

*Projeto de Doutorado*

*Estudo do aparecimento de  
comportamento caótico  
induzido por “ruído” em  
modelos matemáticos de  
neurônios biológicos*

*Bóris Marin*

*Orientador: Reynaldo Daniel Pinto – IFUSP*

# Conteúdo

<b>1. Resumo.....</b>	<b>3</b>
<b>2. Introdução.....</b>	<b>4</b>
<b>3. Metodologia.....</b>	<b>7</b>
<b>3.1 – Modelo baseado em condutâncias do tipo Hodgkin-Huxley .....</b>	<b>7</b>
<b>3.2 - Modelo dinâmico tipo Hindmarsh-Rose.....</b>	<b>9</b>
<b>4. Resultados Preliminares.....</b>	<b>1</b>
	<b>1</b>
<b>5. Proposta de Trabalho.....</b>	<b>1</b>
	<b>5</b>
<b>6. Cronograma de execução.....</b>	<b>1</b>
	<b>6</b>
<b>7. Referências.....</b>	<b>1</b>
	<b>7</b>

# 1. Resumo

Resultados preliminares do estudo de modelos determinísticos e estocásticos realistas da atividade de neurônios biológicos mostraram que a adição de uma componente aleatória pode promover o aparecimento de comportamento caótico em um sistema dinâmico determinístico que só apresentava comportamento periódico. Este mecanismo pode ser muito importante para produzir as características dinâmicas necessárias para o bom funcionamento de redes neurais biológicas onde flexibilidade e confiabilidade devem coexistir.

Durante a execução deste projeto de pesquisa pretendemos mostrar que no mecanismo observado o comportamento caótico emerge devido à perturbação de uma órbita periódica estável ao redor da qual existem regiões do espaço de fase com sensibilidade às condições iniciais. Para isso iremos usar ferramentas da teoria de sistemas dinâmicos e estudar os espaços de fase de vários modelos de neurônios.

Embora tenhamos mostrado, em trabalhos anteriores, evidências de que este efeito ocorre em modelos de alta dimensão – como o modelo de Hodgkin-Huxley (12 dimensões) – pretendemos também analisar outros modelos mais simples, como os modelos dinâmicos fenomenológicos do tipo Hindmarsh-Rose (3 ou 4 dimensões). Nosso intuito é investigar, através de simulações numéricas, se o efeito depende da dimensão do espaço de fase – ou se pode ocorrer também em modelos de baixa dimensionalidade, nos quais é possível simplificar bastante a análise gráfica do espaço de fase, extrapolando então os resultados para maiores dimensões.

## 2. Introdução

A representação matemática do comportamento elétrico de neurônios usando modelos dinâmicos que, baseados em medidas experimentais eletrofisiológicas, permitem manipular a dinâmica de condutâncias específicas e testar diferentes hipóteses sobre o comportamento do neurônio isolado, constitui uma poderosa ferramenta para estudar muitas questões de interesse em neurociência. Entre elas podemos ressaltar: como as condutâncias individuais moldam o comportamento de uma célula ou qual é a importância de cada uma das propriedades individuais dos neurônios na determinação do comportamento global de uma rede neural complexa (Marder, 1998). Mesmo nas menores e mais simples redes neurais biológicas, estas questões estão longe de serem respondidas visto que os próprios neurônios são sistemas altamente complexos e não-lineares (Holden, 1997; Rinzel & Ermentrout, 1998; Izhikevich, 2000).

Modelos matemáticos realistas da atividade dos neurônios, além de constituir uma maneira de testar diversas hipóteses (muitas vezes impossíveis de testar em um neurônio vivo) sobre os processos que colaboram para produzir um comportamento experimental particular, podem ser usados para fazer previsões e orientar experimentos que revelem novas propriedades das células (Marder, 1998; Dayan & Abbott, 2001).

Esta troca de informação entre experimentos com neurônios vivos e modelos pode abrir muitas novas possibilidades. Entre outras aplicações, modelos analógicos ou modelos de neurônios virtuais integrados em tempo real em computadores digitais podem interagir com tecido vivo e produzir redes neurais híbridas (Szücs *et al.*, 2000; Pinto *et al.*, 2000; Prinz, 2004) que podem auxiliar a compreender melhor como as redes biológicas funcionam (Selverston *et al.*, 2000), restaurar circuitos danificados (Szücs *et al.*, 2000), construir circuitos com novas propriedades (Ayers, 2004), ou até alimentar uma rede neural viva com dados sensoriais vindos de dispositivos artificiais comandados pela rede biológica como acontece nas interfaces cérebro-máquina (Nicolelis, 2003).

Desde o trabalho pioneiro que introduziu as técnicas de *voltage-clamp* e a modelagem matemática da atividade elétrica do axônio gigante da lula (Hodgkin & Huxley, 1952), modelos determinísticos do comportamento das condutâncias iônicas têm sido adotados por muitos neurocientistas como um paradigma do comportamento elétrico macroscópico da membrana dos neurônios. A principal razão do sucesso destes modelos é a capacidade que eles têm de colocar sob um formalismo matemático rigoroso a maior parte do comportamento elétrico dos neurônios, incluindo a geração de potenciais de ação. Como a maior parte dos valores dos parâmetros do modelo pode ser inferida quase que diretamente de experimentos do tipo *voltage-clamp*, onde a contribuição de cada população iônica para a corrente total pode ser separada e estudada em detalhe, os modelos determinísticos tornaram-se muito populares entre os experimentais (Kandel *et al.*, 1991; Dayan & Abbott, 2001).

Aqui estamos chamando de determinísticos os modelos baseados em equações diferenciais (que modelam correntes específicas da membrana e outros processos tais como o buffer de cálcio) com o sentido que, uma vez escolhido um conjunto de condições iniciais específicas, a integração temporal do conjunto de equações diferenciais determina uma solução única que representa a evolução temporal do potencial de membrana.

Entretanto, sabe-se que o comportamento dinâmico intrínseco do potencial de membrana da maioria dos neurônios biológicos é bem diferente de determinístico.

Experimentos em que neurônios do córtex de mamíferos foram isolados e um padrão artificialmente gerado foi apresentado repetidamente como entrada (Mainen & Sejnowski, 1995) mostraram que a confiabilidade da precisão temporal dos potenciais de ação gerados depende de propriedades estatísticas do sinal gerado, em desacordo com as previsões determinísticas.

