UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE PSICOLOGIA

KAE LEOPOLDO

O efeito das condutâncias dependentes de voltagem e de glutamato nas respostas à luz
da célula bipolar ligada a bastonetes: um estudo computacional
(versão corrigida)

São Paulo
2017

INSTITUTO DE PSICOLOGIA – UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Programa de Pós-Graduação em Psicologia Experimental
Dissertação de Mestrado

O efeito das condutâncias dependentes de voltagem e de glutamato nas respostas à luz
da célula bipolar ligada a bastonetes: um estudo computacional
(versão corrigida)

Mestrando: Kae Leopoldo
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Christina Joselevitch
Departamento de Psicologia Experimental
Instituto de Psicologia
Universidade de São Paulo

São Paulo
2017

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na publicação
Biblioteca Dante Moreira Leite
Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo

Leopoldo, Kae

O efeito das condutâncias dependentes de voltagem e de glutamato nas respostas à luz da célula bipolar ligada a bastonetes: um estudo computacional / Kae Leopoldo; orientadora Christina Joselevitch. -- São Paulo, 2016.

140 f.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Psicologia. Área de Concentração: Psicologia Experimental) – Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo.

1. Visão 2. Retina 3. Célula bipolar 4. Bastonete 5. Neuron 6. Convergência I. Título.

BF241

NOME: Kae Leopoldo

TÍTULO: O efeito das condutâncias dependentes de voltagem e de glutamato nas respostas à luz da célula bipolar ligada a bastonetes: um estudo computacional

Dissertação apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Psicologia Experimental.

Aprovado em:

Banca Examinadora:

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição _____ **Assinatura** _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição _____ **Assinatura** _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição _____ **Assinatura** _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição _____ **Assinatura** _____

Agradecimentos

Agradeço ao meu pai, meu grande parceiro.

Agradeço o suporte da Caterina e de toda a família Paiva.

Todos os colegas do laboratório merecem individual agradecimento, principalmente Guido, meu amigo de graduação.

Em especial, agradeço à Chris. Não apenas pela boa orientação, imbuída de severo escrutínio e exímia agudeza esperados de uma boa cientista, mas também pelas noites de pouco sono, pelo entusiasmo e pela literatura compartilhada nesses anos que se passaram.

Sumário

1. Resumo	2
2. Abstract.....	4
3. Lista de abreviaturas	6
4. Introdução	7
4.1. Visão	8
4.2. A retina	10
4.3. Células bipolares	13
4.4. Convergência e sensibilidade na retina.....	17
4.5. Controle de ganho na retina.....	21
4.6. Integração sináptica e controle de ganho na primeira sinapse visual	25
5. Objetivo	27
6. Métodos	28
6.1. Reconstrução anatômica.....	28
6.2. Modelagem computacional.....	29
6.3. Análise	34
7. Resultados.....	38
7.1. Convergência e crescimento alteram o potencial de repouso	38
7.2. Convergência e crescimento influenciam a integração de sinais.....	40
7.3. Convergência e crescimento modificam o ganho da sinapse	46
7.4. O crescimento da árvore dendrítica modifica a cinética de resposta	54
7.5. A condutância ativa estabiliza o potencial de repouso	58
7.6. A condutância ativa aumenta o ganho da sinapse	61
7.7. A condutância ativa estabiliza a integração somática de sinais	65
7.8. A condutância ativa acelera e estabiliza a cinética de resposta	72
8. Discussão	77
8.1. A validade do modelo	78
8.2. A influência da geometria celular na integração de sinais	82
8.3. A influência da convergência sináptica na integração de sinais	84
8.4. A importância do processamento dendrítico ativo	86
8.5. Convergência, ganho e sensibilidade na primeira sinapse visual.....	87
9. Conclusão	91

10. Referências	92
11. Atividades acadêmicas	109
12. Apêndice	111
12.1. <i>Área percentual dos dendritos primários e secundários</i>	111
12.2. <i>Matriz com os valores de L_{dend} e n_{rod} testados nas simulações</i>	112
13. Anexos	113

1. Resumo

O sistema visual lida com mudanças significativas na quantidade absoluta de fótons no meio ambiente, que varia 10 a 12 unidades logarítmicas ao longo de um dia. Parte desta versatilidade decorre da existência de fotorreceptores, bastonetes e cones, ativos em luminosidades médias diferentes, e outra parte é consequência de mecanismos de controle de ganho pós-receptoriais, que ajustam a faixa dinâmica da retina à luminosidade média. Já na primeira sinapse visual, a atividade de muitos fotorreceptores converge para as células bipolares (BCs), neurônios de segunda ordem. Em mamíferos, supõe-se que o número de neurônios convergentes mantém-se relativamente fixo durante a vida adulta do organismo, embora a árvore dendrítica das BCs aumente de tamanho. No caso de peixes teleósteos, o grau de convergência neuronal para as BCs aumenta com a idade em função de neurogênese e sinaptogênese constantes. Como a relação entre a estrutura celular e o grau de convergência sináptica influencia a integração somática de sinais, estudamos os efeitos do crescimento celular acompanhado de variações na convergência sináptica no caso específico da BC ligada a bastonetes. Para tanto, desenvolvemos um modelo computacional deste tipo celular e dos bastonetes a ela conectados utilizando o ambiente de simulação NEURON, com base em dados de literatura e obtidos por nosso grupo de pesquisa a respeito de sua geometria, conectividade e biofísica, e simulamos diversos tipos de estimulação. Para mimetizar níveis escotópicos de luminosidade, estimulamos apenas um dos bastonetes convergindo para a BC modelo; para mimetizar níveis mesópicos, todos os bastonetes foram estimulados concomitantemente. Estas simulações foram realizadas primeiramente com um modelo de BC contendo apenas condutâncias sinápticas e passivas, para investigar o impacto da geometria celular na integração de sinais. A seguir, o modelo passou a incorporar condutâncias dependentes de voltagem permeáveis a potássio (K^+) modeladas a partir de dados da literatura e do nosso grupo de pesquisa, para investigar o papel das mesmas no controle de ganho da sinapse entre BCs e bastonetes durante o crescimento celular. Os resultados destas simulações indicam que o aumento da árvore dendrítica da BC com o crescimento hiperpolariza seu potencial de repouso e aumenta as amplitudes de resposta, devido ao aumento da área de superfície de membrana contendo canais passivos com potencial de reversão negativo. Já o aumento da convergência de bastonetes para a BC despolariza seu potencial de repouso e diminui as amplitudes resposta, o que equivaleria a uma diminuição da sensibilidade

em células reais. Mais ainda, o aumento no grau de convergência contribui para a diminuição das latências de resposta da BC, ao passo que o crescimento celular aumenta as latências linearmente. A inserção de canais dependentes de voltagem nos terminais dendríticos da BC aproxima as amplitudes e diminui as latências de resposta de BCs com diferentes graus de convergência. Além disso, tais canais reduzem os efeitos decorrentes do crescimento celular descritos anteriormente, tornando a amplitude e latência de resposta independentes do tamanho da árvore dendrítica. Desse modo, canais de K^+ dependentes de voltagem dendríticos estabilizam as amplitudes e latências de resposta da BC ao longo do crescimento, contribuindo para a coerência da mensagem passada para as outras camadas da retina e, posteriormente, para o cérebro. Estes resultados sugerem que correntes ativas são fundamentais não apenas para controlar o ganho das sinapses entre bastonetes e BCs em um mesmo estado de adaptação, mas também para estabilizar o potencial de repouso e velocidade e amplitudes de resposta dos neurônios ao longo do crescimento.

Palavras-chave: célula bipolar, bastonete, convergência, NEURON, retina, visão.

2. Abstract

The visual system deals with significant changes in the absolute quantity of photons in the environment, which vary 10 to 12 log units throughout a single day. Part of this versatility is due to the existence of different photoreceptors, rods and cones, which function at different mean light intensities, and due to post-receptor gain control mechanisms, which adjust the dynamic range of the retina to the mean luminosity. At the first visual synapse, the activity of many photoreceptors converges onto bipolar cells (BCs), second order neurons of the retina. In mammals, the degree of convergence is supposed to be constant throughout adult life, despite evidence of morphological changes in the dendritic structure of BCs. In teleost fish, however, the convergence of rods to BCs increases with age due to constant retinal neurogenesis and synaptogenesis. Since cellular structure and synaptic convergence influence somatic signal integration, we investigated the effects of cellular growth and synaptic convergence in the responses of the rod bipolar cell. We developed a computational model of a BC-rod circuitry within the NEURON simulation environment, based on literature data and on data collected by our own research group regarding the geometry, connectivity and biophysics of BCs. To simulate scotopic light levels, only one of the rods converging to the model BC was stimulated. Mesopic light levels were simulated by concomitantly stimulating all rods. We initially investigated the impact of cell geometry in somatic signal integration, by studying a model BC containing only passive and synaptic conductances. We subsequently inserted a voltage-gated potassium (K^+) conductance in the dendritic tips of the model in order to investigate its role in controlling the gain of the rod-BC synapse during growth. Our results indicate that increasing the dendritic tree leads to hyperpolarization of the BC resting potential, due to the larger membrane surface containing the passive conductance, which has a negative reversal potential. Increasing rod convergence, on the other hand, depolarizes the BC resting potential and decreases response amplitudes, which would be equivalent to a decrease in sensitivity in a real cell. In addition, increases in convergence reduce response latencies, whereas cellular growth increases latencies linearly. The insertion of voltage-gated K^+ conductances in the dendritic tips of the BC, in turn, approximates the response amplitudes and decreases response latencies of BCs with different synaptic convergences. Moreover, voltage-gated conductances reduce the consequences of cellular growth, rendering response amplitudes and latencies independent of dendritic

tree size. These active conductances therefore contribute to signal consistency. Our results suggest that active currents not only control the gain of the rod-BC synapse in a given adaptive state, but also stabilize the BC resting potential, as well as response amplitude and latency during growth.

Keywords: bipolar cell, rod, convergence, NEURON, retina, vision.

3. Lista de abreviaturas

act - fator multiplicador utilizado para controlar a amplitude da corrente na BC

BC - célula bipolar

C_m - capacitância específica de membrana

E_k - potencial de reversão de I_{KV}

E_{leak} - potencial de reversão da corrente pasiva dos bastonetes

E_{pas} - potencial de reversão da corrente passiva nas BCs

E_{rev} - potencial de equilíbrio / reversão

E_{rod} - potencial de reversão da corrente sináptica modulada por bastonetes nas BCs

g_{leak} - condutância passiva dos bastonetes

g_{pas} - condutância passiva nas BCs

g_{rod} - condutância modulada por bastonetes nas BCs

g_{max} - condutância máxima modulada por bastonetes nas BCs

I_{KV} - corrente dependente de voltagem permeável a K^+ , do tipo retificador atrasado

L_{dend} - comprimento dos dendritos primários da BC

mbON - Célula bipolar ON de entrada mista

mGluR6 - receptor glutamatérgico metabotrópico 6

n_{rod} - número de bastonetes que fazem sinapse com uma BC

PBS - Tampão fosfato-salina (*Phosphate-buffered saline*)

PKC - proteína quinase C

R_{in} - resistência de entrada

R_a - resistividade axial

R_m - resistência específica de membrana

TRPM1 - receptor do tipo '*transient receptor potential melastatin 1*'

V_{light} - polarização da BC para uma dada estimulação dos bastonetes

V_{max} - polarização da BC para a máxima polarização do(s) bastonete(s)

V_{pre} - polarização pré-sináptica (dos bastonetes)

V_{post} - polarização pós-sináptica (da BC)

V_{rest} - potencial de repouso da BC

4. Introdução

O sistema visual precisa lidar com mudanças significativas na quantidade absoluta de fótons no meio ambiente, que varia 10 a 12 unidades logarítmicas ao longo de um dia. Nossa sensibilidade à luz acompanha constantemente os níveis luminosos, permitindo que possamos ver tanto em noites sem luar, quando cada fotorreceptor absorve um fóton a cada 85 minutos, quanto em um dia ensolarado na praia, quando cerca de 100.000 fótons são absorvidos por fotorreceptor por segundo (Chance, Abbott, & Reyes, 2002; Kaneko, Suzuki, Pinto, & Tachibana, 1991; Rodieck, 1998). Nenhuma máquina construída pelo homem possui um desempenho tão impressionante. Além disso, esse processamento acontece de maneira muito rápida: um sujeito consegue reportar o aparecimento de um estímulo com um atraso de apenas 250 milissegundos (Nijhawan, 2008), podendo diminuir com o treino (Sanders, 1998). Para que isto aconteça, a informação passou por todo o sistema visual, atingiu áreas de tomada de decisão que afetaram áreas de controle motor e resultaram em uma resposta motora indicativa da identificação do estímulo.

Um fator complicador para o fluxo de informação no sistema nervoso é a plasticidade neuronal. Neurônios retinianos alteram sua morfologia, tanto na fase de crescimento quanto na vida adulta do organismo (Kock & Stell, 1985; Bloomfield & Hitchcock, 1991; Liets, Eliasieh, van der List, & Chalupa, 2006), e esta mudança de morfologia, acompanhada ou não de alterações no número de sinapses, pode modificar a sua integração de sinais, uma vez que o aumento na área de superfície de membrana leva também à produção de canais não sinápticos. Estes, de acordo com a Lei das Correntes de Kirchhoff, influenciam o efeito das condutâncias sinápticas sobre o potencial de membrana (Falk, 1988).

A retina é um exemplo de tecido nervoso que passa por mudanças estruturais ao longo da vida do organismo, sendo capaz, ainda assim, de processar informação visual de maneira rápida e confiável (Barlow, 1981). O estudo das propriedades dos neurônios retinianos é, portanto, fundamental para aumentar nosso conhecimento a respeito das estratégias retinianas de codificação visual e para compreender como o sistema visual consegue lidar, a despeito de suas variações estruturais, com ambientes luminosos tão distintos.

4.1. Visão

Pode-se dividir os ambientes luminosos em três grandes faixas de luminância nas quais o sistema visual opera, utilizando-se de estratégias retinianas distintas (**Figura 1**): em baixa luminância (cerca de -6 a -4 log cd/m²) utiliza-se a chamada visão escotópica, mediada exclusivamente por bastonetes; com luminância entre -4 e 0 log cd/m², utiliza-se a visão mesópica, caracterizada pela atividade concomitante de bastonetes e cones; a partir de 0 log cd/m² utiliza-se a visão fotópica, mediada exclusivamente por cones (Rodieck, 1998, Stockman & Sharpe, 2006).

Nesse sentido, a visão mesópica pode ser entendida como a combinação de dois grandes sistemas de processamento visual: o escotópico e o fotópico, com diferenças tanto perceptuais quanto fisiológicas. O sistema escotópico utiliza os bastonetes, fotorreceptores caracterizados por alta sensibilidade à luz (**Figura 2**). Seu ambiente de funcionamento típico contém baixa luminosidade e sua taxa de adaptação ao escuro é lenta; a partir de certa luminância, a resposta dos bastonetes satura. Este tipo de fotorreceptor possui pico de sensibilidade espectral próximo a 500 nm, uma vez que seu pigmento fotossensível, a rodopsina, está contida na classe de fotopigmentos RH1 em mamíferos (Ebrey & Koutalos, 2001; Orban *et al.*, 2014).

O sistema fotópico tem sua origem em diversos subtipos de cones, fotorreceptores com diferentes picos de sensibilidade espectral. Estes fotorreceptores estão adaptados a ambientes com alta luminância, em função de sua baixa sensibilidade à luz. Em seres humanos, há, essencialmente, três tipos de cones, definidos pelos seus picos de sensibilidade espectral: cones S, M e L, para comprimentos de ondas curtos, médios e longos, respectivamente. A sintonização para diferentes faixas do espectro eletromagnético é dada por diferentes fotopigmentos. Os cones L e M contêm pigmentos da classe M/LWS (*middle- and long-wavelength-sensitive*) que, embora sintonizados para faixas espectrais diferentes, possuem sequência de aminoácidos com grandes similaridades. O cone S contém pigmentos da classe SWS1 (“short wavelength-sensitive”; Ebrey & Koutalos, 2001; Hunt & Peichl, 2014).

Figura 1. Níveis de luminância. Níveis típicos de luz ambiente são comparados com a luminância fotópica (log cd/m²), diâmetro da pupila (mm), iluminância fotópica e escotópica (log Trolands fotópicos e escotópicos, respectivamente) e função visual. As regiões escotópicas, mesópicas e fotópicas são definidas de acordo com o funcionamento único de bastonetes, de cones e bastonetes conjuntamente, e funcionamento único de cones, respectivamente. A conversão dos valores fotópicos para escotópicos assumiu uma iluminação padrão branca CIE D65. **Fonte:** Stockman & Sharpe (2006). *Imagem reproduzida com permissão de Andrew Stockman.*

Além das características intrínsecas de cada tipo de fotorreceptor, bastonetes ou cones, as diferenças perceptuais entre a visão escotópica e fotópica resultam de diferentes canais retinianos envolvidos em cada um desses tipos de visão. Por exemplo, as vias retinianas envolvidas na visão escotópica, partindo da conversão da luz em sinais químicos pela isomerização da rodopsina, têm uma velocidade de resposta menor do que as vias envolvidas na transmissão de sinais fotópicos, tendo, portanto, uma resolução espaço-temporal menor (Zele & Cao, 2014). As vias escotópicas permitem uma maior sensibilidade à luz, mas, por processarem a sensibilidade espectral de apenas um tipo de fotopigmento, não permitem a percepção de cores (Ebrey & Koutalos, 2001; Purves, Augustine, & Fitzpatrick, 2012). Faz-se necessário, portanto, discutir a estrutura da retina e dos canais retinianos envolvidos em cada um dos tipos de visão.

Figura 2. Tipos de fotorreceptores. Desenho esquemático dos fotorreceptores da retina humana. Embora compartilhem similaridades em suas estruturas, bastonetes (*rod*) e cones diferem em tamanho e forma, assim como na disposição dos discos membranosos nos segmentos externos, que contêm os fotopigmentos necessários para a fototransdução.

Fonte: Joselevitch (2009). Imagem feita por Christina Joselevitch /CC BY 2.0.

4.2. A retina

A retina é o tecido neural do olho, pertencente ao sistema nervoso central por originar-se embrionariamente do diencéfalo, e composta por uma complexa circuitaria encarregada de absorver a luz e transformá-la em atividade elétrica graduada e subsequentemente em potencial de ação. Há, na retina, essencialmente, cinco tipos de neurônios (**Figura 3**): fotorreceptores, células bipolares (BCs), células horizontais, células ganglionares e células amácrinas. Estas células organizam-se em camadas. A camada mais distal é a do segmento externo dos fotorreceptores, onde se inicia a cascata de transdução da luz em sinal elétrico. Depois, seguem a camada nuclear externa, a camada plexiforme externa, a camada nuclear interna, a camada plexiforme interna e a camada de células ganglionares (Purves *et al.*, 2012).

Embora existam apenas duas grandes classes de fotorreceptores, a partir da primeira sinapse o sinal de cada tipo de fotorreceptor diverge para vários neurônios de segunda ordem, que transmitem em paralelo a informação visual para o cérebro (**Figura 4**).

Figura 3. Desenho esquemático da estrutura da retina. (A) Secção da retina mostrando a organização geral das camadas retinianas. OS/IS: segmentos internos e externos dos fotorreceptores; ONL: camada nuclear externa; OPL: camada plexiforme externa; INL: camada nuclear interna; IPL: camada plexiforme interna; GCL: camada das células ganglionares; NFL: camada das fibras nervosas, 1: cone; 2: bastonete; 3: célula horizontal; 4: célula bipolar (BC); 5: célula amácrina; 6: célula ganglionar. (B) Terminal sináptico de um cone, chamado de pedículo. As quatro invaginações compreendem tríades de dendritos pós-sinápticos, tipicamente compostas de duas células horizontais (em amarelo) e uma BC do tipo ON (em azul). BCs do tipo OFF (em roxo) fazem sinapse na base do pedículo. (C) Terminal sináptico de um bastonete, chamado de esférula. Há, tipicamente, apenas uma invaginação com três dendritos pós-sinápticos, como nos cones. (D) Terminal sináptico de uma BC (azul). Há por volta de 50 fitas sinápticas em cada terminal, dando origem a sinapses com células amácrinas (laranja) e células ganglionares (roxo). (E) Aumento da sinapse entre BC e células amácrinas e ganglionares. Células amácrinas modulam a sinapse entre células bipolares e ganglionares. **Fonte:** Wässle (2004). - Reproduzido com permissão da Macmillan Publishers Ltd.: *Nature Neuroscience Reviews*, Wässle, 2004, copyright 2004.

Uma das razões mais importantes para essa divisão em canais paralelos de transmissão é a necessidade de ver tanto durante o dia quanto à noite, muito embora a quantidade de fótons que atinge a retina nessas duas condições difira consideravelmente (Barlow, 1981). Um desempenho visual aceitável em ambos os níveis de iluminação exige das vias de processamento e transmissão características muitas vezes conflitantes,

para as quais não há uma solução única. Ao dividir os sinais visuais em vias paralelas especializadas em diferentes tipos de estímulo, a retina assegura uma transmissão eficiente para o cérebro em todos os níveis de adaptação (Werblin & Roska, 2007; Rodieck, 1998; Gollisch & Meister, 2010).

Figura 4. Células bipolares da retina de primatas. Desenho esquemático mostrando que os axônios dos diferentes tipos celulares terminam em níveis distintos na camada plexiforme interna (IPL); aqueles terminando na parte externa da IPL são presumivelmente células bipolares *OFF* de cones, e aqueles terminando na parte interna da IPL são células bipolares *ON* (para definição dos tipos de células bipolares da retina e suas características de resposta, ver seção 3.3. *Células Bipolares*). Células bipolares ligadas a cones S (BB) contam seletivamente de 1 a 5 pedículos e carregam um sinal *ON*. Células bipolares ligadas a bastonetes (RB) contam cerca de 6 esférulas na perifóvea a cerca de 40 esférulas na periferia e também são do tipo *ON*. **Fonte:** Wässle (2004). Reproduzido com permissão da Macmillan Publishers Ltd.: *Nature Neuroscience Reviews*, Wässle, 2004, copyright 2004.

Além disso, as várias funções visuais possuem diferentes requisitos, mesmo em um único nível de adaptação. Por exemplo, a detecção de movimento necessita de uma via de transmissão rápida e de baixa resolução espacial, enquanto a acuidade visual exige características diametralmente opostas (Sterling, 2004). Embora neurônios retinianos transmitam múltiplos aspectos visuais concomitantemente, um neurônio não pode especializar-se em todos esses aspectos. A transmissão através de um único canal comprometeria, portanto, tanto a resolução espacial quanto temporal do sistema visual.

O sinal dos fotorreceptores não apenas *diverge*, mas também *converge*. A convergência neuronal na retina é uma estratégia que visa diminuir o número total de neurônios na camada de células ganglionares, para possibilitar a movimentação ocular através de um nervo óptico fino e maleável (Barlow, 1981; Meister & Berry, 1999). Já na primeira sinapse visual, a BC, primeiro interneurônio no fluxo vertical de

processamento da informação visual, integra o sinal de dezenas a centenas de fotorreceptores (Barlow, 1981; Sterling, 2004). Com exceção dos neurônios da fóvea (especialização presente em primatas e algumas tipos de aves e peixes; Warrant & Locket, 2004), há uma forte convergência de sinais na retina de vertebrados como um todo (Barlow, 1981; Sterling, 2004), permitindo que o sinal de cerca de 100 milhões de fotorreceptores seja transmitido ao cérebro por um nervo óptico composto de apenas 1 milhão de axônios de células ganglionares (Barlow, 1981; Sterling, 2004).

A relação entre a convergência e a divergência de sinais obedece às regras e demandas impostas pelas diversas vias visuais. Assim, em vias com alta resolução espacial, é necessário que haja pouca ou nenhuma convergência, para que o sinal de cada fotorreceptor tenha alta prioridade de processamento. Em vias com menor resolução espacial, por sua vez, uma alta convergência de sinais é permitida, pois tal via está pouco ocupada com os detalhes da informação visual de cada fotorreceptor (Sterling, 2004).

Tanto a divergência quanto a convergência retinianas podem ser moduladas ao longo da vida. Em mamíferos, há aumento do volume dos neurônios e o estiramento de seus processos dendríticos com o crescimento (Ramoal, Campbell, & Shatz, 1988) e envelhecimento (Liets *et al.*, 2006). Em peixes, além do estiramento, há também neurogênese e sinaptogênese constantes na retina (Kock & Stell, 1985; Johns & Easter, Jr., 1977), alterando, assim, tanto o grau de convergência quanto o de divergência dos neurônios. Muito embora não haja neurogênese constante na retina de mamíferos, ainda não está bem caracterizado o efeito de alterações morfológicas dos neurônios retinianos nos parâmetros de convergência e divergência, ou seja, não se sabe se os neurônios retinianos fazem novas sinapses ao desenvolverem seus processos dendríticos (Liets *et al.*, 2006).

4.3. Células bipolares

A riqueza de nosso mundo visual explica em parte a diversidade de neurônios de segunda ordem (**Figura 4**). Os sinais de fotorreceptores divergem para aproximadamente 11 células bipolares (BCs) na retina dos primatas (Wassle, 2004; Euler, Haverkamp, Schubert, & Baden, 2014). Em teleósteos, há um número ainda maior de BCs (**Figura 5**): 15 tipos foram descritos no peixe dourado, *Carassius auratus* (Sherry & Yazulla, 1993; Joselevitch & Kamermans, 2009) e 17 no paulistinha, *Danio rerio* (Connaughton, Graham, & Nelson, 2004). Destes, pelo menos cinco tipos

A

OPL

INL

IPL

B

IPL

Ma Mb1 Mb2 Mb3 C1aW C1 C2a C3a C3ab C4ab C3b C2b C2ab

É nas BCs que se inicia a divisão de canais retinianos em *ON* e *OFF* (Dowling & Werblin, 1969; Werblin & Dowling, 1969; Kaneko & Hashimoto, 1969). Essa divisão refere-se à polaridade de resposta dos neurônios para estimulação luminosa. O campo receptivo de uma célula retiniana é toda região que, ao receber um estímulo

luminoso, evoca uma resposta desta referida célula, seja na região mais central ou mais periférica desse campo (Kuffler, 1953). Assim, células do tipo *ON* são aquelas que despolarizam ao serem estimuladas no centro de seu campo receptivo, ou quando uma estimulação luminosa é retirada da periferia do seu campo receptivo (**Figura 6, painel branco**). As células do tipo *OFF*, por sua vez, têm um comportamento inverso: elas despolarizam quando a estimulação luminosa é retirada do centro de seu campo receptivo, ou quando a periferia de seu campo receptivo é estimulada (**Figura 6, painel cinza**).

Figura 6. Respostas eletrofisiológicas de células bipolares. Esquerda (painel branco): Respostas de uma BC *ON* de *Ambystoma tigrinum* para estimulação luminosa do centro (*center*) e periferia (*surround*) de seu campo receptivo em contrastes de luminosidade crescentes (valores de contraste à esquerda dos traços). **Direita (painel cinza):** Respostas de uma BC *OFF* de *Ambystoma tigrinum* para mesma estimulação em (A). **Fonte:** Fahey & Burkhardt (2003), com a permissão de Cambridge University Press.

Em mamíferos, BCs geralmente fazem contato apenas com um tipo de fotorreceptor, isto é, ou realizam sinapse com cones ou com bastonetes. Há nestas espécies apenas um tipo de BC que contata exclusivamente bastonetes, do tipo *ON* (**Figura 4**, Purves et al., 2012). Cada BC de bastonetes contata de 20 a 80 bastonetes, e seus axônios contatam células amácrinas na parte mais interior da camada plexiforme interna (Wassle, 2004; Euler *et al.*, 2014). Quanto às BCs que contatam cones, há diversos tipos morfológicos e múltiplos canais (**Figura 4**). As BCs ligadas a cones podem ser *ON* ou *OFF*, respondendo, respectivamente, para aumentos ou diminuições de luminosidade no centro de seus campos receptivos. Como existem cones sintonizados para diferentes faixas espectrais, as sinapses destes cones com alguns tipos de BC podem formar canais retinianos com sensibilidades espectrais distintas (Wassle, 2004; Euler *et al.*, 2014).

Uma outra característica das BCs é a cinética de suas respostas à luz. De modo geral, há dois grandes grupos de BCs quanto à cinética de resposta (**Figura 7**): BCs transientes e BCs sustentadas (Awatramani & Slaughter, 2000; Euler & Masland, 2000). Esta divisão cria, já na primeira sinapse retiniana, canais de processamento temporal distintos, tanto nas vias *ON* quanto nas vias *OFF* (DeVries, 2000). As células transientes atingem seu pico de resposta mais rapidamente do que as BCs sustentadas (Awatramani & Slaughter, 2000; DeVries, 2000), sendo, por isso, mais indicadas para transmissão de altas frequências temporais (Sterling, 2004). De fato, células ganglionares transientes transmitem para regiões mais centrais do sistema nervoso central informação (medida em bits/s) em taxas superiores do que as células ganglionares sustentadas (Koch *et al.*, 2004). Em camundongos, a BC ligada a bastonetes é transiente (Berntson, Smith, & Taylor, 2004).

Não existem registros de células que mudem seu tipo de resposta (de *ON* para *OFF*, por exemplo) conforme o organismo cresce. Todavia, muito embora neurônios permaneçam na mesma categoria, é possível que mudanças morfológicas (e.g. crescimento celular) afetem propriedades da resposta da célula, podendo ter implicações para o processamento de informação feito por esses neurônios.

Figura 7. Processamento temporal em células bipolares. (A), (B) Respostas à luz de células bipolares ON de *Ambystoma tigrinum* graduadas (A) e transientes (B). (C), (D) Correntes subjacentes aos potenciais mostrados em (A) e (B), respectivamente. Nas células bipolares desta espécie, a transiência é gerada pela condutância sináptica, uma vez que, neste modo de registro, a contribuição de correntes dependentes de voltagem é nula. Potencial de comando = -70 mV (E_{Cl}). **Fonte:** Awatramani & Slaughter (2000). *Imagem reproduzida com permissão de Society for Neuroscience.*

4.4. Convergência e sensibilidade na retina

O termo *convergência* diz respeito à quantidade de entradas sinápticas que um neurônio recebe. Tais sinapses determinam parcialmente a morfologia neuronal, por estipular a forma e tamanho da árvore dendrítica (Liets et al., 2006; Kock, 1982a; Kock, 1982b). No sistema visual, muitos bastonetes convergem para uma BC, que converge, juntamente com outras, para uma célula amácrina, e assim por diante (Volgyi, Deans, Paul, & Bloomfield, 2004; Berntson et al., 2004; Wassle, 2004). Por sua vez, emprega-se o termo *sensibilidade*, de maneira geral, para descrever a relação entre estímulo (luz, no caso da retina) e resposta.

Como a sensibilidade dos neurônios retinianos aumenta concomitantemente à convergência à medida que os sinais avançam da retina externa para a retina interna (**Figura 8**), sugeriu-se uma relação causal entre ambas (Copenhagen, Hemila, & Reuter, 1990). Esta hipótese, embora não tenha sido experimentalmente testada, é amplamente aceita na literatura, pois uma grande convergência de bastonetes para um neurônio de segunda ordem aumenta, em princípio, a probabilidade de uma absorção de fóton ocorrer dentro do seu campo receptivo.

Figura 8. Relação entre convergência e sensibilidade na retina. Esquerda: Desenho esquemático da retina, mostrando a ordem dos neurônios da retina externa (topo) para a retina interna (embaixo): bastonetes (lilás), células horizontais (amarelo), células bipolares (azul), células amácrinas (laranja) e células ganglionares (roxo). **Fonte:** Wässle (2004). Reproduzido com permissão da Macmillan Publishers Ltd: *Nature Neuroscience Reviews*, Wässle, 2004, copyright 2004. Direita: Comparação das respostas de um bastonete (*rod*), uma célula horizontal (*horizontal cell*) e uma célula ganglionar (*ganglion cell*) da retina do sapo (*Bufo marinus*) para estimulação luminosa em 500 nm em intensidades crescentes (número de fótons absorvidos no topo da figura). As respostas da célula ganglionar foram truncadas para facilitar visualização. Note-se que as amplitudes de resposta para um mesmo estímulo aumentam consideravelmente da retina externa para a interna. Além disso, as células horizontal e ganglionar saturam (= atingem sua resposta máxima) em intensidades menores do que o bastonete. Como este aumento de sensibilidade da retina externa para a retina interna é acompanhado de uma convergência crescente camada a camada, os autores deste trabalho sugeriram uma relação causal entre convergência e sensibilidade. **Fonte:** Copenhagen et al. (1990). Imagem reproduzida com permissão de Rockefeller University Press.

Entretanto, uma grande convergência sináptica poderia também *diminuir* a eficiência da integração de sinais na BC por dois motivos. O primeiro é em função de sinapses contribuírem não apenas sinal, mas também ruído. O ruído de múltiplas entradas pré-sinápticas poderia diminuir a relação sinal-ruído e prejudicar a integração de sinais pelo neurônio de segunda-ordem (Dunn & Rieke, 2006; Field & Rieke, 2002; Freed & Liang, 2014; van Rossum & Smith, 1998). O segundo motivo é em função da convergência neuronal influenciar as propriedades passivas (geometria, capacitância e correntes passivas) e ativas (correntes dependentes de voltagem) do neurônio pós-sináptico, por determinar a forma e número de terminais dendríticos. Este ponto é crucial durante o desenvolvimento: à medida em que um neurônio fabrica mais membrana para fazer novas sinapses, além dos canais sinápticos, ele também produz canais iônicos não sinápticos, passivos ou ativos. Estes, de acordo com a Lei de Correntes de Kirchhoff¹, vão influenciar diretamente a condutância unitária dos canais sinápticos, diminuindo, assim, a eficiência da integração sináptica (Falk, 1988).

Mesmo na idade adulta, as BCs ligadas a bastonetes continuam aumentando sua árvore dendrítica em mamíferos (**Figura 9**, Liets *et al.*, 2006). Independente destes neurônios fazerem ou não novas conexões ao crescerem, o seu crescimento dendrítico, por implicar em aumento da área de superfície de membrana, vai alterar a relação entre as condutâncias sinápticas e não sinápticas e, portanto, também a integração de sinais. Para melhor compreender como BCs lidam com mudanças na convergência de fotorreceptores e na sua geometria dendrítica com o envelhecimento, faz-se ainda necessário estudo detalhado do ganho da primeira sinapse visual.

Nesse sentido, a retina de teleósteos como o peixe dourado apresenta-se como um interessante modelo experimental para o estudo da relação entre convergência e sensibilidade. Como em mamíferos, ela possui estrutura laminada, com camadas nucleares e camadas plexiformes, bem como canais paralelos de processamento visual (Joselevitch, 2009; Joselevitch & Kamermans, 2009). Vários neurônios retinianos do peixe dourado são maiores do que os de mamíferos, o que representa vantagem indiscutível para a experimentação eletrofisiológica, pois esta muitas vezes envolve a implantação de microeletrodos no interior de neurônios vivos.

¹ Também chamada de Primeira Lei de Kirchhoff ou Lei dos Nós. Para qualquer nó em um circuito elétrico, a soma das correntes que entram neste nó e saem dele é nula. Desse modo, em um neurônio, a corrente gerada pelo gradiente eletroquímico para uma determinada condutância (por exemplo, a sináptica) se dividirá pelo número de canais iônicos abertos na célula, sinápticos ou não, porque os canais de membrana agem como resistores e estão distribuídos em paralelo. No caso de um aumento no número de canais de membrana disponíveis, haverá, portanto, uma diminuição da corrente unitária de cada canal.

Figura 9. Estiramento em BCs do camundongo. (B) Imagem de uma porção da retina de um animal no início da vida adulta (3 meses). BCs ligadas a bastonete estão marcadas imunohistoquimicamente para a proteína quinase C (PKC). Em verde, marcação da mesma seção da retina para mostrar as camadas retinianas. *ONL*: camada nuclear externa; *OPL*: camada plexiforme externa; *INL*: camada nuclear interna. (C) O mesmo que em (B), em um animal mais velho. Com o envelhecimento, processos dendríticos das BCs invadem a *ONL*. (D) Correlação entre o comprimento normalizado dos processos dendríticos e a idade. O comprimento de tais processos aumenta com a idade ($r = 0,81$). **Fonte:** Liets *et al.* (2006). *Copyright (2006) National Academy of Sciences/CC BY 2.0.*

Além de todos esses aspectos, o peixe dourado apresenta uma grande vantagem no estudo da relação entre convergência e sensibilidade. Sua retina possui neurogênese constante (Johns & Easter, Jr., 1977) e, por diferenças na taxa de produção dos diferentes tipos de células retinianas, as BCs *ON* de entrada mista (*mbON*), que contactam tanto cones quanto bastonetes, aumentam também o número de sinapses com estes últimos, como mostrado na **Figura 10** (Kock & Stell, 1985). Desse modo, esta espécie é um modelo natural para este tipo de investigação, pois sua convergência neuronal aumenta com o crescimento.

