

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE FÍSICA APLICADA À MEDICINA E BIOLOGIA

**A Célula Periglomerular do Bulbo Olfatório e Seu Papel no
Processamento de Odores: Um Modelo Computacional**

Denise de Arruda

Ribeirão Preto
2010

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE FÍSICA APLICADA À MEDICINA E BIOLOGIA

A Célula Periglomerular do Bulbo Olfatório e Seu Papel no Processamento de Odores: Um Modelo Computacional

Denise de Arruda

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Física Aplicada à Medicina e Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Física Aplicada à Medicina e Biologia.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Roque da Silva Filho

Ribeirão Preto, maio de 2010.

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

Arruda D.

A Célula Periglomerular do Bulbo Olfatório e Seu Papel no Processamento de Odores: Um Modelo Computacional / Denise de Arruda; orientador Prof. Dr. Antonio Carlos Roque da Silva Filho.

– Riberão Preto/SP, 2008.

60 p.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Física Aplicada à Medicina e Biologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Riberão Preto da Universidade de São Paulo.

Neurociência Computacional, Bulbo olfatório, Modelagem de Neurônios Individuais, célula periglomerular

Banca Examinadora:

Resumo

ARRUDA D.. A Célula Periglomerular do Bulbo Olfatório e Seu Papel no Processamento de Odores: Um Modelo Computacional . Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

Os interneurônios do bulbo olfatório são elementos chave para o entendimento do processamento de odores. O papel funcional desses neurônios ainda não é bem compreendido, em especial o papel da célula periglomerular (PG). O presente trabalho consiste em construir um modelo biologicamente plausível da célula PG e investigar os efeitos dessa célula em conjunto com modelos da célula mitral e da célula granular. Esses modelos são acoplados através de conexões sinápticas inspiradas nas conexões existentes no bulbo olfatório, formando uma pequena rede simplificada. A rede é usada para analisar o efeito da inibição inicial da célula mitral por parte da célula PG e os mecanismos que podem influenciar o padrão de atividade da célula mitral. Através deste estudo, verifica-se que a célula PG pode influenciar na frequência, no tempo de disparo e gerar atrasos na propagação do potencial da célula mitral, agindo como um mecanismo de controle nas camadas iniciais do processamento de odores do bulbo olfatório.

Palavras-chave: Neurociência Computacional, Bulbo olfatório, Modelagem de Neurônios Individuais, célula periglomerular

Abstract

ARRUDA D.. **The periglomerular cell of the olfactory bulb and its role in the odor processing: a computational model.** Dissertation (Master) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

Interneurons of the olfactory bulb are key elements for understanding odor processing. The functional role of these cells are not yet well understood, in particular the role of periglomerular cell (PG). This work aims at constructing a biologically plausible model of the PG cell to study effects of the coupling of this cell with model of mitral and granule cells of the olfactory bulb. Single cell models of these three cell types coupled by synaptic connections inspired on existing connections in the olfactory bulb, constituting a small and simple network. This network is used to investigate the effect of early lateral inhibition of the mitral cell by PG cell and the mechanisms which can influence the output activity pattern of mitral cell. The study shows that the PG cell may influence the spike frequency and the spike timing of the mitral cell, as well as provoke delays in the propagation of action potential along this cell. Therefore, the PG cell may act as a control mechanism in the early odor processing stages in the olfactory bulb.

Keywords: Computational Neuroscience, olfactory bulb, Single-Neuron Modeling, Periglomerular cell

Agradecimentos

Agradeço a todos que de diferentes formas contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos meus queridos pais, César e Zilda. Agradeço pelo carinho, pelo incentivo, pelo esforço imensurável e por toda ajuda não apenas para a conclusão deste trabalho, mas em toda minha vida. Eles são um presente para mim.

Ao meu adorado Francisco, simplesmente por estar sempre ao meu lado. Agradeço sua paciência em momentos de desabafo, seu carinho e compreensão.

Às minhas irmãs, doidas e maravilhosas, por todo apoio.

À todos os meus amigos, pelos momentos de diversão, longas conversas e muitas risadas. Agradeço pela amizade, pelo companheirismo e incentivo.

Em especial, aos meus amigos e colegas de laboratório Lucas, Diogo, Rodrigo Publio, Julian, Rafael, Janaína e André. Agradeço pela disposição e por toda ajuda além de todas as explicações e idéias. O aprendizado e a boa convivência com eles foram essenciais para a conclusão deste trabalho.

Ao meu orientador Antônio Carlos Roque da Silva Filho, com quem muito aprendi esses anos. Agradeço por suas críticas e sua dedicação.

À todos os professores e funcionários do Departamento de Física e Matemática que sempre foram bastante prestativos. Em especial ao professor Alexandre Souto Martinês, por seu empenho e preocupação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pelo suporte financeiro.

E acima de tudo, agradeço a Deus por colocar todas essas pessoas maravilhosas em minha vida, pela realização deste trabalho e pela conquista de um sonho.

Sumário

Resumo	p. v
Abstract	p. vi
Lista de Figuras	p. iii
Lista de Tabelas	p. viii
1 Introdução	p. 1
2 Revisão Teórica	p. 5
2.1 Processamento olfatório: Características Gerais	p. 5
2.1.1 Bulbo Olfatório	p. 6
2.1.2 Glomérulo	p. 7
2.1.3 Célula periglomerular	p. 8
2.1.4 Célula Mitral	p. 9
2.1.5 Célula Granular	p. 9
2.2 Modelagem Compartimental	p. 9
2.2.1 Equação da membrana	p. 9
2.2.2 Formalismo de Hodgkin-Huxley	p. 10
3 Metodologia	p. 13
3.1 Métodos Numéricos	p. 13
3.2 Célula Periglomerular	p. 13
3.3 Célula Mitral	p. 19

3.4	Célula Granular	p. 21
3.5	Rede Simplificada	p. 22
3.5.1	Efeito da Inibição da PG sobre a Mítral	p. 23
3.5.2	Efeito da Inibição das célula PG e Granular sobre a célula Mítral . . .	p. 25
3.6	Sinapses	p. 26
4	Resultados	p. 29
4.1	Célula Periglomerular	p. 29
4.2	Célula Mítral	p. 38
4.3	Célula granular	p. 39
4.4	Rede Simplificada	p. 40
4.4.1	Efeito da Inibição da PG sobre a Mítral	p. 40
4.4.2	Efeito da Inibição das células PG e Granular sobre a célula Mítral . .	p. 45
5	Discussões	p. 50
5.1	Célula Periglomerular	p. 50
5.2	Rede simplificada	p. 53
6	Conclusões	p. 56
	Referências Bibliográficas	p. 57

Lista de Figuras

- 2.1 Esquema do padrão de conexões sinápticas no bulbo olfatório. Os dendritos primários das células mitrais (M) e tufoas (T) recebem sinapses excitatórias (indicadas por setas brancas) dos axônios dos neurônios receptores olfatórios (NROs) nos glomérulos (GL). Existem dois tipos de interneurônios que fazem sinapses dendrodendríticas inibitórias (setas escuras) – as células periglomerulares (PG) e as células granulares (Gr). As primeiras fazem sinapses com os dendritos primários das células m/t e as segundas fazem sinapses com os dendritos secundários dessas células, que se estendem horizontalmente por longas distancias. As células de saída do bulbo são as células m/t (figura adaptada da Figura 1 de Mori et al (MORI; YOSHIHARA, 1999) . p. 6
- 3.1 Arquitetura do modelo da célula periglomerular. Soma conectado ao axônio por uma extremidade e a outra conectada a dois dendritos primários, um deles conecta-se com compartimentos que recebem entradas sinápticas (gêmulas, sendo representadas por um cabo e um corpo.) p. 14
- 3.2 Resposta do potencial de membrana (mV) em função do tempo (ms) da célula periglomerular para uma injeção de corrente despolarizante de 100 pA por 600 ms. Figura retirada de (MCQUISTON; KATZ, 2001) p. 15
- 3.3 Esquema das conexões inseridas entre os modelos das células Periglomerular (PG), Mitral (M) e Granular (Gr), representadas por flechas. Os sinais (+) e (-) indicam, respectivamente, sinapses excitatórias e inibitórias. (A) Conexão entre as células PG e mitral através de uma sinapse inibitória. (B) Conexão entre as células PG e mitral através de uma sinapse recíproca - inibitória e excitatória. (C) Sinapses recíprocas entre as células PG, Mitral e Granular. . . p. 24
- 4.1 Efeito da corrente ativada por hiperpolarização no potencial de membrana do modelo da célula periglomerular para uma injeção de corrente despolarizante de 100 pA, cuja duração é indicada pela barra abaixo da curva, e diferentes valores de densidades de condutância da corrente. p. 30

- 4.2 Ampliação da resposta do potencial de membrana sob a variação da densidade de condutância da corrente ativada por hiperpolarização para uma injeção de corrente despolarizante de 100 pA por 600 ms. p. 30
- 4.3 Ampliação da resposta do potencial de membrana sob o efeito da corrente de sódio para uma injeção de corrente despolarizante de 100 pA por 600 ms e diferentes valores de densidades de condutância da corrente. p. 31
- 4.4 Ampliação da resposta do potencial de membrana sob o efeito da corrente de potássio para uma injeção de corrente despolarizante de 100 pA por 600 ms e diferentes valores de densidades de condutância da corrente. p. 31
- 4.5 Efeito da corrente de Potássio inativante tipo-A no potencial de membrana da célula periglomerular para um injeção de corrente despolarizante de 100 pA, cuja duração é indicada pela barra abaixo da curva, e diferentes valores de densidade de condutância do canal de potássio inativante tipo-A. p. 32
- 4.6 Efeito da corrente de cálcio tipo-T no potencial de membrana do modelo da célula periglomerular para uma injeção de corrente despolarizante de 100 pA por 600 ms para diferentes valores de densidades de condutância da corrente. p. 32
- 4.7 Disparos repetitivos do modelo de célula periglomerular para as densidades de condutância de $g_{Ca} = 0.008 \text{ S/cm}^2$ (vermelho) e $g_{Ca} = 0.010 \text{ S/cm}^2$ (azul). p. 33
- 4.8 Efeito da sinapse inibitória para um injeção de corrente despolarizante de 100 pA, cuja duração é indicada pela barra abaixo da curva, e diferentes valores de condutâncias máximas. p. 33
- 4.9 Efeito da sinapse inibitória. p. 34
- 4.10 Potencial de ação gerado pelas densidades de condutância da corrente de sódio, dadas em S/cm^2 , as quais resultaram em amplitudes e tempos de disparos mais próximos de seus respectivos valores experimentais. p. 35
- 4.11 Potencial de ação gerado pelas densidades de condutância da corrente de cálcio tipo-T, dadas em S/cm^2 , as quais resultaram em amplitudes e tempos de disparos mais próximos de seus respectivos valores experimentais. p. 35

- 4.12 Análise das melhores respostas do modelo de célula periglomerular obtidas em função das variações das densidades de condutância, dadas em S/cm^2 , da corrente de cálcio tipo-T (a), (b) e (c) e da corrente de sódio (d), (e) e (f), onde (a) e (d) apresentam a diferença entre o tempo de disparo experimental e do modelo teórico ($\Delta T_d = |T_{d(exp)} - T_{d(mod)}|$); (b) e (e) mostram a diferença entre a amplitude do potencial de ação da resposta experimental e do modelo teórico ($\Delta V_A = |V_{A(exp)} - V_{A(mod)}|$); (c) e (f) fornecem a medida de erro entre os dados experimentais e dados do modelo. p. 36
- 4.13 Resposta eletrofisiológica do modelo de célula periglomerular para uma corrente despolarizante de 100pA com os parâmetros da tabela 4.1. p. 37
- 4.14 Resposta do potencial de membrana do modelo da célula mitral para uma corrente despolarizante de 0.2 nA por 450 ms, reproduzindo o protocolo proposto por Davison (DAVISON, 2001). p. 38
- 4.15 Frequência de disparos da célula mitral em função do estímulo de corrente somático, reproduzindo o protocolo proposto por Davison (DAVISON, 2001). p. 38
- 4.16 Resposta do potencial de membrana do modelo da célula granular para uma corrente despolarizante de 0.01 nA por 2500 ms, reproduzindo o protocolo proposto por Davison (DAVISON, 2001). p. 39
- 4.17 Frequência de disparos da célula granular em função do estímulo de corrente somático, reproduzindo o protocolo proposto por Davison (DAVISON, 2001). p. 39
- 4.18 Efeito da Inibição da PG no Potencial de membrana da célula mitral. O histograma ao lado apresenta a taxa de disparos na ausência (azul) e na presença (vermelho) da sinapse inibitória. p. 40
- 4.19 Frequência de disparos da célula Mitral em função da condutância sináptica inibitória. As células PG e mitral receberam pulsos de corrente constantes de 0.18 nA e 0.274 nA, respectivamente, por 1000 ms e a condutância máxima. p. 41
- 4.20 Diagrama da amplitude do pulso de corrente injetado na célula PG (A_{PG}) versus condutância sináptica inibitória ($G_{gaba(PG)}$) e as respectivas frequências de disparos (Hz) da célula mitral mostradas no código de cores conforme a barra ao lado p. 42
- 4.21 Diagrama da amplitude do pulso de corrente injetado na célula Mitral (A_M) versus condutância sináptica inibitória ($G_{gaba(PG)}$) e as respectivas frequências de disparo (Hz) da célula Mitral mostradas no código de cores conforme a barra ao lado p. 42

4.22 Efeito do atraso $L_M = T_{PG} - T_M$ entre os tempos iniciais de estímulos nas células PG e mitral na diferença entre os tempos de disparo do primeiro potencial de ação (ΔT_{PA}) da célula mitral conectada à PG e da célula mitral isolada para o tempo de injeção de corrente na célula PG (T_{PG}) com uma variação de 60 a 350 ms p. 43

4.23 Efeito do atraso $L_M = T_{PG} - T_M$ entre os tempos de estímulos nas células PG e mitral na diferença entre os tempos de disparo do primeiro potencial de ação (ΔT_{PA}) da célula mitral conectada à PG e da célula mitral isolada para o tempo de injeção de corrente na célula PG (T_M) com uma variação de 60 a 210 ms p. 44

4.24 Resposta do potencial de membrana da célula mitral em função do tempo para um atraso $L_M = T_{PG} - T_M = -120$ entre os tempos de estímulos nas células PG e mitral. A flechas indicam o início da injeção do pulso de corrente na célula PG em $T_{PG} = 80$ ms (flecha vermelha) e na célula mitral em $T_M = 200$ ms (flecha azul) p. 44

4.25 Efeito do atraso L_M no potencial de membrana da célula mitral. p. 45

4.26 Efeito da inibição das células PG e Granular no potencial de membrana da célula mitral. As células PG, mitral e granular receberam pulsos de corrente constantes de 0.18 nA, 0.274 nA e , respectivamente, por 600 ms. p. 46

4.27 Diagrama da condutância inibitória da sinapse entre as células granular e mitral ($G_{gaba(G)}$) versus condutância inibitória da sinapse entre as células PG e mitral ($G_{gaba(PG)}$) e as respectivas frequências de disparo (Hz) da célula mitral mostradas no código de cores conforme a barra ao lado p. 46

4.28 Diagrama da condutância inibitória da sinapse entre as células granular e mitral ($G_{gaba(G)}$) versus condutância inibitória da sinapse entre as células PG e mitral ($G_{gaba(PG)}$) e os respectivos tempos de disparo do primeiro potencial de ação (ms) da célula mitral mostrados no código de cores conforme a barra ao lado p. 47

4.29 Diagrama da condutância inibitória da sinapse entre as células PG e mitral ($G_{gaba(PG)}$) versus a diferença entre os atrasos dos estímulos da célula PG e granular e as respectivas frequências de disparo da célula mitral (Hz) mostradas no código de cores conforme a barra ao lado p. 48

4.30 Efeito da variação da densidade de condutância da corrente de cálcio da célula PG no potencial de membrana da célula mitral p. 48

4.31 Efeito da variação da densidade de condutância da corrente de cálcio da célula PG no tempo do primeiro potencial de ação da célula mitral p. 49

4.32 Diagrama da condutância inibitória da sinapse entre as células PG e mitral ($G_{gaba(PG)}$) versus densidade de condutância da corrente de cálcio tipo T (g_{Ca}) da célula PG e as respectivas frequências de disparo (Hz) da célula mitral mostrados no código de cores conforme a barra ao lado p. 49

Lista de Tabelas

3.1	Dimensões dos compartimentos do modelo da célula periglomerular.	p. 13
3.2	Correntes iônicas adicionadas nos compartimentos do modelo da célula PG e seus respectivos potenciais de reversão.	p. 16
3.3	<i>Parâmetros do modelo da célula mitral (DAVISON, 2001)</i>	p. 20
3.4	<i>Parâmetros do modelo da célula granular (DAVISON, 2001)</i>	p. 22
3.5	Parâmetros Sinápticos (CLELAND; SETHUPATHY, 2006)	p. 28
4.1	Valores ajustados para o modelo da célula periglomerular	p. 37
4.2	Comparação entre as medidas mais relevantes da resposta de célula periglomerular.	p. 37

1 Introdução

O Bulbo Olfatório, região do cérebro especializada no processamento de sinais moleculares que levam ao sentido do cheiro, é considerado um sistema modelo com muitas vantagens para o estudo dos mecanismos neurais e sinápticos responsáveis pelo processamento de informação no cérebro. Suas vantagens são:

- receber entrada sensorial direta através de seus neurônios receptores. Isso significa que a entrada para o bulbo pode ser bem caracterizada em contraste com outras áreas do cérebro estudadas como o hipocampo e córtex visual, por exemplo.
- É uma estrutura simples e bem definida, dividida em módulos distintos funcionalmente e anatomicamente (o glomérulo e as células associadas), sendo uma rede de alimentação direta com interações laterais com poucas conexões recorrentes.
- O estímulo olfatório é mais simples do que os estímulos visuais e auditivos. Primeiro, porque a dinâmica do sinal do odor é mais lenta. Segundo, porque as propriedades que devem ser identificadas são identidade e intensidade. Um estímulo visual, por outro lado, contém várias propriedades: tamanho, forma, brilho, cor, textura, velocidade e posição no espaço. Isso sugere que a informação contida no sinal olfatório é menor.
- Exibe fenômenos de considerável interesse no entendimento do processamento neural em muitas regiões do cérebro, como sincronização de potenciais de ação, plasticidade sináptica, entre outros.

