

STEFAN KASICKI

*Zakład Neurofizjologii*

*Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN*

*Pasteura 3, 02-093 Warszawa*

## UŻYTECZNOŚĆ MODELI W BADANIU CZYNNOŚCI UKŁADU NERWOWEGO

Metody doświadczalne są podstawowym sposobem poznawania przez nas czynności układu nerwowego. Dzięki nim można badać mechanizmy nerwowe odpowiedzialne za zachowanie się organizmu, zarówno na poziomie pojedynczych neuronów, jak i całych zespołów komórek. Rozwój metod stosowanych do analizy danych doświadczalnych pozwala na uzyskanie lepszego wglądu w sposób działania mózgu. Równocześnie coraz szerzej do weryfikowania hipotez stawianych na podstawie wyników doświadczeń stosuje się metody badań modelowych. Również one rozwijają się dzięki powstawaniu nowych metod obliczeniowych, jak również dzięki postępowi technicznemu przy budowie nowych komputerów (pozwala to zwiększyć moc obliczeniową komputerów stosowanych na co dzień w laboratoriach bez ponoszenia zbyt wielkich kosztów).

Teoretyczne prace modelowe są nie tylko istotnym uzupełnieniem prac doświadczalnych, lecz mogą je nawet wyprzedzać podsuwając eksperymentatorom pomysły nowych doświadczeń, co jest szczególnie widoczne, na przykład, w fizyce. Również nauki biologiczne zaczynają stosować metody modelowe do badania wciąż jeszcze niezbyt dokładnie poznanych (a więc i nie opisanych) obszarów działania mózgu.

Korzystanie z modeli w badaniach naukowych nie jest tak naprawdę niczym nowym. Nauka używała ich i używa na każdym etapie badań. Już tak proste stwierdzenie, że jakiś układ potrafi rozpoznać pewne bodźce i stosownie do nich odpowiednio zareagować, jest stworzeniem modelu tego układu. Modele różnią się stopniem komplikacji, czyli dokładnością z jaką opisują badany proces. Badania układu nerwowego również nie mogą się obyć bez tworzenia modeli teoretycznych (w któ-

rych badany układ istnieje jedynie w rzeczywistości wirtualnej komputera) i doświadczalnych, istniejących w naszej fizycznej rzeczywistości (każdy eksperyment ma na celu zbadanie pewnego aspektu działania mózgu, więc pomija pozostałe, dlatego jest w pewnym sensie badaniem modelowym). Istotne znaczenie w planowaniu doświadczeń ma również dobranie odpowiedniego gatunku zwierzęcia.

Układ nerwowy minoga stanowi dobry, funkcjonalny model układu nerwowego kręgowców. Minóg jest bardzo prymitywnym kręgowcem z rodziny Petromyzonidae. Żyje w wodach słodkich lub morskich. Wyglądem przypomina węgorza, długość ciała dorosłych osobników wynosi od 15 cm do 1 m. Niezbyt skomplikowany układ nerwowy minoga, jego w miarę proste zachowanie ruchowe (pływa poruszając się jak wąż lub węgorz), a jednocześnie rozwój techniki odbiorów potencjałów wewnątrzkomórkowych pozwoliły na zgromadzenie wielu informacji o właściwościach i czynności poszczególnych neuronów w rdzeniu kręgowym.

W wyizolowanym rdzeniu kręgowym minoga, zanurzoną w odpowiednim płynie fizjologicznym, można bowiem wywołać rytmiczną aktywność komórek nerwowych podawaniem rozmaitych aminokwasów (neuroprzekazników lub ich agonistów). Z aksonów motoneuronów (korzonków ruchowych) rejestruje się wtedy rytmiczne wyładowania, których wzorzec jest bardzo podobny do wzorca czynności mięśni obserwowanej podczas pływania. Aktywność taką nazwano „pływaniem rzekomym” (ang. fictive swimming). Szczególnie cenna z punktu widzenia badacza jest możliwość badania zachowania poszczególnych neuronów (techniką odbioru wewnątrzkomórkowego) podczas pływania rzekomego.

## NEURON JAKO ELEMENT SIECI

Przez długi czas uważano, że układ nerwowy jest jednolitą, ciągłą strukturą. Podstawą dla dzisiejszego obrazu układu nerwowego jako sieci neuronów stało się odkrycie w 1889 roku przez hiszpańskiego uczonego Santiago Ramóna y Cajala, że układ nerwowy jest skomplikowaną siecią pojedynczych, oddzielnych elementów (neuronów) połączonych ze sobą specjalnymi „pomostami-przejściami”. Istnienie sieci złożonej z dyskretnych elementów stawia przed twórcą modelu (a również i neurofizjologami) podstawowe pytanie:

Jak dalece właściwości cechujące układ nerwowy są związane z cechami pojedynczych neuronów (wielkość, rodzaj neuroprzekaźnika itp.), a jak bardzo na jego cechy ma wpływ wzorzec połączeń między neuronami, czyli struktura sieci?

W dalszym ciągu artykułu przedstawię kilka modeli, z których korzystano przy próbach znalezienia odpowiedzi na to pytanie.

Jedną z kluczowych informacji uzyskanych w doświadczeniach elektrofizjologicznych było odkrycie, że działanie neuronu opiera się na zasadzie „wszystko albo nic”. Stwierdza ona, że dochodzące do neuronu pobudzające i hamujące wpływy z innych komórek sieci sumują się na błonie komórkowej, a neuron generuje potencjał czynnościowy dopiero wtedy, gdy ogólne pobudzenie przekroczy wartość progową. Opracowany w 1952 roku przez HODGKINA i HUXLEYA model matematyczny błony komórkowej neuronu jest do dzisiaj wykorzystywany w wielu badaniach symulacyjnych, które analizują zachowanie zarówno pojedynczych neuronów, jak i sieci neuronowych. Pozwala on na obliczenie

chwilowych wartości potencjału błony, czyli umożliwia badanie podprogowych zmian napięcia. Jednak wiele modeli sieci neuronowych, upraszczając opis zmian podprogowych potencjału błony do minimum, wykorzystuje do dzisiaj podstawową cechę neuronu, że znajduje się on albo w stanie pobudzenia albo „milczenia”. Pierwszy model sieci złożonej z takich dwustanowych elementów został zaproponowany przez MCCULLOCHA i PITTSA (1943). Za pomocą takich modeli przeprowadza się głównie analizę wpływu struktury połączeń na zachowanie i właściwości sieci. Modele tego typu cechuje względna prostota obliczeniowa, gdyż pomijają skomplikowany mechanizm zjawisk zachodzących w błonie (zmiany przepuszczalności poszczególnych kanałów jonowych, wpływ neuroprzekaźników itp.).

Modele, w których można było uwzględnić mechanizmy biochemiczne zachodzące w komórce nerwowej, zaczęły powstawać po zgromadzeniu przez neurofizjologów dostatecznej wiedzy o fizjologicznych właściwościach rozmaitych typów neuronów. Modele neuropodobnych sieci, wykorzystując dane eksperymentalne, uwzględniają w opisie swoich komórek wiele rzeczywistych parametrów. Dwustanowy model neuronu również zawiera w sobie takie właściwości, są one jednak wprowadzane do cech opisu neuronu w sposób sztuczny. Model neuronu, w którym uwzględniono zjawiska zachodzące w komórce zawiera w sposób „naturalny” wiele właściwości prawdziwych komórek (EKEBERG i współaut. 1991). Dzięki temu w symulowanym neuronie występuje taka cecha, jak na przykład możliwość integrowania sygnałów dochodzących przez synapsy.

## MODELE SIECI NEURONOWYCH

Jednym z celów neurofizjologów (a przynajmniej niektórych z nich) jest odtworzenie funkcjonalnego schematu sieci neuronowej mózgu, jednak bliższa realizacji wydaje się możliwość odtworzenia sieci, odpowiadających za realizację określonych funkcji (jak rozpoznawanie wzorców wzrokowych lub generacja ruchów lokomocyjnych). Najprostszym modelem takich sieci jest schemat blokowy, za pomocą którego próbuje się przedstawić funkcjonalną organizację układu na podstawie wiedzy o rzeczywistych oddziaływaniach zachodzących między poszczególnymi neuronami.

