

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL – UFRGS

QUERUSCHE KLIPPEL ZANONA

MODELO DO TIPO INTEGRA-E-DISPARA DE NEURÔNIOS
PROCURANDO ESTABELECEER PARÂMETROS PARA MODELAGEM
DE INTEGRAÇÃO HIPOCAMPO-CORTICAL

PORTO ALEGRE

2009

QUERUSCHE KLIPPEL ZANONA

MODELO DO TIPO INTEGRA-E-DISPARA DE NEURÔNIOS
PROCURANDO ESTABELECEER PARÂMETROS PARA MODELAGEM
DE INTEGRAÇÃO HIPOCAMPO-CORTICAL

Monografia de Graduação em Ciências Biológicas
Para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto do Biociências
Departamento de Biofísica
Neurocomputação

Orientador: Jorge Alberto Quillfeldt

Co-orientador: Marco Aurelio Pires Idiart

Colaborador: Licurgo Benemann de Almeida

PORTO ALEGRE

2009/II

Talvez o aspecto mais intrigante sobre o cérebro seja que ele é apenas uma ferramenta... Uma ferramenta para o movimento...

É através do processamento cerebral que somos capazes de recordar movimentos anteriores e, assim, projetar movimentos vindouros.

Aliás, o cérebro sempre escolhe o que, pra nós, é o melhor movimento que podemos conceber... No momento.

A autora

RESUMO

O hipocampo é a área do cérebro relacionada à formação, manutenção, modificação e evocação de memórias episódicas e imaginação de novas experiências. O estudo da circuitaria que relaciona hipocampo ao córtex possibilita uma melhor compreensão de como os processos relacionados à memória podem ser alterados pelo hipocampo de maneira a serem armazenados no córtex.

Este trabalho visa estabelecer parâmetros de modelagem para projeto posterior onde queremos começar a entender qual o papel da região CA1 do hipocampo na plasticidade sináptica necessária para a implementação de uma memória (engrama) em nível cortical. Para tanto foram considerados utilizar um modelo computacional do tipo integra-e-dispara para representar uma rede neural que 'mimetize' os potenciais eletrofisiológicos, reproduzindo fenômenos como a depressão e a facilitação por pulso pareado. Nós também avaliamos o efeito das inibições periódicas sobre uma população neural causada por um ritmo entre 5 e 80Hz.

O trabalho foi desenvolvido no ambiente de programação MATLAB onde se modelou neurônios piramidais do tipo integra-e-dispara sob ação de corrente inibitória.

O modelo reproduziu satisfatoriamente (a) potencial eletrofisiológico, (b) potencial de ação e (c) depressão por pulso pareado. No entanto, mais trabalho deve ser realizado a fim de representar (d) facilitação por pulso pareado dentro do intervalo-interpulso em que a mesma é pertinente para a região CA1. As (e) oscilações com intervalos-interpulso correspondente a oscilações gama hipocampais apresentaram maior depressão nas respostas excitatórias locais, formando padrões cíclicos temporais de disparos.

Assim, mais levantamento bibliográfico e aprendizagem quanto ao funcionamento do modelo são necessários para uma melhor reprodução de comportamentos fisiológicos da região CA1 do hipocampo e, conseqüentemente, da rede hipocampo-cortical.

Palavras-chave: gama, hipocampo, memória, modelagem computacional

ABSTRACT

The hippocampus is a structure related to acquisition, maintenance, modification and recall of episodic memories and imagination of new experiences. The study of circuitry that integrates hippocampus and cortex permits a better understanding of how memory-related processes can be modified by hippocampus and stored on cortex.

This study aims to set modeling parameters for a wider project where we would like to start understanding the role of the CA1 hippocampus region in the synaptic plasticity necessary to record a memory on cortex. So, we considered using an integrate-and-fire computational model to represent the neural network that 'mimic' the electrophysiological potentials, reproducing phenomena such as paired pulse depression or facilitation. We also check for the effect of periodic inhibitions upon a neural population caused by rhythm between 5 and 80Hz.

The model consists of integrate-and-fire pyramidal neurons and an inhibitory current representative of the inhibitory interneurons, implemented in MATLAB.

Although, the circuit satisfactorily reproduces electrophysiological potential, action potential and paired-pulse depression it lacks paired-pulse facilitation, a remarkable trace of hippocampus CA1 region, that need to be worked on the model. The effect of periodic inhibitions on neurons was better seen for interpulse-intervals corresponding to gamma range frequency (40Hz), which produces greatest depression in local excitatory responses and temporal activity pattern.

More studies need to be done for a better hippocampus CA1 region and others structures representation before the hippocampal-cortice net could be modeled.

Keywords: gamma, hippocampus, memory, computational modeling

SUMÁRIO

Introdução.....	6
1.1. Definindo a região hipocampal e a área CA1.....	6
1.2. Neurônios e os Potenciais de Membrana.....	7
1.3. Plasticidade Sináptica.....	9
1.4. O código neural.....	10
1.5. Registrando potenciais de membrana.....	11
1.6. Modelagem integra-e-dispara.....	13
2. Considerações sobre a função hipocampal.....	14
3. Objetivos.....	17
4. Material e Método.....	18
5. Resultados.....	20
6. Discussão.....	25
Conclusões.....	27
Perspectivas.....	28
Referencias Bibliográficas.....	29

INTRODUÇÃO

O hipocampo é a área do cérebro relacionada à formação, manutenção, modificação e evocação de memórias episódicas e imaginação de novas experiências. O estudo da circuitaria que relaciona hipocampo ao córtex, local de armazenamento dessas memórias, possibilita uma melhor compreensão de como os processos supracitados se dão. Para tanto, abordagens teóricas têm sido utilizadas no auxílio da compreensão dos dados experimentais para formulação de hipóteses dos mecanismos que medeiam a interação dessas regiões do encéfalo (De Almeida, Idiart *et al.*, 2007).

1.1. Definindo a região hipocampal e a área CA1

De acordo com Paxinos (2004) a região hipocampal é constituída pela formação hipocampal e a região parahipocampal (para = próximo, no entorno), que se diferenciam anatomicamente por possuírem, respectivamente três e seis camadas de células. A região parahipocampal inclui os córtices perirrinal, posrinal e entorrinal (EC), o presubículo e o parasubículo. A formação hipocampal é composta pelo giro denteado, hipocampo propriamente dito e subículo. Cada um com suas subáreas, diferentes tipos celulares, receptores e padrões de disparo.

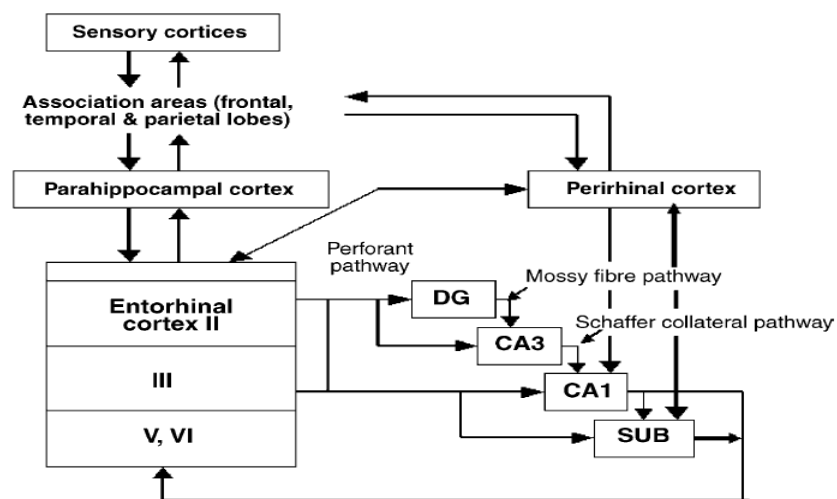


Fig. 2 Intrinsic connections of the hippocampal formation, including the recently discovered projection from perirhinal cortex to CA1 and subiculum.

Figura 1: Esquema representando as principais conexões da formação hipocámpal (Shepherd, 2004).

Dentro da formação hipocampal há vias principais de comunicação entre os neurônios excitatórios (Figura 1). O sinal chega ao hipocampo principalmente pela camada II do córtex entorinal. Do giro denteado as células granulares se projetam às células piramidais da região CA3 do hipocampo via fibras musgosas. A partir das piramidais de CA3 prolongam-se as Colaterais de Schaffer em direção as piramidais de CA1. CA1 projeta tanto para o subículo quanto para o córtex entorinal, de quem também recebe conexões. Esta via clássica é apenas parte de toda uma rede de conexões que não cabe aqui discutir, maiores informações podem ser vistas em Shepherd (2003), Paxinos (2004) e Van Strien, Cappaert *et al.* (2009).