Figura 10. Estiramento e sinaptogênese em BCs do peixe dourado. Esquerda: Desenho de células mbON do tipo b1 com marcação de golgi; *L*, célula de uma retina grande/velha (diâmetro do olho: 9,8 mm); *S*, célula de uma retina pequena/jovem (diâmetro do olho: 3,0 mm). As linhas horizontais descrevem os limites da camada plexiforme interna e o seu aumento de espessura com o crescimento retiniano (linhas pontilhadas). Escala = 20 μm . **Direita:** O número de contatos sinápticos da BC em função de sua área dendrítica. Entre os diâmetros de olho de 3,0 e 9,8 mm, a linha de regressão ($r = 0,87$) apresenta um aumento de 50% no número de sinapses, de 120 para 180 bastonetes conectados. **Fonte:** Kock & Stell (1985). *Imagem reproduzida com permissão de John Wiley and Sons.*

4.5. Controle de ganho na retina

No sistema nervoso como um todo, neurônios podem receber milhares de aferências (Anker & Cragg, 1974). Cada uma dessas sinapses altera a liberação de neurotransmissor do neurônio pós-sináptico de acordo com a frequência de estimulação dos neurônios pré-sinápticos. Para que neurônios pós-sinápticos possam adaptar-se sem exaurir completamente suas vesículas de neurotransmissor, suas sinapses precisam ser controladas. Ao mesmo tempo, para que o neurônio pós-sináptico seja mais sensível a mudanças relativas de intensidade do que ao valor absoluto de estimulação, alterações de condutância da membrana pós-sináptica precisam ser relativamente independentes da frequência de disparo da célula pré-sináptica (Abbott, Varela, Sen, & Nelson, 1997). Qualitativamente, isso implica que o *ganho* de um neurônio pós-sináptico é regulado de acordo com a lei de Weber-Fechner², ou seja, as mudanças de intensidade codificadas são relativas e não absolutas (Malchow & Yazulla, 1986; Burkhardt, 1994).

² A Lei de Weber-Fechner é uma composição das Leis de Weber e Fechner acerca da relação entre estímulos físicos e a percepção dos mesmos através das várias modalidades sensoriais. Segundo a Lei de Weber, a percepção das diferenças de intensidade entre dois estímulos é inversamente proporcional à intensidade dos estímulos comparados, ou seja, a diferença percebida entre dois estímulos é proporcional ao estímulo inicial. A Lei de Fechner é uma formalização matemática da Lei de Weber para toda a faixa perceptual e afirma que, para algumas modalidades sensoriais, a percepção da intensidade de um estímulo

Mecanismos de controle ganho são, assim, fatores pré- ou pós-sinápticos que alteram a resposta do neurônio pós-sináptico. No campo da neurociência visual, ganho é também, e mais comumente, chamado de sensibilidade (Copenhagen et al., 1990; Shapley, Enroth-Cugell, Bonds, & Kirby, 1972), pois as respostas estudadas, indo do nível molecular ao comportamental, costumam ser analisadas com base no estímulo luminoso que as evocou.

Esta definição, entretanto, é passível de interpretações múltiplas³; a forma mais criteriosa de se avaliar mudanças de ganho em sinapses é através da análise das *relações de entrada-saída* neuronais, também denominadas de *relações de transferência sináptica* ou *funções de intensidade-resposta* (**Figura 11**). Para tanto, normalmente utilizam-se ajustes destas relações com funções hiperbólicas do tipo *Michaelis-Menten* (Normann & Werblin, 1974; Naka & Rushton, 1966; Boynton & Whitten, 1970), desenvolvidas para descrever interações bioquímicas, como a *equação de Hill*:

$$Resposta = V_{max} * \frac{I^n}{k^n + I^n},$$

na qual V_{max} é a amplitude máxima de resposta, k é a intensidade necessária para obtenção de 50% de V_{max} ⁴, n é o *coeficiente de Hill*, que descreve a inclinação da curva e indica o grau de cooperação entre resposta (atividade molecular ou neuronal, e.g. potencial de membrana) e substrato (e.g. luz), e I é a intensidade de estimulação. A relação dessas variáveis determina a forma da função de intensidade-resposta, levando a estimativas objetivas dos diferentes tipos de mudança de ganho.

Os mecanismos subjacentes ao controle de ganho podem, assim, modificar a faixa de potenciais de membrana do neurônio (aqui denominada *faixa dinâmica* e medida objetivamente através de V_{max}) ou a faixa de intensidades de estimulação às quais o neurônio responde (a chamada *faixa operacional*, estimada através dos parâmetros k e n) de maneira independente (**Figuras 11 e 12**), alterando ou não a

varia de forma logarítmica em relação ao estímulo físico. Ambas as Leis são especialmente aplicáveis a estímulos visuais; sua validade para outras modalidades sensoriais, como audição e tato, é mais limitada.

³ Tanto em medidas psicofísicas quanto fisiológicas, a sensibilidade é definida como o inverso do limiar. O limiar propriamente dito é definido como a intensidade necessária para gerar uma resposta-critério. Como a resposta-critério é definida pelo pesquisador e pode variar de acordo com o método de medida utilizado, as palavras “limiar” e “sensibilidade” não têm necessariamente o mesmo significado em diferentes estudos.

⁴ Neste tipo de análise, k é uma medida de limiar e, portanto, uma estimativa indireta de sensibilidade.

inclinação da função intensidade-resposta (Chance et al., 2002; Mejias, Payeur, Selin, Maler, & Longtin, 2014; Rothman, Cathala, Steuber, & Silver, 2009).

Figura 11. Análise de funções de intensidade-resposta neuronais. (A) Respostas de uma mbON da retina do peixe dourado para estimulação luminosa em 550 nm. A barra horizontal indica início e duração do estímulo. Intensidades apresentadas na legenda em $\log \text{quanta} \cdot \mu\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. As respostas são sustentadas em baixas intensidades; a partir de 2,58 $\log \text{quanta} \cdot \mu\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (traço laranja) surge um pico inicial (quadrado negro), que relaxa no tempo para um platô (círculo vermelho). (B) Relações de intensidade-resposta para os traços em (A), medidas 150 ms após o início do estímulo luminoso (*pico*, quadrados negros) e 950 ms após o início do estímulo (*platô*, círculos vermelhos). Para estas funções, $\text{Resposta} = \text{Pico}$ (ou Platô) – $\text{Potencial de Repouso}$. (C) A função de intensidade-resposta medida no pico de resposta de (B) foi ajustada com uma equação de Hill (linha negra). Os parâmetros da função de Hill para este ajuste (indicados na figura) foram: $V_{\text{max}} = 31,36 \text{ mV}$; $k = 625 \text{ quanta} \cdot \mu\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$; $n = 1,00$ ($\chi^2 = 0,37$, $R^2 = 0,99$). (D) A função de intensidade-resposta medida no platô de resposta de (B) foi ajustada com uma equação de Hill (linha vermelha), com parâmetros: $V_{\text{max}} = 20,89 \text{ mV}$; $k = 14,86 \text{ quanta} \cdot \mu\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$; $n = 1,24$ ($\chi^2 = 0,50$, $R^2 = 0,99$). Comparando-se (C) e (D), nota-se que do pico para o platô de resposta houve diminuição da faixa dinâmica (V_{max}), alteração da faixa operacional para intensidades mais baixas (k) e aumento da inclinação da função (n), denotando diminuição da faixa operacional do neurônio. Figura gentilmente cedida por Christina Joselevitch e Maarten Kamermans (The Netherlands Institute for Neuroscience).

Figura 12. Efeitos dos diferentes tipos de controle de ganho na função de intensidade-resposta neuronal. Todos os eixos estão em unidades arbitrárias (u.a.). **(A)** Função de intensidade-resposta genérica, indicando a faixa operacional (no eixo x) e a faixa dinâmica (no eixo y) do neurônio. A linha pontilhada e o ponto na curva indicam o limiar com coordenadas $(k; V_{\max}/2)$. **(B)** Controle de ganho com modulação de $V_{\max}$ e consequente mudança na faixa dinâmica. Neste caso, as amplitudes de resposta para os mesmos estímulos aumentam proporcionalmente, e os limiares permanecem os mesmos. **(C)** Controle de ganho com modulação do eixo x (mudança na faixa operacional e no limiar k). Neste caso, há um deslocamento proporcional da função para intensidades maiores ou menores, com consequente alteração em k . **(D)** Controle de ganho com alteração na inclinação da função intensidade-resposta. Neste caso, há alteração no coeficiente de Hill (n).

Em ambos os casos, para uma mesma intensidade de estimulação (luz, no caso da retina) podemos obter diferentes amplitudes de resposta do neurônio pós-sináptico, totalmente dependentes do controle de ganho exercido. É importante entender a

diferença e a dependência dessas formas de mudança da relação intensidade-resposta, pois a sua interação aumenta a adaptabilidade neuronal.

Neurônios retinianos codificam a informação visual através de várias etapas hierárquicas de regulação da sensibilidade à luz (Shapley & Enroth-Cugell, 1984). A capacidade do sistema visual de adaptar-se tanto aos níveis médios de luminância como ao contraste de uma mesma cena visual e, ainda, processar diferencialmente diferentes aspectos do estímulo luminoso (Oesch & Diamond, 2011) deve-se, de maneira geral, à intrincada hierarquia de sistemas de retroalimentação negativa (*feedback*) empregados de maneira ubíqua no sistema nervoso, e em especial na retina (Shapley *et al.*, 1972). Também correntes dependentes de voltagem são utilizadas por neurônios pós-sinápticos para regular a sua amplitude e velocidade de resposta (ver Detwiler, Hodgkin, & McNaughton, 1978; Beech & Barnes, 1989).

Assim, mecanismos de controle de ganho podem ser observados em todas as etapas do processamento retiniano, dos fotorreceptores (Ebrey & Koutalos, 2001) às células ganglionares (Schwartz & Rieke, 2013). De maneira geral, todos estes mecanismos levam a uma modulação e aceleração da resposta pós-sináptica, para garantir que a retina consiga transmitir informação rapidamente para o cérebro.

4.6. Integração sináptica e controle de ganho na primeira sinapse visual

Em níveis escotópicos, o ganho da sinapse entre bastonetes e células bipolares tem que ser alto, para que poucos fótons estimulando poucos bastonetes sejam suficientes para polarizar seus parceiros pós-sinápticos (Taylor & Smith, 2004; Dunn & Rieke, 2008). À medida que os níveis luminosos aumentam, entretanto, o ganho da sinapse entre bastonetes e BCs deve ser diminuído, tanto em peixes quanto em mamíferos, para que as BCs não saturem antes dos fotorreceptores. Várias estratégias podem ser utilizadas para tanto, que vão desde o nível de saturação dos canais modulados por glutamato nos dendritos da BC (Dunn, Doan, Sampath, & Rieke, 2006; Sampath & Rieke, 2004) até a interação destes com condutâncias não sinápticas, como correntes dependentes de voltagem.

Este último tipo de controle de ganho já foi descrito por nosso grupo de pesquisa nas células bipolares *ON* de entrada mista (*mbON*) do peixe dourado (Joselevitch & Kamermans, 2005) e provavelmente é também utilizado em BCs de bastonetes em mamíferos, uma vez que há grande concentração de canais de potássio (K^+) dependentes de voltagem nos dendritos deste tipo celular (Kaneko *et al.*, 1991; Pinto & Klumpp,

1998; Klumpp et al., 1995). Ainda não há na literatura, entretanto, um estudo minucioso dos efeitos das condutâncias dependentes de voltagem no ganho da sinapse entre bastonetes e BCs em mamíferos, em função da dificuldade experimental envolvida no estudo da integração dendrítica de sinais em células cujos compartimentos dendríticos são diminutos demais para possibilitar seu registro eletrofisiológico (Vroman, Klaassen, & Kamermans, 2013; Hausser & Mel, 2003).

Além disso, nada se sabe a respeito das mudanças geradas por estas condutâncias no ganho de um sistema plástico, ou seja, que muda sua geometria com a idade, como é o caso das mbON de peixes e das BCs ligadas a bastonetes de mamíferos. Dadas as dificuldades técnicas intrínsecas a este tipo de investigação, um estudo de modelagem computacional pode prover hipóteses úteis e um direcionamento para a pesquisa empírica.

4.7. Modelagem computacional da interação entre estrutura e resposta neuronal

Como neurônios subjazem o funcionamento do sistema nervoso, entender o comportamento neuronal é crucial para a compreensão de fenômenos psicológicos como percepção e cognição. Entretanto, neurônios são extremamente complexos, assim como os circuitos nos quais estes se inserem. Por isso, muitas vezes o estudo de determinado tipo ou circuito neuronal esbarra nas fronteiras impingidas pelas possibilidades experimentais. Neste sentido, modelar a atividade neuronal pode muitas vezes fornecer insights sobre questões inabordáveis experimentalmente.

A modelagem computacional de circuitos neuronais pode ocorrer em diversos níveis de abstração. Por isso, áreas como a psicologia cognitiva e as ciências da computação criam modelos do funcionamento de circuitos neuronais, com enorme variabilidade em termos de precisão espaço-temporal.

Dentre os modelos que buscam incorporar características eletrofisiológicas e morfológicas dos neurônios de maneira mais detalhada, encontram-se os estudos que utilizam a *equação dos cabos*, proposta por Wilfrid Rall (1962a; 1962b) para estudar o efeito da estrutura neuronal na integração do sinal sináptico.

A equação dos cabos trata os neuritos e o soma de um neurônio como cabos por onde o potencial sináptico evocado é transmitido de uma região do neurônio para as outras (**Figura 13**). Em sua forma mais simples, composta de apenas mecanismos não-dependentes de voltagem, o decaimento de voltagem ao longo da membrana celular do neurônio é explícito da seguinte maneira:

$$\lambda^2 \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} - \tau_m^2 \frac{\partial V}{\partial t} - V = 0,$$

na qual λ é a constante de decaimento espacial e τ_m é a constante de tempo da membrana. A derivação desta equação e suas soluções explícitas para diferentes condições iniciais e condições de contorno pode ser encontrada em Hines & Carnevale (2006) e Rall (1962a; 1962b). Todavia, a inserção de mecanismos dependentes de voltagem torna as propriedades eletrofisiológicas do modelo mais complexas, de modo que a equação dos cabos, em sua forma de equação diferencial parcial, não possui solução analítica e requer o uso de métodos numéricos (Bower & Beeman, 1998). Logo, para modelos neuronais mais complexos, a equação dos cabos é discretizada, dividindo o neurônio modelo em diversos compartimentos compostos de circuitos do tipo resistor-capacitor (RC; **Figura 13**), e permitindo o cálculo do decaimento da voltagem ao longo de cada um deles, a depender das resistências da membrana (R_m) e do citoplasma (R_a), assim como da capacitância da membrana (C_m). A equação dos cabos compartimentalizada assume a seguinte forma, para a voltagem do compartimento V_j em relação aos compartimentos adjacentes V_{j+1} e V_{j-1} :

$$\frac{V_{j+1} - 2V_j + V_{j-1}}{R_a} = C_m \frac{dV_j}{dt} + \frac{V_j}{R_m} + I_j,$$

na qual I_j representa os mecanismos dependentes de voltagem que podem estar presentes no modelo.

O uso deste formalismo contribui para o estudo de circuitos neuronais e de suas propriedades computacionais em três grandes vertentes (Rabinovich, London & Segev, 2008): (i) estimação das propriedades elétricas dos neurônios, que provê consistência para estimativas obtidas experimentalmente (Rall *et al.*, 1966; Rall, 1966; Hausser & Roth, 1997; Stuart & Spruston, 1988); (ii) identificação de parâmetros biofísicos centrais na determinação das respostas de um neurônio para um dado estímulo, sugerindo o papel de certa conformação estrutural ou conectiva de circuitos neuronais no processamento de informação (Spruston, Jaffe & Johnston, 1994; Hsu *et al.*, 1998; Smith, Freed & Sterling, 1986; Joselevitch *et al.*, em preparação); e (iii) análise das capacidades plásticas e funcionais dos neurônios e suas sinapses, criando, a partir de um uso mais distanciado dos resultados experimentais, hipóteses acerca das tarefas

computacionais que tais neurônios poderiam, em princípio, executar (London & Hausser, 2005; Loewenstein & Sompolsky, 2003; Segev *et al.*, 1995). E é nesta última vertente que melhor se encaixam os objetos da presente pesquisa.

Figura 13. Modelagem computacional das diversas sessões de um neurônio. (A) Esquema representando um neurônio real e a medição empírica de suas características eletrofisiológicas. (B) Representação das sessões de um neurônio em um conjunto de cabos nos quais o potencial de membrana flui, com decaimento exponencial, para outras regiões. (C) Discretização das sessões do neurônio em um conjunto de circuitos RC acoplados, cada um deles representando um compartimento do neurônio. **Fonte:** Bower & Beeman (1998). *Imagem reproduzida com permissão de James M. Bower e David Beeman.*

5. Objetivo

Este trabalho teve por objetivo investigar como o ganho da sinapse entre bastonetes e BCs é influenciado por:

- a. Mudanças na convergência neuronal;
- b. Mudanças na geometria celular causadas pelo crescimento dendrítico;
- c. Mudanças na densidade das condutâncias dependentes de voltagem pós-sinápticas.

Para tanto, utilizamos a técnica de modelagem computacional, e criamos um modelo de BC genérica ligada a bastonetes utilizando dados obtidos de literatura e em células reais.

6. Métodos

6.1. Reconstrução anatômica

Uma fatia retiniana de peixe dourado contendo uma mbON marcada iontoforicamente com *Lucifer Yellow* foi fixada por 10 minutos em uma solução de paraformaldeído 4% em 0,1 M de tampão fosfato-salina (PBS, pH 6,5), lavada duas vezes em PBS por 10 minutos e bloqueada com soro normal de cabra a 2% (Jackson ImmunoResearch Lab, West Grove, EUA) em PBS por 20 minutos (**Figura 14A**). O tecido foi montado em lâmina coberta com poli-L-lisina (Menzel-Gläser, Germany) e encubado *overnight* em anticorpo policlonal produzido em coelho contra *Lucifer Yellow* (Millipore, Amsterdam, Holanda, 1:3000) a 4°C em PBS contendo 0,3% de Triton X-100 e 5% de soro normal de cabra. Depois da lavagem (15 minutos, 3 vezes, em PBS), a seção foi encubada em anticorpo secundário produzido em cabra e conjugado a CY3 (Jackson ImmunoResearch Lab, West Grove, EUA; 1:500) por 30 minutos. A lâmina foi montada com Vectashield (Vector Labs, Burlingame, EUA) e observada em um microscópio invertido Zeiss Axiovert 100 M equipado com o módulo de escaneamento confocal a laser LSM 510 META (Zeiss, Jena, Alemanha). As micrografias foram adquiradas como arquivos TIFF, diretamente do microscópio.

Os arquivos TIFF foram examinados com o programa para análise 3-D *Image Pro* (Media Cybernetics, Inc., Silver Springs, EUA), e os diâmetros, comprimentos e coordenadas 3-D dos diferentes compartimentos da mbON foram medidos com a ferramenta de análise NeuralDraw, escrita por Koos de Vos (*The Netherlands Institute for Neuroscience*, Holanda). Devido às pequenas dimensões dos dendritos invaginando a esférula dos bastonetes, estimativas destes diâmetros foram obtidas através da mensuração de 15 imagens de microscopia eletrônica contendo dendritos marcados positivamente para proteína quinase C (PKC), um marcador para BCs ON ligadas a bastonetes (**Figura 14B e C**, fotos gentilmente cedidas por Jan Klooster, *The Netherlands Institute for Neuroscience*, Holanda). Os valores iniciais para os dendritos secundários foram retirados da literatura (mb2s, Ishida *et al.*, 1980). Os parâmetros obtidos destas análises e utilizados na modelagem computacional estão listados na **Tabela 1**, que apresenta parâmetros morfológicos utilizados na simulação de uma BC com a maior árvore dendrítica (L_{dend} , do inglês '*dendrite length*') e a maior convergência de bastonetes (n_{rod} , do inglês '*number of rods*').

Tabela 1. Geometria do modelo e área de superfície de membrana para os maiores valores de convergência (n_{rod}) e comprimento dendrítico (L_{dend}) testados. Como cada compartimento foi modelado com formatos cilíndricos (Carnevale & Hines, 2006), a área de superfície foi calculada de acordo com a fórmula $área = 2\pi r^2 + 2\pi rh$ (na qual r = raio e h = comprimento), descontando-se as áreas de contato entre os compartimentos. Note-se que a árvore dendrítica (em azul), contendo apenas a condutância passiva, corresponde neste exemplo a aproximadamente 50% da área total de membrana da célula. Os botões sinápticos, contendo a condutância glutamatérgica em adição à passiva, correspondem a apenas 4,5% da área de membrana.

Compartimentos	Segmentos	Diâmetro (μm)	Comprimento (μm)	Quantidade	Área (μm^2)
Soma	11	7	14	1	376,10
Dendritos 1 ^{ários}	9	1,3	25	6	618,19
Dendritos 2 ^{ários}	9	0,1	2	240	150,80
Caules dendríticos	3	0,1	0,2	240	15,08
Botões sinápticos	1	0,19	0,44	240	69,84
Axônio	11	1	40	1	125,66
Terminal axônico	1	7	7	1	192,42
Totais	45	-	-	729	1.548,59

6.2. Modelagem computacional

O modelo computacional aqui utilizado foi construído no ambiente de simulação NEURON (Carnevale & Hines, 2006; Hines & Carnevale, 2001). Os intervalos de integração temporal variaram de 0,00625 a 0,025 ms. O modelo, criado em colaboração com o Prof. Dr. Maarten Kamermans (Universidade de Amsterdã e *The Netherlands Institute for Neuroscience*, Holanda), possui 6 partes (seções) principais, divididas em 389-3197 segmentos (**Figura 15**): o corpo celular (11 segmentos), o axônio (11 segmentos), o terminal axônico (1 segmento), 6 dendritos primários (9 segmentos cada), de 24 a 240 dendritos secundários (9 segmentos cada) e os terminais dendríticos (1 segmento cada)⁵. Os diâmetros e comprimentos de cada seção estão enumerados na **Tabela 1**.

Parâmetros de membrana, como resistividade axial (R_a), resistência de entrada (R_{in}), resistência específica de membrana (R_m) e capacitância específica de membrana (C_m) foram considerados uniformes ao longo da célula: $R_a = 250 \Omega \cdot cm$ (Mennerick,

⁵ Para avaliar a acurácia espacial do modelo, nós testamos a sua cinética com a de um modelo similar em que o número de segmentos de todos os compartimentos foi multiplicado por 3, o que reduziria erros espaciais em 9 vezes (Carnevale and Hines, 2006); aumentar o número de segmentos não mudou os resultados aqui apresentados.

Zenisek, & Matthews, 1997; Spruston, Jaffe, & Johnston, 1994), $R_m = 67 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$, valor na faixa registrada em neurônios retinianos (Coleman & Miller, 1989), e $C_m = 1 \text{ }\mu\text{F}/\text{cm}^2$.⁶ O potencial de reversão da corrente passiva foi fixado em $E_{\text{pas}} = -80 \text{ mV}$, pois em células bipolares, assim como na maioria dos neurônios, a condutância passiva é dominada por canais seletivos para K^+ (Kaneko & Tachibana, 1985). A densidade da condutância passiva foi $g_{\text{pas}} = 1500 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$, para obtenção de uma resistência de entrada (R_{in}) na faixa de 1-1,5 $\text{G}\Omega$, semelhante à observada em neurônios reais isolados (Tessier-Lavigne *et al.*, 1988; Mennerick *et al.*, 1997). Juntos, estes parâmetros produziram um modelo cujas correntes passivas evocadas por pulsos de voltagem de -10 mV a partir de -70 mV possuíam decaimento exponencial semelhante ao registrado em células reais (para mais detalhes, ver Joselevitch, 2005).

Bastonetes foram modelados como neurônios de 3 compartimentos (soma, axônio e terminal axônico, um segmento cada) com apenas condutâncias passivas ($R_a = 123 \text{ }\Omega \cdot \text{cm}$, $C_m = 10 \text{ }\mu\text{F} \cdot \text{cm}^{-2}$, $E_{\text{leak}} = -50 \text{ mV}$, $g_{\text{leak}} = 10 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$). O controle do potencial de membrana dos fotorreceptores foi obtido através da simulação de um *voltage-clamp* somático. Bastonetes foram estimulados através de passos de voltagem de -5 a -40 mV a partir do seu potencial de repouso (-40 mV). Entradas de fotorreceptores foram simuladas de forma que a hiperpolarização dos bastonetes modulasse uma corrente na BC com potencial de reversão (E_{rod}) em 0 mV (Berntson *et al.*, 2004; Euler & Masland, 2000), de acordo com a fórmula:

$$I_{\text{post}} = g_{\text{max}} * \frac{1}{1 + e^{(V_{\text{pre}} + 50)/7.5}} * (V_{\text{post}} - E_{\text{rod}}) * \text{act} \quad (\text{Equação 1}),$$

na qual I_{post} representa a corrente pós-sináptica (mA), g_{max} é a condutância pós-sináptica máxima (S/cm^2), V_{pre} é o potencial de membrana pré-sináptico (mV), V_{post} é o potencial de membrana pós-sináptico (mV), E_{rod} é o potencial de reversão da condutância modulada por bastonetes (0 mV) e *act* é um fator multiplicador utilizado para controlar a amplitude final da corrente na BC. A condutância modulada por bastonetes (g_{rod}) foi colocada apenas na ponta dos terminais dendríticos da BC (botões sinápticos), enquanto

⁶ Os valores de C_m estimados em células bipolares retinianas está entre 1,1 e 1,49 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ (Oltedal, Veruki, & Hartveit, 2009; Tessier-Lavigne, Attwell, Mobbs, & Wilson, 1988); em vários outros neurônios, este valor está entre 0,7 e 1 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ (Major, Larkman, Jonas, Sakmann, & Jack, 1994; Haydon, Requena, & Urban, 1980). Para uma discussão sobre a influência do valor de C_m nas propriedades eletrotônicas de neurônios hipocâmpais, ver Oltedal *et al.* (2009) e Major *et al.* (1994).

as condutâncias passivas foram distribuídas homogeneamente por toda a célula (Figura 15).

Figura 14. Geometria de uma mbON do peixe dourado. (A) Célula injetada com *Lucifer Yellow* usada para a reconstrução 3D. Escala: 5 μm . (B) Imagem de microscopia eletrônica de transmissão de uma esférula de bastonete com processos pós-sinápticos imunorreativos para PKC (asterisco), utilizados para estimar as dimensões dos processos dendríticos terminais da mbON. Ponta de seta: dendrito de uma mbON invaginando no hilo (h) dos bastonetes; SR: fita sináptica. Escala = 500 nm. (C) Valores médios ($\pm$ SD) para o diâmetro e comprimento dos processos imunorreativos para PKC no hilo do bastonete. *Shaft d*: diâmetro do caule; *shaft L*: comprimento do caule; *tip d*: diâmetro do terminal dendrítico; *tip L*: comprimento do terminal dendrítico. Todos os valores foram corrigidos assumindo redução homogênea de 10% devido à fixação e desidratação do tecido retiniano. **Fonte:** Joselevitch *et al.* (em preparação).

Figura 15. Representação esquemática do modelo de BC utilizado neste estudo.

Direita: Desenho mostrando os compartimentos principais da célula modelada: terminal axônico (*terminal*), axônio (*axon*), soma, dendritos primários (*primary dendrite*), dendritos secundários (*secondary dendrite*) e os terminais dendríticos, compostos por caule e ponta (*shaft* e *tip*, respectivamente). Cada dendrito secundário contata um bastonete (*rods*). **Esquerda:** Aumento da área dentro do quadrado em (A) para mostrar a distribuição dos receptores sinápticos (mGluR6), dos canais de K^+ dependentes de voltagem (*active K^+ channels*) e da condutância passiva (*passive K^+ channels*). **Fonte:** Adaptado de Joselevitch *et al.* (em preparação).

A densidade da condutância glutamatérgica nos botões sinápticos da BC foi ajustada para que seu potencial de repouso (V_{rest}) estivesse em torno de -40 mV (Joselevitch, 2005; Mennerick *et al.*, 1997; Mennerick *et al.*, 1997; Kaneko, 1970) e para que uma hiperpolarização máxima dos bastonetes (passo de -40 a -80 mV) gerasse uma corrente e uma amplitude de resposta em mV com valores próximos dos registrados em células reais e nas mesmas condições (Joselevitch, 2005).

A relação entre a voltagem pré-sináptica e a magnitude da corrente pós-sináptica foi inserida na **Equação 1** como uma função sigmóide, aumentando de maneira inversamente proporcional ao potencial de membrana dos bastonetes (**Figura 16**):

$$Ganho = \frac{1}{1 + e^{(V_{pre} + 50)/7,5}} \quad (\text{Equação 2}).$$

Quando os bastonetes estão em seu potencial de repouso (-40 mV), a corrente na BC encontra-se em 20% de seu valor máximo. Isso deve-se ao fato da sinapse das BCs *ON* ser invertida, aumentando a corrente pós-sináptica conforme o fotorreceptor hiperpolariza. Passos de voltagem entre -40 e -80 mV nos bastonetes do modelo geram alterações no potencial de membrana da BC (**Figura 16**). Quanto mais hiperpolarizados os bastonetes, maior a despolarização na BC do modelo.

O momento no qual o potencial de membrana sofre estabilização durante o passo de voltagem foi denominado V_{light} , pois é análogo a uma resposta à luz em uma célula real e representa a polarização total atingida pela BC para uma determinada hiperpolarização dos bastonetes. As respostas da BC para as diferentes condições de simulação foram calculadas de acordo com a fórmula:

$$Resposta = V_{light} - V_{rest} \quad (\text{Equação 3}),$$

na qual V_{light} (mV) é o potencial de membrana da BC para cada passo de estimulação dos bastonetes, e V_{rest} (mV) é o potencial da BC em repouso (**Figura 16**).

Condutâncias dependentes de voltagem permeáveis a K^+ (I_{KV} , do tipo retificador atrasado) foram simuladas de acordo com o modelo cinético de Hodgkin e Huxley (**Figura 16**; para uma discussão do modelo cinético, ver Hodgkin & Huxley, 1952a), com potencial de reversão $E_k = -95$ mV. A localização e densidade desta condutância foi escolhida de modo a reproduzir dados obtidos em células reais (Joselevitch et al., em preparação; Klumpp et al., 1995; Pinto & Klumpp, 1998). A escolha de parâmetros foi feita de modo que I_{KV} possuisse amplitude e constantes de tempo similares às obtidas em registros reais (**Figura 17**). Todavia, devido às severas distorções da relação corrente-voltagem e às propriedades dinâmicas que condutâncias dendríticas remotas sofrem quando medidas em estruturas não esféricas, tal como uma BC (Hausser and Roth, 1997; Schaefer et al., 2003; Spruston et al., 1993), não foram realizados maiores esforços para parear a cinética das correntes modeladas com as observadas em células reais.

Figura 16. A sinapse entre bastonetes e BC. (A) Potencial de membrana na esférula de um bastonete para 300 ms de polarização somática (passos de voltagem crescentes a partir de -40 mV). A barra cinza abaixo de V_{rest} representa o tempo de estimulação dos bastonetes. (B) Corrente pós-sináptica normalizada em função do potencial de membrana pré-sináptico dos bastonetes, modelada como uma função sigmóide, emulando a relação corrente-voltagem dos canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem contidos no terminal sináptico dos bastonetes (do tipo L, ver Kurenny et al., 1994; Schmitz & Witkovsky, 1997), de modo a representar a liberação de neurotransmissores pelos fotorreceptores (Witkovsky et al. 1997). (C) Polarização da BC em função dos passos de voltagem aplicados aos bastonetes em (A). Partindo de V_{rest} , a despolarização induzida na BC pelo estímulo dos bastonetes aumenta com a hiperpolarização dos mesmos. A barra cinza abaixo de V_{rest} representa o tempo de estimulação dos bastonetes (300 ms). O potencial de membrana da BC após estabilização em resposta à variação de voltagem dos bastonetes foi denominado V_{light} , por ser análogo à uma resposta à luz em uma célula real.

6.3. Análise de dados

As amplitudes de resposta da BC em diversos compartimentos celulares foram plotadas em relação à distância física da sinapse e ajustadas com uma função de decaimento exponencial simples de forma:

$$Resposta = y_0 + Ae^{\frac{-x}{t}} \quad (\text{Equação 4}),$$

na qual y_0 representa a amplitude de resposta no sítio sináptico (= antes do decaimento), A representa a amplitude de resposta no soma (= após o decaimento) e t é a constante de decaimento.

Figura 17. Correntes de K^+ dependentes de voltagem de uma mbON real e do modelo computacional. (A) Correntes evocadas em uma mbON por passos de voltagem a partir de -70 mV, (traços negros). O protocolo de fixação de voltagem é mostrado em cinza. Nesta escala de tempo, efluxos iônicos dependentes de voltagem possuem um componente inicial transiente e um componente sustentado tardio que inativa pouco. As respostas do modelo para o mesmo tipo de estimulação são mostradas em azul, superpostas às correntes reais. $I_{KV} = 100 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$. (B) Relações corrente-voltagem (IV) do modelo para $I_{KV} = 100 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ (linha sólida azul), medidas a partir dos traços em (A) ao final de cada passo de voltagem. Símbolos indicam relações corrente-voltagem (IVs) de 10 mbON da retina do peixe dourado. (C) Constante de tempo de ativação (τ_m , linha azul) de I_{KV} . Símbolos são as constantes de tempo de ativação obtidas em 10 mbON de peixe dourado registradas em fatias retinianas. **Fonte:** Joselevitch *et al.* (em preparação).

A análise de transientes de corrente foi utilizada para cálculo da resistência em série (R_s) e resistência de entrada (R_{in}) nas diversas configurações do modelo. Relaxamentos de corrente para passos de voltagem de -10 mV a partir de um potencial de fixação de -70 mV foram subtraídas da corrente de fixação e ajustadas com uma função exponencial dupla de forma:

$$Resposta = A_0 + A_1 * e^{-t/t_1} + A_2 * e^{-t/t_2} \quad (\text{Equação 5}),$$

na qual A_0 é a amplitude da corrente em estado estacionário ao final do passo de voltagem, A_1 e A_2 são as amplitudes das duas funções exponenciais no momento de mudança de potencial, e t_1 and t_2 são as respectivas constantes de tempo do decaimento de corrente para A_0 (Mennerick et al., 1997; Nadeau & Lester, 2000). R_s foi então calculada utilizando-se a formula (Nadeau & Lester, 2000):

$$R_s = \frac{V_{step}}{A_0 + A_1 + A_2} \quad (\text{Equação 6}),$$

na qual V_{step} é o passo de voltagem. Por fim, R_{in} foi estimada através da equação:

$$R_{in} = \frac{V_{step}}{A_0} - R_s \quad (\text{Equação 7}).$$

Para análise do ganho sináptico do modelo em suas diversas configurações, amplitudes de resposta da BC e grau de polarização dos bastonetes foram calculados de acordo com a **Equação 3** e plotados em gráficos relacionando os dois. Como estas funções de transferência sináptica são análogas às relações intensidade-resposta medidas em células reais, foi utilizada para sua análise a equação de *Hill*:

$$Resposta = V_{max} * \frac{I^n}{k^n + I^n} \quad (\text{Equação 8}),$$

na qual V_{max} é a amplitude máxima de resposta, k corresponde, neste caso, ao grau de polarização dos bastonetes necessário para obtenção de 50% de V_{max} , n é o *coeficiente de Hill*, e I é a polarização dos bastonetes. Quando pertinente, os parâmetros obtidos com este ajuste matemático, V_{max} , k e n , foram comparados entre grupos através de ANOVAs de uma via e Testes T de Student bicaudais com correção de Bonferroni. Dados foram considerados significantes se $P < 0,01$.

Quando aplicável, foram utilizadas regressões lineares de forma:

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 x_i \quad (\text{Equação 9}),$$

na qual β_0 e β_1 são, respectivamente, o intercepto e o coeficiente angular da reta.

Todos os ajustes matemáticos foram realizados com auxílio do *software* Origin (OriginLab, EUA), utilizando-se o algoritmo de minimização de erros de Levenberg-Marquardt. A qualidade dos ajustes em relação aos dados foi verificada através de análise de residuais (Ellis & Duggleby, 1978), valores de χ^2 reduzido e R^2 ajustado da modelagem e ANOVA. Ajustes foram considerados adequados quando os seus residuais não apresentavam tendência, χ^2 reduzido era próximo de 0, R^2 ajustado >0,9 e a probabilidade de $F > F$ crítico (rejeição da hipótese de que ajuste e resultado são iguais) <0,05.

Para o cálculo de latências de resposta, o tempo em que a BC atinge $V_{\max}$ foi selecionado e subtraído do início da estimulação dos bastonetes. Para respostas que atingem valores assintóticos e saturam, o valor de latência foi definido como o tempo em que a resposta atinge seu valor máximo pela primeira vez.