Przy tworzeniu modeli mających symulować rzeczywiste sieci neuronowe jesteśmy ograni-

czeni zakresem wiedzy o typach komórek i istniejących między nimi połączeniach, a przede wszystkim naszą znajomością ich zachowania (aktywności) u swobodnie poruszającego się zwierzęcia. Większość naszej wiedzy o zachowaniu i właściwościach neuronów jest wynikiem badań prowadzonych na mózgu zwierzęcia pozostającego w narkozie (uśpionego). Takie zwierzę nie ma możliwości wykonywania ruchów dowolnych bądź automatycznych (jak lokomocja). Badania na rdzeniu minoga są dlatego tak atrakcyjne, że umożliwiają rejestrację zachowania neuronów podczas pływania rzekomego.

Badania układu nerwowego zwierząt znajdujących się na niskim poziomie rozwoju filo-

genetycznego, jak stawonogów, ślimaków lub pijawek, rozpoczęte w późnych latach 60-tych, pozwoliły na stosunkowo dokładne poznanie ich układu nerwowego, między innymi dzięki ustaleniu sieci połączeń między wyróżnionymi typami neuronów. Wyniki eksperymentów przeprowadzonych na tych zwierzętach miały duże znaczenie, gdyż pokazały, że wiele z podstawowych cech układu nerwowego (neuroprzekazniki, receptory, oddziaływanie neuronów za pomocą potencjału rozchodzącego się po aksonie) jest wspólnych lub bardzo podobnych w całym niemal królestwie zwierząt. Układ nerwowy tych zwierząt ma jeszcze jedną zaletę dla badacza, choć jest skomplikowany, to jednak jest znacznie prostszy od układu nerwowego kręgowców, może więc być uważany za jego „fizjologiczny model”.

Badania modelowe sieci neuronowych zaczęły się od badania sieci systemów czuciowych. Obecnie pojawia się coraz więcej prac

modelowych dotyczących zachowania ruchowego. Szczególnym zainteresowaniem cieszą się proste sieci nerwowe odpowiedzialne za generację cyklicznych zachowań ruchowych, jak na przykład zachowanie pokarmowe zająca morskiego (*Aplysia*) lub lokomocja kręgowców. Jednym ze zwierząt stosowanych w badaniach systemu odpowiedzialnego za generację ruchów pływania stała się też pijawka. Dokładny opis czynności rozmaitych typów neuronów jej układu nerwowego został przedstawiony między innymi przez KRISTANA (1983). Najwięcej jednak wiemy już o właściwościach neuronów zaangażowanych w generację czynności lokomocyjnej minoga. Na podstawie wyników doświadczeń wykonanych na tym zwierzęciu przeprowadzono szereg badań modelowych, których celem jest osiągnięcie lepszego zrozumienia mechanizmów odpowiedzialnych za generację ruchów umożliwiających poruszanie się zwierzęcia (w przypadku minoga jest to pływanie).

#### ROZMAITE PODEJŚCIA W MODELOWANIU SIECI NEURONOWYCH

Zainteresowanie sieciami neuronowymi wynika z przyjętego przez badaczy założenia, że są one fizycznym „substratem” zachowania. Idea ta pozwoliła dokonać wielu istotnych odkryć dotyczących rozmaitego rodzaju sieci. I choć można zgodzić się z BULLOCKIEM (1993), że „istnieją pewne powody, by wątpić w słuszność myślenia opartego o terminy bazujące na sieci”, to jednak „podejście sieciowe” ułatwia nam zrozumienie sposobów działania mózgu. Jest to więc pierwszy krok, który musi być zrobiony. Badania symulacyjne można prowadzić na kilka sposobów, zależnie od przyjętych założeń wyjściowych dotyczących stopnia komplikacji modelu:

— Model funkcjonalny. Przyjmujemy, że sieć składa się z pewnych bloków (elementów). Z naszego punktu widzenia w modelu tym nie budowa poszczególnych bloków jest najważniejsza, lecz ich funkcja. Na przykład jeżeli dany blok ma generować sygnał cykliczny, to można go opisać za pomocą funkcji cyklicznej nie wnikając w szczegóły struktury generatora. Istotne jest, że bloki tworzące daną sieć mają wyjścia i wejścia, a generowany przez nie sygnał wyjściowy zmienia się zależnie od dochodzącego do nich sygnału. Takie podejście zakłada opisanie stanu całego układu za pomocą funkcji matematycznych, w których nie uwzględnia się wszystkich parametrów poszczególnych komórek, lecz tworzy całościowy opis układu.

— Model strukturalny (połączeniowy). Jeżeli przyjmie się, że generowane przez daną sieć

sygnały zależą również od struktury poszczególnych bloków, to wtedy pełny opis sieci (i jej właściwości) będzie zawierał także połączenia (przez określenie ich znaku i siły) między neuronami tworzącymi sieć wewnątrz bloków. W takim modelu zjawiska zachodzące na poziomie pojedynczego neuronu (czyli jego błony komórkowej) są opisywane w sposób uproszczony (schematyczny). Symulacyjne badania takiego modelu pozwalają głównie na dokonanie analizy wpływu połączeń i ich siły (a więc przepływu informacji) w obrębie badanej struktury, jak również znaczenia obecności poszczególnych typów komórek w sieci.

— Model całościowy. W tworzonej modelu można starać się uwzględnić nie tylko znane połączenia między wyróżnionymi typami komórek, lecz również dane doświadczalne opisujące właściwości mechanizmów odpowiedzialnych za transport jonów przez błonę komórki (rozmaite rodzaje receptorów, kanałów, gęstość ich rozmieszczenia itp.), które określają potencjał błony (a więc zachowanie komórki) w zależności od stanu środowiska i dochodzących do niej sygnałów. W modelu takim neurony są obdarzone właściwościami, które mają sprawić, że ich zachowanie będzie tak bliskie naturalnemu, jak na to mogą pozwolić możliwości obliczeniowe i obecny stan wiedzy, natomiast sama sieć jest tworzona zgodnie ze znanym schematem połączeń (jak w modelu strukturalnym).

Każde z tych podejść pozwala badać zachowanie takich samych strukturalnie sieci, które

różnią się przede wszystkim właściwościami i stopniem skomplikowania elementów (zespołów neuronów lub pojedynczych komórek). Poniżej omówimy tego typu modele, w których badano zachowanie sieci znajdującej się w rdze-

niu kręgowym, a odpowiedzialnej za generację ruchów lokomocyjnych minoga. Sieć tę nazywa się generatorem lokomocyjnym lub generatorem wzorca lokomocyjnego (CPG, ang. central pattern generator).