Anatomicamente a região CA1 apresenta camadas: uma onde se concentram os corpos celulares dos neurônios piramidais, *stratum pyramidale* (SP); outra onde ficam os dendritos basais dos mesmos, *stratum oriens* (SO); e mais duas onde ficam os dendritos apicais proximais, *stratum radiatum* (SR) e distais, *stratum lacunosum-moleculare* (SLM). Os neurônios de CA3, Colaterais de Schaffer, são a principal entrada de estímulo excitatório, os interneurônios locais de CA1 a principal entrada de estímulo inibitório. A ativação de CA3 diretamente excita as piramidais e os interneurônios de CA1, dando um pequeno período para que a ativação síncrona de CA3 e CE levem as células de CA1 a disparar.

1.2. Neurônios e os Potenciais de Membrana

Quando falamos sobre neurônios cabe ressaltar a forma como é transmitida informação entre eles. Um neurônio sozinho é inoperante, é a posição desse neurônio na rede e as suas redes bioquímicas que dão sua identidade que o faz ter um papel no contexto em que ocupa, uma rede descentrada não hierárquica de informação. A forma pela qual as informações são levadas de um neurônio a outro é por via mudança do potencial de membrana. Todas as células de um organismo possuem membrana, mas as células excitáveis contêm características especiais que fazem dela transmissoras mais rápidas de informação.

Podemos dizer que o organismo tem duas formas de transmitir informações e que o os neurônios, assim como outras células excitáveis, são capazes de utilizar ambas as formas: sinais químicos e sinais “elétricos”, elétrico entre aspas, pois ainda que seja um fenômeno físico é resultante de processos químicos.

Os sinais químicos se caracterizam pela interação entre receptor e molécula-alvo, no caso, neurotransmissores. Ocorre uma transdução do sinal externo para o citoplasma do

neurônio, onde ocorrem ajustes das rotas bioquímicas visando a adaptação ao meio. A maior parte das vezes, essa sinalização ocorre por via proteínas G e levam a alterações intracelulares que podem induzir a despolarização da membrana esses são chamados receptores metabotrópicos.

Os sinais elétricos são transduzidos via receptores ionotrópicos e se caracterizam por gerar diretamente uma mudança no potencial de membrana do neurônio. Essa alteração no potencial de membrana é chamada despolarização. Embora existam as duas formas de sinalização, ambas estão intimamente relacionadas e atuam em concerto. É o resultante de todos os receptores ativados que determina o destino da célula.

Nas células excitáveis a membrana funciona como um capacitor, pois acumula os íons próximos a ela tanto na parte intracelular, como na extracelular, graças às cargas de proteínas de membrana e do glicocálice respectivamente. Internamente há uma grande concentração de íon potássio, externamente de íon sódio, diferença essa mantida a custas de adenosina trifosfato (ATP) pela bomba de sódio-potássio.

Com o potencial de membrana dito em repouso a célula mantém certo equilíbrio de cargas (equilíbrio de repouso). Com a chegada de um estímulo químico ou elétrico que seja capaz de abrir canais de sódio ou fechar canais de vazamento de potássio o potencial de membrana se torna mais positivo, caracterizando uma despolarização. Após a despolarização, a captação dos sinais externos a célula e o fechamento ou abertura dos canais levam a célula aos poucos a retornar ao potencial que ela mantinha em estado de repouso.

Quando a célula atinge um determinado limiar no cone axonal, dependendo do estado de excitabilidade da célula, ocorre a formação de um potencial de ação (PA, Figura 2 e Figura 4). A despolarização cria um campo magnético que mantém um número mínimo suficiente para a manutenção do sinal por toda a extensão axonal. O disparo de um PA inibe o disparo de outro por um pequeno período, denominado período refratário, onde o número de canais disponíveis para um novo PA ainda não foi atingido.

A função final da despolarização, como mencionado anteriormente, é levar a transdução de um sinal neurônio-a-neurônio. Sinal esse que se baseia nas alterações da concentração de cálcio intracelular. A alteração na concentração de cálcio determina modificações de expressão gênica, liberação de vesículas e até mesmo modificações no citoesqueleto. As modificações na expressão gênica levam a célula a se encontrar em estado

de maior ou menor excitabilidade, predisposição a atingir o limiar de disparo do potencial de ação. Alterações que são mantidas por rotas como a da CAMKII podem levar a modificação dos botões sinápticos, formação de novas ou até mesmo perda de algumas das sinapses entre os neurônios, a que denomina-se plasticidade sináptica.

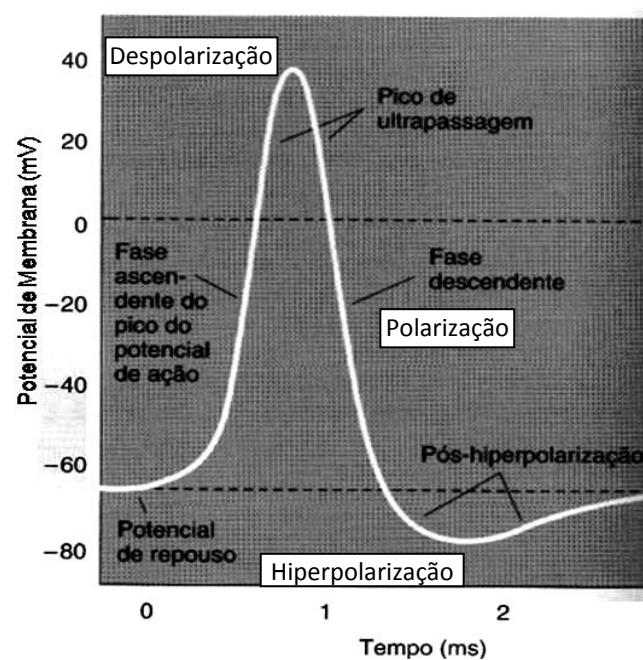


Figura 2: Potencial de ação e todas as suas fases. Neurônio é mantido no potencial de repouso de acordo com os canais de vazamento para os íons que estão permanentemente abertos. Com a chegada de estímulo excitatório abrem os canais de sódio gerando um influxo de sódio, que despolariza a membrana, fase ascendente do potencial de ação. O fechamento dos canais de potássio levam ao pico de ultrapassagem, onde o influxo de sódio vai sendo reduzido e o efluxo de potássio continua, fase descendente, polarizando a membrana. O efluxo de potássio leva a uma hiperpolarização da membrana que é aos poucos superada pela atividade da bomba Na^+/K^+ até o reestabelecimento do potencial de repouso. (Bear, 2002)

1.3. Plasticidade Sináptica

Essencialmente a plasticidade sináptica pode ser classificada como depressão ou facilitação. Esta sendo um aumento da excitabilidade do neurônio, aquela uma diminuição da mesma. A plasticidade pode:

- Ser estudada tanto em vários níveis: sinapse, neurônio, população local de neurônios ou mesmo sistema englobando várias partes do cérebro;
- Ter curta ou longa duração. A de curta duração é aquela que se mantém por um breve período, variável de acordo com os neurônios em questão, por atividade enzimática. Quando a atividade é mantida por período suficiente para recrutar todos os subsistemas necessários, as alterações se mantêm por mais tempo levando a alterações de expressão gênica e transcrição que podem levar a

alteração da estrutura do botão sináptico, caracterizando uma modificação de longa duração.

- Ser desencadeada por diferentes mecanismos, um dos quais mais bem descritos é o das Colaterais de Schaffer. A plasticidade nas Colaterais de Schaffer são ditas Hebbianas, ou seja, elas seguem os preditos da Lei de Hebb:

... any two cells that are repeatedly active at the same time will tend to become 'associated', so that activity in one facilitates activity in the other.

As bases moleculares desse tipo de modificação se encontram explicadas por mecanismos como o dos canais de sódio dependentes de voltagem, NMDA. Onde é necessária a liberação de glutamato do terminal pré-sináptico para abrir o canal e despolarização do terminal pós-sináptico para desbloqueá-lo.

1.4. O código neural

Embora essenciais no papel de integração neural não é o PA em si que determina a informação que o neurônio carrega. Não há neurônio completamente inerte, a presença ou ausência do estímulo a que ele está relacionado aumenta ou reduz a taxa de disparos de PAs. O que nos leva a perceber que o código neural envolve muito mais que um PA isolado, envolve o código de taxa de disparo (*rate code*), modificação da frequência dos PAs e a duração da mesma; e o código de população, quais os neurônios recrutados.

Por eletro encefalograma (EEG) é possível se verificar a ativação de determinadas regiões do cérebro bem como a duração e a frequência da atividade da população. Veja bem, não é a atividade isolada de um neurônio que gera o EEG, mas sim o resultado da atividade de toda a população de neurônios. A emergência de certas frequências é relacionada ao tipo de atividade conforme Figura 3.

Oscilações cuja frequência varia entre 30 e 80 Hz, chamadas de gama ou γ , ocorrem em regiões associativas do encéfalo e são associadas a funções cognitivas como processamento dos sentidos (Kay, Beshel *et al.*, 2009) e memória (Bikbaev e Manahan-Vaughan, 2008; Ahmed e Mehta, 2009; De Almeida, Idiart *et al.*, 2009). No hipocampo as oscilações γ são relacionadas a um código temporal (*temporal code*) dado pela precessão de fase (phase precession) de γ em relação à *theta* ou θ (Skaggs, Mcnaughton *et al.*, 1996). Assim, o presente trabalho apresenta um estudo da influência dessas oscilações no comportamento do modelo desenvolvido.