A necessidade e a possibilidade de se entender o funcionamento do bulbo olfatório ganhou um forte impulso nos últimos anos devido a uma série de importantes resultados experimentais relacionados à organização do sistema olfatório periférico: clonagem dos genes codificadores das proteínas dos receptores olfatórios (BUCK; AXEL, 1991), identificação dos mecanismos responsáveis pela transdução dos estímulos olfatórios nos neurônios receptores (NAKAMURA; GOLD, 1987; JONES; REED, 1989; BAKALYAR; REED, 1990; KLEENE, 1993) e visualização de projeções topográficas altamente ordenadas dos axônios dos neurônios receptores ol-

fatórios em glomérulos discretos no bulbo olfatório (MOMBAERTS et al., 1996; FRIEDRICH; KORSCHING, 1997; RUBIN; KATZ, 1999). Este último resultado implica que cada substância odorante produz um padrão espacial de ativação específico – um mapa do odorante – na camada glomerular do bulbo (UCHIDA et al., 2000; XU; GREER; SHEPHERD, 2000). Esse padrão espacial é transformado pelo bulbo, devido à sua conectividade intrínseca, em um padrão espaço-temporal (LAURENT et al., 2001; SPORS; GRINVALD, 2002; SCHOPPA; URBAN, 2003) refletido nos padrões de disparo das suas células de saída – as células mitrais e tufoas (que serão abreviadamente chamadas de m/t para simplificar) – que transmitem os resultados das computações feitas pelo bulbo aos centros olfatórios corticais superiores.

Características essenciais de um odor, por exemplo sua identidade e concentração (intensidade), parecem ser representadas dinamicamente pelo padrão de atividade espaço-temporal induzido pelo odor nas células m/t do bulbo olfatório (LAURENT et al., 2001; STOPFER; JAYARAMAN; LAURENT, 2003; RUBIN; CLELAND, 2006). O entendimento dos mecanismos pelos quais a circuitaria interna do bulbo produz e mantém esses padrões de atividade, bem como do papel que tais padrões espaço-temporais teriam no processamento da informação olfatória, é uma das questões centrais da moderna neurociência (HABERLY, 2001; FRIEDRICH; KORSCHING, 1997; KAY; STOPFER, 2006).

Além das ferramentas tradicionais para o estudo de padrões espaciais e temporais no cérebro – registros eletrofisiológicos e técnicas de imagens-, o advento de computadores cada vez mais velozes e poderosos tem permitido a construção de modelos computacionais biologicamente plausíveis capazes de simular estruturas neurais com excelente resolução espacial e temporal. Tais modelos *in silico* constituem importantes ferramentas para provocar um avanço no entendimento do processamento de informação pelo bulbo olfatório (DAVISON; FENG; BROWN, 2003; SOUZA; ROQUE, 2004; RUBIN; CLELAND, 2006; MIGLIORE; HINES; SHEPHERD, 2005).

Diante dos estudos mencionados acima, nota-se que a compreensão do processamento de informação no bulbo olfatório requer uma integração de dados em vários níveis (sub-celular, neurônio isolado, circuito local, sistema) e modalidades (biologia molecular, neurofisiologia, imageamento, psicologia) de investigação. A modelagem matemática-computacional é uma ferramenta poderosa e necessária para integrar esses diversos tipos de dados. Nesta perspectiva, este trabalho busca integrar informações disponíveis na literatura a um nível de investigação em circuito local a fim de contribuir para a compreensão do processamento de odores pelo bulbo olfatório (BO).

De acordo com a organização anatômica do BO, as células mitrais e tufoas recebem a informação dos neurônios sensoriais e a enviam através de seus axônios a outras regiões cerebrais. Durante este processo, as células mitrais interagem com interneurônios. Acredita-se que interneurônios inibitórios são elementos chave para o entendimento do processamento de odor (BARDONI; MAGHERINI; BELLUZZI, 1996), mediando um fluxo horizontal de informação em dois níveis dentro do BO: células periglomerulares (PG) na entrada e células granulares na saída. No entanto o papel desses interneurônios ainda não é bem compreendido e não há muitos trabalhos, no contexto da modelagem computacional, que incorporam a célula PG em estudos sobre o BO. A maioria dos estudos computacionais sobre o processamento de odor em diferentes níveis envolvem células mitrais, granulares e neurônios sensoriais, cujos modelos computacionais estão disponíveis na literatura.

Este trabalho tem como objetivo construir um modelo biologicamente plausível - baseado no formalismo de Hodgkin-Huxley e na técnica de compartimentalização de Rall (Koch e Segev, 1998; Koch, 1999)- da célula PG do BO e incorporá-lo num pequeno circuito constituído pelas células mitral e granular. Tal procedimento pode ser justificado pelas seguintes razões: por não haver um modelo para a célula PG disponível na literatura; para investigar como a participação desta célula pode influenciar no padrão de atividade das células mitrais; a identificação e a caracterização cinética de um circuito local pode ser útil para entender sua própria contribuição relativa na atividade neural como um todo no processamento de odor. Além disso, é importante ressaltar que o processamento de informação ocorre momento a momento, sendo realizado pela difusão e interação de sinais químicos e elétricos que são distribuídos no espaço e no tempo. Esses sinais são gerados e regulados por mecanismos que são cineticamente complexos, altamente não lineares e arrançados em estruturas anatômicas complexas. Hipóteses sobre esses sinais e mecanismos não podem ser avaliadas apenas por intuição mas requerem modelagem baseada empiricamente. Assim, a modelagem é fundamentalmente um meio de melhorar, no sentido de completar, a compreensão.

A seguir apresenta-se uma revisão teórica sobre os principais conceitos abordados nesta dissertação. Inicialmente, descreve-se a circuitaria interna do bulbo olfatório e as principais características e informações das células que irão compor a rede simplificada. Em seguida, é feita uma breve explicação sobre modelagem compartimental abordando o formalismo de Hodgkin-Huxley. O capítulo seguinte apresenta a construção do modelo biologicamente plausível da célula PG e descreve os modelos das células mitral e granular. A incorporação dessas células numa rede simplificada também é descrita com detalhes. O estudo dos modelos individuais e da rede são apresentados no capítulo 4, onde as investigações sobre o papel da célula PG são feitas através do efeito de sua interação com a rede simplificada. Com base nos resultados

apresentados, fêz-se uma discussão detalhada sobre os efeitos mais relevantes conduzindo para a conclusão de que a célula PG desempenha um mecanismo de controle atuando nas camadas iniciais do processamento de odor do bulbo olfatório.

2 *Revisão Teórica*

Neste capítulo faremos uma revisão dos conceitos necessários para a realização de nossos estudos no presente trabalho. A construção do modelo biologicamente plausível de um único neurônio e a incorporação deste numa rede simplificada para a investigação do processamento de odor requerem uma grande quantidade de informação sobre mecanismos ativos e passivos, fisiologia e arquitetura da célula e da rede. Nesta perspectiva descrevemos, primeiramente, as características gerais do processamento de odores e seguimos com conceitos de modelagem compartimental, como equação de membrana e formalismo de Hodgkin-Huxley, apresentando assim todos os conceitos envolvidos no processo de construção e compreensão deste projeto.

2.1 **Processamento olfatório: Características Gerais**

A primeira etapa do processamento de odor ocorre no epitélio olfatório, onde neurônios receptores são capazes de reconhecer moléculas odorantes através de algum componente físico-químico, seja pela presença ou localização de um grupo funcional e/ou comprimento de uma cadeia de carbono (KALUZA; BREER, 2000; MALNIC J. HIRONO; BUCK, 1999). Acredita-se que cada neurônio receptor olfatório (NRO) expresse nas membranas das suas ramificações dendríticas externas, ou cílios, um único receptor molecular selecionado de um repertório de aproximadamente 1000 receptores (BUCK; AXEL, 1991). Isto sugere que um dado neurônio receptor responde a umas poucas moléculas odorantes – aquelas que possuem as características específicas para se ligar ao receptor molecular expresso pelo neurônio.

Na projeção da informação do epitélio para o bulbo olfatório, neurônios receptores convergem seus axônios para estruturas chamadas glomérulos. Os glomérulos são estruturas aproximadamente esféricas (com diâmetros entre 100 e 200 μm) dentro das quais os axônios vindos dos neurônios receptores fazem sinapses excitatórias com dendritos das células mitrais e tufofas (m/t) e das células periglomerulares (PG) (Figura 2.1). Um glomérulo é molecularmente homogêneo, todos os axônios dos neurônios receptores que terminam nele expressam o mesmo receptor olfatório (SHEPHERD, 2004).

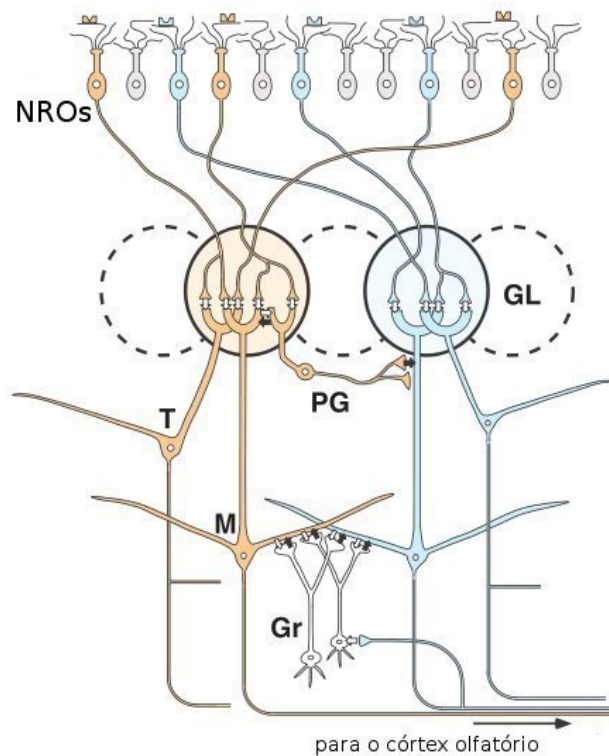


Figura 2.1: Esquema do padrão de conexões sinápticas no bulbo olfatório. Os dendritos primários das células mitrales (M) e tufoas (T) recebem sinapses excitatórias (indicadas por setas brancas) dos axônios dos neurônios receptores olfatórios (NROs) nos glomérulos (GL). Existem dois tipos de interneurônios que fazem sinapses dendrodendríticas inibitórias (setas escuras) – as células periglomerulares (PG) e as células granulares (Gr). As primeiras fazem sinapses com os dendritos primários das células m/t e as segundas fazem sinapses com os dendritos secundários dessas células, que se estendem horizontalmente por longas distâncias. As células de saída do bulbo são as células m/t (figura adaptada da Figura 1 de Mori et al (MORI; YOSHIHARA, 1999))

2.1.1 Bulbo Olfatório

O bulbo olfatório é uma estrutura especializada no processamento de sinais moleculares que levam ao sentido do cheiro. Sua organização interna é ilustrada na figura 2.1, onde sua circuitaria interna pode ser classificada em diferentes tipos, detalhados abaixo:

1. Conexões intraglomerulares (dentro de um glomérulo). Tipicamente, um glomérulo chega a conter arborizações dendríticas de aproximadamente vinte células m/t. Esses dendritos recebem sinapses excitatórias diretamente dos axônios dos neurônios receptores olfatórios através da liberação de glutamato. O mesmo dendrito também pode receber sinapses inibitórias, mediadas por GABA, de dendritos de células PG ativadas por sinapses excitatórias feitas tanto pelos neurônios receptores olfatórios como pelos dendritos das próprias células m/t do glomérulo (KOSAKA; KOSAKA, 2005; CLELAND;

SETHUPATHY, 2006). Além disso, os dendritos no interior de um glomérulo estão conectados entre si por sinapses elétricas mediadas por junções comunicantes dendrodendríticas – não mostradas na Figura 2.1 (KOSAKA; KOSAKA, 2005).

2. Conexões interglomerulares (entre glomérulos). Assim como no caso anterior, dendritos de células m/t no interior de glomérulos distintos também interagem entre si via células PG: os dendritos das células m/t em um dado glomérulo excitam os dendritos das células PG vizinhas; estas, que têm seus corpos celulares localizados fora dos glomérulos, enviam seus axônios horizontalmente aos glomérulos próximos ao primeiro, inibindo os dendritos das células m/t nesses glomérulos. Isto permite a existência de conexões interglomerulares no nível da camada glomerular (KOSAKA; KOSAKA, 2005).
3. Conexões laterais inibitórias entre as células m/t. Além da camada glomerular, as células m/t possuem dendritos secundários que se projetam horizontalmente e que fazem sinapses dendrodendríticas recíprocas com os dendritos apicais das células granulares. Quando uma célula m/t emite um potencial de ação, este se propaga lateralmente por seu dendrito secundário e provoca a liberação de glutamato nas imediações dos dendritos das células granulares. O glutamato libera receptores glutamatérgicos (tanto AMPA como NMDA) nos dendritos das células granulares, as quais contêm GABA que acaba sendo liberado e inibe as células m/t. Quando a inibição é feita sobre a mesma célula m/t que excitou a célula granular o processo é chamado de retroalimentação (feedback) inibitória; quando a inibição é feita sobre outra célula m/t o processo é chamado de inibição lateral (MORI; YOSHIHARA, 1999). Além disso, a parte mais proximal do dendrito apical de uma célula granular pode receber uma sinapse excitatória de uma ramificação colateral do axônio de uma célula m/t.

Esse complexo padrão de conexões existente no interior do bulbo olfatório indica que o bulbo deve executar algum tipo pesado de processamento sobre a informação olfatória. No entanto, a natureza desse processamento e as suas consequências sobre os estágios posteriores de processamento olfatório é ainda muito incerta e objeto de um intenso debate entre neurocientistas.

2.1.2 Glomérulo

O glomérulo é o exemplo mais claro no cérebro de agrupamento de neurônios e sinapses em módulos anatomicamente definidos. Neurônios receptores olfatórios (NROs), células periglomerulares (PG) e células mitrales e tufoas (m/t) organizam suas conexões sinápticas no interior

dessas estruturas. Axônios dos NROs fazem sinapses glutamatérgicas excitatórias com tufo dendríticos de células m/t e PG. Células m/t fazem sinapses glutamatérgicas dendrodendríticas excitatórias com células PG, as quais inibem as células m/t através de conexões sinápticas GABAérgicas, formando sinapses recíprocas.

2.1.3 Célula periglomerular

Vários tipos de neurônios são encontrados dentro ou próximos da camada glomerular. O principal tipo é a célula periglomerular (PG), cujos corpos celulares circundam o glomérulo (GL). O corpo celular deste neurônio possui diâmetro de 6 a 8 μm (SHEPHERD, 2004), está entre os menores neurônios do cérebro. Seus ramos dendríticos se estendem dentro do glomérulo e, em alguns casos, podem interligar dois glomérulos, apresentam ramificações irregulares e um grande número de espinhas e gêmulas. Seus longos axônios se distribuem lateralmente na região extraglomerular, se estendendo até cinco glomérulos de distância. Estudos experimentais (PINCHING; POWELL, 1971b; PINCHING; POWELL, 1971a; PINCHING; POWELL, 1971c) revelam que nem sempre os axônios são vistos, sugerindo que algumas células PG não apresentam axônios, análogas às células granulares. Existem, aproximadamente, 10^6 células PG no bulbo olfatório de roedores ou, aproximadamente, 500 por glomérulo (DAVISON, 2001).