7. Resultados

Os resultados deste estudo estão divididos em duas grandes partes. A primeira compreende a análise dos efeitos da morfologia celular na integração de sinais de bastonetes por parte da BC durante seu crescimento, utilizando-se apenas condutâncias sinápticas e passivas no modelo. A segunda parte é uma consequência da primeira e analisa como a inserção de condutâncias dependentes de voltagem permeáveis a K^+ afetam esta integração de sinais nas diferentes configurações morfológicas. Muito embora as simulações da primeira parte não reflitam inteiramente o comportamento eletrofisiológico de uma BC de bastonetes real, uma vez que esta possui canais de K^+ dependentes de voltagem (Klumpp et al., 1995; Pinto & Klumpp, 1998; Mao, MacLeish, & Victor, 1998; Mao, MacLeish, & Victor, 2002; Kaneko & Tachibana, 1985), elas são a base para entender o papel das condutâncias não ôhmicas na integração somática do sinal luminoso.

7.1. *Convergência e crescimento alteram o potencial de repouso*

O primeiro ponto de análise consistiu em estudar o efeito das alterações morfológicas que ocorrem na BC durante o crescimento sobre a integração de sinais sinápticos advindos de bastonetes. À medida que uma BC cresce, três coisas podem acontecer: (i) sua área de superfície de membrana pode aumentar em função do estiramento de sua árvore dendrítica primária; (ii) o número de terminais dendríticos pode aumentar, caso a BC faça novas sinapses; e (iii) ambos os fenômenos, estiramento e sinaptogênese, podem ocorrer simultaneamente. Como a árvore dendrítica primária e os terminais dendríticos possuem conjuntos diferentes de canais (a primeira contendo apenas canais passivos, com $E_{pas} = -80$ mV, e os terminais contendo canais sinápticos com $E_{rod} = 0$ mV em adição à condutância passiva), estudamos as três possibilidades.

Como ilustrado nas **Figuras 18A e 18B**, o grau de convergência altera significativamente o V_{rest} da BC, mesmo que o tamanho de sua árvore dendrítica primária permaneça constante. Tal fato ocorre porque o aumento da convergência ocasiona um aumento da condutância sináptica da BC, e esta possui potencial de reversão $E_{rod} = 0$ mV. Logo, quanto maior a convergência de bastonetes para a BC, mais despolarizado é o seu V_{rest} . Por sua vez, quando apenas L_{dend} aumenta, V_{rest} hiperpolariza proporcionalmente, pela adição de canais passivos com potencial de reversão $E_{pas} = -80$ mV. Esta mudança de V_{rest} em função do comprimento dos dendritos primários deve-

se ao fato de a área de superfície de membrana da árvore dendrítica primária passar a ter maior contribuição sobre o potencial de membrana da célula com o crescimento (Tabelas 1 e 2).

Figura 18. Convergência neuronal e geometria celular alteram V_{rest} . (A) V_{rest} da BC, medido no soma, para diferentes valores de comprimento dos dendritos primários. Os símbolos, de verde a azul, indicam números variados de bastonetes convergindo para a BC (o número de bastonetes em cada simulação é apresentado na legenda). As linhas indicam uma interpolação de V_{rest} da BC para valores intermediários de L_{dend} não testados. (B) Valores de V_{rest} da BC, medido no soma, para números variados de sinapses com bastonetes. A legenda indica o comprimento dos dendritos primários da BC. As linhas indicam uma inferência de V_{rest} da BC para valores intermediários de n_{rod} não testados.

Mesmo com a menor árvore dendrítica ($L_{dend} = 2,5 \mu m$) e a maior convergência ($n_{rod} = 240$) utilizadas em nossas simulações (Tabela 2), a área de superfície de membrana dendrítica corresponde a cerca de 23% da área total de membrana da célula modelada, e pode chegar a 50% como aumento dos dendritos primários (Tabela 1). Como a árvore dendrítica possui apenas condutâncias passivas, que possuem potencial de reversão (E_{rev}) negativo, seu crescimento leva a um aumento da corrente passiva na célula e à hiperpolarização da membrana celular se o grau de convergência sináptica permanecer constante. Para analisar os valores percentuais dos dendritos primários e secundários em relação à área total da BC de cada uma das simulações testadas, ver 13. Anexos (Anexo 1). É possível observar, contudo, que a hiperpolarização ocasionada pelo aumento de L_{dend} é modulada pelo grau de convergência da BC, pois, como mostra a Figura 18A, quanto maior n_{rod} , menor é a hiperpolarização decorrente do aumento de

L_{dend} : para uma convergência de 24 bastonetes, o aumento de L_{dend} de 2,5 para 25 μm gera uma hiperpolarização de 10,9 mV. Já para uma convergência de 240 bastonetes, o mesmo aumento de L_{dend} gera uma hiperpolarização de 5,8 mV. Nesse sentido, mudanças em L_{dend} para $n_{\text{rod}} = 24$ ocasionam maiores alterações em V_{rest} porque a contribuição da corrente passiva é proporcionalmente maior do que para $n_{\text{rod}} = 240$. Mais adiante, na **sessão 7.2**, as alterações na resistência de entrada (R_{in}) da BC, decorrentes do crescimento dendrítico, explicitarão as diferenças na contribuição da corrente passiva para o potencial de membrana da BC em diferentes graus de convergência sináptica.

Tabela 2. Geometria do modelo e área de superfície de membrana para os maiores valores de convergência (n_{rod}) e menor comprimento dendrítico (L_{dend}) testados. Como cada compartimento foi modelado com formatos cilíndricos (Carnevale & Hines, 2006), a área de superfície foi calculada de acordo com a fórmula $\text{área} = 2\pi r^2 + 2\pi rh$ (na qual r = raio e h = comprimento), descontando-se as áreas de contato entre os compartimentos. A árvore dendrítica (linhas em azul), contendo apenas a condutância passiva, corresponde neste exemplo a aproximadamente 23% da área total de membrana da célula. Os botões sinápticos, contendo a condutância glutamatérgica em adição à passiva, correspondem a apenas 7% da área de membrana.

Compartimentos	raio (μm)	Comprimento (μm)	Quantidade	Área (μm^2)
Soma	3,5	14	1	376,10
Dendritos 1 ^{ários}	0,65	2,5	6	67,34
Dendritos 2 ^{ários}	0,05	2	240	150,80
Caules dendríticos	0,05	0,2	240	15,08
Botões sinápticos	0,095	0,44	240	69,84
Axônio	0,5	40	1	125,66
Terminal axônico	3,5	7	1	192,42
Área total				997,24

7.2. Convergência e crescimento influenciam a integração de sinais

A hiperpolarização de V_{rest} causada pelo crescimento da árvore dendrítica poderia *aumentar* a amplitude de resposta da BC medida no soma, por aumentar a força eletromotriz para a condutância sináptica nos botões dendríticos. Por outro lado, o aumento no comprimento dos dendritos primários poderia *diminuir* a amplitude de resposta da BC medida no soma, em função de aumento no decaimento de potencial ao longo da árvore dendrítica. Tais efeitos poderiam ainda ser intensificados caso a BC

possuísse baixa condutância sináptica devido a um baixo grau de convergência de bastonetes, como sugerido pela **Figura 18A**.

Para investigar estas possibilidades, primeiramente estudamos o decaimento espacial de voltagem na BC modelo para os dois casos extremos de convergência ($n_{\text{rod}} = 24$ e 240 bastonetes) e para o menor e maior comprimento dos dendritos primários ($L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$ e $25 \mu\text{m}$), quando o bastonete fazendo sinapse com o dendrito secundário mais distante do soma era polarizado, enquanto os demais bastonetes permaneciam em seus respectivos potenciais de repouso. Os resultados destas simulações são apresentados na **Figura 19**.

A **Figura 19A** compara as amplitudes de resposta e o decaimento espacial de voltagem ao longo da árvore dendrítica de uma BC com $L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$ (verde escuro) e em uma BC com $L_{\text{dend}} = 25 \mu\text{m}$ (verde claro), mantendo-se a mesma convergência ($n_{\text{rod}} = 24$ bastonetes). As linhas sólidas são ajustes exponenciais (**Equação 4**) com parâmetros $y_0 = 2,82 \text{ mV}$ e $t = 1,54 \mu\text{m}$ para $L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$ ($\chi^2 = 1,22 \cdot 10^{-3}$; $R^2 = 0,94$) e $y_0 = 2,4 \text{ mV}$ e $t = 1,54 \mu\text{m}$ para $L_{\text{dend}} = 25 \mu\text{m}$ ($\chi^2 = 1,99 \cdot 10^{-4}$; $R^2 = 0,95$). As duas constantes de decaimento são semelhantes, indicando que a maior parte da atenuação de sinal em ambos os casos ocorre nos primeiros $1,55 \mu\text{m}$ da sinapse, o que corresponde às regiões do caule e dendrito secundário, que permanecem inalteradas com a variação de L_{dend} . Para esta convergência, o decaimento espacial de voltagem em valores absolutos é maior quando o dendrito é mais longo, muito embora as amplitudes de resposta sejam $0,3 \text{ mV}$ menores. Isso ocorre devido à diminuição da R_{in} , cujas consequências serão elaboradas na **Figura 20**. Como a amplitude de resposta é menor neste caso, o escape de corrente pelos canais passivos, homogeneamente distribuídos ao longo dos dendritos, é proporcionalmente mais significativo (ver **Figura 19C**, símbolos e curvas em verde).

Na **Figura 19B** são comparadas as amplitudes de resposta ao longo da árvore dendrítica em BCs com convergência de 240 bastonetes e $L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$ (azul escuro) e $L_{\text{dend}} = 25 \mu\text{m}$ (azul claro). As linhas sólidas são ajustes exponenciais (**Equação 4**), com parâmetros $y_0 = 0,15 \text{ mV}$ e $t = 1,54 \mu\text{m}$ para $L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$ ($\chi^2 = 9,79 \cdot 10^{-5}$; $R^2 = 0,94$) e $y_0 = 0,21 \text{ mV}$ e $t = 1,55 \mu\text{m}$ para $L_{\text{dend}} = 25 \mu\text{m}$ ($\chi^2 = 1,99 \cdot 10^{-4}$; $R^2 = 0,95$). Novamente, as constantes de decaimento são idênticas às da **Figura 19A**, reforçando que a maior parte da atenuação ocorre nos dendritos secundários (ver **Discussão**).

Figura 19. BCs são anisopotenciais. (A) Respostas de duas BCs ao longo das estruturas dendríticas para hiperpolarização máxima de um bastonete localizado no terminal dendrítico mais distante do soma, quando $L_{dend} = 2,5 \mu m$ (verde escuro) e quando $L_{dend} = 25 \mu m$ (verde claro). $n_{rod} = 24$ bastonetes. Pontos indicam amplitude de resposta em um local diferente da célula, sendo o último ponto o soma. Linhas sólidas são ajustes exponenciais (Equação 4, parâmetros no texto). (B) Respostas de duas BCs ao longo dos dendritos para hiperpolarização máxima de um bastonete distal, quando $L_{dend} = 2,5 \mu m$ (azul escuro) e quando $L_{dend} = 25 \mu m$ (azul claro). $n_{rod} = 240$ bastonetes. Pontos indicam amplitude de resposta em um local diferente da célula, sendo o último ponto o soma da BC. Linhas sólidas são ajustes exponenciais (Equação 4, parâmetros no texto). (C) Gráfico em (A) e (B) com valores normalizados para fins de comparação. As linhas sólidas são ajustes exponenciais (Equação 4, parâmetros no texto). (D) Amplitudes de resposta no soma para $L_{dend} = 2,5; n_{rod} = 24$ (verde escuro); $L_{dend} = 2,5; n_{rod} = 240$ (azul escuro); $L_{dend} = 25; n_{rod} = 24$ (verde claro); e $L_{dend} = 25; n_{rod} = 240$ (azul claro). Percentuais indicam o decaimento espacial de voltagem da ponta sináptica ao soma para os casos simulados em (A) e (B).

Diferentemente do que ocorre em uma BC com $n_{\text{rod}} = 24$, a convergência de 240 bastonetes e o consequente aumento da condutância sináptica em uma ordem de magnitude levam o V_{rest} da BC para próximo de E_{rod} (0 mV; **Figura 18**). Com isso, a relação entre L_{dend} e decaimento é inversa à apresentada na **Figura 19A**: para $n_{\text{rod}} = 240$, as amplitudes de resposta são maiores para $L_{\text{dend}} = 25 \mu\text{m}$ pelo aumento da condutância passiva e, portanto, da força eletromotriz para a corrente sináptica. Note-se, contudo, que as amplitudes de resposta neste caso não ultrapassam 1 mV em função da alta convergência sináptica.

A **Figura 19C** apresenta os valores de potencial e distância da sinapse das **Figuras 19A e 19B** normalizados, para facilitar a comparação. No eixo das abscissas, o ponto $x = 1$ indica a resposta normalizada no soma. Para $n_{\text{rod}} = 24$, observa-se um decaimento 4% maior no soma devido ao aumento de L_{dend} de 2,5 para 25 μm . Já para $n_{\text{rod}} = 240$, o decaimento no soma é maior e as diferenças decorrentes da alteração de L_{dend} não são conspícuas: comparando os pontos em tons de azul para $x = 1$ (soma), observa-se que os valores de decaimento normalizados são semelhantes. Na **Figura 19D** encontram-se as amplitudes de resposta na ponta sináptica (barras negras) e no soma (barras em verde e azul), assim como os respectivos decaimentos de voltagem (números percentuais), para os quatro casos apresentados nas **Figuras 19A e 19B** (verde escuro: $L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$ e $n_{\text{rod}} = 24$; azul escuro: $L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$ e $n_{\text{rod}} = 240$; verde claro: $L_{\text{dend}} = 25 \mu\text{m}$ e $n_{\text{rod}} = 24$; azul claro: $L_{\text{dend}} = 25 \mu\text{m}$ e $n_{\text{rod}} = 240$). Há maior decaimento percentual da amplitude de resposta quando $n_{\text{rod}} = 240$; o aumento de L_{dend} , por sua vez, aumenta o decaimento da resposta no soma para $n_{\text{rod}} = 24$ em cerca de 4%, e, para $n_{\text{rod}} = 240$, a diferença no decaimento de resposta é diminuída para 3%. Tanto para $n_{\text{rod}} = 24$ quanto para $n_{\text{rod}} = 240$, o decaimento espacial de voltagem é ligeiramente superior para o maior valor de L_{dend} (**Figura 19D**), sendo as amplitudes residuais de resposta medidas no soma consequentemente menores em função do aumento da árvore dendrítica hiperpolarizar a membrana e, para $n_{\text{rod}} = 24$, diminuir a R_{in} da BC, aumentando, por conseguinte, o efeito da filtragem dendrítica. Já para $n_{\text{rod}} = 240$, a hiperpolarização ocasionada pelo crescimento dendrítico aumenta a amplitude de resposta no sítio sináptico (de 0,25 para 0,37 mV, **Figura 19B**), aumentando o deslocamento de V_{rest} e a força motriz da corrente passiva.

As simulações apresentadas na **Figura 18** e **Figura 19** sugerem que a convergência neuronal influencia tanto o V_{rest} quanto a amplitude de resposta da BC.

Ambos são também modulados pelo tamanho da árvore dendrítica primária, principalmente em BCs com baixa convergência. Como apresentado na **Figuras 19A e 19B**, a influência de L_{dend} na amplitude de resposta depende da convergência: para BCs com $n_{\text{rod}} = 24$, a maior amplitude de resposta pertence à BC com menor árvore dendrítica ($L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$), ao passo que para BCs com $n_{\text{rod}} = 240$, a maior amplitude de resposta pertence à BC com maior árvore dendrítica ($L_{\text{dend}} = 25 \mu\text{m}$).

Ainda que as pontas dendríticas nas quais se encontram as correntes sinápticas representem pouco da área de superfície de membrana total da célula (ver **Tabelas 1 e 2**) e estejam ligadas ao soma pela alta resistência dos dendritos secundários, a contribuição das condutâncias ali presentes para R_{in} , a resistência de entrada da célula, é significativa. Este fenômeno é ilustrado na **Figura 20**, que mostra os valores de R_{in} medidos em três situações: (i) densidade da condutância sináptica = $0,0015 \text{ S/cm}^2$ quando os bastonetes estão “no escuro”, ou seja, em seu potencial de repouso (barras sólidas; esta densidade é a descrita na seção **5. Métodos** desta dissertação e utilizada em todas as simulações aqui mostradas); (ii) densidade da condutância sináptica = $0,0015 \text{ S/cm}^2$ quando os bastonetes estão “no claro”, ou seja, hiperpolarizados (barras em gradiente); e (iii) densidade da condutância sináptica = $0,015 \text{ S/cm}^2$ (barras hachuradas). Para os três casos, calculamos R_{in} quando $n_{\text{rod}} = 24$ ou 240 bastonetes, e quando $L_{\text{dend}} = 2,5$ ou $25 \mu\text{m}$.

As barras sólidas na **Figura 20** mostram que, quando os bastonetes não estão sendo estimulados, e a BC está em seu V_{rest} , R_{in} muda drasticamente com o crescimento dendrítico e aumento de convergência para a g_{rod} utilizada neste estudo. Para $n_{\text{rod}} = 24$, por exemplo, R_{in} muda de $5,5$ para $3,7 \text{ G}\Omega$ com o aumento de L_{dend} . Para $n_{\text{rod}} = 240$, os valores de R_{in} são menores (cerca de $1 \text{ G}\Omega$) e permanecem relativamente estáveis, independente de L_{dend} . Estes resultados indicam que, no escuro, R_{in} é determinada por L_{dend} quando a convergência é pequena, mas por n_{rod} quando a convergência é grande.

As barras em gradiente da **Figura 20** mostram, por outro lado, que este quadro muda quando os bastonetes são estimulados e levam à abertura dos canais glutamatérgicos na membrana da BC. Neste caso, R_{in} estabiliza-se em torno de $2,2 - 1,8 \text{ G}\Omega$ para $n_{\text{rod}} = 24$ e em torno de $300 \text{ M}\Omega$ para $n_{\text{rod}} = 240$ bastonetes, tornando-se relativamente independente de L_{dend} nas duas convergências. Este resultado sugere que a influência da corrente modulada por cada bastonete sobre a BC será menor no estado mesópico em relação ao escotópico, e também em convergências maiores em relação às

menores, uma vez que R_{in} determina a corrente unitária por canal. Uma mesma corrente sináptica precisa dividir-se pelo número de canais abertos na membrana pós-sináptica; um maior número de canais abertos (por estimulação glutamatérgica direta, pelo aumento da convergência, ou pelo aumento no número de canais passivamente abertos) significa, portanto, menor corrente passando por canal (Lei das Correntes de Kirchhoff).

Figura 20. Efeitos de n_{rod} , L_{dend} e g_{rod} sobre R_{in} . **Barras sólidas:** Evolução dos valores de R_{in} durante o crescimento dendrítico e aumento de convergência quando g_{rod} é 0,0015 S/cm², mas os bastonetes não estão sendo estimulados. Neste caso, R_{in} é fortemente alterada pelo comprimento dos dendritos primários quando $n_{rod} = 24$, mas não quando $n_{rod} = 240$. Valores de R_{in} indicados em G Ω sobre as barras. **Barras em gradiente:** Evolução dos valores de R_{in} durante o crescimento dendrítico e aumento de convergência quando g_{rod} é 0,0015 S/cm² e os bastonetes estão maximamente hiperpolarizados. Neste caso, R_{in} muda muito pouco à medida em que os dendritos crescem quando $n_{rod} = 24$, e não se altera quando $n_{rod} = 240$. Valores de R_{in} indicados em G Ω sobre as barras. **Barras hachuradas:** Evolução dos valores de R_{in} durante o crescimento dendrítico e aumento de convergência quando a condutância glutamatérgica é aumentada em dez vezes (para 0,015 S/cm²). Neste caso, R_{in} é estabilizada e torna-se independente do comprimento dos dendritos primários.

A dependência de R_{in} em relação à densidade de corrente glutamatérgica está também exemplificada nas barras hachuradas da **Figura 20**, que representam a evolução de R_{in} quando a densidade da condutância sináptica é aumentada em dez vezes em relação à densidade utilizada neste estudo. Neste caso, aumentos de dez vezes no grau de convergência neuronal modificam R_{in} substancialmente, estabilizando-a em cerca de

1 G Ω para $n_{\text{rod}} = 24$ e 100 M Ω para $n_{\text{rod}} = 240$ e tornando-a completamente independente do comprimento dendrítico para os dois graus de convergência testados. Entretanto, como este valor de R_{in} está muito abaixo do relatado para BCs ligadas a bastonetes (Oltedal et al., 2009; Tessier-Lavigne et al., 1988; Mennerick et al., 1997), é provável que em células reais R_{in} seja realmente influenciada pela área de membrana da árvore dendrítica primária.

7.3. *Convergência e crescimento modificam o ganho da sinapse*

Para investigar em maior profundidade as mudanças de ganho impingidas pelo crescimento neuronal, estudamos a seguir a relação entre polarização dos bastonetes e a amplitude de resposta da BC para dois casos: (i) estimulação de apenas um bastonete, o que equivaleria a níveis escotópicos de estimulação luminosa (**Figura 21**); e (ii) polarização de todos os bastonetes, equivalente a níveis mesópicos de estimulação luminosa (**Figura 22**).

As **Figuras 21A** e **21B** relacionam a amplitude de resposta da BC com a polarização do bastonete mais distante do soma para diferentes valores de L_{dend} , sendo n_{rod} fixo em 24 e 240 bastonetes, respectivamente. Tais relações são denominadas *relações de transferência sináptica*. Para $n_{\text{rod}} = 24$ (**Figura 21A**), as amplitudes de resposta *diminuem* com o aumento de L_{dend} , pois o crescimento dendrítico causa queda significativa de R_{in} (**Figura 20, barras sólidas**). Em outras palavras, de acordo com a Lei de Correntes de Kirchhoff, essa diminuição de R_{in} leva a uma diminuição da influência de um único bastonete sobre o potencial de membrana da célula, por diminuir a corrente unitária por canal. Neste caso, portanto, a hiperpolarização de 10,9 mV em V_{rest} causada pelo crescimento dendrítico (**Figura 18A**) não aumenta suficientemente a força eletromotriz e o resultado líquido é uma queda nas amplitudes de resposta com o crescimento dendrítico. Note-se que as amplitudes de resposta aqui são inferiores a 3 mV; tal fato ocorre em função de apenas um bastonete estar sendo polarizado nesta simulação, enquanto os demais permanecem em repouso.

Para $n_{\text{rod}} = 240$ (**Figura 21B**), as amplitudes de resposta *aumentam* com o crescimento dendrítico, porque, neste caso, a mudança em R_{in} é negligível (**Figura 20, barras azuis sólidas**) e, assim, a hiperpolarização V_{rest} decorrente do aumento da corrente passiva predomina sobre o potencial de membrana. Aqui, as amplitudes de resposta são inferiores a 1 mV, porque o aumento da convergência em relação à **Figura 21A** causa

decréscimo da influência de único bastonete sobre o potencial de membrana da célula, também por diminuir R_{in} (comparar valores da **Figura 20**).

Figura 21. Relação de transferência sináptica entre bastonete e BC para polarização de apenas um bastonete (simulações escotópicas). (A) Respostas de BCs com diferentes valores de L_{dend} (2,5; 5; 10; 15 e 25 μm) em função da polarização do bastonete mais distal, $n_{rod} = 24$. Amplitudes de resposta diminuem com o alongamento dos dendritos primários. (B) Respostas de BCs com diferentes valores de L_{dend} (2,5; 5; 10; 15 e 25 μm) em função da polarização do bastonete mais distal, $n_{rod} = 240$. Amplitudes de resposta aumentam com o alongamento dos dendritos primários (C) Respostas normalizadas para os casos simulados em (A) e (B), com maior e menor valor de L_{dend} . Todas as quatro curvas estão sobrepostas. (D) Amplitudes de resposta para a máxima polarização do bastonete em função de L_{dend} , para $n_{rod} = 24, 48, 96, 144, 192$ e 240 bastonetes.

Os resultados das **Figuras 21A** e **21B** sugerem, portanto, que convergência neuronal e crescimento dendrítico antagonizam-se mutuamente. Quando a convergência

é baixa, as amplitudes de resposta da BC são maiores, porque R_{in} é maior, mas o crescimento dendrítico leva à diminuição de R_{in} e consequentemente, das amplitudes de resposta. Quando a convergência é alta, as amplitudes de resposta da BC são menores do que quando a convergência é baixa, em função de R_{in} ser comparativamente menor; neste caso, entretanto, o crescimento dendrítico leva ao aumento das amplitudes de resposta, porque não altera significativamente R_{in} , alterando apenas V_{rest} (**Figura 18A**) e a força eletromotriz pra condutância sináptica.

Embora as amplitudes de resposta da BC sejam alteradas em cada simulação nas **Figuras 21A e 21B**, seus valores normalizados se sobrepõem, como mostra a **Figura 21C**, ou seja, convergência de bastonetes e o crescimento dendrítico alteram o ganho da sinapse entre bastonetes e BC linearmente. A **Figura 21D** mostra o V_{max} da BC para a polarização máxima do bastonete em função de L_{dend} , para todos os valores de n_{rod} testados. Para baixos graus de convergência, V_{max} tende a diminuir conforme L_{dend} aumenta, ao passo que, para altas convergências, V_{max} aumenta ligeiramente com o aumento de L_{dend} . Isso se deve, novamente, às alterações em V_{rest} e R_{in} apresentadas nas **Figuras 18 e 20**, respectivamente. Para convergências próximas a 240 bastonetes, R_{in} não é alterada com o aumento de L_{dend} e o V_{rest} da BC é muito próximo do potencial de reversão da corrente sináptica ($E_{rod} = 0$ mV). Desse modo, a hiperpolarização advinda do aumento de L_{dend} contribui para distanciar o V_{rest} da BC de E_{rod} , gerando um aumento da amplitude das respostas da BC apenas para altas convergências sinápticas.

Este tipo de mudança linear de ganho corresponde a alterações na faixa dinâmica, como ilustrado pelo aumento em V_{max} na **Figura 12B**, e é esperado neste caso, uma vez que não há processos não lineares incorporados a este modelo. De fato, os parâmetros k e n obtidos com ajustes de *Hill* (**Equação 8**) para as curvas mostradas nas **Figuras 21A e 21B** são similares para $n_{rod} = 24$ e 240, conforme mostram as **Tabelas 3 e 4**, muito embora o parâmetro V_{max} varie, sendo maior para menores convergências. Além disso, independente do comprimento dendrítico ou convergência, k e n praticamente não mudam nestas simulações (valores sombreados em azul nas **Tabelas 3 e 4**), confirmando que o crescimento dendrítico muda apenas V_{max} .

A **Figura 22** apresenta as relações de transferência sináptica de simulações nas quais todos os bastonetes são estimulados concomitantemente (como em níveis mesópicos de luminosidade). As **Figuras 22A e 22B** relacionam a amplitude de resposta de BCs possuindo diferentes valores de L_{dend} com a polarização dos bastonetes, sendo n_{rod} fixo em 24 e 240 bastonetes, respectivamente. Nestes casos, as amplitudes de

resposta são maiores do que na **Figura 21**, uma vez que todos os bastonetes estão sendo polarizados simultaneamente. Aqui, entretanto, as amplitudes de resposta *aumentam* concomitantemente a L_{dend} , em função da hiperpolarização de membrana decorrente do aumento da corrente passiva, independente do número de bastonetes projetando para a BC. Isso ocorre porque, diferentemente das simulações da **Figura 21**, os bastonetes na **Figura 22** estão sendo todos estimulados ao mesmo tempo. Como mostrado na **Figura 20**, a hiperpolarização concomitante de todos os bastonetes e consequente abertura de canais sinápticos na membrana da BC diminui R_{in} para uma faixa na qual o crescimento dendrítico deixa de ter tanta influência. No caso da **Figura 22A** especificamente, R_{in} cai de 2,2 G Ω pra 1,8 G Ω quando o dendrito cresce. É uma queda muito menor do que na **Figura 21A**, na qual R_{in} cai de 5,6 pra 3,7 G Ω (**Figura 20**).

Tabela 3. Parâmetros dos ajustes de Hill para $n_{rod} = 24$ bastonetes e valores crescentes de L_{dend} quando há estimulação de um único bastonete (Figura 21A).

	2,5 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	25 μm
V_{max}	3,14	3,10	3,01	2,91	2,8	2,69
k	13,38	13,39	13,43	13,46	13,48	13,51
n	1,91	1,91	1,91	1,91	1,91	1,91
χ^2	$2,9 \cdot 10^{-3}$	$2,83 \cdot 10^{-3}$	$2,68 \cdot 10^{-3}$	$2,5 \cdot 10^{-3}$	$2,32 \cdot 10^{-3}$	$2,15 \cdot 10^{-3}$
R^2	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99

Tabela 4. Parâmetros dos ajustes de Hill para $n_{rod} = 240$ e valores crescentes de L_{dend} quando há estimulação de um único bastonete (Figura 21B).

	2,5 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	25 μm
V_{max}	0,17	0,18	0,19	0,21	0,22	0,23
k	13,71	13,72	13,72	13,72	13,73	13,73
n	1,92	1,92	1,92	1,93	1,93	1,93
χ^2	$9,15 \cdot 10^{-6}$	$9,99 \cdot 10^{-6}$	$1,17 \cdot 10^{-5}$	$1,35 \cdot 10^{-5}$	$1,5 \cdot 10^{-5}$	$1,64 \cdot 10^{-5}$
R^2	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99

Como na **Figura 21**, embora as amplitudes de resposta da BC sejam alteradas, seus valores normalizados se sobrepõem quase completamente (**Figura 22C**). Contudo, diferente da **Figura 21C**, a comparação das amplitudes normalizadas apresentadas na **Figura 22C** mostra que a BC com maior convergência (240 bastonetes) possui um ganho maior para polarizações intermediárias dos bastonetes, atingindo a amplitude

máxima de resposta antes e, portanto, saturando mais precocemente que a BC com menor convergência. Ainda, como mostra a **Figura 22D**, para a estimulação concomitante de todos os bastonetes, $V_{\max}$ aumenta com o crescimento de L_{dend} , muito embora tal aumento seja mais perceptível para convergências maiores. Nesse sentido, para $n_{\text{rod}} = 24$, $V_{\max}$ é relativamente estável ao longo de todos os valores de L_{dend} testados, quando comparamos com os valores de $V_{\max}$ encontrados para $n_{\text{rod}} = 240$.

Figura 22. Relação de transferência sináptica entre todos os bastonetes e BC (simulações mesópicas). (A) Resposta da BC em função da polarização dos bastonetes, para n_{rod} fixo em 24 e diferentes valores de L_{dend} (2,5;5;10;15 e 25 μm). Amplitudes de resposta aumentam com o alongamento dos dendritos primários. (B) Resposta da BC em função da polarização dos bastonetes, para n_{rod} fixo em 240 e diferentes valores de L_{dend} (2,5;5;10;15 e 25 μm). Amplitudes de resposta aumentam com o alongamento dos dendritos primários. (C) Respostas normalizadas da BC para o caso simulado em (A) e (B), para $L_{\text{dend}} = 2,5$ e 25 μm . (D) Respostas da BC para a máxima polarização dos bastonetes em função de L_{dend} , para todas as convergências testadas: 24, 48, 96, 144, 192 e 240 bastonetes.

Nestas simulações, o parâmetro n obtido com ajustes de *Hill* (Equação 8) é similar para n_{rod} fixo em 24 ou 240 bastonetes (Tabelas 5 e 6, respectivamente). Todavia, os valores de n para $n_{\text{rod}} = 240$ deveriam ser ligeiramente maiores do que para $n_{\text{rod}} = 24$, ao contrário do que apresentam os fits, como é possível observar na Figura 22C. Essa subestimação dos parâmetros n para $n_{\text{rod}} = 240$ decorre da falta de polarizações dos bastonetes testadas antes do valor de k (devido aos passos de voltagem de 5 mV), prejudicando o ajuste da função de *Hill*. Apesar disso, para um mesmo valor de n_{rod} , independente do comprimento dendrítico, k e n praticamente não mudam (valores sombreados em azul nas Tabelas 5 e 6 e Figura 22C), confirmando que o crescimento dendrítico altera apenas V_{max} .

Tabela 5. Parâmetros dos ajustes de *Hill* para $n_{\text{rod}} = 24$ bastonetes e valores crescentes de L_{dend} quando há estimulação concomitante de todos os bastonetes (Figura 22A).

	2,5 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	25 μm
V_{max}	29,92	30,46	31,17	31,55	31,69	31,63
k	8,08	8,23	8,52	8,78	9,01	9,23
n	1,67	1,68	1,7	1,7	1,71	1,72
χ^2	$1,4 \cdot 10^{-1}$	$1,4 \cdot 10^{-1}$	$1,7 \cdot 10^{-1}$	$1,7 \cdot 10^{-1}$	$3,10 \cdot 10^{-2}$	$1,9 \cdot 10^{-1}$
R^2	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99

Tabela 6. Parâmetros dos ajustes de *Hill* para $n_{\text{rod}} = 240$ bastonetes e valores crescentes de L_{dend} quando há estimulação concomitante de todos os bastonetes (Figura 22B).

	2,5 μm	5 μm	10 μm	15 μm	20 μm	25 μm
V_{max}	9,65	10,18	11,2	12,17	13,1	13,96
k	5,97	6,0	6,06	6,12	6,18	6,24
n	1,61	1,61	1,61	1,61	1,62	1,62
χ^2	$8,23 \cdot 10^{-3}$	$9,26 \cdot 10^{-3}$	$1,14 \cdot 10^{-2}$	$1,37 \cdot 10^{-2}$	$1,62 \cdot 10^{-2}$	$1,88 \cdot 10^{-2}$
R^2	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99

Note-se, ainda, que há uma mudança considerável na inclinação das funções de transferência sináptica para simulações escotópicas e mesópicas. Esta mudança está ilustrada na Figura 23, que sobrepõe os dados das Figuras 21 e 22, e ocorre devido ao grau de ativação das condutâncias sinápticas nas pontas dendríticas. Para a BC do modelo, este grau de ativação traduz-se na quantidade de canais abertos e na corrente que passa por cada um deles. Ainda, pelo fato de as BCs em simulações escotópicas

atingirem 50% de sua resposta máxima em polarizações mais elevadas dos bastonetes, o parâmetro k é maior (**Figura 23C**).

Figura 23. A inclinação da relação de transferência sináptica muda com o número de bastonetes estimulados. (A) Resposta normalizada da BC em função da polarização do(s) bastonete(s), para n_{rod} fixo em 24 e dois valores de L_{dend} (2,5 e 25 μm). Em verde, com símbolos sólidos, o conjunto das simulações escotópicas, nas quais apenas um bastonete é polarizado (**Figura 21C, verde**); em verde, com símbolos não preenchidos, o conjunto das simulações mesópicas, nas quais todos os bastonetes são polarizados concomitantemente (**Figura 22C, verde**). (B) Resposta normalizada da BC em função da polarização do(s) bastonete(s), para n_{rod} fixo em 240 e diferentes valores de L_{dend} (2,5; 5; 10; 15 e 25 μm). Em azul, com símbolos sólidos, o conjunto das simulações escotópicas, nas quais apenas um bastonete é polarizado (**Figura 21C, azul**); em azul, com símbolos não preenchidos, o conjunto das simulações mesópicas, nas quais todos os bastonetes são polarizados concomitantemente (**Figura 22C, azul**). (C) Valores do parâmetro k para as respostas apresentadas em (A) e (B) em função de L_{dend} .

Nas simulações que mimetizavam ambientes escotópicos (**Figura 21**), apenas um bastonete é estimulado, aumentando a condutância sináptica para apenas uma ponta dendrítica da BC, e deixando a condutância de todas as outras pontas dendríticas em seus níveis estacionários para V_{rest} , isto é, com 20% dos canais glutamatérgicos abertos (**Figura 16B**). Nestas circunstâncias, R_{in} é mais alta do que quando todos os canais são abertos concomitantemente (**Figura 20**) e, por conseguinte, a corrente modulada por um único bastonete será maior. Pelo fato de o sinal transmitido ser de pequena amplitude e alterar a condutância sináptica de apenas uma ponta dendrítica, a relação de transferência sináptica para as simulações escotópicas satura em polarizações maiores dos bastonetes (**Figura 23A e 23B**), aumentando o parâmetro k dos ajustes de *Hill* e a inclinação da curva (**Figura 23C e 23D**).

Por outro lado, quando todos os bastonetes são estimulados concomitantemente, mimetizando ambientes mesópicos (**Figura 22**), R_{in} cai (**Figura 20**), fazendo com que a influencia de cada bastonete seja progressivamente menor - quanto maior for a polarização dos fotorreceptores, menor sua influência sobre o potencial de membrana da BC, levando as respostas da BC a saturar em menores polarizações dos bastonetes. Assim, a soma das entradas sinápticas não é linear, mesmo sem termos condutâncias dependentes de voltagem nesta implementação do modelo. Isto ocorre porque, como previsto pela Primeira Lei de Kirchhoff, a abertura de mais canais de membrana aumenta a condutância total de membrana, mas ocasiona a diminuição da corrente fluindo por cada canal, conforme argumentado por Falk (1988).