Até mesmo em circuitos neurais especializados em produzir padrões motores periódicos e estáveis para controlar a atividade repetitiva de músculos, como o bem estudado Centro Gerador de Padrões (CPG) do gânglio estomatogástrico de crustáceos (STG) (Mulloney & Selverston, 1974; Selverston & Moulins, 1986), a maioria dos neurônios motores do circuito apresentam um comportamento irregular e bastante variável de produção de potenciais de ação em trens ou *bursts* quando são isolados sinapticamente dos outros neurônios do circuito (Rabinovich *et al.*, 1997; Elson *et al.*, 1999; Selverston *et al.*, 2000).

Cada vez que um destes neurônios é isolado do CPG pilórico ele revela um repertório similar de comportamentos irregulares, mas sabe-se que existem pequenas diferenças nas condutâncias da membrana de neurônio para neurônio e de animal para animal. Isso matematicamente significa que, se for possível escrever equações que modelem o comportamento experimental, os parâmetros destas equações não poderão nunca ser especificados exatamente. Mesmo assim, um comportamento similar é esperado quando os parâmetros sofrem pequenas variações. Esta é exatamente a idéia de estabilidade estrutural da teoria de sistemas dinâmicos (Abraham & Shaw, 1992).

Deste modo, o comportamento irregular, que se mostrou relacionado a propriedades não-lineares e caóticas dos neurônios (Rabinovich *et al.*, 1997; Falcke *et al.*, 2000), é estruturalmente estável em um espaço de parâmetros de alta dimensão, onde os neurônios estão sujeitos a pequenas flutuações não apenas em suas propriedades intrínsecas, mas também em parâmetros externos importantes como a temperatura da preparação, as concentrações iônicas da solução fisiológica, etc.

A estabilidade estrutural do comportamento irregular é um obstáculo sério ao desenvolvimento de modelos determinísticos baseados em condutâncias do tipo Hodgkin-Huxley (HH). No modelo original HH da geração de potenciais de ação (4 equações diferenciais) pelo axônio foi encontrado apenas comportamento caótico estruturalmente instável, já que este é confinado em um volume ínfimo do espaço de parâmetros (Guckenheimer & Oliva, 2002). Em modelos mais realistas de um neurônio, onde mais de uma dezena de equações não-lineares são acopladas, pode-se intuitivamente esperar que a maior complexidade leve a um aumento das regiões do espaço de parâmetros onde ocorrem comportamentos irregulares, tornando-se estes estruturalmente estáveis. Surpreendentemente, não é isso que acontece.

Recentemente, um modelo determinístico do tipo HH para neurônios do STG em cultura (Turrigiano *et al.*, 1995), que é capaz de reproduzir com sucesso vários modos de funcionamento dos neurônios biológicos, foi estudado em bastante detalhe (Prinz *et al.*, 2003b) e uma base de dados com aproximadamente 1,7 milhões de neurônios diferentes (cada um correspondendo a um conjunto particular de valores de condutâncias em um espaço de parâmetros com 8 dimensões) foi construída para caracterizar os diferentes tipos de atividade dinâmica que o modelo pode reproduzir. Em toda a base de dados apenas 0,1% dos neurônios correspondem a comportamentos verdadeiramente irregulares (não relacionados a instabilidades nas proximidades de bifurcações de adição de período em um comportamento periódico). Além disso, a pequena porcentagem de comportamentos irregulares não se encontra condensada em uma região específica do espaço de parâmetros, mas bastante dispersa (Prinz *et al.*,

2004), o que sugere fortemente que o comportamento irregular não é estruturalmente estável neste modelo.

Comportamento complexo ou caótico (Abarbanel, 1996) estruturalmente estável foi encontrado apenas em alguns modelos determinísticos (Komendantov & Kononenko, 1996; Falcke *et al.*, 2000) que incluem um modelo não linear da troca de cálcio entre depósitos no retículo endoplasmático e o citosol. A característica mais importante destes modelos é o fato da modulação da  $[Ca^{+2}]$  ser o principal mecanismo usado na regulação de diversos processos celulares (Ikeda, 2004). Entretanto, de acordo com estes modelos, a célula deveria apresentar oscilações lentas macroscópicas dos níveis de cálcio citosólico. Tais oscilações da  $[Ca^{+2}]$  foram observadas experimentalmente em alguns neurônios de vertebrados (Parri & Crunelli, 2001; Zhang *et al.*, 2003), mas nunca foram encontradas em neurônios do STG (Levi *et al.*, 2003).

Baseados no sucesso de modelos estocásticos da dinâmica axonal (Schneidman *et al.*, 1998) que reproduzem o comportamento experimental (Mainen & Sejnowski, 1995) ao resgatar as características probabilísticas dos canais iônicos, (Hille, 2001; Levitan & Kaczmarek, 1997; Skaugen & Walloe, 1979; White *et al.*, 1998; White *et al.*, 2000) propusemos recentemente um modelo estocástico para os neurônios do STG (Carelli *et al.*, 2005). Nosso modelo é uma tradução do modelo HH usado por Prinz *et al.* e baseia-se numa descrição Markoviana (Destexhe *et al.*, 1994) dos estados microscópicos que os canais de cada tipo iônico podem assumir. A tradução foi feita cuidadosamente para não alterar ou incluir nenhuma dinâmica que não estivesse presente no modelo determinístico original. Desse modo pudemos, além de comparar nossos resultados com o comportamento de neurônios reais do STG, confrontá-los diretamente com os resultados obtidos através do modelo determinístico original, para os mesmos valores de parâmetros (condutância máxima dos diversos tipos iônicos). Toda a dinâmica não periódica pôde ser atribuída à natureza estocástica considerada apenas pelo nosso modelo.

O modelo estocástico foi capaz de reproduzir as irregularidades encontradas em neurônios biológicos (Selverston *et al.*, 2000; Falcke *et al.*, 2000; Szücs *et al.*, 2003), apresentando comportamento irregular estruturalmente estável para um volume grande do espaço de parâmetros – o que era esperado ao acrescentarmos uma fonte de “ruído”. O que não se esperava é que as séries temporais irregulares produzidas pelo modelo estocástico, quando analisadas usando técnicas da teoria de sistemas dinâmicos não-lineares e caos (Abarbanel, 1996; Hegger *et al.*, 1999), apresentassem atratores dinâmicos de baixa dimensão e expoentes de Lyapunov positivos – assim como ocorre nas séries de dados experimentais. Ou seja, o modelo estocástico parece recuperar as irregularidades encontradas nos neurônios biológicos, produzindo eventos globalmente caóticos a partir de uma descrição dinâmica local estocástica, diretamente traduzida de um modelo determinístico que não apresenta nenhum comportamento caótico estruturalmente estável.