As células periglomerulares fornecem o primeiro nível de inibição para as células mitrais e tufoas, as células de saída do bulbo olfatório. Nessas células as interações sinápticas são feitas através de anexos dendríticos denominados gêmulas, que recebem e fazem sinapses, geralmente recíprocas (PINCHING; POWELL, 1971b; PINCHING; POWELL, 1971a; PINCHING; POWELL, 1971c). De acordo com estudos experimentais ((SMITH; JAHR, 2002)) a estimulação da célula PG do bulbo olfatório de ratos resulta na auto-inibição: liberação do neurotransmissor GABA (ácido gama-aminobutírico) ativa receptores no mesmo neurônio.

Em alguns trabalhos experimentais ((MCQUISTON; KATZ, 2001; BARDONI; BELLUZZI, 1996)), as células PG são investigadas com células de curto axônio e tufoas externas, classificadas como células juxtaglomerulares (interneurônios que circundam o glomérulo). Tais estudos descrevem esses neurônios (incluindo a PG anatomicamente identificada) como produzindo um único potencial de ação ou trens de poucos potenciais de ação em resposta a uma injeção de corrente despolarizante.

2.1.4 Célula Mitral

As células mitrais e tufozas (m/t) são os neurônios de saída do bulbo olfatório - são os únicos neurônios a enviar axônios fora do bulbo, para o cortex. Ambas as células apresentam um único dendrito primário (apical), o qual se ramifica dentro do glomérulo. Elas se diferem pelo tamanho, localização e formas de projeção. Células mitrais possuem corpo celular com diâmetro de 15 a 30 μm e células tufozas, de 15 a 20 μm (SHEPHERD, 2004). Seus dendritos secundários (basais) projetam-se lateralmente no bulbo olfatório. O número de células m/t está entre 40.000 e 60.000 em roedores (DAVISON, 2001).

2.1.5 Célula Granular

O neurônio mais numeroso do bulbo olfatório é a célula granular (Gr), aproximadamente 5×10^6 (DAVISON, 2001). Célula de pequeno corpo celular, com diâmetro de 6 a 8 μm e dendritos com numerosas gêmulas em suas superfícies. A característica mais marcante desta célula é a ausência de axônio (SHEPHERD, 2004).

2.2 Modelagem Compartmental

2.2.1 Equação da membrana

Os mecanismos biofísicos responsáveis por gerar atividade neuronal fornecem a base para construir modelos de neurônios (DAYAN; ABBOTT, 2002). Tais modelos são desenvolvidos de acordo com propriedades elétricas neuronais representadas por modelos matemáticos.

A atividade elétrica em neurônios é sustentada e propagada por correntes iônicas através da membrana neuronal. A maioria dessas correntes envolve quatro íons: sódio (Na^+), potássio (K^+), cálcio (Ca^{2+}) e cloro (Cl^-). No meio extracelular há elevada concentração de Na^+ e Cl^- e concentração relativamente alta de Ca^{2+} . No meio intracelular há elevada concentração de K^+ e moléculas carregadas negativamente.

A membrana celular de um neurônio é formada por duas camadas de lipídeos que separam os meios condutores intra e extracelular por uma fina camada isolante atravessada por proteínas que atuam como poros ou canais iônicos, por onde íons podem fluir de acordo com seus gradientes eletroquímicos. Quando o equilíbrio entre os fluxos de um íon para dentro e para fora de uma célula é alcançado, o valor do potencial depende da espécie iônica e é dado pela equação

de Nernst (IZHIKEVICH, 2005)

$$E_{ion} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[ion]_{fora}}{[ion]_{dentro}}, \quad (2.1)$$

onde E_{ion} é potencial de Nernst ou potencial de reversão do íon, $[ion]_{dentro}$ e $[ion]_{fora}$ são as concentrações dos íons dentro e fora da célula, respectivamente, R é a constante universal dos gases (8.315 J/K.mol), T é a temperatura absoluta (K), z é a valência do íon e F é a constante de Faraday ($9,648 \times 10^4$ C/mol).

Em analogia a um circuito elétrico, a membrana neuronal atua como um capacitor e seus canais iônicos são representados por resistências que podem depender da voltagem da membrana. Desta forma, a corrente de membrana ou corrente que é injetada na célula pode ser dada pela soma das correntes capacitiva e resistiva (KOCH, 1999):

$$I_{inj}(t) = C \frac{dV_m(t)}{dt} + \frac{V_m(t) - V_{rep}}{R}, \quad (2.2)$$

onde C e R representam a capacitância e a resistência da membrana, respectivamente. $V_m(t)$ é o potencial de membrana em um dado instante de tempo t e V_{rep} , o potencial da célula em equilíbrio dinâmico. Multiplicando ambos os lados da equação acima por R e usando a constante de tempo $\tau = RC$, temos a seguinte equação:

$$\tau \frac{dV_m(t)}{dt} = -V_m(t) + V_{rep} + RI_{inj}(t), \quad (2.3)$$

chamada equação da membrana.

2.2.2 Formalismo de Hodgkin-Huxley

Hodgkin e Huxley postularam um modelo fenomenológico para explicar os eventos observados durante a ocorrência de um potencial de ação no axônio gigante da lula, propondo o seguinte formalismo:

A corrente de membrana é dada pela soma da corrente capacitiva e de uma corrente iônica:

$$I_m(t) = I_{ionica}(t) + C_m \frac{dV_m(t)}{dt}. \quad (2.4)$$

A corrente iônica é dada pela soma de correntes iônicas para íons específicos. A corrente de um dado íon é independente das correntes iônicas dos outros íons. Há três correntes iônicas

responsáveis pela geração do potencial de ação: de sódio, de potássio e de vazamento:

$$I_{ionica}(t) = I_{Na} + I_K + I_{vaz}. \quad (2.5)$$

A razão para esta última corrente é que, em seus experimentos, Hodgkin e Huxley observaram uma corrente adicional além das de sódio e de potássio cuja condutância não dependia da voltagem; eles atribuíram essa corrente a um vazamento na membrana.

A corrente iônica individual $I_{ion}(t)$ é descrita pela Lei de Ohm:

$$I_{ion} = G_{ion}(V(t))(V(t) - E_{ion}) \quad (2.6)$$

onde E_{ion} é o potencial de Nernst ou o potencial de reversão do íon. A condutância G_{ion} , dependente da voltagem e do tempo, é expressa por uma condutância máxima \bar{G} multiplicada pelas variáveis de ativação e inativação que representam os portões pertencentes ao canal iônico. Assim a corrente iônica poder ser desrita por:

$$I_{ion} = \bar{G} m^a h^b (V - E_{ion}), \quad (2.7)$$

onde m é probabilidade de um portão de ativação estar no estado aberto (ou a variável n como é usado para os canais de K^+ e Ca^{2+}) e h é a probabilidade de um portão de inativação estar aberto. Os expoentes a e b representam, respectivamente, os números de portões de ativação e de inativação por canal. Os canais que não possuem portões de inativação resultam em correntes iônicas persistentes e os canais que possuem portões de inativação resultam em correntes transientes.

A dinâmica das variáveis de ativação e inativação m e h pode ser descrita pelas seguintes equações diferenciais de primeira ordem:

$$\dot{m} = (m_{\infty}(V) - m)/\tau_m(V) \quad \text{e} \quad \dot{h} = (h_{\infty}(V) - h)/\tau_h(V) \quad (2.8)$$

onde $\tau(V)$ é a constante de tempo relativa à variável m ou h e m_{∞} e h_{∞} representam os valores assintóticos da condutividade para um determinado valor de potencial de membrana. Seu valor estacionário obedece a seguinte equação sigmoideal:

$$m_{\infty}(V) = 1/(1 + e^{(V-V_{1/2})/k}), \quad (2.9)$$

onde $V_{1/2}$ satisfaz a condição $m_{\infty}(V_{1/2}) = 0,5$ e k é o fator de inclinação.

Para modelar correntes de cálcio ou correntes que dependam da concentração do cálcio usa-se uma abordagem diferente do formalismo de Hodgkin-Huxley, cujo modelo original apresenta apenas íons de sódio e potássio (KOCH; SEGEV, 1998). A maneira usual de modelá-las é através da equação de Goldman-Hodgkin-Katz:

$$I_{Ca} = P_{Ca} \frac{z^2 F^2}{RT} V \left(\frac{[Ca]_i - [Ca]_e e^{-zFV/RT}}{1 - e^{-zFV/RT}} \right), \quad (2.10)$$

onde $[Ca]_i$ e $[Ca]_e$ são as concentrações interna e externa do íon de cálcio, respectivamente. V é a voltagem, F é a constante de Faraday, R é a constante dos gases, T é a temperatura absoluta (K) e z é a valência do cálcio, cujo valor é 2. Assim esta equação pode ser reescrita como

$$I_{Ca} = P_{Ca} \frac{4F^2}{RT} V \left(\frac{[Ca]_i - [Ca]_e e^{-2FV/RT}}{1 - e^{-2FV/RT}} \right), \quad (2.11)$$

onde P_{Ca} é a permeabilidade, a qual também pode ser modelada à maneira de Hodgkin-Huxley,

$$P_{Ca} = \bar{P}_{Ca} m^r h^s. \quad (2.12)$$

A concentração intracelular de cálcio livre pode ser afetada por quatro processos básicos: (i) a entrada de cálcio na célula pela corrente de cálcio; (ii) a difusão de cálcio na célula; (iii) as ligações de cálcio com proteínas (tampões); e (iv) a saída de cálcio da célula via bombas de cálcio na membrana. Em geral, não há muitos dados experimentais disponíveis para se modelar de forma adequada todos esses processos.

Para se modelar a entrada de cálcio na célula, costuma-se considerar uma célula esférica e calcula-se a taxa de crescimento da concentração de cálcio em uma concha esférica fina de área superficial A e espessura d logo abaixo da membrana neuronal como,

$$\frac{d[Ca]_i}{dt} = \frac{-I_{Ca}}{2FAd} \quad (2.13)$$

onde o sinal negativo deve-se ao fato de que I_{Ca} é negativa, pois os íons de cálcio estão entrando na célula.

3 *Metodologia*

Neste capítulo, apresentamos a construção do modelo da célula periglomerular (PG) e descrevemos os modelos de célula mitral e granular já propostos na literatura. Esses modelos foram incorporados numa pequena rede a fim de verificar e compreender o papel da célula PG nas camadas iniciais do processamento de odores pelo bulbo olfatório.

3.1 Métodos Numéricos

Todas as simulações foram realizadas com o programa de simulação Neuron (HINES; CARNAVALE, 1997) versão 6.1 rodando no sistema operacional Linux. O método utilizado para a integração das equações diferenciais foi o método padrão do simulador - "Backward"Euler (Euler Regressivo), com passo de tempo de 0.05 ms, garantindo resultados de boa qualidade. Variações de parâmetros e protocolos e a construção das figuras foram feitas usando MATLAB (MathWorks, 1994-2010).

3.2 Célula Periglomerular

O modelo da célula periglomerular descrito neste trabalho é baseado num modelo de glomérulo proposto por Cleland e Sethupathy (CLELAND; SETHUPATHY, 2006), sendo formado por cinco compartimentos isopotenciais cilíndricos (soma, axônio, dois dendritos primários e gêmulas) conectados de acordo com a figura 3.1. As dimensões do modelo estão indicadas na tabela 3.1

Tabela 3.1: Dimensões dos compartimentos do modelo da célula periglomerular.

Compartimento	Comprimento (μm)	Diâmetro (μm)
Soma	8.0	8.0
Axônio	50.0	1.0
Dendritos	20.0	1.0
gêmulas	1.0	1.0

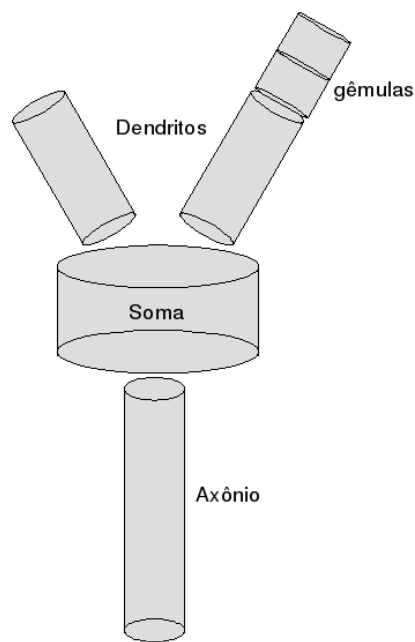


Figura 3.1: Arquitetura do modelo da célula periglomerular. Soma conectado ao axônio por uma extremidade e a outra conectada a dois dendritos primários, um deles conecta-se com compartimentos que recebem entradas sinápticas (gêmulas, sendo representadas por um cabo e um corpo.)

Como parâmetros passivos do modelo, foram utilizados resistividade citoplasmática (R_a) de $172 \Omega\text{cm}$, capacitância específica (c_m) de $2.0 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ e densidade de condutância passiva $g_{pas} = 2.3 \cdot 10^{-4} \text{ S}/\text{cm}^2$, ajustados para obter uma resposta eletrofisiológica similar à célula real. Estudos experimentais (MCQUISTON; KATZ, 2001) revelam que células juxta-glomerulares apresentam elevadas resistências de entrada, com valores obtidos próximos de $R_{input} = 1027 \pm 123 \text{ M}\Omega$. As células juxta-glomerulares incluem diferentes tipos de interneurônios como células PG, células de curto axônio e células tufozas externas. A resistência de entrada obtida no modelo foi $1345.842 \pm 0.012 \text{ M}\Omega$, confirmando o elevado valor da resistência de entrada observado em células da região onde se encontra a célula PG. O potencial de repouso foi mantido a -70 mV , supondo uma temperatura de 23°C .

O modelo foi construído levando em conta dados anatômicos e biofísicos disponíveis (PINCHING; POWELL, 1971b; PINCHING; POWELL, 1971a; PINCHING; POWELL, 1971c) e informações eletrofisiológicas sobre células juxta-glomerulares do bulbo olfatório do rato (MCQUISTON; KATZ, 2001) apresentadas como uma resposta do potencial de membrana em função do tempo para uma injeção de corrente de 100 pA por 600 ms , conforme ilustra a figura 3.2. O potencial de repouso medido foi próximo de -70 mV . O programa Datathief (TUMMERS, 2008) foi utilizado para retirar as informações quantitativas (tempo e potencial de membrana) da curva experimental apresentada por (MCQUISTON; KATZ, 2001) levando

em conta a escala numérica apresentada na mesma.

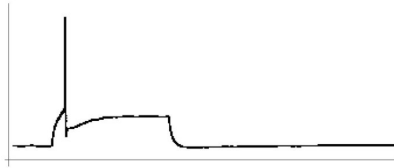


Figura 3.2: Resposta do potencial de membrana (mV) em função do tempo (ms) da célula periglomerular para uma injeção de corrente despolarizante de 100 pA por 600 ms. Figura retirada de (MCQUISTON; KATZ, 2001)

As correntes iônicas adicionadas ao modelo são consistentes com estudos experimentais. O formalismo geral usado para modelá-las procede das equações de Hodgkin-Huxley, como discutido na revisão teórica, e construídas na linguagem NMODL (HINES; CARNAVALE, 2000).

Através de um estudo sobre os neurônios da camada glomerular, onde a célula PG foi visualmente identificada, Cadetti e Belluzzi (CADETTI; BELLUZZI, 2001) concluíram que a maioria desses neurônio apresentavam uma corrente ativada por hiperpolarização. Neste mesmo trabalho os autores propuseram o modelo representando a dinâmica deste canal. As correntes de sódio, potássio e cálcio foram investigadas experimentalmente por Bardoni e colegas (BARDONI; MAGHERINI; BELLUZZI, 1995; BARDONI; MAGHERINI; BELLUZZI, 1996) e modeladas por Destexhe e colegas (DESTEXHE et al., 1998; DESTEXHE et al., 1996). A corrente de cálcio tipo-T recebeu um mecanismo de difusão de cálcio. Observações experimentais revelaram também a presença de características cinéticas da corrente de potássio inativante tipo-A (Corrente A) em (BARDONI; MAGHERINI; BELLUZZI, 1996), cujo modelo é descrito por (MIGLIORE et al., 1995). Tais correntes foram adicionadas aos compartimentos da célula PG de acordo com a tabela 3.2, mantendo as características cinéticas e os parâmetros dos modelos originais, os quais estão disponíveis na base de dados ModelDB (HINES et al., 2004).

Uma auto-sinapse inibitória GABAérgica graduada, cujo modelo será descrito adiante, também é incorporada a célula PG através das gêmulas.

Tabela 3.2: Correntes iônicas adicionadas nos compartimentos do modelo da célula PG e seus respectivos potenciais de reversão.