Bandas de Frequência das Ondas do EEG

Banda	Frequências	Ocorrência	Origem
Alfa (α) <i>Ondas de Berger</i>	de 8 a 13 Hz	Sujeito normal / desperto (olhos fechados) / amplitude de 20-200 μ V	Occipital
Beta (β)	de 13 a 40 Hz (50Hz?)	Sujeito tenso, ativo ou concentrado (beta2) / Patológico	Parietal / frontal
Delta (δ)	de 0,5 a 3 Hz	Sono profundo ou bebês / Lesões ou encefalopatias	?
Gama (γ)	30-80 Hz	Atividade mental superior, percepção e consciência (some c/anestesia)	Áreas associativas?
Teta (θ)	de 4 a 8 Hz	Sonolência / infância ou juventude / Estado hipnagógico / "meditação" / hipnose	Hipocampo?
SMR - <i>Ritmo Sensorimotor</i>	de 12-16 Hz	Tranquilidade física c/ sensação de presença corporal: junto c/ β é usado p/o <i>Neurofeedback</i> em casos de déficit de atenção ou epilepsia	-

Figura 3: Tabela indicando as oscilações encefálicas e suas respectivas frequências, local de ocorrência e origem. Pontos de interrogação se referem a locais de provável origem. (Bazhenov e Timofeev, 2006)

1.5. Registrando potenciais de membrana

Existem duas formas de registro pela eletrofisiologia de alterações do potencial dos neurônios, ou seja, de medir a atividade neuronal. Uma delas é pela medição do potencial de membrana quando se coloca um eletrodo de registro na membrana do neurônio em questão e outro na matriz extracelular. Por este método é possível se verificar o potencial detectando-se diretamente o potencial pos-sináptico excitatório (EPSP) ou inibitório (IPSP).

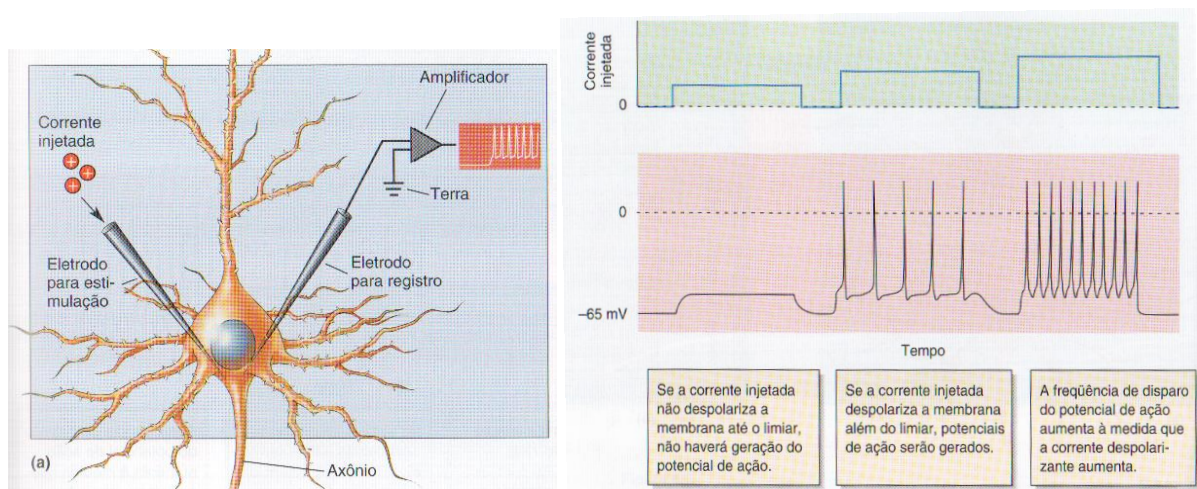


Figura 4: Registro de potencial de ação. Cone de implantação axonal penetrado por dois eletrodos, um pra registro do potencial de membrana e outro pra estimulação do neurônio (esquerda). Efeitos da injeção de corrente em neurônio (direita). (Bear, 2002)

Quando os eletrodos de registro são postos na matriz extracelular tem-se outro tipo de registro, o mesmo do EEG. Não estamos mais medindo a atividade unitária de cada neurônio, mas o comportamento geral da população neural, o que chamamos potencial de campo local. O registro do potencial de campo local dá a diferença relativa de cargas na matriz extracelular antes e após a ação do eletrodo de estímulo. Nesses registros é possível verificar a formação de disparos conjuntos da população de neurônios, potencial de ação coletivo ou *pop spike* (Figura 5).

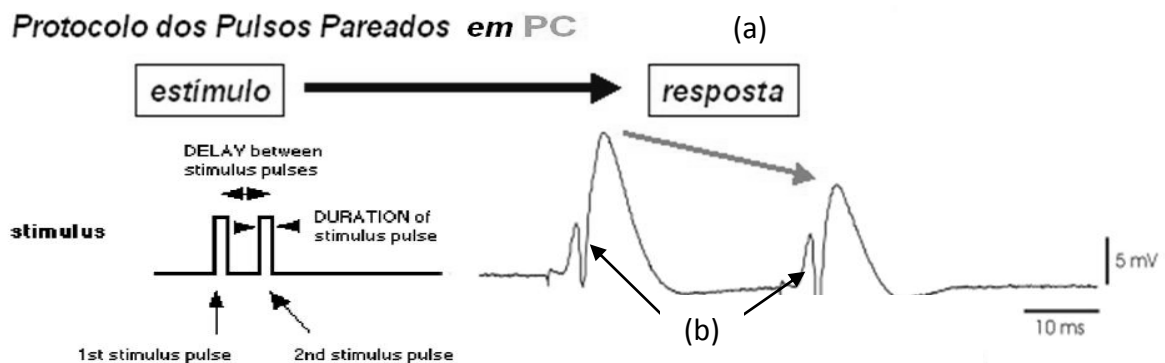


Figura 5: Depressão por pulso pareado, dois estímulos idênticos são dados com determinado intervalo inter pulsos (esquerda) resultando em redução da amplitude do (a) potencial de campo local e do (b) potencial de ação coletivo da resposta ao segundo estímulo (direita).

A plasticidade sináptica pode ser verificada tanto pela medição da soma dos potenciais excitatórios pós-sinápticos (EPSP) de neurônios isolados, quanto pelo potencial de campo local. No hipocampo, pela organização anatômica em camadas com ou sem interneurônios inibitórios, é possível se estudar a plasticidade por medições de potenciais de campos locais.

Uma das técnicas utilizadas para gerar facilitação ou depressão numa população de neurônios em hipocampo é o emprego de pulsos paredados. O pulso pareado consiste na aplicação de dois estímulos dados um logo após o outro na célula pré-sináptica, no caso das Colaterais de Schaffer piramidais de CA3, e captação do EPSP de neurônios sob grampo de voltagem (*voltage clamp*), de CA1. No hipocampo a amplitude do segundo EPSP é dependente da amplitude do primeiro (Figura 6). Facilitação por pulso pareado (FPP) ocorre quando o primeiro EPSP é de baixa amplitude e depressão por pulso pareado (DPP) é observada quando a amplitude do primeiro EPSP é grande (Debanne, Guerineau *et al.*, 1996).