Existe uma extensa literatura sobre como um comportamento estocástico (que pode ser descrito apenas em termos de probabilidades) pode ser gerado a partir de um sistema dinâmico determinístico que apresenta sensibilidade às condições iniciais (Berger, 2001). Sabe-se também que a adição de uma componente estocástica a um sistema dinâmico determinístico normalmente caótico pode levar à supressão de caos (Kapitaniak, 1990). Entretanto, não há estudos sistemáticos sobre como a adição de uma componente aleatória pode promover o aparecimento de comportamento caótico em um sistema dinâmico determinístico que só apresenta comportamento periódico.

Temos por hipótese que o comportamento caótico emerja devido à perturbação de uma órbita periódica estável, ao redor da qual existem regiões com sensibilidade às condições iniciais. As oscilações do modelo determinístico ocorrem em um espaço de fase com 12 dimensões – entretanto, devido à presença da órbita periódica estável fortemente atrativa, o comportamento estacionário é reduzido a um ciclo-limite de baixa dimensão. Na vizinhança deste ciclo limite, devem existir regiões do espaço de fase que apresentam sensibilidade às condições iniciais. Todavia, essas regiões nunca são visitadas pela dinâmica estacionária, já que se encontram separadas do ciclo limite por variedades estáveis. Quando o caráter estocástico dos canais iônicos é considerado, a solução estacionária é perturbada de tal modo que a órbita resultante permanece próxima à órbita periódica atrativa, mas as regiões com dinâmica mais rica são agora visitadas, revelando a sensibilidade às condições iniciais que já estava presente no modelo original.

O objetivo deste projeto de pesquisa é o estudo sistemático de modelos tipo HH e outros modelos simplificados da atividade neural para procurar respostas para estas questões.

### 3. Metodologia

Nesta seção descrevemos brevemente os modelos de neurônios que serão implementados em algoritmos de integração do tipo Runge-Kutta, de 4ª ou 6ª ordem com passo fixo ou adaptável. Estes programas serão escritos em linguagem C++ para integrar as equações não-lineares que descrevem os modelos e realizar as simulações necessárias.

#### 3.1 – Modelo baseado em condutâncias do tipo Hodgkin-Huxley (HH)

O modelo determinístico HH que iremos utilizar neste projeto de pesquisa é baseado em experimentos de *voltage-clamp* em neurônios removidos mecanicamente do STG de crustáceos e mantidos em cultura primária por 1-2 semanas (Turrigiano *et al.*, 1995; Prinz *et al.*, 2003a). Ajustando apropriadamente as condutâncias máximas de cada tipo iônico este modelo é capaz de reproduzir os diversos regimes de oscilações periódicas apresentadas pelos neurônios biológicos do STG.

A dinâmica do potencial de membrana é descrita por:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{1}{C_m} \left[ I_{ext} - \sum_i g_i (V - V_i) \right],$$

onde  $V$  é o potencial de membrana,  $C_m$  é a capacitância da membrana,  $I_{ext}$  é uma corrente externa que pode ser usada para sintonizar o modelo em um comportamento desejado ou simular uma entrada sináptica,  $V_i$  é o potencial reverso do íon da condutância de tipo  $i$  calculado usando a equação de Nernst.  $g_i$  é o valor instantâneo da condutância de tipo  $i$ , expresso por:

$$g_i(V,t) = \bar{g}_i m_i^{p_i} h_i^{q_i},$$

onde  $\bar{g}_i$  é o valor máximo da condutância de tipo;  $i$ ,  $m_i$  e  $h_i$  são as variáveis de ativação e inativação no formalismo HH, que podem assumir valores no intervalo  $[0,1]$ ;  $\gamma_i$  e  $\delta_i$  são inteiros escolhidos de modo a ajustar as equações aos dados experimentais.

O modelo inclui dois tipos de condutâncias geradoras de potenciais de ação: sódio ( $i = Na$ ) e potássio ( $i = K_d$ ), assim como cinco tipos de condutâncias lentas:  $Ca_T$  (cálcio transiente),  $Ca_S$  (cálcio persistente),  $K_{[Ca]}$  (potássio dependente de cálcio),  $A$  (corrente de adaptação), e  $H$  (corrente ativada por hiperpolarização).

A dinâmica de  $m_i$  e  $h_i$  (para todas as condutâncias menos  $K_{[Ca]}$ ) são determinadas por:

$$\frac{dm_i}{dt} = \frac{m_{i,\infty}(V) - m_i(t)}{\tau_{m_i}(V)},$$

$$\frac{dh_i}{dt} = \frac{h_{i,\infty}(V) - h_i(t)}{\tau_{h_i}(V)},$$

onde  $m_{i,\infty}$ ,  $\tau_{m_i}$ ,  $h_{i,\infty}$ ,  $\tau_{h_i}$  são as funções sigmoidais (mostradas na tabela 1) inferidas de dados de experimentos tipo *voltage-clamp*. A variável de ativação da condutância de potássio dependente de cálcio, diferentemente do que ocorre com as outras condutâncias (que dependem apenas do potencial de membrana), depende da concentração de cálcio.

Há também um buffer de cálcio bastante simples, baseado na competição entre o mecanismo de extrusão de  $Ca^{2+}$  e o influxo de  $Ca^{2+}$  através dos canais  $Ca_T$  e  $Ca_S$ . O buffer é modelado por:

$$\frac{d[Ca^{2+}]}{dt} = -\frac{1}{\tau_{Ca}} (f * (I_{CaT} + I_{CaS}) + [Ca^{2+}] - [Ca^{2+}]_0),$$

onde  $f$ ,  $[Ca^{2+}]_0$  e  $\tau_{Ca}$  são constantes. Mais detalhes sobre este modelo podem ser encontrados em Prinz *et al.*, 2003a e Turrigiano *et al.*, 1995.

Os valores de parâmetros normalmente usados para simular o comportamento de neurônios do STG são:

- $C_m = 1.0 \mu F/cm^2$ ;
- condutâncias máximas ( $\bar{g}_i$ ) em  $mS/cm^2$ : 200 para  $Na^+$ ; 100 para  $K_d$ ; 2.5 para  $Ca_T$ ; 4.0 para  $Ca_S$ ; 5.0 para  $K_{[Ca]}$ ; 50 para  $A$ , 0.01 para  $H$ ; 0.01 para a corrente de fuga;
- potenciais reversos em mV: +50 para  $Na^+$ ; -80 para  $K_d$ ,  $K_{[Ca]}$  e  $A$ ; -50 para a corrente de fuga; -20 para  $H$ . Como a concentração intracelular de cálcio não é constante,  $V_{Ca}$  é calculado a cada passo de integração como uma função de  $[Ca^{2+}]$ , considerando uma concentração externa de cálcio de  $3000 \mu M$ , de acordo com equação de Nernst:  $V_{Ca} = 12.5 \ln \left( \frac{3000}{[Ca^{2+}]} \right)$ ;
- buffer de cálcio:  $\tau_{Ca} = 200$  ms,  $f = 14.96 \mu M/nA$ ,  $[Ca]_0 = 0.5 \mu M$ .