Compartimento	Mecanismo	Potencial de reversão
soma, axônio	Corrente de Sódio (I_{Na})	$E_{Na} = 50$ mV
soma, axônio, dendritos, gêmulas	Corrente de Potássio (I_K)	$E_K = -80$ mV
soma, dendrito, gêmulas	Corrente de Cálcio tipo-T ($I_{Ca(T)}$)	$E_{Ca} = 120$ mV
soma, dendrito, gêmulas	Corrente ativada por hiperpolarização (I_H)	$E_H = 0$ mV
soma, dendrito, gêmulas	Corrente de potássio inativante tipo-A (I_A)	$E_K = -80$ mV

As equações de balanceamento de corrente são:

$$\begin{aligned}
C_m \dot{V}_s = & -g_{pas}(V_s - E_r) - g_{Na}(V_s - E_{Na}) - g_K(V_s - E_K) \\
& - g_{Ca(T)}(V_s - E_{Ca}) - g_H(V_s - E_H) - g_A(V_s - E_K) - g_{s,a}(V_a - V_s) \\
& - g_{s,d1}(V_s - V_{d1}) - g_{s,d2}(V_s - V_{d2}) + (I_{inj}/A_s)
\end{aligned} \tag{3.1}$$

$$\begin{aligned}
C_m \dot{V}_a = & -g_{pas}(V_a - E_r) - g_{Na}(V_a - E_{Na}) - g_K(V_a - E_K) \\
& + g_{a,s}(V_s - V_a)
\end{aligned} \tag{3.2}$$

$$\begin{aligned}
C_m \dot{V}_{d1} = & -g_{pas}(V_{d1} - E_r) - g_K(V_{d1} - E_K) - g_{Ca(T)}(V_{d1} - E_{Ca}) - g_H(V_{d1} - E_H) \\
& - g_A(V_{d1} - E_K) + g_{d1,s}(V_{d1} - V_s)
\end{aligned} \tag{3.3}$$

$$\begin{aligned}
C_m \dot{V}_{d2} = & -g_{pas}(V_{d2} - E_r) - g_K(V_{d2} - E_K) - g_{Ca(T)}(V_{d2} - E_{Ca}) - g_H(V_{d2} - E_H) \\
& - g_A(V_{d2} - E_K) + g_{d2,s}(V_{d2} - V_s) - g_{d2,g}(V_g - V_{d2})
\end{aligned} \tag{3.4}$$

$$\begin{aligned}
C_m \dot{V}_g = & -g_{pas}(V_g - E_r) - g_K(V_g - E_K) - g_{Ca(T)}(V_g - E_{Ca}) - g_H(V_g - E_H) \\
& - g_A(V_g - E_K) + g_{g,d2}(V_g - V_{d2}) + (I_{GABA}/A_{gem})
\end{aligned} \tag{3.5}$$

onde V_s , V_a , V_{d1} , V_{d2} e V_g são potenciais de membrana dos compartimentos soma, axônio, dendrito primário(1), dendrito primário(2) e gêmulas, respectivamente. E_r é o potencial de membrana no repouso (-70 mV). E_x é o potencial de reversão para cada canal iônico x e $g_{c,c'}$ é a densidade de condutância de acoplamento entre os compartimentos c e c' , os quais representam os compartimentos soma (s), axônio (a), dendrito primário 1 ($d1$), dendrito primário 2 ($d2$) e gêmulas (g). A corrente I_{inj} é a corrente injetada ao modelo e A_s e A_{gem} representam, respectivamente, as áreas dos compartimentos soma e gêmulas. No modelo há também uma corrente sináptica GABAérgica I_{GABA} , cuja descrição é feita adiante. Os potenciais de reversão dos canais iônicos, apresentados na tabela 3.2, foram mantidos da respectiva referência descrita acima. As densidades de condutância de acoplamento entre os compartimentos foram calculadas de acordo com a teoria de modelagem compartimental, onde a resistência axial R de um

compartimento cilíndrico de comprimento L e raio a pode ser calculada da forma:

$$R = \frac{R_a \cdot L}{\pi \cdot a^2}, \quad (3.6)$$

onde R_a é a resistividade citoplasmática. A resistência axial de acoplamento entre dois compartimentos vizinhos (representados por 1 e 2) é dada pela média das resistências de cada um dos compartimentos:

$$R_{1,2} = \frac{R_1 + R_2}{2} = \frac{R_a}{2\pi} \left(\frac{L_1}{a_1^2} + \frac{L_2}{a_2^2} \right), \quad (3.7)$$

a qual fornece a condutância axial de acoplamento $G_{1,2}$:

$$G_{1,2} = \frac{2\pi(a_1 a_2)^2}{R_a(L_1 a_2^2 + L_2 a_1^2)}, \quad (3.8)$$

A área lateral de um compartimento cilíndrico é dada por:

$$A_{lateral} = 2\pi a L. \quad (3.9)$$

Desta forma, a densidade de condutância de acoplamento entre dois compartimentos pode ser escrita como:

$$g_{1,2} = \frac{G_{1,2}}{A_{lateral}} = \frac{a_1 a_2^2}{R_a L_1 (L_1 a_2^2 + L_2 a_1^2)} \quad (3.10)$$

Assim calculamos as densidades de condutância de acoplamento entre os compartimentos do modelo da célula PG e obtemos $g_{s,a} = 0.00906$ S/cm², $g_{a,s} = 0.01159$ S/cm², $g_{s,d1} = 0.02257$ S/cm², $g_{s,d2} = 0.02257$ S/cm², $g_{d1,s} = 0.07222$ S/cm², $g_{d2,s} = 0.07222$ S/cm², $g_{d2,g} = 0.06921$ S/cm² e $g_{d2,g} = 1.38427$ S/cm².

O modelo foi submetido a um pulso de corrente despolarizante de 100 pA por 600 ms com um atraso de 200 ms, reproduzindo o protocolo experimental em (MCQUISTON; KATZ, 2001). As simulações foram realizadas por 1000 ms e voltagem inicial de 65mV.

Inicialmente fez-se uma variação das densidades de condutância dos canais iônicos e de condutância sináptica, com as quais o modelo apresentasse uma resposta eletrofisiológica de acordo com o comportamento da célula real. Conseqüentemente foi possível verificar o efeito de cada corrente iônica na resposta da célula.

A fim de encontrar os melhores valores de densidades de condutância e condutância sináptica fez-se uma busca, a qual consistiu em um programa feito em Matlab, que gerava diferentes

combinações de parâmetros (valores de densidades das condutâncias iônicas). Para cada combinação gerada, o programa executa o modelo da célula PG implementado no NEURON, onde é feita a simulação retornando o tempo e o potencial de membrana do modelo da célula; tais informações são comparadas com os dados experimentais a fim de avaliar a qualidade da combinação gerada. Uma série de simulações foi realizada para identificar as combinações que geravam respostas do potencial de membrana do modelo de acordo com o comportamento eletrofisiológico da célula real. Posteriormente, a região de varredura tornou-se mais restrita e foi estabelecido o seguinte critério de erro ((ACHARD; SCHUTTER, 2006)):

$$erro = \sum_{i=1}^N \left(\frac{x_i - y_i}{N} \right)^2 \quad (3.11)$$

onde x_i e y_i representam o potencial de membrana da célula real e do modelo de célula, respectivamente, no mesmo tempo, e N representa o número total de dados.

A fim de determinar a melhor combinação de parâmetros, adotou-se a estratégia de focar nas características principais da resposta experimental, como tempo de disparo, amplitude do potencial de ação e valor do potencial no platô. Foi utilizada a seguinte função F para refinar o erro:

$$F = \sum_{j=1}^L (w_j \cdot \sqrt{erro}), \quad (3.12)$$

a qual atribui pesos mais elevados às regiões de interesse da curva de resposta, ou seja:

$$w_j = \begin{cases} 0 \\ 1.0 \\ 0.8 \end{cases}, \quad j = (1, 2, 3) \quad (3.13)$$

onde w_j corresponde ao peso em diferentes períodos de tempo t numa simulação com duração total de 1000 ms, $j = 1$ representa o período no qual não há injeção de corrente ($0 \leq t < 200.0$ ms e $800.0 < t \leq 1000.0$ ms), $j = 2$ representa o período no qual ocorre o disparo do potencial de ação ($200.0 \leq t < 278.3$ ms) e $j = 3$, o período no qual há injeção de corrente ($278.3 \leq t \leq 800.0$ ms) após o disparo do potencial de ação.

Além da função erro, a diferença da amplitude do potencial de ação (ΔV_A) e a diferença do tempo de disparo (ΔT_d) entre o modelo e a célula real também foram utilizadas como critérios para obter a melhor combinação dos parâmetros que foram variados. Essas diferenças foram

calculadas de acordo com as equações:

$$\Delta V_A = |V_{A(exp)} - V_{A(mod)}| \quad (3.14)$$

$$\Delta T_d = |T_{d(exp)} - T_{d(mod)}| \quad (3.15)$$

onde $V_{A(exp)}$ e $T_{d(exp)}$ são, respectivamente, amplitude e tempo do potencial de ação experimentais e $V_{A(mod)}$ e $T_{d(mod)}$ representam a amplitude e o tempo do potencial de ação do modelo teórico da célula PG.

Nesta busca pelos melhores parâmetros, verificou-se o efeito de cada corrente iônica, identificando sua função na resposta do modelo assim como as densidades de condutâncias iônicas que mais afetam as características principais da resposta do modelo da célula PG. Por isso, algumas correntes como a de sódio e cálcio foram estudadas com mais detalhes.

3.3 Célula Mitral

O modelo da célula mitral utilizado no presente trabalho foi proposto por Davison e colegas (DAVISON; FENG; BROWN, 2000). Tal modelo é constituído por quatro compartimentos isopotenciais: glomerulo (GL), dendrito primário (DP), soma (S) e dendrito secundário (DS). Assume-se que o axônio esteja incluído no compartimento soma.

Os mecanismos de corrente iônicas, determinados de acordo com o formalismo de Hodgkin-Huxley, foram mantidos do modelo de Bhalla e Bower (BHALLA; BOWER, 1993), com 286 compartimentos, baseado na morfologia e no ajuste para a resposta eletrofisiológica da célula mitral obtida pelo grampo de corrente sobre uma ampla variedade de condições. As correntes adicionadas em cada compartimento do modelo reduzido estão apresentadas na tabela 3.3, cujos valores de densidades de condutância de cada canal são indicados.

As equações de balanceamento de corrente para todos compartimento são:

Tabela 3.3: Parâmetros do modelo da célula mitral (DAVISON, 2001)

Distribuição de canais iônicos (S/cm ²)	S	Compartimento		
		GL	DP	DS
Corrente de Sódio (I_{Na})	0.1532	0	0.00134	0.0226
Corrente de Potássio lenta (I_K)	0.028	0.02	0.00174	0
Corrente de Potássio rápida (I_{Kfast})	0.1956	0	0.00123	0.033
Corrente de Cálcio dependente de potássio (I_{KCa})	0.0142	0	0	0
Corrente de potássio inativante tipo-A (I_{KA})	0.00587	0	0	0
Corrente de Cálcio tipo-L (I_{LCa})	0.004	0.0095	0.0022	0
Parâmetros morfológicos				
Diâmetro (μm)	16.2	26.7	104.4	170.9
Comprimento (μm)	100	100	100	100
razão de área	$p = 0.0510$	$q = 0.0840$	$r = 0.328$	$s = 0.537$

$$\begin{aligned}
C_m \dot{V}_s = & -g_{pas}(V_s - E_{rest}) - g_{Na}(V_s - 45) - g_{Kfast}(V_s + 70) \\
& - g_{KA}(V_s + 70) - g_{KCa}(V_s + 70) - g_{LCa}(V_s - 70) - (g_{sd}/p)(V_d - V_s) \\
& + (g_{sp}/p)(V_p - V_s) + I_s/p
\end{aligned} \tag{3.16}$$

$$C_m \dot{V}_g = -g_{pas}(V_g - E_{rest}) - g_K(V_g + 70) - g_{LCa}(V_g - 70) - (g_{pg}/q)(V_p - V_g) \tag{3.17}$$

$$\begin{aligned}
C_m \dot{V}_p = & -g_{pas}(V_p - E_{rest}) - g_{Na}(V_p - 45) - g_{Kfast}(V_p + 70) - g_K(V_p + 70) - g_{KCa} \\
& - g_{LCa}(V_p - 70) + (g_{pg}/r)(V_g - V_p)
\end{aligned} \tag{3.18}$$

$$\begin{aligned}
C_m \dot{V}_d = & -g_{pas}(V_d - E_{rest}) - g_{Na}(V_d - 45) - g_{Kfast}(V_d + 70) \\
& - (g_{sd}/s)(V_s - V_d)
\end{aligned} \tag{3.19}$$

onde V_s , V_g , V_p e V_d são potenciais de membrana dos compartimentos soma, glomérulo, dendrito primário e dendrito secundário, respectivamente e E_{rest} é o potencial de membrana no repouso (-65 mV). A capacitância específica C_m tem valor de $1.0 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ e o tempo está em unidades de ms. A densidade de condutância passiva $g_{pas} = 1/R_M$ tem valor de $1 \cdot 10^{-5} \text{ S}/\text{cm}^2$. I_s é a corrente injetada no compartimento soma. g_{sd} , g_{sp} e g_{pg} são as densidades de condutância axiais entre os compartimentos soma e dendrito secundário, soma e dendrito primário, e dendrito primário e glomérulo, respectivamente. Seus valores são $g_{sd} = 1.94 \cdot 10^{-4} \text{ S}/\text{cm}^2$, $g_{sp} = 5.47 \cdot 10^{-5} \text{ S}/\text{cm}^2$ e $g_{pg} = 5.86 \cdot 10^{-5} \text{ S}/\text{cm}^2$. p é a razão entre a área do compartimento soma e a área total da superfície da membrana celular; q , r e s são as razões entre as áreas dos compartimentos glomérulo, dendrito primário e dendrito secundário, respectivamente, e a área total ($p + q + r + s = 1$). Tais valores são apresentados na tabela 3.3.

O modelo de célula mitral descrito acima foi adaptado para ser incorporado numa rede simplificada. A fim de verificar sua consistência, o modelo foi submetido a uma injeção de corrente de 0.2 nA multiplicada por um fator de correção α_{mit} utilizado para ajustar a resposta com a resposta do modelo completo, onde $\alpha_{mit} = 1.37$, resultando numa amplitude de 0.2738 nA por 450 ms no compartimento soma. A resposta da célula mitral também foi verificada através da taxa de disparos de potenciais de ação sob uma variação de corrente.

3.4 Célula Granular

O modelo de célula granular, proposto por Davison (DAVISON, 2001), também foi adaptado para ser incorporado numa pequena rede. Tal modelo, constituído por três compartimentos isopotenciais: soma, dendrito profundo (deep dendrite) e dendrito periférico (peripheral dendrite), é uma versão simplificada do modelo de 944 compartimentos de Bhalla e Bower (BHALLA; BOWER, 1993).

As equações de balanceamento de corrente para todos compartimento são:

$$C_m \dot{V}_s = -g_{pas}(V_s - E_{rest}) - g_{Na}(V_s - 45) - g_{KM}(V_s + 70) - g_K(V_s + 70) - g_{KA}(V_s + 70) - (g_{sd}/u)(V_d - V_s) - (g_{sp}/u)(V_p - V_s) + I_s/p \quad (3.20)$$

$$C_m \dot{V}_p = -g_{pas}(V_p - E_{rest}) - g_{Na}(V_p - 45) - g_K(V_p + 70) + (g_{sp}/v)(V_s - V_p) \quad (3.21)$$

$$C_m \dot{V}_d = -g_{pas}(V_d - E_{rest}) - (g_{sd}/w)(V_s - V_d) \quad (3.22)$$

onde V_s , V_p e V_d são potenciais de membrana dos compartimentos soma (S), dendrito periférico (DP) e dendrito profundo (DD), respectivamente e E_{rest} é o potencial de membrana no repouso (-65 mV). A capacitância específica C_m tem valor de $1.0 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ e o tempo está em unidades de ms. A densidade de condutância passiva $g_{pas} = 1/R_M$ tem valor de $8.3 \cdot 10^{-6} \text{ S}/\text{cm}^2$. I_s é a corrente injetada no compartimento soma. g_{sp} , g_{sd} são as densidades de condutância axiais entre os compartimentos soma e dendrito periférico e soma e dendrito profundo, respectivamente. Seus valores são $g_{sp} = 3.08 \cdot 10^{-4} \text{ S}/\text{cm}^2$, $g_{sd} = 4.34 \cdot 10^{-5} \text{ S}/\text{cm}^2$.

As corrente iônicas adicionadas em cada compartimento estão apresentadas na tabela 3.4, onde seus valores de densidades de condutância estão indicados. Os parâmetros u , v e w descritos nas equações de balanceamento são as razões entre as áreas dos compartimentos soma, dendrito periférico e dendrito profundo, respectivamente, e a área total da superfície da mem-

brana celular ($u + v + w = 1$), cujos valores são apresentados na tabela 3.4.