#### NEURONY RDZENIA KRĘGOWEGO MINOGA ZWIĄZANE Z GENERACJĄ RUCHÓW LOKOMOCYJNYCH

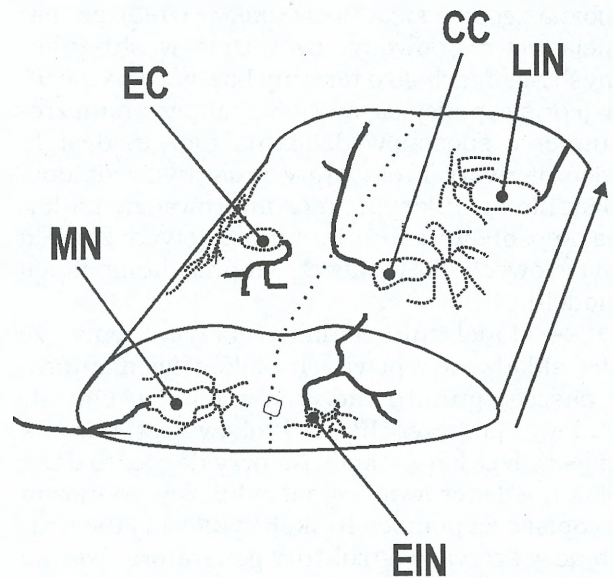
Badania elektrofizjologiczne i anatomiczne pokazują, że w układzie nerwowym istnieje wiele typów neuronów, które różnią się cechami morfologicznymi, właściwościami błony komórkowej, neuroprzekaźnikami i połączeniami, a zatem prawdopodobnie i funkcją. Stosowane w elektrofizjologii metody pozwalają na rozpoznanie niektórych typów komórek na podstawie ich właściwości elektrycznych, połączeń i sposobu oddziaływania z innymi neuronami. Część typów komórek występuje praktycznie u wszystkich zwierząt (np. motoneurony), inne komórki są bardziej specyficzne i występują jedynie u niektórych gatunków. Modelowanie zachowania danego układu wymaga znajomości podstawowych elementów jego struktury (tworzących go komórek i połączeń między nimi) i wzorców generowanych przez te elementy sygnałów. Rdzeń kręgowy minoga jest dobrym obiektem do badań modelowych, gdyż intensywne badania elektrofizjologiczne (połączone z badaniami histochemicznymi i anatomicznymi) pozwoliły wyróżnić w nim szereg typów neuronów na podstawie podstawowych połączeń między nimi i wzorców ich aktywności podczas pływania rzekomego (patrz rys. 1).

Motoneurony (MN) są komórkami nerwowymi pobudzającymi włókna mięśniowe poszczególnych miotomów (w rdzeniu kręgowym i w ciele minoga można wyróżnić około 100 segmentów; mięśnie unerwiane przez jeden segment tworzą miotom). Zależnie od unerwianych przez te neurony mięśni wyróżnia się motoneurony brzuszne i grzbietowe miotomu (WALLEN i współaut. 1985), jak również szybkie i wolne jednostki ruchowe (jednostką ruchową jest zespół złożony z motoneuronu i unerwianych przez niego włókien mięśniowych).

Motoneurony pobudzają włókna mięśniowe zgodnie z rytmem dochodzącej do nich aktywności interneuronów, które tworzą podstawową strukturę generatora lokomocyjnego. Do tej pory w rdzeniu kręgowym minoga wyróżniono szereg typów interneuronów (rys. 1), które wykazują cykliczną czynność zgodną z naprzemiennym wzorcem aktywności, rejestrowanym podczas pływania w korzonkach brzusznych:

— Interneurony CC (CC, ang. crossed caudal) są komórkami hamującymi, których aksony przechodzą na drugą stronę rdzenia i kierują się w kierunku ogona, lecz często mają również odnogę idącą po przeciwległej stronie rdzenia w kierunku głowy (BUCHANAN 1992). Wywierają działanie hamujące na wszystkie znane typy neuronów występujących po przeciwnej stronie rdzenia, które wykazują cykliczną aktywność podczas pływania rzekomego, to znaczy na motoneurony, interneurony CC, interneurony boczne i komórki brzegowe.

— Interneurony boczne (LIN, ang. lateral interneuron) są komórkami hamującymi (ich neuroprzekaźnikiem jest glicyna) o dużych ciążach. Znajdują się w bocznym obszarze substancji szarej rdzenia. Ich drzewko dendrytyczne rozciąga się bocznie do granic rdzenia, tworząc połączenia z bocznymi drogami zstępującymi (ROVAINEN 1974). Interneurony boczne ha-



Rys. 1. Schemat budowy i rozmieszczenia w rdzeniu kręgowym minoga wyróżnionych typów komórek: motoneurony (MN), komórki brzegowe (EC), interneurony CC, pobudzające (EIN) i boczne (LIN).

Pogrubioną linią zaznaczono aksony, cienką drzewka dendrytyczne i ciała komórek. Wszystkie typy neuronów wykazują rytmiczną aktywność podczas pływania rzekomego i mogą tworzyć podstawową strukturę generatora rytmu lokomocyjnego. Strzałka wskazuje kierunek ogona.

muja interneurony CC znajdujące się po tej samej stronie rdzenia (BUCHANAN 1992).

— Interneurony pobudzające (EIN, ang. excitatory interneurons) to małe komórki glutaminergiczne, pobudzające zarówno interneurony boczne, jak i interneurony CC w układzie generatora lokomocyjnego.

— Komórki brzegowe (EC, ang. edge cells) znajdują się w obrębie dróg bocznych rdzenia, a ich drzewko dendrytyczne rozciąga się wzdłuż bocznej granicy rdzenia kręgowego. Uważa się je za wewnątrzrdzeniowe receptory rozciągnięcia (GRILLNER i współaut. 1995), gdyż stwierdzono doświadczalnie, że boczne zgięcia rdzenia,

które normalnie występują podczas swobodnego pływania, wywołują w nich aktywność zgodną z rytmem zgięć.

— Interneurony modulujące (serotonergiczne) są ulokowane poniżej kanału centralnego rdzenia (VAN DONGEN i współaut. 1985). Uwalniana przez nie serotonina wywołuje dodatkowe pobudzenie neuronów, z którymi się łączą, czyli zwiększa częstotliwość ich wyładowań.

W rdzeniu kręgowym minoga występują również inne typy komórek, jednak nie stwierdzono, by wykazywały w czasie pływania rzekomego cykliczną aktywność, dlatego zostały pominięte w niniejszym opisie.

### MODELE GENERATORA LOKOMOCYJNEGO MINOGA

Wyróżnienie opisanych wyżej typów neuronów, poznanie ich podstawowych właściwości i połączeń, a zwłaszcza ustalenie, że są one rytmicznie aktywne (a przynajmniej występują w nich oscylacje potencjału błonowego) podczas pływania rzekomego umożliwiło rozpoczęcie badań modelowych hipotetycznego układu generatora lokomocyjnego.

Bardzo proste modele strukturalne są tworzone od początku wykonywania doświadczeń elektrofizjologicznych. Typowym podsumowaniem większości wyników takich doświadczeń jest propozycja schematu połączeń między wyróżnionymi eksperymentalnie typami neuronów na podstawie uzyskanych danych. Taki model ma jednak podstawową wadę, jest modelem myślowym. W związku z tym nie ma możliwości zbadania zachowania takiej sieci w zależności od rozmaitych parametrów.

Modele strukturalne były również wykorzystane przy badaniu organizacji połączeń sieci odpowiedzialnych za wytworzenie w rdzeniu kręgowym minoga zstępującej fali pobudzenia, która wywołuje naprzemienną aktywność motoneuronów po obu stronach rdzenia. Przedstawione niżej przykłady pokazują, jak dalece można uprościć model badanego układu w zależności od pytań, na które chcemy uzyskać odpowiedź stosując go. Zobaczymy również, jak negatywne wyniki symulacji wykazują istnienie luk w uzyskiwanej na podstawie doświadczeń fizjologicznych wiedzy o sieci generatora.