As condições iniciais usadas em simulações do modelo normalmente são:



$V_m = -55.0$  mV;  $[Ca^{2+}] = 0.5$   $\mu$ M;  $m_{Na}=0.9$ . Todas as outras variáveis de ativação/inativação são inicializadas em 0,1 e um transiente inicial de 10s é desprezado para garantir a estabilidade das series temporais.

	$\gamma_i$	$\epsilon_i$	$m_\infty$	$h_\infty$	$\tau_m$	$\tau_h$
$I_{Na}$	3	1	$\left[1 + \exp\left(\frac{V+25.5}{-5.29}\right)\right]$	$\left[1 + \exp\left(\frac{V+120}{5}\right)\right]$	$2.64 - \frac{2.52}{1 + \exp\left(\frac{V+120}{-25}\right)}$	$\frac{1.34}{1 + \exp\left(\frac{V+62}{-10}\right)} \left(1.5 + \left[\exp\right.\right.$
$I_{CaT}$	3	1	$\left[1 + \exp\left(\frac{V+27.1}{-7.2}\right)\right]$	$\left[1 + \exp\left(\frac{V+120}{5}\right)\right]$	$43.4 - \frac{42.6}{1 + \exp\left(\frac{V+68.1}{-20.5}\right)}$	$210 - \frac{179.6}{1 + \exp\left(\frac{V+55.0}{-16.9}\right)}$
$I_{CaS}$	3	1	$\left[1 + \exp\left(\frac{V+33.0}{-8.1}\right)\right]$	$\left[1 + \exp\left(\frac{V+120}{5}\right)\right]$	$2.8 + \frac{14.0}{\exp\left(\frac{V+27.0}{10.0}\right) + \exp\left(\frac{V+120}{-10}\right)}$	$120 + \frac{300.0}{\exp\left(\frac{V+55.0}{9.0}\right) + \exp\left(\frac{V+65.0}{-16.0}\right)}$
$I_A$	3	1	$\left[1 + \exp\left(\frac{V+27.2}{-8.7}\right)\right]$	$\left[1 + \exp\left(\frac{V+120}{5}\right)\right]$	$23.2 - \frac{20.8}{1 + \exp\left(\frac{V+32.9}{-15.2}\right)}$	$77.2 - \frac{58.4}{1 + \exp\left(\frac{V+38.9}{-26.5}\right)}$
$I_{KCa}$	4	0	$\frac{[Ca]}{[Ca]+3} \left[1 + \exp\left(\frac{V+120}{5}\right)\right]$		$180.6 - \frac{150.2}{1 + \exp\left(\frac{V+46.0}{-22.7}\right)}$	
$I_{Kd}$	4	0	$\left[1 + \exp\left(\frac{V+12.3}{-11.8}\right)\right]$		$14.4 - \frac{12.8}{1 + \exp\left(\frac{V+28.3}{-19.2}\right)}$	
$I_H$	1	0	$\left[1 + \exp\left(\frac{V+75.0}{5.5}\right)\right]$		$\frac{2.0}{\exp\left(\frac{V+169.7}{-11.6}\right) + \exp\left(\frac{V-26.7}{14.3}\right)}$	

Tabela 1. Funções de ativação e inativação no estado estacionário e os expoentes que determinam a dinâmica do modelo HH para o neurônio do STG. Nos casos em que  $\delta_i = 0$  não existe inativação e o espaço reservado para a expressão correspondente foi deixado em branco ( $h_i = 1$ ). As voltagens estão em mV e as constantes de tempo em ms.

### 3.2 – Modelo dinâmico tipo Hindmarsh-Rose (HR):

Como análises topológicas (reconstrução do espaço de fase) da atividade de neurônios isolados do STG mostraram que a dinâmica pode ser descrita adequadamente usando-se apenas de 3 a 4 graus de liberdade (Rabinovich *et al.*, 1997) é possível utilizar modelos simplificados que capturem as características qualitativas mais importantes do comportamento dinâmico sem a necessidade de um número elevado de equações que descrevam detalhadamente o comportamento de cada tipo de condutância presente na membrana do neurônio.

É possível obter-se uma visão geral dos processos neurais usando-se “caricaturas” de neurônios (Marder e Selverston, 1992), ou seja, modelos baseados em equações simplificadas, como o de Fitzhugh (1961), Morris e Lecar (1981) ou Hindmarsh e Rose (HR) (1984) (Kepler *et al.*, 1990; Skinner *et al.*, 1994; Abarbanel *et al.*, 1996; Manor *et al.*, 1999).

Tais modelos simplificados são muito úteis para o estudo de redes neurais compostas por vários desses componentes e suas interconexões, pois o número reduzido de equações pode ser simulado muito mais rapidamente em um computador e também permitem a implementação de circuitos eletrônicos analógicos (integradores) que emulam o potencial de membrana da célula (Pinto *et al.*, 2000). Esses “neurônios eletrônicos”, quando sintonizados adequadamente, não apenas

comportam-se de maneira similar aos neurônios biológicos mas também são capazes de responder a estímulos em tempo real, podendo ser conectados aos neurônios biológicos formando circuitos mistos ou substituindo células biológicas danificadas (Szücs *et al.*, 2000).

Neste projeto de pesquisa vamos utilizar o modelo dinâmico fenomenológico conhecido como Hindmarsh-Hose (com três equações diferenciais acopladas de primeira ordem):

$$\begin{aligned}\dot{x} &= ay(t) + bx^2(t) - cx^3(t) - dz(t) + I \\ \dot{y} &= e - fx^2(t) - y(t) \\ \dot{z} &= \mu[-z(t) + S(x(t) + h)]\end{aligned}$$