Tabela 3.4: *Parâmetros do modelo da célula granular (DAVISON, 2001)*

Distribuição de canais iônicos (S/cm ²)	Compartimento		
	S	DP	DD
Corrente de Sódio (I_{Na})	0.1611	0.1355	0
Corrente de Potássio lenta (I_K)	0.1313	0.0243	0
Corrente de Potássio dependente de muscarina (I_{KM})	0.1334	0	0
Corrente de potássio inativante tipo-A (I_{KA})	0.0088	0	0
Parâmetros morfológicos			
Diâmetro (μm)	0.72321	16.378	36.075
Comprimento (μm)	50	50	50
razão de área	$u = 0.0136$	$v = 0.308$	$w = 0.6784$

A resposta eletrofisiológica de célula granular foi caracterizada isoladamente através de uma injeção de corrente de 0.01 nA multiplicada por um fator de correção α_{gran} utilizado para ajustar a resposta com a resposta do modelo completo, onde $\alpha_{gran} = 0.625$, resultando numa amplitude de $6.25 \cdot 10^{-3}$ nA por 2500 ms, reproduzindo o protocolo proposto por Davison (DAVISON, 2001).

3.5 Rede Simplificada

Nesta seção, apresentamos um pequeno circuito composto pelos modelos de neurônios descritos acima. Nossa rede simplificada consiste de uma célula periglomerular (PG) conectada a uma célula mitral e esta, por sua vez, conectada a uma célula granular.

A seguir, apresentamos as variáveis do sistema em questão:

- Amplitude do pulso quadrado de corrente injetada na célula mitral: A_m
- Amplitude do pulso quadrado de corrente injetada na célula PG: A_{PG}
As entradas de ambas células, mitral e PG, representam o pulso vindo dos neurônios sensoriais do bulbo olfatório.
- Amplitude do pulso quadrado de corrente injetada na célula granular: A_G
Esta entrada representa entradas vindas de outras regiões do bulbo olfatório.
- Tempo de injeção de corrente na célula mitral: T_M
- Tempo de injeção de corrente na célula PG: T_{PG}

- Tempo de injeção de corrente na célula granular: T_G
- Atraso temporal entre o instante de início do pulso de corrente injetado na célula mitral e o instante de início do pulso de corrente injetado na célula PG: $L_M = T_{PG} - T_M$
- Atraso temporal entre o instante de início do pulso de corrente injetado na célula granular e o instante de início do pulso de corrente injetado na célula PG: $L_G = T_{PG} - T_G$
- Duração dos pulsos de correntes na célula mitral: ΔT_M
- Duração dos pulsos de correntes na célula mitral: ΔT_{PG}
- Condutância sináptica inibitória da célula PG na célula mitral: $G_{(gaba)PG}$
- Condutância sináptica inibitória da célula granular na célula mitral: G_G
- As condutâncias sinápticas excitatórias da célula mitral nas células PG e granular são mantidas à $0.06 \mu S$.
- Densidade de Condutância da corrente de cálcio tipo T da célula PG: g_{Ca}
- As demais densidades de condutâncias das correntes da célula PG foram mantidas fixas com os valores ajustados na seção anterior.

Um estudo foi feito com o objetivo de estudar o efeito dos parâmetros A_M , A_{PG} , L , G_{PG} , G_G , G_{Ca} na resposta (frequência de disparo, tempo para o primeiro spike) da célula mitral. As variações de parâmetros, as análises e os gráficos foram gerados usando o Matlab através de um programa que, a cada combinação de parâmetro gerada, o simulador NEURON era chamado para rodar o modelo. Depois da simulação com o NEURON, o número de spikes era transformado em frequência para que os gráficos pudessem ser gerados.

3.5.1 Efeito da Inibição da PG sobre a Mitral

O primeiro passo da construção da rede simplificada consistiu em conectar as células PG e mitral através de uma sinapse GABAérgica inibitória (figura 3.3A), cujo modelo será discutido na próxima seção. Inicialmente, ambas as células receberam um pulso quadrado de corrente durante 1000 ms com o mesmo tempo de início ($T_M = T_{PG} = 50$ ms). As amplitudes dos estímulos receberam os valores padrões da caracterização da resposta eletrofisiológica de cada célula. No entanto a conexão entre as células ocorre no compartimento gêmulas da célula PG,

assim foi necessário aumentar a amplitude de entrada neste neurônio de modo a tornar significativo seu efeito na célula mitral. Assim as amplitudes receberam os valores de $A_M = 0.274$ nA e $A_{PG} = 0.18$ nA.

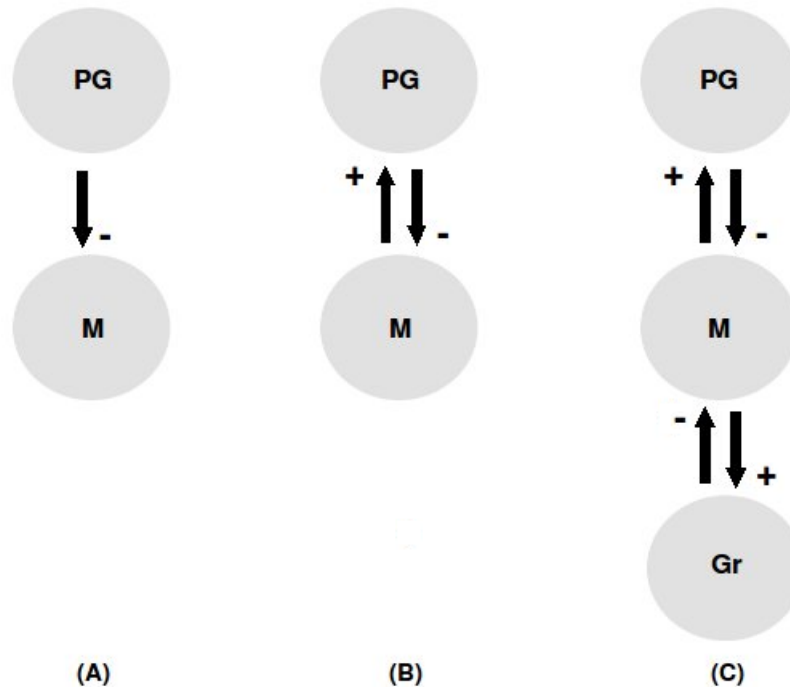


Figura 3.3: Esquema das conexões inseridas entre os modelos das células Periglomerular (PG), Mitral (M) e Granular (Gr), representadas por flechas. Os sinais (+) e (-) indicam, respectivamente, sinapses excitatórias e inibitórias. (A) Conexão entre as células PG e mitral através de uma sinapse inibitória. (B) Conexão entre as células PG e mitral através de uma sinapse recíproca - inibitória e excitatória. (C) Sinapses recíprocas entre as células PG, Mitral e Granular.

Uma variação da condutância sináptica inibitória foi feita mantendo as amplitudes dos pulsos de corrente injetados nas células constantes. Posteriormente, tais amplitudes também foram variadas a fim de analisar a influência da inibição na frequência de disparos da célula mitral.

Em nossas investigações, analisamos também o efeito do atraso L_M (diferença entre o instante de início do pulso de corrente injetado na célula PG e o instante de início do pulso de corrente injetado na célula mitral: $L_M = T_{PG} - T_M$ - definido acima) na diferença entre o tempo de disparo do primeiro potencial de ação da célula mitral conectada à célula PG e o tempo de disparo do primeiro potencial de ação da célula mitral isolada (312.2 ms), denotado por ΔT_{PA} . Neste estudo realizamos simulações com os seguintes valores:

$$A_M = 0.274 \text{ nA}$$

$$T_M = 200 \text{ ms}$$

$$\Delta T_M = 600 \text{ ms}$$

$$G_{gaba(PG)} = 0.06 \mu\text{S}$$

$$A_{PG} = 0.18 \text{ nA}$$

Os valores de T_{PG} foram variados de 60 a 210 ms com intervalos de 10 ms. Posteriormente a variação foi feita de 60 a 350 ms para verificar até que ponto o atraso do estímulo da célula PG influenciaria no tempo de disparo do primeiro potencial de ação da célula mitral. No decorrer da simulação controlamos a duração do estímulo na célula PG de maneira que ambas injeções de correntes terminassem sempre no mesmo tempo (em 800 ms).

Para compreender com detalhes o efeito do atraso L_M analisamos o comportamento do potencial de membrana da célula mitral para alguns valores de T_{PG} testados anteriormente, como $T_{PG} = 80, 210$ e 280 ms, os quais fornecem atrasos $L_M = -120, 10$ e 80 ms, respectivamente.

Após verificado o sucesso da conexão inibitória, uma sinapse de glutamato excitatória, cujo modelo será descrito adiante, foi adicionada ao circuito conforme ilustra a figura 3.3B a fim de reproduzir uma possível conexão entre as células PG e mitral relatadas na literatura (SHEPHERD, 2004; PINCHING; POWELL, 1971b).

3.5.2 Efeito da Inibição das célula PG e Granular sobre a célula Mitral

O modelo constituído de uma célula mitral conectada à uma célula PG, descrito na seção anterior, foi conectado a uma célula granular através de uma sinapse GABA inibitória da célula granular para a mitral e uma sinapse Glutamato excitatória, conforme ilustra a figura 3.3C. Como primeiro estudo, verificamos o efeito das sinapses inibitórias no potencial de membrana da célula mitral durante um intervalo de tempo de 1000 ms, a célula granular recebeu um pulso quadrado de corrente com amplitude de 0.1 nA multiplicada pelo fator de correção $\alpha_{gran} = 0.625$, resultando numa amplitude de 0.0625 nA. As células PG e mitral receberam pulsos quadrados de correntes com suas amplitudes de caracterização com uma duração de 600 ms e tempo inicial de estímulo de 50 ms.

A inibição também pôde ser verificada através do efeito da variação das condutâncias das sinapses GABA na frequência de disparos e no tempo do primeiro potencial de ação da célula mitral.

Outro aspecto observado se deu através da variação do parâmetro L_g , o qual representa a diferença entre os tempos iniciais de estímulo da célula PG e da célula granular ($L_g = T_{PG} - T_G$). Neste estudo, fixou-se a condutância sináptica da célula granular em $0.06 \mu\text{S}$ e procurou-se uma faixa de valores de condutância sináptica inibitória da célula PG, a qual permite a existência de potenciais de ação pela célula mitral, ou seja, não iniba totalmente a célula. Pelos estudos anteriores, verificou-se que esta faixa de valores correspondia de 0.01 a $0.1 \mu\text{S}$. Os valores de

T_{PG} foram variados de 50 a 500 ms com intervalos de 10 ms, fornecendo valores de L_g de 0 a 450 ms. O efeito dessas variações foram observados na frequência de disparos da célula mitral.

Existem muitas variáveis no pequeno circuito que construímos neste trabalho, portanto existe um grande número de estudos que podem ser feitos. Em nossas análises procuramos investigar os parâmetros que produzissem efeitos na resposta da célula de saída do bulbo olfatório, a célula mitral. Um desses parâmetros é a densidade de condutância da corrente de cálcio tipo T (g_{Ca}) da célula PG. Verificou-se que o mesmo produzia uma diferença na resposta da célula mitral quando submetido a uma variação num pequeno intervalo de valores, de 0.004 a 0.007 S/cm² incluindo $g_{Ca} = 0.0048376$ S/cm² (valor ajustado no modelo da célula mitral). Tal fato foi analisado através do comportamento do potencial de membrana e do tempo do potencial de ação da célula mitral. Assim investigamos como este parâmetro poderia influenciar a resposta da célula mitral. Neste estudo, fez-se uma variação de $g_{Ca} = 0.003$ a 0.009 S/cm² com intervalos de 0.0002 S/cm² e de condutância da sinapse GABA da célula PG com valores de 0.01 a 0.1 μ S, com intervalos de 0.0025 μ S.

É importante ressaltar que outros parâmetros da célula PG também foram analisados, no entanto o parâmetro que resultou em mudanças significativas na célula PG foi a condutância do canal de cálcio tipo-T.

3.6 Sinapses

As sinapses incorporadas no modelo representam as sinapses, geralmente, recíprocas encontradas no bulbo olfatório, conforme relata a literatura (PINCHING; POWELL, 1971b; PINCHING; POWELL, 1971a; PINCHING; POWELL, 1971c). As sinapses inibitórias, modeladas neste trabalho, são mediadas pelo neurotransmissor GABA (Ácido gama-aminobutírico) e as sinapses excitatórias são mediadas por glutamato com receptores AMPA (Ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiônico) e NMDA (N-metil-D-aspartato), os quais foram combinadas num único mecanismo.

Por simplicidade as entradas sensoriais foram modeladas com correntes constantes. Esta simplificação revelou-se razoavelmente precisa tanto para o modelo individual como para a rede simplificada, pois a resposta obtida correspondeu ao comportamento observado experimentalmente.

O modelo da célula PG individual recebeu uma auto-sinapse GABAérgica inibitória no compartimento gêmulas, pois estas células são capazes de modular suas excitabilidades ativando autoreceptores GABA, resultando na auto-inibição (SMITH; JAHR, 2002; MAHER;

WESTBROOK, 2008).

Os compartimentos gêmulas da célula PG e dendrito primário da célula mitral foram reciprocamente conectados através de uma sinapse GABAérgica inibitória na conexão PG-mitral e uma sinapse glutamatérgica excitatória na conexão mitral-PG. A célula mitral também foi conectada à célula granular através de uma sinapse recíproca, na qual o compartimento dendrito secundário da célula mitral recebeu uma sinapse GABAérgica inibitória do compartimento dendrito periférico da célula granular, que por sua vez recebeu uma sinapse glutamatérgica excitatória.

Todas as sinapses foram limiarizadas e graduadas de modo a refletir a comunicação sináptica graduada *in vivo*. O modelo utilizado para ambas sinapses, inibitórias e excitatórias, consiste em um simples modelo proposto por Cleland e Sethupathy (CLELAND; SETHUPATHY, 2006), cujo mecanismo representa uma sinapse graduada.

A sinapse graduada é ativada por uma simples despolarização do potencial de membrana de acordo com

$$C(V_{pre}) = C_{max}(V_{pre} - V_{th}), \quad (3.23)$$

onde $C(V_{pre})$ é uma função linear que representa o grau de ativação da sinapse e V_{pre} é o potencial de membrana no compartimento pré-sináptico. Esta função pode ser considerada análoga à concentração de neurotransmissores na fenda sináptica variando de 0 a C_{max} , a concentração máxima, cujo valor é 1. A variável V_{th} é o limiar do potencial de membrana para o qual a sinapse será ativada.

A variação da concentração de neurotransmissores implica na variação do número de canais abertos na célula pós-sináptica, representado pela condutância g , a qual foi calculada a cada passo de tempo:

$$\frac{dg}{dt} = \frac{(g_{\infty} - g(t))}{\tau_{sin}}, \quad (3.24)$$

onde $g_{\infty} = G_{max}C(V_{pre})$, representa a condutância no tempo $t = \infty$ e τ_{sin} é a constante de decaimento temporal da sinapse. A condutância máxima, G_{max} , é representada por G_{GABA} em sinapses GABAérgicas, de caráter inibitório, e por G_{Glu} em sinapses de glutamato, de caráter excitatório.

Assim a corrente produzida pela ativação da sinapse, I_{sin} , pode ser calculada a cada passo

de tempo através da seguinte equação:

$$I_{sin} = g(t) \cdot (V_{pos} - E_{rev}), \quad (3.25)$$

onde E_{rev} é o potencial de reversão para a corrente sináptica e V_{pos} é o potencial no compartimento pós-sináptico. A tabela 3.5 apresenta o valor dos parâmetros para cada tipo de sinapse.

Tabela 3.5: Parâmetros Sinápticos (CLELAND; SETHUPATHY, 2006)

Sinapse	Tempo de decaimento	Limiar de ativação	Potencial de Reversão
Inibitória	$\tau_{gaba} = 1 \text{ ms}$	$V_{th} = -60 \text{ mV}$	$E_{rev} = -70 \text{ mV}$
Excitatória	$\tau_{glu} = 1 \text{ ms}$	$V_{th} = 0 \text{ mV}$	$E_{rev} = 0 \text{ mV}$

4 *Resultados*

Neste capítulo apresentamos os resultados obtidos através da análise dos modelos descritos na seção anterior. Iniciamos com os modelos individuais e prosseguimos com as interações entre eles.

4.1 *Célula Periglomerular*

As densidades de condutância iônicas foram variadas a fim de verificar o efeito de cada corrente iônica na célula periglomerular (PG). Primeiramente, verificou-se o efeito da corrente ativada por hiperpolarização. A figura 4.1 mostra a resposta eletrofisiológica da célula para uma injeção de corrente despolarizante de 100 pA por 600 ms. A figura mostra valores da resposta da célula para sua densidade de condutância da corrente ativada por hiperpolarização variando entre 10^{-8} a 10^{-4} S/cm². Considerou-se este intervalo devido ao valor padrão do modelo original ser $5 \cdot 10^{-5}$ S/cm². Assim procurou-se uma faixa de valores que incluísse o valor padrão como um valor intermediário. O efeito desta corrente pode ser visualizado com mais detalhes numa ampliação apresentada na figura 4.2.