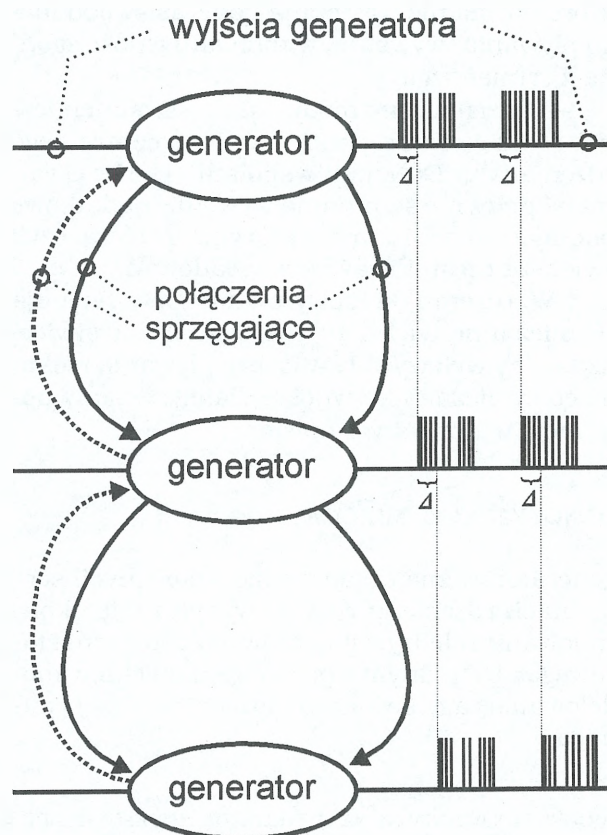
Podstawowy układ generujący naprzemiennie pobudzenie mięśni tułowia znajduje się w jednym segmencie rdzenia minoga i jest nazywany generatorem wzorca (CPG). Pływanie jest wynikiem pobudzania mięśni w kolejnych segmentach ciała minoga z zachowaniem odpowiednich odstępów czasowych (rys. 2). Mechanizm odpowiedzialny za koordynację czynności

generatorów znajdujących się w kolejnych segmentach rdzenia (a więc za wytworzenie i kontrolowanie międzysegmentowego opóźnienia fazowego), był jednym z pierwszych obiektów modelowania zastosowanego do sieci nerwowej minoga.

#### MODEL FUNKCJONALNY NA PRZYKŁADZIE MODELU UKŁADU KOORDYNUJĄCEGO CZYNNOŚĆ GENERATORÓW

Badanie czynności mięśni minoga podczas pływania, jak również rejestracja czynności korzonków ruchowych podczas pływania rzekomego pokazały, że kolejne miotomy są pobudzane z pewnym opóźnieniem czasowym. Jest oczywiste, że opóźnienie to musi wynikać z odpowiedniego skoordynowania czynności sąsiadujących generatorów. Zbadanie tego koordynującego mechanizmu w doświadczeniu na rdzeniu nie jest proste, gdyż nie wiadomo dokładnie, czego szukać. Nie można bowiem badać wielu połączeń między komórkami. Ogólna aktywność wyjściowa generatora może być zarejestrowana przez elektrody odbierające czynność korzonków ruchowych (czyli motoneuronów), jak jednak poszukiwać mechanizmów koordynujących czynność generatorów?

Na pytanie to spróbowała odpowiedzieć Avis Cohen, korzystając z bardzo prostego modelu strukturalnego (rys. 2). Interesowało ją przede wszystkim, jak rozmaite sposoby połączenia generatorów mogą wpływać na przesunięcie fazowe między poszczególnymi segmentami, a mniej ważne było, jak taki generator jest zbudowany. Autorka przyjęła więc, że jest to — ogólnie mówiąc — oscylator, w którym sygnał wyjściowy daje się opisać odpowiednią funkcją cykliczną. Założyła również, że siła połączeń między oscylatorami (a więc między segmentami rdzenia) zależy od różnicy faz między gene-



Rys. 2. Schemat modelu do badania oddziaływań między generatorami lokomotywnymi położonymi w poszczególnych segmentach rdzenia (COHEN i współaut. 1982).

Podczas pływania motoneurony znajdujące się w kolejnych segmentach są pobudzane z pewnym opóźnieniem  $D$  (przesunięciem fazowym), co pokazano schematycznie po prawej stronie rysunku. Model pozwala na zbadanie kierunku i intensywności oddziaływań między kolejnymi segmentami (oddziaływania zaznaczono strzałkami łączącymi generatory).

rowanymi przez nie sygnałami, czyli jest funkcją opóźnienia fazowego (COHEN i współaut. 1982). Każdy z oscylatorów mógł generować rytmiczną aktywność, której częstotliwość mogła być inna w sąsiadujących ze sobą generatorach.

Okazało się, że tak zbudowany model (czyli przyjęte założenia) nie jest w stanie wytłumaczyć zjawisk zachodzących w rdzeniu kręgowym minoga. Jeśli oscylatory były jednakowo pobudzone, połączenie ich ze sobą w sieć mającą odtworzyć rdzeń kręgowy spowodowało ustalenie się zerowego przesunięcia fazowego między nimi. Sieć pracowała więc synchronicznie, jak jeden duży segment, zamiast wytworzyć wędrującą wzdłuż rdzenia falę pobudzeń z odpowiednim opóźnieniem fazowym. Uzyskanie opóźnienia fazowego między poszczególnymi segmentami wymagało zwiększenia częstotliwości podstawowego rytmu oscylatorów znajdują-

cych się w przygiłowej części modelu. Częstotliwość ta stopniowo zmniejszała się w miarę przesuwania się ku ogonowi.

Badania modelowe pozwoliły więc na postawienie hipotezy, jak powinny się zachowywać generatory znajdujące się w rdzeniu minoga, jeśli przyjęte założenia są zgodne z rzeczywistością. Cohen postanowiła zweryfikować eksperymentalnie hipotezę, że izolowane od siebie segmenty rdzenia (tym samym lokalne oscylatory) generują rytmy o różnych częstotliwościach zależnie od tego, czy znajdują się bliżej głowy czy ogona. Dświadczenia przeprowadzone na izolowanym rdzeniu nie potwierdziły jednak tej hipotezy (COHEN 1987). Cohen postanowiła więc dalej szukać mechanizmów, które mogłyby wytworzyć wędrującą wzdłuż rdzenia falę pobudzenia, lecz bez konieczności zakładania różnic częstotliwości pracy lokalnych oscylatorów (COHEN i współaut. 1992). Przyjęła, jak w poprzednim modelu, że siła połączenia między oscylatorami zależy od wielkości różnicy faz między nimi. Funkcje określające sprzężenie między oscylatorami miały bardzo ogólną postać z kilkoma ograniczeniami jakościowymi. Na przykład założono, że zstępujące i wstępujące sygnały sprzęgające powinny być zdolne do przyspieszenia lub spowolnienia rytmu generowanego przez kontrolowany przez nie oscylator. Badania modelu przy przyjętych założeniach pokazały, że do uzyskania stabilnego pływania ze stałym opóźnieniem fazowym między poszczególnymi generatorami niezbędne jest dodatkowe założenie, iż wpływy zstępujące i wstępujące nie mogą się równoważyć (tzn. nie mogą być symetryczne). Któryś z nich musi dominować i określać przesunięcie fazowe. Jeśli oba rodzaje wpływów równoważą się, a wszystkie oscylatory generują rytm o tej samej częstotliwości, to przesunięcia fazowe nie są stabilne już przy niewielkich zmianach siły sprzężenia i generowanej częstotliwości.

Wyniki uzyskane na podstawie opisanych wyżej prac modelowych zostały ponownie zweryfikowane w doświadczeniu na preparacie rdzenia kręgowego. Wywołano w nim pływanie rzekome podaniem pobudzającego aminokwasu i wprowadzono dodatkowy sygnał zakłócający poruszając z boku na bok końcową częścią rdzenia. Znajdujące się w rdzeniu minoga mechanoreceptory, komórki brzegowe, w odpowiedzi na rytmiczne wygięcia rdzenia generowały paczki impulsów, które nakładały się na oscylacje wytwarzane przez generator wzorca lokomotywnego. Powstały w ten sposób w sieci nerwowej rdzenia dwa rytmy, jeden wynikał z pobudzenia generatora lokomotywnego, drugi był odpowiedzią na rytm zewnętrzny, którego czę-

stotliwość można było łatwo zmieniać. Okazało się, że rytm zewnętrzny wprowadzony ruchami biernymi rdzenia zdominował aktywność sieci generatora i zaczęła „płynąć” zgodnie z nim.