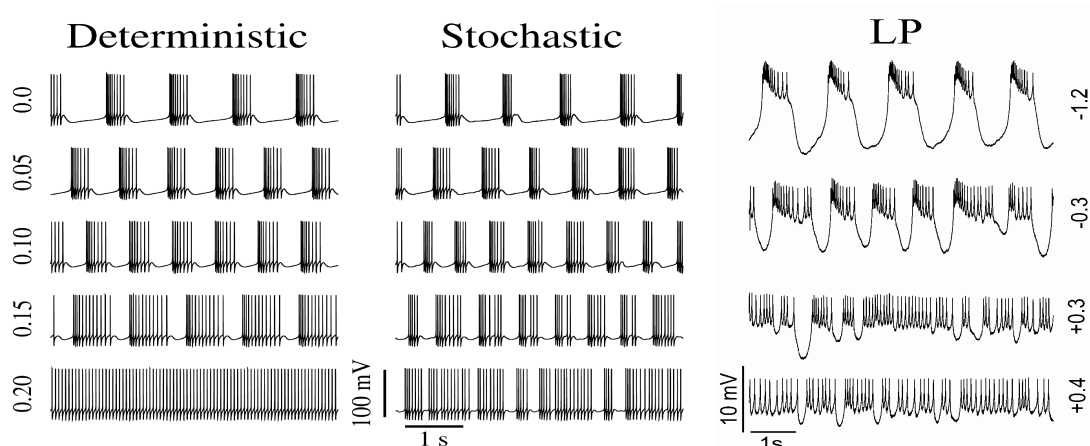
A variável  $x$  corresponde ao potencial de membrana  $V$  do neurônio e a variável  $y$  corresponde à corrente elétrica que flui através da membrana da célula. Este modelo foi concebido inicialmente com duas equações diferenciais que modelavam os potenciais de ação e foram deduzidas através de ajustes de curvas a dados experimentais. Em Hindmarsh & Rose, 1984, o modelo foi estendido através da inclusão da terceira equação diferencial de forma a descrever também os *bursts* apresentados por neurônios reais.

Este modelo não leva em conta detalhes dos processos fisiológicos envolvidos na dinâmica, mas tenta mimetizar o comportamento do potencial de membrana através de ajustes de parâmetros. Apesar de não ser muito popular entre eletrofisiologistas, este modelo tem se mostrado satisfatório em estudos de CPGs de crustáceos.

Neste projeto, iremos implementar o modelo HR e estudar se existem, para valores dos parâmetros de controle que correspondem a comportamento periódico, perturbações capazes de fazer com que o modelo apresente sensibilidade às condições iniciais – como descobrimos no modelo HH. Como o modelo HR possui apenas três equações, sua análise topológica gráfica é muito mais simples – e pode ser possível visualizar, com os resultados obtidos, o mesmo efeito que ocorre no modelo HH de mais alta dimensionalidade. Se essa dinâmica não for reprodutível no modelo HR, utilizaremos um outro modelo do mesmo tipo, ao qual uma quarta equação foi acrescentada (Pinto *et al.*, 2000).

## 4. Resultados Preliminares:

Nesta seção mostramos os principais resultados preliminares que nos levaram a propor este projeto. Na figura 4.1, comparamos o comportamento dinâmico de um neurônio biológico lateral pilórico (LP) do STG da lagosta espinhosa californiana *Panulirus interruptus* com o comportamento dos modelos determinístico e estocástico, quando uma corrente DC é injetada nas células. Embora ambos os modelos sejam do tipo compartimento único e não apresentem hiperpolarizações profundas nem oscilações lentas de grande amplitude, observa-se que o modelo estocástico apresenta um comportamento que representa qualitativamente melhor o neurônio biológico (apresenta comportamento irregular).

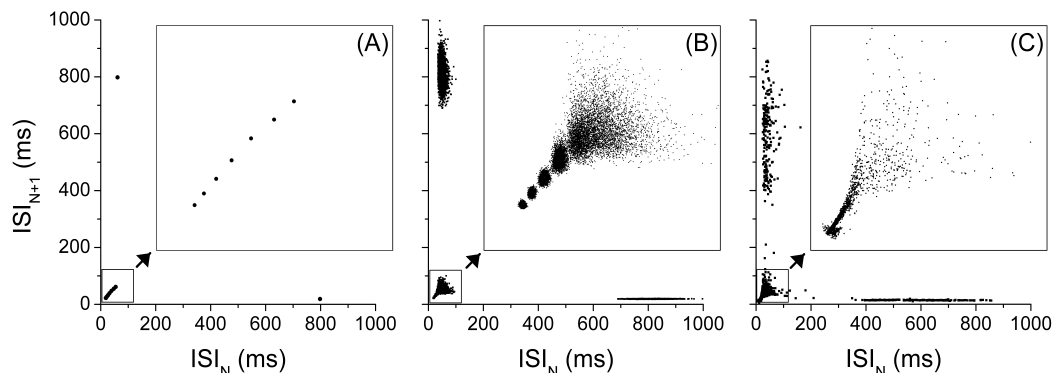


**Figura 4.1** – Exemplo do comportamento dos dois modelos e do neurônio biológico LP quando uma corrente DC (legendas laterais) é injetada nas células. No modelo determinístico o número de potenciais de ação/burst aumenta com a corrente, bursts periódicos cada vez mais longos são produzidos até que um regime de disparo tônico (sem interrupções) se estabelece para  $I=0.20$ . No modelo estocástico, o número médio de potenciais de ação / burst também aumenta mas há bursts curtos misturados com bursts longos, como acontece com o LP.

Na figura 4.2 mostramos uma superposição de trens de potenciais de ação para uma série temporal de um neurônio lateral pilórico (LP) biológico (direita). Na mesma figura também estão os resultados obtidos aplicando a mesma técnica às séries temporais de um modelo tipo HH determinístico (esquerda) e ao modelo HH estocástico (centro). Detectando os potenciais de ação e construindo mapas de 1º retorno com os intervalos entre potenciais de ação (ISI) obtemos os gráficos mostrados na figura 4.3. O modelo determinístico periódico apresenta sempre a mesma sequência de ISIs. A precisão dos ISIs do modelo estocástico e do neurônio biológico LP diminui cada vez mais a partir do 1º ISI como aconteceria se existisse sensibilidade às condições iniciais.



**Figura 4.2** – O primeiro potencial de ação de cada burst foi usado para alinhar e sobrepor diferentes bursts da atividade elétrica ( $N=50$ ) e simular condições iniciais similares para os dois modelos. Todos os potenciais de ação e bursts do modelo determinístico (esquerda) são precisamente repetidos e o padrão obtido é uma curva fina. A superposição de 10 bursts do neurônio biológico LP (direita) mostra um comportamento diferente: a precisão diminui a cada novo potencial de ação e o final do burst é bastante irregular como ocorre em um sistema dinâmico com sensibilidade às condições iniciais. O modelo estocástico (centro) imita muito bem a crescente diminuição da precisão dos potenciais de ação que ocorre no neurônio biológico.