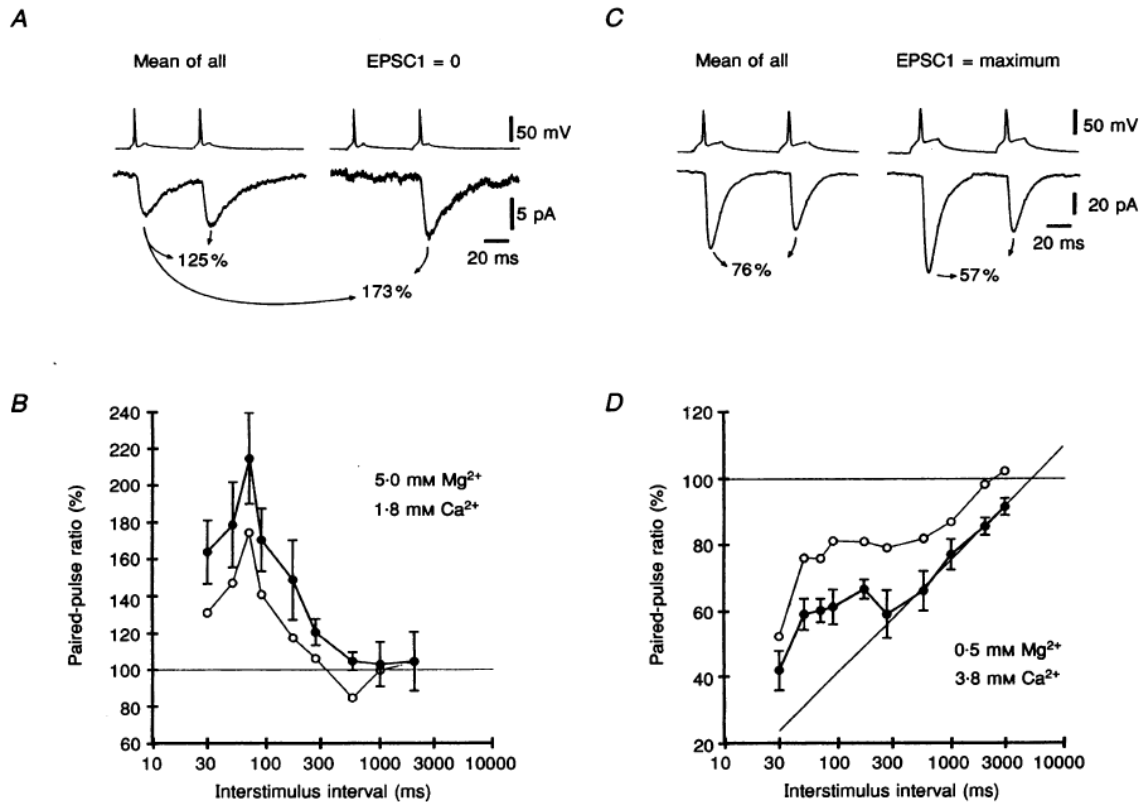


Figura 6: Comportamento das Colaterais de Schaffer ao pulso pareado. A baixa ou ausência de amplitude da resposta ao primeiro pulso leva a uma facilitação no segundo pulso; B maior facilitação (130-220%) para intervalos entre estímulo entre 30 e 300ms; C alta amplitude da resposta ao primeiro pulso leva a depressão (50-80%) da resposta no segundo; D menor depressão para intervalos entre estímulos que correspondam aos de maior facilitação. Extraído de (Debanne, Guérineau *et al.*, 1996).

1.6. Modelagem integra-e-dispara

O modelo do tipo integra-e-dispara é definido em termos de correntes tempo-dependente que interagem entre si simulando o potencial de membrana do neurônio em questão, que é a saída. Quando o potencial atinge certo limiar estabelecido ocorre um disparo, o potencial é abruptamente elevado, e no passo seguinte o potencial retorna ao valor correspondente ao potencial de repouso.

Frequentemente utilizada para estudo de funções específicas no hipocampo (De Almeida, Idiart *et al.*, 2007), sua vantagem em relação a métodos mais clássicos, como o de Hodgking e Huxley, é a quantidade de variáveis que são trabalhadas. No entanto, por dispensar a modelagem específica da difusão de cada corrente iônica pela membrana, necessita prévia pesquisa de como são o comportamento e variações do potencial de membrana dos neurônios em estudo.

2. Considerações sobre a função hipocampal

O hipocampo é uma das estruturas que compõe o lobo temporal, uma das partes evolutivamente mais antigas do encéfalo (Tommasi, Peterson *et al.*, 2009). Ele é crítico no que diz respeito à formação, modificação e evocação de memórias episódicas e está envolvido na formação e evocação de memórias semânticas (Platek, Keenan *et al.*, 2006; Ryan, Cox *et al.*, 2008).

Um clássico caso relatado quanto a crítica função do hipocampo sobre a formação de memórias episódicas (Platek, Keenan *et al.*, 2006) é o do paciente Henry Gustav Molaison (26 fevereiro 1926 – 2 dezembro 2008), mais conhecido como H.M. Ele foi submetido a uma ablação medial bilateral do lobo temporal, visando a redução de ataques epilépticos, e a partir daí foi incapaz de formar novas memórias episódicas, embora lembre de fatos e informações anteriores ao evento. O que indica, bem como outras evidências mostram (Zanatta, Quillfeldt *et al.*, 1997), que a memória no hipocampo é provisória, ou seja, não é o local de armazenamento final do engrama. Ainda sim, H. M. era capaz de aprender outros tipos de memórias como a procedural ou a semântica. Mais interessante ainda: os fatos ou situações anteriores à cirurgia eram lembrados desconexamente durante a evocação.

H. M. could recount childhood scenes: Hiking the Mohawk Trail. A road trip with his parents. Target shooting in the woods near his house.

“Gist memories, we call them,” Dr. Corkin said. “He had the memories, but he couldn’t place them in time exactly; he couldn’t give you a narrative.”

(Carey, 2008)

Ordenar memórias durante a evocação é outra função que tem sido atribuída ao hipocampo (Lehn, Steffenach *et al.*, 2009). Além disso, há evidências de que pessoas com danos no hipocampo têm dificuldade, ou mesmo não conseguem, formar imagens mentais ao imaginar situações não vivenciadas posteriormente (Hassabis, Kumaran *et al.*, 2007), o que sugere que danos no hipocampo dificultam a imaginação.

Mais do que qualquer outra coisa, o hipocampo parece ser um ponto de passagem (Figura 7) obrigatório de informações sensoriais, emocionais, de estado do indivíduo (posição no espaço, emoção, etc) e temporal estabelecendo associações entre essas informações, tanto na consolidação das memórias, quanto na evocação das mesmas.

Pense bem: memórias que não vão ser guardadas não precisam ser reforçadas e, portanto, apenas o estímulo em si processado diretamente no córtex é o suficiente para se ter consciência do mundo ao redor e das necessidades do indivíduo. No entanto, para que

ocorra o armazenamento de uma memória é necessário um reforço do sinal da mesma, bem como o estabelecimento de relações entre o que é conhecido e o que se está aprendendo, a circuitaria hipocampal, nesse aspecto, se presa muito bem a estabelecer essa função.

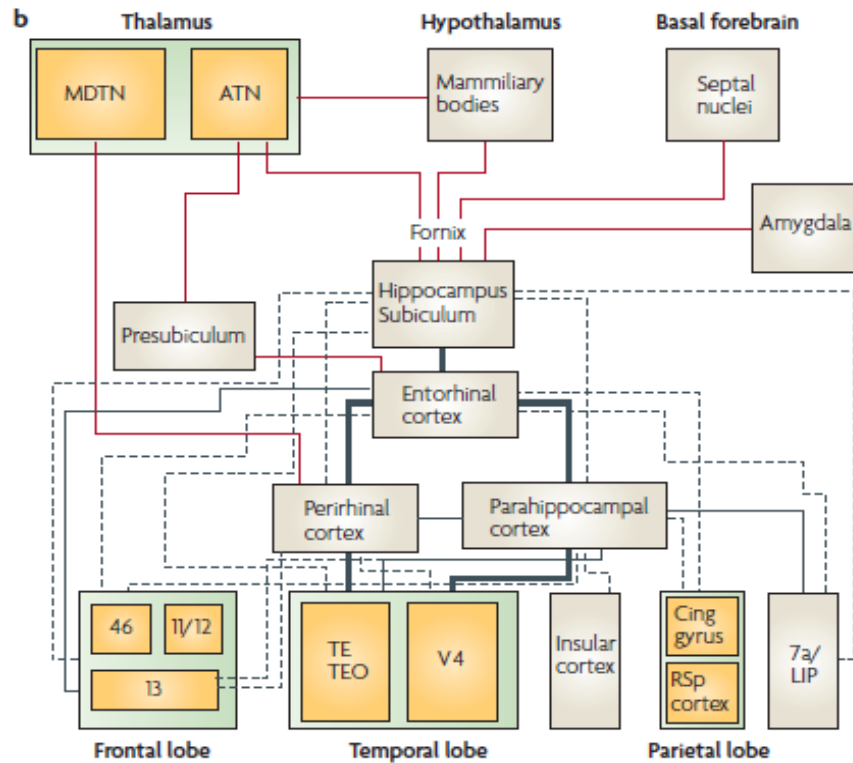


Figura 7: Conexões corticais (preto) e subcortais (vermelho) com o hipocampo. Espessura dos traços representa a força da conexão. (Bird e Burgess, 2008)

CA3 e giro denteado, com suas conexões recorrentes, são bons candidatos a manter a memória no hipocampo por tempo suficiente para interagir com outros sinais que chegam por diversas vias à região hipocampal. CA1 com células que apresentam disparo em *burst* é candidata a ser recrutadora de células corticais que armazenem a memória; e precisam de maior estímulo para disparar agindo como filtro de memórias (Ahmed e Mehta, 2009). Agora, imaginando que as células corticais necessitem da manutenção de estímulo constante por um tempo para fixarem uma informação que na verdade já estava lá por outras vias, não seria interessante que o circuito de CA3 pudesse acionar mais vezes as células de CA1 com maior atividade para que essas pudessem garantir a implementação do engrama a nível cortical?

O hipocampo é necessário para a consolidação e evocação de memórias, principalmente por ser estabelecedor de associações de diferentes tipos de informações: sensoriais próprias e externas, temporais, emocionais e memórias anteriores, para que uma recordação seja estabelecida ou recrutada.