Wyniki uzyskane w dwóch rodzajach eksperymentów — na zwierzęciu i na modelu — pozwoliły więc Cohen zaproponować opis między-segmentowego systemu koordynującego czynność poszczególnych segmentów rdzenia. Na podstawie wyników doświadczeń symulacyjnych stwierdziła, że sygnały wstępujące powinny dominować nad sygnałami zstępującymi, po czym w eksperymencie fizjologicznym wykazała, że jest tak naprawdę. Opisany przypadek jest dobrym przykładem dla poparcia tezy, że badania modelowe stają się nie tylko dodatkowym narzędziem do weryfikowania hipotez wynikających z doświadczeń fizjologicznych, lecz uzyskane z ich pomocą wyniki pozwalają również badaczom stawiać pytania i propozycje dotyczące sposobu działania układu nerwowego. Istotne jest, że nawet model stosujący dość ogólny opis badanego, rzeczywistego układu może dać wiele informacji o jego właściwościach.

#### MODEL STRUKTURALNY

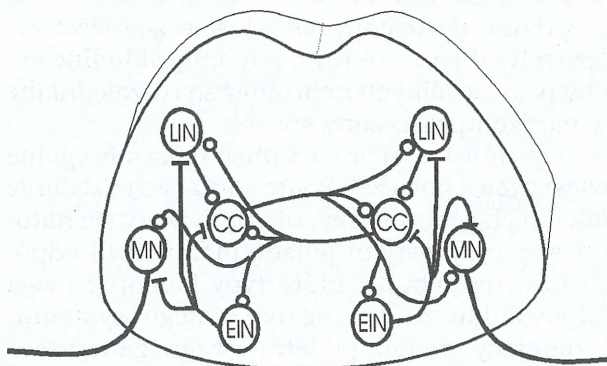
Model zastosowany przez Cohen był jednak bardzo odległy od rzeczywistej struktury sieci nerwowej, jeśli myśli się o niej jako o sieci elementów reprezentujących pojedyncze neurony, połączonych między sobą i oddziałujących na siebie. Z taką siecią mamy do czynienia przy modelowaniu strukturalnym.

Komputerowa analiza działania modelu strukturalnego nie jest dzisiaj trudna. Jednak przy pierwszych próbach modelowania sieci generatorów lokomocyjnych podejście strukturalne było praktycznie jedynym możliwym. Przy modelowaniu korzystano wtedy nie tylko z komputerów (które były znacznie mniej dostępne, jak również ich moc obliczeniowa była nieporównanie słabsza), lecz także z modeli fizycznych, zbudowanych z półprzewodników. Pozwoliły one zbadać właściwości prostych sieci, które mogłyby być odpowiedzialne na przykład za generację podstawowego wzorca pobudzeń obserwowanego w mięśniach kończyn kota (np. ZMYŚŁOWSKI i KASICKI 1986). Badanie modelu strukturalnego nie wymaga tak bardzo skomplikowanych i czasochłonnych obliczeń, jak podejście całościowe (które opisuję dalej), dlatego jest stosowane do dzisiaj w badaniach ogólnych własności sieci neuronowych.

W pracach Cohen przyjęto, że lokalne oscylatory działają w pewien sposób, lecz pominięto problem struktury takiego generatora, czyli jak wygląda sieć połączeń neuronów znajdujących

się w segmencie rdzenia. Model nie uwzględniał danych fizjologicznych, dotyczących typów neuronów i połączeń między nimi. Zajmował się analizą układu w sposób bardzo ogólny. W doświadczeniach prowadzonych na rdzeniu minoga wyróżniono szereg typów neuronów w segmentach rdzenia, między innymi na podstawie ich połączeń zaproponowano podstawową strukturę generatora lokomocyjnego (GRILLNER i współaut. 1988, BUCHANAN 1992).

Schemat hipotetycznej sieci generatora (GRILLNER i współaut. 1988) przedstawiono na rysunku 3. Autorzy przyjęli założenie, że generator jest symetryczny, to znaczy że po obu stronach rdzenia znajdują się identyczne sieci oddziałujące na siebie. Przyjęto, że główną rolę w sprzęgnięciu obu połówek odgrywają hamujące interneurony CC. Modelowanie przeprowadzono korzystając z programu, który umożliwiał proste tworzenie modelu sieci i szybkie sprawdzenie wpływu zmian połączeń między neuronami. Program ten pozwalał na stworzenie macierzy połączeń hamujących i pobudzających między poszczególnymi elementami sieci. Wprowadzając połączenia można było równocześnie ustalić podstawowe parametry określające właściwości neuronu, czyli: 1) poziom aktywności (to znaczy jej zakres od minimum do maksimum); 2) próg zadziałania neuronu i 3) poziom spoczynkowy. W omawianej symulacji próg był ustawiony na poziomie zerowym, tak więc minimalny nawet sygnał pobudzający neuron wywoływał aktywność na jego wyjściu. Całkowity sygnał wejściowy każdego z elementów był sumą sygnałów zewnętrznych w sieci — pobudzających (dodatnich) i hamujących (ujemnych).



Rys. 3. Schemat podstawowego, znajdującego się w segmencie układu rdzeniowego generatora lokomocyjnego minoga (GRILLNER i współaut. 1988).

W skład generatora wchodzi wyróżnione doświadczalnie typy komórek rdzenia kręgowego. Połączenia hamujące zaznaczono liniami kończącymi się kółkami, połączenia pobudzające liniami zakończonymi poprzecznym odcinkiem. Pozostałe oznaczenia jak na rysunku 1.

W modelu strukturalnym w sieci nie istnieją mechanizmy własne, które umożliwiłyby podtrzymanie rytmicznej aktywności motoneuronów, dlatego stosuje się pobudzający sygnał zewnętrzny, którego intensywność może się zmieniać w pewnych granicach. Dla opisu poszczególnych neuronów przyjęto te same wartości podstawowych parametrów we wszystkich typach neuronów:

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| — poziom spoczynkowy              | 0  |
| — wartość progu generacji impulsu | 0  |
| — maksymalna wartość pobudzenia   | 1  |
| — minimalna wartość pobudzenia    | -1 |
| — waga synapsy pobudzającej       | +1 |
| — waga synapsy hamującej          | -1 |

Przeprowadzone symulacje miały na celu zbadanie zachowania się sieci generatora w czasie jego cyklicznej aktywności. Analizowano wzorzec czynności neuronów poszczególnych typów, zależność rytmu generowanego przez generator od intensywności ciągłego zewnętrznego pobudzenia dochodzącego do wszystkich neuronów, jak również wpływ połączenia dwóch oscylatorów na generowany przez nie sygnał. Badanie zachowania sieci (BUCHANAN 1992) pokazało, że przy tak określonych parametrach pobudzenie zewnętrzne dochodzące do interneuronów CC musiało być większe od pobudzeń „zasilających” pozostałe neurony w sieci. Stwierdzono również, że warunkiem pobudzenia generatora do oscylacji jest wystąpienie w nim niewielkiej asymetrii siły połączeń między neuronami. Uzyskano to rozsymetryzowując pobudzenie dochodzące do pozostałych elementów sieci z interneuronów pobudzeniowych (EIN).

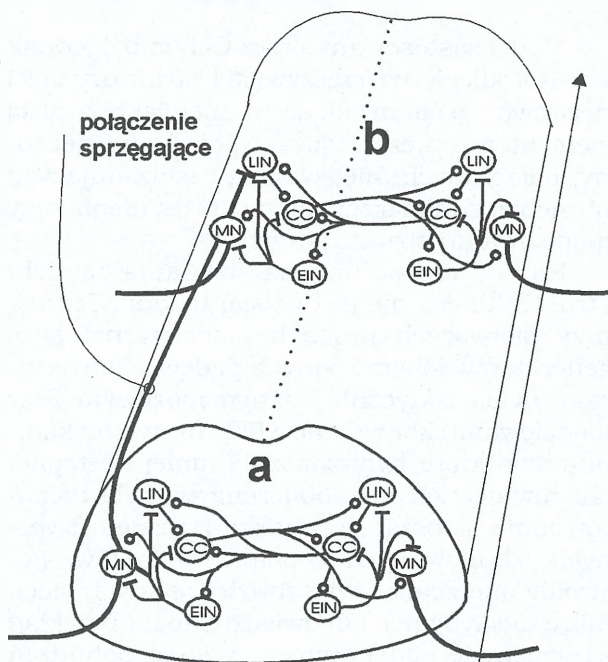
Doświadczenia symulacyjne Buchanana wykazały, że modele sieci zbudowanych z neuronów o bardzo prostych właściwościach są przydatne do testowania właściwości sieci zależnych od jej struktury, gdy indywidualne cechy poszczególnych neuronów są uwzględniane w bardzo uproszczony sposób.