**Figure 4.3** – Mapas de retorno dos intervalos entre potenciais de ação (ISI) que ocorrem em 3000s da atividade elétrica dos dois modelos e ~200s da atividade do neurônio biológico (LP). Em cada gráfico é mostrada uma região ampliada que corresponde aos ISI intraburst. O modelo determinístico (A) apresenta um padrão preciso e repetitivo de ISIs. Entretanto, no neurônio LP (C), quando ISIs de mais alta ordem são considerados a precisão diminui do mesmo modo que ocorre na versão estocástica (B).

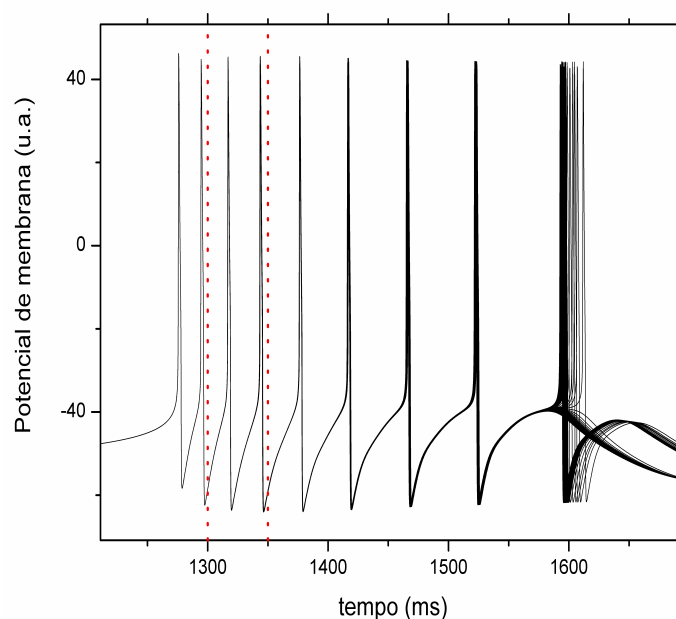
Para caracterizar a série temporal do modelo estocástico e compará-la com a série temporal do neurônio biológico utilizamos o pacote TISEAN (Hegger *et al.*, 1999), obtendo os resultados mostrados na tabela 2. Desses resultados podemos inferir que o modelo estocástico apresenta um atrator caótico com dimensão compatível com a do atrator do LP biológico.

	Modelo estocástico	LP
<b>Dimensão de imersão</b>	3	3
$\lambda_1$	0.050	0.40
$\lambda_2$	0.007	0.07
$\lambda_3$	-0.070	1.2
<b>Dimensão Kaplan-Yorke</b>	2.6	2.8

**Tabela 2** – Resultados da análise não linear aplicada às séries temporais do modelo estocástico e do neurônio biológico. Ambos apresentam atratores caóticos de baixa dimensão.

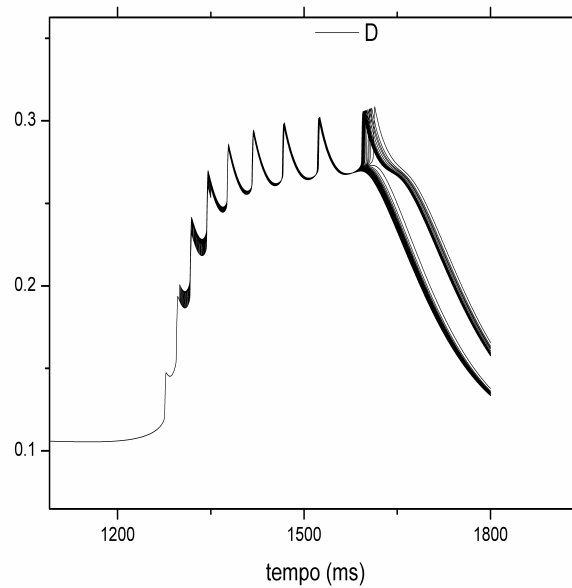
Como a única diferença entre o modelo estocástico e o determinístico é o caráter probabilístico atribuído ao funcionamento dos canais iônicos, nossa hipótese é

que a sensibilidade às condições iniciais já deveria estar presente no modelo determinístico em uma vizinhança próxima da órbita periódica que só passa a ser visitada pelo sistema dinâmico devido às perturbações introduzidas pelo “ruído” dos canais iônicos. Para testar esta hipótese perturbamos uma das variáveis dinâmicas do modelo determinístico periódico em um instante escolhido aleatoriamente dentro de uma janela de tempo após o início de um burst. A variável perturbada é a ativação da condutância de potássio dependente de cálcio  $m_{K[Ca]}$ , e a perturbação consiste em aumentar o valor de  $m_{K[Ca]}$  de 0.01. Os bursts perturbados são superpostos usando o primeiro potencial de ação e desprezam-se 3 bursts – para o modelo determinístico voltar ao comportamento estacionário – antes de uma nova perturbação ser aplicada. O resultado obtido é mostrado nas figuras 4.4 e 4.5.



**Figura 4.4** – Superposição de 50 bursts do modelo determinístico perturbado. A perturbação consiste em incrementar o valor da variável de ativação  $m_{K[Ca]}$  de 0.01 em um instante aleatório entre 1300 e 1350ms (linhas verticais tracejadas). Não se observa nenhum efeito em  $V_m$  até ~1450ms quando os bursts começam a se diferenciar lentamente até que em ~1600ms o último potencial de ação do burst pode ou não ocorrer. Após cada perturbação desprezam-se 3 bursts – para que o modelo volte ao comportamento periódico estacionário – antes de se aplicar nova perturbação.

Logo após a perturbação, praticamente nenhum efeito é observado no comportamento do potencial de membrana (figura 4.4). Apenas após algum tempo é que se observa uma divergência de comportamento entre os diferentes bursts. A dinâmica da variável  $m_{K[Ca]}$  (figura 4.5) é ainda mais interessante: a amplitude da perturbação diminui rapidamente no início, voltando a crescer no final do burst.



**Figura 4.5** – Superposição do comportamento da variável de ativação  $m_{K[Ca]}$  durante 50 bursts do modelo determinístico perturbado. A variável é perturbada (incrementada de 0.01) em um instante aleatório entre 1300ms e 1350ms. Observa-se que inicialmente a perturbação diminui de amplitude e depois volta a crescer no final do burst. Após cada perturbação despezam-se 3 bursts para que o modelo volte ao comportamento periódico estacionário antes de se aplicar nova perturbação.

Estes resultados preliminares indicam que a sensibilidade às condições iniciais revelada pelo modelo estocástico já estava presente no modelo determinístico. Fomos então levados a propor este projeto, a fim de estudar os mecanismos que culminam nesse comportamento – o qual pode mostrar-se de grande importância para as características de confiabilidade e flexibilidade que os CPGs biológicos devem possuir (Selverston *et al.*, 2000).