Note que para valores de densidades de condutância acima de $5 \cdot 10^{-5}$ S/cm², a voltagem inicial da simulação (-65 mV) é suficiente para deslocar o potencial de repouso. Além disso para 10^{-4} S/cm² não há disparo do potencial de ação. Por outro lado, para valores de g_h menores do que $5 \cdot 10^{-5}$ S/cm² há disparo do potencial de ação e quanto menor este valor, menor é o atraso entre o início da aplicação do estímulo e o pico do potencial de ação, como pode ser visto na figura 4.2.

Os efeitos da variação das densidades de condutância das correntes de sódio e potássio de Hodgkin-Huxley são apresentadas nas figuras 4.3 e 4.4, respectivamente. É possível verificar a forte influência da corrente de sódio na formação do potencial de ação, nota-se que, para valores de densidades abaixo de $g_{Na} = 0.032$ S/cm² não há disparo do potencial de ação e que o tempo de disparo é fortemente afetado pela variação das densidades. A corrente de potássio,

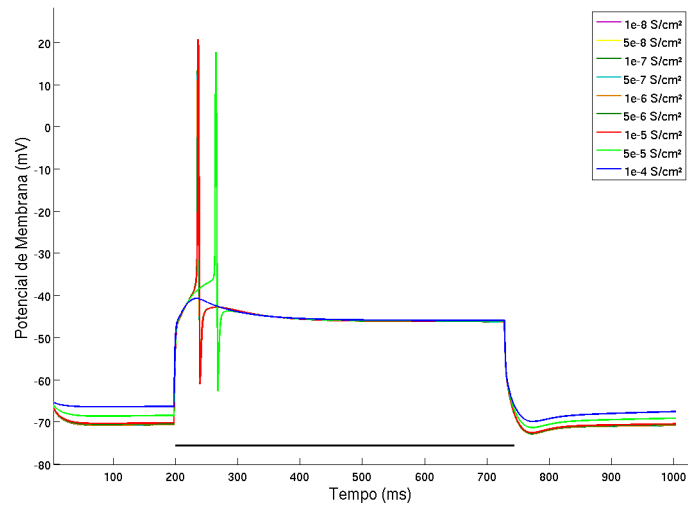


Figura 4.1: Efeito da corrente ativada por hiperpolarização no potencial de membrana do modelo da célula periglomerular para uma injeção de corrente despolarizante de 100 pA, cuja duração é indicada pela barra abaixo da curva, e diferentes valores de densidades de condutância da corrente.

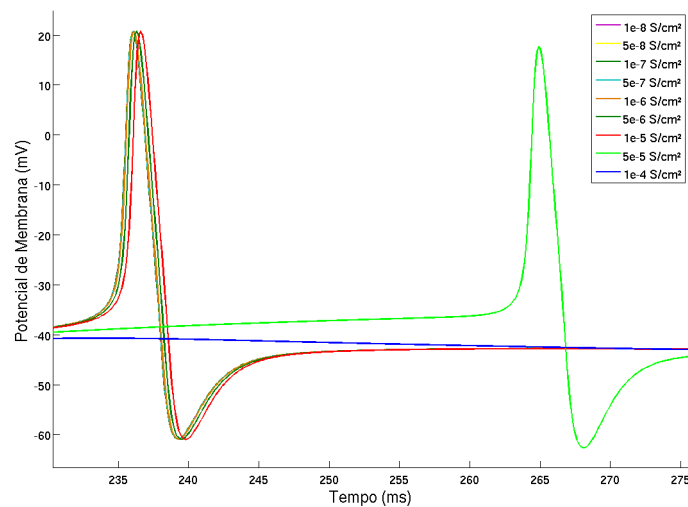


Figura 4.2: Ampliação da resposta do potencial de membrana sob a variação da densidade de condutância da corrente ativada por hiperpolarização para uma injeção de corrente despolarizante de 100 pA por 600 ms.

por outro lado, apresenta um efeito mais marcante após o potencial de ação (figura 4.4), onde o potencial de membrana da célula PG apresenta um decaimento maior à medida que a densidade de condutância aumenta. Nota-se também que para $g_k = 0.026 \text{ S/cm}^2$ a célula não dispara.

O efeito da corrente de potássio inativante tipo-A pode ser analisado na figura 4.5, onde é possível observar que quanto menor a densidade de condutância, menor o atraso para a célula disparar, ou seja, mais rápido a célula dispara o potencial de ação. Para valores acima de 0.014

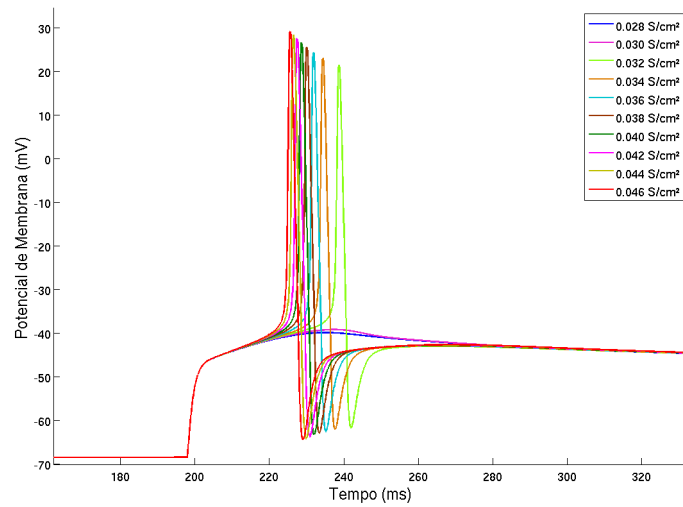


Figura 4.3: Ampliação da resposta do potencial de membrana sob o efeito da corrente de sódio para uma injeção de corrente despolarizante de 100 pA por 600 ms e diferentes valores de densidades de condutância da corrente.

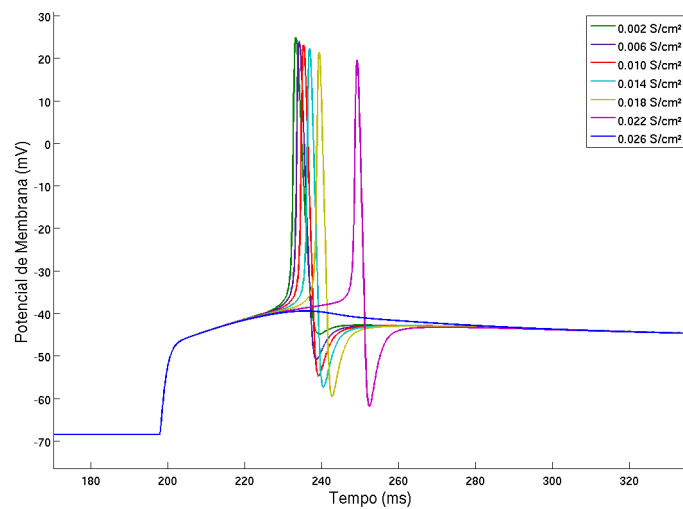


Figura 4.4: Ampliação da resposta do potencial de membrana sob o efeito da corrente de potássio para uma injeção de corrente despolarizante de 100 pA por 600 ms e diferentes valores de densidades de condutância da corrente.

S/cm² não há disparo do potencial de ação.

A densidade de condutância do canal de cálcio tipo-T também foi variada a fim de verificar seu efeito, conforme ilustra a figura 4.6. Esta corrente transiente é responsável pelo potencial de ação de baixo limiar (do termo em inglês *low threshold spike*, LTS) (MCQUISTON; KATZ, 2001). Nota-se que quanto maior sua densidade de condutância, mais rápido a célula dispara um potencial de ação e maior o *rebound*. Para densidades de condutância abaixo de $g_{Ca} = 0.0045$

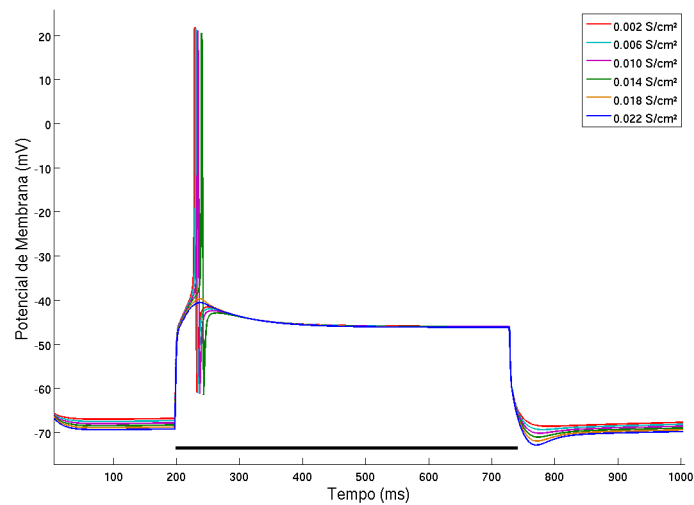


Figura 4.5: Efeito da corrente de Potássio inativante tipo-A no potencial de membrana da célula periglomerular para um injeção de corrente despolarizante de 100 pA, cuja duração é indicada pela barra abaixo da curva, e diferentes valores de densidade de condutância do canal de potássio inativante tipo-A.

S/cm^2 não ocorre disparo do potencial de ação. Por outro lado se g_{Ca} for muito alto, como 0.007 S/cm^2 , a célula não responde de acordo com o comportamento experimental, formando um *rebound* mais elevado e se a densidade exceder 0.007 S/cm^2 o modelo exibe um comportamento diferente, disparando mais do que um potencial de ação como pode ser observado na figura 4.7. Tal comportamento é verificado experimentalmente (MCQUISTON; KATZ, 2001).

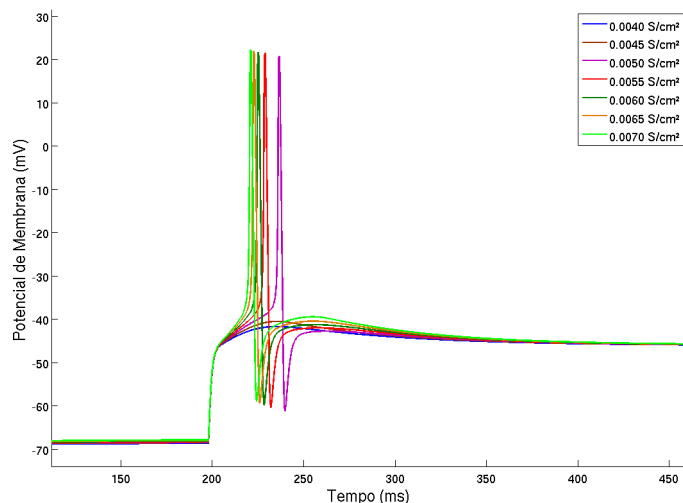


Figura 4.6: Efeito da corrente de cálcio tipo-T no potencial de membrana do modelo da célula periglomerular para uma injeção de corrente despolarizante de 100 pA por 600 ms para diferentes valores de densidades de condutância da corrente.

A auto-sinapse inibitória incorporada ao modelo da célula PG foi analisada através da vari-

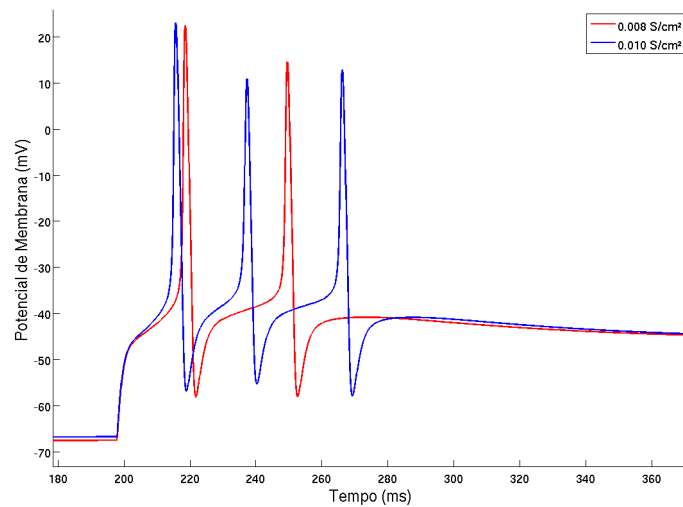


Figura 4.7: Disparos repetitivos do modelo de célula periglomerular para as densidades de condutância de $g_{Ca} = 0.008 \text{ S/cm}^2$ (vermelho) e $g_{Ca} = 0.010 \text{ S/cm}^2$ (azul).

ação de sua condutância máxima, dada em μS (figura 4.8). Valores abaixo de $g_{gaba} = 0.042 \mu\text{S}$ não foram considerados pois a célula poderia apresentar mais de um disparo.

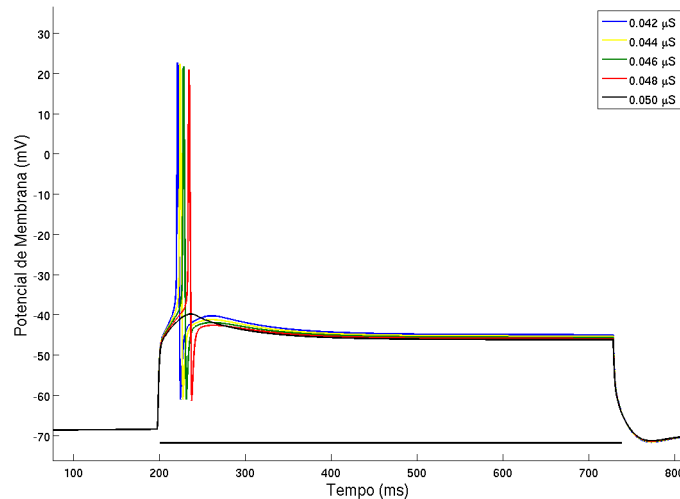


Figura 4.8: Efeito da sinapse inibitória para um injeção de corrente despolariante de 100 pA , cuja duração é indicada pela barra abaixo da curva, e diferentes valores de condutâncias máximas.

A auto-sinapse, além de inibir a propagação do potencial de ação, reflete-se na diminuição do valor do potencial no platô, característica não encontrada no efeito dos canais iônicos estudados. Este efeito reproduz o comportamento experimental da célula periglomerular, que apresenta um potencial de aproximadamente -49 mV no platô. Para as condutâncias sinápticas testadas que não inibiram o disparo do potencial de ação, $g_{Gaba} = 0.048 \mu\text{S}$ foi o que resultou num valor para o potencial no platô (aproximadamente -46 mV) mais próximo do valor experi-

mental. Por isso uma busca mais criteriosa foi feita para encontrar um valor crítico (0.04920001 μS) de condutância sináptica para o qual a célula ainda seja capaz de disparar um potencial de ação, como ilustra a figura 4.9

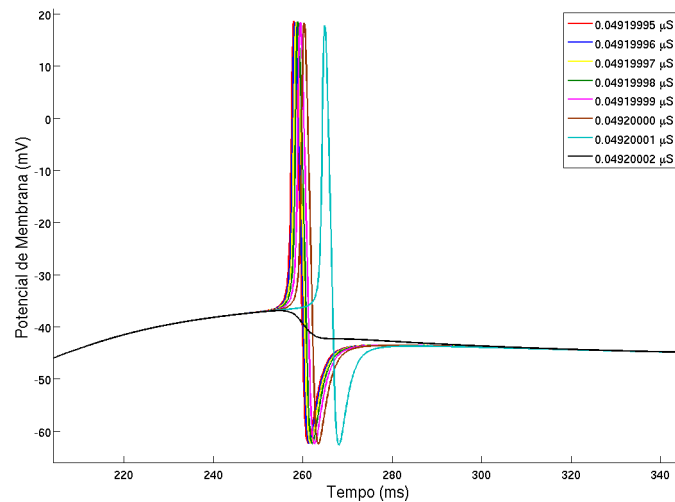


Figura 4.9: Efeito da sinapse inibitória.

Uma vez compreendido como cada corrente iônica influencia na resposta eletrofisiológica da célula, foi feita uma busca por parâmetros, para os quais o modelo apresentasse melhores respostas em relação à amplitude do potencial de ação, tempo de disparo e valor do potencial no platô. Com base nos resultados apresentados acima, verificou-se que os parâmetros que mais influenciavam em tais medidas eram, respectivamente, as densidades de condutância da corrente de sódio e da corrente de cálcio tipo-T e a condutância sináptica.

Quanto ao estudo das densidades de condutância dos canais de sódio e cálcio tipo-T, o modelo foi submetido ao mesmo protocolo e à uma variação de densidades numa região mais restrita de valores, para os quais o efeito da corrente iônica resultasse na resposta desejada. Buscou-se valores que resultassem em amplitudes do potencial de ação próximos da amplitude experimental de 17.1 mV e tempos de disparo próximos do tempo experimental de 264.9 ms. As figuras 4.10 e 4.11 exibem estas respostas para diferentes densidades de condutância dos canais de sódio e cálcio tipo-T, respectivamente. O erro, as diferenças de amplitudes e de tempo de disparo, definidos na seção 3.2, em função dessas densidades estão apresentados nas figura 4.12.

