Codificação neural e integração dendrítica no sistema visual da mosca

Deusdedit Lineu Spavieri Junior

Dissertação apresentada ao Instituto de Física de São Carlos, da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências: Física Básica.

Orientador: Prof. Dr. Roland Köberle

São Carlos
2004

USP/IFSC/SBI

8-2-001613

IFSC/USP SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO

Spavieri Junior, Deusdedit Lineu

Codificação neural e integração dendrítica no sistema visual da mosca /Deusdedit Lineu Spavieri Junior. -- São Carlos, 2004.

Dissertação(Mestrado)-- Instituto de Física de São Carlos, 2004.

Orientador: Prof. Dr. Roland Köberle

1.Código Neural 2. Integração Dendrítica 3. Sistema Visual da Mosca I. Título

IFSC-USP SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO

UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO
Instituto de Física de São Carlos

Caixa Postal 369
13560-970 São Carlos, SP
Av. Trabalhador São-carlense, 400,
13566-590 São Carlos, SP

Fone/Fax 16 3373 9777

MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE DEUSDEDIT LINEU SPAVIERI JÚNIOR APRESENTADA AO INSTITUTO DE FÍSICA DE SÃO CARLOS, UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, EM 03-09-2004.

COMISSÃO JULGADORA:

Prof. Dr. Roland Koberle (Orientador e Presidente) – IFSC/USP

Prof. Dr. Reynaldo Daniel Pinto – IF/USP

Prof. Dr. Alberto Cliquet Júnior – EESC/USP

Aos meus avós:

Adelia Detogni Antunes

Antônio Antunes Sobrinho
(in memoriam)

Isola Foltran Spavieri

João Spavieri

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Roland Köberle, pela excelente orientação, confiança, apoio, amizade, profissionalismo, dedicação e paciência nesses dois anos de trabalho. Sem a orientação dele a conclusão desse trabalho não seria possível.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo apoio financeiro.

Ao Prof. Jan Frans Willem Slaets e aos técnicos Lírio Onofre Batista de Almeida e Ivanilda Helena Zucolotto de Stefani, pelo inestimável apoio técnico. O trabalho não teria sido realizado sem a cooperação deles.

À secretária Maria Cristina Vieira Ligo da Silva pela ajuda indispensável nas tarefas burocráticas.

Aos funcionários da biblioteca e da oficina mecânica do Instituto de Física de São Carlos pelo precioso apoio.

Aos colegas de laboratório, Lírio Onofre Batista de Almeida, Carlos Alessandro Silva dos Anjos, Ednei Alves da Silva, Nelson Mesquita Fernandes e especialmente, Bruna Dayana Lemos Pinto, pelo apoio, amizade e cooperação.

Ao Prof. Milton Ferreira de Souza pela amizade, incentivo e encorajamento, quando decidi mudar minha linha de pesquisa, de ciência dos materiais para neurobiologia.

Aos Prof. Sergio Carlos Zillio, Vanderlei Salvador Bagnato e Luis Gustavo Marcassa, e ao técnico Lino Misoguti pelo empréstimo de equipamentos.

E finalmente, à minha família pelo apoio incondicional nos últimos 27 anos.

Sumário

Lista de Figuras

Resumo

Abstract

1 Introdução..... 1

1.1 O sistema visual da mosca..... 5

1.1.1 Introdução..... 5

1.1.2 Descrição geral..... 7

2 Metodologia..... 15

2.1 Parte experimental..... 15

2.1.1. Preparação..... 15

2.1.2. Aquisição de dados..... 17

2.1.3. Geração de estímulo..... 18

2.2 Análise dos dados..... 20

2.2.1. Teoria da informação..... 20

2.2.2. Reprodutibilidade da resposta..... 26

3 Resultados..... 27

3.1 Reprodutibilidade,Eficiência e Sensibilidade... 27

3.2 Informação Transmitida..... 35

3.3 Sinergia..... 39

4 Discussão..... 43

5 Conclusões..... 48

6 Referências Bibliográficas..... 49

Lista de Figuras

Figura 1.1 - Trajetória de vôo de duas moscas..... 5
Figura 1.2 - Representação esquemática do sistema.... 8
Figura 1.3 - Representação esquemática de um omatídeo. 9
Figura 1.4 - Caminhos possíveis da informação..... 10
Figura 1.5 - Representação esquemática dos neurônios. 12
Figura 1.6 - Campo receptivo e sensibilidade espacial 14
Figura 2.1 - Fotos da preparação da mosca para o..... 16
Figura 2.2 - Representação esquemática do sistema.... 17
Figura 2.3 - Preparação do experimento..... 19
Figura 2.4 - Discretização da resposta..... 22
Figura 2.5 - Método da extrapolação linear..... 24
Figura 3.1 - Resposta do neurônio H1..... 29
Figura 3.2 - Gráfico da variância pela média..... 30
Figura 3.3 - Razão entre a entropia do ruído..... 31
Figura 3.4 - Razão entre a entropia do ruído..... 32
Figura 3.5 - Taxa de disparo..... 33
Figura 3.6 - Taxa de disparo..... 34
Figura 3.7 - Fração da informação transmitida..... 36
Figura 3.8 - Fração da informação transmitida..... 37
Figura 3.9 - Fração da informação transmitida..... 38
Figura 3.10 - Fração da sinergia para eventos..... 40
Figura 3.11 - Fração da sinergia para eventos..... 41
Figura 3.12 - Valores mínimo da fração de sinergia... 42

Resumo

Entender como o cérebro processa informação é um dos problemas mais fascinantes da ciência de nossos dias. Para resolvê-lo, é fundamental estudarmos os mecanismos de representação e transmissão de informação de um único neurônio, a unidade fundamental de processamento do cérebro.

Grande parte dos neurônios representa a informação por seqüências de pulsos elétricos, ou potenciais de ação. Nós usamos a mosca como modelo para estudar como a arborização dendrítica do neurônio influencia a quantidade de informação transmitida pela estrutura temporal da seqüência de pulsos.

O mapeamento retinotópico da informação no sistema visual da mosca permite que as arborizações dendríticas de certos neurônios sejam estimuladas localmente através da região que corresponde a essa localização no campo visual.

Nós apresentamos imagens em movimento em várias regiões do campo visual da mosca e medimos a resposta do neurônio H1, sensível a movimentos horizontais.

Usando a teoria da informação, calculamos a quantidade de informação transmitida para cada uma dessas regiões do campo visual e a relacionamos com outras propriedades do neurônio, como por exemplo a sensibilidade espacial e eficiência.

Nossos resultados sugerem que a arborização dendrítica influencia a codificação temporal de maneira significativa, indicando que o neurônio pode usar a estrutura temporal da sequência de pulsos para codificar outros parâmetros do estímulo, ou para aumentar a confiabilidade da codificação dependendo da região excitada.

Abstract

Understanding how the brain processes information about the outside world is one of the most fascinating problems of modern science. This involves the analysis of information representation and transmission in the fundamental processing element of the brain - the neuron.

In the cortex neurons represent information by sequences of electrical pulses, or spikes. We use the fly as a model to study how the amount of information transmitted by the temporal structure of the spike trains depends on the neuron's dendritic arborization.

The retinotopic mapping of information in the fly's visual system allows the stimulation of specific regions of the neuron's dendritic tree through the visual stimulation of the respective region in the visual field of the fly.

We show an image moving in the prefered direction of the motion-sensitive neuron H1 in specific regions of the fly's visual field and measure the electrical response of the neuron.

Using information theory, we calculate the amount of information transmitted for each of these regions and compare it with other properties of the neuron, for example, the spatial sensitivity.

Our results suggest that the dendritic arborization influences the temporal coding in a significant way, indicating that the neuron could use the temporal structure of the spike train to codify other parameters of the stimulus, or to increase the reliability of the code depending on the excited region.

1. Introdução

Para entender como o cérebro humano funciona é fundamental sabermos como um neurônio codifica e transmite informação.

Há cerca de 10^{11} neurônios no cérebro humano, classificados em pelo menos mil tipos diferentes [Kandel et al., 2000]. Eles formam uma densa e complexa rede de células, responsável por nossa interação com o meio ambiente, pelo controle de nossos movimentos, nossa memória, nossa consciência, etc...

Apesar de haver uma grande variedade de neurônios, a maior parte deles possui a mesma estrutura morfológica, composta por uma rede dendrítica, um corpo celular, um axônio, e terminais pré-sinápticos.

Grosso modo, podemos dizer que o corpo celular é responsável pela manutenção da célula, e dele originam-se duas ramificações: a rede dendrítica e o axônio. A rede dendrítica é o elemento de entrada do neurônio, que recebe, processa e envia a informação proveniente dos terminais pré-sinápticos de outros neurônios para a região inicial do axônio da célula, onde uma seqüência de pulsos são gerados. Os pulsos gerados propagam-se através do axônio até seus terminais pré-sinápticos, que por sua vez estão ligados quimica ou eletricamente às redes dendríticas de outros neurônios [Kandel et al., 2000].

O papel que a rede dendrítica desempenha no processamento da informação ainda é uma questão bastante discutida. Sabemos que a rede dendrítica é capaz de

realizar cálculos complexos, como por exemplo a filtragem, amplificação e detectação de coincidência das entradas sinápticas [Mel, 1994; Yuste e Tank, 1996; Koch e Segev, 2000; Segev e London, 2000; Euler e Denk, 2001; Polsky et al., 2004].

Essa capacidade extraordinária de cálculo pode explicar, por exemplo, como alguns neurônios do sistema visual de invertebrados são sensíveis a estímulos em determinadas direções, sentidos e intensidades [Single e Borst, 1997]. Ou então explicar como alguns neurônios do sistema auditivo utilizados para a localização de sons podem detectar diferenças entre a chegada dos pulsos de 10ms em mamíferos e pássaros [Agmon-snir et al., 1998; Segev, 1998] e 50ns na mosca *Ormia ochracea* [Mason et al., 2001]. Ou ainda, explicar como o sistema de eco-localização do morcego *Eptesicus fuscus* é capaz de identificar atrasos de 10ns entre dois ecos [Simmons et al., 2003].

Essa precisão temporal nos neurônios do sistema auditivo levanta outra questão importante, que já algum tempo é bastante discutida na literatura: a importância da estrutura temporal da seqüência de pulsos na codificação da informação [Theunissen e Miller, 1995; Eggermont, 1998; Reinagel e Reid, 2001; Passaglia e Troy, 2004].

Será que outros módulos do cérebro também usam os tempos entre os pulsos para codificar informação? Essa questão ganha fôlego quando observamos a reprodutibilidade das respostas de certos neurônios

quando submetidos ao mesmo estímulo repetidas vezes [Lestienne 2001; de Ruyter van Steveninck et al., 1997; Berry et al., 1997].

O objetivo de nosso trabalho é analisar se o mecanismo de codificação temporal depende, de alguma forma, da rede dendrítica do neurônio. Para isso precisamos de um sistema neural que permita que determinadas regiões da rede dendrítica possam ser excitadas *in vivo,* e que a resposta do neurônio possa ser medida com bastante estabilidade.

O sistema visual da mosca é bastante adequado para a realização do nosso estudo, devido a organização retinotópica do processamento de informação visual.

O campo visual da mosca é mapeado topograficamente nos três primeiros estágios do sistema neural. Isso significa que a informação de regiões próximas da imagem que chega na retina são processadas em regiões próximas no cérebro da mosca [Hausen, 1984; Borst, 1996]. Portanto, regiões da rede dendrítica de alguns neurônios da mosca podem ser excitadas simplesmente mostrando uma imagem na região correspondente do campo visual.

Além disso, certos estágios do sistema visual da mosca são bastante conhecidos e alguns de seus neurônios foram identificados e exaustivamente estudados. Soma-se a isso a robustez do animal e a relativa facilidade de manuseio, que permitem a realização de horas de aquisições eletrofisiológicas.

Essa é uma característica importante, porque

para analisar a resposta do neurônio utilizando a teoria da informação [Shannon, 1948; Cover e Thomas, 1991], uma grande quantidade de dados experimentais é necessária, uma vez que a teoria é baseada nas distribuições de probabilidades do estímulo e da resposta.

Mas o que ganhamos estudando o cérebro de uma mosca? Comparado ao cérebro humano, o cérebro da mosca é extremamente simples. Entretanto, os mecanismos básicos de codificação utilizados pelos neurônios da mosca são semelhantes aos mecanismos utilizados por nossos neurônios. Entender como um neurônio da mosca codifica informação pode nos ajudar a entender como funciona um neurônio no cérebro humano.

Nas próximas seções deste capítulo apresentaremos um resumo sobre o sistema neural da mosca e as propriedades do neurônio H1, nosso objeto de estudo. No capítulo 2, apresentaremos uma descrição do preparo do experimento, um breve resumo do sistema de medidas e da teoria da informação, utilizada na análise dos dados. No capítulo 3 apresentaremos os resultados obtidos dos experimentos realizados com duas moscas, que serão discutidos no capítulo 4. As conclusões do trabalho realizado, e nossos próximos objetivos serão discutidos no capítulo 5.

1.1 O sistema visual da mosca

1.1.1 Introdução

Os insetos formam o grupo de animais com maior diversidade do planeta: há cerca de oitocentas mil

IFSC-USP SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO

espécies descritas. Entre essas espécies, aproximadamente cento e cinquenta mil são moscas. Elas surgiram há duzentos e cinquenta milhões de anos, e são, sem dúvida nenhuma, um dos grupos de animais mais bem sucedidos.

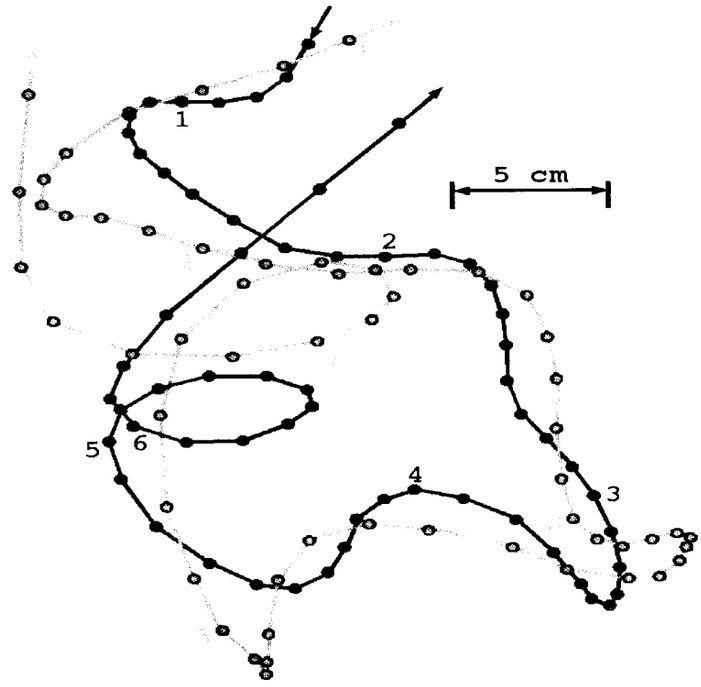

Figura 1.1 - Trajetória de vôo de duas moscas (*Fannia canicularis*) em perseguição. Na trajetória vermelha, a mosca que está sendo perseguida e na azul, a mosca que está perseguindo. Os pontos representam a posição das moscas em intervalos de 20ms. Os números correspondem as posições nas trajetórias no mesmo instante de tempo. A velocidade angular chega a atingir 3000°/s durante a perseguição. Adaptado de [Land e Collet, 1974].

Um dos motivos desse sucesso é a capacidade extraordinária de realizarem acrobacias aéreas, que são importantes na hora de fugir de predadores ou perseguir outras moscas para acasalamento. As moscas possuem uma fantástica sofisticação aerodinâmica e mecanismos de controle de vôo extremamente eficientes.

Essa capacidade se torna evidente quando

observamos uma mosca perseguindo outra: a mosca que persegue deve estimar a posição instantânea da outra mosca a partir da imagem processada pelo seu sistema visual e ajustar sua velocidade angular para reduzir a distância entre elas. A mosca consegue realizar essa correção de curso em menos de 30ms, indicando que deve haver poucos neurônios entre o sistema visual e o sistema motor para realizar esse processamento [Land e Collet, 1974].