Em (Platek, Keenan *et al.*, 2006) os autores dizem:

It is the ability to create an association that sets the human brain apart from the animals in the evolutionary line. Each separate, distinct memory can be linked in a relational network with overlapping yet distinct features. Within the network are cells with firing patterns associated with one or an overlapping sequence; these cells fire only within the network and have no external inputs. Each time a memory with overlapping features is made it becomes part of the relational network. Many studies have found higher levels of hippocampal activation with the associations generated through relational networks than with independent events or entities, showing the critical need for the hippocampus in forming associations in humans.

E concordo com eles quando dizem que o hipocampo é essencial para a formação de associações, mas critico sua visão restrita de que os animais não são capazes de fazer relações (generalização / diferenciação) e, no entanto, de minha própria experiência com cães, gatos e cavalos noto que há distinção ao menos no reconhecimento das pessoas que estão a sua volta. Várias são as situações em que se pode verificar isso, um animal que se sentiu acuado com uma pessoa pode se tornar irritadiço com várias pessoas ou apenas com o seu agressor, um efeito de resposta emocional do animal (amígdala) junto a sua capacidade de discriminação ou reconhecimento de evento anterior. Mas também pode responder diferentemente a uma mesma pessoa, dependendo do cheiro da mesma, do objeto que essa pessoa segura ou do movimento que ela faz. Discriminar uma mesma pessoa nessas diferentes situações e lembrar quais são situações de risco não seria uma capacidade de associação?

Porém estabelecer a função hipocampal não é o objetivo deste trabalho. Este trabalho visa estabelecer parâmetros de modelagem para um projeto posterior. No qual queremos discutir o papel da região CA1 do hipocampo nas modificações sinápticas que levam à implementação de uma memória (engrama) em nível cortical. Seguindo a hipótese apresentada de que as células piramidais de CA1 operem como “construtores” de redes corticais mediante estímulos de alta frequência que promovam o fortalecimento das sinapses entre neurônios corticais. Sua atividade se daria segundo um protocolo hebbiano: a coincidência nos disparos de cada par de neurônios leva a modificações plásticas no peso sináptico das conexões entre as células recrutadas, incluindo o reforço de certas vias neurais (análogo à “Potenciação de Longa Duração”) e o enfraquecimento de outras (semelhante à “Depressão de Longa Duração”). A área CA1 coordenaria a implantação desses “engramas” em nível cortical, seu sítio definitivo de armazenamento.

3. Objetivos

Como parte de um projeto maior que visa testar a hipótese do hipocampo como um recrutador, ou melhor, um selecionador de neurônios corticais onde o engrama é definitivamente armazenado durante a consolidação e o efeito de sua ativação durante a evocação de memórias, o objeto de estudo desse trabalho são modelagens que simulem comportamentos esperados em estudos eletrofisiológicos para neurônios de uma das subáreas do hipocampo, CA1.

Este trabalho visa avaliar possibilidades de utilização de modelo computacional do tipo integra-e-dispara na programação de neurônios que 'mimetizem' a formação de:

- a) Potencial eletrofisiológico
- b) Potencial de ação
- c) Depressão por pulso pareado
- d) Facilitação por pulso pareado
- e) Oscilação γ

4. Material e Método

O modelo, baseado em De Almeida, Idiart *et al.* (2007 – ver Tabela 1), foi implementado em MATLAB e consiste de neurônios piramidais de um compartimento do tipo integra-e-dispara (integrate-and-fire). Para tanto, foram modeladas equações que se encaixassem no efeito esperado para um neurônio, com regras de alteração gradual de potencial até atingir um limiar onde o potencial salta para um efeito de tudo-ou-nada e retorna no próximo passo ao potencial de repouso. A inibição no sistema é iniciada algum tempo após o início da atividade de estímulo.

O sistema (Figura 8) representa um neurônio (entrada) que aciona simultaneamente um interneurônio inibitório e um neurônio piramidal. O resultado é evidenciado pelo potencial de membrana do neurônio piramidal que recebe a corrente inibitória pouco depois de ter iniciado sua atividade.

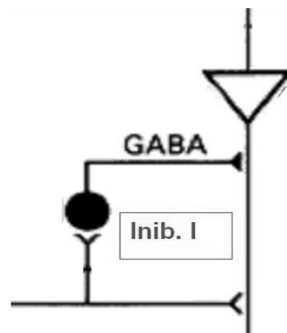


Figura 8: Esquema do sistema representado pelo modelo desenvolvido: entrada determina início de atividade simultânea do neurônio inibitório e excitatório.

Equações e parâmetros utilizados como segue:

O potencial de membrana dos neurônios piramidais é definido pela equação:

Equação 1

$$\frac{V_n(t)}{dt} = \frac{1}{\tau} (R_m (I_{exc} + I_{inb}(t)) - V_n(t) + V_{rep})$$

Onde a resistência da membrana é fixa em $33\mu\Omega$ e representada por R_m , o tempo de integração τ é 30ms e o potencial de repouso V_{rep} é -65mV. Quando atinge $V_{lim} = -50mV$, V_n salta para zero, representando o aumento súbito da despolarização que caracteriza o potencial de ação, e no próximo passo volta a V_{rep} .

A corrente inibitória I_{inb} representa os interneurônios inibitórios com ação sobre o neurônio piramidal em questão e é definida por uma corrente única (Equação 2) ativada 3ms após a corrente excitatória - I_{exc} .

Equação 2

$$I_{inb}(t) = I(\tau - 1) - A_{inb}$$

A intensidade mínima da corrente inibitória A_{inb} é -1nA e a duração do estímulo inibitório τ é de 30ms.

A I_{exc} representativa do estímulo excitatório é definida pela Equação 3 como segue:

Equação 3

$$I_{exc}(t) = I(\tau - 1) - A_{exc}$$

Onde a intensidade máxima da corrente excitatória A_{exc} , representativa do máximo de estímulos que é liberado sobre o neurônio, é 15nA. A duração do estímulo excitatório τ é de 3ms.

Os pesos, para quando a população de neurônios for maior que um, foram modelados por uma percentagem diferenciada para cada neurônio do total de corrente excitatória que ele é capaz de receber. Eles foram fixados, não estando os neurônios sujeitos a aprendizagem, e distribuídos uniformemente na população de neurônios.

Onde se aplica, conforme texto, a corrente de hiperpolarização é definida tal as outras já descritas ($\tau_{hp} = 5ms$ e $A_{hp} = -2pA$) e representa o período refratário dos neurônios. Assim, o tempo de duração da corrente de hiperpolarização escolhido é similar ao do período refratário das conexões das Colaterais de Schaffer: 5ms (Raastad e Shepherd, 2003).

Tabela 1: Parâmetros utilizados no trabalho de referência (De Almeida, Idiart *et al.*, 2007) e no presente estudo.

		Referência	Utilizados
R_m	mV	33	33
τ_n	ms	2	30
V_{rep}	mV	-60	-65
V_{lim}	mV	-50	-50
τ_{exc}	ms	1,5	3
A_{exc}	pA	480	15
τ_{hp}	ms	5	5
A_{hp}	pA	-560	-2
τ_{inb}	ms	4	30
A_{inb}	pA	-180	-1
t_{delay}	ms	2,5	3

5. Resultados

O primeiro passo do trabalho foi simular um potencial eletrostático e um potencial de ação (Figura 9). As curvas do potencial de membrana apresentaram formato adequado para uma representação de despolarização de neurônio. Quando da ocorrência de PA, as fases de despolarização e polarização foram apresentadas. Inicialmente optou-se por trabalhar sem corrente de hiperpolarização.