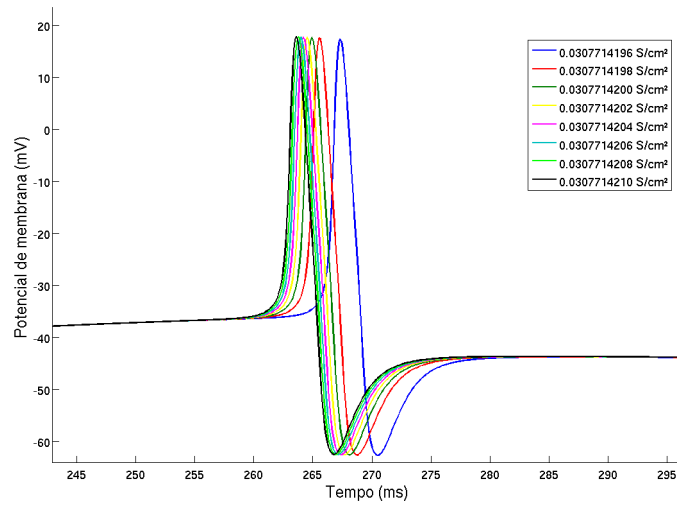


Figura 4.10: Potencial de ação gerado pelas densidades de condutância da corrente de sódio, dadas em S/cm^2 , as quais resultaram em amplitudes e tempos de disparos mais próximos de seus respectivos valores experimentais.

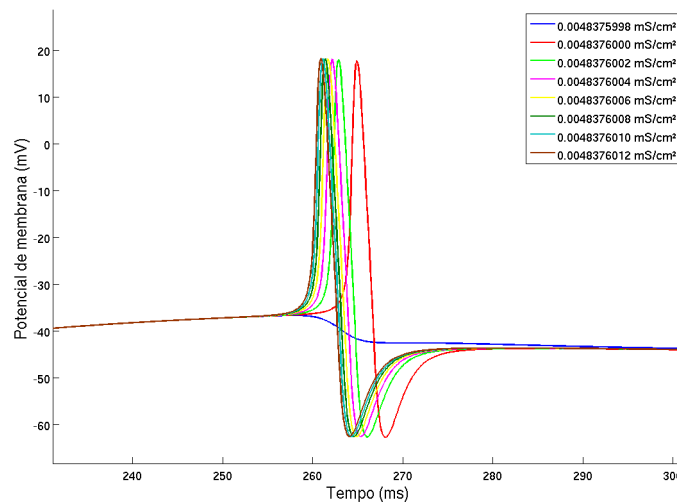


Figura 4.11: Potencial de ação gerado pelas densidades de condutância da corrente de cálcio tipo-T, dadas em S/cm^2 , as quais resultaram em amplitudes e tempos de disparos mais próximos de seus respectivos valores experimentais.

As densidades de condutância do canal de cálcio tipo-T de $0.0048376 S/cm^2$ e do canal de sódio de $0.03077142 S/cm^2$ produziram uma resposta com o menor erro (0.01094), e menor ΔT_d (0.0157 ms), como pode ser visto nas figuras 4.12a, 4.12d, 4.12e e 4.12f. Embora $\Delta V_A = 0.6224$ mV não tenha sido mínimo para $g_{Na} = 0.03077142$ (Figura 4.12e) esta densidade foi julgada como o melhor ajuste para o modelo, pois o erro e o ΔT_d compensam o fato desta diferença de amplitude não ser mínima. A densidade de $g_{Na} = 0.0307714196 S/cm^2$ que produziu uma resposta com menor $\Delta V_A = 0.3239$ mV, porém este valor produz uma resposta com maior erro

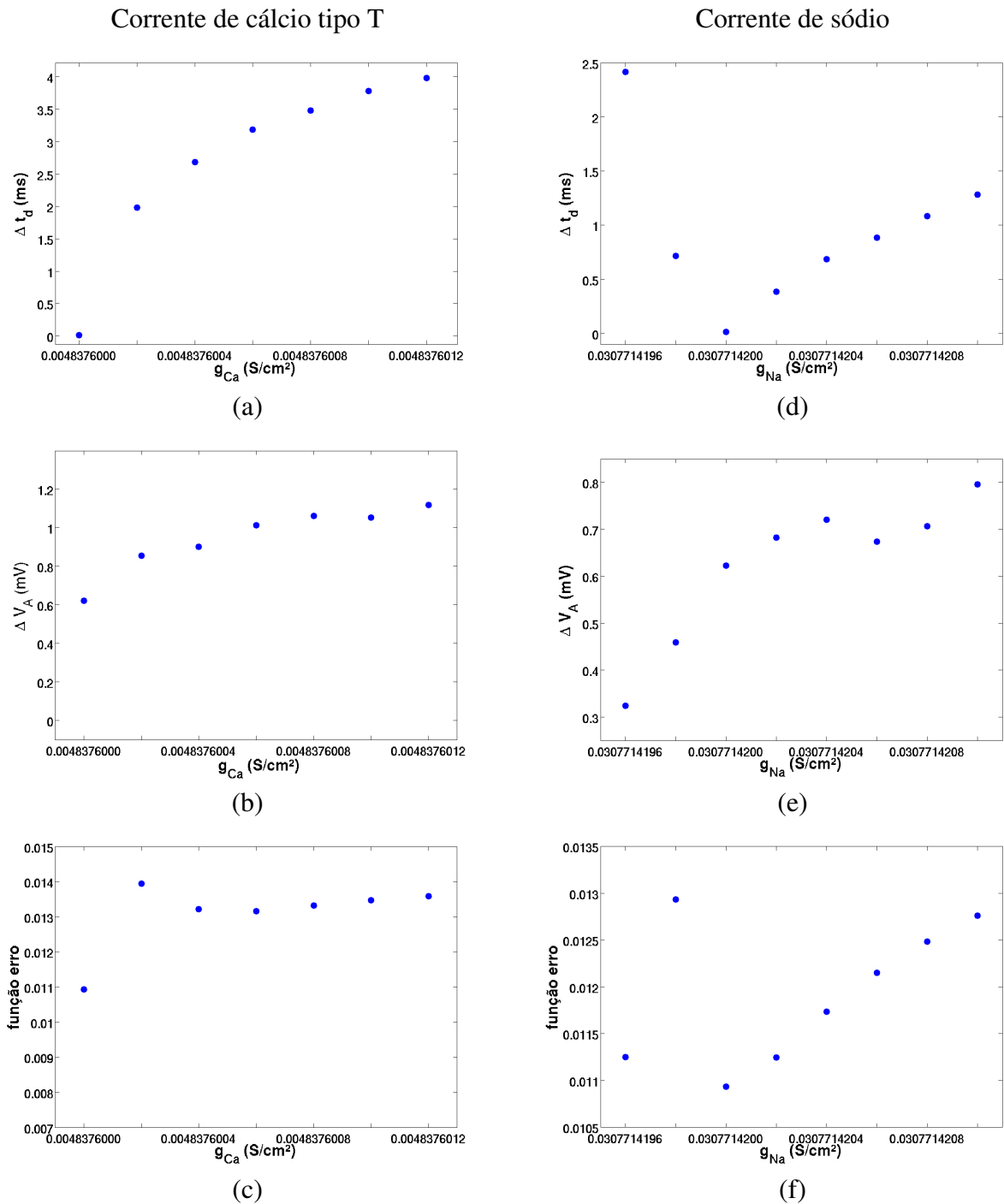


Figura 4.12: Análise das melhores respostas do modelo de célula periglomerular obtidas em função das variações das densidades de condutância, dadas em S/cm^2 , da corrente de cálcio tipo-T (a), (b) e (c) e da corrente de sódio (d), (e) e (f), onde (a) e (d) apresentam a diferença entre o tempo de disparo experimental e do modelo teórico ($\Delta T_d = |T_d(exp) - T_d(mod)|$); (b) e (e) mostram a diferença entre a amplitude do potencial de ação da resposta experimental e do modelo teórico ($\Delta V_A = |V_A(exp) - V_A(mod)|$); (c) e (f) fornecem a medida de erro entre os dados experimentais e dados do modelo.

e maior ΔT_d .

Diante da caracterização dos efeitos das correntes iônicas e suas influências no modelo proposto foi possível identificar a combinação de parâmetros mais adequada, apresentada na tabela 4.1, resultando assim na melhor resposta do modelo de célula periglomerular, ilustrado na figura 4.13. Esta resposta reproduz o comportamento experimental da célula (figura 3.2), que corresponde a um disparo do potencial de ação seguido por um platô do potencial de membrana. As características da célula real e do modelo, consideradas como critério para avaliar a melhor resposta, estão comparadas na tabela 4.2.

Densidades de Condutância	Valor em S/cm^2
g_h	0.00005000
g_k	0.02210000
g_{kA}	0.01540000
g_{Na}	0.03077142
g_{Ca}	0.00483760
Condutância Sináptica	Valor em μS
G_{gaba}	0.04920001

Tabela 4.1: Valores ajustados para o modelo da célula periglomerular

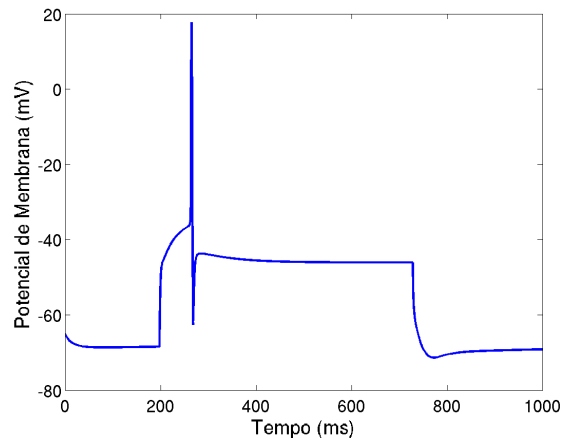


Figura 4.13: Resposta eletrofisiológica do modelo de célula periglomerular para uma corrente despolarizante de 100pA com os parâmetros da tabela 4.1.

Medidas	Modelo	Célula real
Amplitude do spike	17.7271 mV	17.1047 mV
Tempo de disparo	264.9000 ms	264.8843 ms
Potencial no platô	-46.0873 mV	-49.2626 mV

Tabela 4.2: Comparação entre as medidas mais relevantes da resposta de célula periglomerular.

4.2 Célula Mitral

A resposta do modelo da célula mitral isolado é apresentada nas figuras 4.14 e 4.15, as quais exibem a forma dos potenciais de ação e a frequência de diparos, respectivamente.

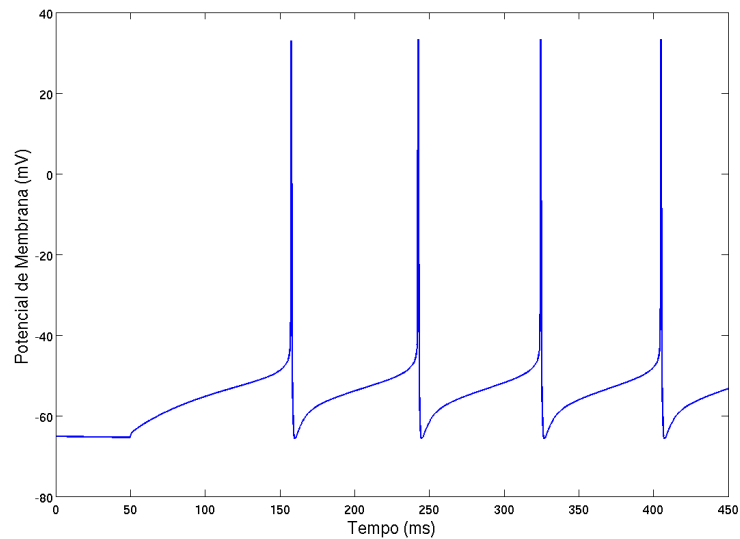


Figura 4.14: Resposta do potencial de membrana do modelo da célula mitral para uma corrente despolarizante de 0.2 nA por 450 ms, reproduzindo o protocolo proposto por Davison (DAVISON, 2001).

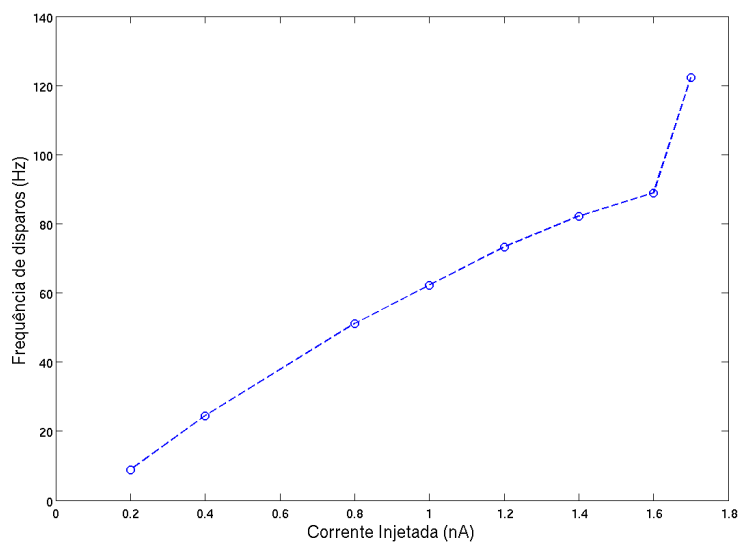


Figura 4.15: Frequência de disparos da célula mitral em função do estímulo de corrente somático, reproduzindo o protocolo proposto por Davison (DAVISON, 2001).

4.3 Célula granular

A resposta da célula granular também foi caracterizada a fim de verificar se o modelo apresentava o comportamento previsto pela literatura antes de ser adicionado ao circuito com as demais células. As figuras 4.16, 4.17 mostram a forma dos potenciais de ação e a frequência de disparos, respectivamente.

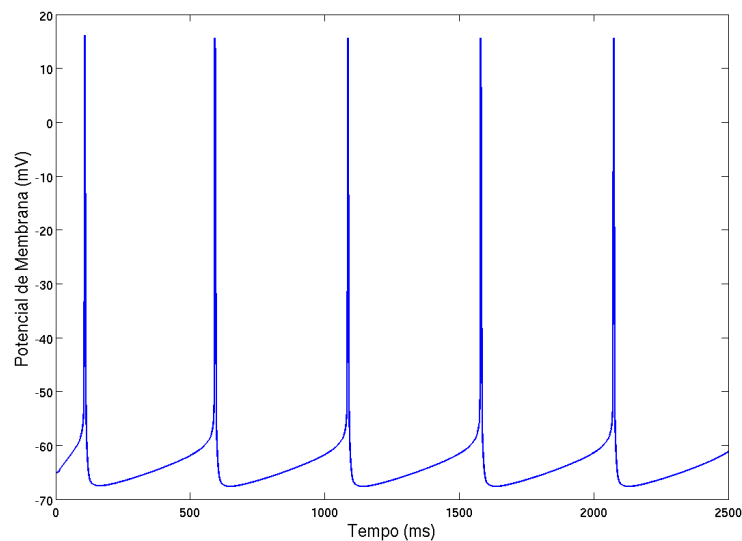


Figura 4.16: Resposta do potencial de membrana do modelo da célula granular para uma corrente despolarizante de 0.01 nA por 2500 ms, reproduzindo o protocolo proposto por Davison (DAVISON, 2001).

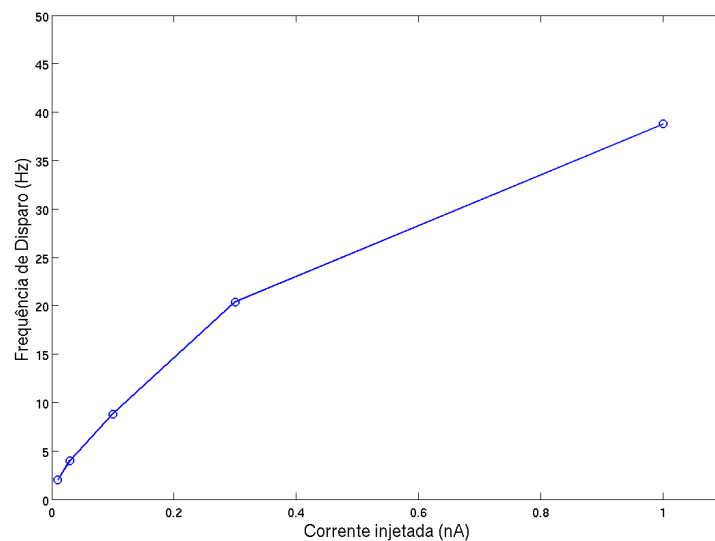


Figura 4.17: Frequência de disparos da célula granular em função do estímulo de corrente somática, reproduzindo o protocolo proposto por Davison (DAVISON, 2001).