As mudanças na resposta da BC aqui apresentadas são influenciadas por alterações em sua morfologia: para altas convergências sinápticas, o crescimento da sua árvore dendrítica primária ocasiona uma hiperpolarização de seu potencial de membrana (**Figura 18**), aumentando sua amplitude de resposta, tanto no caso escotópico (**Figura 21**) quanto no caso mesópico (**Figura 22**). Por sua vez, quando a BC possui uma baixa convergência sináptica, o crescimento de sua árvore dendrítica ocasiona uma forte diminuição de sua resistência de entrada (**Figura 20**), diminuindo o efeito da corrente gerada pela ativação de um bastonete sobre o potencial de membrana da BC. Ainda, mesmo que todos os bastonetes sejam ativados, as variações na amplitude de resposta de BCs com a menor convergência testada aqui se mantém relativamente estáveis (**Figura 22D**) com o crescimento da BC, e isso se deve a efeitos antagônicos ocorridos durante esse crescimento: o aumento da força eletromotriz da corrente sináptica ocasionado pela hiperpolarização de V_{rest} (**Figura 18**) é contrabalanceado pela

diminuição de R_{in} ocasionada pelo aumento de área de membrana dendrítica (**Figura 20**). Para todos os casos testados, as alterações na amplitude de resposta da BC não ocorrem de maneira homogênea ao longo dos compartimentos celulares, posto que a BC não é isopotencial (**Figura 19**), de modo que os terminais dendríticos, nos quais ocorrem as sinapses com bastonetes, encontram-se mais despolarizados devido a uma corrente sináptica com potencial de reversão em 0 mV. Como os efeitos do crescimento dendrítico e aumento de convergência sináptica da BC podem também se estender para o domínio temporal, uma vez que a membrana celular atua como um capacitor, investigamos a seguir a cinética de resposta do modelo.

7.4. O crescimento da árvore dendrítica modifica a cinética de resposta

Para que os efeitos observados nas sessões anteriores, referentes à amplitude de resposta da BC, tenham consequências reais no processamento do estímulo luminoso, é preciso também analisar como o crescimento da árvore dendrítica afeta a cinética de resposta da BC. Estímulos visuais precisam ser processados rapidamente pela retina e pelo cérebro, para possibilitar ao organismo reagir ao mundo físico em tempo real. Como ao crescer a BC produz mais membrana celular, e membranas biológicas agem como capacitores (Hodgkin & Huxley, 1952b; Hodgkin & Huxley, 1952a; Scott, 1975), há a possibilidade deste crescimento *diminuir* a velocidade de resposta da BC, por retardar o carregamento da membrana celular⁷.

Uma maneira de se analisar a cinética e confiabilidade do sinal processado pela BC é a latência de resposta, ou seja, o tempo necessário para que sua resposta à estimulação dos neurônios pré-sinápticos atinja o seu valor máximo. A **Figura 24** apresenta a cinética de polarização da BC para estimulação máxima e concomitante de todos os bastonetes ($n_{rod} = 24$ e 240), em função do crescimento dendrítico.

A **Figura 24A** mostra um conjunto de resposta da BC, subtraídas de V_{rest} , em função da hiperpolarização máxima de 24 bastonetes, com cada linha referindo-se a uma BC com L_{dend} distinto. Conforme o tamanho de L_{dend} aumenta, a despolarização da BC em resposta à hiperpolarização dos bastonetes aumenta, como mostrado na **Figura**

⁷ A membrana celular pode ser representada por um resistor e um capacitor em paralelo. O resistor representa os canais iônicos inseridos na membrana; o capacitor, a bicamada lipídica da membrana. Assim, a constante de tempo da membrana (τ_m) segue as propriedades de um circuito RC, de modo que $\tau_m = R_m * C_m$. Assim, o decaimento da voltagem, em função do tempo, para um determinado local da membrana, segue um curso exponencial dado por: $V(t) = V0 * (e^{-t/\tau_m})$. Do mesmo modo, a polarização da membrana decorrente de estimulação é dada por: $V(t) = V0 * (1 - e^{-t/\tau_m})$.

22A (muito embora o aumento de resposta da BC seja ínfimo para $n_{\text{rod}} = 24$). O quadrado negro indica a região de início de estabilização da resposta.

Figura 24. Mudança na cinética de resposta da BC com o crescimento dendrítico e aumento de convergência. (A) Evolução temporal do potencial de membrana de BCs (subtraídos de V_{rest}) com valores de L_{dend} de 2,5 a 25 μm , para hiperpolarização máxima de todos os bastonetes. Em todos os casos, $n_{\text{rod}} = 24$. Barra cinza indica a duração do estímulo; o quadrado negro indica a região de estabilização do potencial de membrana da BC. **(B)** Ampliação da região de estabilização do potencial de membrana da BC demarcada em **(A)**. Respostas foram normalizadas para facilitar comparação. À medida que o dendrito primário cresce, o potencial de membrana demora mais tempo para estabilizar. **(C)** Evolução temporal do potencial de membrana de BCs (subtraídos de V_{rest}) com n_{rod} fixo em 240 bastonetes e valores de L_{dend} variando de 2,5 a 25 μm , para hiperpolarização máxima de todos os bastonetes. Barra cinza indica a duração do estímulo; o quadrado negro indica a região de estabilização do potencial de membrana da BC. **(D)** Ampliação da região de estabilização do potencial de membrana da BC demarcada em **(C)**. Respostas foram normalizadas para facilitar comparação. O potencial de membrana demora mais tempo para estabilizar à medida em que o dendrito primário cresce.

A **Figura 24B** mostra a região delimitada pelo quadrado negro da **Figura 24A** ampliada e com os traços normalizados. Os dados mostram que, quanto maior o comprimento de L_{dend} , mais tempo a BC demora para atingir o seu pico de resposta. Isso é consequência do aumento da sua área de membrana, resultando em uma maior capacitância e mais tempo necessário para estabilizar o potencial de membrana para uma mesma estimulação. A **Figura 24C** apresenta os resultados para simulações semelhantes às da **Figura 24A**, desta vez para uma convergência de 240 bastonetes. O quadrado negro indica a região de início da estabilização de resposta da BC. A **Figura 24D** contém as curvas da região delimitada pelo quadrado negro da **Figura 24C**. Novamente, BCs com maior L_{dend} possuem maior amplitude de resposta e maior latência.

As simulações da **Figura 24** indicam que a BC aumenta sua latência de resposta conforme sua árvore dendrítica cresce. A **Figura 25** apresenta esses resultados para todos os valores de L_{dend} testados (de 2,5 a 25 μm), mostrando que, de maneira geral, há realmente um aumento da latência de resposta para BCs com maior valor de L_{dend} , tanto para as simulações nas quais um único bastonete é estimulado (**Figura 25A**) quanto para as simulações nas quais todos os bastonetes são estimulados concomitantemente (**Figura 25B**).

Na **Figura 25C**, as latências de resposta nas simulações apresentadas na **Figura 25A** e **B** estão normalizadas para comparação. Deve-se, nesse caso, considerar que a relação entre crescimento dendrítico e latência é dependente da intensidade de estimulação que recai sobre a BC, pois tanto o intercepto (β_0) da latência de resposta quanto o coeficiente angular (β_1) das regressões lineares (**Equação 9**) são diferentes para as latências escotópicas (**Figura 25A**; Para a BC com $n_{rod} = 24$: $\beta_0 = 414,2 \pm 24,6$ e $\beta_1 = 1,7 \pm 1,6$; $R^2 = 0,02$; para a BC com $n_{rod} = 240$: $\beta_0 = 67,9 \pm 2,5$ e $\beta_1 = 2,4 \pm 0,16$; $R^2 = 0,98$) e mesópicas (**Figura 25B**; para a BC com $n_{rod} = 24$: $\beta_0 = 206,4 \pm se$ $\beta_1 = 3,1 \pm 0,9$, $R^2 = 0,67$; para a BC com $n_{rod} = 240$: $\beta_0 = 33,2 \pm 2,7$ e $\beta_1 = 0,9 \pm 0,2$, $R^2 = 0,86$). Os ajustes de regressão para a BC com $n_{rod} = 24$ em situações escotópicas são pobres ($R^2 = 0,02$), mas serão mantidos para comparação com as outras regressões. Ainda, todos os valores de β_0 indicam que um modelo contendo apenas condutâncias passivas e sinápticas nos dendritos da BC não são bons descritores da latência de reposta da BC, posto que, como argumentado na introdução, o processamento visual do sistema visual

permite a um sujeito reportar o aparecimento de um estímulo com um atraso de apenas 250 milissegundos (Nijhawan, 2008).

Figura 25. Latência de resposta da BC para hiperpolarização máxima dos fotorreceptores em função do crescimento celular. (A) Latência para o pico de resposta em função do crescimento dendrítico para estimulação de um bastonete distal, equivalente a níveis escotópicos de luminosidade. Símbolos sólidos: $n_{\text{rod}} = 24$ bastonetes; símbolos vazados: $n_{\text{rod}} = 240$ bastonetes. Linhas sólidas são regressões lineares (Equação 9, parâmetros no texto). (B) Latência para o pico de resposta em função do crescimento dendrítico para estimulação concomitante de todos os bastonetes, equivalente a níveis mesópicos de luminosidade. Símbolos sólidos: $n_{\text{rod}} = 24$ bastonetes. Símbolos vazados: $n_{\text{rod}} = 240$ bastonetes. Linhas sólidas são regressões lineares (Equação 9, parâmetros no texto). (C) Comparação normalizada de (A) e (B). Linhas sólidas são regressões lineares (Equação 9, parâmetros no texto). Em todos os casos, o aumento de L_{dend} leva a um aumento da latência de resposta da BC.

Estes dados sugerem que, embora o crescimento dendrítico afete o processamento da informação visual em ambientes escotópicos e mesópicos, o fator crucial é o grau de convergência da BC. De fato, tanto em simulações escotópicas

quanto mesópicas, as maiores variações de latência ocorrem entre as diferentes convergências, e não entre os diferentes valores de L_{dend} . Isto ocorre porque, como mostrado na **Figura 20**, o grau de convergência diminui mais significativamente R_{in} do que o crescimento dendrítico e, portanto, diminui o tempo de carregamento da membrana mais eficientemente.

Tomados em conjunto, os resultados mostrados até aqui sugerem que, conforme a árvore dendrítica da BC se expande, as respostas à luz deste neurônio ficam mais lentas, tanto em situações escotópicas quanto mesópicas, para qualquer convergência. Em adição às mudanças na cinética de resposta, as amplitudes de resposta também se alteram com o crescimento dendrítico e com mudanças no grau de convergência, tornando o sinal enviado por estas BCs para regiões mais internas da retina altamente variáveis.

Na ausência de mecanismos fisiológicos não lineares que alterem as consequências das mudanças morfológicas causadas pelo crescimento, BCs enviariam para regiões mais centrais do sistema nervoso um sinal inconsistente e cada vez mais lento ao longo da vida. Esta não é uma propriedade ideal para um neurônio do sistema visual, que precisa processar informação de maneira rápida e consistente. Nas próximas sessões, apresentaremos um mecanismo fisiológico que contrabalança, em certa medida, os efeitos das alterações morfológicas e sinápticas da BC ao longo do crescimento.

7.5. A condutância ativa estabiliza o potencial de repouso

Todas as simulações apresentadas até aqui foram geradas em um modelo puramente passivo, ou seja, sem condutâncias dependentes de voltagem, que podem alterar o comportamento da célula. Buscando estudar a relação de mecanismos de controle de ganho e crescimento dendrítico na integração do sinal luminoso, nós incorporamos uma condutância de K^+ dependente de voltagem (I_{KV}) nos botões dendríticos da BC modelada, como descrito em **6. Métodos**.

A **Figura 26** mostra as principais diferenças referentes à polarização e ao V_{rest} da BC com a inserção de I_{kv} . A **Figura 26A** apresenta duas famílias de respostas de BCs para passos de voltagem com duração de 300 ms nos bastonetes (de -40 a -90 mV a partir de -40 mV): um para o modelo passivo (sem I_{KV}) e outro para a mesma BC com 25 pS/ μm^2 de I_{KV} adicionada aos botões dendríticos (em ambos os casos, $L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$ e $n_{\text{rod}} = 240$ bastonetes). Notam-se três coisas nesta comparação: (i) a adição de I_{KV} hiperpolariza V_{rest} , uma vez que o potencial de reversão desta condutância é negativo

($E_K = -95$ mV); (ii) a hiperpolarização de V_{rest} , por sua vez, aumenta o ganho da sinapse entre bastonetes e BC, por aumentar a força eletromotriz para a condutância sináptica, tornando as amplitudes de resposta maiores; e (iii) as respostas da BC tornam-se transientes com a adição de I_{KV} , como em uma célula real (comparar com **Figura 11A**) Estes efeitos serão quantificados a seguir.

A **Figura 26B** apresenta os valores de V_{rest} para o menor e maior valores de L_{dend} testados em função da densidade de I_{KV} . Neste caso, $n_{rod} = 24$ bastonetes. Conforme a densidade de I_{KV} aumenta, V_{rest} hiperpolariza, pois a contribuição de I_{KV} para o potencial de membrana é maior, e seu potencial de reversão (E_K) é -95 mV. Concomitante a essa hiperpolarização, observa-se uma ligeira aproximação dos valores de V_{rest} para células com o maior e menor valores de L_{dend} . Na BC sem I_{KV} (0 pS/ μm^2), a diferença em V_{rest} da maior para a menor BC é de 11 mV. Já para a menor densidade de I_{KV} utilizada em nossas simulações (25 pS/ μm^2), a diferença em V_{rest} para a maior e menor BC diminui para 9,5 mV. Ainda, para a maior densidade de I_{KV} testada (1600 pS/ μm^2), os valores diferem por 3,4 mV.

Na **Figura 26C**, observam-se os valores de V_{rest} da BC para o menor e maior comprimento dendrítico testados, em função da densidade de I_{KV} quando $n_{rod} = 240$ bastonetes. Diferentemente da **Figura 26B**, os valores de V_{rest} da BC estão muito próximos, pois, nestas condições, o potencial de membrana da BC é dominado pelas entradas sinápticas (comparar com **Figura 18A**).

A **Figura 26D** compara dados mostrados nas **Figuras 26B** e **26C**, dispondo os valores de V_{rest} da BC com menor convergência e menor árvore dendrítica ($n_{rod} = 24$; $L_{dend} = 2,5$ μm) e o V_{rest} da BC com maior convergência e maior árvore dendrítica ($n_{rod} = 240$; $L_{dend} = 25$ μm), para observação do que aconteceria com V_{rest} em uma BC que cresce e aumenta sua convergência. Nesta situação, para $I_{KV} = 0$ pS/ μm^2 , a diferença em V_{rest} para a maior e menor BC é de 28 mV. Já para densidade de I_{KV} de 25 pS/ μm^2 , a diferença em V_{rest} para a maior e menor BC diminui para 10 mV. Para a maior densidade de I_{KV} testada (1600 pS/ μm^2), os valores diferem em 2 mV. Neste caso, a possível contribuição de I_{KV} para a estabilização de V_{rest} ao longo do crescimento celular da BC fica evidente.

Figura 26. Efeitos de I_{kv} no potencial de membrana da BC. (A) Respostas para polarização concomitante de todos os bastonetes de -40 a -90 mV em uma BC contendo apenas as condutâncias glutamatérgica e passiva (traços negros) e em uma BC contendo adicionalmente 25 pS/ μm^2 de I_{kv} nos botões sinápticos (traços cinza). Para esse caso, a resposta da BC é assumida como o ponto de máxima polarização, e o platô de resposta corresponde à estabilização do potencial da BC ao final da estimulação do bastonete. A barra amarela indica a duração de estimulação. Em ambos os casos, $L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$ e $n_{\text{rod}} = 240$ bastonetes. I_{KV} hiperpolariza V_{rest} , aumenta as amplitudes de resposta e as torna transientes. (B) V_{rest} em função da densidade de I_{kv} para $L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$ (verde escuro) e $L_{\text{dend}} = 25 \mu\text{m}$ (verde claro), $n_{\text{rod}} = 24$. Os pontos correspondentes a 0 pS/ μm^2 foram apresentados na **Figura 18**. I_{KV} hiperpolariza V_{rest} e diminui a diferença entre o V_{rest} de células pequenas ($L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$) e grandes ($L_{\text{dend}} = 25 \mu\text{m}$). (C) V_{rest} em função da densidade de I_{kv} para $L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$ (azul escuro) e $L_{\text{dend}} = 25 \mu\text{m}$ (azul claro), $n_{\text{rod}} = 240$. Os pontos correspondentes a 0 pS/ μm^2 foram apresentados na **Figura 18**. I_{KV} hiperpolariza V_{rest} e diminui a diferença entre o V_{rest} de células pequenas ($L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$) e grandes ($L_{\text{dend}} = 25 \mu\text{m}$). (D) V_{rest} em função da densidade de I_{kv} para $L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$ e $n_{\text{rod}} = 24$ (verde) e $L_{\text{dend}} = 25 \mu\text{m}$ e $n_{\text{rod}} = 240$ (azul). Os pontos correspondentes a 0 pS/ μm^2 foram apresentados na **Figura 18**. I_{KV} hiperpolariza V_{rest} e diminui a diferença entre o V_{rest} de células pequenas e com baixa convergência ($L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$ e $n_{\text{rod}} = 24$) e grandes e com alta convergência ($L_{\text{dend}} = 25 \mu\text{m}$ e $n_{\text{rod}} = 240$).

Nas simulações do modelo contendo apenas as condutâncias passiva e sináptica, as diferenças em V_{rest} para diferentes valores de L_{dend} vieram acompanhadas de mudanças nas amplitudes de resposta da BC para polarização dos bastonetes (**Figuras 21 e 22**). Como a inserção de I_{KV} aproximou os valores de V_{rest} para os diversos tamanhos de árvore dendrítica e para o maior e menor grau de convergência testados, I_{KV} poderia potencialmente levar a uma estabilização das amplitudes de resposta da BC ao longo do crescimento, ou, ainda, trazer novas consequências para a sua integração de sinais, por diminuir R_{in} . A próxima sessão analisa os efeitos de I_{KV} nas amplitudes de resposta da BC para as diversas configurações de estímulo e ao longo do crescimento.

7.6. A condutância ativa aumenta o ganho da sinapse

No modelo contendo apenas condutâncias passivas, o crescimento dendrítico ocasionava mudança significativa em V_{rest} (**Figura 18**). Com a inserção de I_{KV} , há relativa estabilização de V_{rest} ao longo do crescimento (**Figura 26**) e, por conseguinte, a força eletromotriz para a condutâncias sináptica passa a depender menos de L_{dend} . No entanto, ao mesmo tempo em que aumenta a força eletromotriz para a condutância sináptica por hiperpolarizar a BC (**Figura 26A**), I_{KV} diminui a influência de cada bastonete sobre a célula, pois a adição de canais na membrana celular (neste caso, dependentes de voltagem) leva a queda de R_{in} (situação análoga à mostrada na **Figura 20**). Assim, o efeito da condutância ativa na integração de sinais de bastonetes por parte da BC vai depender (i) da densidade de I_{KV} , (ii) de L_{dend} , (iii) de n_{rod} e, por fim, (iv) de *quando* a resposta da BC é medida no tempo, porque I_{KV} é um *retificador atrasado*, ou seja, I_{KV} é uma corrente de ativação lenta (ver **Figura 17A e C**). Estes efeitos são demonstrados na **Figura 27**.

A **Figura 27A** apresenta o pico de resposta na ponta dendrítica da BC para polarização do bastonete mais distal, quando diferentes valores de I_{KV} são inseridos (0 pS/ μm^2 , 25 pS/ μm^2 e 1600 pS/ μm^2), para 4 configurações de convergência e comprimento dendrítico da BC: (1) $L_{dend} = 2,5 / n_{rod} = 24$; (2) $L_{dend} = 25 / n_{rod} = 24$; (3) $L_{dend} = 2,5 / n_{rod} = 240$ e (4) $L_{dend} = 25 / n_{rod} = 240$. Tal como ocorrido com o aumento de L_{dend} (e consequentemente g_{pas} , **Figura 19A**), a inserção de I_{KV} para $n_{rod} = 24$ provoca uma diminuição das amplitudes de resposta, por diminuir R_{in} . Para $n_{rod} = 240$, há um aumento da amplitude de resposta com a inserção de I_{KV} ; neste caso, como n_{rod} domina R_{in} (**Figura 18**), predomina o aumento da força eletromotriz causada pela hiperpolarização de membrana decorrente do acréscimo de I_{KV} aos terminais

dendríticos. Efeito semelhante pode ser observado na **Figura 19B**: o aumento de $L_{\text{dend}}/g_{\text{pas}}$ promove aumento da amplitude de resposta quando $n_{\text{rod}} = 240$.

Espera-se que a corrente passiva e I_{KV} possuam efeitos semelhantes em V_{rest} , pois ambas as correntes possuem E_{rev} mais hiperpolarizado do que o V_{rest} da BC e do que E_{rod} . Ao contrário de g_{pas} , contudo, a inserção de I_{KV} contribui para a estabilização das amplitudes de resposta ao longo do crescimento: as respostas para um valor fixo de convergência permanecem relativamente semelhantes quando $I_{\text{KV}} \neq 0$ (comparar as barras marrom claro e laranja na **Figura 27A** para os dois valores de L_{dend} e um mesmo n_{rod}). Isso ocorre devido à dependência de voltagem de I_{KV} : o seu grau de ativação e, portanto, sua influência sobre o potencial de membrana, depende não apenas de V_{rest} e R_{in} , mas também da própria amplitude de resposta.

Como durante o pico de resposta I_{KV} está parcialmente ativada (ver **Figura 17A** e **C**), enquanto durante o platô de resposta esta corrente está completamente ativada, estudamos também o decaimento das respostas de cada BC tardiamente (299 ms após o início do estímulo). Na **Figura 27B** são apresentados os platôs para as mesmas simulações da **Figura 27A**. Para $I_{\text{KV}} = 0 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$, o platô e o pico de resposta coincidem, sendo apresentados também na **Figura 27A**. De modo geral, as mesmas propriedades advindas da inserção de I_{KV} encontradas para o pico da resposta se mantêm para o platô. Para $n_{\text{rod}} = 24$ (que possui R_{in} mais alta do que quando $n_{\text{rod}} = 240$, **Figura 20**), a BC com menor densidade de I_{KV} possui maiores platôs de resposta e, para $n_{\text{rod}} = 240$, essa relação se inverte. Diferente do pico de resposta, contudo, a inserção de I_{KV} não estabiliza as respostas para baixas convergências ($n_{\text{rod}} = 24$) com a mesma eficiência. Neste caso, a BC com maior árvore dendrítica possui maiores platôs de resposta. Isso é esperado, pois o aumento de L_{dend} provoca hiperpolarização da BC e diminui a força motriz de I_{KV} . Por sua vez, para altas convergências ($n_{\text{rod}} = 240$), os platôs de resposta estão estabilizados, pois o potencial de membrana da BC está dominado pela corrente sináptica, e variações em I_{KV} e na corrente passiva possuem menores alterações no potencial de membrana da BC.

A **Figura 27C** apresenta o decaimento percentual de voltagem (pico de resposta) da BC da ponta dendrítica ao soma para a BC sem I_{KV} (como apresentado na **Figura 19D**) e para as BCs com o mínimo e máximo valores de I_{kv} testados ($25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ e $1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$, respectivamente), para as quatro configurações de convergência e comprimento dendrítico da BC da **Figura 27A**. Para quase todos os casos simulados, à exceção de

$n_{\text{rod}} = 24 / L_{\text{dend}} = 25$, a inserção de I_{KV} aumenta o decaimento percentual da resposta da BC ao longo de suas estruturas dendríticas. No caso de BCs com baixas convergências sinápticas ($n_{\text{rod}} = 24$), o decaimento da resposta não ultrapassa 20%, mesmo para $I_{\text{KV}} = 1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$, pois o valor total de I_{KV} é baixo devido ao reduzido número de sinapses. O aumento da convergência, por sua vez, eleva o decaimento da resposta, para BCs com ou sem I_{KV} . Mais ainda, a inserção de baixas densidades de I_{KV} ($25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$) já é capaz de elevar o decaimento da resposta para mais de 50%, devido à alta quantidade de sinapses. Desse modo, é notável que o aumento do decaimento é causado principalmente pelo aumento da convergência sináptica, podendo ser agravado com a inserção de I_{KV} . As mudanças no decaimento ocasionadas pelo crescimento dendrítico em cada caso, por sua vez, são bem menores. Como analisado na **Figura 19**, isso se deve ao fato de todas as BCs simuladas possuírem pontas dendríticas e dendritos secundários idênticos e, ainda, pela baixa resistência axial dos dendritos primários. Para o pico de resposta, as constantes de decaimento espacial são todas iguais a $1,54 \mu\text{m}$, mostrando que, de fato, a maior parte do decaimento ocorre nos dendritos secundários.

A **Figura 27D** mostra o decaimento percentual de voltagem da ponta dendrítica ao soma para o platô da resposta da BC com o menor e maior valor de I_{KV} testados ($25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ e $1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$, respectivamente) e para a BC sem I_{KV} . Tal como na **Figura 27C**, a inserção de I_{KV} aumenta o decaimento do platô de resposta. Todavia, os decaimentos são maiores para o platô do que para o pico da resposta. Para baixas convergências, o decaimento da resposta do platô ao longo dos dendritos é maior, mas não ultrapassa 40%. Para altas convergências, contudo, o aumento do valor bruto de I_{KV} leva o decaimento de resposta a mais de 80%, para $I_{\text{KV}} = 1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$. Como previsto, o decaimento é maior para o platô da resposta da BC com I_{KV} pois é nesse momento que a condutância do canal simulado, um retificador atrasado, está mais ativa. Ainda, um maior decaimento do platô indica que a inserção de I_{KV} torna a repolarização da BC mais rápida, deixando-a mais rápida para responder a estímulos com próxima sucessão temporal.

Figura 27. Influência de I_{KV} na resposta e decaimento espacial de voltagem. (A) Amplitude de resposta da BC na ponta dendrítica para hiperpolarização máxima de um bastonete distal. Três densidades de I_{KV} são mostradas (em tons de marrom), para 4 configurações de convergência e comprimento dendrítico da BC: $n_{rod} = 24 / L_{dend} = 2.5$; $n_{rod} = 24 / L_{dend} = 25$; $n_{rod} = 240 / L_{dend} = 2.5$; $n_{rod} = 240 / L_{dend} = 25$. Os valores para $I_{KV} = 0 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ são os mesmos mostrados na **Figura 19A e B**. (B) O mesmo que em (A), para o platô de resposta medido 299 ms após o início do estímulo. Os valores para $I_{KV} = 0 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ são os mesmos mostrados na **Figura 19A e B**. (C) Decaimento percentual do pico de da resposta da BC da ponta dendrítica ao soma. Os valores para $I_{KV} = 0 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ são os mesmos mostrados na **Figura 19D**. (D) O mesmo que em (C), para o platô de resposta medido 299 ms após o início do estímulo. Os valores para $I_{KV} = 0 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ são os mesmos mostrados na **Figura 19D**.

Observa-se, portanto, que I_{KV} interage com as outras correntes presentes na BC de maneira não trivial. Embora I_{KV} contribua para estabilizar as respostas da BC ao longo do crescimento dendrítico, ela agrava o decaimento de resposta ocasionado pelo aumento na convergência sináptica. Mais ainda, como apresentado nos painéis da **Figura 27**, I_{KV} é incapaz de estabilizar as respostas na ponta dendrítica e seu decaimento até o soma em BCs com diferentes convergências. Assim, conforme a BC

aumenta sua convergência, a integração de sinal somática, em simulações escotópicas, varia de forma conspícua. A próxima sessão analisa estas características de forma mais aprofundada. Como para o cérebro os primeiros milissegundos de resposta são os mais importantes, para permitir rápido processamento da informação visual (Barlow, 1981), concentramo-nos nas próximas seções na análise dos transientes (picos) de resposta.

7.7. A condutância ativa estabiliza a integração somática de sinais

Ao estabilizar V_{rest} (**Figura 26B-D**), a inserção de I_{KV} aproxima as condições iniciais de força eletromotriz para BCs de diferentes tamanhos e convergências. Desse modo, espera-se que as amplitudes e latências de resposta da BC também tendam a convergir, tornando sua resposta independente de L_{dend} e, mais ainda, diminuindo a disparidade existente entre BCs com convergência de 24 e 240 bastonetes. A seguir são apresentados os efeitos de I_{KV} nas amplitudes de resposta durante o crescimento celular de BCs com distintos graus de convergência, em condições escotópicas e mesópicas de estimulação.

A **Figura 28** apresenta as funções de transferência sináptica para polarização de um único bastonete distal (simulações escotópicas) e compara os efeitos da inserção de I_{KV} , para valores crescentes de L_{dend} . Na **Figura 28A** encontram-se as relações de transferência sináptica entre bastonetes e BCs com $n_{rod} = 24$, para L_{dend} 2,5 e 25 μm e $I_{KV} = 0$ e 25 $pS/\mu m^2$, respectivamente (relações para $I_{KV} = 0$ $pS/\mu m^2$ apresentadas na **Figura 21A**). A inserção de I_{KV} diminui ligeiramente as amplitudes de resposta, e as torna independentes do crescimento dendrítico. Para $I_{KV} = 25$ $pS/\mu m^2$, as respostas de BCs com diferentes valores de L_{dend} se sobrepõem quase completamente, como já previsto pela aproximação de V_{rest} (**Figura 26B-D**). Já a diminuição da amplitude de resposta pode ser explicada por uma possível queda de R_{in} ; como nesta convergência R_{in} é alta, a adição de poucos canais de K^+ já é o suficiente para mudá-la consideravelmente (**Figura 20**).

Na **Figura 28B** encontram-se as relações de transferência sináptica entre bastonetes e BCs com $n_{rod} = 240$, para L_{dend} 2,5 e 25 μm e $I_{KV} = 0$ e 25 $pS/\mu m^2$, respectivamente (relações para $I_{KV} = 0$ $pS/\mu m^2$ apresentadas na **Figura 21A**). Para este grau de convergência, entretanto, a inserção de I_{KV} aumenta as amplitudes de resposta, ao contrário do que ocorre na **Figura 28A**. Este resultado pode ser explicado pelo fato de R_{in} ser determinada nestas circunstâncias por n_{rod} ; assim, o efeito predominante da adição de I_{KV} é a hiperpolarização de membrana e aumento da força eletromotriz para a

condutância sináptica, efetivamente aumentando a faixa dinâmica do neurônio. Além disso, I_{KV} também contribui para a estabilização das amplitudes de resposta, tornando-as menos variáveis com L_{dend} , embora este efeito não seja tão pronunciado como na **Figura 28A**. Para a relação de transferência sináptica de BCs com $I_{KV} = 1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$, apresentadas nas **Figuras 28C e 28D**, tais propriedades se mantêm, sugerindo que a adição de poucos canais de K^+ dependentes de voltagem aos botões dendríticos suficiente para estabilizar o ganho da sinapse entre bastonetes e BCs.

A **Figura 29** apresenta as relações de transferência sináptica para a polarização concomitante de todos os bastonetes (equivalente a níveis mesópicos de iluminação), em três condições para a menor e maior convergência sináptica: (i) $I_{KV} = 0 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$, (ii) $I_{KV} = 25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ e (iii) $I_{KV} = 1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$. A **Figura 29A** compara as funções de transferência sináptica entre bastonetes e BCs com $n_{rod} = 24$, para L_{dend} 2,5 e 25 μm e $I_{KV} = 0$ e 25 $\text{pS}/\mu\text{m}^2$, respectivamente (relações para $I_{KV} = 0 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ apresentadas na **Figura 22A**). Tal como nas simulações escotópicas (**Figura 28**), a inserção de I_{KV} também diminui as amplitudes de resposta, mas, nesse caso, não causa nenhuma melhora na estabilização das respostas ao longo do crescimento dendrítico. A BC sem I_{KV} já possui respostas estáveis para os dois valores de L_{dend} simulados, e c chega a aumentar ligeiramente as diferenças de resposta para o menor e maior valores de L_{dend} .

A **Figura 29B** apresenta as relações de transferência sináptica para $n_{rod} = 240$, sem I_{KV} (símbolos em preto e verde, dados apresentados na **Figura 22**) e com a menor densidade de I_{KV} inseridas no modelo (25 $\text{pS}/\mu\text{m}^2$). Para a máxima polarização dos bastonetes, as respostas da BC com $I_{KV} = 25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ são consideravelmente maiores do que as respostas da BC sem I_{KV} e, ainda, independentes de L_{dend} , pois as respostas para $L_{dend} = 2,5$ e 25 μm se sobrepõem. Neste caso, portanto, I_{KV} apresenta três fatores que contribuem para a estabilização e consistência da resposta da BC ao longo do crescimento dendrítico e possível aumento de convergência sináptica: (i) aumento de ganho, dadas as maiores amplitudes de resposta; (ii) estabilização da resposta ao longo do crescimento dendrítico; (iii) estabilização da resposta para diferentes valores de convergência, dado que as amplitudes de resposta se aproximam das respostas da BC com I_{KV} da **Figura 29A**.

As **Figuras 29C e 29D** comparam as respostas de BCs com $I_{KV} = 25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ e 1600 $\text{pS}/\mu\text{m}^2$, para $n_{rod} = 24$ e 240, respectivamente. Para as duas convergências, o aumento da densidade de I_{KV} amplia os efeitos já observados com a inserção de $I_{KV} = 25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$. Desse modo, para $n_{rod} = 24$ (**Figura 29C**), o aumento da densidade de I_{KV}

para $1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ diminui a amplitude de resposta. Por outro lado, tal aumento causa a estabilização da resposta da BC ao longo do crescimento dendrítico, diferente do que ocorria com $I_{KV} = 25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$. Já para $n_{\text{rod}} = 240$ (**Figura 29D**), BCs com $I_{KV} = 1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ possuem maior amplitude de reposta, muito embora tais repostas estejam menos estabilizadas para o menor e maior valores de L_{dend} simulados. Assim, a convergência sináptica possui papel central no que se refere à melhor densidade de I_{KV} para se atingir maior ganho e estabilização da resposta da BC ao longo do crescimento dendrítico: para $n_{\text{rod}} = 24$, são necessárias altas densidades de I_{KV} para que isso ocorra e, portanto, $I_{KV} = 1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ é mais efetiva para a estabilização da resposta, embora cause diminuição no ganho; para $n_{\text{rod}} = 240$, por sua vez, baixas convergências de I_{KV} são mais efetivas para estabilizar a resposta, muito embora o ganho seja menor do que o obtido com $I_{KV} = 1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$.

A **Figura 30** compara as amplitudes de resposta da BC em simulações escotópicas e mesópicas, para as convergências de 24 e 240 bastonetes e para valores crescentes de I_{KV} . A **Figura 30A** compara a amplitude de reposta de BCs com o menor e maior valor de L_{dend} (símbolos verde escuro e claro, respectivamente), com n_{rod} fixo em 24 bastonetes, quando apenas um bastonete é polarizado maximamente (simulações escotópicas). Como na **Figura 28**, quando $I_{KV} = 0 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$, a BC com menor valor de L_{dend} possui maior amplitude de resposta. Essa relação inverte com a inserção de I_{KV} , de modo que a BC com maior valor de L_{dend} ($25 \mu\text{m}$) passa a possuir maior amplitude de resposta a partir de $I_{KV} = 50 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$.

De maneira semelhante, a **Figura 30B**, compara dados semelhantes aos da **Figura 30A**, para $n_{\text{rod}} = 240$ (símbolos em azul-escuro: $L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$; Símbolos em azul-claro: $L_{\text{dend}} = 25 \mu\text{m}$). Neste caso, a inserção de I_{KV} faz com que a BC com que a menor árvore dendrítica ($L_{\text{dend}} 2,5 \mu\text{m}$) tenha maior amplitude de resposta, sendo que, para os dois valores de L_{dend} , há um aumento da amplitude de resposta com relação às BCs passivas, sem I_{KV} ($0 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$). Já para a menor densidade de I_{KV} ($25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$), as respostas de BCs com o menor e maior valor de L_{dend} se aproximam (como apresentado na **Figura 28D**).

Figura 28. I_{KV} estabiliza a transferência sináptica entre bastonete e BC (simulações escotópicas). (A) Amplitudes de resposta somáticas da BC sem I_{KV} e com $I_{KV} = 25$ pS/ μm^2 , em função da polarização de um único bastonete (equivalente a estimulação escotópica), para $n_{rod} = 24$ bastonetes e $L_{dend} = 2,5$ μm e 25 μm . Amplitudes de resposta aumentam com o crescimento dendrítico. (B) Mesmo que (A), para $n_{rod} = 240$. (C) Amplitudes de resposta somáticas de uma BC com $I_{KV} = 25$ pS/ μm^2 e com $I_{KV} = 1600$ pS/ μm^2 , em função da polarização de um único bastonete (equivalente a estimulação escotópica), para $n_{rod} = 24$ bastonetes e $L_{dend} = 2,5$ μm e 25 μm . (D) Mesmo que (C), para $n_{rod} = 240$. A inserção de I_{KV} estabiliza as amplitudes de resposta, tornando-as independentes do crescimento dendrítico.