O sistema motor das moscas é equipado com pequenos sensores mecânicos - os halteres - que funcionam como giroscópios, medindo forças inerciais que ocorrem quando a mosca executa uma rotação no espaço. Há evidências de que esses sensores controlam o batimento dos músculos das asas para estabilizar o curso da mosca durante o vôo. Sabe-se também que os neurônios do sistema visual fornecem informação para esses sensores mecânicos.

No entanto, os detalhes dos mecanismos utilizados pela mosca para usar a informação do sistema visual no controle de vôo ainda são desconhecidos [Frye e Dickinson, 2001].

Essas propriedades impressionantes fizeram com que as moscas fossem estudadas exaustivamente nas últimas décadas, tanto em relação aos seus aspectos neurofisiológicos [Hausen, 1984; Borst e Haag, 2002], quanto aerodinâmicos [Dickinson et al., 1999].

Somando todo o conhecimento adquirido nos últimos anos com a facilidade de manipulação e a possibilidade de realizar medidas eletrofisiológicas

reprodutíveis e por longos períodos de tempo, a mosca tornou-se um excelente modelo para o estudo dos mecanismos fundamentais de funcionamento de sistemas neurais complexos, como por exemplo, o processo de codificação neural de informação sensorial.

Conhecer algumas propriedades básicas do sistema neural da mosca e que papel determinados neurônios desempenham no processo de transmissão e codificação de informação visual, e como eles estão interligados é fundamental para a compreensão do nosso trabalho.

1.1.2 Descrição Geral

O sistema visual da mosca pode ser dividido em cinco estruturas principais: retina, lamina, medula, lóbula e placa lobular.

A informação visual começa a ser processada na retina, formada por rede regular hexagonal de aproximadamente 5000 omatídeos[1], cada um com oito células fotoreceptoras, duas centrais, denominadas R7 e R8, e seis periféricas, R1-6.

Essas células recebem a luz através de uma lente de aproximadamente 30μm de diâmetro, que a projeta no final de uma estrutura cilíndrica de aproximadamente 2μm de diâmetro e 300μm de comprimento, denominada rhabdomero, que funciona como um guia de ondas [Hardie, 1985; van Hateren, 1989]. Os rhabdomeros das células fotoreceptoras são isolados opticamente e cada um deles recebe luz de uma determinada posição do campo visual.

---

[1] O número de omatídeos varia de acordo com a espécie. Nas moscas do genero *Musca* há aproximadamente 3000 omatídeos em cada retina.

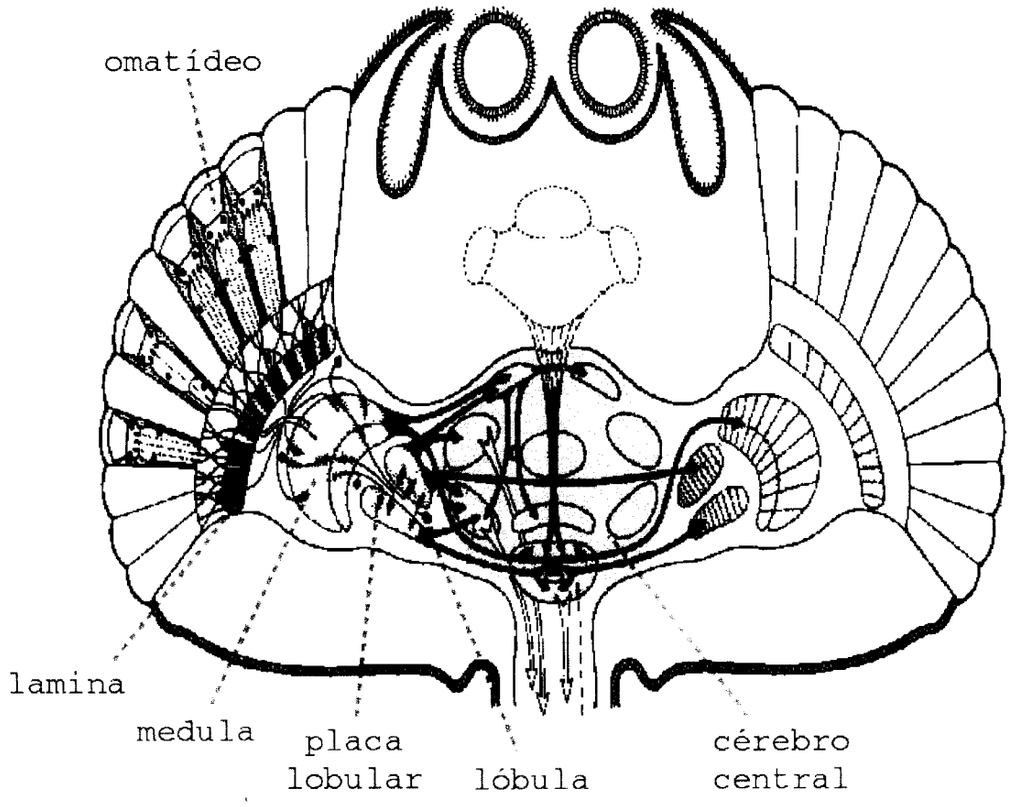

Figura 1.2 - Representação esquemática do sistema visual da mosca - corte horizontal. As setas pretas indicam projeções do sistema visual no cérebro central e no hemisfério contralateral do sistema visual. Setas brancas indicam projeções no sistema motor. Adaptado de [Kirschfeld, 1979].

A transdução da luz em sinal elétrico ocorre através da absorção de fótons por um pigmento visual presente nas células fotoreceptoras, o 3-hidroxi-retinal, que é ligado a xanthopsina, uma proteína que se deforma quando o pigmento visual absorve um fóton, desencadeando um complexo processo bioquímico que resulta na despolarização da membrana celular da célula fotoreceptora. [Vogt,1983; Vogt, Kirschfeld, 1984; Schwermer,1989]. As seis células periféricas, R1-6, têm a

mesma sensibilidade espectral, com picos na região do UV (350nm) e azul (490nm). As células R7 têm pico de absorção na região do UV e as células R8 na região azul ou verde (550nm) [Briscoe e Chittka, 2001].

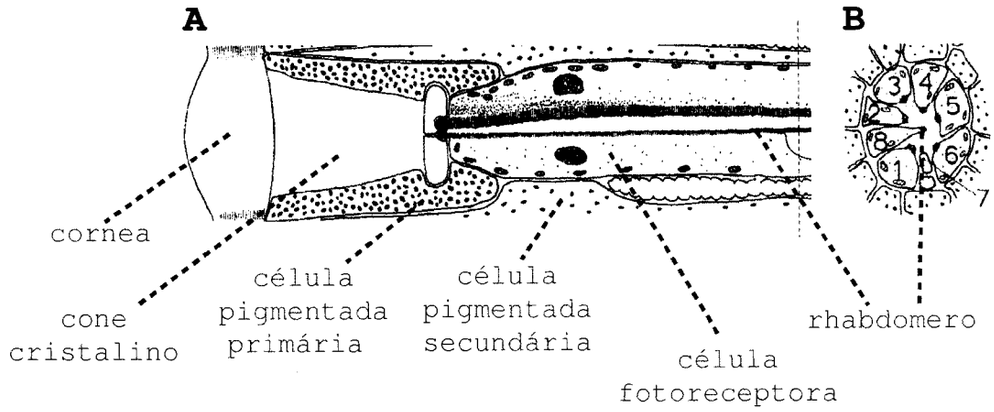

Figura 1.3 – (A) Representação esquemática de um omatídeo. Linha tracejada vermelha representa corte mostrado em (B). Entre outras funções, as células pigmentadas servem como refletores de luz e reguladores de intensidade luminosa [Stavenga,1989]. Adaptado de [Stavenga, 1974].

No sistema visual de algumas espécies de moscas há um mecanismo bastante interessante – denominado superposição neural – que tem por objetivo aumentar a aquisição de fótons incidentes sem aumentar o tamanho dos omatídeos, e por conseqüência, sem diminuir a resolução espacial: as células fotoreceptoras periféricas (R1-6) de omatídeos adjacentes compartilham a mesma direção de observação e seus axônios são projetados em uma mesma região da lamina, o próximo estágio do sistema visual[2]. Para cada conjunto de células fotoreceptoras centrais que "olham" para o mesmo ponto no espaço, existe uma região correspondente na lamina, conhecida como coluna laminar.

[2]Os fotoreceptores centrais, R7 e R8, não projetam seus axônios na lamina, mas diretamenente na medula.

Cada coluna laminar possui um conjunto de pelo menos catorze interneurônios, sendo os neurônios L1 e L2, chamados de neurônios grandes monopolares (NGM), os mais importantes. Eles recebem aproximadamente duzentas sinapses de cada célula fotoreceptora do conjunto e projetam seus axônios na medula. O sinal dos fotoreceptores é invertido, amplificado e filtrado na lamina, de maneira que apenas a variação de intensidade de luz é codificada, ou seja, a medula codifica contraste [Laughlin, 1989]. Codificando o contraste, a mosca evita o problema de ter de acomodar cinco ordens de grandeza de intensidade de luz, variação típica ao longo de um dia, em um intervalo de sessenta milivolts na variação do potencial de membrana.

Analogamente à projeção dos axônios periféricos na lamina, para cada coluna laminar existe uma coluna na medula em que os NGMs projetam seus axônios. Como dissemos anteriormente, o mapeamento da informação é retinotópico: regiões vizinhas do campo visual da mosca são processadas em regiões vizinhas do seu sistema visual, com correspondência unívoca entre os elementos de processamento e a posição espacial.

A medula, em comparação com os outros estágios do sistema visual da mosca, foi pouco estudada com métodos eletrofisiológicos até agora. Um dos motivos é a presença de grande quantidade de células pequenas nessa região, que não permitem que aquisições eletrofisiológicas sejam feitas com facilidade. Entretanto, há evidências de que certas células da medula

estão envolvidas na detecção de movimento no campo visual [Douglass e Strausfeld, 2003].

Portanto, as conexões lamina-medula e medula-complexo lobular são baseadas em evidências anatômicas e ainda são questões abertas. Duas hipóteses prováveis de como a informação flui no sistema visual da mosca estão mostradas na figura 4 [Bausenwein et al., 1992].

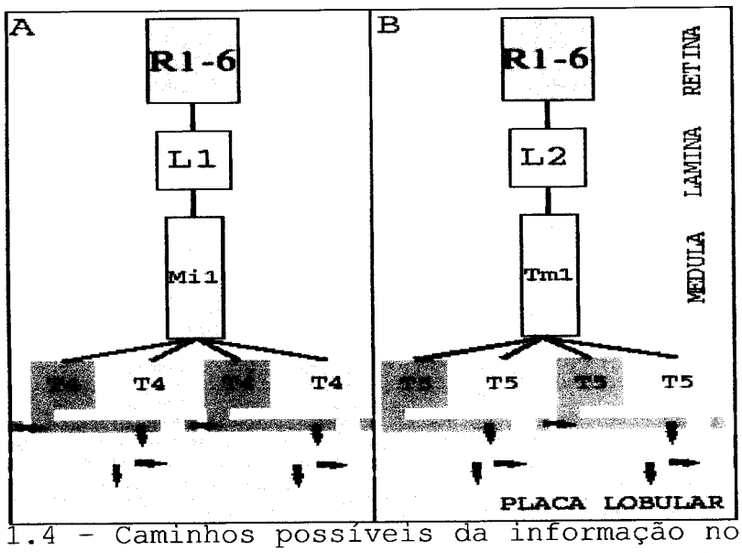

Figura 1.4 - Caminhos possíveis da informação no sistema neural da mosca. (A) Os fotoreceptores R1-6 projetam seus axônios no neurônio L1 da lamina, que possui ligação com o neurônio intrínseco Mi1 na medula, que por sua vez, ativa as células T4 que projetam seus dendritos na placa lobular, onde estão os neurônios tangenciais. (B) Mesmo esquema anterior, mas desta vez as células L2 ativam os neurônios transmedulares Tm1, ligado as células T5, que projetam seus dendritos na placa lobular. Adaptado de [Strausfeld,1989 e Bausenwein et al., 1992].

A lobula recebe informação de uma grande quantidade de células da medula e há fortes evidências de que está envolvida na detecção de movimento, mas assim como na medula, pouco se sabe sobre a função da lobula no sistema visual. Entretanto, sabe-se que na lobula há

IFSC-USP SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO

neurônios sensíveis a movimento que apenas as moscas macho possuem [Douglass e Strausfeld, 2003], indicando que eles podem estar envolvidos na detecção e perseguição de pequenos objetos no campo visual, funções que os machos desempenham melhor que as fêmeas [Land e Collet, 1974].

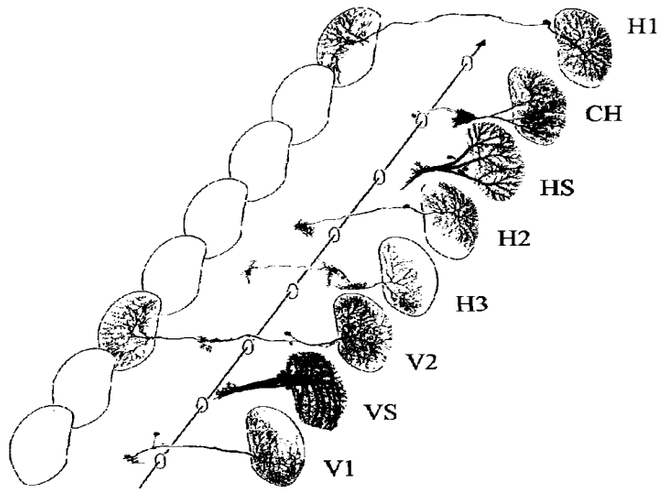

Figura 1.5 - Representação esquemática dos neurônios da placa lobular da mosca *Calliphora*. Adaptado de [Hausen,1981].

Na placa lobular existem cerca de sessenta neurônios grandes[3] que respondem a movimentos no campo visual em determinadas direções e sentidos. Alguns desses neurônios fazem ligações sinápticas com neurônios do sistema motor da mosca. Eles são classificados de acordo com a direção e sentido preferenciais, modos de resposta, e propriedades de integração do estímulo.

Os neurônios que respondem por meio de potenciais de ação, ou pulsos, projetam seus axônios ou

[3] com diâmetros de 10μm, em média.

no hemisfério contralateral ou no cérebro central [Hausen, 1981], como indica a figura 1.5.

Em relação as propriedades de integração, a maior parte das células identificadas na mosca respondem melhor quanto maior for o tamanho do padrão visual. Exceções são as células FD e CI, que respondem preferencialmente a pequenos objetos em movimento. Dos sessenta neurônios da placa lobular, nós temos um interesse maior pelo H1, que é sensível a movimentos na direção horizontal e sentido "trás-para-frente", codifica a informação usando seqüências de pulsos, e projeta seu axônio na placa lobular do hemisfério contralateral.

Mas por que o H1? H1 é um neurônio que dispara pulsos, e portanto, que não há a necessidade de realizar aquisições intracelulares. Além disso, não há outro neurônio na placa lobular que possui as mesmas propriedades do H1, e conseqüentemente, podemos identificá-lo com uma relativa facilidade, apenas analisando sua resposta eletrofisiológica.

A rede dendrítica do H1 cobre quase toda placa lobular, fazendo com que ele responda a estímulos em praticamente todo campo visual, com maior intensidade na região fronto-equatorial, onde há uma maior densidade de dendritos [Hausen,1981].

O H1 codifica informação sobre a velocidade da imagem na direção e sentidos preferenciais, mas sua resposta é bastante sensível a outros parâmetros do estímulo, como o contraste e tamanho da imagem [Borst,

2003].

A saturação da resposta com o tamanho da imagem depende da velocidade com que ela se move. Essa propriedade de integração do H1 é conhecida como "controle de ganho", e sabe-se que é devida a combinação dos sinais das sinapses excitatórias e inibitórias que o H1 recebe dos neurônios da medula [Borst e Haag, 2002].