Opisane wyżej prace Cohen pokazały ogólne właściwości połączeń koordynujących działanie lokalnych generatorów, nie zajmowały się natomiast rzeczywistymi połączeniami, czyli odpowiedzią na pytanie, które typy komórek mogą odpowiadać za sprzęganie całego systemu. Działający model podstawowego generatora lokomocyjnego został wykorzystany przez Buchanana do zbadania problemu, czy do sprzęgnięcia dwóch oscylatorów, znajdujących się w sąsiadujących segmentach, wystarczą połączenia między wyróżnionymi eksperymentalnie neuronami. W tym celu przeprowadził on analizę zachowania sieci złożonej z dwóch generatorów, oddziałujących na siebie za pośrednic-

twem neuronów jednego, dwóch lub więcej typów (rys. 4).

W badaniach symulacyjnych sprzęgnięcie dwóch znajdujących się w sąsiednich segmentach generatorów (a) i (b) za pomocą połączenia, w którym interneurony pobudzające EIN generatora (a) oddziaływały na interneurony hamujące LIN generatora (b), dało stabilne wyprzedzenie fazowe w generatorze (b) (BUCHANAN 1992). Zwiększanie wagi tego połączenia powodowało, że zmniejszała się liczba cykli potrzebnych do ustalenia stanu stabilnego przesunięcia fazowego, które jednocześnie stawało się większe. W doświadczeniach symulacyjnych sprawdzono w ten sposób efekt łączenia dwóch generatorów poprzez testowanie połączeń między podstawowymi typami interneuronów, wyróżnionymi w rdzeniu minoga, to znaczy między komórkami typu CC, LIN i EIN.

W doświadczeniach na izolowanym rdzeniu kręgowym minoga wykazano, że charakterystyczną cechą połączenia międzysegmentowego jest stałe przesunięcie fazowe pomiędzy segmentami, gdy określimy je jako odpowiednią część cyklu (COHEN 1987). Na modelu spraw-



Rys. 4. Schemat układu do badania oddziaływań między generatorami lokomocyjnymi przy uwzględnieniu ich wewnętrznej struktury, to znaczy rozmaitych typów interneuronów (BUCHANAN 1992).

Zastosowanie takiego modelu pozwala na badanie znaczenia konkretnych połączeń między wybranymi rodzajami komórek. Na rysunku zaznaczono jako przykład połączenie między interneuronem EIN generatora „a” a interneuronem LIN generatora „b”. Pozostałe oznaczenia jak na rysunku 1.

dzono, czy cecha ta jest właściwa dla badanej sieci zmieniając pobudzenie zewnętrzne dochodzące do interneuronów EIN. Okazało się, że wydłużanie czasu trwania cyklu przy większości typów połączeń powodowało zwiększanie przesunięcia fazowego. Jedynym wyjątkiem był przypadek, gdy połączono oba generatory przez interneurony CC-CC, w takiej sytuacji przesunięcie fazowe zmniejszało się.

Ważną cechą generatorów rdzeniowych jest ich zdolność do zachowania sprzężenia między segmentami dla szerokiego zakresu częstotliwości rytmu pływania. W doświadczeniach na izolowanym rdzeniu wykazano, że w odseparowanych od siebie fragmentach rdzenia kręgowego, umieszczonych w tym samym roztworze pobudzających aminokwasów, częstotliwość rytmu generowanego w jednej części może być nawet dwa razy wyższa niż w drugiej. Nie udało się wykazać, by różnice te zależały od położenia danego fragmentu rdzenia (czy są bliżej ogona, czy też głowy). Badanie na modelu możliwości uzyskania takiej samej częstotliwości generowanego rytmu przy zastosowaniu połączeń między różnymi typami interneuronów pokazało, że zastosowanie niektórych z tych połączeń sprawia, iż aktywność sprzęgniętych w ten sposób generatorów jest bardziej stabilna przy zmianach częstotliwości rytmu lokomocyjnego (BUCHANAN 1992). Szczególnie skuteczne było wprowadzenie połączeń dwukierunkowych, zwłaszcza między neuronami pobudzającymi (EIN-EIN). Sieć mogła wtedy sprząć generatory i osiągnąć tę samą częstotliwość oscylacji w ciągu jednego cyklu, wykazując również dużą odporność na występowanie różnic pomiędzy częstotliwościami rytmów wytwarzanych przez generatory w momencie ich aktywacji.

Opisane wyżej przykłady miały na celu pokazanie, jak przeprowadzenie badań symulacyjnych na nawet względnie prostych modelach może wpłynąć na planowanie doświadczeń. Badania modelowe jakiegoś systemu, zwłaszcza w swej początkowej fazie, nie odpowiadają na pytanie, czy proponowany model systemu istniejącego realnie jest dokładnym opisem rzeczywistości. Mogą one jedynie określić, czy efekt działania modelu jest taki sam, jak symulowanego obiektu i w jakich granicach mogą się zmieniać parametry opisujące właściwości tego systemu. Dzięki przedstawionym wyżej modelom można było sprawdzić, czy generator lokomocyjny o budowie zgodnej ze schematem zaproponowanym na podstawie wyników eksperymentów fizjologicznych jest w stanie wytwarzać rytm, którego parametry odpowiadałyby cechom rytmu pływania minoga. Udało się wykazać, że taki generator lokomocyjny jest w

stanie działać przy określonych wartościach parametrów opisujących jego elementy i połączenia. Jest to ważne, gdyż dzięki temu opis schematu (czyli tak naprawdę model, w którym pewne właściwości zostały określone słowem „jakoś”) został zamieniony na model matematyczny, w którym ustalono wartości graniczne występujących w nim parametrów. Korzystanie z modelu matematycznego wymaga bowiem użycia liczb, które określają działanie modelowanego obiektu. Stwierdzenie to jest truizmem, ale jednak warto je powtarzać. Wielu ludziom wydaje się, iż wiemy już tak dużo o mózgu, że nie ma potrzeby robienia eksperymentów i dla dalszego poznania mechanizmów nerwowych wystarczy stosować metody symulacyjne. Jednak korzystanie z metod symulacyjnych przede wszystkim pozwala uporządkować uzyskane dane i zweryfikować poprawność hipotez w ramach posiadanej wiedzy, jak również wykazać istniejące w niej luki, jeśli w modelu nie można uzyskać zachowania obserwowanego w rzeczywistym układzie.

#### NEUROPRZEKAŹNIKI, BŁONA KOMÓRKOWA I SIEĆ POŁĄCZEŃ — MODEL CAŁOŚCIOWY

Działanie sieci i jej właściwości są określone przez schemat połączeń między jej elementami — neuronami. Jednak proces integrowania dochodzących do neuronów pobudzeń i hamowań, jak również sposób kodowania informacji przekazywanej z jednego neuronu do innych (tzn. częstotliwość i wzorec czasowy wyładowań komórkki) zależą od procesów fizykochemicznych, odbywających się w pojedynczych neuronach. Dlatego możliwość modelowania układu generatora lokomocyjnego z wykorzystaniem jak największej liczby danych, opisujących te procesy przyciąga uwagę rozmaitych grup badawczych. Największymi osiągnięciami może się wykazać grupa Grillnera, która prowadzi badania symulacyjne od ponad 10 lat, uwzględniając w swoich modelach coraz więcej danych fizjologicznych.