Figura 29. I_{KV} estabiliza a transferência sináptica entre todos os bastonetes e BC (simulações mesópicas). (A) Amplitudes de resposta medidas no soma de uma BC em função da polarização concomitante de todos bastonetes, com $n_{rod} = 24$. Símbolos em preto e verde são os dados das simulações sem I_{KV} (Figura 22), nas mesmas condições de simulação. Símbolos em amarelo e bege referem-se a BCs com $I_{KV} = 25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$. (B) Mesmo que (A), para $n_{rod} = 240$. (C) Amplitudes de resposta medidas no soma de BCs com I_{KV} em função da polarização concomitante de todos bastonetes, com $n_{rod} = 24$. Símbolos em preto e azul-escuro são os dados das simulações sem I_{KV} . Símbolos em tons de roxo referem-se a BCs com $I_{KV} = 1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$. (D) Mesmo que (C), para $n_{rod} = 240$.

A Figura 30C apresenta as amplitudes de resposta de BCs com o menor e maior valor de L_{dend} (2,5 e 25 μm ; símbolos em verde-escuro e verde-claro, respectivamente), com n_{rod} fixo em 24 bastonetes, quando todos os bastonetes são polarizados máxima e concomitantemente (simulações mesópicas). Para as simulações mesópicas da BC com

$n_{\text{rod}} = 24$, a inserção de I_{KV} mantém a BC com menor árvore dendrítica ($L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$) com maior amplitude de resposta.

A **Figura 30D** compara dados análogos aos da **Figura 30C**, para $n_{\text{rod}} = 240$ (símbolos em azul-escuro: $L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$; símbolos em azul-claro: $L_{\text{dend}} = 25 \mu\text{m}$). Como nas simulações escotópicas de BCs com $n_{\text{rod}} = 240$, a inserção de I_{KV} faz com que a BC com menor árvore dendrítica ($L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$) tenha maior amplitude de resposta. A partir da menor densidade de I_{KV} ($25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$), há aproximação das respostas de BCs com o menor e maior valor de L_{dend} (como apresentado na **Figura 29**), e, além disso, as amplitudes de resposta aumentam para os dois valores de L_{dend} apresentados.

Observa-se que as amplitudes de resposta se alteram com a adição de I_{KV} : para as simulações escotópicas e mesópicas, quando n_{rod} é fixo em 24 bastonetes (**Figura 30A e 30C**), as amplitudes diminuem tanto para $L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$ quanto para $L_{\text{dend}} = 25 \mu\text{m}$, ambas convergindo quando $I_{\text{KV}} = 1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$. Nas simulações escotópicas, contudo, a BC com maior árvore dendrítica ($L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$) passa a ter a maior amplitude de resposta a partir de $I_{\text{KV}} = 50 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$. Nas simulações mesópicas não há cruzamento das curvas de amplitude, possuindo a BC com $L_{\text{dend}} = 25 \mu\text{m}$ a maior amplitude de resposta por todo o espectro de densidades de I_{KV} testado.

Ao fixar-se n_{rod} em 240, tanto nas simulações escotópicas quanto mesópicas, as amplitudes de resposta aumentam com a inserção de I_{KV} (**Figura 30B e 30D**). Neste caso, para ambos os valores de L_{dend} , algumas propriedades coincidem: (i) amplitudes de resposta atingem um asymptoto já a partir de $100 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$; (ii) na ausência de I_{KV} , a BC com maior árvore dendrítica ($L_{\text{dend}} = 25 \mu\text{m}$, símbolos em azul-claro) possui maior amplitude de resposta, pois, como já argumentado, o aumento no comprimento dendrítico leva à hiperpolarização da BC (**Figura 18**) e aumenta a força eletromotriz para a corrente sináptica (**Figuras 21 e 22**); (iii) a inserção de I_{KV} leva à inversão dessa relação, fazendo com que a BC com menor árvore dendrítica ($L_{\text{dend}} = 2,5 \mu\text{m}$, símbolos verde-escuro) passe a possuir amplitude de resposta ligeiramente maior, especialmente para as maiores densidades de I_{KV} .

Figura 30. I_{KV} estabiliza os efeitos decorrentes do crescimento celular sobre as amplitudes de resposta da BC. (A) Amplitudes de resposta da BC para a máxima polarização de um bastonete distal (simulação escotópica) em função da densidade de I_{KV} . A convergência sináptica está fixa em $n_{rod} = 24$. Os dados referentes a $I_{KV} = 0$ pS/ μm^2 foram apresentados na **Figura 21**. Verde-escuro: $L_{dend} = 2,5 \mu m$; verde claro: $L_{dend} = 25 \mu m$. (B) Mesmo que (A), para $n_{rod} = 240$. (C) Amplitudes de respostas da BC para a máxima polarização de todos os bastonetes (simulação mesópica) em função da densidade de I_{KV} . A convergência sináptica está fixa em $n_{rod} = 24$. Os dados referentes a $I_{KV} = 0$ pS/ μm^2 foram apresentados na **Figura 22**. Verde-escuro: $L_{dend} = 2,5 \mu m$; verde claro: $L_{dend} = 25 \mu m$. (D) mesmo que (C), para $n_{rod} = 240$.

De modo geral, os dados mostrados até agora sugerem que a inserção de I_{KV} estabiliza V_{rest} , tornando-o pouco dependente do crescimento dendrítico (**Figura 26B**). Desse modo, as forças eletromotrizes da BC presentes em V_{rest} tornam-se também pouco dependentes de L_{dend} , diminuindo as diferenças entre as amplitudes de resposta que

existiam para as simulações sem I_{KV} (**Figuras 21 e 22**), tanto para as simulações escotópicas (**Figuras 28**) quanto para as simulações mesópicas (**Figura 29**). Ainda, para baixas convergências, I_{KV} diminui V_{max} (**Figura 30A e 30C**), pois aumenta as diferenças em R_{in} observadas nas BCs sem I_{KV} (**Figura 20**), e para altas convergências, I_{KV} aumenta V_{max} (**Figura 30A e 30C**), pois contribui, de modo análogo ao aumento da corrente passiva, para o distanciamento do V_{rest} da BC de E_{rod} (0 mV) e, logo, aumenta a força motriz da corrente sináptica. Em ambas as convergências e níveis de luminosidade, existe, portanto, uma região ótima de densidade de I_{KV} , na qual as resposta de BCs com menor e maior árvore dendrítica estão mais próximas. Juntos, estes dados subsidiam a hipótese de que a densidade ideal de I_{KV} depende das características predominantes do ambiente luminoso e, logo, do nicho específico, uma vez que BCs de espécies diferentes apresentam geometria e níveis diferentes de convergência; a densidade ideal de I_{KV} também pode variar com o tipo fisiológico de BC, uma vez que há BCs de um mesmo organismo especializadas em diferentes níveis de luminosidade (Joselevitch & Kamermans, 2007; Pang *et al.*, 2010). Permanece, entretanto, o fato de que o aumento de L_{dend} leva a uma lentificação das respostas da BC modelo. A próxima sessão verifica se a inserção de I_{KV} contribui para a estabilização nas latências para o pico de resposta da BC.

7.8. A condutância ativa acelera e estabiliza a cinética de resposta

Nas simulações contendo apenas as condutâncias sinápticas e passiva, o crescimento celular, de modo geral, desacelerava a polarização da BC, pois o aumento de L_{dend} aumenta a latência para o pico de resposta (**Figura 25**), tanto para as simulações escotópicas (**Figura 25A**) quanto para as simulações mesópicas (**Figura 25B**). A inserção de I_{KV} ocasionou, de modo geral, maior estabilização de V_{rest} (**Figura 26B**) e das amplitudes de resposta da BC (**Figuras 28-30**), tornando ambos os parâmetros relativamente independentes de L_{dend} . Essa estabilização também é esperada para a latência para o pico de resposta. A seguir, os efeitos de I_{KV} neste parâmetro são avaliados.

A **Figura 31** compara a latência para o pico de resposta da BC para três densidades de I_{KV} : 0, 25 e 1600 pS/ μm^2 . A **Figura 31A** apresenta as latências para essas três densidades de I_{KV} em função do valor de L_{dend} , quando apenas um bastonete distal é estimulado, simulando ambientes escotópicos. A convergência foi fixada em $n_{rod} = 24$. Os dados para $I_{KV} = 0$ pS/ μm^2 (símbolos negros) são os mesmos da **Figura 25A**,

colocados aqui para fins de comparação, com ajuste linear possuindo parâmetros $\beta_0 = 414,2 \pm 24,6$ e $\beta_1 = 1,7 \pm 1,6$; $R^2 = 0,02$. Símbolos em vermelho indicam a inserção de I_{KV} nas pontas dendríticas da BC (vermelho sólido: $I_{KV} = 25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$; vermelho não preenchido: $I_{KV} = 1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$). As retas são ajustes lineares (**Equação 9**) com parâmetros $\beta_0 = 84,71 \pm 2,3$ e $\beta_1 = 7,3 \pm 0,1$ ($R^2 = 0,99$) para $I_{KV} = 25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$; $\beta_0 = 44,1 \pm 1,2$ e $\beta_1 = 2,24 \pm 0,1$ ($R^2 = 0,99$) para $I_{KV} = 1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$. A inserção de I_{KV} diminui as latências, muito embora aumente a variação das latências ao longo do crescimento dendrítico, pois os interceptos das regressões lineares (parâmetros β_1) aumentam com a inserção de $I_{KV} = 25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ e, com o aumento da densidade de I_{KV} , diminuem consideravelmente (de $7,3 \pm 0,1$ para $2,24 \pm 0,1$ com o aumento de I_{KV} de 25 para 1600 $\text{pS}/\mu\text{m}^2$).

A **Figura 31B** apresenta dados semelhantes aos da **Figura 31A**, para uma BC com convergência de 240 bastonetes. Símbolos em laranja indicam a inserção de I_{KV} nas pontas dendríticas da BC (laranja sólido: $I_{KV} = 25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$; laranja não preenchido: $I_{KV} = 1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$). As retas são ajustes lineares (**Equação 9**) com parâmetros $\beta_0 = 67,9 \pm 2,5$ e $\beta_1 = 2,4 \pm 0,16$ ($R^2 = 0,98$) para $I_{KV} = 0 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$; $\beta_0 = 15,3 \pm 0,1$ e $\beta_1 = 0,33 \pm 1 \cdot 10^{-3}$ ($R^2 = 0,99$) para $I_{KV} = 25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$; $\beta_0 = 10,9 \pm 0,02$ e $\beta_1 = 2,1 \pm 1,3 \cdot 10^{-3}$ ($R^2 = 0,99$) para $I_{KV} = 1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$. Para as convergências de 24 e 240 bastonetes, a inserção de I_{KV} diminui a latência de reposta e, para $n_{\text{rod}} = 240$, torna-a independente do crescimento dendrítico, como indicam os coeficiente angulares (parâmetros β_1 das regressões lineares) próximos a zero para BCs com I_{KV} fixo em 25 ou 1600 $\text{pS}/\mu\text{m}^2$.

A **Figura 31C** apresenta as latências para três densidades de I_{KV} (0, 25 e 1600 $\text{pS}/\mu\text{m}^2$) em função do valor de L_{dend} , quando todos os bastonetes são estimulados concomitantemente, simulando ambientes mesópicos. A convergência foi mantida fixa em $n_{\text{rod}} = 24$. Os dados para $I_{KV} = 0 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ (símbolos cinza) são os mesmos da **Figura 25B**, colocados para fins de comparação, possuindo ajuste linear com parâmetros $\beta_0 = 206,4 \pm \text{se}$ $\beta_1 = 3,1 \pm 0,9$ ($R^2 = 0,67$). Símbolos em vermelho-escuro mostram os dados de latência para o pico de resposta para BCs com a inserção de I_{KV} nas pontas dendríticas (vermelho sólido: $I_{KV} = 25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$; vermelho não preenchido: $I_{KV} = 1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$). As retas são ajustes lineares (**Equação 9**) com parâmetros $\beta_0 = 33,4 \pm 0,33$ e $\beta_1 = 1,7 \pm 0,02$ ($R^2 = 0,99$) para $I_{KV} = 25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ e $\beta_0 = 18,9 \pm 0,2$ e $\beta_1 = 0,7 \pm 0,01$ ($R^2 = 0,99$) para $I_{KV} = 1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$.

Figura 31. I_{KV} diminui a latência de resposta da BC para polarização máxima dos fotorreceptores em função do crescimento celular. (A) Símbolos negros: latência para o pico de resposta em função de L_{dend} para estimulação de apenas um bastonete distal, equivalente a níveis escotópicos de luminosidade, com $I_{KV} = 0 \text{ pS}/\mu m^2$ (dados da **Figura 25A**). Símbolos vermelhos: $I_{KV} = 25 \text{ pS}/\mu m^2$ e $I_{KV} = 1600 \text{ pS}/\mu m^2$ (símbolos sólidos e vazados, respectivamente). As linhas sólidas são regressões lineares (**Equação 9**, parâmetros no texto). Para todas as simulações, $n_{rod} = 24$ bastonetes. (B) Mesmo que (A), $n_{rod} = 240$ bastonetes. (C) Símbolos cinza: latência para o pico de resposta em função do crescimento dendrítico para estimulação de todos os bastonetes simultaneamente, equivalente a níveis mesópicos de luminosidade, com $I_{KV} = 0 \text{ pS}/\mu m^2$ (dados da **Figura 25B**). Símbolos em vermelho-escuro: $I_{KV} = 25 \text{ pS}/\mu m^2$ e $I_{KV} = 1600 \text{ pS}/\mu m^2$ (símbolos sólidos e vazados, respectivamente). As linhas sólidas são regressões lineares (**Equação 9**, parâmetros no texto). Para todas as simulações, $n_{rod} = 24$ bastonetes. (D) Mesmo que (C), $n_{rod} = 240$ bastonetes.

A **Figura 31D** apresenta a latência de reposta para uma BC com 240 bastonetes, simulando ambientes mesópicos. Os dados para $I_{KV} = 0 \text{ pS}/\mu m^2$ (símbolos cinza) são os

mesmos da **Figura 25B**, colocados para comparação, possuindo ajuste linear com parâmetros $\beta_0 = 33,2 \pm 2,7$ e $\beta_1 = 0,9 \pm 0,2$ ($R^2 = 0,86$). Símbolos em laranja-escuro mostram os dados de latência para o pico de resposta para BCs com a inserção de I_{KV} nas pontas dendríticas (laranja sólido: $I_{KV} = 25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$; laranja não preenchido: $I_{KV} = 1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$). As retas são ajustes lineares (**Equação 9**) com parâmetros $\beta_0 = 6,1 \pm 0,1$ e $\beta_1 = 0,1 \pm 7,4 \cdot 10^{-3}$ ($R^2 = 0,99$) para $I_{KV} = 25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ e $\beta_0 = 3,9 \pm 0,1$ e $\beta_1 = 0,1 \pm 5 \cdot 10^{-3}$ ($R^2 = 0,98$) para $I_{KV} = 1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$.

A diferença nos interceptos (β_0) mostra que há uma notável redução da latência para o pico de resposta, tanto para a simulação de ambientes escotópicos (**Figura 31A**, com redução de mais de 150 ms a partir da inserção de $25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ de I_{KV} para $n_{\text{rod}} = 24$ e **Figura 31B**, com redução de 40 ms a partir da mesma inserção de I_{KV} , para $n_{\text{rod}} = 240$), quanto para a simulação de ambientes mesópicos (**Figura 31C e 31D**), com a redução de aproximadamente 170 ms a partir da inserção de I_{KV} com densidade de $25 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ para $n_{\text{rod}} = 24$, e de 185 ms para a mesma inserção de I_{KV} e $n_{\text{rod}} = 240$. Note-se, ainda, que o aumento da densidade de I_{KV} em 64 vezes (25 para $1600 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$) teve efeitos pouco significativos no decurso temporal da reposta da BC. Além disso, I_{KV} não anula completamente os efeitos decorrentes do aumento da capacitância da BC conforme ela cresce, mas a variação das latências é comprimida em uma faixa muito menor.

A inserção de I_{KV} em nosso modelo de BC teve duas grandes consequências para o decurso temporal da reposta da BC: (i) o tempo necessário para se atingir o pico de resposta reduziu (como mostram os parâmetros β_0 das regressões lineares) e (ii) esse tempo tornou-se menos dependente do tamanho dos dendritos primários (como mostram os parâmetros β_1 das regressões lineares). Esses resultados não são inusitados; pode-se encontrar dados semelhantes já em trabalhos clássicos, como os de Hodgkin e Huxley (Hodgkin & Huxley, 1952a). A seguir, a validade do nosso modelo de BC e os resultados ora apresentados serão discutidos à luz da literatura científica.

8. Discussão

Investigamos neste estudo os efeitos do crescimento da árvore dendrítica e da sinaptogênese na integração de sinais de bastonetes por BCs. Para tanto, criamos um modelo computacional de BC com morfologia e biofísica compatíveis com as de uma célula real, e simulamos três situações: (i) aumento da convergência de bastonetes apenas, através da inserção de novos dendritos secundários contendo novas sinapses; (ii) crescimento da árvore dendrítica primária apenas, e (iii) crescimento das árvores dendríticas primária e secundária com concomitante aumento das entradas sinápticas. Estes três casos foram inicialmente simulados em um modelo contendo apenas condutâncias sinápticas e passivas, para estudo da influência da geometria celular na integração somática de sinais e na cinética de resposta. Posteriormente, adicionamos canais de K^+ dependentes de voltagem aos terminais dendríticos, como em uma célula real, para verificar seus efeitos sobre o ganho da sinapse entre bastonetes e BC e sobre a cinética das respostas da BC durante o crescimento.

Os resultados aqui apresentados sugerem a existência de uma relação entre convergência neuronal e sensibilidade, uma vez que um aumento no número de entradas de bastonetes para a BC modelo altera a sua relação de transferência sináptica (**Figuras 21A e B e 22A e B**). Para simulações de ambientes escotópicos, nas quais estimulou-se apenas um bastonete, a mudança na convergência de bastonetes refletiu-se principalmente na faixa dinâmica do neurônio, não causando mudanças na faixa operacional e nem na inclinação da relação de transferência sináptica (**Figura 21E**). Entretanto, para simulações de ambientes mesópicos, nas quais todos os bastonetes foram concomitantemente polarizados, além de alterações na faixa dinâmica, houve também mudança na inclinação da relação de transferência e leve redução na faixa operacional, fazendo com que a BC com maior convergência sature para menores polarizações dos bastonetes (**Figura 22E**). Além da convergência, o crescimento da árvore dendrítica primária modifica significativamente as amplitudes de resposta da BC, sem entretanto modificar expressivamente sua faixa operacional ou a inclinação da relação de transferência sináptica (**Figuras 21C e D e 22C e D**). As alterações na faixa dinâmica da BC advindas do crescimento, na ausência de condutâncias ativas, vêm acompanhadas por uma lentificação considerável das respostas da BC (**Figuras 24 e 25**). Tal fenômeno ocorre em função do acréscimo na área de superfície de membrana da célula, que age como um capacitor, retardando as mudanças de potencial.

Com a adição de canais de K^+ dependentes de voltagem aos terminais dendríticos, a faixa dinâmica do neurônio foi significativamente estendida em relação ao modelo contendo apenas condutâncias passivas (**Figuras 28 e 29**) nas BCs com alta convergência sináptica, mas houve redução na faixa dinâmica de BCs com baixa convergência sináptica. Em ambos os casos, as respostas tornaram-se transientes e, portanto, mais rápidas (**Figuras 26A e 31**). Além disso, tanto as amplitudes quanto a velocidade de resposta tornaram-se mais próximas e, logo, relativamente independentes do tamanho da árvore dendrítica (**Figuras 28 a 30**), sugerindo que as condutâncias ativas possuam caráter estabilizador durante o crescimento. Nas próximas sessões, os resultados ora resumidos serão discutidos face à literatura.

8.1. A validade do modelo

Para criar um modelo computacional de valor preditivo, utilizamos dados morfofisiológicos obtidos em células bipolares de entrada mista da retina de peixes dourados adultos⁸. A geometria básica utilizada foi a de uma mbON com 25 μm de comprimento de dendrito primário (**Tabela 1**) e cerca de 2.500 μm^2 de árvore dendrítica primária (**Figura 14**). Células com estas dimensões possuem cerca de 180-200 contatos sinápticos com bastonetes e são encontradas em animais com mais de 10 mm de diâmetro ocular (Kock & Stell, 1985). Por sua vez, peixes dourados com dimensões oculares semelhantes são grandes para a espécie, possuindo mais de 125 mm de comprimento padrão⁹. Utilizamos como base para nosso modelo, portanto, o caso mais extremo de convergência sináptica (240 bastonetes), e de comprimento (25 μm) e

⁸ Os experimentos eletrofisiológicos realizados para obtenção das variáveis biofísicas utilizadas em nosso modelo estão fora do escopo desta dissertação, mas podem ser consultados nos trabalhos publicados por nosso grupo de pesquisa:

Joselevitch C, Zenisek D (2009) Imaging exocytosis in retinal bipolar cells with TIRF microscopy. *J Vis Exp*: 1–6.
Joselevitch C, Kamermans M (2009) Retinal parallel pathways: Seeing with our inner fish. *Vision Res* 49:943–959.
Joselevitch C & Kamermans M (2007) Interaction between rod and cone inputs in mixed-input bipolar cells in goldfish retina. *J Neurosci Res* 85:1579–1591.
Joselevitch C, Klooster J, Kamermans M (2007) Localization of metabotropic glutamate receptors in the outer plexiform layer of the goldfish retina. *Cell Tissue Res* 330:389–403.
Joselevitch C, Kamermans M (2001) Intensity-dependent opponency in mixed-input bipolar cells of the goldfish retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42: S673.

⁹ Comprimento padrão: medida da ponta do nariz à base da cauda. Dados obtidos por nosso grupo:

Joselevitch C; da Silva FT; Garcia AB; Corredor VH; Ventura DF (2014) Distribution of goldfish mixed-input ON bipolar cells during retinal growth. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 55: E4170.

diâmetro (1,3 mm) da árvore dendrítica primária (**Tabela 1**), e *diminuímos* os valores de convergência e comprimento dos dendritos primários para simular neurônios *menores*.

Em neurônios reais, entretanto, o crescimento compreende não apenas o alongamento dos processos dendríticos, mas também o *alargamento* dos compartimentos celulares (Bloomfield & Hitchcock, 1991), ou seja: células menores possuem não apenas dendritos mais curtos, mas também *mais finos* do que os que utilizamos em nossas simulações. Como dendritos finos impõem maior resistência à passagem de corrente do que dendritos grossos (Magee, 2000; Mainen & Sejnowski, 1996), isso significa que nossa estimativa de decaimento espacial de voltagem ao longo da árvore dendrítica foi conservadora para células menores; este decaimento provavelmente é maior do que o mostrado nas **Figuras 19 e 27**. Por conseguinte, as BCs ligadas a bastonetes de mamíferos, que possuem características biofísicas semelhantes, mas processos dendríticos mais delgados do que as mbON de teleósteos (Oltedal et al., 2009; Karschin & Wassle, 1990; Euler & Masland, 2000; Dacheux & Raviola, 1986; McGuire, Stevens, & Sterling, 1984; Dowling & Boycott, 1966), serão eletrotonicamente menos compactas do que aqui apresentado.

O decaimento espacial de voltagem, por sua vez, também depende da densidade e distribuição da condutância passiva, pois canais ôhmicos com potencial de reversão negativo derivam localmente a despolarização causada pela condutância sináptica. Embora a densidade de condutância passiva utilizada em nossas simulações ($g_{pas} = 0,000015 \text{ S/cm}^2$, equivalente a $R_m = 67 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^{210}$) esteja na faixa da reportada para BCs de mamíferos ($68 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$, em Coleman & Miller, 1989; $24 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$, em Oltedal *et al.*, 2009), estudamos, como controle, o decaimento espacial de voltagem em uma célula modelo com densidades de g_{pas} dez vezes maior ($R_m = 6,7 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$) e dez vezes menor ($R_m = 670 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$). O resultado destas simulações, apresentado na **Figura 32**, mostra que, apesar das amplitudes de resposta serem maiores quando a densidade de g_{pas} é alta (símbolos em verde e azul, **Figuras 32A e 32B**), em função da hiperpolarização de V_{rest} (comparar com **Figura 18**), o decaimento espacial de voltagem também é maior neste caso (**Figura 32C e 32D**).

Em ambos os casos, entretanto, o comportamento do modelo é o mesmo do apresentado na **Figura 19**: há uma perda de 25-30 % da amplitude de resposta à medida que o potencial avança do terminal dendrítico para o soma. A maior parte deste

¹⁰ Como $G = 1/R$, uma g_{pas} de $0,000015 \text{ S/cm}^2$ equivale a uma R_m de $1/0,000015 = 66.666,66 \text{ }\Omega \cdot \text{cm}^2$

decaimento ocorre ao longo dos dendritos secundários, que possuem 2 µm de comprimento (**Tabela 1**), uma vez que a constante de decaimento dos ajustes exponenciais (**Equação 4**) apresentados na **Figura 32A** e **32B** ficou entre $t = 1,5$ e $1,54$ µm para todos os dados apresentados. Note-se que, nestas simulações, as diferenças de amplitude máxima de resposta nos botões dendríticos podem ser explicadas pela influência da condutância passiva sobre V_{rest} , como demonstrado nas **Figuras 18** e **19** (na **Figura 32**, para um mesmo n_{rod} , comparar resultados de BCs com 2,5 e 25 µm e de BCs com 6,7 e 670 kΩ*cm², respectivamente).

É portanto a geometria do modelo, com dendritos secundários finos (0,1 µm de diâmetro), e não apenas o valor absoluto de g_{pas} , que determina boa parte de seu comportamento eletrotônico¹¹. Estes resultados não diferem dos apresentados por Coleman & Miller (1989), que demonstraram grande influência de R_m no decaimento espacial de voltagem ao longo de dendritos; como os processos dendríticos simulados por estes autores eram dez vezes mais grossos (1 µm de diâmetro) o decaimento mostrado por eles ocorria em distâncias dez vezes maiores do que as simuladas aqui (250 µm). Levando-se estas diferenças em consideração, nossos resultados são semelhantes.

Com relação à distribuição da condutância passiva, existe um corpo significativo de literatura sugerindo ser robusto considerá-la homogênea por todo o neurônio, subsidiando nossa pressuposição (Carnevale & Hines, 2006; Rall, 1962a; Rall, 1962b; Hodgkin & Huxley, 1952c; Hodgkin & Huxley, 1952b; Hodgkin & Huxley, 1952a). Existem, todavia, evidências de que tal aproximação pode ser equivocada (London, Meunier, & Segev, 1999; Huang, Hong, & De, 2015), principalmente para células grandes e de morfologia complexa, tais como neurônios piramidais; nestes casos, os parâmetros passivos podem realmente variar de local para local da célula (London *et al.*, 1999). Nos casos nos quais há distribuição heterogênea de canais passivos, a transferência de potencial ao longo do dendrito é mais eficaz (London *et al.*, 1999).

¹¹ O decaimento espacial de voltagem ao longo de um cabo é determinado por sua constante eletrotônica de espaço, λ , ou seja, a distância necessária para um decaimento de voltagem de 37% ou $1/e$:

$$\lambda = \sqrt{\frac{R_m}{R_a} * \frac{d}{4}},$$

sendo que R_a equivale à resistividade axial (em Ω*cm), R_m equivale à resistência específica de membrana (em Ω*cm²) e d equivale ao diâmetro do processo. Assim, quanto menor o diâmetro do processo, menor λ e, por conseguinte, maior a atenuação de sinal por unidade de espaço.

Figura 32. A influência de g_{pas} e R_m na amplitude e decaimento espacial de voltagem.

(A) Amplitudes de resposta de uma BC com $n_{rod} = 24$ bastonetes e $L_{dend} = 2,5 \mu m$ e $25 \mu m$ ao longo das estruturas dendríticas para hiperpolarização máxima de um bastonete distal, quando $g_{pas} = 0,00015 S/cm^2$ ($R_m = 6,7 k\Omega*cm^2$, símbolos em tons de verde) e quando $g_{pas} = 0,0000015 S/cm^2$ ($R_m = 670 k\Omega*cm^2$, símbolos em cinza claro e escuro). Cada ponto indica amplitude de resposta em um local diferente da célula, sendo o último ponto o soma da BC. As linhas sólidas são ajustes exponenciais simples (Equação 4), com constantes de decaimento $t = 1,54 \mu m$ para as simulações com $L_{dend} = 2,5 \mu m$ e $t = 1,5 \mu m$ para as simulações com $L_{dend} = 25 \mu m$. (B) Mesmo que (A), para $n_{rod} = 240$, $g_{pas} = 0,00015 S/cm^2$ ($R_m = 6,7 k\Omega*cm^2$, símbolos em tons de azul); $g_{pas} = 0,0000015 S/cm^2$ ($R_m = 670 k\Omega*cm^2$, símbolos em tons de roxo). As linhas sólidas indicam fits exponenciais simples (Equação 4), com constantes de decaimento $t = 1,54 \mu m$ para as simulações com $L_{dend} = 2,5 \mu m$ e $t = 1,52 \mu m$ para as simulações com $L_{dend} = 25 \mu m$. (C) Gráficos em (A) e (B), para BCs com $R_m = 670 k\Omega*cm^2$, com valores normalizados para fins de comparação. (D) Gráficos em (A) e (B), para BCs com $R_m = 6,7 k\Omega*cm^2$, com valores normalizados para fins de comparação.

Entretanto, estas diferenças na transmissão eletrotônica de corrente são relativamente pequenas em situações semelhantes às simuladas aqui (distância eletrotônica $L^{12} \approx 1$, $R_m \approx 50 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$). Portanto, a pressuposição de distribuição homogênea para a condutância passiva, no nosso modelo, é adequada. Em células bipolares de mamíferos, que possuem dimensões e características passivas ligeiramente diferentes das simuladas neste estudo (Oltedal et al., 2009), o decaimento espacial de voltagem também seria muito semelhante ao apresentado aqui¹³.

Em termos de seu arcabouço morfológico e dos parâmetros biofísicos básicos, portanto, nosso modelo pode ser considerado robusto para investigar a integração de sinais em BCs. O valor preditivo de nossos resultados no tocante a outros aspectos da fisiologia celular destes neurônios, como a influência das condutâncias ativa e sináptica na integração de sinais, serão discutidos em detalhes nas próximas sessões.

8.2. A influência da geometria celular na integração de sinais

Uma característica central para o modelo de BC aqui apresentado é o fato da morfologia básica de BCs em geral, como a alta resistência de sua árvore dendrítica secundária, possuir influência tão acentuada em suas características fisiológicas. A anisopotencialidade é considerada em geral uma propriedade de neurônios grandes e de morfologia intrincada (Hausser & Roth, 1997). Apesar de BCs serem muito menores do que outros tipos de neurônios do sistema nervoso central e de suas árvores dendríticas serem muito simples, nossas simulações mostram claramente que BCs não são isopotenciais, ao contrário do afirmado em inúmeros trabalhos conceituados da área; para exemplos, ver Lasater, Dowling & Ripps (1984) e Attwell *et al.* (1987).

A maioria destes estudos foi realizada em neurônios enzimaticamente isolados. Neste tipo de preparação, a pressuposição de que a integridade neuronal é preservada está equivocada. Por exemplo, uma grande porcentagem de BCs isoladas não apresentam respostas à aplicação local de glutamato (Lasater, Dowling, & Ripps, 1984) ou GABA (Kaneko et al., 1991), indicando que as terminações dendríticas destes

¹² A distância eletrotônica, L , é uma medida do quão eletrotonicamente compacto é um compartimento neuronal (dendrito, axônio):

$$L = \text{comprimento do dendrito} / \lambda.$$

¹³ Segundo Oltedal *et al.* (2009), os valores de R_m e R_a para a célula bipolar murina ligada a bastonetes são $24 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$ e $130 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}$, respectivamente. Se levarmos em consideração um dendrito primário de comprimento $L_{\text{dend}} = 10 \text{ }\mu\text{m}$ (Oltedal *et al.* 2009) e de diâmetro $d = 1 \text{ }\mu\text{m}$ para a espécie, $L = 1,13$, valor muito semelhante ao utilizado no nosso modelo.

neurônios são perdidas durante o isolamento enzimático, uma vez que a maior parte dos receptores glutamatérgicos estão localizados nesta região (Hack, Peichl, & Brandstatter, 1999; Haverkamp, Grunert, & Wassle, 2001; Klooster, Studholme, & Yazulla, 2001; Schultz, Janssen-Bienhold, & Weiler, 2001; Joselevitch, Klooster, & Kamermans, 2007), e subunidades de receptores GABA_A localizam-se nos dendritos primários e secundários (Klooster, Nunes, Yazulla, & Kamermans, 2004).

Nossas simulações sugerem que a alta resistência dos dendritos secundários das BCs é fundamental para criar uma diferença de potencial entre os terminais dendríticos e o soma; mas qual a evidência de que esta geometria seja uma característica básica de todas as BCs? Este tipo de morfologia dendrítica, com afunilamento de processos dendríticos secundários em relação aos botões sinápticos foi descrita em *mbON* do tubarão, *Mustelus canis* (Witkovsky & Stell, 1973), peixe dourado (Stell, 1978; Ishida, Stell, & Lightfoot, 1980; Klooster et al., 2001) e do *Scardinius erythrophthalmus* (Scholes, 1975), bem como nas BCs de bastonetes do porco-da-índia e do coelho (Ladman, 1958; Sjostrand, 1998b; Sjostrand, 1998a). Sua ubiquidade ao longo das diferentes classes animais faz-nos concluir, portanto, que esta é uma característica de BCs em geral, em um exemplo clássico de como a morfologia influencia a fisiologia.

O modelo computacional que estudamos explicita a interação entre estrutura e função neuronal, isto é, entre aspectos morfológicos da célula bipolar e a integração de sinais luminosos processados por bastonetes. Além das características já mencionadas dos dendritos secundários da BC, que são relativamente estáticas, existem evidências experimentais de que há alteração da morfologia da BC conforme o organismo envelhece, seja em teleósteos (Kock & Stell, 1985) ou mamíferos (Liets et al., 2006). Tais mudanças ocorrem também na vida adulta destes organismos e, logo, elas não podem afetar de maneira drástica a adaptabilidade do sistema visual ao processamento do estímulo luminoso.

Idealmente, preconiza-se um sistema que não possua nenhuma alteração estrutural que não seja consequência direta de mecanismos de aprendizagem e memória, pois assim qualquer alteração morfológica estaria diretamente relacionada a alguma alteração entre a apreensão sensorial e o comportamento correspondente. De maneira intuitiva, pode-se pensar o aumento da árvore dendrítica que ocorre na vida adulta do organismo como um tipo de 'ruído', dado que o crescimento dendrítico impõe uma alteração no processamento do sinal luminoso de maneira independente do sinal emitido pelos bastonetes. É esperado, então, que a BC apresente mecanismos fisiológicos que

contraponham as alterações em seu potencial de repouso (**Figura 18**), amplitude de resposta (**Figuras 22 e 23**) e latência de resposta (**Figura 25**) impingidas pelo crescimento de seus dendritos primários e sinaptogênese.

Espera-se que a condutância passiva dos neurônios retinianos mantenha sua densidade relativamente constante (Falk, 1988), mas não há dados empíricos indicando se há ou não mudanças com o crescimento. Pela característica linearidade da condutância passiva, uma eventual alteração de sua densidade ao longo do crescimento dendrítico poderia manter constantes o potencial de repouso e a amplitude de resposta da BC, mas a latência para a resposta máxima continuaria a aumentar devido ao aumento da capacitância celular. Logo, provavelmente não é esta a forma de modulação que a BC utiliza para estabilizar suas características fisiológicas ao longo do crescimento. Também, uma possível alteração da condutância unitária por canal de membrana é uma hipótese sem apoio experimental e que, em última análise, resultaria nos mesmos efeitos da alteração da densidade da condutância passiva.

Além disso, uma BC que possua exclusivamente correntes passivas diminuirá o efeito de um único bastonete sobre a polarização da BC em baixas convergências (**Figura 21A**), pois o aparato dendrítico criado para acomodar mais uma entrada sináptica aumentará a condutância passiva e, logo, diminuirá a R_{in} do neurônio (**Figura 20**). Esse comportamento é previsto pela Primeira Lei de Kirchhoff, e faz com que a corrente sináptica evocada por um bastonete tenha efeito cada vez menor sobre a polarização da BC quando o número de canais não sinápticos aumenta.

Assim, uma hipótese pertinente acerca do funcionamento do sistema fisiológico real é estudar o efeito de condutâncias dependentes de voltagem na integração do sinal luminoso pela BC. Estas são mecanismos ubíquos no sistema nervoso e possuem um considerável corpo de evidências imunohistoquímicas e eletrofisiológicas que possibilita analisar a hipótese de seus efeitos no crescimento morfológico da BC.