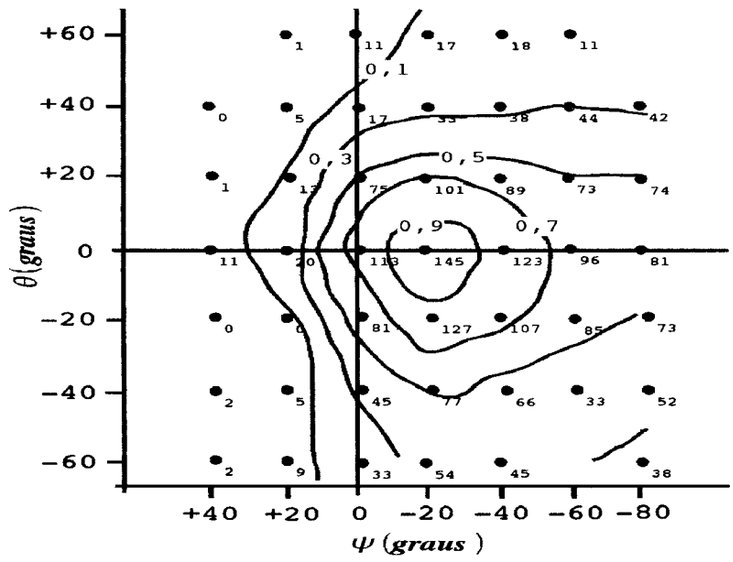

Figura 1.6 - Campo receptivo e sensibilidade espacial do neurônio H1. Os pontos indicam a posição em que o estímulo foi mostrado e o respectivo número indica a resposta em pulsos/segundo. As curvas vermelhas representam as regiões de mesma sensibilidade espacial, e os números correspondentes, a porcentagem da resposta máxima. Adaptado de [Hausen,1981].

A projeção do axônio na placa lobular do hemisfério contralateral excita as células HS e CH, que por sua vez, inibem o outro H1 [Farrow et al., 2003]. Portanto, o H1 faz parte de um mecanismo binocular de detecção de velocidade, que pode servir, entre outras coisas, para medir o "auto-movimento" da mosca, complementando a função dos halteres.

Todas essas propriedades do H1 indicam que ele

é um neurônio suficientemente complexo para que nós possamos, através dele, entender como funcionam os mecanismos básicos de codificação neural em sistemas biológicos mais complexos, como por exemplo, no cérebro humano.

2. Metodologia

2.1 Parte Experimental

2.1.1 Preparação

Em nosso experimento utilizamos duas moscas fêmeas da espécie *Chrysomya megacephala* com idade entre oito e quinze dias, pertencentes à primeira geração de indivíduos gerados a partir de moscas capturadas na natureza. Inicialmente as moscas tiveram as asas fixadas com cera e imobilizadas em cilindros plásticos, que em seguida são encaixados em um suporte para a operação das moscas, e posteriormente, para a realização das aquisições eletrofisiológicas.

Depois de fixar a mosca, a parte posterior da cápsula de quitina que envolve a cabeça dela é aberta, e o tecido gorduroso que normalmente cobre a região é retirado, permitindo que as traquéias que cobrem a placa lobular sejam vistas. Um músculo localizado nessa região também é retirado para evitar interferência no sinal do neurônio durante as aquisições.

Para evitar efeitos de inibição/excitação provenientes de neurônios do hemisfério contra-lateral do cérebro da mosca, o olho composto deste hemisfério foi coberto por uma camada de tinta tipo "guache", solúvel em

água. Em seguida a mosca é colocada em um suporte em frente ao monitor de vídeo e um eletrodo de tungstênio é introduzido no corte até encostar na região da placa lobular.

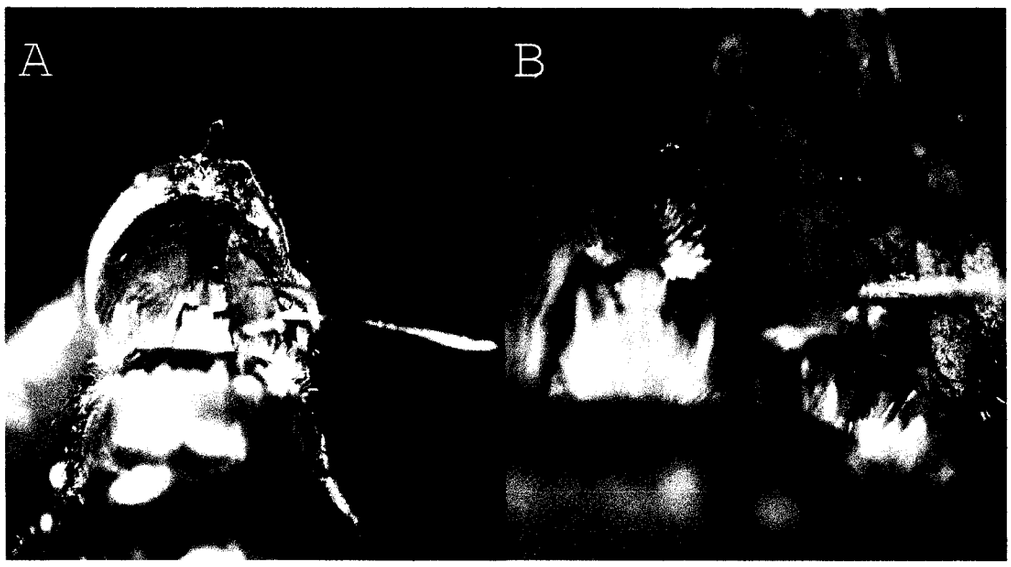

Figura 2.1 - Fotos da preparação da mosca para o experimento. (A)- Vista posterior da cabeça da mosca imobilizada, com a cápsula que envolve a cabeça aberta, e com eletrodo e fio de referência posicionados para aquisição da resposta do neurônio H1. (B)- Detalhe da região aberta.

A identificação do neurônio H1 é feita através do seu modo de resposta, de sua direção preferencial e de sensibilidade espacial, que abrange praticamente quase todo o campo visual da mosca, como mostra a figura 1.6.

Nessas condições e com um pouco de sorte, podemos realizar até vinte horas de aquisições extracelulares estáveis sem interrupção, se a mosca estiver em boas condições e for alimentada periodicamente com uma solução de água com açúcar ou suco de maçã.

IFSC-USP SERVIÇO DE BIBLIOTECA INFORMAÇÃO

2.1.2 Aquisição dos dados

A aquisição extracelular da resposta do neurônio H1 é obtida através de um eletrodo de tungstênio[4] com impedância entre 2 e 5 MΩ colocado na região de projeção do axônio do H1, no hemisfério contralateral, ou seja, no hemisfério oposto ao que está recebendo estímulo visual.

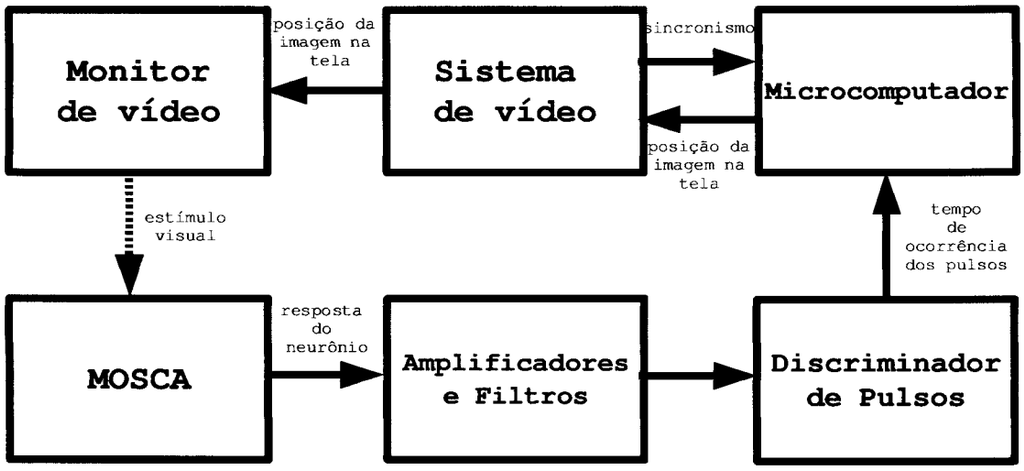

Figura 2.2 - Representação esquemática do sistema de aquisição de dados e geração do estímulo visual.

O sinal do neurônio, da ordem de 100 microVolts, é amplificado[5] dez mil vezes, em seguida é filtrado[6], e depois processado por um discriminador de pulsos, que detecta a ocorrência de um pulso quando o sinal ultrapassa um determinado limiar de tensão. Esse limiar é ajustado manualmente, de acordo com a variação da amplitude do sinal do neurônio.

O sinal do discriminador é enviado ao microcomputador e o tempo de ocorrência do pulso é registrado para análise posterior.

---

[4] eletrodo marca FHC, modelo #UEWMHGSEKP1M.
[5] pré-amplificador INA111 e amplificador OPA604, da Burr-Brown.
[6] Bessel de terceira ordem, com freqüências de corte em 300 e 7KHz.

2.1.3 Geração do estímulo

Durante o experimento a mosca observa uma imagem em movimento no monitor de vídeo[7], a uma distância entre 5,8 a 6,8 cm da tela do monitor, dependendo da aquisição.

A inclinação da mosca em relação ao monitor é calibrada de maneira que a resposta mais intensa do H1 seja registrada para um padrão de 20x20 pixels movendo-se no centro do monitor.

A posição horizontal da imagem é modificada a cada 2ms, de acordo com uma sequência de posições definidas previamente e armazenadas no microcomputador que controla o experimento. O sistema de vídeo[8] converte cada posição, de dezesseis bits de resolução, em uma tensão correspondente entre zero a cinco Volts que é aplicada ao controle de posição horizontal do monitor, alterando a posição da imagem na tela. Não há movimento da imagem na direção vertical e a taxa de varredura do monitor nessa direção é de 500Hz. A imagem tem tamanho máximo de 256x256 pixels, com 256 níveis de intensidade. A área útil do monitor de vídeo é de 9x11 cm.

Para analisar a resposta da mosca em função da posição do estímulo em seu campo visual, dividimos a imagem em quinze regiões iguais de 85x51 pixels. Em cada uma dessas regiões, mostramos uma faixa de 85x20 pixels à mosca. A faixa foi gerada de maneira que não houvesse correlação espacial na direção vertical: cada linha da

[7] Modelo Tektronics 608, de deflexão eletrostática, com fósforo P31 padrão (tempo de decaimento de 340µs a 10%).

[8] Os sistemas de aquisição e de geração de estímulo visual foram desenvolvidos no IFSC pelos técnicos Lirio O. B. de Almeida e Ulysses Borelli T. Jr., sob coordenação dos professores Jan F. W. Slaets e Roland Köberle.

faixa possui um número determinado de regiões de comprimento e intensidade aleatórios, com distribuição uniforme, verificar a figura 3.3A. A intensidade média[9] da imagem é de 4,5 cd/m².

Figura 2.3 - Preparação do experimento. (A) Imagem dividida em quinze regiões de 85x51 pixels. Durante cada experimento o movimento da faixa é limitado entre as linhas vermelhas, de maneira que não há sobreposição no campo visual da mosca. (B) O mesmo procedimento do experimento em (A) é repetido nas cinco regiões delimitadas pelas linhas vermelhas em (B), com a faixa 255x20 pixels.

O estímulo, ou seja, a posição da faixa em função do tempo em cada região do monitor, foi gerado a partir de uma distribuição gaussiana com média no centro de cada região e variância igual a metade da diferença entre a largura de cada região e a largura da faixa, de maneira que não houvesse sobreposição das regiões no campo visual da mosca. A duração total do estímulo foi de 20s, com tempo de correlação de 100ms. O estímulo foi repetido 108 vezes em cada posição, sendo os primeiros 10s do estímulo mantidos em todas as repetições e os 10s seguintes mudados em cada repetição. Utilizamos o gerador de números aleatórios do MatLab[10] e o algoritmo descrito em [Bartosch, 2001] para gerar a distribuição gaussiana

[9] Medida utilizando um luxímetro MLM 1333 da Minipa.
[10] Matlab 6.5, versão de estudante. Mathworks, inc.

com tempo de correlação de 100ms.

Utilizando o mesmo estímulo, apresentamos outra imagem contendo uma faixa de 255x20 pixels, construída utilizando o mesmo procedimento da imagem anterior, em cada uma das cinco regiões da tela igualmente divididas, como mostra a figura 3.3-B. A intensidade média dessa imagem é de 7,8 cd/m².

2.2 Análise dos Dados

Para a análise dos dados nós utilizamos a teoria da informação de Shannon e um pouco de estatística básica, brevemente resumidos nas seções seguintes. Todos os programas para análise dos dados foram feitos utilizando o MatLab 6.5.

2.2.1 Teoria da informação

A teoria da informação foi desenvolvida inicialmente para análise da transmissão de informação em sistemas de comunicação [MacKay, 2003; Cover e Thomas, 1991; Shannon, 1948] e tem sido amplamente utilizada no estudo da codificação de sinais em sistemas neurais [Passaglia e Troy, 2004; Schneidman et al.,2003; London et al., 2002; Reinagel e Reid, 2000; Brenner et al., 2000; Borst e Theunissen, 1999; Strong et al., 1998; Rieke et al., 1997; Steveninck et al., 1997].

No contexto da teoria da informação, um sistema de comunicação é composto por uma fonte de informação, um transmissor, um canal, um receptor e um destinatário. A fonte produz uma seqüência de mensagens que são codificadas de maneira apropriada pelo transmissor,

enviadas através do canal, decodificadas pelo receptor e entregues ao destinatário.

Em geral, esse processo é estocástico. A relação entre a mensagem produzida pela fonte e a recebida pelo destinatário é governada por uma distribuição de probabilidade. Por exemplo, em nosso caso, a informação é a velocidade da imagem na tela do monitor e a seqüência de pulsos produzida pelo neurônio é a informação codificada e transmitida. Devido ao ruído intrínseco do sistema neural, uma velocidade pode gerar mais de uma seqüência de pulsos.

Na teoria da informação o significado da mensagem não desempenha nenhum papel, de maneira que podemos calcular o grau de correlação entre o estímulo apresentado para a mosca e sua respectiva resposta sem fazer nenhuma suposição sobre quais os parâmetros do estímulo estão sendo codificados.

Essa medida de correlação entre estímulo e resposta é chamada de informação mútua, e o método que nós utilizamos para calculá-la segue o procedimento descrito em [Steveninck et al., 1997], brevemente resumido a seguir.

A resposta do neurônio H1, proveniente do sistema de aquisição, é uma seqüência de números que representam as ocorrências de pulsos disparados, com resolução de 10μs. Nós discretizamos o tempo em janelas, ou bins, de Δt =2ms de largura e representamos a ocorrência de um pulso em determinado bin por "1" e a

não ocorrência, por "0", gerando uma seqüência binária[11], como mostra a figura 2.4.