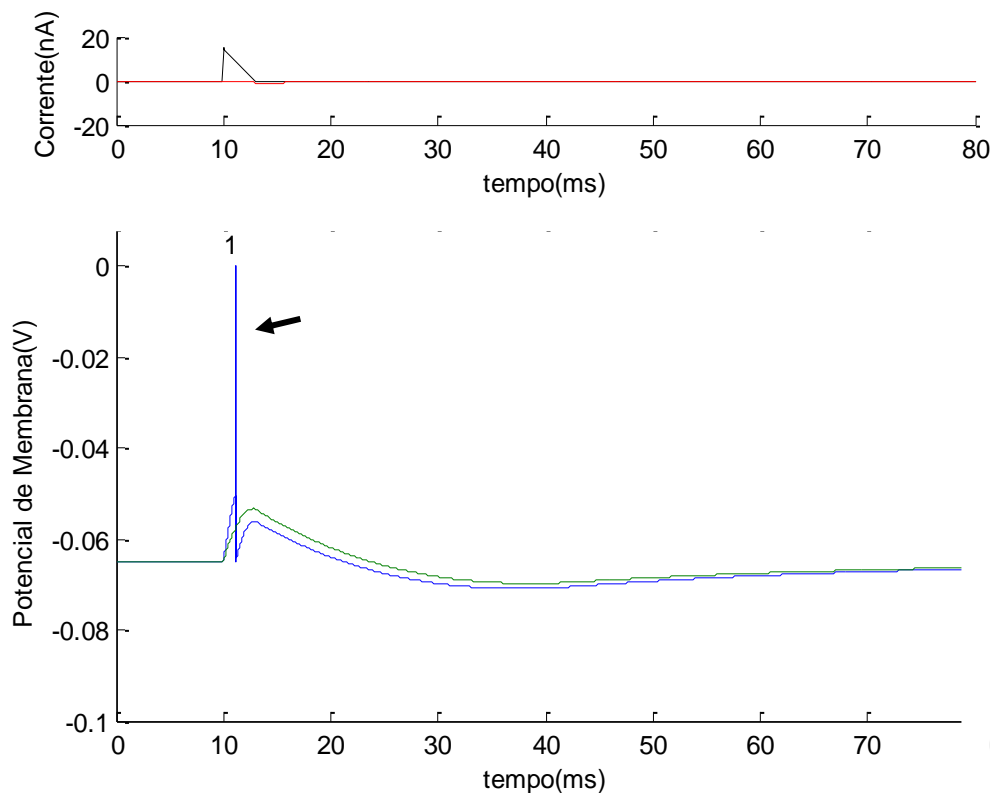


Figura 9: Acima, gráfico das correntes excitatória, em preto, e inibitória, em vermelho. Abaixo, saída do modelo: potencial da membrana em relação ao tempo; em verde um neurônio que não atingiu o limiar e em azul neurônio que atingiu o limiar (na seta PA), número acima dos PAs são a quantidade de disparos da população de neurônios.

Após o estabelecimento de potencial eletrostático e de ação satisfatórios, a população de neurônios foi aumentada para 10 e 100 para que se pudessem avaliar os efeitos a serem comparados com a eletrofisiologia de pulso pareado das Colaterais de Schaffer (Figura 10). A quantificação da atividade dos neurônios é dada pelo número de PAs disparados, número acima dos PAs nos gráficos, veja maiores detalhes sobre a representação da saída na Figura 9.

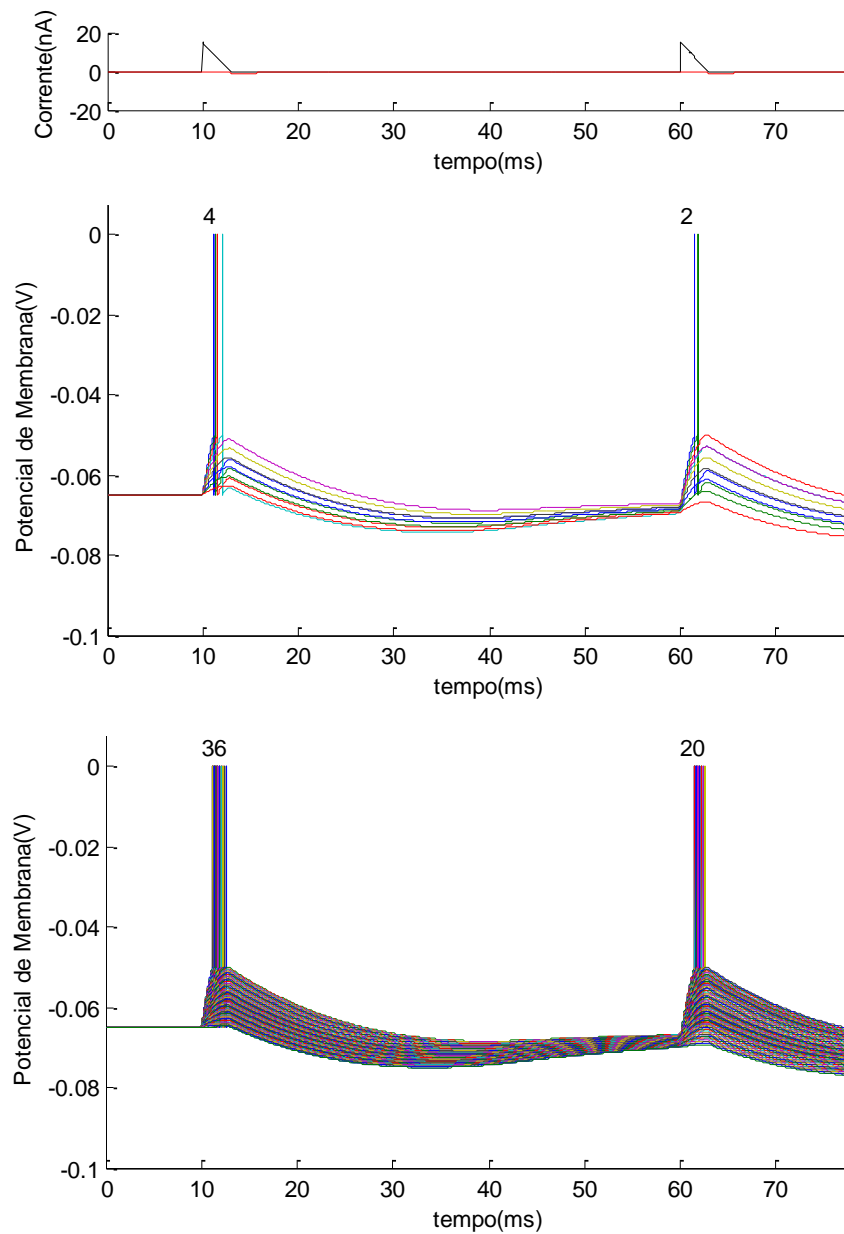


Figura 10: Saída para pulso pareado com dez (acima) e cem (abaixo) neurônios, intervalo-interpulso (IIP) de 50ms.

Foram verificados pulsos pareados com intervalos-interpulso (IIP) de 12,5, 25, 50, 100 e 200ms. Conforme Tabela 2 apresentaram DPP as simulações com até 50ms de IIP, para simulações com dez neurônios e até 100ms com cem neurônios. As maiores depressões verificadas em todas as situações foram para o IIP de 25ms.

Tabela 2: Resultados referentes às simulações com pulsos pareados para populações de dez e cem neurônios e em presença ou ausência de corrente de hiperpolarização (em porcentagem de atividade com relação ao primeiro pico); cabeçalho com os valores de IIP testados em ms.

	12,5	25	50	100	200
Sem hp					
10	50,0	25,0	50,0	100,0	100
100	50,0	22,2	55,6	91,7	100
Com hp					
10	25,0	0,0	50,0	100,0	100
100	25,0	0,0	47,2	88,9	100

Tendo em vista que a depressão não obteve grandes diferenças na simulação com ou sem presença de corrente de hiperpolarização, optou-se por trabalhar em ausência da mesma para verificação do efeito da oscilação γ . As distâncias IIP analisadas para verificação do efeito da oscilação γ foram as mesmas que do pulso pareado (12,5, 25, 50, 100 e 200ms), equivalendo a oscilações de frequências de 80, 40 (Figura 11), 20, 10 e 5Hz, respectivamente.

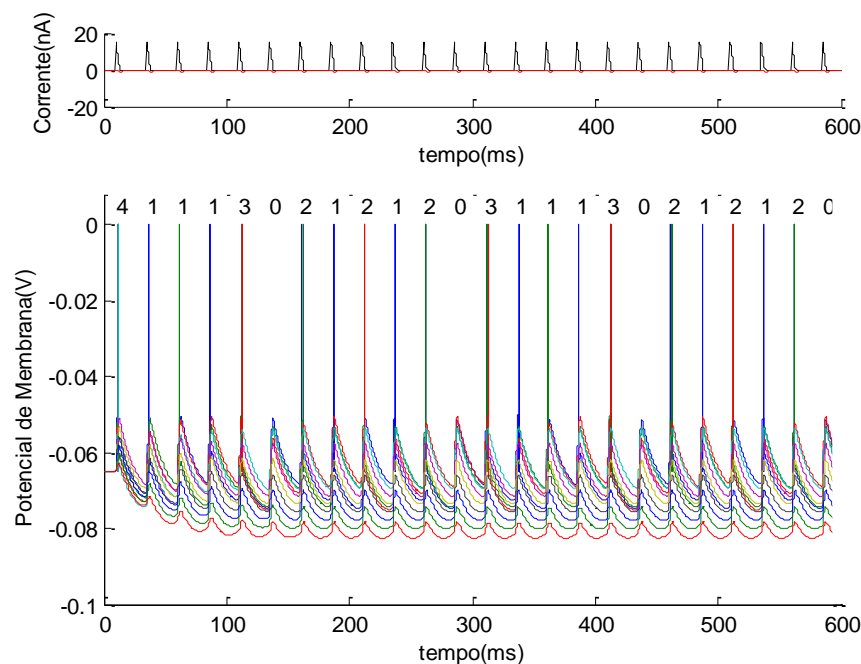


Figura 11: Simulação de oscilação com intervalo inter pulso de 25ms para 10 neurônios. Note uma inibição periódica total da população em intervalos maiores de IIP (100ms) e a formação de padrões de atividade neuronal que se repetem.