8.3. A influência da convergência sináptica na integração de sinais

Em todas as simulações aqui apresentadas, a condutância sináptica máxima por entrada (g_{rod}) foi mantida fixa, à exceção das simulações apresentadas na **Figura 20**. Disso decorre que o aumento na convergência sináptica aumenta a contribuição das correntes glutamatérgicas para o V_{rest} (**Figura 18**) e amplitudes de resposta da BC (**Figuras 21 e 22**). Não há dados na literatura sobre a plasticidade da sinapse entre bastonetes e BCs. Apresentamos nesta dissertação, portanto, o caso mais simples de aumento da

convergência, mas não podemos excluir a possibilidade de que o crescimento neuronal leve, por exemplo, à modulação do número de receptores por sinapse ou da condutância unitária modulada por estes receptores (ver **8.5. Convergência, ganho e sensibilidade na primeira sinapse visual**), uma vez que pouco se sabe sobre a própria cascata bioquímica ligada ao receptor de membrana das BCs do tipo *ON*, mGluR6.

Copenhagen et al. (1990), ao observar um aumento de sensibilidade neuronal camada a camada na retina (**Figura 8**), concluíram haver uma relação causal entre convergência e sensibilidade. Os resultados aqui apresentados apontam na direção contrária: em uma BC sem I_{KV} , as amplitudes de resposta tendem a diminuir conforme a célula aumenta sua convergência (**Figuras 21 e 22**), e isso se deve à redução na R_{in} advinda do acréscimo de condutâncias sinápticas (**Figura 20**) e despolarização de V_{rest} (**Figura 18**). A inserção de I_{KV} contribui para a diminuição dessas diferenças, mas é incapaz de extingui-las. Para as simulações de ambientes escotópicos, tais diferenças chegam a ser de uma ordem de magnitude (**Figura 28**; comparar **Figuras 30A e 30B**). Para simulações de ambientes mesópicos, as diferenças são percentualmente menores e, nesse caso, I_{KV} é capaz de estabilizar V_{rest} e resposta da BC em grande medida (**Figuras 29, 30C e 30D**).

Outra hipótese acerca dos efeitos da convergência de bastonetes na resposta à luz da BC é a de que eles são anulados pelo aparato dendrítico criado para abarcar as novas sinapses, de acordo com o previsto pela Primeira Lei de Kirchhoff (Falk, 1988). Desse ponto de vista, a análise da **Figura 32** aponta que, mesmo para BCs com condutâncias passivas maiores, as diferenças de amplitude e decaimento de resposta com aumento de n_{rod} ainda permanecem. Se a BC possuísse apenas condutâncias passivas e sinápticas, tanto a condutância passiva teria de aumentar quanto a condutância sináptica teria de diminuir para que a convergência não afetasse o potencial de membrana da BC. Nestas condições, haveria redução da sensibilidade da BC para a estimulação de um único bastonete, mas, para a estimulação concomitante de todos os bastonetes, a sensibilidade seria constante para consideráveis variações em convergência.

A despeito de nossos resultados não suportarem completamente a hipótese de Falk (1988), há concordância em um importante aspecto metodológico: a influência das condutâncias passivas e da morfologia celular não deve ser considerados, *a priori*, irrelevantes. Além disso, pressupor uma relação causal positiva entre convergência neuronal e sensibilidade, como feito por Copenhagen et al. (1990), é negligenciar não

apenas os efeitos das condutâncias passivas e da morfologia celular na integração do sinal luminoso, como também ignorar os possíveis efeitos retificadores de mecanismos não-lineares presentes tanto na sinapse entre bastonetes e BC (van Rossum & Smith, 1998; Sampath & Rieke, 2004; Field & Rieke, 2002) quanto mais adentro das vias de processamento da informação visual (Dhingra, Freed, & Smith, 2005; Liang & Freed, 2012).

As diferenças na amplitude de resposta decorrentes do grau de convergência sináptica das BCs traz a tona o quão desconhecidos continuam os aspectos moduladores da primeira sinapse visual. Na próxima sessão, um destes aspectos, o processamento dendrítico ativo, será discutido.

8.4. A importância do processamento dendrítico ativo

Na ausência de condutâncias ativas, a atividade dos neurônios retinianos ficaria inteiramente condicionada à sua morfologia e plasticidade sináptica, uma vez que o crescimento dendrítico vem acompanhado de alterações nas propriedades eletrofisiológicas destes neurônios. Em nosso modelo de BC, o aumento de sua árvore dendrítica hiperpolariza V_{rest} e aumenta a sua amplitude de resposta para altas convergências sinápticas, tendo efeito contrário para baixas convergências. Tais alterações devem-se ao fato de que o crescimento dendrítico ocasiona o aumento da condutância passiva da célula. O consequente decréscimo de R_{in} aumenta a importância das correntes não sinápticas da BC, distribuídas pela membrana, e levam V_{rest} para perto do potencial de reversão da corrente passiva ($E_{pas} = -80$ mV; ver **Métodos**). Nessas condições, conforme a BC cresce, a hiperpolarização de seu potencial de repouso prejudica a estabilidade da resposta enviada para a retina interna, pois o aumento da força eletromotriz para as condutâncias sinápticas ($E_{rod} = 0$ mV; ver **Métodos**) ocasiona uma maior amplitude de resposta.

A inserção de I_{KV} em nosso modelo reduziu estes efeitos, tornando-os negligíveis, e, conforme os resultados aqui apresentados, a importância do processamento dendrítico ativo deve-se ao fato de condutâncias ativas presentes na BC serem capazes de (i) aumentar a resposta da BC (alterando seu ganho), (ii) estabilizar a amplitude de tais respostas ao longo do crescimento da BC e (iii) diminuir e estabilizar a latência da resposta da BC conforme seus dendritos expandem.

Canais de K^+ dependentes de voltagem foram caracterizados em células bipolares de diferentes espécies (Kaneko & Tachibana, 1985; Attwell, Tessier-Lavigne,

Wilson, & Mobbs, 1987; Tessier-Lavigne et al., 1988). No camundongo, há evidências de que as BCs do tipo *ON* que contatam bastonetes possuem canais dependentes de voltagem permeáveis a K^+ em seus dendritos (Klumpp et al., 1995; Pinto & Klumpp, 1998). Em específico, há indicações de que o subtipo KV1.3 é concentrado nas pontas dendríticas de tais BCs (Klumpp et al., 1995). Em nosso modelo, I_{KV} está localizado nas pontas dendríticas da BC, e este é um fator determinante para estabilização do potencial de repouso e resposta da BC: o fato de as pontas dendríticas não mudarem sua morfologia torna a condutância de I_{KV} constante para BCs que tenham a mesma convergência sináptica, independente do tamanho de sua árvore dendrítica.

A inserção de I_{KV} altera a proporção entre as condutâncias ativadas diretamente pela sinapse com os bastonetes e condutâncias não-sinápticas, o que, por si só, diminui o ganho destas sinapses (Falk, 1988). Este fator é crucial na caracterização dos efeitos da convergência sináptica no ganho da sinapse entre um bastonete e a BC, que é caracterizada por seu alto ganho e consequente capacidade de transmitir para a retina interna o sinal evocado pela absorção de poucos fótons (Barlow, Levick, & Yoon, 1971; Sampath & Rieke, 2004; Field & Rieke, 2002). Ao hiperpolarizar o V_{rest} do nosso modelo de BC, I_{KV} contribui para o aumento da resposta, o que possui grandes vantagens em ambientes escotópicos, pois permite que o sinal luminoso possa ser separado do ruído fisiológico presente na sinapse entre bastonetes e BC (van Rossum & Smith, 1998).

Entretanto, é importante lembrar que o receptor mGluR6 provavelmente possui mecanismos de amplificação bioquímica semelhantes aos que estão presentes nos bastonetes, permitindo que a isomerização de uma rodopsina feche centenas de canais iônicos (Ebrey & Koutalos, 2001). Como estes mecanismos de amplificação e a cooperatividade da sinapse permanecem ainda desconhecidos (Xu et al., 2016), estes não foram incorporados em nosso modelo.

8.5. Convergência, ganho e sensibilidade na primeira sinapse visual

No fluxo vertical de informação na retina, a amplificação do sinal e a sensibilidade dos neurônios aumentam concomitantemente ao grau de convergência (Copenhagen et al., 1990), permitindo uma melhora da relação sinal-ruído (SNR), fundamental para a transmissão de informação da retina para o cérebro. Tal observação levou Copenhagen *et al.* (1990) a sugerir uma relação causal entre sensibilidade e convergência (**Figura 8**). Embora as conclusões deste trabalho sejam amplamente aceitas pela comunidade

científica, os experimentos ali descritos não foram desenhados para responder se há relação causal real entre convergência e sensibilidade.

Os resultados aqui apresentados sugerem que a convergência, *per se*, não altera o ganho das sinapses, uma vez que esta não influencia V_{rest} , amplitude de resposta ou latência de resposta. Entretanto, a validade destes resultados é mais limitada, porque neste trabalho não modulamos a distribuição ou densidade da condutância sináptica da BC. A influência destes fatores na integração de sinais de bastonetes por parte da BC será discutida abaixo.

Os receptores glutamatérgicos da BC conectada a bastonetes encontram-se em suas pontas dendríticas (Vardi, Duvoisin, Wu, & Sterling, 2000). Muito embora não se saiba precisamente qual a cascata bioquímica ativada pelo mGluR6 na BC ligada a bastonetes, sabe-se que ela resulta na modulação de canais do tipo TRPM1 (Koike et al., 2010; Shen et al., 2009). Em camundongos, há evidências de que estes canais estão localizados na ponta dendrítica da BC (Koike et al., 2010), mas também há estudos mostrando que estes canais são localizados ao longo dos dendritos secundários da BC, tanto em camundongos, primatas e humanos (Morgans et al., 2009; van Genderen et al., 2009).

Dadas as necessidades temporais do sistema visual, mesmo que os canais TRPM1 estejam localizados nos dendritos, eles devem provavelmente estar próximos à sinapse, nos dendritos secundários, e, logo, as correntes geradas com a abertura destes canais estariam sujeitas à alta resistência axial decorrente do pequeno diâmetro destes dendritos. Se, por outro lado, estes canais estiverem presentes também em dendritos com maior diâmetro, o decaimento do sinal sináptico, com ou sem a presença de I_{KV} , seria muito menor. O grande problema desta possível conjuntura é que estes canais poderiam ser afetados pelos sinais e ruídos gerados por outros bastonetes, e não há evidência experimental que suporte esta hipótese.

O modelo computacional de BC ora apresentado pressupõe isodensidade de condutâncias glutamatérgicas por dendrito para qualquer valor de n_{rod} . O mesmo ocorreu para as correntes passivas ao longo da membrana. Logo, o aumento do comprimento dos dendritos primários e da convergência dos bastonetes não alterou a densidade de tais condutâncias, mas apenas a corrente total resultante. Como resultado, BCs com maiores dendritos primários possuíam uma maior condutância passiva total, tendo, como consequência um potencial de repouso mais hiperpolarizado e maiores

amplitudes de reposta. Entretanto, estas suposições não são necessariamente verdadeiras para uma célula bipolar *ON* real.

Sabe-se que há considerável plasticidade sináptica em neurônios retinianos que expressam receptores do tipo AMPA e NMDA, em semelhança ao que ocorre em outras sinapses do sistema nervoso central (Casimiro, Nawy, & Carroll, 2013; Jones, Pedisich, Carroll, & Nawy, 2014; Jones, Carroll, & Nawy, 2012; Xia, Nawy, & Carroll, 2007; Xia, Carroll, & Nawy, 2006). É possível que o número de receptores glutamatérgicos das células bipolares *ON* seja também ativamente regulado à medida que aumenta o número de dendritos secundários contactando bastonetes. Esta é uma possibilidade que ainda necessita ser investigada experimentalmente.

Além disso, como estes receptores são do tipo metabotrópico (Nakajima et al., 1993; Slaughter & Miller, 1981), também é possível que ocorram mudanças na cascata de amplificação intracelular das células bipolares *ON* com o aumento da convergência (Dunn, 2015), o que igualmente poderia levar a mudanças significativas de ganho na sinapse. De fato, esta cascata, embora ainda não completamente elucidada, apresenta vários fatores reguladores (Snellman, Kaur, Shen, & Nawy, 2008; Snellman & Nawy, 2004; Snellman & Nawy, 2002). Entretanto, a falta de dados empíricos a este respeito dificulta a realização de simulações computacionais. Nossos resultados, portanto, são válidos apenas no tocante à ausência de relação causal entre convergência e sensibilidade *a priori*, sem se considerar outros mecanismos de plasticidade sináptica.

Quanto à densidade de canais glutamatérgicos escolhida para este modelo, deve-se levar em conta a relação entre o aumento da condutância sináptica na BC e a polarização dos bastonetes (**Figura 16B**). Como a via bioquímica do mGluR6 na BC é ainda desconhecida, assim como suas propriedades eletrofisiológicas, a alteração na condutância sináptica (**Equação 2**) foi construída de modo a simular a relação *IV* das correntes de cálcio no terminal sináptico dos bastonetes (Thoreson, Babai, & Bartoletti, 2008; Verweij, Kamermans, & Spekreijse, 1996). A partir disso, a densidade da condutância sináptica foi ajustada de modo que a corrente máxima evocada gerasse uma resposta de aproximadamente 20 mV de amplitude na BC (**Figura 16B**), como a registrada em neurônios reais (Dacheux & Raviola, 1986; Saito, Kondo, & Toyoda, 1978; Saito, Kondo, & Toyoda, 1979).

Ao sugerir que a convergência modula as alterações no ganho da BC impingidas por sua morfologia, nossos resultados indiretamente apontam a importância de outras formas de controle de ganho agindo na integração de sinais desta sinapse. Por serem

ainda elusivos, os mecanismos de controle de ganho da BC ligada a bastonetes estão ainda sujeitos a certa impenetrabilidade experimental, e modelos computacionais apresentam um formalismo capaz de guiar a pesquisa empírica.

9. Conclusões

O escopo de nossa análise computacional foi aprofundar o entendimento de mecanismos dependentes de voltagem na integração do sinal visual, assim como suas possíveis interações com o crescimento neuronal. As simulações aqui apresentadas subsidiam as seguintes conclusões:

- a) BCs são anisopotenciais: suas pontas dendríticas são mais despolarizadas do que o resto da célula, em função da distribuição heterogênea de canais iônicos pela membrana plasmática e da alta resistência de seus dendritos secundários;
- b) O crescimento dendrítico hiperpolariza o V_{rest} da BC e altera o ganho da sinapse entre bastonetes e BC. A intensidade de tal hiperpolarização é dependente e inversamente proporcional ao grau de convergência sináptica da BC e à intensidade de estimulação sináptica.
- c) O aumento na convergência sináptica da BC leva à redução das amplitudes de resposta, ocasionando uma perda de sensibilidade.
- d) O crescimento dendrítico aumenta a capacitância da BC e isso leva à diminuição da sua velocidade de resposta;
- e) A inserção de condutâncias dependentes de voltagem permeáveis a K^+ nas pontas dendríticas da BC torna V_{rest} menos dependente da geometria celular e grau de convergência, e, por conseguinte, tende a estabilizar o ganho da sinapse entre bastonetes e BC ao longo do crescimento dendrítico;
- f) A inserção de condutâncias dependentes de voltagem permeáveis a K^+ nas pontas dendríticas da BC estabiliza e aumenta a sua velocidade de resposta, tornando-a relativamente independente do crescimento dendrítico.

10. Referências

- Abbott, L. F., Varela, J. A., Sen, K., & Nelson, S. B. (1997). Synaptic depression and cortical gain control. *Science*, 275, 220-224.
- Anker, R. L. & Cragg, B. G. (1974). Estimation of the number of synapses in a volume of nervous tissue from counts in thin sections by electron microscopy. *Journal of Neurocytology*, 3, 725-735.
- Attwell, D., Tessier-Lavigne, M., Wilson, M., & Mobbs, P. (1987). Bipolar cell membrane currents and signal processing in the axolotl retina. *Neuroscience Research*, 6, 191-204.
- Awatramani, G. B. & Slaughter, M. M. (2000). Origin of transient and sustained responses in ganglion cells of the retina. *The Journal of Neuroscience*, 20, 7087-7095.
- Barlow, H. B. (1981). The Ferrier Lecture, 1980. Critical limiting factors in the design of the eye and visual cortex. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of Biological Character*, 212, 1-34.
- Barlow, H. B., Levick, W. R., & Yoon, M. (1971). Responses to single quanta of light in retinal ganglion cells of the cat. *Vision Research*, 3, 87-101.
- Beech, D. J. & Barnes, S. (1989). Characterization of a voltage-gated K⁺ channel that accelerates the rod response to dim light. *Neuron*, 3, 573-581.
- Berntson, A., Smith, R. G., & Taylor, W. R. (2004). Postsynaptic calcium feedback between rods and rod bipolar cells in the mouse retina. *Visual Neuroscience*, 21, 913-924.
- Bloomfield, S. A. & Hitchcock, P. F. (1991). Dendritic arbors of large-field ganglion cells show scaled growth during expansion of the goldfish retina: a study of morphometric and electrotonic properties. *The Journal of Neuroscience*, 11, 910-917.
- Bower, J. M. & Beeman, D. (1998). *The Book of Genesis: Exploring Realistic Neural Models with the GEneral NEural Simulation System*. (2 ed.) New York: Springer-Verlag.
- Boynton, R. M. & Whitten, D. N. (1970). Visual adaptation in monkey cones: recordings of late receptor potentials. *Science*, 170, 1423-1426.
- Burkhardt, D. A. (1994). Light adaptation and photopigment bleaching in cone photoreceptors in situ in the retina of the turtle. *The Journal of Neuroscience*, 14, 1091-1105.
- Carnevale, N. T. & Hines, M. L. (2006). *The Neuron Book*. Cambridge: Cambridge University Press.

- Casimiro, T. M., Nawy, S., & Carroll, R. C. (2013). Molecular mechanisms underlying activity-dependent AMPA receptor cycling in retinal ganglion cells. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 56, 384-392.
- Chance, F. S., Abbott, L. F., & Reyes, A. D. (2002). Gain modulation from background synaptic input. *Neuron*, 35, 773-782.
- Coleman, P. A. & Miller, R. F. (1989). Measurement of passive membrane parameters with whole-cell recording from neurons in the intact amphibian retina. *Journal of Neurophysiology*, 61, 218-230.
- Connaughton, V. P., Graham, D., & Nelson, R. (2004). Identification and morphological classification of horizontal, bipolar, and amacrine cells within the zebrafish retina. *The Journal of Comparative Neurology*, 477, 371-385.
- Copenhagen, D. R., Hemila, S., & Reuter, T. (1990). Signal Transmission Through the Dark-Adapted Retina of the Toad (*Bufo-Marinus*) - Gain, Convergence, and Signal Noise. *Journal of General Physiology*, 95, 717-732.
- Dacheux, R. F. & Raviola, E. (1986). The rod pathway in the rabbit retina: a depolarizing bipolar and amacrine cell. *The Journal of Neuroscience*, 6, 331-345.
- Detwiler, P. B., Hodgkin, A. L., & McNaughton, P. A. (1978). A surprising property of electrical spread in the network of rods in the turtle's retina. *Nature*, 274, 562-565.
- DeVries, S. H. (2000). Bipolar cells use kainate and AMPA receptors to filter visual information into separate channels. *Neuron*, 28, 847-856.
- Dhingra, N. K., Freed, M. A., & Smith, R. G. (2005). Voltage-gated sodium channels improve contrast sensitivity of a retinal ganglion cell. *The Journal of Neuroscience*, 25, 8097-8103.
- Dowling, J. E. & Boycott, B. B. (1966). Organization of the Primate Retina: Electron Microscopy. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of Biological Character*, 166, 80-111.
- Dowling, J. E. & Werblin, F. S. (1969). Organization of retina of the mudpuppy, *Necturus maculosus*. I. Synaptic structure. *Journal of Neurophysiology*, 32, 315-338.
- Dunn, F. A. (2015). Photoreceptor ablation initiates the immediate loss of glutamate receptors in postsynaptic bipolar cells in retina. *The Journal of Neuroscience*, 35, 2423-2431.
- Dunn, F. A., Doan, T., Sampath, A. P., & Rieke, F. (2006). Controlling the gain of rod-mediated signals in the mammalian retina. *The Journal of Neuroscience*, 26, 3959-3970.
- Dunn, F. A. & Rieke, F. (2008). Single-photon absorptions evoke synaptic depression in the retina to extend the operational range of rod vision. *Neuron*, 57, 894-904.

- Dunn, F. A. & Rieke, F. (2006). The impact of photoreceptor noise on retinal gain controls. *Current Opinion in Neurobiology*, 16, 363-370.
- Ebrey, T. & Koutalos, Y. (2001). Vertebrate photoreceptors. *Progress in Retinal and Eye Research*, 20, 49-94.
- Ellis, K. J. & Duggleby, R. G. (1978). What happens when data are fitted to the wrong equation? *Biochemical Journal*, 171, 513-517.
- Euler, T., Haverkamp, S., Schubert, T., & Baden, T. (2014). Retinal bipolar cells: elementary building blocks of vision. *Nature Reviews in Neuroscience*, 15, 507-519.
- Euler, T. & Masland, R. H. (2000). Light-evoked responses of bipolar cells in a mammalian retina. *Journal of Neurophysiology*, 83, 1817-1829.
- Fahey, P. K. & Burkhardt, D. A. (2003). Center-surround organization in bipolar cells: symmetry for opposing contrasts. *Visual Neuroscience*, 20, 1-10.
- Falk, G. (1988). Signal transmission from rods to bipolar and horizontal cells: A synthesis. *Progress in Retinal Research*, 255-279.
- Field, G. D. & Rieke, F. (2002). Nonlinear signal transfer from mouse rods to bipolar cells and implications for visual sensitivity. *Neuron*, 34, 773-785.
- Freed, M. A. & Liang, Z. (2014). Synaptic noise is an information bottleneck in the inner retina during dynamic visual stimulation. *The Journal of Physiology*, 592, 635-651.
- Gollisch, T. & Meister, M. (2010). Eye smarter than scientists believed: neural computations in circuits of the retina. *Neuron*, 65, 150-164.
- Hack, I., Peichl, L., & Brandstatter, J. H. (1999). An alternative pathway for rod signals in the rodent retina: rod photoreceptors, cone bipolar cells, and the localization of glutamate receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96, 14130-14135.
- Hausser, M. & Mel, B. (2003). Dendrites: bug or feature? *Current Opinion in Neurobiology*, 13, 372-383.
- Hausser, M. & Roth, A. (1997). Estimating the time course of the excitatory synaptic conductance in neocortical pyramidal cells using a novel voltage jump method. *The Journal of Neuroscience*, 17, 7606-7625.
- Haverkamp, S., Grunert, U., & Wassle, H. (2001). Localization of kainate receptors at the cone pedicles of the primate retina. *Journal of Comparative Neurology*, 436, 471-486.
- Haydon, D. A., Requena, J., & Urban, B. W. (1980). Some effects of aliphatic hydrocarbons on the electrical capacity and ionic currents of the squid giant axon membrane. *Journal of Physiology*, 309, 229-245.

- Hines, M. L. & Carnevale, N. T. (2001). NEURON: a tool for neuroscientists. *Neuroscientist*, 7, 123-135.
- Hodgkin, A. L. & Huxley, A. F. (1952a). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *Journal of Physiology*, 117, 500-544.
- Hodgkin, A. L. & Huxley, A. F. (1952b). Propagation of electrical signals along giant nerve fibers. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of Biological Character*, 140, 177-183.
- Hodgkin, A. L. & Huxley, A. F. (1952c). The dual effect of membrane potential on sodium conductance in the giant axon of *Loligo*. *Journal of Physiology*, 116, 497-506.
- Hsu, A., Tsukamoto, Y., Smith, R. G., & Sterling, P. (1998). Functional architecture of primate cone and rod axons. *Vision Research*, 38, 2539-2549.
- Huang, S., Hong, S., & De, S. E. (2015). Non-linear leak currents affect mammalian neuron physiology. *Frontiers Cellular Neuroscience*, 9, 432.
- Hunt, D. M. & Peichl, L. (2014). S cones: Evolution, retinal distribution, development, and spectral sensitivity. *Visual Neuroscience*, 31, 115-138.
- Ishida, A. T., Stell, W. K., & Lightfoot, D. O. (1980). Rod and cone inputs to bipolar cells in goldfish retina. *The Journal of Comparative Neurology*, 191, 315-335.
- Johns, P. R. & Easter, S. S., Jr. (1977). Growth of the adult goldfish eye. II. Increase in retinal cell number. *The Journal of Comparative Neurology*, 176, 331-341.
- Jones, R. S., Carroll, R. C., & Nawy, S. (2012). Light-induced plasticity of synaptic AMPA receptor composition in retinal ganglion cells. *Neuron*, 75, 467-478.
- Jones, R. S., Pedisich, M., Carroll, R. C., & Nawy, S. (2014). Spatial organization of AMPAR subtypes in ON RGCs. *The Journal of Neuroscience*, 34, 656-661.
- Joselevitch, C. (2005). *The twilight zone: how mixed-input bipolar cells process rod and cone signals*. PhD University of Amsterdam.
- Joselevitch, C. (2009). Human retinal circuitry and physiology. *Psychology & Neuroscience*, 1, 137-161.
- Joselevitch, C. & Kamermans, M. (2005). Dendritic potassium channels in mixed-input ON bipolar cells. Investigative 46, *ARVO E-Abstract* 1123.
- Joselevitch, C. & Kamermans, M. (2007). Interaction between rod and cone inputs in mixed-input bipolar cells in goldfish retina. *Journal of Neuroscience Research*, 85, 1579-1591.
- Joselevitch, C. & Kamermans, M. (2009). Retinal parallel pathways: seeing with our inner fish. *Vision Research*, 49, 943-959.

- Joselevitch, C., Klooster, J., & Kamermans, M. (2007). Localization of metabotropic glutamate receptors in the outer plexiform layer of the goldfish retina. *Cell and Tissue Research*, 330, 389-403.
- Kaneko, A. (1970). Physiological and morphological identification of horizontal, bipolar and amacrine cells in goldfish retina. *Journal of Physiology*, 207, 623-633.
- Kaneko, A. & Hashimoto, H. (1969). Electrophysiological study of single neurons in the inner nuclear layer of the carp retina. *Vision Research*, 9, 37-55.
- Kaneko, A., Suzuki, S., Pinto, L. H., & Tachibana, M. (1991). Membrane currents and pharmacology of retinal bipolar cells: a comparative study on goldfish and mouse. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 98C, 115-127.
- Kaneko, A. & Tachibana, M. (1985). A voltage-clamp analysis of membrane currents in solitary bipolar cells dissociated from *Carassius auratus*. *Journal of Physiology*, 358, 131-152.
- Karschin, A. & Wassle, H. (1990). Voltage- and transmitter-gated currents in isolated rod bipolar cells of rat retina. *Journal of Neurophysiology*, 63, 860-876.
- Klooster, J., Nunes, C. B., Yazulla, S., & Kamermans, M. (2004). Postsynaptic localization of gamma-aminobutyric acid transporters and receptors in the outer plexiform layer of the goldfish retina: An ultrastructural study. *Journal of Comparative Neurology*, 474, 58-74.
- Klooster, J., Studholme, K. M., & Yazulla, S. (2001). Localization of the AMPA subunit GluR2 in the outer plexiform layer of goldfish retina. *Journal of Comparative Neurology*, 441, 155-167.
- Klumpp, D. J., Song, E. J., Ito, S., Sheng, M. H., Jan, L. Y., & Pinto, L. H. (1995). The Shaker-like potassium channels of the mouse rod bipolar cell and their contributions to the membrane current. *The Journal of Neuroscience*, 15, 5004-5013.
- Koch, K., McLean, J., Berry, M., Sterling, P., Balasubramanian, V., & Freed, M. A. (2004). Efficiency of information transmission by retinal ganglion cells. *Current Biology*, 14, 1523-1530.
- Kock, J. H. (1982a). Dendritic tree structure and dendritic hypertrophy during growth of the crucian carp eye. *Journal of Comparative Neurology*, 209, 275-286.
- Kock, J. H. (1982b). Neuronal addition and retinal expansion during growth of the crucian carp eye. *Journal of Comparative Neurology*, 209, 264-274.
- Kock, J. H. & Stell, W. K. (1985). Formation of new rod photoreceptor synapses onto differentiated bipolar cells in goldfish retina. *The Anatomical Record*, 211, 69-74.
- Koike, C., Obara, T., Uriu, Y., Numata, T., Sanuki, R., Miyata, K. et al. (2010). TRPM1 is a component of the retinal ON bipolar cell transduction channel in the mGluR6 cascade. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107, 332-337.

- Kuffler, S. W. (1953). Discharge patterns and functional organization of mammalian retina. *Journal of Neurophysiology*, 16, 37-68.
- Kurenny, D. E., Moroz, L. L., Turner, R. W., Sharkey, K. A., & Barnes, S. (1994). Modulation of ion channels in rod photoreceptors by nitric oxide. *Neuron*, 13, 315-324.
- Ladman, A. J. (1958). The Fine Structure of the Rod-Bipolar Cell Synapse in the Retina of the Albino Rat. *The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*, 4, 459-466.
- Lasater, E. M., Dowling, J. E., & Ripps, H. (1984). Pharmacological properties of isolated horizontal and bipolar cells from the skate retina. *The Journal of Neuroscience*, 4, 1966-1975.
- Liang, Z. & Freed, M. A. (2012). Cross inhibition from ON to OFF pathway improves the efficiency of contrast encoding in the mammalian retina. *Journal of Neurophysiology*, 108, 2679-2688.
- Liets, L. C., Eliasieh, K., van der List, D. A., & Chalupa, L. M. (2006). Dendrites of rod bipolar cells sprout in normal aging retina. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103, 12156-12160.
- Loewenstein, Y. & Sompolinsky, H. (2003). Temporal integration by calcium dynamics in a model neuron. *Nat. Neurosci.*, 6, 961-967.
- London, M. & Hausser, M. (2005). Dendritic computation. *Annu. Rev. Neurosci.*, 28, 503-532.
- London, M., Meunier, C., & Segev, I. (1999). Signal transfer in passive dendrites with nonuniform membrane conductance. *The Journal of Neuroscience*, 19, 8219-8233.
- Magee, J. C. (2000). Dendritic integration of excitatory synaptic input. *Nature Reviews in Neuroscience*, 1, 181-190.
- Mainen, Z. F. & Sejnowski, T. J. (1996). Influence of dendritic structure on firing pattern in model neocortical neurons. *Nature*, 382, 363-366.
- Major, G., Larkman, A. U., Jonas, P., Sakmann, B., & Jack, J. J. (1994). Detailed passive cable models of whole-cell recorded CA3 pyramidal neurons in rat hippocampal slices. *The Journal of Neuroscience*, 14, 4613-4638.
- Malchow, R. P. & Yazulla, S. (1986). Separation and light adaptation of rod and cone signals in the retina of the goldfish. *Vision Research*, 26, 1655-1666.
- Mao, B. Q., MacLeish, P. R., & Victor, J. D. (1998). The intrinsic dynamics of retinal bipolar cells isolated from tiger salamander. *Visual Neuroscience*, 15, 425-438.

- Mao, B. Q., MacLeish, P. R., & Victor, J. D. (2002). Relation between potassium-channel kinetics and the intrinsic dynamics in isolated retinal bipolar cells. *Journal of Computational Neuroscience*, 12, 147-163.
- McGuire, B. A., Stevens, J. K., & Sterling, P. (1984). Microcircuitry of bipolar cells in cat retina. *The Journal of Neuroscience*, 4, 2920-2938.
- Meister, M. & Berry, M. J. (1999). The neural code of the retina. *Neuron*, 22, 435-450.
- Mejias, J. F., Payeur, A., Selin, E., Maler, L., & Longtin, A. (2014). Subtractive, divisive and non-monotonic gain control in feedforward nets linearized by noise and delays. *Frontiers in Computational Neuroscience*, 8, 19.
- Mennerick, S., Zenisek, D., & Matthews, G. (1997). Static and dynamic membrane properties of large-terminal bipolar cells from goldfish retina: experimental test of a compartment model. *Journal of Neurophysiology*, 78, 51-62.
- Morgans, C. W., Zhang, J., Jeffrey, B. G., Nelson, S. M., Burke, N. S., Duvoisin, R. M. et al. (2009). TRPM1 is required for the depolarizing light response in retinal ON-bipolar cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 19174-19178.
- Nadeau, H. & Lester, H. A. (2000). Two-compartment model for whole-cell data analysis and transient compensation. *Journal of Neuroscience Methods*, 99, 25-35.
- Naka, K. I. & Rushton, W. A. (1966). S-potentials from luminosity units in the retina of fish (Cyprinidae). *Journal of Physiology*, 185, 587-599.
- Nakajima, Y., Iwakabe, H., Akazawa, C., Nawa, H., Shigemoto, R., Mizuno, N. et al. (1993). Molecular characterization of a novel retinal metabotropic glutamate receptor mGluR6 with a high agonist selectivity for L-2-amino-4-phosphonobutyrate. *Journal of Biological Chemistry*, 268, 11868-11873.
- Nijhawan, R. (2008). Visual prediction: psychophysics and neurophysiology of compensation for time delays. *Behavioral and Brain Sciences*, 31, 179-198.
- Normann, R. A. & Werblin, F. S. (1974). Control of retinal sensitivity. I. Light and dark adaptation of vertebrate rods and cones. *Journal of General Physiology*, 63, 37-61.
- Oesch, N. W. & Diamond, J. S. (2011). Ribbon synapses compute temporal contrast and encode luminance in retinal rod bipolar cells. *Nature Neuroscience*, 14, 1555-1561.
- Oltedal, L., Veruki, M. L., & Hartveit, E. (2009). Passive membrane properties and electrotonic signal processing in retinal rod bipolar cells. *Journal of Physiology (London)*, 587, 829-849.
- Pang, J. J., Gao, F., Lem, J., Bramblett, D. E., Paul, D. L., & Wu, S. M. (2010). Direct rod input to cone BCs and direct cone input to rod BCs challenge the traditional view of mammalian BC circuitry. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107, 395-400.

- Pinto, L. H. & Klumpp, D. J. (1998). Localization of potassium channels in the retina. *Progress in Retinal and Eye Research*, 17, 207-230.
- Purves, D., Augustine, G., & Fitzpatrick, D. (2012). *Neuroscience*. Sunderland (MA): Sinauer Associates.
- Rabinowitch, I., Segev, I., & London, M. (2008). A theoretical view of the neuron as a plastic input-output device. In G. Stuart, N. Spruston, & M. Hausser (Eds.), *Dendrites* (2nd ed., pp. 321-350). New York: Oxford University Press.
- Rall, W. (1962a). Electrophysiology of a dendritic neuron model. *Biophysical Journal*, 2, 145-167.
- Rall, W. (1962b). Theory of physiological properties of dendrites. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 96, 1071-1092.
- Rall, W. (1967). Distinguishing theoretical synaptic potentials computed for different soma-dendritic distributions of synaptic input. *J. Neurophysiol.*, 30, 1138-1168.
- Rall, W., Shepherd, G. M., Reese, T. S., & Brightman, M. W. (1966). Dendrodendritic synaptic pathway for inhibition in the olfactory bulb. *Exp. Neurol.*, 14, 44-56.
- Ramoia, A. S., Campbell, G., & Shatz, C. J. (1988). Dendritic growth and remodeling of cat retinal ganglion cells during fetal and postnatal development. *The Journal of Neuroscience*, 8, 4239-4261.
- Rodieck, R. W. (1998). *The first steps in seeing*. Sunderland: Sinauer Associates.
- Rothman, J. S., Cathala, L., Steuber, V., & Silver, R. A. (2009). Synaptic depression enables neuronal gain control. *Nature*, 457, 1015-1018.
- Saito, T., Kondo, H., & Toyoda, J. (1978). Rod and cone signals in the on-center bipolar cell: their different ionic mechanisms. *Vision Research*, 18, 591-595.
- Saito, T., Kondo, H., & Toyoda, J. I. (1979). Ionic mechanisms of two types of on-center bipolar cells in the carp retina. I. The responses to central illumination. *Journal of General Physiology*, 73, 73-90.
- Sampath, A. P. & Rieke, F. (2004). Selective transmission of single photon responses by saturation at the rod-to-rod bipolar synapse. *Neuron*, 41, 431-443.
- Sanders, A. F. (1998). *Elements of Human Performance: Reaction Processes and Attention in Human Skill*. Mahwah, New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates.
- Schmitz, Y. & Witkovsky, P. (1997). Dependence of photoreceptor glutamate release on a dihydropyridine-sensitive calcium channel. *Neuroscience*, 78, 1209-1216.
- Scholes, J. H. (1975). Colour receptors, and their synaptic connexions, in the retina of a cyprinid fish. *P. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of Biological Character*, 270, 61-118.