W swoich badaniach symulacyjnych korzystają oni z modelu neuronu, który składa się z pięciu połączonych ze sobą elektrycznie segmentów (ang. compartments): pojedyncze segmenty symulują zmiany napięcia na błonie ciała komórki i wzgórką aksonalnego (gdzie inicjowany jest potencjał czynnościowy), a trzy segmenty reprezentują bierne właściwości drzewka dendrytycznego (EKEBERG i współaut. 1991). Procesy zachodzące w segmencie reprezentującym ciało komórki odbywają się zgodnie z równaniami typu Hodgkina-Huxleya, które opisują zachowanie zależnych od napięcia ka-

nałów  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  i  $\text{Ca}^{2+}$ , a także kanałów  $\text{K}(\text{Ca})$ . Model neuronu może generować potencjał czynnościowy, po którym następuje faza hiperpolaryzacji, która we wczesnej fazie wynika z aktywności zależnych od napięcia kanałów  $\text{K}^+$ , a następnie kanałów  $\text{K}(\text{Ca})$ . Parametry opisujące bierne i czynne właściwości neuronu dobrano tak, by generowane przez model odpowiedzi były podobne do rejestrowanych podczas doświadczeń elektrofizjologicznych ze średniej wielkości interneuronów i motoneuronów rdzenia kręgowego minoga (por. BUCHANAN 1993). W modelu neuronu uwzględniono również kanał kontrolowany przez receptor NMDA. Kanał ten jest przepuszczalny dla kationów  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  i  $\text{Ca}^{2+}$ , może być blokowany przez jony  $\text{Mg}^{2+}$  w zależności od wartości napięcia na błonie komórkowej.

Opisany model neuronu miał służyć do ustalenia cech sieci generatora lokomocyjnego, zbudowanej z elementów, których właściwości są bliskie rzeczywistym neuronom. Badaczom chodziło o to, by nie opisywać zachowania neuronów jakąś ogólną funkcją (jak w przytoczonych wyżej przykładach), lecz by symulowane neurony reagowały jak rzeczywiste, by ich odpowiedzi były wynikiem symulacji naturalnych procesów przebiegających w komórce. Dlatego zbadano zachowanie modelu komórki nerwowej w zależności od wartości parametrów opisujących kanały  $\text{K}^+$ , NMDA i  $\text{Ca}^{2+}$ , jak również fazę hiperpolaryzacji następczej. Pozwoliło to na określenie wpływu rozmaitych czynników na oscylacje potencjału błony komórkowej neuronu, wywołane aktywacją receptora NMDA. Jednym z takich czynników wpływających na zachowanie kanałów kontrolowanych przez receptor NMDA zależnie od wysokości napięcia na błonie, a więc i na mechanizm generowania oscylacji tego potencjału, są jony  $\text{Mg}^{2+}$ . Zmieniając stężenie tych jonów w środowisku symulowanego neuronu uzyskano efekty obserwowane w rzeczywistości. Wyniki przeprowadzonych symulacji pozwoliły autorom stwierdzić, że uwzględnienie obecności receptorów NMDA w błonie komórki nerwowej zapewnia wystąpienie w symulowanych neuronach oscylacji potencjału błony (BRODIN i współaut. 1991, TRAVEN i współaut. 1993).

Z badań elektrofizjologicznych wiadomo, że pływanie rzekome można wywołać podawaniem do roztworu, w którym znajduje się rdzeń kręgowy minoga szeregu neuroprzebiegów, jak i ich agonistów. W symulacjach przeprowadzonych na prostej sieci, której struktura była zgodna ze schematem przedstawionym na rys. 3 a jej elementami były opisane wyżej neurony, wykazano, że zachowuje się ona podobnie do

rzeczywistej sieci w rdzeniu minoga, to znaczy że tworzące ją neurony przejawiały aktywność podobną do czynności obserwowanej podczas pływania rzekomego w prawdziwych neuronach (BRODIN i współaut. 1991). Aktywność taką można wywołać również w sieci zbudowanej ze znacznie prostszych elementów, gdy na wejścia jej neuronów podaje się sygnał pobudzający (por. wyżej). Jednak w modelu strukturalnym ten pobudzający sygnał miał „symulować” pobudzenie wywołane podaniem neuroprzebiegów bądź ich agonistów, gdy w modelu całościowym grupy Grillnera neurony sieci są wyposażone w receptory NMDA lub kainianowe/AMPA. „Podanie NMDA do środowiska” symulowanej sieci, czyli odpowiednia aktywacja receptorów NMDA, doprowadziło do rytmicznej aktywności neuronów, a generowany rytm zależał od stężenia aminokwasu. Badanie modelowe potwierdziło więc, że pobudzenie właśnie tego receptora może wywołać rytmiczną aktywność generatora.

W innej symulacji wykazano, że również aktywacja receptorów kainianowych/AMPA wywołuje pływanie rzekome, czyli rytmiczną aktywność w korzonkach ruchowych (GRILLNER i współaut. 1995, HELLGREN i współaut. 1992). Częstotliwość tego rytmu była zgodna z górnym zakresem częstotliwości wyładowań obserwowanych w preparacie biologicznym, natomiast pobudzenie samych receptorów NMDA dawało wolne rytmy. Wynik ten dobrze odpowiada rezultatom doświadczeń na izolowanym rdzeniu minoga. Na modelu zbadano również czynniki, które wpływają na zakończenie pojedynczej serii wyładowań w ramach cyklu. Stwierdzono, że sumowanie późnych faz występującej po potencjale czynnościowym hiperpolaryzacji jest głównym czynnikiem odpowiedzialnym za zakończenie pojedynczego ciągu wyładowań występujących w cyklu zarówno przy pływaniu wywołanym kainianem lub AMPA, jak również przy oscylacjach wywołanych podaniem NMDA. Badania symulacyjne pokazały, że hamowanie synaptyczne wywołane czynnością interneuronów bocznych (LIN) może mieć duży udział przy generacji rytmu o wyższych częstotliwościach oscylacji spowodowanych pobudzeniem receptorów kainianowych/AMPA.

W przedstawionych pracach udało się więc uwzględnić i zasymulować mechanizmy odpowiedzialne za zmiany potencjału błony komórki, co z kolei pozwoliło zbadać znaczenie tych mechanizmów dla działania generatora lokomocyjnego rytmu, choć symulowana sieć miała poważne ograniczenie — była zbudowana z pojedynczych reprezentantów poszczególnych typów neuronów. Dla neurofizjologa szczególnie

interesujące jest jednak uzyskanie odpowiedzi na pytanie, jak zachowuje się sieć, w której występuje więcej niż jeden neuron tego samego typu, natomiast parametry opisujące te neurony różnią się między sobą w pewnym zakresie. Sytuacja taka jest bardziej zbliżona do rzeczywistości, gdzie mamy do czynienia z wielką liczbą neuronów jednego typu.

Badania takie umożliwił program SWIM (działający pod UNIXem). Pozwolił on na symulację sieci zbudowanej z setek neuronów, dzięki czemu zbadano zachowanie sieci symulującej rdzeniowy generator wzorca lokomocyjnego. Symulacje przeprowadzone na sieci generatora o znanej już nam strukturze, lecz mającej większą liczebność poszczególnych elementów, pokazały, że dynamika aktywności neuronów w modelu populacyjnym (HELLGREN i współaut. 1992) jest większa niż w modelu stosowanym wcześniej (GRILLNER i współaut. 1988, WALLEN i współaut. 1992). Analiza zachowania modelu populacyjnego w zależności od parametrów opisujących intensywność połączeń elementów sieci wykazała, iż siła wzajemnych oddziaływań hamujących między neuronami odgrywa bardzo ważną rolę w regulacji częstotliwości generowanego cyklu. Zmiana siły połączeń hamulcowych pozwalała uzyskać rytmiczną czynność

sieci w pełnym zakresie fizjologicznych częstotliwości pływania rzekomego. W warunkach symulacji modelu populacyjnego okazało się, że choć aktywność hamujących interneuronów bocznych (LIN) wpływa na zakończenie pojedynczego cyklu, to nie jest ona niezbędna dla generacji rytmu. Interneurony te mogą być jednak szczególnie ważne w razie potrzeby szybkiego przerwania cyklicznej pracy generatora, na przykład przy zmianie kierunku pływania.