A estimulação em trem excitatório contínuo com IIP igual à frequência γ (40Hz) foi a que produziu maior depressão nas respostas excitatórias locais, ou seja maior redução do número de PAs (Figura 12), sem perder variação na quantidade dos mesmos, mantendo padrões que ciclam com o tempo.

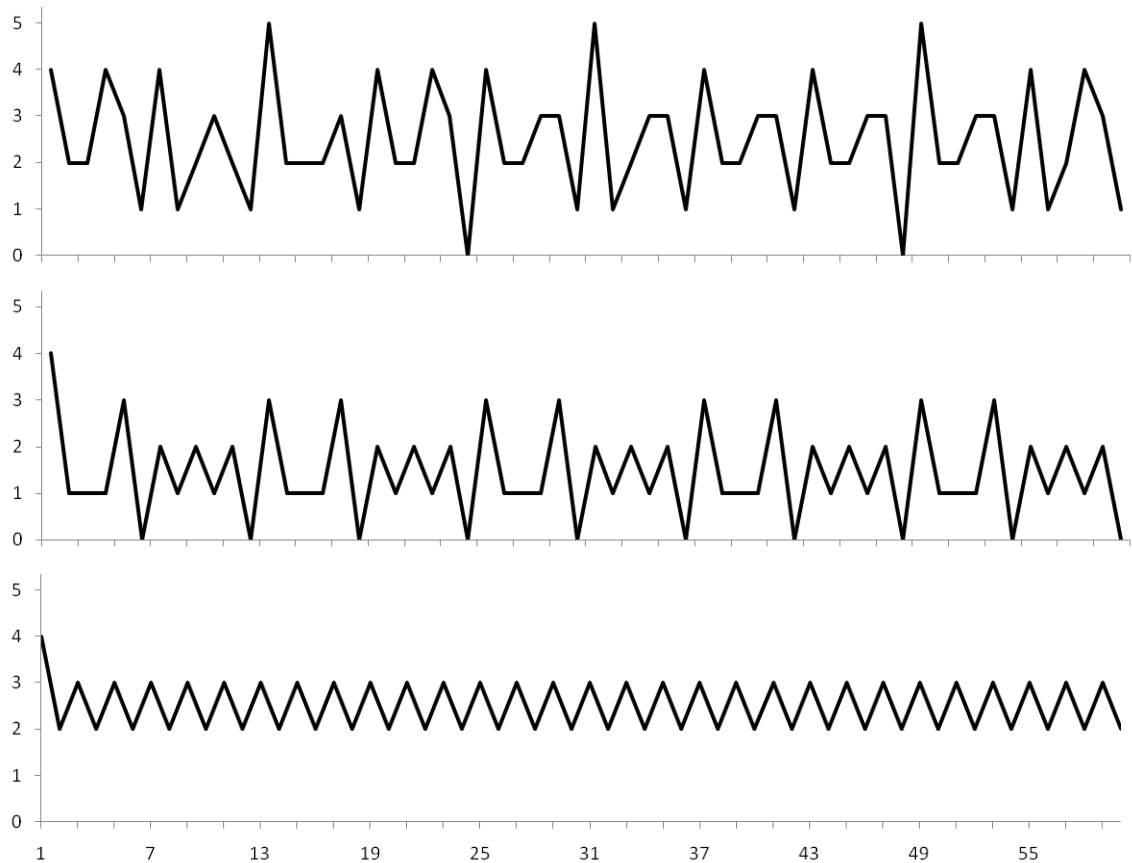


Figura 12: Simulações de trens de estímulo para população de 10 neurônios. De cima para baixo IIP de 12,5 (80Hz), 25 (40Hz) e 50ms (20Hz). Os resultados para IIP maiores não são mostrados pois não apresentaram variação no número de disparos; eixo vertical número de PAs, eixo horizontal evento de repetição de estímulo (total 60).

Simulações de populações de cem neurônios para o mesmo IIP (25ms) não apresentaram resultados similares, eliminando a existência de padrões (Figura 13). Tendo em vista este aspecto, foram feitas simulações com cem neurônios em presença e ausência de corrente de hiperpolarização para todos IIPs analisados (Figura 14). Onde se observa que com cem neurônios e em presença de corrente de hiperpolarização se consegue observar comportamentos similares aos conseguidos para dez neurônios sem a corrente.

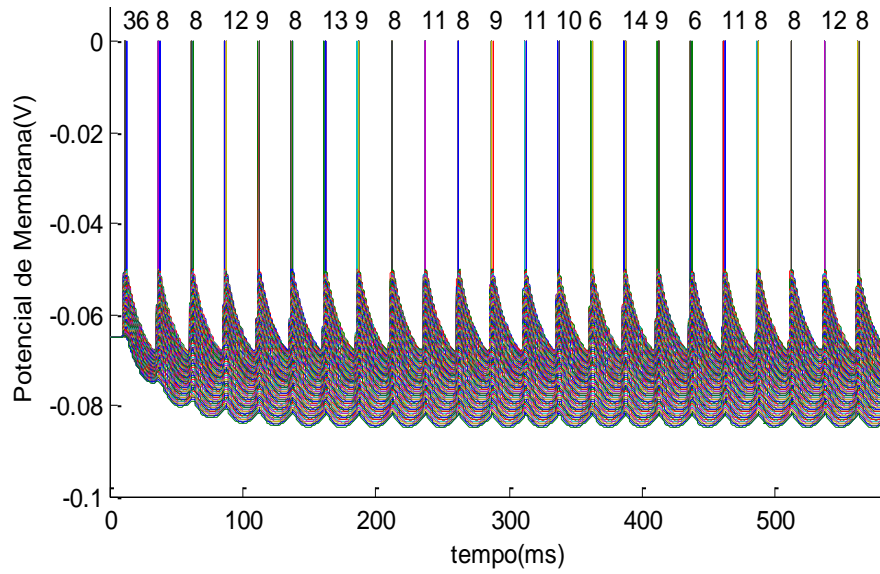


Figura 13: Simulação em trem de estímulos para população de cem neurônios sem corrente de hiperpolarização. Note a ausência de padrão emergente e a homogeneidade da inibição.

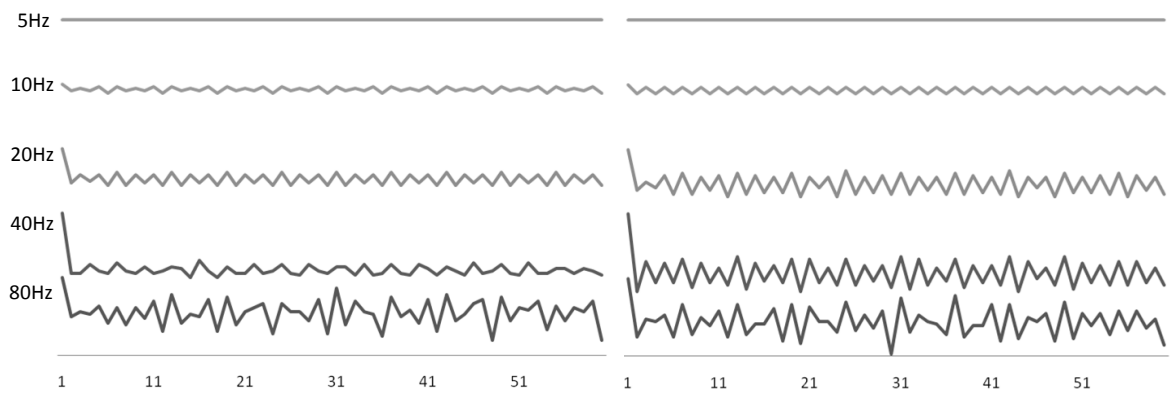


Figura 14: Simulações de trens de estímulo para população de 100 neurônios sem (esquerda) e com (direita) corrente de hiperpolarização. De baixo para cima IIP de: 12,5 (80Hz), 25 (40Hz), 50 (20Hz), 100 (10Hz) e 200ms (5Hz); eixo vertical variação no número de PAs, eixo horizontal evento de repetição de estímulo.

6. Discussão

Os parâmetros usados no presente trabalho e no trabalho de referência podem ser comparados na Tabela 1, onde se nota uma grande diferença quanto ao tempo de integração do neurônio. Essa variável foi modificada, pois o referido trabalho (De Almeida, Idiart *et al.*, 2007) visava avaliar apenas um disparo dos neurônios sendo irrelevante a permanência de processamento para o neurônio após um ciclo de atividade. Como o objetivo aqui era reproduzir a depressão e a facilitação por pulso pareado que ocorre na região hipocampal, o tempo de integração do neurônio foi aumentado para corresponder a uma manutenção de certo resquício de atividade para quando da chegada do segundo estímulo.

As alterações nos valores das correntes se devem às alterações na configuração da rede (Figura 15). No trabalho de referência, os neurônios piramidais desencadeavam a resposta inibitória dos interneurônios, neste uma entrada prévia desencadeia a inibição.