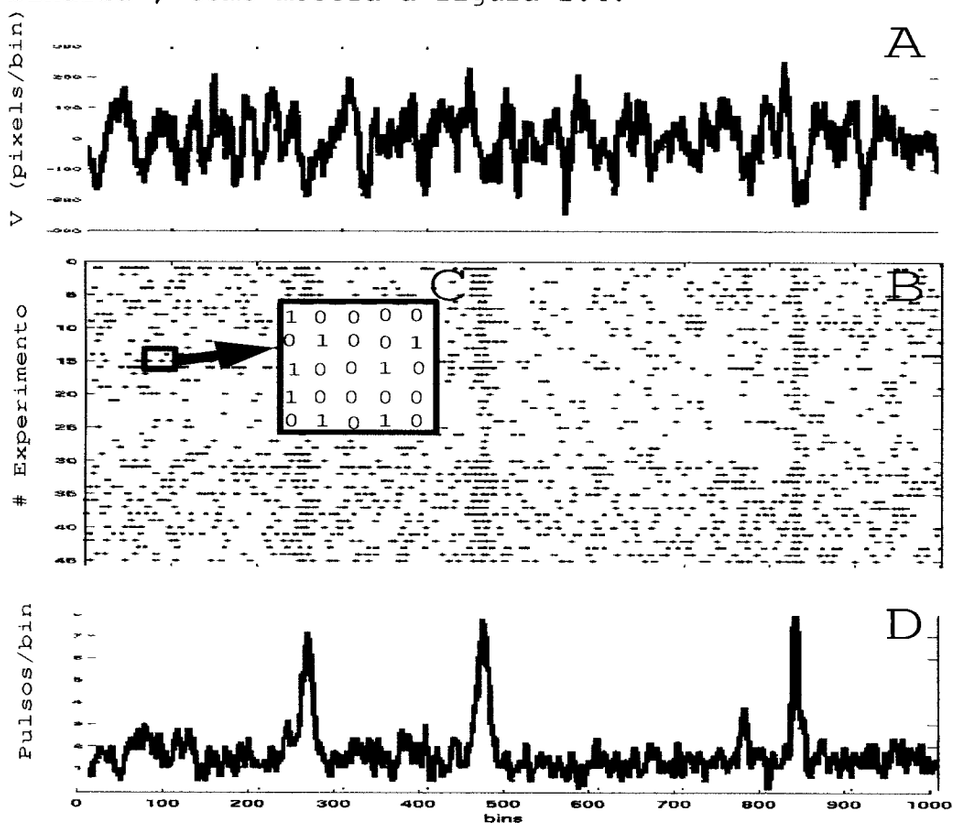

Figura 2.4 - Estímulo e resposta (A) velocidade da imagem na tela do monitor. (B) seqüências de repostas discretizadas. Cada ponto representa a ocorrência de um pulso. (C) detalhe das seqüências de respostas: a ocorrência de um pulso na janela é representada pelo número um, a ausência, por zero. (D) taxa de disparo em função do tempo, calculada somando todas as ocorrências de pulsos em cada bin para todas as repetições.

Em seguida dividimos essa sequência binária em "palavras" de comprimento T bins e calculamos as distribuições de probabilidades da palavras, P(R), e das palavras dados os estímulos, P(R|E).

Das distribuições de probabilidade nós obtemos a entropia total, H(R), a entropia do ruído, H(R|E), e a

[11]Como o tempo refratário do H1 é de aproximadamente 2ms, não há a ocorrência de mais de um pulso em cada janela.

informação mútua, I(R;E), seguindo as definições de Shannon:

$$H(R) = -\sum_i P(R_i)\log_2 P(R_i) \tag{1}$$

$$H(R|E) = -\sum_i \sum_j P(R_i, E_j)\log_2 P(R_i|E_j) \tag{2}$$

$$I(R;E) = \sum_i \sum_j P(R_i, E_j)\log_2 \frac{P(R_i, E_j)}{P(R_i)P(E_j)} = H(R) - H(R|E) \tag{3}$$

A entropia total (1) é uma medida de variabilidade da resposta, que quantifica a capacidade do neurônio de transmitir informação. A entropia do ruído (2) mede a reprodutibilidade da resposta e a diferença entre as duas entropias é a informação mútua (3).

A eficiência do neurônio na codificação do estímulo pode ser estimada através da fração da entropia que carrega informação [Lewen et al., 2001]:

$$\xi = \frac{I_T(R,E)}{H(R)} \tag{4}$$

As entropias calculadas nas equações 1 e 2 são grandezas que dependem da largura Δt da janela e do tamanho T da palavra. As entropias reais são calculadas quando $\mathbf{T} \to \infty$ e $\Delta t \to 0$. O problema em determinar a entropia para valores de T grandes é que precisamos de uma imensa quantidade de dados experimentais para calcular as distribuições de probabilidade.

Para contornar o problema de estimar as entropias reais a partir de um conjunto limitado de dados nós usamos o procedimento descrito em [Strong et al., 1998], que consiste em calcular as entropias para

IFSC-USP SERVIÇO DE BIBLIOTECA INFORMAÇÃO

diferentes valores de T e fazer uma extrapolação linear para T $\rightarrow \infty$.

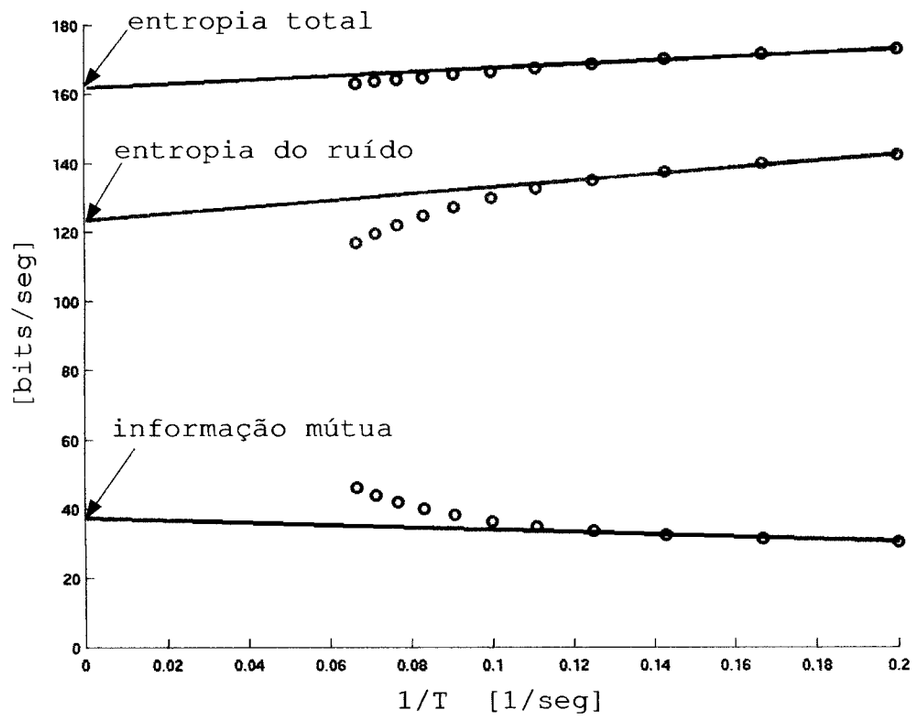

Figura 2.5 - Método da extrapolação linear para o cálculo das entropias e informação mútua reais [Strong et al., 1998]. As setas indicam o valores obtidos quando 1/T tende a zero.

A informação mútua calculada da maneira descrita acima não permite identificar qual o modo de transmissão da informação, ou seja, se a informação está sendo transmitida pela taxa de disparo, pela estrutura temporal da seqüência de pulsos, ou uma combinação desses dois modos.

Brenner et al. (2000) desenvolveram um método de para calcular a quantidade de informação que determinados eventos ou sequências de pulsos carregam [Brenner et al.,2000]. Nós usaremos esse método para determinar a

quantidade de informação transmitida pela estrutura temporal da sequência de pulsos.

Supondo que a probabilidade $P(R_e)$ de encontrar um determinado evento R_e em uma janela de tempo de tamanho τ é uniforme e calculando a probabilidade condicional $P(R_e|E)$ através da taxa de disparo do evento, $r_e(t)$, dividida pela taxa média, r_m, vezes o tamanho da janela, τ, a informação mútua entre o evento e o estímulo é dada por:

$$I_e(R_e;E)=\frac{1}{\tau}\int_0^{\tau} dt\ \frac{r_e(t)}{r_m}\log_2\frac{r_e(t)}{r_m} \qquad (5)$$

Se fizermos R_e igual a ocorrência de um pulso em determinado instante t, então a equação 5 fornece a quantidade de informação transmitida pela taxa de disparo, $I_{e=1}$, considerando os pulsos independentes.

A informação transmitida pela estrutura temporal da seqüência de pulsos, I_E, é a diferença entre a informação total, I_T, e a informação transmitida pela taxa de disparo, $I_{e=1}$.

Nós também analisamos, usando a equação 5, a quantidade de informação mútua entre os eventos compostos por dois pulsos R_1 e R_2, separados por um intervalo de tempo t, e o estímulo.

A fração de energia extra transmitida pelos dois pulsos juntos pode ser calculada através da equação 6.

$$S_f(R_1,R_2)=\frac{I_{e12}(R_1,R_2;E)-I_{e1}(R_1;E)-I_{e2}(R_2;E)}{I_{e12}(R_1,R_2;E)} \qquad (6)$$

Valores positivos de S_f indicam sinergia entre os pulsos, valores negativos, redundância.

2.2.2 Reprodutibilidade da Resposta

Quando apresentamos o mesmo estímulo à mosca várias vezes, é possível analisar a reprodutibilidade das respostas. Uma maneira de quantificar a reprodutibilidade da resposta é calculando a razão entre entropia do ruído e a entropia total, calculadas na seção 2.2.1.

Outra maneira é calcular a média e a variância do número de ocorrências dos pulsos em uma janela de largura T. Devido a natureza discreta dos pulsos, a variância é mínima quando metade das ocorrências tem n pulsos e a outra metade n+1 pulsos. Se temos a probabilidade (1-f) de haver n pulsos e f de haver n+1 pulsos, então pode ser mostrado que a variância mínima em função de f é dada por:

$$\sigma^2_{min} = f(1-f) \qquad (7)$$

Por outro lado, se a variância é igual a média, então a resposta do neurônio se aproxima de um processo de Poisson.

Nós fizemos o gráfico da variância pela média para uma janela de largura 10ms para todas as posições do estímulo no campo visual e calculamos o fator de Fano (FF), definido como média da razão entre a variância e a média do número de ocorrências de pulsos em todas as janelas.

3. Resultados

3.1 Reprodutibilidade e Eficiência

As respostas do H1 para o mesmo estímulo em diferentes posições do campo visual são diferentes, como podemos observar na figura 3.1, que mostra a ocorrência dos pulsos para cada repetição do mesmo estímulo, em várias posições no campo visual da mosca.

Nas respostas para regiões centrais do campo visual - com azimute entre 0° e -20°, e elevação igual a 0° - e nas respostas para a faixa de 255x20 pixels, notamos que alguns padrões de resposta ficam bastante nítidos no gráfico de ocorrência, indicando que o neurônio dispara com uma maior precisão, ou seja, a reprodutibilidade da resposta do neurônio aumenta.

Esse aumento da reprodutibilidade fica evidente na figura 3.2, que mostra os gráficos da variância pela média da ocorrência dos potenciais de ação em uma janela de 10ms. As parábolas invertidas nos gráficos mostram o limite inferior da variância (equação 7). Observe que as regiões que visualmente apresentam maior precisão no disparo nos gráficos da figura 3.1, mostram uma quantidade maior de pontos nas proximidades da curva de variância mínima na figura 3.2.

O fator de Fano é menor para as posições em que os pontos estão mais próximos da variância mínima. Entretanto, o desvio padrão do fator de Fano aumenta muito nessas regiões. Isso pode ser explicado pela sensibilidade direcional do H1. Determinados trechos do

estímulo, na direção preferencial, produzem respostas com bastante reprodutibilidade, mas quando o estímulo é na direção oposta, a reprodutibilidade da resposta é baixa.

Para analisar melhor a reprodutibilidade da resposta em função da posição, podemos observar o gráfico da razão entre a entropia do ruído e a entropia total, como mostra a figura 3.3. As cores nos gráficos da figura 3.3 representam os valores obtidos por interpolação cúbica [Press et al., 1992] dos valores obtidos experimentalmente. Quanto menor a fração de ruído na posição, melhor a reprodutibilidade e a eficiência[12] do neurônio.

A região que apresenta o menor ruído está localizada aproximadamente em azimute igual a -10° e elevação igual a 0°, para as duas moscas. O valor mínimo da fração do ruído em ambas é maior que cinquenta por cento. Na figura 3.4 podemos comparar o ruído em função do tamanho da imagem no campo visual. Nota-se que o ruído é semelhante para a faixa de 85x20 pixels na região equatorial (azimute=0°) e faixa de 255x20 pixels. Nas regiões periféricas o ruído depende menos da elevação, mas é significativamente menor para a faixa de 255x20 pixels.

A sensibilidade do H1, medida pela taxa de disparo média dos pulsos é mostrada nas figuras 3.5 e 3.6. A maior taxa de disparo para a faixa de 255x20 pixels é 47 pulsos/segundo e ocorre em -20° para a mosca

[12] A eficiência pode ser escrita como 1-H(R|E)/H(R).

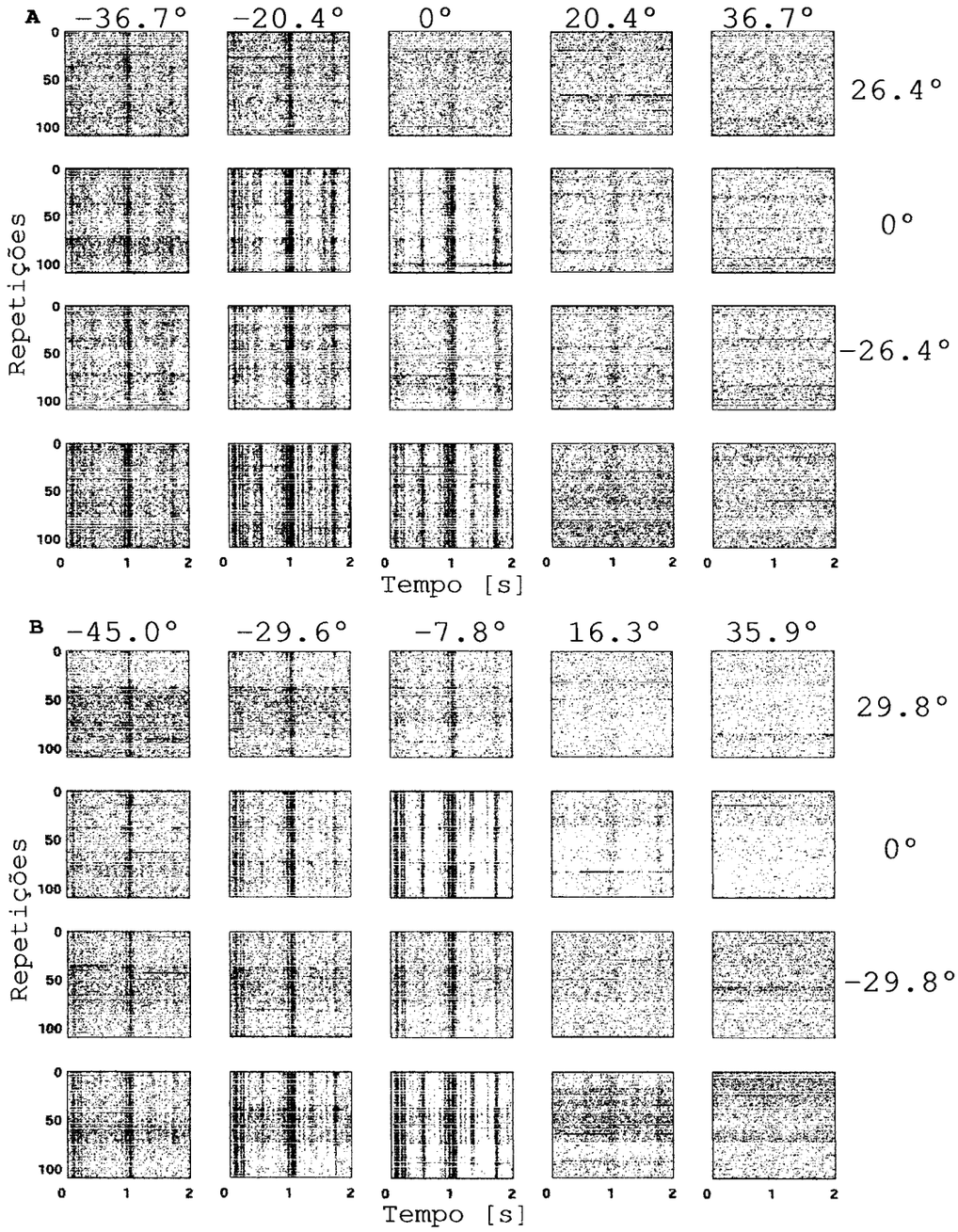

Figura 3.1 - Resposta do neurônio H1 em função da posição da imagem no campo visual para duas moscas distintas (A) e (B).Os números acima de cada coluna e em frente de cada linha representam o azimute e a elevação da posição do estímulo no campo visual, em graus. Na última linha de (A) e (B) estão as respostas das moscas para a faixa de 255x20 pixels e nas três primeiras linhas estão as respostas para a faixa de 85x20 pixels. O estímulo foi repetido 108 vezes em cada posição.

