц.

Для обеспечения управления гибридным роботом, обработки входных сигналов (получаемых с фотодатчиков и нейрона) и формирования выходных сигналов (как на двигатели

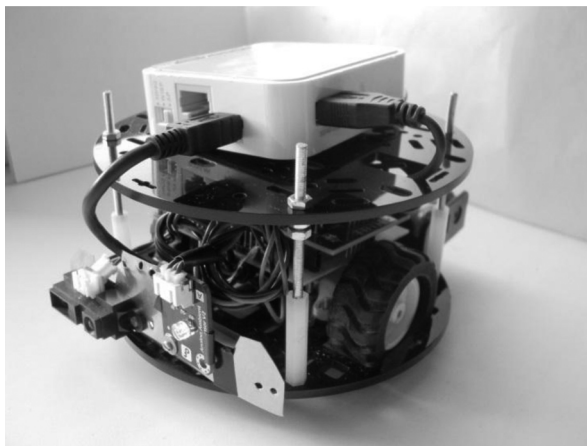


Рис. 5. Роботизированная платформа.

Fig. 5. The hybrid robot in its environment.

тележки, так и на внутриклеточный микроэлектрод) в программный комплекс HubroFeedBack были добавлены сокет-модули получения сигнала с фотодатчиков и передачи управляющих команд на двигатели по протоколу IP. Задачей робота было обнаружение источника света и приближение к нему на минимальное расстояние. При этом управление тележкой осуществлялось живым нейроном, а компьютерная система выступала в роли связующего и декодирующего интерфейса. Система работала следующим образом. Как только программа обнаруживала генерацию нейроном потенциалов действия (возникающих в ходе его спонтанной активности), включался левый двигатель, который начинал вращать тележку с фотодатчиками вокруг своей оси, обеспечивая круговой поиск источника света со скоростью $\sim 0,5$ об/мин (т. е. робот делал полный оборот за 30 с). Как только величина сигнала, получаемого с фотодатчика, превышала пороговое значение, соответствующее уровню светового шума, на нейрон начинали подаваться подкрепляющие стимулы. Подкрепление проводилось в соответствии с одной из двух моделей автостимуляции (подкрепление длинных и подкрепление коротких межимпульсных интервалов). В соответствии с этими моделями нейрон начинал модифицировать свою импульсную активность и укорачивать или, соответственно, удлинять межимпульсные интервалы. При этом оценивалось отношение средней текущей величины МИ (усредненный МИ, полученный в течение

5 с) к величине фонового среднего МИ. Как только эта величина превышала 1, включался правый двигатель тележки. Скорость его работы соответствовала $\sim 0,75$ об/мин. Таким образом, тележка начинала движение вперед с некоторой дугой в левую сторону. Как только свет от источника переставал попадать на фотодатчики и сигнал с них, соответственно, оказывался ниже порогового значения, подкрепляющий сигнал переставал поступать на нейрон и тот через некоторое время возвращал МИ к своему первоначальному фоновому значению. Это приводило к отключению правого двигателя, повороту тележки вправо и поиску источника света. Такая последовательность действий продолжалась до тех пор, пока тележка не приближалась к источнику света – лампочке в 20 Вт. Несмотря на спонтанное варьирование нейроном своего МИ, а также относительно большие времена перестройки МИ нейроном, использованные нами параметры системы и предложенный алгоритм поиска позволяли гибриднему роботу уверенно решать поставленную задачу. Так, в случае выключения фотосенсоров или подкрепляющих стимулов перемещение робота было совершенно хаотичным, и приблизиться к источнику света ему не удавалось даже в течение десятков минут. Включение программ подкрепления приводило к достижению гибридным роботом лампочки в течение нескольких минут. При этом оказалось, что обе использованные модели подкрепления имеют примерно одинаковую эффективность и скорость решения поставленной задачи.

Можно отметить, что хотя использованный нами подход является крайне упрощенным, он, тем не менее, демонстрирует реальную способность живых нейронов управлять электронно-механическими устройствами, решающими навигационные задачи в реальной среде. Кроме того, в рамках данной работы мы не использовали в управлении гибридным роботом ассоциативной модели, сходной с выработкой условного рефлекса у сложных организмов. Фактически результатом этой части нашего исследования является создание удобной платформы для разработки гибридных систем, включающих в себя живые нейроны или группы нейронов и решающих в рамках произвольных алгоритмов задачи управления внешними устройствами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполненной работы показано, что в условиях формирования обратной связи нейроны ганглиев моллюска *Limnaea stagnalis in vitro* способны к формированию адаптивных реакций, позволяющих оптимизировать информационный обмен с внешними устройствами. Подобные реакции могут лежать в основе когнитивных свойств живых систем.