## 5. Proposta de Trabalho:

Encontram-se bem estabelecidos os mecanismos que levam um sistema dinâmico determinístico, que apresenta sensibilidade às condições iniciais após algum tempo, a apresentar um comportamento estocástico – o qual ser descrito apenas em termos de probabilidades. Sabe-se também que a adição de uma componente estocástica a um sistema dinâmico determinístico caótico pode levar à supressão do caos. Entretanto, não há estudos sistemáticos sobre como a adição de uma componente aleatória pode promover o aparecimento de comportamento caótico, em um sistema dinâmico determinístico só apresentava comportamento periódico.

Nossos resultados preliminares mostram que esse mecanismo ocorre em modelos determinísticos realistas da atividade de neurônios biológicos – o que pode ser importante para produzir as características dinâmicas necessárias para o bom funcionamento de redes neurais biológicas, onde flexibilidade e confiabilidade devem coexistir.

Durante a execução deste projeto de pesquisa pretendemos mostrar que o comportamento caótico emerge devido à perturbação de uma órbita periódica estável, ao redor da qual existem regiões do espaço de fase com sensibilidade às condições iniciais. Para tanto iremos usar ferramentas da teoria de sistemas dinâmicos, a fim de estudar os espaços de fase de vários modelos de neurônios. Embora tenhamos mostrado evidências de que este efeito ocorre em modelos de alta dimensão, como o HH, propomos também analisar outros modelos mais simples, como os modelos do tipo HR de 3 ou 4 dimensões. Pretendemos investigar, através de simulações numéricas, se o efeito depende da dimensão do espaço de fase ou se pode ocorrer também em modelos de baixa dimensão, onde é possível simplificar bastante a análise gráfica do espaço de fase e extrapolar os resultados para maiores dimensões.

Visamos também verificar se a presença de órbitas homoclínicas no modelo HR tem alguma influência no mecanismo descrito.

## 6. Cronograma de execução

O cronograma proposto inicialmente para a execução deste projeto de doutoramento é:

### **1º ano:**

- cursar disciplinas para obter os créditos necessários para o doutoramento;
- implementação de algoritmo para integrar modelos HH e HR;
- estudo teórico do espaço de fase do modelo HR;
- simulações;
- análise de dados;

### **2º ano:**

- cursar disciplinas para obter os créditos necessários para o doutoramento;
- estudo teórico do espaço de fase do modelo HH (é possível simplificá-lo?);
- comparação entre simulações e resultados teóricos;
- análise de dados;
- redação de eventuais trabalhos decorrentes da execução do projeto;

### **3º ano:**

- cursar eventuais disciplinas que ainda sejam necessárias para o doutoramento;
- simulações usando modelos HH, HR e outros, usando perturbações para tentar produzir atratores caóticos;
- análise de dados;
- redação de eventuais trabalhos decorrentes da execução do projeto;

### **4º ano:**

- simulações usando modelos HH, HR e outros usando perturbações para tentar produzir atratores caóticos;
- comparação entre simulações e resultados teóricos;
- análise de dados;
- redação de eventuais trabalhos decorrentes da execução do projeto;
- redação da tese de doutoramento.



## 7. Referências

- Abarbanel, H. D. I. (1996) *Analysis of observed chaotic data*, Springer-Verlag, New York, NY.
- Abarbanel, H. D. I., Huerta, R., Rabinovich, M. I., Rulkov, N., Rowat, P. F. e Selverston, A. I. (1996): Synchronized action of synaptically coupled chaotic model neurons, *Neural Computation* **8**, 50-65.
- Abraham, R. H., Shaw, C. D. (1992) *Dynamics: the geometry of behavior*, Addison-Wesley, Redwood City, CA.
- Ayers, J. (2004) Underwater walking, *Arthropod structure & development* **33**, 347-360.
- Berger, A. (2001) *Chaos and chance- an introduction to stochastic aspects of dynamics*, Walter de Gruyter, Berlin, Germany.
- Carelli, P. V., Sartorelli, J. C., and Pinto, R. D. (2005) A whole cell stochastic model reproduces the irregularities found in the membrane potential of bursting neurons. *J. Neurophysiol.* Acesso online: <http://jn.physiology.org/cgi/reprint/00070.2005v1>, em impressão.
- Dayan, P., Abbott, L. F. (2001) *Theoretical Neuroscience: computational and mathematical modeling of neural systems*, MIT Press.
- Destexhe, A., Mainen, Z. F., and Sejnowski, T. J. (1994) Synthesis of models for excitable membranes, synaptic transmission and neuromodulation using a common kinetic formalism. *J. Comput. Neurosci.* **1**, 195-231.
- Elson, R. C., Huerta, R., Abarbanel, H. D. I., Rabinovich, M. I., and Selverston, A. I. (1999) Dynamic control of irregular bursting in an identified neuron of an oscillatory circuit. *J. Neurophysiol.* **82**, 115-122.
- Falcke, M., Huerta, R., Rabinovich, M. I., Abarbanel, H. D. I., Elson, R. e Selverston, A. I. (2000) Modeling observed chaotic oscillations in bursting neurons: the role of calcium dynamics and IP3, *Biol. Cybern.* **82**, 517-527.
- Guckenheimer, J., and Oliva, R. (2002) Chaos in the Hodgkin-Huxley model. *SIAM J. Applied Dyn. Systems* **1**, 105-114.
- Hegger, R., Kantz, H., and Schreiber, T. (1999) Practical implementation of nonlinear time series methods: the TISEAN package, *Chaos* **9**, 413-435; TISEAN is freely downloadable at <http://www.mpipks-dresden.mpg.de/~tisean/>.
- Hille, B. (2001) *Ionic channels of excitable membranes*, 3rd ed., Sinauer, Sunderland, MA.

Hindmarsh, J. L. e Rose, R. M. (1984): A model of neuronal bursting using three coupled first order differential equations, *Proc. R. Soc. Lond. B.* **221**, 87-102.

Hodgkin, A. L., and Huxley, A. F. (1952): A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve, *J. Physiol.* **117**, 500-544.

Holden, A. V. (1997) Nonlinear Science - The impact of Biology, *Int. J. Bif. and Chaos* **7**, 2075-2104.

Ikeda, M. (2004) Calcium dynamics and circadian rhythms in suprachiasmatic nucleus neurons, *Neuroscientist* **10**, 315-324.