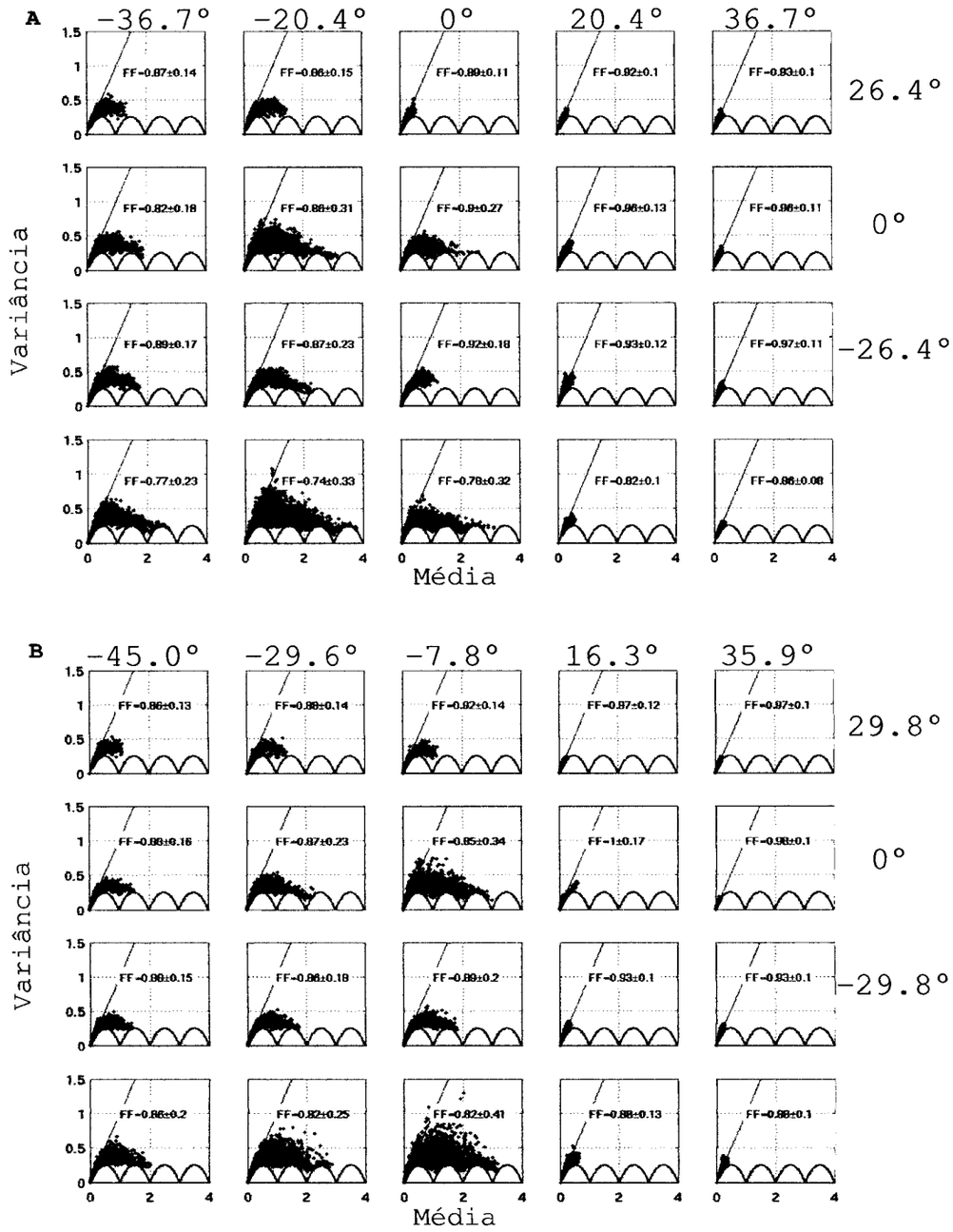

Figura 3.2 - Gráfico da variância pela média de pulsos de cada posição do campo visual em que o estímulo foi apresentado para duas moscas distintas (A) e (B), utilizando uma janela de tempo de 10ms. FF é o fator de fano. Como na figura 3.1, os números acima de cada coluna e em frente de cada linha representam o azimute e a elevação da posição do estímulo no campo visual. A última coluna corresponde a resposta para a faixa de 255x20 pixels.

SERVIÇO DE BIBLIOTECA
INFORMACAO

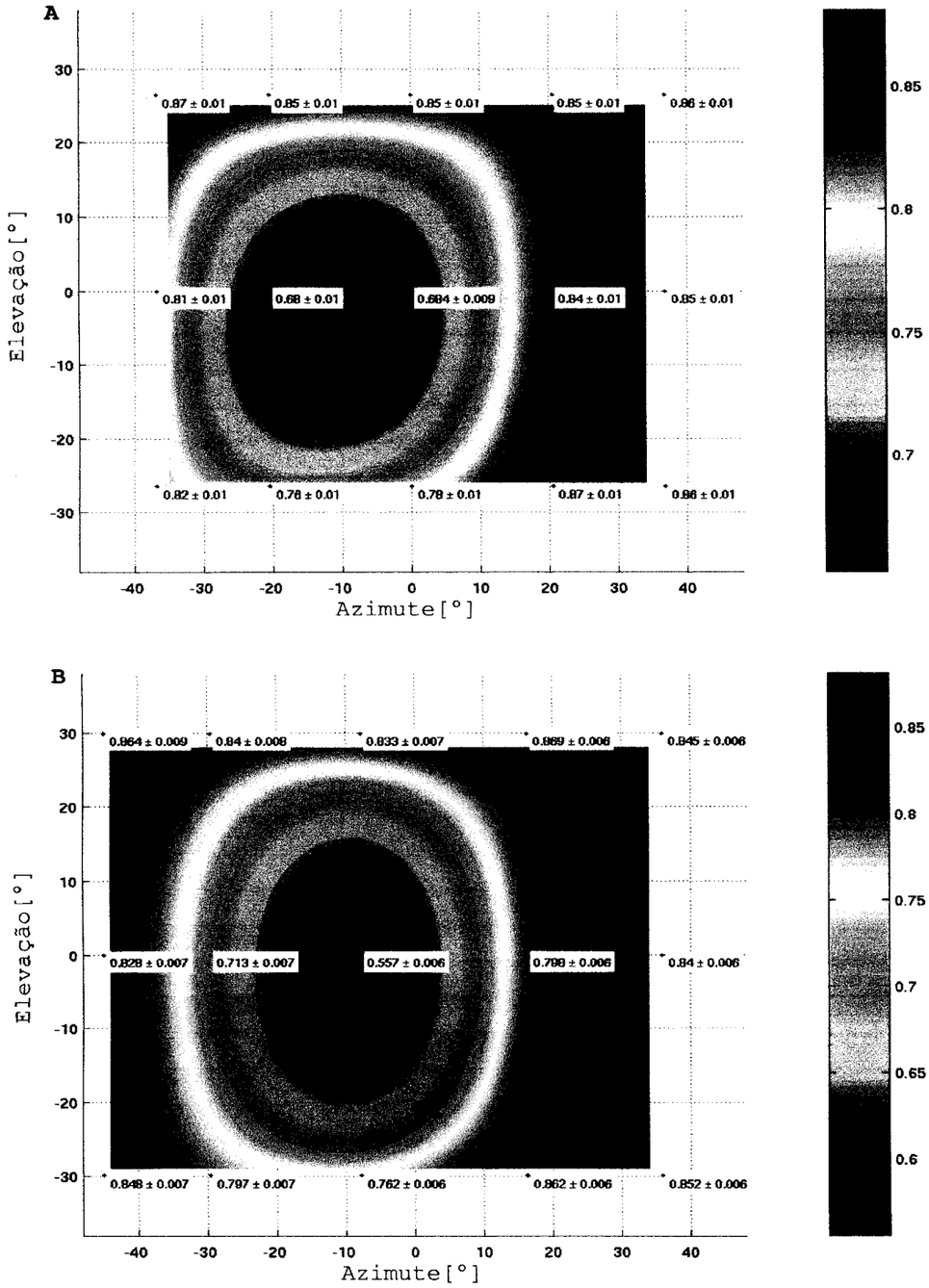

Figura 3.3- Razão entre a entropia do ruído e a entropia total em função da posição, para a mosca (A) e (B). As barras laterais indicam as respectivas intensidades das cores nos gráficos. Os valores calculados a partir dos dados são mostrados nos respectivos pontos do campo visual em que a aquisição foi realizada.

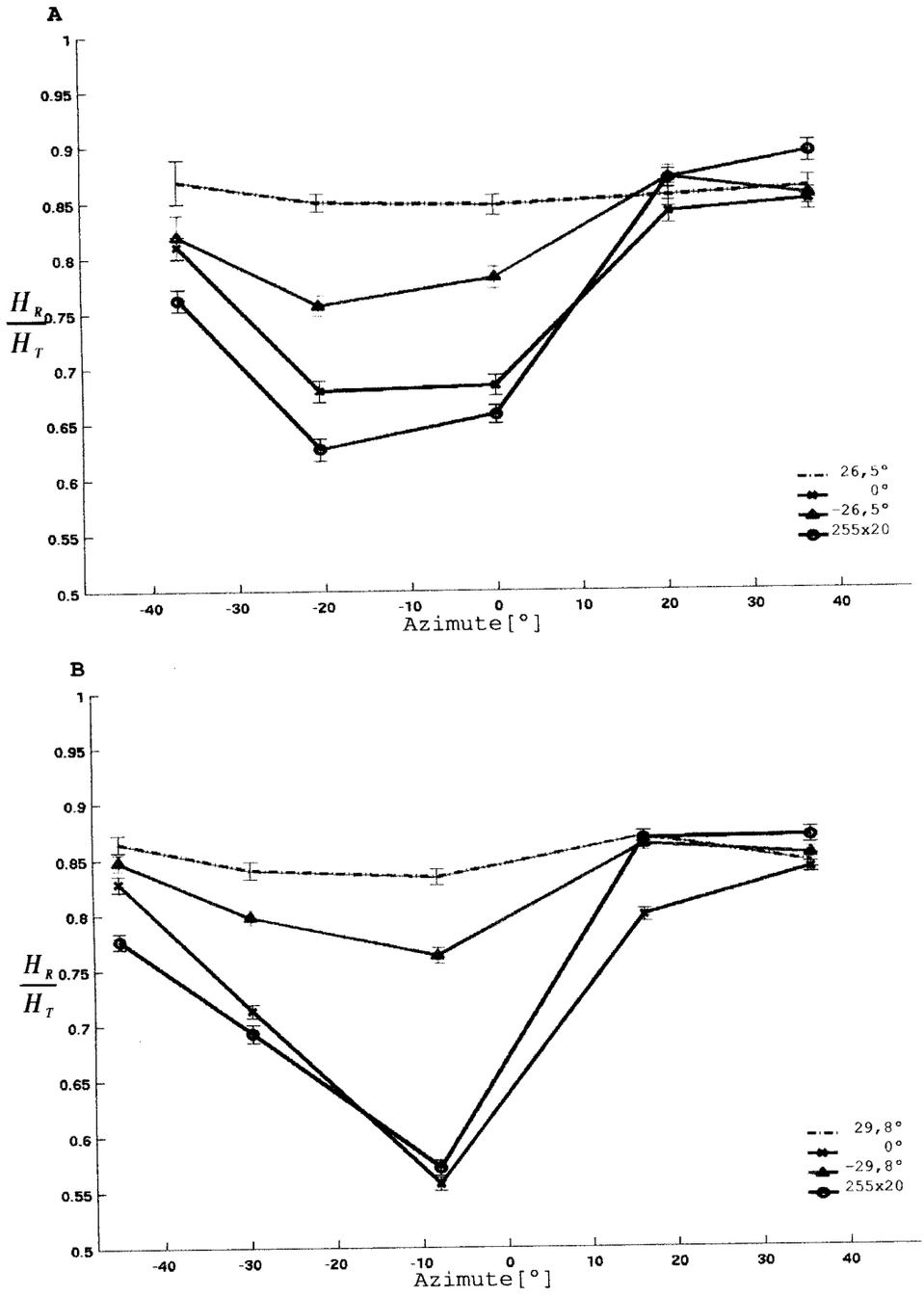

Figura 3.4- Razão entre a entropia do ruido e a entropia total em função do azimute, para a faixa de 255x20 pixels e para a faixa de 85x20 pixels em três elevações, como mostra a legenda, para as duas moscas (A) e (B).

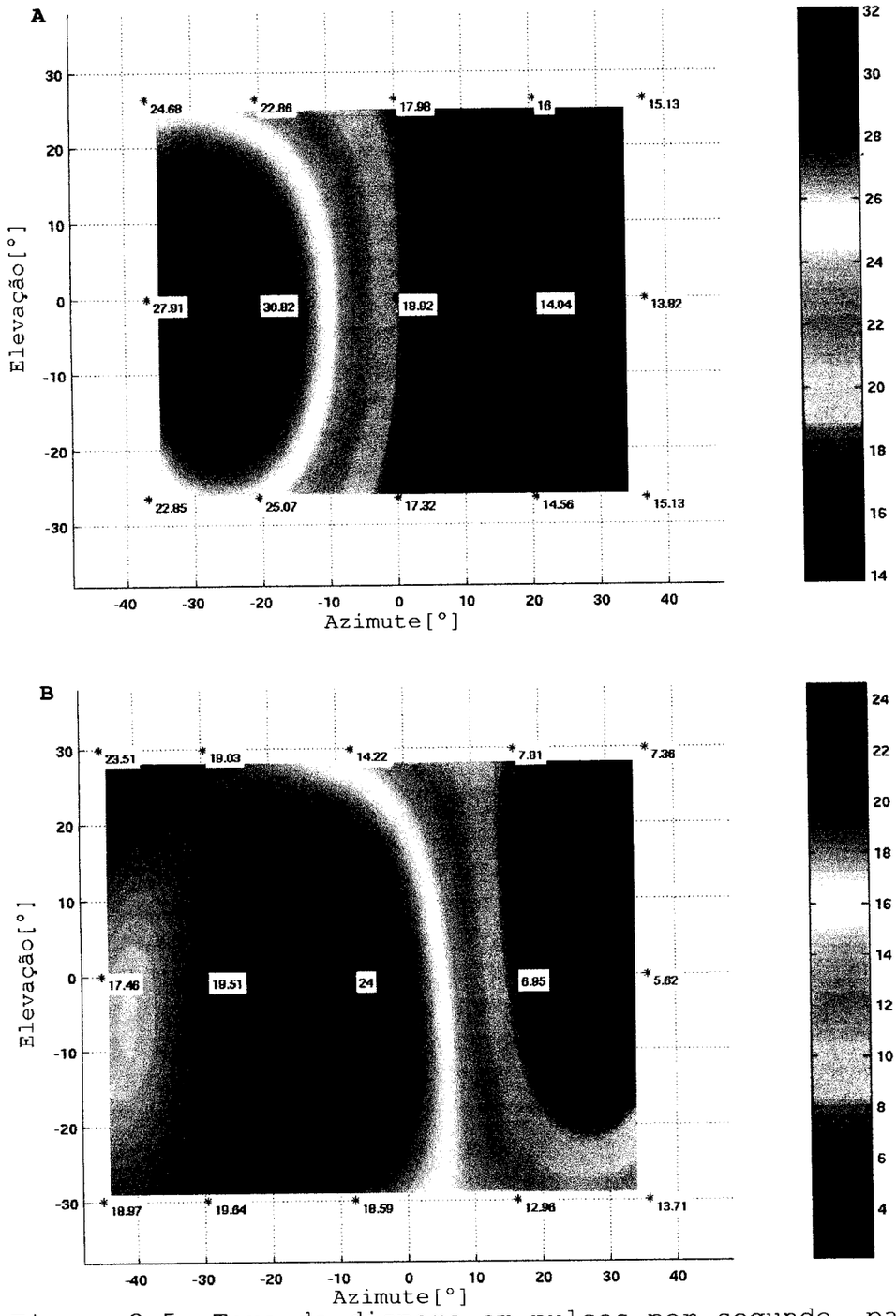

Figura 3.5- Taxa de disparo em pulsos por segundo, para a mosca (A) e (B). As barras laterais indicam as respectivas intensidades das cores nos gráficos. Os valores calculados a partir dos dados são mostrados nos respectivos pontos do campo visual em que a aquisição foi realizada.