- Schultz, K., Janssen-Bienhold, U., & Weiler, R. (2001). Selective synaptic distribution of AMPA and kainate receptor subunits in the outer plexiform layer of the carp retina. *Journal of Comparative Neurology*, 435, 433-449.
- Schwartz, G. W. & Rieke, F. (2013). Controlling gain one photon at a time. *Elife*, 2, e00467.
- Scott, A. C. (1975). The electrophysics of a nerve fiber. *Reviews of Modern Physics*, 47.
- Segev, I., Friedman, A., White, E. L., & Gutnick, M. J. (1995). Electrical consequences of spine dimensions in a model of a cortical spiny stellate cell completely reconstructed from serial thin sections. *J.Comput.Neurosci.*, 2, 117-130.
- Shapley, R. & Enroth-Cugell, C. (1984). Visual Adaptation and Retinal Gain Controls. *Progres in Retinal Research*, 3, 263–346.
- Shapley, R., Enroth-Cugell, C., Bonds, A. B., & Kirby, A. (1972). Gain control in the retina and retinal dynamics. *Nature*, 236, 352-353.
- Shen, Y., Heimel, J. A., Kamermans, M., Peachey, N. S., Gregg, R. G., & Nawy, S. (2009). A transient receptor potential-like channel mediates synaptic transmission in rod bipolar cells. *The Journal of Neuroscience*, 29, 6088-6093.
- Sherry, D. M. & Yazulla, S. (1993). Goldfish bipolar cells and axon terminal patterns: a golgi study. *Journal of Comparative Neurology*, 329, 188-200.
- Sjostrand, F. S. (1998a). Structure determines function of the retina, a neural center. 1. The synaptic ribbon complex. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, 30, 1-29.
- Sjostrand, F. S. (1998b). Structure determines function of the retina, a neural center. 2. The second, third and fourth circuits. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, 30, 193-206.
- Slaughter, M. M. & Miller, R. F. (1981). 2-amino-4-phosphonobutyric acid: a new pharmacological tool for retina research. *Science*, 211, 182-185.
- Smith, R. G., Freed, M. A., & Sterling, P. (1986). Microcircuitry of the dark-adapted cat retina: functional architecture of the rod-cone network. *The Journal of Neuroscience*, 6, 3505-3517.
- Snellman, J., Kaur, T., Shen, Y., & Nawy, S. (2008). Regulation of ON bipolar cell activity. *Progress in Retinal and Eye Research*, 27, 450-463.
- Snellman, J. & Nawy, S. (2002). Regulation of the retinal bipolar cell mGluR6 pathway by calcineurin. *Journal of Neurophysiology*, 88, 1088-1096.
- Snellman, J. & Nawy, S. (2004). cGMP-dependent kinase regulates response sensitivity of the mouse on bipolar cell. *The Journal of Neuroscience*, 24, 6621-6628.

- Spruston, N., Jaffe, D. B., & Johnston, D. (1994). Dendritic attenuation of synaptic potentials and currents: the role of passive membrane properties. *Trends in Neuroscience*, 17, 161-166.
- Stell, W. K. (1978). Inputs to bipolar cell dendrites in goldfish retina. *Sensory Processes*, 2, 339-349.
- Sterling, P. (2004). How retinal circuits optimize the transfer of visual information. In L.M.Chalupa & J. S. Werner (Eds.), *The Visual Neurosciences* (pp. 234-259). Cambridge: MIT Press.
- Stockman, A. & Sharpe, L. T. (2006). Into the twilight zone: the complexities of mesopic vision and luminous efficiency. *Ophthalmic & Physiological Optics*, 26, 225-239.
- Stuart, G. & Spruston, N. (1998). Determinants of voltage attenuation in neocortical pyramidal neuron dendrites. *The Journal of Neuroscience*, 18, 3501-3510.
- Taylor, W. R. & Smith, R. G. (2004). Transmission of scotopic signals from the rod to rod-bipolar cell in the mammalian retina. *Vision Research*, 44, 3269-3276.
- Tessier-Lavigne, M., Attwell, D., Mobbs, P., & Wilson, M. (1988). Membrane currents in retinal bipolar cells of the axolotl. *Journal of General Physiology*, 91, 49-72.
- Thoreson, W. B., Babai, N., & Bartoletti, T. M. (2008). Feedback from horizontal cells to rod photoreceptors in vertebrate retina. *The Journal of Neuroscience*, 28, 5691-5695.
- van Genderen, M. M., Bijveld, M. M., Claassen, Y. B., Florijn, R. J., Pearing, J. N., Meire, F. M. et al. (2009). Mutations in TRPM1 are a common cause of complete congenital stationary night blindness. *The American Journal of Human Genetics*, 85, 730-736.
- van Rossum, M. C. & Smith, R. G. (1998). Noise removal at the rod synapse of mammalian retina. *Visual Neuroscience*, 15, 809-821.
- Vardi, N., Duvoisin, R., Wu, G., & Sterling, P. (2000). Localization of mGluR6 to dendrites of ON bipolar cells in primate retina. *The Journal of Comparative Neurology*, 423, 402-412.
- Verweij, J., Kamermans, M., & Spekrijse, H. (1996). Horizontal cells feed back to cones by shifting the cone calcium-current activation range. *Vision Research*, 36, 3943-3953.
- Volgyi, B., Deans, M. R., Paul, D. L., & Bloomfield, S. A. (2004). Convergence and segregation of the multiple rod pathways in mammalian retina. *The Journal of Neuroscience*, 24, 11182-11192.
- Vroman, R., Klaassen, L. J., & Kamermans, M. (2013). Ephaptic communication in the vertebrate retina. *Frontiers in Human Neuroscience*, 7, 612.

- Warrant, E. J. & Locket, N. A. (2004). Vision in the deep sea. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 79, 671-712.
- Wassle, H. (2004). Parallel processing in the mammalian retina. *Nature Reviews in Neuroscience*, 5, 747-757.
- Werblin, F. S. & Dowling, J. E. (1969). Organization of the retina of the mudpuppy, *Necturus maculosus*. II. Intracellular recording. *Journal of Neurophysiology*, 32, 339-355.
- Werblin, F. S. & Roska, B. (2007). The movies in our eyes. *Scientific American*, 296, 72-79.
- Witkovsky, P., Schmitz, Y., Akopian, A., Krizaj, D., & Tranchina, D. (1997). Gain of rod to horizontal cell synaptic transfer: relation to glutamate release and a dihydropyridine-sensitive calcium current. *The Journal of Neuroscience*, 17, 7297-7306.
- Witkovsky, P. & Stell, W. K. (1973). Retinal structure in the smooth dogfish, *Mustelus canis*: light microscopy of bipolar cells. *Journal of Comparative Neurology*, 148, 47-59.
- Xia, Y., Carroll, R. C., & Nawy, S. (2006). State-dependent AMPA receptor trafficking in the mammalian retina. *The Journal of Neuroscience*, 26, 5028-5036.
- Xia, Y., Nawy, S., & Carroll, R. C. (2007). Activity-dependent synaptic plasticity in retinal ganglion cells. *The Journal of Neuroscience*, 27, 12221-12229.
- Xu, Y., Orlandi, C., Cao, Y., Yang, S., Choi, C. I., Pagadala, V. et al. (2016). The TRPM1 channel in ON-bipolar cells is gated by both the alpha and the betagamma subunits of the G-protein Go. *Scientific Reports*, 6, 20940.
- Zeile, A. J. & Cao, D. (2014). Vision under mesopic and scotopic illumination. *Frontiers in Psychology*, 5, 1594.

11. Atividades acadêmicas

11.1. Disciplinas cursadas

PSE5894 - Técnicas de Preparação de Trabalhos Científicos

Conceito: A **Frequência:** 100 **Créditos:** 2

Início: 16/03/2015 **Término:** 29/03/2015

PSE5883 - Genética e Evolução da Visão de Cores

Conceito: A **Frequência:** 86 **Créditos:** 8

Início: 13/03/2015 **Término:** 07/05/2015

NEC5747 - Metodologia da Pesquisa em Psicofisiologia Sensorial

Conceito: A **Frequência:** 85,5 **Créditos:** 4

Início: 10/03/2015 **Término:** 01/06/2015

BMB5795 - Neurociência Básica

Conceito: A **Frequência:** 100 **Créditos:** 8

Início: 30/04/2015 **Término:** 08/07/2015

PSE5891- Estratégias Retinianas de Codificação Visual

Conceito: A **Frequência:** 100 **Créditos:** 2

Início: 14/09/2015 **Término:** 27/09/2015

11.2. Congressos

Simpósio BRAVO 2015 pré-FeSBE

Data: 08/09/2015

Local: FMUSP, São Paulo - SP

Trabalho: Controle de Ganho na célula bipolar

Modalidade: Oral

10th International Brazilian Meeting on Cognitive Science

Data: 07 a 11/12/2015

Local: POLI-USP, São Paulo - SP

Trabalho: Gain Control at the First Visual Synapse

Modalidade: Paineis

Simpósio BRAVO 2016 pré-FeSBE

Data: 29/08/2016

Local: Hotel Bourbon, Foz do Iguaçu

Trabalho: Controle de ganho na retina: um modelo computacional da integração de sinais na célula bipolar ligada a bastonetes

Modalidade: Oral

XXXI Reunião Anual da FeSBE

Data: de 29/08/2016 a 01/09/2016

Local: Hotel Bourbon, Foz do Iguaçu

Trabalho: Controle de ganho na retina: um modelo computacional da integração de sinais na célula bipolar ligada a bastonetes

Modalidade: Oral e apresentação de painel

11.3. Cursos

School on Complex Networks and Applications to Neuroscience

Link: http://www.ictpsaifr.org/?page_id=6212

Data: 28/09 a 16/10/2015 **Local:** Instituto de Física Teórica UNESP.

VI Latin American School on Computational Neuroscience

Link: http://sisne.org/?page_id=34&lang=en

Data: 3 a 29/01/ 2016 **Local:** NeuroMat, IME-USP.

11.4. Prêmios

2016 - Prêmio BRAVO, 3º lugar, pelo trabalho 'Controle de Ganho na Retina: Um modelo computacional da integração de sinais na célula bipolar ligada a bastonetes', XXXI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental – FeSBE, realizada em Foz do Iguaçu – PR (2016).

2016 – Menção Honrosa, pelo trabalho 'Controle de Ganho na Retina: Um modelo computacional da integração de sinais na célula bipolar ligada a bastonetes', XXXI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental – FeSBE, realizada em Foz do Iguaçu – PR (2016).

11.5. Publicações

Leopoldo, K.; Joselevitch, C. (2016) O papel da neurociência computacional no estudo dos processos cognitivos. *Revista Psicologia USP* (artigo completo, submetido, Anexo 1, sessão 13.1).

Leopoldo, K., Decleva, D., Kamermans, M., Joselevitch, C. (2016) Gain Control at the First Visual Synapse. *Journal of Cognitive Systems Research* (resumo, aceito, Anexo 2, sessão 13.2)

Leopoldo, K.; Joselevitch, C. (2016) Controle de Ganho na Retina: Um modelo computacional da integração de sinais na célula bipolar ligada a bastonetes. *Resumos da XXXI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental* (resumo, aceito, Anexo 3, sessão 13.3).

12. Apêndice

12.1. Área percentual dos dendritos primários e secundários da BC para diferentes simulações. (A) Histograma dos valores percentuais dos dendritos primários em relação à área total da BC em função da convergência de bastonetes (n_{rod}). Colunas com a mesma cor indicam os mesmos valores de L_{dend} , cada um com um valor diferente de n_{rod} . (B) Histograma dos valores percentuais dos dendritos secundários (incluindo os caules dendríticos e botões sinápticos) em relação à área total da BC em função de L_{dend} , para diferentes valores de n_{rod} . Colunas com a mesma cor indicam mesmo valor de n_{rod} , cada uma para um diferente valor de L_{dend} .

12.2. Matriz com os valores de L_{dend} e n_{rod} testados nas simulações. Todas as simulações realizadas podem ser sumarizadas na forma de uma única matriz. Cada linha representa um valor de convergência (n_{rod}) na célula bipolar (BC). Cada coluna representa um valor de comprimento dos dendritos primários (L_{dend}). Logo, se percorrermos a matriz horizontalmente (e.g., células verdes), passando por várias colunas de uma única linha, obtemos as simulações em que apenas L_{dend} varia, ficando n_{rod} fixo. Se percorrermos a diagonal da matriz (células rosa), obtemos as simulações em que L_{dend} e n_{rod} variam concomitantemente. Se percorrermos a matriz verticalmente (e.g., células azuis), passando por várias linhas em uma mesma coluna, obtemos as simulações em que apenas n_{rod} varia, ficando L_{dend} fixo.

L_{dend}

n_{rod}

$n_{\text{rod}} = 24$ $L_{\text{dend}} = 2.5$	$n_{\text{rod}} = 24$ $L_{\text{dend}} = 5$	$n_{\text{rod}} = 24$ $L_{\text{dend}} = 10$	$n_{\text{rod}} = 24$ $L_{\text{dend}} = 15$	$n_{\text{rod}} = 24$ $L_{\text{dend}} = 20$	$n_{\text{rod}} = 24$ $L_{\text{dend}} = 25$
$n_{\text{rod}} = 48$ $L_{\text{dend}} = 2.5$	$n_{\text{rod}} = 48$ $L_{\text{dend}} = 5$	$n_{\text{rod}} = 48$ $L_{\text{dend}} = 10$	$n_{\text{rod}} = 48$ $L_{\text{dend}} = 15$	$n_{\text{rod}} = 48$ $L_{\text{dend}} = 20$	$n_{\text{rod}} = 48$ $L_{\text{dend}} = 25$
$n_{\text{rod}} = 96$ $L_{\text{dend}} = 2.5$	$n_{\text{rod}} = 96$ $L_{\text{dend}} = 5$	$n_{\text{rod}} = 96$ $L_{\text{dend}} = 10$	$n_{\text{rod}} = 96$ $L_{\text{dend}} = 15$	$n_{\text{rod}} = 96$ $L_{\text{dend}} = 20$	$n_{\text{rod}} = 96$ $L_{\text{dend}} = 25$
$n_{\text{rod}} = 144$ $L_{\text{dend}} = 2.5$	$n_{\text{rod}} = 144$ $L_{\text{dend}} = 5$	$n_{\text{rod}} = 144$ $L_{\text{dend}} = 10$	$n_{\text{rod}} = 144$ $L_{\text{dend}} = 15$	$n_{\text{rod}} = 144$ $L_{\text{dend}} = 20$	$n_{\text{rod}} = 144$ $L_{\text{dend}} = 25$
$n_{\text{rod}} = 192$ $L_{\text{dend}} = 2.5$	$n_{\text{rod}} = 192$ $L_{\text{dend}} = 5$	$n_{\text{rod}} = 192$ $L_{\text{dend}} = 10$	$n_{\text{rod}} = 192$ $L_{\text{dend}} = 15$	$n_{\text{rod}} = 192$ $L_{\text{dend}} = 20$	$n_{\text{rod}} = 192$ $L_{\text{dend}} = 25$
$n_{\text{rod}} = 240$ $L_{\text{dend}} = 2.5$	$n_{\text{rod}} = 240$ $L_{\text{dend}} = 5$	$n_{\text{rod}} = 240$ $L_{\text{dend}} = 10$	$n_{\text{rod}} = 240$ $L_{\text{dend}} = 15$	$n_{\text{rod}} = 240$ $L_{\text{dend}} = 20$	$n_{\text{rod}} = 240$ $L_{\text{dend}} = 25$

13. Anexos:

13.1. Artigo enviado para publicação na revista Psicologia USP

Novembro, 2016

A Neurociência Computacional no Estudo dos Processos Cognitivos
Computational Neuroscience in the Study of Cognitive Processes
Les Neurosciences Computationnelles Dans L'Étude des Processus Cognitifs
La Neurociencia Computacional en el Estudio de los Procesos Cognitivos

Kae Leopoldo

Programa de Pós-Graduação em Psicologia Experimental

Departamento de Psicologia Experimental

Instituto de Psicologia

Universidade de São Paulo

Christina Joselevitch^{14,15}

Programa de Pós-Graduação em Psicologia Experimental

Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Comportamento

Departamento de Psicologia Experimental

Instituto de Psicologia

Universidade de São Paulo

¹⁴ **Endereço completo para correspondência:** Profa. Dra. Christina Joselevitch,
Departamento de Psicologia Experimental, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo,
Av. Professor Mello Moraes 1721, 05508-030 São Paulo - SP.

¹⁵ **Apoio financeiro:** FAPESP (2010/16469-0) e CNPq (469797/2014-2 e 830608/1999-0).

Resumo

Nas últimas décadas, o estudo de processos cognitivos vem sendo influenciado por duas tendências: a legitimação de diversas formas e níveis de estudo e a tentativa de integração multidisciplinar. A primeira teve grande importância na segunda metade do século XX, quando linhas de pesquisa na psicologia cognitiva e nas neurociências fortaleceram-se. Nesse sentido, destacam-se os três níveis de Marr (computacional, algorítmico e implementacional) como uma forma de estruturar o estudo dos processos cognitivos. A segunda tendência é mais recente e busca, apoiada na primeira, aprofundar o entendimento dos processos cognitivos em suas diversas escalas e integrar diversos paradigmas de estudos, buscando consiliência teórica. O intento deste artigo é apresentar a neurociência computacional e suas possíveis contribuições para a psicologia cognitiva, articulando, através dos três níveis de Marr, uma base teórica que explicita o papel de cada uma das disciplinas e as suas possíveis interações.

Descritores: cognição, neurociência computacional, memória, aprendizado, visão

1. Introdução

Já datam de cerca de meio século os seminários que ajudaram a moldar a pesquisa em ciências cognitivas. Neles, Noam Chomsky (1928-presente) argumenta que, como ponto de partida, necessita-se de modelos de cognição e comportamento dissociados de parâmetros fisiológicos ou de quaisquer outras causas físicas, muito embora estes tenham que, posteriormente, ser buscados para dar sustentação às hipóteses levantadas pelos modelos cognitivos (seus seminários encontram-se em Chomsky, 2009). Esse movimento em duas etapas - modelos abstratos e busca por sustentação físico-biológica - permite que limitações técnicas não atravanquem a criação de modelos e consequente levantamento de hipóteses. Desde então, graças a avanços teóricos e tecnológicos nas neurociências, modelos abstratos gerados por psicólogos cognitivos podem buscar amparo em mecanismos fisiológicos, ganhando robustez teórica. Com isso, considerações abstratas acerca da cognição e comportamento humanos passam a ser instanciadas levando-se em conta as restrições espaço-temporais impingidas pelo sistema nervoso.

Paralelamente ao desenvolvimento das ciências cognitivas, surgem pesquisas no campo da neurociência computacional, buscando entender os mecanismos de codificação e comunicação empregados pelas circuitarias neuronais do sistema nervoso. Os avanços dessa área de pesquisa permitem, hoje, construir uma ponte mais sólida que visa a possível conexão dos diversos modelos de cognição e comportamento aos circuitos neuronais correspondentes (Eliasmith, 2007), contribuindo para o estudo das bases físicas e biológicas da cognição humana.

O objetivo do presente artigo é analisar a relação entre as ciências cognitivas e a neurociência computacional, apresentando uma base conceitual já existente que permite a integração de vários níveis de entendimento da cognição, dando igual importância a todos eles. Por fim, apresentaremos, com base em pesquisas no campo da neurociência sensorial, propostas cujo escopo visa a construção de uma relação entre a dinâmica neuronal e os processos cognitivos como um todo. Dessa maneira, esperamos contribuir

para uma maior inserção da psicologia na fértil multidisciplinaridade presente tanto nas ciências cognitivas quanto nas neurociências.

2. A visão filosófica da cognição

Embora na antiguidade já houvesse tentativas de dissecar os processos que permitem ao homem obter conhecimento, pensar e resolver problemas, em boa parte das civilizações antigas, incluindo na Grécia, o cérebro não era considerado responsável pelas funções mentais. A “razão” (*ratio*) era considerada parte da alma, e esta residia no coração, a despeito de filósofos como Demócrito (460-370 a.c.) e Platão (429-348 a.c.) acreditarem que a cabeça estaria relacionada com o intelecto (Finger, 1994). Mesmo Aristóteles (384-322 a.c.), um dos primeiros a tratar de aspectos psicológicos do homem, como sonhos, percepção e memória, aderiu à teoria cardiocêntrica, relegando à região cerebral a função de controlar a temperatura do coração (Clarke, 1963).

Na era moderna, René Descartes (1596-1650) propôs a distinção entre o ser pensante (*res cogitans*) e a maquinaria biológica responsável pela homeostase corpórea (*res extensa*), dissociando o corpo da mente (Descartes, 1637/2008a, 1641/2008b). Tal visão veio a ser conhecida como 'dualismo'. Embora mesmo em sua época o pensamento cartesiano tenha sido contestado com base em inconsistências a respeito da integração mente-corpo (para revisão, ver Finger, 1994), este ainda permeia várias áreas da psicologia, que advogam a separação entre mente e cérebro a despeito de toda uma casuística clínica apontando para um papel proeminente não apenas do cérebro, mas também do restante do corpo, na construção daquilo que chamamos de “eu” (Damasio, 1994).

Uma contribuição assaz significativa de Descartes à filosofia e às ciências em geral, entretanto, advém do método por ele idealizado para obtenção sistemática de conhecimento (Descartes, 1637/2008a). As quatro premissas do método cartesiano, que constituem a base estrutural das ciências modernas, são: (i) aceitar como verdade apenas o indubitável; (ii) dividir todas as questões em partes manejáveis; (iii) iniciar dos níveis mais simples para ascender aos complexos; (iv) revisar frequentemente para poder abarcar o argumento todo.

David Hume (1711-1776), ao dissecar o entendimento humano e, em particular, processos indutivos (generalizações) de pensamento, apontou não existir substrato puramente lógico para inferências indutivas, isto é, para generalizar conhecimentos a partir de acontecimentos particulares: no exemplo clássico, Hume aponta que não há nada que assegure o raiar do sol, muito embora tal evento ocorra desde tempos imemoriais. O fato de prevermos tal evento decorre apenas de sua recorrência, implicando na habituação do intelecto (Hume, 1748/1975). O ponto crítico da argumentação de Hume é que a indução é fundamentalmente diferente da dedução (na qual premissas corretas implicam em conclusões corretas), e necessita de memória e previsão, passíveis de erro. Apesar de Hume ser mais conhecido pelo problema que levantou do que pela solução que deu a ele, sua importância é refletida na influência que exerceu sobre outros grandes nomes da epistemologia, como Kant e Popper (Popper, 2010, 1934/2013).

Outro dos grandes trabalhos clássicos da cognição humana é o de Kant, que propôs, num verdadeiro *tour de force*, um modelo de intelecto humano que ainda hoje influencia os estudos em psicologia cognitiva (Kant, 1783/2014). Seu trabalho é considerado, dentro da filosofia, um dos maiores escrutínios do intelecto humano, pois apresenta e destaca três diferentes faculdades intelectuais que são, por sua vez, agudamente detalhadas: a sensibilidade, na qual ocorre a recepção dos objetos do mundo (presentes no tempo e no espaço), o entendimento, que aplica categorias e conceitos aos objetos dados na sensibilidade, e a razão, que modula o entendimento, permitindo o seu bom ou mau uso, o que se traduz, para o autor, em usos dentro ou fora da experiência possível (Dutra, 2010).

Até o advento da psicologia enquanto área científica, a abordagem filosófica predominou no estudo de como o ser humano pensa, e muitas linhas de pesquisa atuais remontam a problemas filosóficos: notadamente, o dualismo cartesiano é o mais frequente. Mais recentemente, modelos que buscam ativamente integrar a cognição ao organismo vêm predominando no campo das ciências cognitivas e das neurociências (para revisão, ver Damasio, 1994). Nas próximas sessões, discorreremos a respeito das tentativas de integração entre mente, enquanto tema de estudo da psicologia, e cérebro, enquanto tema de estudo da neurofisiologia (Barlow, 1972). Destaque será dado à

utilidade da neurociência computacional na integração entre fenômenos psicológicos e mecanismos fisiológicos.

3. Abordagens mais recentes para o estudo da cognição

Atualmente, as ciências cognitivas tratam a cognição como resultado de processos de extração e processamento de informação (para uma visão geral, ver Benjafield, 1997). Embora essa definição encontre pouca oposição, cabe ressaltar que definições no âmbito cognitivo, por não serem palpáveis ou objetivas, devem também considerar aspectos particulares. Na maioria das ciências, por exemplo, conceitos versam sobre entidades que podem ser *'parte de'* ou *'um tipo de'*, sem sobreposição entre as categorias. Assim, diz-se que *'o coração é um tipo de órgão'*, mas não que *'o órgão faz parte do coração'*. Em muitos conceitos acerca da cognição, contudo, há sobreposição de categorias; podemos dizer que *'resolver problemas é um tipo de raciocínio'* e também que *'raciocinar faz parte da resolução de problemas'* (Benjafield, 1997). Desse modo, é preciso salientar que o estudo da cognição obedece regras particulares, pois existe uma complexidade inerente à definição de conceitos que não se relacionam diretamente com um objeto palpável.

Grande parte dos trabalhos teóricos da psicologia cognitiva lida, assim, com modelos abstratos de cognição, que não se preocupam com restrições espaciais e temporais. Apesar disso, vem crescendo o número de estudos que, seguindo o método cartesiano mais estritamente, buscam a relação entre processos cognitivos e seus correlatos neuroanatômicos, como aqueles utilizando ressonância magnética funcional (para exemplo, ver Barch et al., 2013; Berman, Jonides, & Nee, 2006; Fornito, Zalesky, & Breakspear, 2015; Van Essen et al., 2013). De fato, grande parte dos esforços da neuropsicologia contribuem para o entendimento de tais correlatos, que possuem aplicação prática em diagnósticos psiquiátricos e tratamentos psicológicos (para uma discussão, ver Williams, 2016; Williams et al., 2016). Neste tipo de abordagem, o conceito de cognição adequa-se às restrições espaciais impostas pela anatomia do sistema nervoso.

Em paralelo à neuropsicologia, a neurociência computacional busca correlatos morfofuncionais para a cognição que, muito embora tenham efeito prático menos imediato, são igualmente importantes: eles visam entender como os processos

cognitivos estão relacionados com o funcionamento das circuitarias neuronais e, mais precisamente, qual a importância de cada neurônio para o fenômeno global da cognição (Barlow, 1972). O entendimento dessa relação equaciona as restrições temporais dos processos cognitivos de maneira muito mais precisa. A pergunta geral é clara: como tais circuitos implicam na cognição? Para respondê-la, vale a segunda premissa do método cartesiano (Descartes, 1637/2008a): dividir para conquistar. Assim, contribuições de outras áreas, como da fisiologia e das ciências da computação, devem ser levadas em conta (ver Churchland & Sejnowski, 1992).

Enquanto estudos fisiológicos possuem séculos de história, a ciência da computação consolidou-se no século XX como disciplina distinta da matemática (Brookshear & Brookshear, 2003; Newell & Simon, 1976). Em pouco tempo, avanços teóricos e tecnológicos, tanto nas ciências da computação quanto nas neurociências em geral, permitiram a analogia que aproxima o sistema nervoso de um computador, isto é, um sistema que processa informação. Desde então, modelos computacionais do funcionamento neuronal vêm sendo elaborados, em diferentes graus de abstração, buscando explicar o intuito computacional de alguma propriedade neuronal e, em muitos casos, sua consequência em termos cognitivos (Korn & Faber, 2005; Langley, Laird, & Rogers, 2009).

Nas sessões seguintes, a empreitada computacional será explicada com mais detalhes, assim como sua importância para a compreensão de processos cognitivos. Cabe, já de início, ressaltar que os resultados obtidos, tanto para as neurociências em geral quanto para a área de neurociência computacional, são muito incipientes para o objetivo último de compreender como o cérebro representa e computa estímulos. Todavia, estudos de circuitarias neuronais já se mostram úteis para a obtenção de robustez e detalhamento em diagnósticos de transtornos mentais (Williams, 2016; Williams et al., 2016), consumando a validade prática deste tipo de estudo. Em especial, é preciso salientar que, dados os problemas clássicos da Psicologia, que tentam compreender a complexidade do ser humano sob a égide de diversas orientações teóricas, estudos da computação neuronal estão muito distantes de um impacto revolucionário. Antes, mostram-se como férteis contribuições para a tarefa ainda fortemente qualitativa e teórica de explicar as interações do ser humano com o seu entorno.

No caso específico da visão, por exemplo, ainda há uma grande trilha para se conseguir mostrar experimentalmente como uma rede de interações neuronais complexas pode dar origem a um percepto (Barlow, 1972). É a própria dificuldade desses estudos que torna tão importante a formulação de hipóteses e teorias. Assim, a contribuição à neuropsicologia feita por Luria é devida, grande parte, ao seu modelo hierárquico das unidades funcionais do cérebro (Luria, 1973).

Do mesmo modo, os postulados de Donald Hebb(1904-1985) acerca da base neuronal da memória e aprendizagem tiveram um grande impacto nas neurociências em geral(Hebb, 1949/2002). Hebb organizou sua teoria em três postulados: o primeiro deles propõe que dois neurônios passam por alterações metabólicas e/ou estruturais quando seus padrões de ativação estão correlacionados, visando a facilitação da comunicação entre estes neurônios; o segundo postulado propõe que neurônios que possuem atividades correlacionadas formam um conjunto de células (*'cell-assembly'*) que possuem conexão funcional; o terceiro postulado apresenta a ativação temporalmente concatenada de vários conjuntos de células, chamada de sequência de fase (*'phasesequency'*), como o próprio fluxo do pensamento (Crick & Koch, 1990; Hebb, 2002). Temos, assim, um modelo qualitativo que, conforme a tradição cartesiana, parte do simples para o complexo, relacionando a atividade neuronal a processos cognitivos de extrema complexidade. A partir disso, muitos estudos experimentais e teóricos vêm corroborando, revisando e expandindo o trabalho, em grande medida teórico e qualitativo, de Hebb(Bliss & Lomo, 1973; Brown, Kairiss, & Keenan, 1990; Caporale & Dan, 2008; Crick & Koch, 1990; Kolb & Bryan, 2003; Lechner & Byrne, 1998).

3.1 O cérebro computacional

Tratar o sistema nervoso como um sistema que computa informação tem-se mostrado uma abordagem fértil e heurística (Churchland & Sejnowski, 1988, 1992; Eliasmith, 2007). Para realizar suas operações, o sistema nervoso precisa converter os sinais do ambiente em seu próprio código interno, estruturado em mudanças do potencial elétrico dos neurônios através de fluxos iônicos. No sistema visual, por exemplo, os fotorreceptores da retina convertem o sinal luminoso em sinal elétrico: um fóton é, assim, “computado”. Todavia, o processamento da informação visual, mesmo em suas primeiras etapas, é complexo; isso é muito claro quando pondera-se que, embora fotorreceptores computem fótons, o que o ser humano vê são entidades visuais muito

mais complexas e, de fato, um indivíduo é incapaz de dizer a quantidade de fótons presente nas coisas que vê (Field, Sampath, & Rieke, 2005; Hecht, Shlaer, & Pirenne, 1942).

Nesse sentido, a proposta de um 'cérebro computacional' deve estabelecer, com certa precisão, a natureza da computação feita pelo sistema nervoso. Churchland e Sejnowski (1992) reformulam esse inquérito da seguinte maneira: '*Quando pode um sistema físico ser chamado de computador?*'. Em meio a cautelosas considerações, a pergunta é respondida indicando que um computador é um sistema que recebe algum tipo de sinal (um conjunto de dados), converte-o e representa-o por meio de um código, executa operações determinadas e finitas sobre esse código – mudando suas configurações físicas – e gera, por fim, um resultado que pode ser associado ao sinal originalmente recebido.

Esta premissa cria uma área de pesquisa que lida com a complexidade do sistema nervoso e de suas computações. Como é natural de qualquer sistema biológico, são necessários diversos níveis de análise para caracterizar algum processo que ocorre no sistema nervoso. Em uma abordagem biológica, a biologia celular, a fisiologia e a anatomia estudam, em diversas escalas, a função e a estrutura do sistema de interesse. Em uma abordagem computacional, que segue os postulados do método cartesiano, é recomendável também a distinção de níveis para obter mais clareza sobre o sistema estudado. A sessão seguinte apresenta os níveis de análise propostos por David Marr (1945-1980), que organizam o estudo computacional do cérebro e podem, em certo sentido, abarcar modelos de cognição gerais.

3.2 Os três níveis de compreensão de Marr

Buscando sistematizar as formas através das quais pode-se compreender sistemas que processam informação, Marr (1982) utilizou como modelo o sistema visual, em um paradigma computacional, e propôs que a caracterização completa deste sistema ocorreria em três níveis: o *computacional*, o *algorítmico* e o *implementacional*. Originalmente, a apresentação destes níveis buscou formalizar as diferentes vertentes para o estudo de um sistema que processa informação - como o sistema nervoso - e delinear um espaço para abordagens que focassem justamente na parte mais abstrata deste sistema: a informação em si (Marr & Poggio, 1976). Os 'três níveis de Marr',

abordados em detalhes a seguir, são ainda hoje utilizados nas neurociências(Hardcastle & Hardcastle, 2015; Johnson, 2016; Peebles & Cooper, 2015).

O nível computacional. Este nível se refere, basicamente, à função global do sistema (visão, audição, tomada de decisão, etc.) estudado. Os processos e rotinas neuronais que ocorrem continuamente no sistema nervoso exercem uma função na interação do organismo com o ambiente. A todo momento, observamos o entorno e nossos olhos focam-se em uma amostra pequena das possibilidades visuais. O próprio foco visual, assim como as suas constantes mudanças, exige o controle de processos cognitivos atencionais, conscientes ou não(Dehaene & Naccache, 2001), e de rotinas de ajuste da musculatura dos olhos e do pescoço(Land, 2006; Westheimer & Blair, 1975). Uma caracterização desses fenômenos, no nível computacional,precisa levar em conta as tarefas visuais executadas e a informação extraída a partir de tais tarefas. Assim, não é tarefa do sistema visual contar e transmitir a quantidade de fótons que recai em cada fotorreceptor a cada momento. Antes, muito do que é feito nas primeiras etapas de processamento visual é a avaliação de contraste, isto é, das diferenças de luminância de uma porção da cena visual emrelação à outra (para uma discussão, ver Barlow, 1972). A partir desta informação inicial, circuitos visuais secundários e integrativos no cérebro constroem uma análise do entorno, transmitida a centros volitivos e motores para a tomada de decisão atencional e execução voluntária de movimentos oculares. No sistema visual, portanto, entender qual é o tipo de informação extraída é essencial para compreender a tarefa, e função, dos processos visuais (Cavanagh, 2011; Pinker, 1985).

O nível do algoritmo. Este nível refere-seao *modus operandi* do sistema estudado, ou seja, aquilo que o sistema faz para cumprir sua função. De modo geral, um algoritmo é definido, nas ciências da computação, como um método determinístico e finito (Blass & Gurevich, 2003), cujo intuito é solucionar um problema explícito. Para uma tarefa especificada, o algoritmo delineia, clara e exhaustivamente, todas as etapas computacionais que deverão ocorrer para finalizá-la. A caracterização algorítmica do sistema nervoso deve levar em conta, portanto, a estruturação e a metodologia das etapas computacionais. No sistema visual, esta caracterização algorítmica está fortemente presente em estudos que visam entender como diferentes células da retina ou do cérebro respondem preferencialmente a diferentes características do estímulo visual (Gollisch & Meister, 2010; Hubel & Wiesel, 1963; Masland, 2012).

O nível da implementação. Este nível, por fim, refere-se às estruturas físicas envolvidas em determinada função. São elas que executam os algoritmos necessários para a execução das tarefas daquele sistema. Sendo uma entidade física, qualquer sistema que processe informação deve estar instanciado no tempo e no espaço. A exemplo, um computador digitalé implementado, de maneira geral, de forma a possuir uma unidade de processamento e uma unidade de memória. Entender como ocorre o procedimento de mudança dos estados físicos do processador e da memória de tal computador a partir de determinados dados de entrada é entender como ele implementa fisicamente os algoritmos que devem ser executados para dar continuidade a uma desejada computação. A partir disso, pode-se adquirir entendimento das estruturas do computador e da relação entre elas. No sistema visual, o entendimento da implementação é parte essencial dos estudos que visam compreender a estrutura do sistema nervoso, através, por exemplo, de análises morfológicas (Masland, 2011; Masland et al., 2012).

3.3 Os níveis de Marr no estudo da cognição

Em uma primeira análise, os modelos gerados pela psicologia cognitiva parecem encaixar-se confortavelmente no nível de caracterização computacional de Marr, posto que salientam a função, sem atentar para a estrutura que os instancia. Todavia, a completa redução é problemática, pois caracterizações da psicologia cognitiva possuem escopo e metodologias distintas das disciplinas que estudam o processamento de informação em um paradigma quantitativo. A definição de 'computação' é, para Marr, muito mais matemática do que qualitativa: grande parte de seus esforços, por exemplo, foi empregada no estudo das implicações da relação entre sinal e ruído para o processamento de informação (Marr, 1982).

Um dos pontos de grande atração da abordagem computacional é que, como salienta Marr (1982), é mais fácil e instrutivo compreender um algoritmo sabendo qual a computação por ele exercida do que analisando apenas a sua instanciação física. Como existe certa independência entre os níveis, diversos algoritmos podem potencialmente exercer uma determinada computação, e estes algoritmos podem, por sua vez, ser implementados de diversas maneiras. Logo, é possível analisar cada nível de maneira relativamente desconexa dos outros; entretanto, a ampla compreensão dos sistemas

estudados só é possível através de estratégias de pesquisa que busquem a análise de todos os níveis.