O modelo produziu, pela interação entre as células excitatórias e inibitórias, resultados razoavelmente realistas, reproduzindo potencial eletrofisiológico (a) e PA (b) mesmo sem presença de corrente de pós-hiperpolarização.

A contagem de PAs como medida de intensidade do potencial de ação coletivo nas simulações de pulso pareado apresentou depressões (c) satisfatórias (Figura 10), mas o modelo deve ser revisto para representar também a facilitação (d) conforme as variações de plasticidade dependente de IIP para o hipocampo (ver página 13).

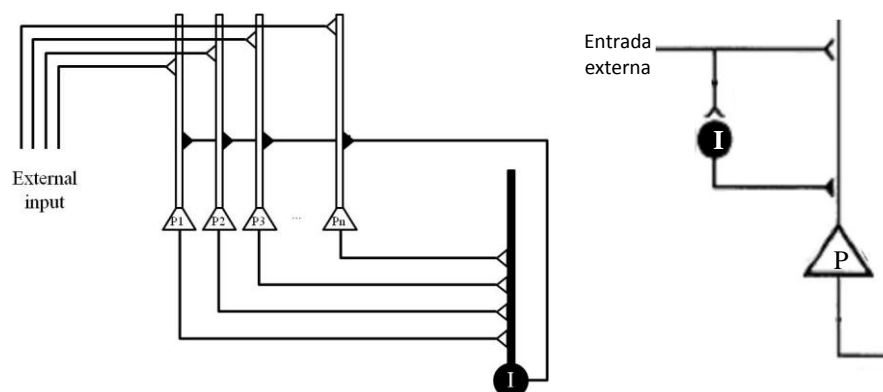


Figura 15: Representação do sistema modelado no trabalho de referência (esquerda) em que os neurônios piramidais (P) desencadeavam a resposta inibitória dos interneurônios (I); e no presente trabalho (direita) onde uma entrada prévia desencadeia a inibição.

As simulações de trens de estímulo (e) com dez neurônios apresentaram maior inibição periódica para o IIP correspondente ao da oscilação γ , com evidente emergência de um padrão repetitivo. Logo, a ação de uma inibição cíclica com frequência de 40Hz promove uma restrição no número disparos observados, sendo γ suficiente pra gerar alguns padrões temporais cíclicos. Estes padrões ciclam a cada 100ms, o que corresponde a frequência do ritmo θ (4-8Hz), associada a precessão de fase. Isso indica que θ emerge intrinsicamente a partir da ação de uma inibição γ .

Para cem neurônios tanto na presença quanto na ausência de período refratário o resultado não foi tão claro quanto para dez neurônios. O comportamento dos neurônios se aproximou mais do esperado pela simulação com dez neurônios na simulação com período refratário. Ainda assim, a reprodução para maior número de neurônios na rede não obteve resultado tão evidente de inibição.

Os resultados obtidos com a estimulação por pulso pareado e na simulação com maior número de neurônios para avaliação de efeito oscilatório não foram muito condizentes com o esperado, o que nos leva a supor uma falha na construção do modelo. Esta pode ser decorrente da minha experiência inicial como modeladora ou mesmo de limitação intrínseca do modelo. Neste caso, será mais proveitoso buscar outro tipo de modelo de rede neural que possua uma dinâmica integrativa mais adequada para a subseqüente modelagem do sistema hipocampo-cortical.

CONCLUSÕES

O modelo integra-e-dispara de neurônios pode ser aplicado para simulações referentes à CA1, reproduzindo satisfatoriamente potencial eletrofisiológico, potencial de ação e depressão por pulso pareado. Mais trabalhos com o modelo devem ser desenvolvidos para que consiga representar também o fenômeno da facilitação por pulso pareado, dentro do IIP em que a mesma é pertinente.

Do modo em que o modelo se apresenta as oscilações γ exercem maior depressão nas respostas excitatórias locais, ou seja, maior redução do número de potenciais de ação, sem perder variação na quantidade dos mesmos, mantendo padrões que ciclam com o tempo.

Mais levantamento bibliográfico e aprendizagem quanto ao funcionamento do modelo podem ser necessários para uma melhor reprodução de comportamentos fisiológicos da região CA1 do hipocampo e áreas afins para que possa se dar continuidade ao trabalho de integrar hipocampo e córtex entorrinal.

PERSPECTIVAS

O próximo do passo do projeto é estudar as modulações relativas aos sistemas de aprendizagem do sistema, para tanto deve ser feito um levantamento bibliográfico com o maior número possível de dados a respeito dos receptores e tipos de plasticidades encontradas nas sinapses que fazem parte da formação hipocampal e da interação hipocampo-córtex.

Modelar parte dessas modulações de maneira a poder verificar quais implicações a organização do sistema pode ter no processamento da memória hipocampo-dependente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, O. J. e MEHTA, M. R. The hippocampal rate code: anatomy, physiology and theory. Trends Neurosci, v.32, n.6, Jun, p.329-38. 2009.
- BAZHENOV, M. e TIMOFEEV, I. Thalamocortical oscillations. Scholarpedia 2006. Em: http://www.scholarpedia.org/article/Thalamocortical_oscillations. Acesso em: 15 jun 2008.
- BEAR, M. F. Neurociências - Desvendando o Sistema Nervoso: Artmed. 2002. 858 p.
- BIKBAEV, A. e MANAHAN-VAUGHAN, D. Relationship of hippocampal theta and gamma oscillations to potentiation of synaptic transmission. Front Neurosci, v.2, n.1, Jul, p.56-63. 2008.
- BIRD, C. M. e BURGESS, N. The hippocampus and memory: insights from spatial processing. Nat Rev Neurosci, v.9, n.3, Mar, p.182-94. 2008.
- CAREY, B. H. M., an Unforgettable Amnesiac, Dies at 82. The New York Times. 2008. Em: http://www.nytimes.com/2008/12/05/us/05hm.html?_r=1&pagewanted=2. Acesso em: 5 dez 2008.
- DE ALMEIDA, L., IDIART, M., *et al.* Memory retrieval time and memory capacity of the CA3 network: Role of gamma frequency oscillations. Learning & Memory, v.14, n.11, November 2007, p.795-806. 2007.
- _____. A Second Function of Gamma Frequency Oscillations: An E%-Max Winner-Take-All Mechanism Selects Which Cells Fire. J. Neurosci., v.29, n.23, June 10, 2009, p.7497-7503. 2009.
- DEBANNE, D., GUERINEAU, N. C., *et al.* Paired-pulse facilitation and depression at unitary synapses in rat hippocampus: quantal fluctuation affects subsequent release. J Physiol, v.491 (Pt 1), Feb 15, p.163-76. 1996.
- HASSABIS, D., KUMARAN, D., *et al.* Patients with hippocampal amnesia cannot imagine new experiences. Proceedings of the National Academy of Sciences, v.104, n.5, January 30, 2007, p.1726-1731. 2007.
- KAY, L. M., BESHEL, J., *et al.* Olfactory oscillations: the what, how and what for. Trends in Neurosciences, v.32, n.4, p.207-214. 2009.
- LEHN, H., STEFFENACH, H. A., *et al.* A specific role of the human hippocampus in recall of temporal sequences. J Neurosci, v.29, n.11, Mar 18, p.3475-84. 2009.
- PAXINOS, G. The Rat Nervous System: Elsevier. 2004. 1309 p.

PLATEK, S. M., KEENAN, J. P., *et al.* Evolutionary Cognitive Neuroscience. Cambridge, USA: MIT Press. 2006. 620 p.

RAASTAD, M. e SHEPHERD, G. M. Single-axon action potentials in the rat hippocampal cortex. J Physiol, v.548, n.Pt 3, May 1, p.745-52. 2003.

RYAN, L., COX, C., *et al.* Hippocampal activation during episodic and semantic memory retrieval: comparing category production and category cued recall. Neuropsychologia, v.46, n.8, p.2109-21. 2008.

SHEPHERD, G. M. The Synaptic Organization of the Brain. New York: Oxford University Press. 2003. 736 p.

SKAGGS, W. E., MCNAUGHTON, B. L., *et al.* Theta phase precession in hippocampal neuronal populations and the compression of temporal sequences. Hippocampus, v.6, n.2, p.149-72. 1996.

TOMMASI, L., PETERSON, M. A., *et al.* Cognitive Biology: Evolutionary and Developmental Perspectives on Mind, Brain, and Behavior: MIT Press. 2009. 384 p. (Vienna Series in Theoretical Biology)

VAN STRIEN, N. M., CAPPAERT, N. L., *et al.* The anatomy of memory: an interactive overview of the parahippocampal-hippocampal network. Nat Rev Neurosci, v.10, n.4, Apr, p.272-82. 2009.

ZANATTA, M. S., QUILLFELDT, J. A., *et al.* Involvement of the hippocampus, amygdala, entorhinal cortex and posterior parietal cortex in memory consolidation. Braz J Med Biol Res, v.30, n.2, Feb, p.235-40. 1997.