В дальнейшем представляется целесообразным в качестве биологических систем, управляющих внешними устройствами, использовать изолированные нейроны, реконструированные в условиях обратной связи нейронные системы из клеток, полученных от животных, находящихся на разных этапах эволюционного развития. Представляет интерес использование клеток нокаутных животных с модифицированным геномом и нейронов, полученных из плюрипотентных стволовых клеток. Важно и совершенствование нейрокомпьютерного интерфейса, который позволял бы получать более полную информацию о функциональной клеточной активности и оказывать воздействие в малоинвазивных условиях при длительном поддержании жизнедеятельности клеток *in vitro*.

БЛАГОДАРНОСТИ

В работе использованы материалы, полученные при выполнении интеграционного проекта Президиума СО РАН № 136, базового проекта 35.1.5., гранта РФФИ № 12-01-00639-а. Работа также поддержана грантами Минобрнауки России № RFMEFI61914X0005 и № RFMEFI62114X0010.

Разработка компьютерной программы проводилась в рамках бюджетного проекта VI.61.1.2.

ЛИТЕРАТУРА

Василевский Н.Н., Суворов Н.Б., Трубачев В.В. Устойчивые изменения частоты и синхронности разрядов корковых нейронных популяций в экспериментах с обратной связью // Докл. АН СССР. 1972. Т. 206. С. 510–512.
Vasilevsky N.N., Suvorov N.B., Trubachev V.V. Sustainable change frequency and timing of discharges of cortical neuronal populations in experiments with feedback // Doklady Akademii nauk SSSR. 1972. V. 206. P. 510–512. (In Russian).

Вербный Я.И., Могилевский А.Я. Возможный механизм пластических перестроек активности нейрона при различных режимах внутриклеточной электростимуляции по данным методов системного анализа // Журн. высш. нерв. деятельности. 1993. Т. 43. С. 129–138.
Verbnij Ya.I., Mogilevskij A.Ya. A possible mechanism of plastic rearrangements of neural activity in different regimes of intracellular electrical stimulation according to the methods of system analysis // Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. 1993. V. 43. P. 129–138. (In Russian).

Костенко М.А. Выделение одиночных нервных клеток из мозга моллюска *Limnaea stagnalis* для дальнейшего культивирования их *in vitro* // Цитология. 1972. Т. 14. С. 1274–1278.
Kostenko M.A. Isolation of single nerve cells of the brain clam *Limnaea stagnalis* for further culturing them *in vitro* // Tsitologiya. 1972. V. 14. P. 1274–1278. (In Russian).

Костюк П.Г. Проблема реактивности и современные достижения нейрофизиологии // Физиологические науки – медицине. Л.: Наука, 1983. С. 5–10.
Kostyuk P.G. The problem of reactivity and recent advances in neurophysiology // Phiol. Nauki – Medicine. Leningrad: Nauka, 1983. P. 5–10. (In Russian).

Котляр Б.И. Пластичность нервной системы. М.: Изд-во МГУ, 1986. 240 с.
Kotlyar B.I. The plasticity of the nervous system. M.: Moscow State University, 1986. 240 p. (In Russian).

Кэндел Е. Клеточные основы поведения. М.: Мир, 1980. 598 с.
Kandel E. Cellular basis of behavior. M.: Mir, 1980. 598 p. (In Russian).

Ратушняк А.С., Воскресенская Л.В., Панкова Т.М., Штарк М.Б. «Адаптивная» следовая реакция нейронов гиппокампа в культуре ткани // Докл. АН СССР. 1976. Т. 228. С. 1479–1481.
Ratushnyak A.S., Voskrecenskaya L.V., Pankov T.M., Stark M.B. «Adaptive» trace reactions of hippocampal neurons in tissue culture // Doklady Akademii nauk SSSR. 02/1976. V. 228. No. 6. P. 1479–1481. (In Russian).

Alkon D.L. Changes of membrane currents during learning // J. Exp. Biol. 1984. V. 112. P. 95–112.

Bakkum D.J., Gamblen P.M., Ben-Ary B., Chao Z.C., Potter S.M. MEART: The semi-living artist // Front. Neurobotics. 2007. V. 5. P. 1–10.

Bakkum D.J., Shkolnik A.C., Ben-Ary G., Gamblen P., DeMarse T.B., Potter S.M. Removing Some ‘A’ from AI: Embodied Cultured Networks, Embodied Artificial Intelligence, Lecture Notes in Computer Sci. 2004. V. 3139. P. 130–145.

Balaban P.M., Korshunova T.A., Bravarenko N.I. Postsynaptic calcium contributes to reinforcement in a three-neuron network exhibiting associative plasticity // Eur. J. Neurosci. 2004. V. 19. P. 227–233.

Cozzi L., D’Angelo P., Chiappalone M. *et al.* Coding and decoding of information in a bi-directional neural interface // Neurocomputing. 2005. 65–66. P. 783–792.