Ao contrário dos modelos da psicologia cognitiva, o estudo dos circuitos neuronais abrange fortemente os níveis do algoritmo e da implementação, e isso é devido, em grande medida, à formulação e à menor escala dos problemas que tais estudos tentam solucionar. Como ficará claro na próxima sessão, os avanços no entendimento de sistemas sensoriais, principalmente a visão, proporcionados por tais estudos são, de fato, a maior parte do conhecimento científico adquirido na área (Cavanagh, 2011). Abordaremos a seguir os tipos de estudos que podem ser feitos no nível computacional levando-se em conta o grau de abstração espaço-temporal e restrições físico-matemáticas adotadas pelos modelos da psicologia cognitiva e da neurociência computacional.

4. O sistema visual como modelo para o estudo da cognição

No conjunto das tarefas realizadas pelo sistema nervoso, as mais bem entendidas são aquelas que encontram-se nas primeiras etapas da apreensão sensorial (Rodieck, 1998). Dentre os sentidos, a visão possui duas características essenciais para entender a utilidade de uma base computacional para a cognição. A primeira delas é que, ao contrário dos outros sentidos, o processamento da informação visual acontece inteiramente no sistema nervoso central (Ames & Nesbett, 1981). Isso torna a visão mais próxima de tarefas cognitivas complexas realizadas, em grande medida, sem a participação do sistema nervoso periférico (Cavanagh, 2011). O segundo ponto é que a visão é um dos sentidos mais bem caracterizados experimentalmente; o grande arcabouço de estudos na área permite consistência teórica, resultando em maior rigor nas propostas que buscam integrar o conhecimento adquirido dentro de paradigmas de pesquisa distintos. Assim, uma base computacional para a visão e cognições visuais tem grande possibilidade de ser refutada ou corroborada (Cavanagh, 2011; Marr, 1982; Torben-Nielsen & Stiefel, 2010).

Uma descrição pertinente da visão deve levar em conta duas grandes tarefas que o sistema visual desempenha: *mensuração* e *inferência* (Cavanagh, 2011; Marr, 1982; Tsao & Livingstone, 2008). Por *mensuração*, caracterizam-se as etapas de extração de informação visual, levando-se em conta toda a pletora de neurônios visuais (são mais de

sessenta tipos apenas na retina, ver Masland et al., 2012), com campos receptivos distintos, otimizados para extrair diferentes informações do campo visual. Nesse sentido, a neurociência computacional, ao apresentar modelos que contribuem para o entendimento de processos de mensuração visual, pode contribuir para a compreensão do sistema visual nos três níveis de Marr. A exemplo, há uma série de estudos utilizando modelos computacionais para compreender a absorção de fótons por fotorreceptores em ambientes luminosos nos quais a quantidade de luz é muito baixa (Hamer, Nicholas, Tranchina, Liebman, & Lamb, 2003; T.D. Lamb & Pugh, 2006; Lyubarsky & Pugh, 1996), ou estudos analisando a integração destas absorções por neurônios pós-receptoriais (Berntson, Smith, & Taylor, 2004; Lipin, Smith, & Taylor, 2010).

No estudo da visão no nível neuronal, há uma miríade de trabalhos combinando técnicas de morfologia, fisiologia e modelagem computacional para investigar como células amácrinas da retina geram seletividade à direção do movimento nos seus parceiros pós-sinápticos (Masland et al., 2012; Taylor & Smith, 2012; Tukker, Taylor, & Smith, 2004). As evidências morfológicas e eletrofisiológicas dão uma explicação geral do fenômeno de seletividade à direção, (Taylor, He, Levick, & Vaney, 2000; Taylor & Smith, 2012), mas o modelo computacional permite uma caracterização mais rica e de caráter preditivo, e não apenas descritiva (Stuart, Spruston, & Hausser, 2007).

A outra grande tarefa realizada pelo sistema visual é a *deinferência*, e esta relaciona-se a processos de classificação de perceptos, como a separação entre figura e fundo e mais uma quantia de processos relacionados à categorização, cuja complexidade ainda dificulta a obtenção de conhecimento não-especulativo e próximo de uma implementação neuronal. Nesse sentido, a inferência está caracterizada fundamentalmente nos níveis computacional e algorítmicos de Marr e é campo de estudo quase exclusivo da psicologia. Recentemente, contudo, contribuições de outros paradigmas de pesquisa têm ganhado relevância. Na tarefa de reconhecimento de faces, por exemplo, o uso de redes neurais (*'deepconvolutional neural networks'*) permite que computadores eletrônicos, após uma bateria intensiva de treinos e correções, consigam reconhecer faces tão bem quanto um ser humano (Kriegeskorte, 2015).

Até o momento, o estudo das tarefas de mensuração tem sido o mais diretamente frutífero para o entendimento dos mecanismos de funcionamento do sistema nervoso, e

isto deve-se à maior tangibilidade do problema: é consideravelmente mais fácil isolar as variáveis que permitem a análise pertinente de como o sistema visual processa níveis de luz e contraste do que isolar as variáveis que permitem ao ser humano, através de computações multimodais do sistema nervoso, realizar a tarefa de ver um objeto e proferir corretamente seu nome (Baars, 2002; Cavanagh, 2011; Pylyshyn, 1999).

Os parâmetros de inferência e mensuração, portanto, parecem caracterizar as computações visuais de maneira suficiente, ao menos em suas primeiras etapas. Tal como no caso da visão, pode-se encontrar parâmetros que contabilizem determinado processo cognitivo e que englobem, de forma conjunta, os três níveis de Marr. Na realidade, não existe, em princípio, nenhuma restrição que impeça o uso destes mesmos conceitos na descrição de outros processos cognitivos. De fato, mensuração e inferência associam-se a estudos acerca das propriedades estatísticas das computações neuronais que, seja para um neurônio ou para todo o organismo, parecem utilizar probabilidades e expectativas para responder a determinados estímulos e, portanto, guiar o comportamento (Geisler, 2008; Rao, Olshausen, & Lewicki, 2002). Nesse sentido, a estatística bayesiana provê uma sólida teoria quantitativa para esses estudos e, devido a estes componentes probabilísticos e à constante atualização de expectativas, o termo 'cérebro bayesiano' é utilizado para nomear pesquisas que buscam propriedades estatísticas nas computações neuronais (Doya, 2007; Friston, 2012; Knill & Pouget, 2004).

Assim, pelos tópicos delineados nesta sessão, o sistema visual possui caráter pioneiro na integração multidisciplinar dentro das neurociências e ciências cognitivas. No estudo da visão, os três níveis de Marr estão consolidados e a interação entre eles é incentivada. Para os grandes problemas teóricos o campo da psicologia, este é um exemplo frutífero de integração multidisciplinar.

5. Considerações finais

Neste artigo, buscamos apresentar um panorama teórico cujo intento é delinear e convergir, de maneira organizada, diversas formas de se estudar processos cognitivos. Para a psicologia, isto é de suma importância, pois suas linhas de pesquisa podem se beneficiar de conhecimentos gerados por pesquisadores em diversos campos das neurociências e das ciências cognitivas. Nesse sentido, apresentamos o conceito de

processamento de informação, que, a partir da virada cognitiva do século XIX (Miller et al., 2003), apresenta-se como um fator unificador do estudo da cognição. A partir disso, discutimos ser possível aplicar os postulados do método cartesiano para esta investigação, ao aproximar o funcionamento do sistema nervoso com o de um computador, que nada mais é do que uma entidade física que processa informação. Salienta-se que essa aproximação vem ficando cada vez menos reducionista, pois computadores eletrônicos já são capazes de superar o desempenho humano em diversas tarefas cognitivas complexas, seja um jogo como *xadrez* ou *go*, ou ainda no reconhecimento de imagens.

Acreditamos que complexidade da cognição humana continua, em muitos aspectos, ainda intangível. Todavia, o estudo estruturado dos mecanismos computacionais da cognição, instanciados nos neurônios e em suas circuitarias, permite entender como processos cognitivos ocorrem no sistema nervoso, ainda que de maneira incipiente. Esse conhecimento tem consequências práticas imediatas, sendo uma das mais importantes a consistência diagnóstica de transtornos mentais (Williams, 2016). Ainda, entender o sistema nervoso como um sistema complexo que executa rapidamente tarefas de grande dificuldade enfraquece um velho paradigma de pesquisa que trata o cérebro como um conglomerado de neurotransmissores, devido à falta de tecnologias para estudar o funcionamento do cérebro em ação (Fenno, Yizhar, & Deisseroth, 2011; Tye & Deisseroth, 2012). Dessa maneira, não é apenas a concentração e localização de neurotransmissores que afeta os processos cognitivos, mas sim uma complexa gama de computações nas quais neurotransmissores são um dos muitos fatores de modulação.

Os três níveis de Marr (computacional, algorítmico e implementacional) salientam o lugar de diferentes linhas de pesquisa no estudo do processamento de informação pelo sistema nervoso, podendo ser utilizados no estudo da cognição. Embora seja importante apresentar e legitimar diversas linhas de pesquisa para o estudo da cognição, salientamos que a multidisciplinaridade só ocorre quando há interação entre elas. Assim, mesmo que exista, para um dado processo cognitivo, caracterizações nos três níveis, ele só estará satisfatoriamente descrito quando for feita a relação entre eles, e a psicologia cognitiva pode ter um papel vital nesse processo de convergência multidisciplinar e consistência teórica.

Abstract

Over recent decades, the study of cognitive processes has received influence from two distinct trends: efforts on legitimating different forms and levels of studies and efforts on multidisciplinary integration. The first had great influence through the second half of the 20th century, with the rising of studies on cognitive psychology and neurosciences. In this sense, one may highlight Marr's three levels of comprehension (computational, algorithmic and implementational) as an organizing structure regarding the studies of cognitive processes. The second trend is more recent and looks for deepening our understanding of cognition in its several scales, as well as integrating different research paradigms in the search for theoretical consilience. We hereby present the field of computational neuroscience and its possible contributions to cognitive psychology, using Marr's levels as a framework to suggest a theoretical basis in which the role of each of these two disciplines is explicit, as well as their possible interactions.

Index-terms: cognition, computational neuroscience, memory, learning, vision.

Résumé

Au long des dernières décennies, l'étude des processus cognitifs se voit influencée par deux tendances: la légitimation de plusieurs formes et niveaux d'études et l'essai d'intégration multidisciplinaire. La première a eu une grande importance pendant la deuxième moitié du XXe siècle, quand des lignes de recherche en psychologie cognitive et en neurosciences ont gagné force. Dans ce sens, on peut souligner les trois niveaux de Marr (computationnelle, algorythmique et implémentionnel) comme moyens de structurer l'étude des procédés cognitifs. La deuxième tendance est plus récente et cherche, avec l'aide de la première, à approfondir la connaissance des procédés cognitifs et ses différentes échelles et à intégrer plusieurs modèles d'études, en cherchant des convergences théoriques. Le but de cet article est donc de présenter la neuroscience computationnelle et ses possibles contributions pour la psychologie cognitive en articulant, par moyen des trois niveaux de Marr, une base théorique qui puisse expliciter le rôle de chacune des disciplines et de ses possibles interactions.

Mots clés: cognition, neuroscience computationnelles, mémoire, apprentissage, vision.

Resumen

En las últimas décadas, el estudio de procesos cognitivos se ha visto influenciado por dos tendencias: la legitimación de diversas formas y niveles de estudio, y el intento de integración multidisciplinar. La primera tuvo grande importancia en la segunda mitad del siglo XX, cuando varias líneas de investigación de la psicología cognitiva y las neurociencias se fortalecieron. En ese sentido, se destacan los tres niveles de Marr (computacional, algorítmico y implementacional) como una forma de estructurar el estudio de procesos cognitivos. La segunda tendencia es más reciente y busca, apoyada en la primera, profundizar en la comprensión de los procesos cognitivos en sus diversas escalas e integrar diversos paradigmas de estudios, buscando consiliencia teórica. En este artículo se intenta presentar la neurociencia computacional y sus posibles contribuciones para la psicología cognitiva, articulando, a través de los tres niveles de Marr, una base teórica que muestre el papel de cada una de las disciplinas y sus posibles interacciones.

Palabras clave: cognición, neurociencia computacional, memoria, aprendizaje, visión.

Referências

- Ames, A., & Nesbett, F. B. (1981). In vitro retina as an experimental model of the central nervous system. *Journal of Neurochemistry*, 37(4), 867–877. <http://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1981.tb04473.x>
- Baars, B. J. (2002). The conscious access hypothesis: origins and recent evidence. *Trends in Cognitive Sciences*, 6(1), 47–52. [http://doi.org/10.1016/S1364-6613\(00\)01819-2](http://doi.org/10.1016/S1364-6613(00)01819-2)
- Barch, D. M., Burgess, G. C., Harms, M. P., Petersen, S. E., Schlaggar, B. L., Corbetta, M., ... (2013). Function in the human connectome: task-FMRI and individual differences in behavior. *NeuroImage*, 80, 169–189. <http://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.05.033>
- Barlow, H. B. (1972). Single units and sensation: a neuron doctrine for perceptual psychology. *Perception*, 1(4), 371–94.
- Benjafield, J. G. (1997). *Cognition* (Vol. 2). New Jersey: Prentice-Hall.
- Berman, M. G., Jonides, J., & Nee, D. E. (2012). Tools of the trade studying mind and brain with FMRI. *Social Cognitive and Affective Neuroscience* 7(5): 604–609. doi: 10.1093/scan/nss055
- Berntson, A., Smith, R. G., & Taylor, W. R. (2004). Transmission of single photon signals through a binary synapse in the mammalian retina. *Visual Neuroscience*, 21(5), 693–702. <http://doi.org/10.1017/S0952523804215048>
- Blass, A., & Gurevich, Y. (2003). Algorithms: A Quest for Absolute Definitions. *Bulletin of European Association for Theoretical Computer Science*, 81: 1-30.
- Bliss, T. V., & Lomo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology*, 232(2), 331–56.
- Brookshear, J. G., & Brookshear, J. G. (2003). *Computer science : an overview* (12^a ed.). Boston: Addison Wesley.
- Brown, T. H., Kairiss, E. W., & Keenan, C. L. (1990). Hebbian synapses: biophysical mechanisms and algorithms. *Annual Review of Neuroscience*, 13(1), 475–511. <http://doi.org/10.1146/annurev.ne.13.030190.002355>

- Caporale, N., & Dan, Y. (2008). Spike timing–dependent plasticity: a hebbian learning rule. *Annual Review of Neuroscience*, 31(1), 25–46.
<http://doi.org/10.1146/annurev.neuro.31.060407.125639>
- Cavanagh, P. (2011). Visual cognition. *Vision Research*, 51(13), 1538–1551.
<http://doi.org/10.1016/j.visres.2011.01.015>
- Chomsky, N. (2009). *Linguagem e mente* (3ª ed.). São Paulo: Editora Unesp.
- Churchland, P. S., & Sejnowski, T. J. (1988). Perspectives on cognitive neuroscience. *Science* 242(4879):741-5, 741–745.
- Churchland, P. S., & Sejnowski, T. J. (1992). *The computational brain*. Cambridge: MIT Press.
- Clarke, E. (1963). Aristotelian concepts of the form and function of the brain. *Bulletin of the History of Medicine*, 37, 1–14.
- Crick, F., & Koch, C. (1990). Towards a neurobiological theory of consciousness. *Seminars in Neuroscience*, 2, 263–275.
- Damasio, A. R. (1994). *Descartes' error : emotion, reason and the human brain*. Nova York: Avon Books.
- Dehaene, S., & Naccache, L. (2001). Towards a cognitive neuroscience of consciousness : basic evidence and a workspace framework. *Cognition*, 79, 1–37.
- Descartes, R. (2008a). *A discourse on the method of correctly conducting one's reason and seeking truth in the sciences*. Oxford: Oxford University Press.
- Descartes, R. (2008b). *Meditations on first philosophy : with selections from the Objections and replies*. Oxford: Oxford University Press.
- Doya, K. (2007). *Bayesian brain : probabilistic approaches to neural coding*. Cambridge: MIT Press.
- Dutra, L. H. de A. (2010). *Introdução à epistemologia*. São Paulo: Editora Unesp.
- Eliasmith, C. (2007). Computational Neuroscience. In P. Thagard (Ed.), *Philosophy of Psychology and Cognitive Science*. (pp. 313-338). London: Elsevier.
- Fenno, L., Yizhar, O., & Deisseroth, K. (2011). The development and application of optogenetics. *Annual Review of Neuroscience*, 34, 389–412.
<http://doi.org/10.1146/annurev-neuro-061010-113817>
- Field, G. D., Sampath, A. P., & Rieke, F. (2005). Retinal processing near absolute threshold: from behavior to mechanism. *Annual Review of Physiology*, 67, 491–514.
<http://doi.org/10.1146/annurev.physiol.67.031103.151256>

- Finger, S. (1994). *Origins of neuroscience : a history of explorations into brain function*. Oxford University Press.
- Fornito, A., Zalesky, A., & Breakspear, M. (2015). The connectomics of brain disorders. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(3), 159–172. <http://doi.org/10.1038/nrn3901>
- Friston, K. (2012). the history of the future of the bayesian brain. *NeuroImage*, 62(2), 1230–1233. <http://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.10.004>
- Geisler, W. S. (2008). Visual perception and the statistical properties of natural scenes. *Annual Review of Psychology*, 59(1), 167–192. <http://doi.org/10.1146/annurev.psych.58.110405.085632>
- Gollisch, T., & Meister, M. (2010). Eye smarter than scientists believed: neural computations in circuits of the retina. *Neuron*, 65(1097–4199), 150–164. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2009.12.009>
- Hamer, R. D., Nicholas, S. C., Tranchina, D., Liebman, P. A., & Lamb, T. D. (2003). Multiple steps of phosphorylation of activated rhodopsin can account for the reproducibility of vertebrate rod single-photon responses. *The Journal of General Physiology*, 122(4), 419–444. <http://doi.org/10.1085/jgp.200308832>
- Hardcastle, V. G., & Hardcastle, K. (2015). Marr’s levels revisited: understanding how brains break. *Topics in Cognitive Science*, 7(2), 259–273. <http://doi.org/10.1111/tops.12130>
- Hebb, D. O. (2002). *The organization of behavior : a neuropsychological theory*. Nova Jersey: Lawrence Erlbaum Associates.
- Hecht, S., Shlaer, S., & Pirenne, M. H. (1942). Energy, quanta, and vision. *The Journal of General Physiology*, 25(6), 819–40
- Hubel, D. H., & Wiesel, T. N. (1963). Shape and arrangement of columns in cat’s striate cortex. *The Journal of Physiology*, 165(3), 559–68.
- Hume, D. (1975). *David Hume: Enquiries Concerning Human Understanding and Concerning the Principles of Morals* (3^a ed.). (P. H. Nidditch, Ed.). Oxford University Press. <http://doi.org/10.1093/actrade/9780198245353.book.1>
- Johnson, M. (2016). Marr’s levels and the minimalist program. *Psychonomic Bulletin & Review*, 1–4. <http://doi.org/10.3758/s13423-016-1062-1>
- Kant, I. (2014). *Prolegômenos a qualquer metafísica futura que possa apresentar-se como ciência* (1^a ed.). São Paulo: Estação Liberdade.

- Knill, D. C., & Pouget, A. (2004). The Bayesian brain: the role of uncertainty in neural coding and computation. *Trends in Neurosciences*, 27(12), 712–719. <http://doi.org/10.1016/j.tins.2004.10.007>
- Kolb, B., & Bryan. (2003). The impact of the hebbian learning rule on research in behavioural neuroscience. *Canadian Psychology*, 44(1), 14–16. <http://doi.org/10.1037/h0085813>
- Korn, H., & Faber, D. S. (2005). The mauthner cell half a century later: a neurobiological model for decision-making?. *Neuron*, 47(1), 13–28. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.05.019>
- Kriegeskorte, N. (2015). Deep neural networks: a new framework for modeling biological vision and brain information processing. *Annual Review of Vision Science*, 1, 417–446. <http://doi.org/10.1146/annurev-vision-082114-035447>
- Lamb, T. D., & Pugh, E. N. (2004). Dark adaptation and the retinoid cycle of vision. *Progress in Retinal and Eye Research*, 23(3), 307–380. <http://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2004.03.001>
- Lamb, T. D., & Pugh, E. N. (2006). Phototransduction, dark adaptation, and rhodopsin regeneration the proctor lecture. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 47(12), 5138. <http://doi.org/10.1167/iovs.06-0849>
- Land, M. F. (2006). Eye movements and the control of actions in everyday life. *Progress in Retinal and Eye Research*, 25(3), 296–324. <http://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2006.01.002>
- Langley, P., Laird, J. E., & Rogers, S. (2009). Cognitive architectures: research issues and challenges. *Cognitive Systems Research*, 10(2), 141–160. <http://doi.org/10.1016/j.cogsys.2006.07.004>
- Lechner, H. A., & Byrne, J. H. (1998). New perspectives on classical conditioning: a synthesis of hebbian and non-hebbian mechanisms. *Neuron*, 20(3), 355–358. [http://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80977-0](http://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80977-0)
- Lipin, M. Y., Smith, R. G., & Taylor, W. R. (2010). Maximizing contrast resolution in the outer retina of mammals. *Biological Cybernetics*, 103(1), 57–77. <http://doi.org/10.1007/s00422-010-0385-7>
- Luria, A. R. (1973). *The working brain: an introduction to neuropsychology*. Nova York: Basic Books.

- Lyubarsky, A. L., Daniele, L. L., & Pugh, E. N. (2004). From candelas to photoisomerizations in the mouse eye by rhodopsin bleaching in situ and the light-rearing dependence of the major components of the mouse ERG. *Vision Research*, 44(28), 3235–3251. <http://doi.org/10.1016/j.visres.2004.09.019>
- Lyubarsky, A. L., & Pugh, E. N. (1996). Recovery phase of the murine rod photoresponse reconstructed from electroretinographic recordings. *The Journal of Neuroscience*, 16(2), 563–71.
- Marr, D. (1982). *Vision*. Cambridge: MIT Press.
- Marr, D., & Poggio, T. (1976). From understanding computation to understanding neural circuitry. *Neurosciences Research Program bulletin*, 15(3), 1-22.
- Masland, R. H. (2011). Cell populations of the retina: the proctor lecture. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52(7), 4581–91. <http://doi.org/10.1167/iovs.10-7083>
- Masland, R. H. (2012). The tasks of amacrine cells. *Visual Neuroscience*, 29(1), 3–9.
- Masland, R. H., Amthor, F. R., Takahashi, E. S., Oyster, C. W., Anderson, J. R., Jones, B. W., ... Meister, M. (2012). The neuronal organization of the retina. *Neuron*, 76(2), 266–80. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.10.002>
- Miller, G. A. (2003). The cognitive revolution: a historical perspective. *Trends in Cognitive Sciences*, 7(3), 141–144. [http://doi.org/10.1016/S1364-6613\(03\)00029-9](http://doi.org/10.1016/S1364-6613(03)00029-9)
- Newell, A., & Simon, H. A. (1976). Computer science as empirical inquiry: symbols and search. *Communications of the ACM*, 19(3), 113–126. <http://doi.org/10.1145/360018.360022>
- Peebles, D., & Cooper, R. P. (2015). Thirty years after marr's vision : levels of analysis in cognitive science. *Topics in Cognitive Science*, 7(2), 187–190. <http://doi.org/10.1111/tops.12137>
- Pinker, S. (1985). *Visual cognition* (1^a ed.). Cambridge: MIT Press.
- Popper, K. (2010). *Popper: textos escolhidos*. (D. Miller, Ed.) (1^a ed.). Rio de Janeiro: Contraponto.
- Popper, K. (2013). *Lógica da Pesquisa Científica* (2^a ed.). São Paulo: Cultrix.
- Pylyshyn, Z. (1999). Is vision continuous with cognition? The case for cognitive impenetrability of visual perception. *The Behavioral and Brain Sciences*, 22(3), 341-65-423.
- Rao, R. P. N., Olshausen, B. A., & Lewicki, M. S. (2002). *Probabilistic models of the brain: perception and neural function*. Cambridge: MIT Press.

- Rodieke, R. W. (1998). *The first steps in seeing*. Sunderland: Sinauer Associates.
- Stuart, G., Spruston, N., & Hausser, M. (2007). *Dendrites*. Oxford: Oxford University Press.
- Taylor, W. R., He, S., Levick, W. R., & Vaney, D. I. (2000). Dendritic computation of direction selectivity by retinal ganglion cells. *Science*, 289(5488), 2347–2350.
- Taylor, W. R., & Smith, R. G. (2012). The role of starburst amacrine cells in visual signal processing. *Visual Neuroscience*, 29(1), 73–81. <http://doi.org/10.1017/S0952523811000393>
- Torben-Nielsen, B., & Stiefel, K. M. (2010). An Inverse Approach for Elucidating Dendritic Function. *Frontiers in Computational Neuroscience*, 4(128), 1-11. <http://doi.org/10.3389/fncom.2010.00128>
- Tsao, D. Y., & Livingstone, M. S. (2008). Mechanisms of Face Perception. *Annual Review of Neuroscience*, 31, 411-37. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.neuro.30.051606.094238>.
- Tukker, J. J., Taylor, W. R., & Smith, R. G. (2004). Direction selectivity in a model of the starburst amacrine cell. *Visual Neuroscience*, 21(4), 611–25. <http://doi.org/10.1017/S0952523804214109>
- Tye, K. M., & Deisseroth, K. (2012). Optogenetic investigation of neural circuits underlying brain disease in animal models. *Nature Reviews Neuroscience*, 13(4), 251–266. <http://doi.org/10.1038/nrn3171>
- Van Essen, D. C., Smith, S. M., Barch, D. M., Behrens, T. E. J., Yacoub, E., & Ugurbil, K. (2013). The wu-minn human connectome project: an overview. *NeuroImage*, 80, 62–79. <http://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.05.041>
- Westheimer, G., & Blair, S. M. (1975). The ocular tilt reaction--a brainstem oculomotor routine. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 14(11), 833–839.
- Williams, L. M. (2016). Precision psychiatry: a neural circuit taxonomy for depression and anxiety. *The Lancet Psychiatry*, 3(5), 472–480. [http://doi.org/10.1016/S2215-0366\(15\)00579-9](http://doi.org/10.1016/S2215-0366(15)00579-9)
- Williams, L. M., Goldstein-Piekarski, A. N., Chowdhry, N., Grisanzio, K. A., Haug, N. A., Samara, Z., ... Yesavage, J. (2016). Developing a clinical translational neuroscience taxonomy for anxiety and mood disorder: protocol for the baseline-follow up Research domain criteria Anxiety and Depression (RAD) project. *BMC Psychiatry*, 16:68. <http://doi.org/10.1186/s12888-016-0771-3>

Gain Control at the First Visual Synapse

Kae Leopoldo¹, Diego Decleva², Maarten Kamermans³ & Christina Joselevitch^{1,2}

¹Department of Experimental Psychology /

²Department of Neuroscience and Behavior

Institute of Psychology, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

³Retinal Signal Processing, The Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands christina@usp.br

Abstract

The visual scene changes nearly 50 billion-fold in ambient light intensity throughout the day [1], and yet the visual system is able to adapt to these changes. This is achieved by photoreceptors with distinct absolute sensitivities, the rods and cones [2], as well by post-receptoral mechanisms that process the information conveyed by these neurons [3-5]. As we advance through the retinal layers, both convergence and signal amplification increases [6]. This, added to the fact that the rod pathway has more input connections to second-order neurons than the cone pathway, led to the widely accepted idea that a large convergence helps increase retinal sensitivity. However, the link between convergence and sensitivity is not straightforward. While a large convergence potentially leads to greater sensitivity by increasing the probability of photon absorption within the receptive field of the second-order neuron, a bipolar cell (BC) needs to produce dendrites with both synaptic and non-synaptic channels to contact rods. Together, this increased membrane conductance could potentially lead to a smaller influence of each photoreceptor onto the second-order neuron, as stated by Kirchhoff's current law [7]. Thus, the aim of this work was to investigate how the convergence between rods and their post-synaptic partner, the bipolar cell, affects the integration of rod signals. To reach this aim, we used the NEURON simulation environment to create a mathematical model of a rod-driven bipolar cell, based on a previous model of a teleost mixed-input bipolar cell [11;12]. Distribution and density of synaptic- and non-synaptic conductances were added according to literature data. Because the gain of the rod:BC synapse is partly determined by the resting membrane potential of the post-synaptic neuron (V_{rest}), we investigated the effect of rod:BC convergence on V_{rest} . Our simulations show that a change in rod:BC convergence alone has no net effect on V_{rest} . This happens because in order to increase the number of synaptic contacts, one needs to add more thin dendrites to the post-synaptic neuron. Since these dendrites contain both glutamate-gated channels, which have a reversal potential (E_{rev}) around 0mV, and passive conductances with E_{rev} around -80 mV, the balance between these two conductance densities remains the same. V_{rest} changes significantly, though, when the length of the primary dendrites, which contain only passive conductances, vary with rod:BC convergence. This is the case in the growing fish retina: as the retina stretches out with growth, the membrane surface area of all second-order neurons increases significantly [13;14], and so does rod:BC convergence [15;16]. In the mammalian retina, there is no increase in rod:BC convergence with growth, because neurogenesis

after birth is very limited. The retina – and retinal neurons – grow therefore mainly by stretch in mammals [17]. When we simulated this situation by increasing only the size of the BC dendritic tree while keeping rod:BC convergence constant, we found that V_{rest} became proportionally more negative for larger dendritic lengths. Together, our results suggest that the size of the dendritic tree plays an important role on setting V_{rest} , thereby significantly altering the gain of the rod:BC synapse. On the other hand, rod:BC convergence by itself does not have great influence on V_{rest} . The consequences of this arrangement will be discussed.

REFERENCES

- [1] S. Bloomfield and R. F. Dacheux, "Rod vision: Pathways and processing in the mammalian retina," *Prog. Retin. Eye Res.*, vol. 20, no. 3, pp. 351-384, 2001.
- [2] T. Ebrey and Y. Koutalos, "Vertebrate photoreceptors," *Prog. Retin. Eye Res.*, vol. 20, no. 1, pp. 49-94, Jan. 2001.
- [3] A. T. Ishida, W. K. Stell, and D. O. Lightfoot, "Rod and cone inputs to bipolar cells in goldfish retina," *J. Comp. Neurol.*, vol. 191, pp. 315-335, 1980.
- [4] H. Wässle, "Parallel processing in the mammalian retina," *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 5, no. 10, pp. 747-757, Oct. 2004.
- [5] B. B. Boycott and H. Wässle, "Morphological Classification of Bipolar Cells of the Primate Retina," *Eur. J. Neurosci.*, vol. 3, no. 11, pp. 1069-1088, 1991.
- [6] D. R. Copenhagen, S. Hemila, and T. Reuter, "Signal Transmission Through the Dark-Adapted Retina of the Toad (*Bufo-Marinus*) - Gain, Convergence, and Signal Noise," *Journal of General Physiology*, vol. 95, no. 4, pp. 717-732, Apr. 1990.
- [7] G. Falk, "Signal transmission from rods to bipolar and horizontal cells: A synthesis," *Progress in Retinal Research*, vol. 8, pp. 255-279, Jan. 1988.
- [8] F. A. Dunn and F. Rieke, "The impact of photoreceptor noise on retinal gain controls," *Curr. Opin. Neurobiol.*, vol. 16, no. 4, pp. 363-370, 2006.
- [9] F. A. Dunn, T. Doan, A. P. Sampath, and F. Rieke, "Controlling the gain of rod-mediated signals in the Mammalian retina," *J. Neurosci.*, vol. 26, no. 15, pp. 3959-3970, 2006.
- [10] M. G. W. van Rossum and R. G. Smith, "Noise removal at the rod synapse of mammalian retina," *Vis. Neurosci.*, vol. 15, 1998.
- [11] C. Joselevitch, "The twilight zone: how mixed-input bipolar cells process rod and cone signals." PhD University of Amsterdam, 2005.
- [12] C. Joselevitch and M. Kamermans, "Dendritic potassium channels in mixed-input ON bipolar cells," 46 ed 2005, p. ARVO E-Abstract 1123.
- [13] J. H. Kock and T. Reuter, "Retinal ganglion cells in the crucian carp (*Carassius carassius*). I. Size and number of somata in eyes of different size," *J. Comp. Neurol.*, vol. 179, no. 3, pp. 535-547, June 1978.
- [14] A. Macy and S. S. Easter, "Growth-related changes in the size of receptive field centers of retinal ganglion cells in goldfish," *Vision Res.*, vol. 21, no. 10, pp. 1497-1504, Jan. 1981.
- [15] J. H. Kock and W. K. Stell, "Formation of new rod photoreceptor synapses onto differentiated bipolar cells in goldfish retina," *The Anatomical record*, vol. 211, no. 1, pp. 69-74, 1985.
- [16] J. H. Kock, "Dendritic tree structure and dendritic hypertrophy during growth of the crucian carp eye," *J. Comp. Neurol.*, vol. 209, no. 3, pp. 275-286, Aug. 1982.
- [17] M. K. Powers, C. J. Bassi, L. A. Rone, and P. A. Raymond, "Visual detection by the rod system in goldfish of different sizes," *Vision Res.*, vol. 28, no. 2, pp. 211-221, Jan. 1988.

13.3. Resumo enviado para a XXXI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental

Título: CONTROLE DE GANHO NA RETINA: UM MODELO COMPUTACIONAL DA INTEGRAÇÃO DE SINAIS NA CÉLULA BIPOLAR LIGADA A BASTONETES 1 Leopoldo, K.,

1,2 Joselevitch, C., 1Departamento de Psicologia Experimental, 2Núcleo de Neurociências e Comportamento, Universidade de São Paulo, São Paulo/SP.

Introdução: Embora a retina seja a parte do cérebro mais extensamente estudada, o processamento retiniano é ainda pouco compreendido. A literatura sugere uma relação causal entre convergência neuronal e sensibilidade (J. Gen. Physiol. 95; 717, 1990), que ainda não foi diretamente testada, pelas dificuldades experimentais envolvidas. Para este tipo de estudo, modelos computacionais podem gerar *insights* valiosos, uma vez que neles é possível

incorporar as características morfofisiológicas dos neurônios retinianos para o estudo de suas relações.

Objetivos: Analisar através de modelagem matemática a integração passiva de sinais de bastonetes pela célula bipolar, para verificar se alterações na convergência de bastonetes e a consequente mudança na morfologia de sua árvore dendrítica alteram sua sensibilidade à luz.

Métodos: Utilizando o ambiente de simulação NEURON, modelamos uma célula bipolar (BC) integrando dados de literatura. Também criamos bastonetes, conectados aos terminais dendríticos da BC e afetando, por meio de uma função de transferência sináptica sigmoide, a condutância do compartimento dendrítico da BC. Parâmetros de membrana, como resistência axial (R_a), resistência de entrada (R_{in}), resistência específica de membrana (R_m) e capacitância específica de membrana (C_m) foram considerados uniformes ao longo da célula: $R_a = 250 \Omega \cdot \text{cm}$ (J. Neurophysiol. 78; 51, 1997), $R_m = 67 \text{ k} \Omega \cdot \text{cm}^2$ e $C_m = 1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$, com um potencial de reversão passivo $E_{pas} = -80 \text{ mV}$. A densidade de condutância passiva foi $g_{pas} = 1500 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$, para obtenção de uma resistência de entrada (R_i) semelhante à observada em neurônios reais (IOVS 46; 1123, 2005). As respostas da BC para hiperpolarização dos bastonetes foram registradas e analisadas para diferentes graus de convergência, para avaliar sua influência sobre a sensibilidade da BC.

Resultados: O aumento da convergência de bastonetes para a BC não altera *per se* a integração pós-sináptica de sinais; notam-se alterações significativas apenas quando este é acompanhado de um aumento da árvore dendrítica primária da BC. Quanto maior o comprimento dos dendritos primários, mais o potencial de repouso (V_{rest}) da BC se aproxima do potencial de reversão da corrente passiva, alterando, com isto, o ganho da sinapse. Quando apenas um bastonete é hiperpolarizado e os demais permanecem em repouso (situação análoga aos níveis escotópicos de iluminação), as amplitudes de resposta da BC diminuem conforme aumenta o tamanho da árvore dendrítica. Quando todos os bastonetes são hiperpolarizados concomitantemente, (situação análoga aos níveis mesópicos de iluminação), as amplitudes de resposta mantêm-se inalteradas, independente do grau de convergência ou do tamanho da árvore dendrítica.

Conclusão: Não há relação causal entre convergência de bastonetes e a sensibilidade da BC, quando apenas a geometria e correntes passivas da BC são levados em consideração. Para que a convergência neuronal influencie a sensibilidade destes neurônios pós-sinápticos, portanto, mecanismos não-lineares adicionais devem ser levados em conta.

Apoio financeiro: FAPESP (2010/16469-0) e CNPq (469797/2014-2 e 830608/1999-0).