Izhikevich, E. M., (2000) Neural excitability, spiking and bursting. *Int. J. Bif. and Chaos* **10**, 1171-1266.

Kandel, E. R., Schwartz, J. H., and Jessel, T. M. (1991): *Principles of Neural Science*, 3rd ed., Appleton & Lange, Connecticut.

Kapitaniak, T. (1990) *Chaos in systems with noise*, 2<sup>nd</sup> ed., World Scientific, Singapore.

Kepler, T. B., Marder, E. e Abbott, L. F. (1990): The effect of electrical coupling on the frequency of model neuronal oscillators, *Science* **248**, 83-85.

Komendantov, A. O., and Kononenko, N. I. (1996) Deterministic chaos in mathematical model of pacemaker activity in bursting neurons of snail *Helix pomatia*. *J. theor. Biol.* **183**, 219-230.

Levi, R., Samoilova, M., and Selverston, A. I. (2003) Calcium signaling components of oscillating invertebrate neurons in vitro. *Neuroscience* **118**, 283-296.

Levitan, I. B., Kaczmarek, L. K. (1997) *The neuron: cell and molecular biology*, 2nd ed., Oxford, Houston, TX.

Mainen, Z. F., and Sejnowski, T. (1995) Reliability of spike timing in neocortical neurons, *Science* **268**, 1503-1508.

Manor, Y., Nadim, F., Epstein, S. Ritt, J., Marder, E. e Kopell, N. (1999): Network oscillations generated by balancing graded asymmetric reciprocal inhibition in passive neurons, *J. Neurosci.* **19**, 2765-2779.

Marder, E. (1998) From biophysics to models of network function, *Annu. Rev. Neurosci.* **21**, 25-45.

Marder, E. e Selverston, A. I. (1992): Modeling the stomatogastric nervous system. Em: *Dynamic Biological Networks: The Stomatogastric Nervous System*, eds. Harris-Warrick, R. M. et al., MIT Press, Cambridge, MA.

- Mulloney, B., and Selverston, A. I. (1974) Organization of the stomatogastric ganglion of the spiny lobster, *J. Comp. Physiol.* **91**, 1-32.
- Nicolelis, M. A. L. (2003) Brain machine interfaces to restore motor function and probe neural circuits, *Nature Rev. Neurosci.* **4**, 417-422.
- Parri, H. R., and Crunelli, V. (2001) Pacemaker calcium oscillations in thalamic astrocytes *in situ*. *Neuroreport* **12**, 3897-3900.
- Pinto, R. D., Varona, P., Volkovskii, A. R., Szücs, A., Abarbanel, H. D. I., and Rabinovich, M. I. (2000) Synchronous behaviour of two coupled electronic neurons. *Phys. Rev. E* **62**, 2644-2656.
- Prinz, A., Thirumalai, V., and Marder, E. (2003a) The functional consequences of changes in the strength and duration of synaptic inputs to oscillatory neurons. *J. Neurosci.* **23**, 943-954.
- Prinz, A., Billimoria, C. P., and Marder, E. (2003b) Alternative to hand-tuning conductance-based models: construction and analysis of databases of model neurons. *J. Neurophysiol.* **90**, 3998-4015.
- Prinz, A. (2004) Neural networks: models and neurons show hybrid vigor in real time. *Curr. Biol.* **14**, R661-R662.
- Prinz, A. A., Ramirez, J. M., Buzsaki, G., Stanley, K. J. (2004) How dynamic interactions of intrinsic bursting and synaptic properties shape network functions, Program No. 813. Abstract Viewer/Itinerary Planner. Washington, DC: Society for Neuroscience, San Diego, USA.
- Rabinovich, M. I., Abarbanel, H. D. I., Huerta, R., Elson, R., Selverston, A. I. (1997) Self-regulation of chaos in neural systems: experimental and theoretical results. *IEEE Trans. Circ. Syst. I* **44**, 997-1005.
- Rinzel, J., and Ermentrout, G. B. (1998) Analysis of neural excitability and oscillations. in: *Methods in Neuronal Modelling*, eds. C. Koch e I. Segev, MIT Press, Cambridge, MA.
- Schneidman, E., Freedman, B., and Segev, I. (1998) Ion channel stochasticity may be critical in determining the reliability of spike timing. *Neural Computation* **10**, 1679-1703.
- Selverston, A. I. and Moulins, M., eds. (1986) *The crustacean stomatogastric system*, Springer-Verlag, Berlin.
- Selverston, A. I., Rabinovich, M. I., Abarbanel, H. D. I., Elson, R., Szucs, A., Pinto, R. D., Huerta, R., and Varona, P., (2000) Reliable circuits from irregular neurons: a dynamical approach to understanding central pattern generators, *J. Physiol. (Paris)* **94**, 357-374.

Skaugen, E., and Walløe, L. (1979) Firing behavior in a stochastic nerve membrane model based upon the Hodgkin-Huxley equations. *Acta Physiol. Scand.* **107**, 343-363.

Skinner, F. K., Koppel, N. e Marder, E. (1994): Mechanisms for oscillation and frequency control in reciprocal inhibitory model neural networks, *J. Comput. Neurosci.* **1**, 69-87.

Szücs, A., Varona, P., Volkovskii, A. R., Abarbanel, H. D. I., Rabinovich, M. I., and Selverston, A. I. (2000) Interacting biological and electronic neurons generate realistic oscillatory rhythms. *Neuroreport* **11**, 563-569.

Szücs, A., Pinto, R. D., Rabinovich, M. I., Abarbanel, H. D. I., and Selverston, A. I. (2003) Synaptic modulation of the interspike interval signatures of bursting pyloric neurons, *J. Neurophysiol.* **89**, 1363-1377.

Turrigiano, G., LeMasson, G., and Marder, E. (1995) Selective regulation of current densities underlies spontaneous changes in the activity of cultured neurons. *J. Neurosci.* **15**(5), 3640-3652.

White, J. A., Klink, R., Alonso, A., and Kay, A. R. (1998) Noise from voltage-gated ion channels may influence neuronal dynamics in the entorhinal cortex. *J. Neurophysiol.* **80**, 262-269.

White, J. A., Rubinstein, J. T., and Kay, A. R. (2000) Channel noise in neurons. *TINS* **23**, 131-137.

Zhang, M., Goforth, P., Bertram, R., Sherman, A., and Satin, L. (2003) The  $Ca^{+2}$  dynamics of isolated mouse  $\beta$  -cells and islets: implications for mathematical models. *Biophys. J.* **84**, 2852-2870

São Paulo, 06 de setembro de 2006

---

Bóris Marin

---

Reynaldo Daniel Pinto  
orientador