DeMarse T.B., Wagenaar D., Blau A.W., Potter S.M. The neurally controlled animat: biological brains acting with simulated bodies // Auton Robots. 2001. V. 11. No. 3. P. 305–310.

Hayashi I., Kiyotoki M., Kiyohara A., Tokuda M., Kudoh S.N.

- Acquisition of logicality in living neuronal networks and its operation to fuzzy bio-robot system // FUZZ-IEEE. 2010. P. 1–7.
- Hayashi I., Kiyotoki M., Kiyohara A., Tokuda M., Kudoh S.N. Fuzzy bio-interface: Indicating logicality from living neuronal network and learning control of bio-robot // Intern. Joint. Conf. on Neural Networks. 2011. P. 2417–2423.
- Kudoh S.N., Taguchi T., Hayashi I. Interaction and intelligence in living neuronal networks connected to moving robot // FUZZ-IEEE. 2006. P. 1162–1166.
- Kudoh S.N., Tokuda M., Kiyohara A., Hosokawa C., Taguchi T., Hayashi I. Vitroid – the robot system with an interface between a living neuronal network and outer world // Int. J. Mechatronics and Manufacturing Systems. 2011. V. 4. No. 2. P. 135–149.
- Kyriakides M., McCrohan C.R., Slade C.T. *et al.* The morphology and electrophysiology of the neurons of the paired pedal ganglia of *Lymnaea stagnalis* (L.) // Comp. Biochem. Physiol. Comp. Physiol. 1989. V. 93. P. 861–876.
- Mozzachiodi R., Byrne J.H. More than synaptic plasticity: role of nonsynaptic plasticity in learning and memory // Trends Neurosci. 2010. V. 33. P. 17–26.
- Mussa-Ivaldi F.A., Alford S.T., Chiappalone M. *et al.* New perspectives on the dialogue between brains and machines // Front. Neurosci. 2010. 4. doi: 10.3389/neuro.01.008.2010
- Novellino A., D'Angelo P., Cozzi L. *et al.* Connecting neurons to a mobile robot: an *in vitro* bidirectional neural interface // Comput. Intell. Neurosci. 2007. 2725. doi: 10.1155/2007/12725
- Shkolnik A.C. Neurally controlled simulated robot: applying cultured neurons to pandle and approach/avoidance task in real time, and a framework for studying learning *in vitro* / S.M. Potter, J. Lu. Dept. of Mathematics and Computer Science. Emory Univ., Atlanta, 2003.
- Syed N.I., Bulloch A.G., Lukowiak K. *In vitro* reconstruction of the respiratory central pattern generator of the mollusk *Lymnaea* // Science. 1990. V. 250. P. 282–285.
- Tessadori J., Bisio M., Martinoia S., Chiappalone M. Modular neuronal assemblies embodied in a closed-loop environment: toward future integration of brains and machines // Front. Neural Circuits. 2012.6:99. doi: 10.3389/fncir.2012.00099. Epub 2012 Dec 12.
- Warwick K., Xydias D., Nasuto S.J. Controlling a mobile robot with a biological brain // Def. Sci. J. 2010. V. 60. V. 1. P. 5–14.

ANALYSIS OF THE COGNITIVE PROPERTIES OF NEURAL SYSTEMS BASED ON BIOFEEDBACK

O.V. Vishnevsky^{1,2}, N.I. Putincev², T.A. Zapara³, A.S. Ratushnyak³

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia;

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia;

³ Design Technological Institute of Digital Techniques SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: ratushniak.alex@gmail.com

Summary

Problems of cognitive system reengineering, i.e., the development of devices with cognitive properties on the basis of their biological prototypes cannot be solved without understanding the basic features of the architecture of biological systems, information properties, and molecular organization of the primitive units forming the architecture: nerve cells. Construction of learning models permits one to explore the activity of individual cells not only in terms of behavioral responses to natural stimuli, but also in experiments on isolated preparations with excitation of peripheral bodies and isolated cell structures. The software-tool complex NeuroFeedBack has been developed, which includes a system of living neurons and a neuro-computer interface feedback. The complex provides the reception and processing of input signals from neurons, their visualization and storage, as well as the generation of output reinforcing stimuli applied to the neurons. Analysis of the functional activity of neurons of the right parietal ganglion of the *Lymnaea stagnalis* mollusc in three models of reinforcement was performed with the complex. It was shown that optimization of neural activity occurred under the conditions of biofeedback, allowing the neuron to minimize the quantity of the reinforcing stimuli. The results obtained provided grounds for the design of a hybrid robotic system in which living neural systems using neuro-computer interface could solve navigation tasks, controlling a real-time mechatronical device operating in the real environment. In the experiment, the use of the proposed programs of hybrid reinforcements allowed the robot to find a glowing light bulb and reach it in a few minutes.

Key words: neuron, neural network, cognitive features, biofeedback, hybrid robot.