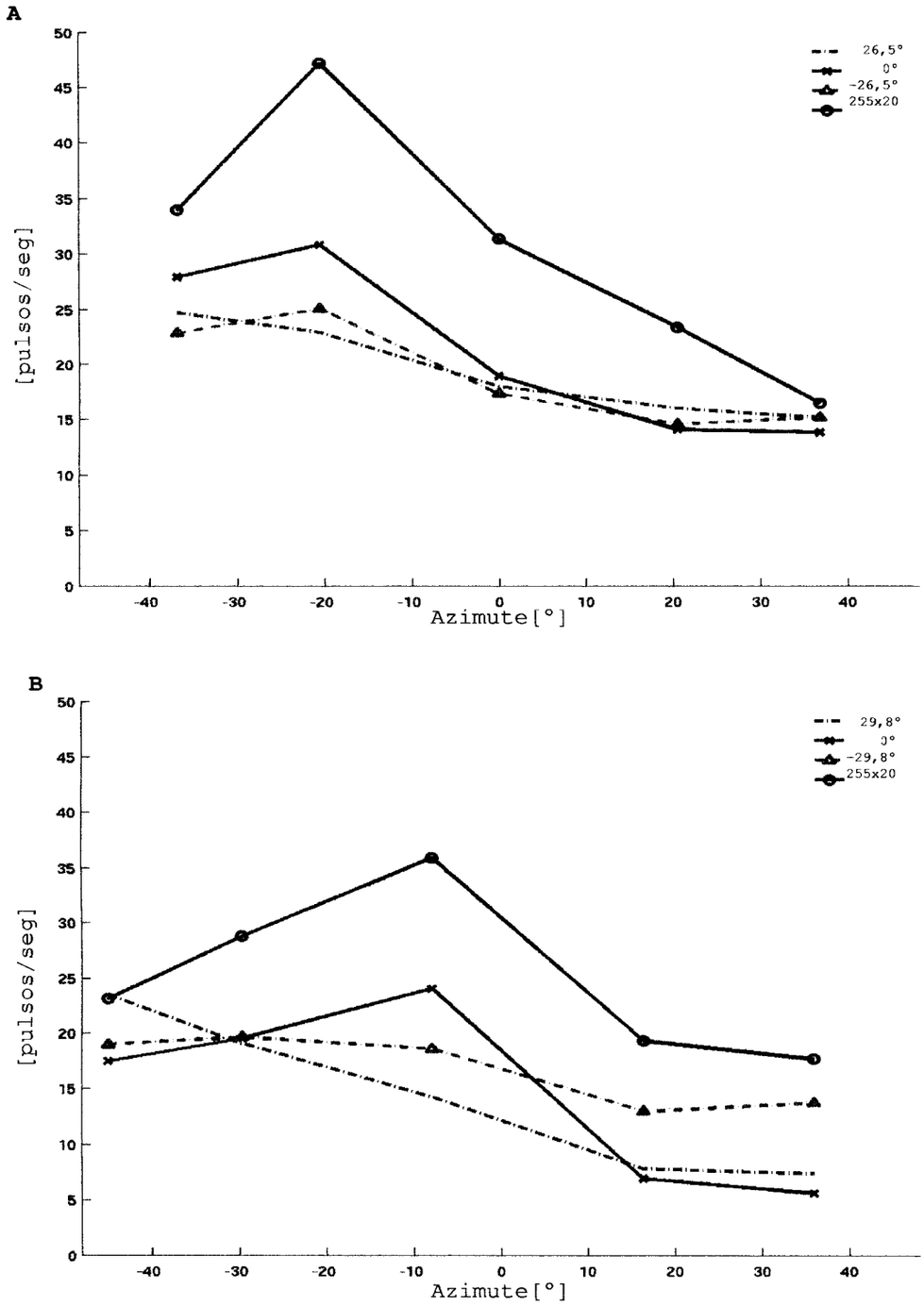

Figura 3.6- Taxa de disparo em pulsos por segundo, para a faixa de 255x20 pixels e para a faixa de 85x20 pixels em três elevações, como mostra a legenda, para as duas moscas (A) e (B)

A. Para a faixa de 85x20 pixels, com mesmo azimute e elevação 0°, a taxa de disparo é aproximadamente 31 pulsos/segundo. Triplicando a área de excitação nessa posição aumenta a taxa de disparo em cinquenta e três por cento. Entretanto, o aumento da taxa de disparo com o aumento da área de excitação também depende da posição.

A fração de ruído, todavia, aumenta no máximo dez por cento com o aumento de 3 vezes no tamanho da imagem. A mosca B apresenta resultados semelhantes. Na região fronto-equatorial, a fração de ruído da mosca B para a faixa de 85x20 e 255x20 pixels são iguais.

3.2 Informação Transmitida

A fração da informação transmitida pela estrutura dos pulsos, I_E/I_T, em função da posição do estímulo no campo visual pode ser vista na figura 3.7.

O mínimo de I_E/I_T ocorre na região equatorial do campo visual, com azimute entre -10° e -20°, para as duas moscas. Nessa região a estrutura da seqüência de pulsos é responsável por aproximadamente trinta por cento da informação total transmitida na mosca A e 20% na mosca B.

Para comparar a dependência de I_E/I_T com o tamanho da imagem, e por conseqüência, com a área de excitação da rede dendrítica, podemos observar a figura 3.8. Assim como o ruído, I_E/I_T depende muito pouco do tamanho da imagem, mas é bastante dependente da posição da imagem no campo visual, como mostram as curvas para as faixas de 85x20 pixels na região equatorial (azimute=0°) e 255x20 pixels.

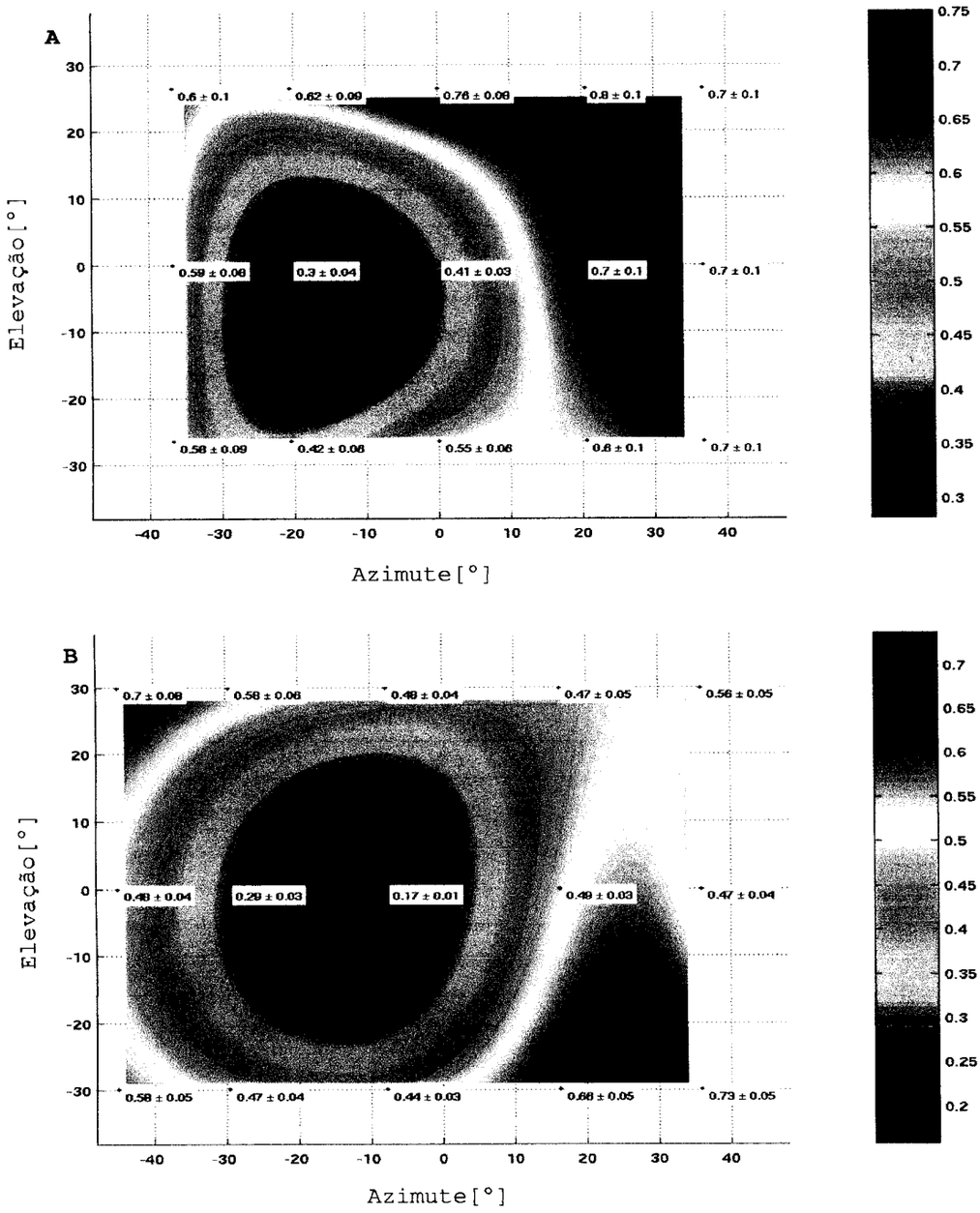

Figura 3.7- Fração da informação transmitida pela estrutura da seqüência de pulsos em função da posição do estímulo no campo visual, para a mosca (A) e (B). As barras laterais indicam as respectivas intensidades das cores nos gráficos. Os valores calculados a partir dos dados são mostrados nos respectivos pontos do campo visual em que a aquisição foi realizada.

VICO DE BIBLIOTECA
INFORMACAO

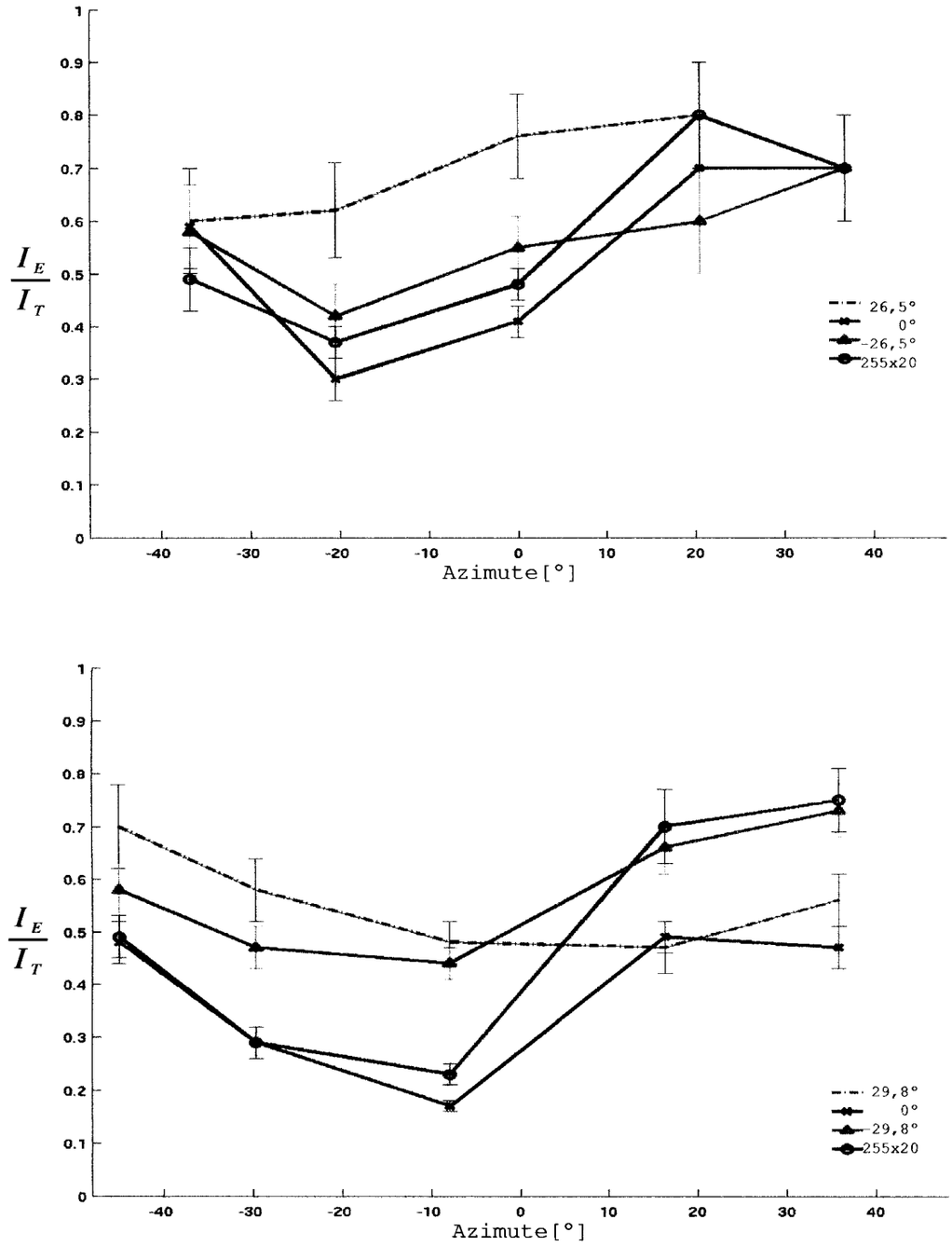

Figura 3.8- Fração da informação transmitida pela estrutura da seqüência de pulsos em função do azimute, para a faixa de 255x20 pixels e para a faixa de 85x20 pixels em três elevações, como mostra a legenda, para as duas moscas (A) e (B).

Nas regiões em que o H1 apresenta o menor ruído, e por conseqüência, a maior reprodutibilidade da resposta, a importância da estrutura temporal da seqüência na transmissão de informação é pequena, como mostra a figura 3.9. O coeficiente de correlação é 0,8778 e 0,8748, para as moscas A e B, respectivamente.

A fração da informação transmitida pela estrutura temporal varia de vinte a quase oitenta por cento, dependendo da posição do estímulo no campo visual, e por conseqüência, dependendo da região da rede dendrítica excitada.

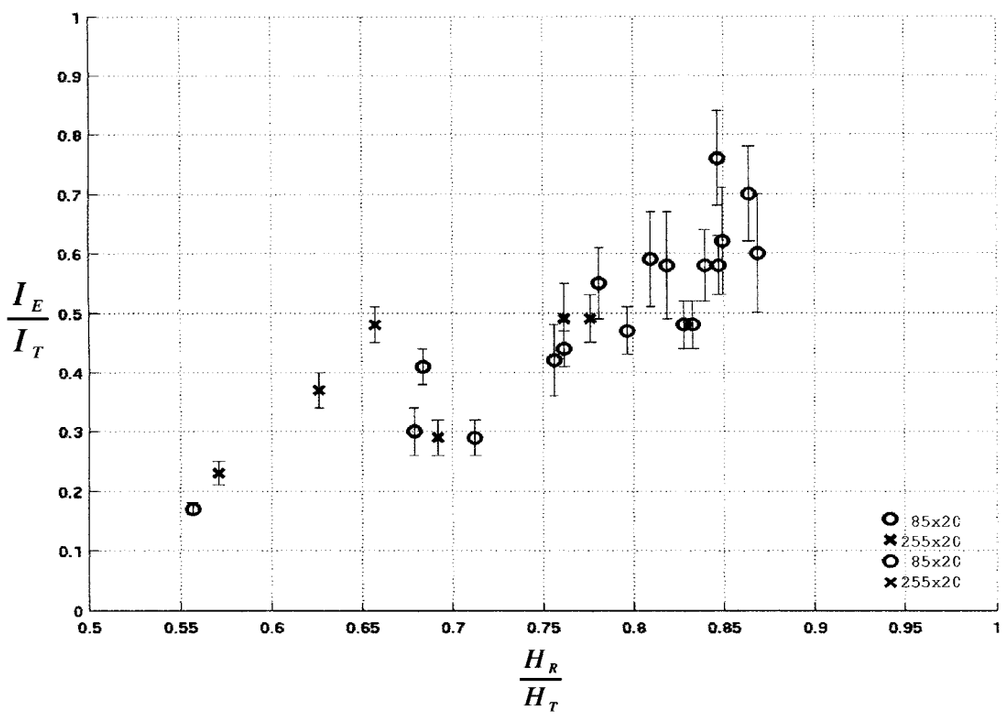

Figura 3.9- Fração da informação transmitida pela estrutura da seqüência de pulsos em função da fração do ruído, para duas moscas (vermelho e azul). As faixas de de 85x20 e 255x20 pixels são representadas conforme mostra a legenda.