Przeprowadzone przez grupę Grillnera prace symulacyjne pozwoliły więc wykazać, że poznane dotąd mechanizmy i oddziaływania w sieci rdzeniowego generatora lokomocyjnego u minoga zapewniają stabilność jego działania w pełnym zakresie fizjologicznym. Uwzględnienie w modelu populacji neuronów rozmaitych typów zapewnia sieci większą stabilność i odporność na zakłócenia niż w prostym modelu, w którym wykorzystuje się pojedyncze neurony. Ten wynik jest szczególnie interesujący, gdyż pozwala zapełnić lukę między pracami wykorzystującymi bardzo proste sieci (złożone z pojedynczych reprezentantów danego typu neuronów) a pracami korzystającymi z wielu prostych neuronów-jednostek przy tworzeniu sztucznych sieci nerwowych.

## PODSUMOWANIE

Podstawowym celem badania mechanizmów nerwowych odpowiedzialnych za generację ruchów lokomocyjnych jest poznanie struktury sieci generatora lokomocyjnego i sposobu sterowania jego czynnością. Doświadczenia elektrofizjologiczne pozwalają nie tylko zbadać połączenia między różnymi typami komórek, lecz także zarejestrować aktywność neuronów w preparacie izolowanego rdzenia kręgowego minoga podczas pływania rzekomego. Analizując zachowanie neuronów podczas pływania rzekomego, ich właściwości, położenie i połączenia fizjologowie wyróżnili pewne typy komórek,

które mogą być elementami generatora. Nie można jednak eksperymentalnie odpowiedzieć na pytanie, czy struktura generatora (proponowana na podstawie wyników doświadczeń fizjologicznych) jest rzeczywiście zdolna do wytwarzania rytmicznej aktywności motoneuronów. Najlepszym sposobem uzyskania na nie odpowiedzi jest zbadanie zachowania hipotetycznego generatora w doświadczeniach symulacyjnych prowadzonych na rozmaitych modelach. Dlatego modelowanie jest coraz bardziej atrakcyjne.

## USEFULNESS OF MODELS IN STUDIES OF THE NERVOUS SYSTEM FUNCTIONS

### Summary

The basic aim of the research on the nervous mechanisms responsible for generation of locomotor movements is to recognize the structure of central pattern generator (CPG) and the way how it can be controlled. Electrophysiological experiments on lamprey provide the opportunity to record the activity of neurons in isolated spinal cord preparations during fictive swimming. Various types of neurons were differentiated on the basis of their activity pattern during fictive swimming, localization and connections established. These cells were used to reconstruct the structure of CPG

controlling swimming movements of lamprey. However, the physiological experiments cannot answer the question whether the theoretical structure of CPG proposed on the basis of experiments does correspond to that generating pattern of rhythmic activity of motoneurons. The best way to deal with the problem is to analyze the behavior of the theoretical network in computer models, simulating physiological experiments. The paper gives examples of such simulating experiments, performed on various types of models.

## LITERATURA

- BRODIN L., TRAVEN H. G., LANSNER A., WALLEN P., EKEBERG O., GRILLNER S., 1991. *Computer simulations of n-methyl-D-aspartate receptor-induced membrane properties in a neuron model*. J. Neurophysiol. 66, 473–84.
- BUCHANAN J. T., 1993. *Electrophysiological properties of identified classes of lamprey spinal neurons*. J. Neurophysiol. 70, 2313–2325.
- BUCHANAN J. T., 1992. *Neural network simulations of coupled locomotor oscillators in the lamprey spinal cord*. Biol. Cybern. 66, 367–374.
- BULLOCK T. H., 1993. *How are more complex brains different? One view and an agenda for comparative neurobiology*. Brain Behav. Evol. 41, 88–96.
- COHEN A. H., 1987. *Effects of oscillator frequency on phase-locking in the lamprey central pattern generator*. J. Neurosci. Methods. 21, 113–125.
- COHEN A. H., ERMENTROUT G. B., KIEMEL T., KOPELL N., SIGVARDT K. A., WILLIAMS T. L., 1992. *Modelling of inter-segmental coordination in the lamprey central pattern generator for locomotion*. Trends Neurosci. 15, 434–438.
- COHEN A. H., HOLMES P. J., RAND R. H., 1982. *The nature of the coupling between segmental oscillators of the lamprey spinal generator for locomotion: a mathematical model*. J. Math. Biol. 13, 345–369.
- EKEBERG O., WALLEN P., LANSNER A., TRAVEN H., BRODIN L., GRILLNER S., 1991. *A computer based model for realistic simulations of neural networks. I. The single neuron and synaptic interaction*. Biol. Cybern. 65, 81–90.
- GRILLNER S., BUCHANAN J. T., LANSNER A., 1988. *Simulation of the segmental burst generating network for locomotion in lamprey*. Neurosci. Lett. 89, 31–35.
- GRILLNER S., DELIAGINA T., EKEBERG O., EL MANIRA A., HILL R. H., LANSNER A., ORLOVSKY G. N., WALLEN P., 1995. *Neural networks that co-ordinate locomotion and body orientation in lamprey*. Trends Neurosci. 18, 270–279.
- HELLGREN J., GRILLNER S., LANSNER A., 1992. *Computer simulation of the segmental neural network generating locomotion in lamprey by using populations of network interneurons*. Biol. Cybern. 68, 1–13.
- HODGKIN A. L., HUXLEY A. F., 1952. *A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve*. J. Physiology. 117(4), 500–544.
- KRISTAN W. B. J., 1983. *The neurobiology of swimming in the leech*. Trends Neurosci. 6, 84–88.
- MCCULLOCH W. S., PITTS W., 1943. *A logical calculus for ideas immanent in nervous activity*. Bull. Math. Biophys. 5, 115–133.
- ROVAINEN C. M., 1974. *Synaptic interactions of identified nerve cells in the spinal cord of the sea lamprey*. J. Comp. Neurol. 154, 189–206.
- TRAVEN H. G., BRODIN L., LANSNER A., EKEBERG O., WALLEN P., GRILLNER S., 1993. *Computer simulations of NMDA and non-NMDA receptor-mediated synaptic drive: Sensory and supraspinal modulation of neurons and small networks*. J. Neurophysiol. 70, 695–709.
- VAN DONGEN P. A., HOKFELT T., GRILLNER S., VERHOFSTAD A. A., STEINBUSCH H. W., CUELLO A. C., TERENIUS L., 1985. *Immunohistochemical demonstration of some putative neurotransmitters in the lamprey spinal cord and spinal ganglia: 5-hydroxytryptamine-, tachykinin-, and neuropeptide-y-immunoreactive neurons and fibers*. J. Comp. Neurol. 234, 501–522.
- WALLEN P., EKEBERG O., LANSNER A., BRODIN L., TRAVEN H., GRILLNER S., 1992. *A computer-based model for realistic simulations of neural networks. II. The segmental network generating locomotor rhythmicity in the lamprey*. J. Neurophysiol. 68, 1939–1950.
- WALLEN P., GRILLNER S., FELDMAN J. L., BERGELT S., 1985. *Dorsal and ventral myotome motoneurons and their input during fictive locomotion in lamprey*. J. Neurosci. 5, 654–661.
- ZMYSLOWSKI W., KASICKI S., 1986. *Modelling study of spinal generator structure: The role of alpha motoneurons, Renshaw cells and Ia interneurons in locomotion*. Acta Neurobiol. Exp. 46, 57–72.