3.3 Sinergia

Na seção anterior nós mostramos a dependência da quantidade de informação transmitida pela estrutura temporal das sequências de pulsos com a posição e o tamanho da imagem no campo visual.

Entretanto, não é possível analisar, com os resultados acima, se há alguma estrutura particularmente informativa na seqüência de pulsos. Para analisar essas estruturas nós utilizamos a equação 6 e calculamos a informação extra transmitida por eventos compostos por dois pulsos e um intervalo t entre eles, com t variando entre 0 e 40ms.

Os gráficos da fração da sinergia em função do intervalo entre os pulsos, mostrados na figura 3.10, revelam que as curvas de sinergia apresentam um mínimo entre 6 e 10ms, dependendo da posição do estímulo no campo visual.

Curiosamente, para as regiões com azimute igual a 0 e -20,4° para a mosca A, e -7,8 e 29,6° para a mosca B, a curva da fração da sinergia, para uma mesma posição, independe do tamanho da imagem.

Valores positivos da fração de sinergia indicam que os pulsos do evento carregam informação extra na estrutura temporal do evento. Se a fração da sinergia for zero, os pulsos do evento carregam informação de maneira independente e se a fração da sinergia for negativa, a informação carregada pela estrutura do evento é redundante.

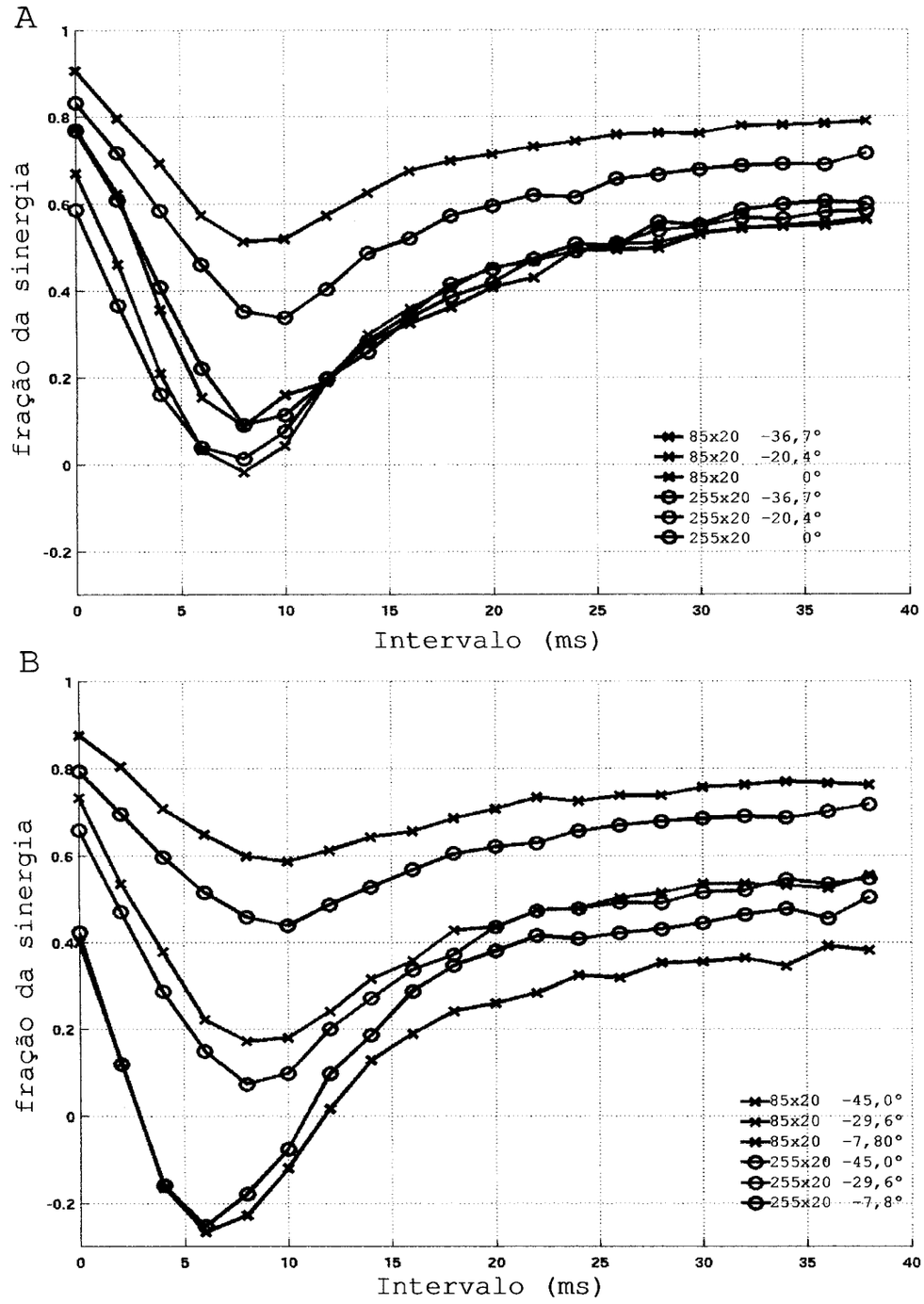

Figura 3.10 - Fração da sinergia para eventos compostos por dois pulsos em função do intervalo t±2ms entre eles, para as faixas de 255x20 e 85x20 pixels em algumas posições do campo visual das moscas (A) e (B), conforme mostram as respectivas legendas.

IFSC-USP SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO

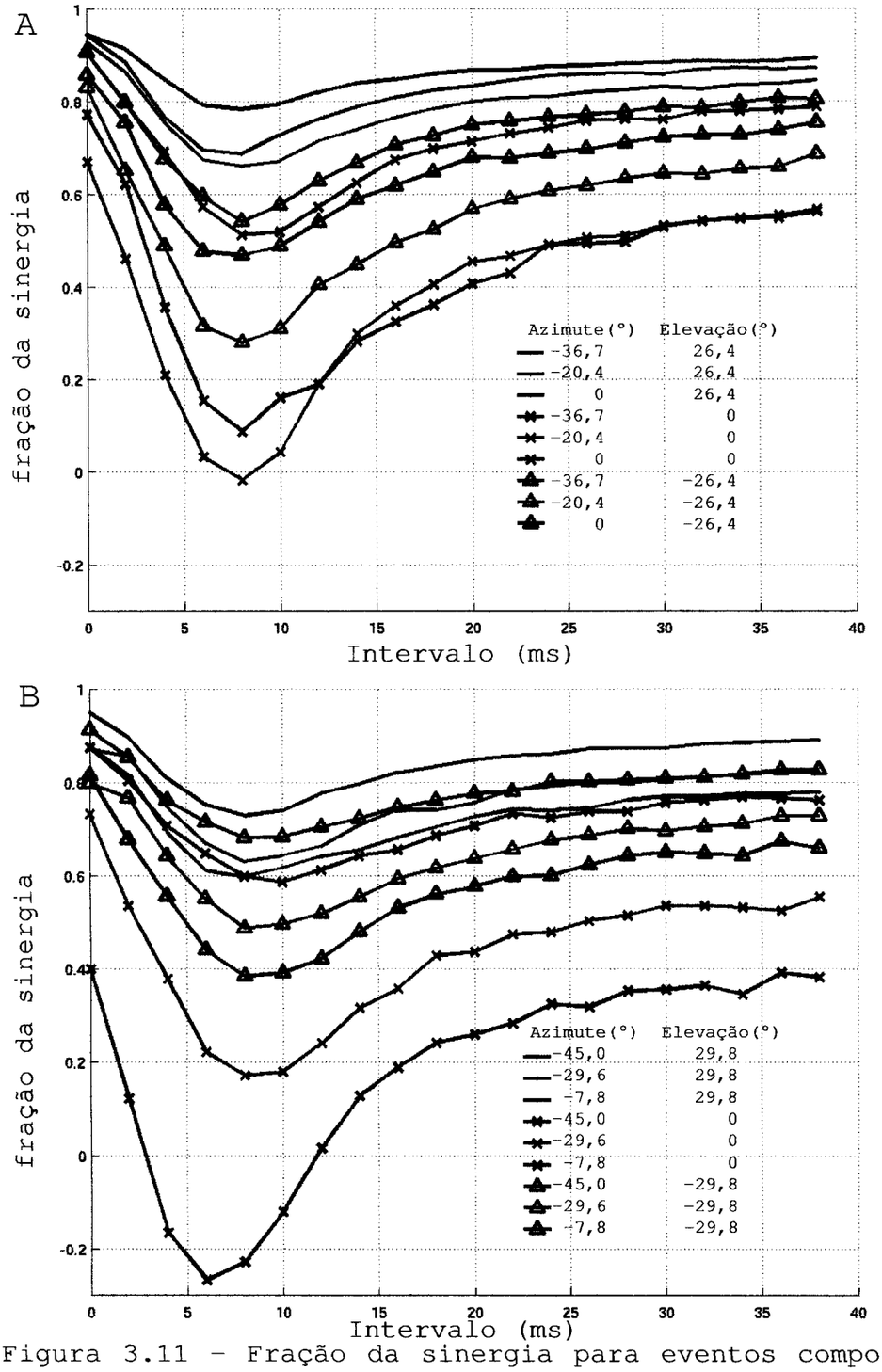

Figura 3.11 - Fração da sinergia para eventos compostos por dois pulsos em função do intervalo t±2ms entre eles, para as faixas de 85x20 pixels em diferentes posições do campo visual das moscas A e B, conforme mostram as respectivas legendas.

Para a mosca A, apenas a faixa de 255x20 pixels em -20,4° apresenta valor mínimo negativo para fração de sinergia, indicando que eventos com intervalo de 8ms entre eles são redundantes. Para a mosca B, intervalos entre 3 e 12ms apresentam redundância.

A fração da sinergia em função do intervalo entre os eventos para a faixa de 85x20 pixels nas diferentes regiões do campo visual podem ser observadas na figura 3.11.

A posição média dos valores mínimos da sinergia são 8,1ms e 8,4ms para as moscas A e B, respectivamente.

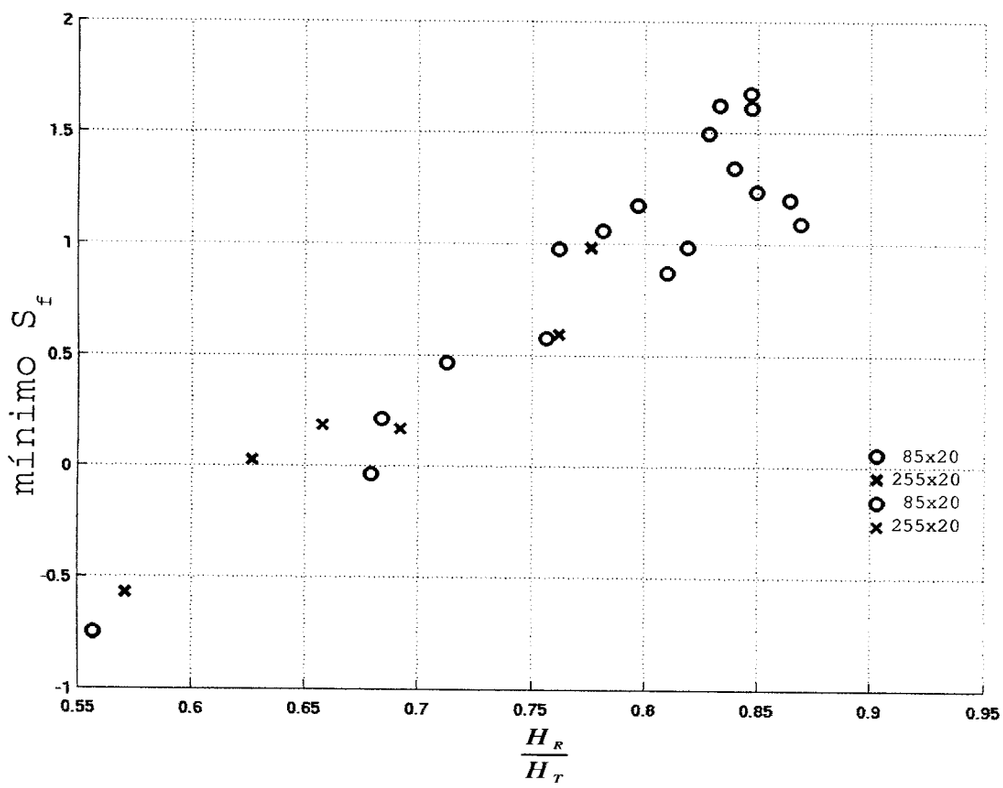

Figura 3.12- Valores mínimos da fração da sinergia em função da fração do ruído, para duas moscas (vermelho e azul). As faixas de de 85x20 e 255x20 pixels são representadas conforme mostra a legenda.

Na figura 3.9 nós mostramos o comportamento da fração de informação transportada pela estrutura dos pulsos em função da fração do ruído, para várias posições do campo visual. As curvas de sinergia também dependem da fração de ruído da mesma forma que I_E/I_T, como mostra a figura 3.12. Os coeficientes de correlação são 0,9244 e 0,8505, para as moscas A e B, respectivamente.

4. Discussão

Devido ao mapeamento retinotópico do sistema visual mosca, estimulá-la com imagens em determinadas regiões do campo visual significa estimular determinadas regiões da rede dendrítica do neurônio H1 [Hausen, 1981; Borst, 1996].

Nossos resultados mostram a dependência de algumas propriedades do H1 com a posição e tamanho da imagem no campo visual da mosca. Nós medimos a sensibilidade, quantificamos a reprodutibilidade da resposta, calculamos a informação transmitida pela estrutura temporal e a sinergia entre os pulsos para quinze posições no campo visual.

A sensibilidade do H1 é fortemente influenciada pela posição e tamanho da imagem e concordam com resultados de trabalhos anteriores [Hausen,1981], apesar dos estímulos utilizados terem sido diferentes. Os resultados mostram que a resposta do H1 é significativamente mais intensa na região fronto-equatorial, com 0° de elevação e azimute entre -30° a -10°. O aumento da taxa de disparo com o aumento da área

da imagem também depende da posição. Nas regiões mais sensíveis, triplicar a área de excitação aumenta a taxa de disparo em aproximadamente cinquenta por cento, nas regiões menos sensíveis, o aumento é de dez a trinta por cento.

A reprodutibilidade da resposta pode ser quantificada pela fração do ruído, H_R/H_T, porque quanto maior a fração de ruído, menor a reprodutibilidade. Para o H1, a reprodutibilidade depende mais fortemente da posição que do tamanho da imagem. Borst (2003) calculou a informação mútua I_T para vários parâmetros do estímulo, entre eles o tamanho e contraste da imagem. Os dados de Borst (2003) mostram que a relação H_R/H_T varia de 0,2857 a 0,1607 quando o tamanho da imagem varia de 19°x65° para de 70°x65°. Nossos resultados mostram que a razão H_R/H_T é sempre maior que 0,5. Isso talvez possa ser explicado pelo tamanho das imagens que utilizamos, de 26°x8° e 78°x8°, oito vezes menor que a imagem utilizada por [Borst,2003].

Nossa principal motivação era verificar a dependência da informação transmitida pela estrutura da sequência em função da rede dendrítica. Os resultados mostram que essa informação depende da localização e em menor intensidade, do tamanho da imagem.

Schneidman et al. (2001) calcularam a informação transmitida pela estrutura dos pulsos para nove moscas distintas, sem, entretanto, levar em consideração a posição do estímulo no campo visual [Schneidman et al., 2001]. A porcentagem de informação

IFSC-USP SERVIÇO DE BIBLIOTECA

média obtida por eles foi de 45±17%. Brenner et al.(2000) também calcularam, para dados de uma mosca apenas, e obtiveram vinte e cinco por cento [Brenner et al.,2000]. Nossos resultados mostram que dependendo da posição do estímulo, a porcentagem da informação transmitida pela estrutura pode variar de vinte a setenta por cento.

Curiosamente, onde a reprodutibilidade da resposta é maior, a estrutura da sequência transmite menos informação. Esse resultado é bastante interessante, pois esperávamos que com o aumento da reprodutibilidade, e por conseqüência, com o aumento da precisão de disparo do neurônio, maior seria a informação transmitida pela estrutura temporal da sequência.

A análise da fração da sinergia entre os pulsos nas diferentes posições do campo visual mostraram-se igualmente intrigantes. A curva de sinergia apresenta um mínimo para os pulsos separados por intervalos de 6 a 8ms. Os valores dos mínimos da sinergia dependem da posição da imagem no campo visual.

Para as posições que apresentam menor ruído, não há informação extra transmitida pelos eventos com intervalo entre 6 e 8ms, ou seja, os pulsos que compõem esses eventos transmitem informação de maneira independente. Isso explica porque a informação média transmitida pela estrutura da seqüência diminui nessas posições.

Se os pulsos transmitem informação independentemente, pode-se reconstruir o estímulo a partir do trem pulsos através de um filtro linear [Bialek

et al., 1991; Borst e Theunissen, 1999; Jones et al, 2004].

Analisando nossos resultados da sinergia sob esse aspecto, podemos dizer que nas regiões em que a sinergia entre os pulsos é menor, um decodificador linear pode retirar uma quantidade maior de informação sobre o estímulo da resposta do neurônio.

O mesmo acontece com a razão $I_{e=1}/I_T$, que nada mais é que uma medida dessa independência entre os pulsos. Em nossos resultados, $I_{e=1}/I_T$ varia de 0,25 a 0,83 dependendo da posição do estímulo no campo visual.

Se a mosca usa mecanismos de decodificação linear para estimar o estímulo em tempo real, esse mecanismo depende da posição do estímulo no campo visual, e é muito mais efetivo na região fronto-equatorial.

A fração da sinergia, nessas regiões, é praticamente igual para faixas de tamanhos diferentes e a reprodutibilidade da resposta é maior, como mostra a figura 3.12.

Sabemos que na região da rede dendrítica correspondente a região fronto-equatorial do campo visual há uma maior densidade de dendritos, e conseqüentemente, um maior número de sinapses [Hausen, 1981].

As propriedades elétricas locais da rede dendrítica são alteradas mais intensamente quanto maior for a densidade de sinapses [Segev e London, 2000]. E por isso, a interação entre sinapses próximas tende a ser mais não linear que a interação entre sinapses distantes [Segev e London, 2000; Polsky et al, 2004; Spruston e

Kath, 2004]. Portanto, a não-linearidade intrínseca do mecanismo de disparo do neurônio, associado a não linearidade da rede dendrítica pode resultar em um mecanismo linear de decodificação de informação bastante robusto [Bialek, 1991; Jones et al, 2004].

É possível identificar, pela quantidade de informação transmitida na estrutura da seqüência, ou pela posição e valor do mínimo da sinergia entre os pulsos, a posição da faixa no campo visual.

Em resumo, nossos resultados mostraram como a informação transmitida pela estrutura da sequência de pulsos, a reprodutibilidade e a "linearidade" da resposta dependem da posição e do tamanho da imagem no campo visual da mosca.

Para associar esses resultados com as propriedades da rede dendrítica do H1, precisaríamos complementar nossos dados utilizando outras técnicas de análise, como por exemplo, medir a concentração do cálcio nos dendritos por fluorescência [Euler e Denk, 2001; Euler et al., 2002], simular o comportamento do neurônio usando um modelo matemático que leve em consideração a geometria da rede dendrítica [Single e Borst, 1997] ou até mesmo usar métodos farmacológicos para a desativação de sinapses.

5. Conclusões

Entender os detalhes do mecanismo de codificação neural e o papel que os dendritos representam nesse processo é uma questão chave para entender como o cérebro funciona. Outra questão importante é o papel da precisão temporal na codificação neural. Há duas conclusões que podem ser retiradas de nossos resultados sobre essas duas questões.

A primeira delas é que o mecanismo de codificação neural do neurônio H1 transmite informação na estrutura temporal dos pulsos, em maior ou menor intensidade, dependendo da região de excitação da rede dendrítica. A segunda, que quanto maior a reprodutibilidade da resposta, ou precisão de disparo dos pulsos, menor a informação transmitida pela estrutura.

Esses resultados indicam que talvez outros parâmetros do estímulo possam ser codificados pela estrutura dos pulsos, ou que esse mecanismo é utilizado para melhorar a confiabilidade da codificação, aumentando a redundância entre os pulsos da resposta em determinadas regiões.

O passo seguinte será entender os detalhes do mecanismo de codificação temporal. Para isso precisamos utilizar outras técnicas de aquisição de dados, para termos acesso a atividade dendrítica, e usar modelos matemáticos que levem em consideração a estrutura geométrica da rede dendrítica neurônio.

Podemos concluir que nossos resultados fornecem

IFSC-USP SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO

indícios sobre o funcionamento do mecanismo de codificação temporal no sistema visual da mosca, que podem ser úteis para orientar o desenvolvimento de novos experimentos e modelos de neurônios.

6. Referências

[Agmon-snir et al., 1998] H. Agmon-snir, C.E. Carr, J.Rinzel. The role of dendrites in auditory coincidence detection. *Nature*, 393,268-272, 1998.

[Bartosch, 2001] L. Bartosch. Generation of colored noise. *I. J. of Modern Physics C*, 12(6), 851-855, 2001.

[Bausenwein et al., 1992] B. Bausenwein, A.P.M. Dittrich, K.-F. Fischbach. The optic lobe of Drosophila melanogaster. II. Sorting of retinotopic pathways in the medulla. *Cell Tissue Res.* 267, 17-28, 1992.

[Berry et al., 1997] M.J. Berry, D. K. Warland, M. Meister. The structure and precision of retinal spike trains.*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 5411-5416, 1997.

[Bialek et al., 1991] W. Bialek, F. Rieke, R. R. de Ruyter van Stevenick, D. Warland. Reading a neural code. *Science*, 252:1854-1857, 1991.

[Borst, 1996] A. Borst. How do nerve cell compute? Dendritic integration in fly visual interneurones. *Acta physiol. Scand.*, 157, 403-407, 1996.

[Borst, 2003] A. Borst. Noise, not stimulus entropy, determines neural information rate. *Journal of Computational Neuroscience*, 14, 23-31, 2003.

[Borst e Haag, 2002] A. Borst, J. Haag. Neural networks in the cockpit of the fly. *Journal of Comparative Physiology A*, 188(6), 419-437, 2002.

[Borst e Theunissen, 1999] A. Borst, F.E. Theunissen. Information theory and neural coding. *Nature Neuroscience*, 2(11), 947-957, 1999.

[Brenner et al., 2000] N. Brenner, S. P. Strong, R. Köberle, W. Bialek. Synergy in a neural code.*Neural Computation*, 12, 1531-1552, 2000.

[Briscoe e Chittka, 2001] A. D. Briscoe, L. Chittka. The evolution of color vision in insects. *Annual Review of Entomology*, 46, 471-510, 2001.

[Cover e Thomas, 1991] T.M. Cover, J.A. Thomas. *Elements*

of information theory. John-Wiley & Sons, Inc., New York, 1991.

[de Ruyter van Steveninck et al., 1997] R. R. de Ruyter van Steveninck, G. D. Lewen, S. P. Strong, R. Köberle, W. Bialek. Reproducibility and variability in neural spike trains. *Science*, 275, 1805-1808, 1997.

[Dickinson et al., 1999] M. H. Dickinson, F. -O. Lehmann, S.P. Sane. Wing rotation and the aerodynamic basis of insect fly. *Science*, 284, 1954-1960, 1999.

[Douglass e Strausfeld, 2003] J. K. Douglass, N.J. Strausfeld. Retinotopic pathways providing motion-selective information to the lobula from peripheral elementary motion-detecting circuits. *The Journal of Comparative Neurology*, 457,326-344, 2003.

[Eggermont, 1998] J.J. Eggermont. Is there a neural code? *Neuroscience & biobehavioral reviews*,22(2), 355-370, 1998.

[Euler e Denk, 2001] T. Euler, W. Denk. Dendritic Processing. *Current Opinion in Neurobiology*, 11,415-422, 2001.

[Euler et al., 2002] T. Euler, P. B. Detwiller, W. Denk. Directionally selective calcium signals in dendrites of starburst amacrine cells. *Nature*, 418,845-852, 2002.

[Farrow et al., 2003] K. Farrow, J. Haag, A. Borst. Input organization of Multifunctional motion-sensitive neurons in the blowfly. *The journal of neuroscience*, 23(30),9805-9811,2003.

[Frye e Dickinson, 2001]M. A. Frye, M. H. Dickinson. Fly flight: a model for the neural control of complex behavior. *Neuron*, 32, 385-388, 2001.

[Hardie, 1985] R.C. Hardie. Electrophysiological analysis of fly retina. In D. Ottoson, P*rogress in sensory physiology*, 1985.

[Hausen,1981] K. Hausen. Monokulare and Binokulare Bewegungsauswertung in der Lobula Plate der Fliege. *Verh. Dtsch. Zool. Ges.*, 49-70, 1981.

[Hausen, 1984] K. Hausen. The lobula-complex of the fly: structure, function and significance in visual behaviour. In M.A. All. *Photoreception and vision in invertebrates*, 1984.

[Jones et al, 2004] L. M. Jones, D.A. Depireux, D.J.Simons, A.Keller. Robust temporal coding in the trigeminal system. *Science*, 304, 1986-1989, 2004.

SERVIÇO DE BIBLIOTECA
INFORMAÇÃO

[Kandel et al., 2000] E.R. Kandel, J.H. Schwartz, T.M. Jessel. *Principles of neural science*.McGraw-Hill, 2000.

[Kirschfeld, 1979] K.Kirschfeld. The visual system of the fly: physiological optics and functional anatomy as related to behaviour. In: F.O.Schmitt, F.G.Worden. *The Neurosciences 4th Study Program*, MIT Press, Cambridge, 1979.

[Koch e Segev, 2000] C. Koch, I. Segev. The role of single neurons in information processing. *Nature Neuroscience*, 3(Supp), 1160-1211, 2000.

[Land e Collet, 1974] M.F.Land, T.S. Collet. Chasing behaviour of houseflies (*Fannia canicularis*). *Journal of Comparative Physiology*, 89,331-357, 1974.

[Laughlin, 1989] S. B. Laughlin.Coding Efficiency and Design in Visual Processing. In: D.G. Stavenga, R.C. Hardie. *Facets of Vision,* 1989.

[Lewen et al., 2001] G.D.Lewen, W. Bialek, R.R. de Ruyter van Steveninck. Neural coding of naturalistic motion stimuli.Network computation in neural systems, 12, 317-329, 2001.

[Lestienne 2001] R. Lestienne. Spike timing, synchronization and information processing on the sensory side of the central nervous system. *Progress in Neurobiology*, 65, 545-591, 2001.

[London et al., 2002] M. London, A. Schreibman, M. Häusser, M. E. Larkum, I. Segev. The information efficacy of a synapse. Nature Neuroscience, 5(4), 332-340, 2002.

[MacKay, 2003] D.J.C. MacKay. *Information theory, inference and learning algorithms*. Cambridge University Press, Cambridge, 2003.

[Mason et al., 2001] A. C. Mason, M. L. Oshinsky, R.R. Hoy. Hypercute directional hearing in a microscale auditory system. *Nature*, 410, 686-690, 2001.

[Mel, 1994] B. W. Mel. Information processing in dendritic trees. *Neural Computation*, 6, 1031-1085, 1994.

[Passaglia e Troy, 2004] C. L. Passaglia, J. B. Troy. Information transmission rates of cat retinal ganglion cells. *Journal of Neurophysiology*, 91, 1217-1229, 2004.

[Polsky et al., 2004] A. Polsky, B. W. Mel, J. Schiller. Computational subunits in thin dendrites of pyramidal cells. *Nature Neuroscience*,7(6), 621-627, 2004.

[Reinagel e Reid, 2001] P. Reinagel, R. C. Reid. Temporal coding of visual information in the thalamus.

The journal of neuroscience, 20(14), 5392-5400, 2000.

[Rieke et al., 1997] F. Rieke,D. Warland, R.R. de Ruyter van Steveninck, W. Bialek. *Spikes-Exploring the neural code*. MIT Press, Cambridge, 1996.

[Schneidman et al.,2001] E. Schneidman, N. Brenner, N. Tishby, R.R. de Ruyter van Steveninck, W. Bialek. Universality and individuality in a neural code. In: T.K. Leen, T.G. Dietterich, V. Tresp. *Advances in Neural Information Processing 13*, MIT Press, Cambridge, 2001.

[Schneidman et al., 2003] E. Schneidman, W. Bialek, M.J. Berry II. Synergy, redundancy and independence in population codes. *The journal of neuroscience*, 23(37),11539-11553, 2003.

[Schwermer,1989] J.Schwermer. Visual pigments of compoud eyes- structure, photochemistry and Regeneration. In: D.G. Stavenga, R.C. Hardie. *Facets of Vision*, 1989.

[Segev, 1998] I. Segev. Sound grounds for computing dendrites. *Nature*, 393, 207-208, 1998.

[Segev e London, 2000] I. Segev, M. London. Untangling dendrites with quantitative models. *Science*, 290, 744-750, 2000.

[Shannon, 1948] C. E. Shannon. A mathematical theory of communication. *The Bell system technical journal*, 27, 379-423, 1948.

[Simmons et al., 2003] J.A. Simmons, M. J. Ferragamo, M. I. Sanderson. Echo delay versus spectral cues for temporal hypercuity in the big brown bat, *Eptesicus fuscus*. *Journal of comparative physiology A*,189, 693-702, 2003.

[Single e Borst, 1998] S. Single, A. Borst. Dendritic integration and its role in computing image velocity. *Science*, 281, 1848-1850, 1998.

[Spruston e Kath, 2004] N. Spruston, W. L. Kath. Dendritic arithmetic. *Nature Neuroscience*,7(6), 567-569, 2004.

[Stavenga, 1974] D.G. Stavenga. *Visual receptor optics, rhodopsin and pupil in fly retinula cells*, Thesis, University of Groningen, 1974.

[Stavenga, 1989] D.G. Stavenga. Pigments in compound eyes. In D.G. Stavenga, R.C. Hardie, *Facets of Vision*, 1989.

[Strausfeld,1989] N.J. Strausfeld. Beneath the compoud eye: neuroanatomical analysis and physiological correlates in the study of insect vision. In D.G.

Stavenga, R.C. Hardie, *Facets of Vision,* 1989.

[Strong et al., 1998] S. P. Strong, R. Köberle, R.R. de Ruyter van Steveninck, W. Bialek. Entropy and information in neural spike trains. *Physical Review Letters*, 80(1), 197-200, 1998.

[Theunissen e Miller, 1995] F. Theunissen, J. P. Miller. Temporal encoding in nervous systems: a rigorous definition. *Journal of Computational Neuroscience,* 2,149-162, 1995.

[van Hateren, 1989] J.H. van Hateren. *P*hotoreceptors Optics: Theory and Practice. In D.G. Stavenga, R.C. Hardie, *Facets of Vision,* 1989.

[Vogt, 1983] K. Vogt. Is the fly visual pigment a rhodopsin?, *Z. Naturf.*, 38c, 329-333, 1983.

[Vogt, Kirschfeld, 1984] K.Vogt, K. Kirschfeld. The chemical identity of the cromophores of fly visual pigment. *Naturwissenchaften*, 71, 211-213, 1984.

[Yuste e Tank, 1996] R. Yuste, D. W. Tank. Dendritic integration in Mammalian Neurons, a century after Cajal. *Neuron*, 16, 701-716, 1996.