4.4 Rede Simplificada

Esta seção apresenta os resultados de uma simples interação entre os modelos apresentados acima.

4.4.1 Efeito da Inibição da PG sobre a Mitral

Como primeira investigação, considerou-se a conexão entre a célula PG e a célula mitral através de uma interação recíproca. A célula mitral recebeu uma sinapse inibitória da célula PG, que por sua vez, recebeu uma sinapse excitatória da célula mitral. Considerando as condutâncias máximas $G = 0.06 \mu S$ para ambas sinapses, a figura 4.18 mostra a resposta do potencial de membrana da célula mitral para pulsos de corrente constantes de 0.18 nA e 0.274 nA injetados nas células PG e mitral, respectivamente, por 600 ms com início em 50 ms. Primeiramente, nota-se o aumento do atraso do disparo do primeiro potencial de ação. O tempo entre os disparos também é aumentado. Na presença da inibição, a célula mitral dispara potenciais de ação com intervalos de tempo maiores, resultando numa redução de acima de 50% da frequência de disparos. O comportamento da frequência em função da variação da condutância máxima está apresentado na figura 4.19, onde é observada uma redução da frequência de disparos, aproximadamente linear, conforme a condutância sináptica máxima aumenta.

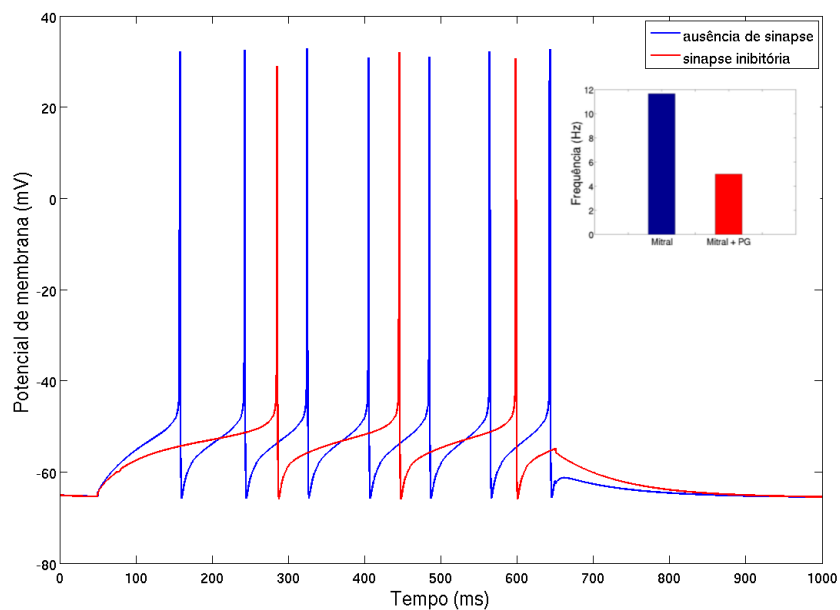


Figura 4.18: Efeito da Inibição da PG no Potencial de membrana da célula mitral. O histograma ao lado apresenta a taxa de disparos na ausência (azul) e na presença (vermelho) da sinapse inibitória.

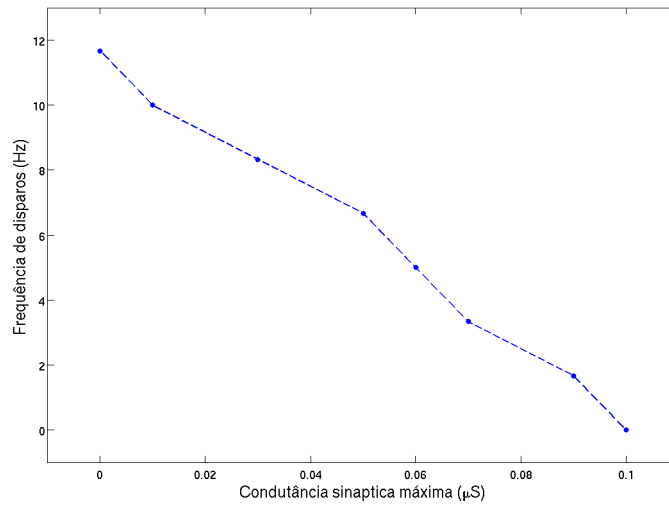


Figura 4.19: Frequência de disparos da célula Mitral em função da condutância sináptica inibitória. As células PG e mitral receberam pulsos de corrente constantes de 0.18 nA e 0.274 nA, respectivamente, por 1000 ms e a condutância máxima.

Posteriormente analisou-se o efeito da inibição variando as amplitudes dos pulsos de corrente injetados nas duas células. A figura 4.20 apresenta um diagrama de frequências de disparos da célula mitral em função da condutância sináptica máxima e da amplitude do estímulo A_{PG} na célula PG. Nota-se que a frequência de disparos é máxima quando a célula PG não recebe pulso de corrente (em $A_{PG} = 0$), mas à medida que a corrente injetada na célula PG vai aumentando a inibição torna-se perceptível. Há uma aparente simetria no comportamento da frequência em relação aos dois parâmetros variados: mantendo-se um fixo e aumentando-se o outro há uma redução na frequência. E aumentando os dois simultaneamente provoca uma redução ainda maior na frequência.

O mesmo procedimento foi feito para a corrente injetada na célula mitral, cuja amplitude A_M foi variada juntamente com a condutância sináptica máxima, conforme ilustra a figura 4.21. Neste caso, os parâmetros causam efeitos inversos: à medida que a amplitude de corrente A_M aumenta, a frequência de disparos aumenta, no entanto os disparos são reduzidos à medida que a condutância sináptica máxima aumenta.

Outra maneira para analisar o efeito da inibição da PG sobre a mitral foi verificar a influência do atraso L_M no tempo de disparo do primeiro potencial de ação da célula mitral, onde $L_M = T_{PG} - T_M$, definido na seção 3.5, representa a diferença entre os instantes de início dos estímulos de corrente na célula mitral (T_M) e na célula PG (T_{PG}). A condutância máxima da sinapse foi mantida a $0.06 \mu S$ e cada célula recebeu a amplitude de corrente padrão por 600 ms. A figura 4.22 mostra a diferença entre os tempos de disparo do primeiro potencial de ação

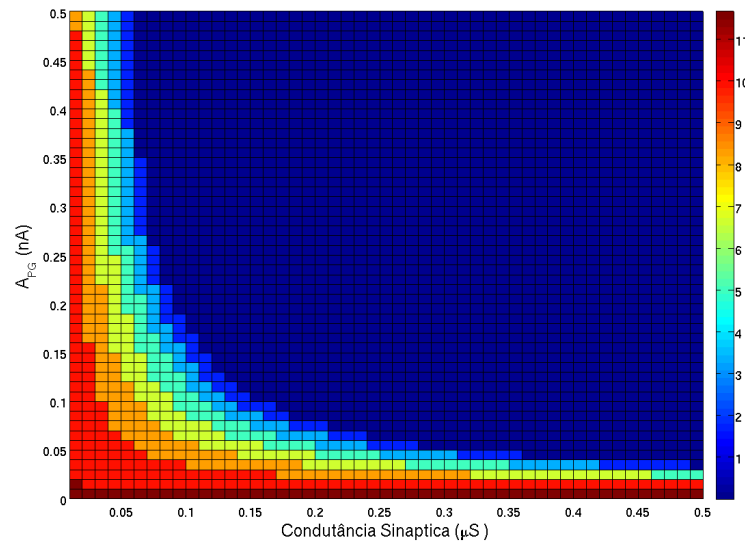


Figura 4.20: Diagrama da amplitude do pulso de corrente injetado na célula PG (A_{PG}) versus condutância sináptica inibitória ($G_{gaba(PG)}$) e as respectivas frequências de disparos (Hz) da célula mitral mostradas no código de cores conforme a barra ao lado

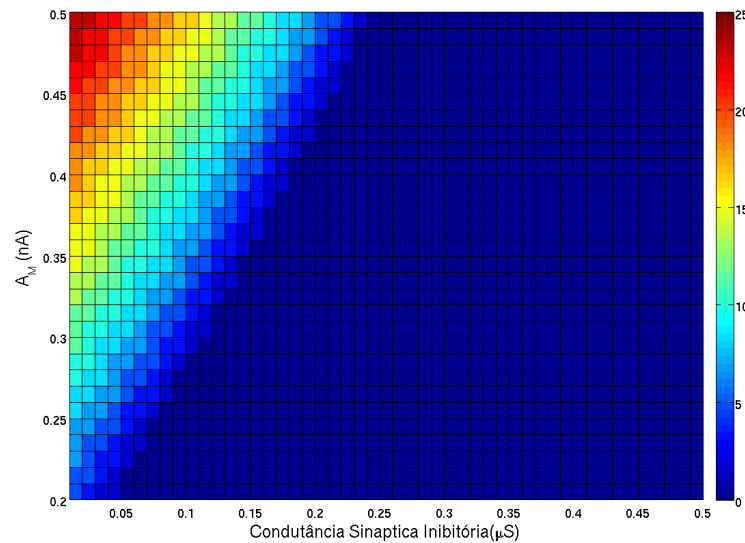


Figura 4.21: Diagrama da amplitude do pulso de corrente injetado na célula Mitral (A_M) versus condutância sináptica inibitória ($G_{gaba(PG)}$) e as respectivas frequências de disparo (Hz) da célula Mitral mostradas no código de cores conforme a barra ao lado

da célula mitral conectada à PG e da célula mitral isolada, representada por ΔT_{PA} , em função do atraso L_M para tempos de injeção de corrente (T_{PG}) na célula PG com uma variação de 60 a 350ms mantendo T_M fixo em 200ms e resultando num atraso de -140 a 150 ms. É possível observar que ΔT_{PA} atinge seu valor máximo em $L_M = 10$ ms e que a partir de $L_M = 50$ ms a diferença ΔT_{PA} rapidamente é reduzida à zero. Isso significa que o atraso L_M deixa de influenciar no

tempo de disparo do primeiro potencial de ação, devido à célula mitral estar disparando antes do início do estímulo na célula PG. Certamente a inibição ainda influenciará no potencial de membrana da célula mitral mas não no seu primeiro potencial de ação. Por outro lado, quando a célula PG recebe o pulso de corrente antes da célula mitral (valores de $L_M < 0$), nota-se altos valores de ΔT_{PA} , variando de aproximadamente 124 a 130 ms, conforme ilustra a figura 4.23. Quando o atraso $L_M = -140$ ms, ou seja, quando a célula PG recebe o pulso de corrente em $T_{PG} = 60$ ms e a célula mitral recebe em $T_M = 200$ ms, a inibição faz com que a célula mitral atrase 124.5 ms em relação à célula isolada e conforme a PG é estimulada num tempo mais próximo à estimulação da mitral, o atraso da célula vai aumentando até 129.0 ms com $L = 0$ e atinge seu máximo, aproximadamente 129.3, em $L = 10$. O máximo não ocorre em $L=0$ pois o disparo do potencial de ação da célula PG não é imediato, isso pode ser visto na figura 4.13.

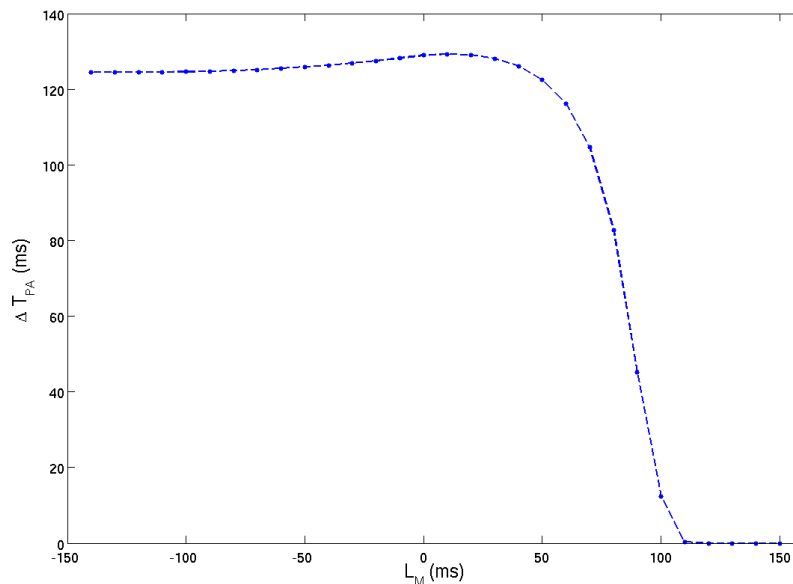


Figura 4.22: Efeito do atraso $L_M = T_{PG} - T_M$ entre os tempos iniciais de estímulos nas células PG e mitral na diferença entre os tempos de disparo do primeiro potencial de ação (ΔT_{PA}) da célula mitral conectada à PG e da célula mitral isolada para o tempo de injeção de corrente na célula PG (T_{PG}) com uma variação de 60 a 350 ms

Para melhor compreender o efeito do atraso na resposta da célula mitral, verificou-se o potencial de membrana desta célula para um dos valores de L_M estudados. Escolheu-se $L_M = -120$, atraso para o qual a célula PG é estimulada em $T_{PG} = 80$ ms, conforme mostra a figura 4.24. Esta figura mostra a hiperpolarização do potencial de membrana da célula mitral no início do estímulo de corrente na célula PG. Nota-se que a hiperpolarização vai aumentando gradativamente e torna-se maior depois de aproximadamente 20 ms, tempo próximo do tempo de disparo da célula PG. Outros valores de L_M , como 10 e 80 também foram analisados (figura

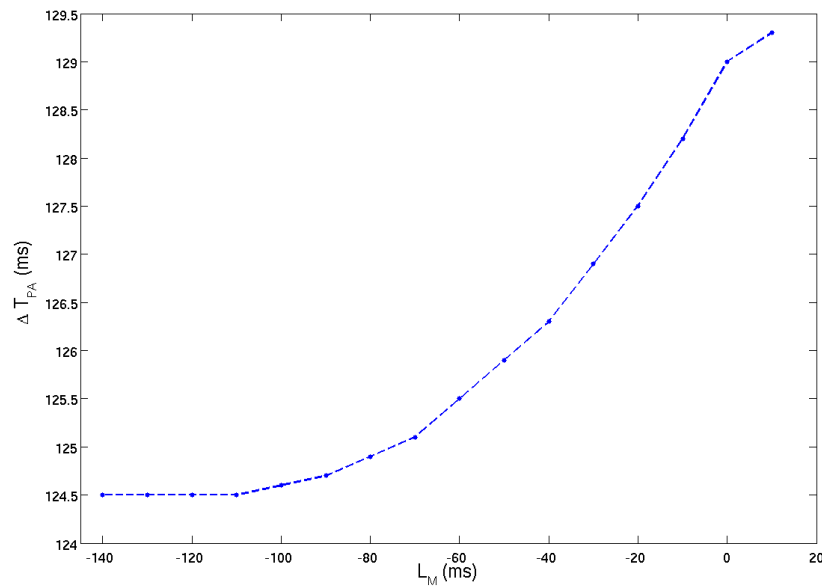


Figura 4.23: Efeito do atraso $L_M = T_{PG} - T_M$ entre os tempos de estímulos nas células PG e mitral na diferença entre os tempos de disparo do primeiro potencial de ação (ΔT_{PA}) da célula mitral conectada à PG e da célula mitral isolada para o tempo de injeção de corrente na célula PG (T_M) com uma variação de 60 a 210 ms

4.25), verificando assim como a diferença entre os tempos iniciais de estímulo entre as duas células pode afetar no tempo de disparo do primeiro potencial de ação da célula mitral.

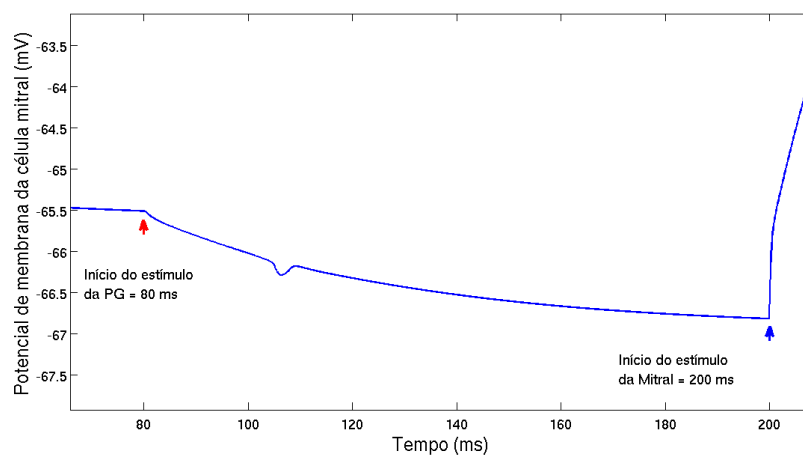


Figura 4.24: Resposta do potencial de membrana da célula mitral em função do tempo para um atraso $L_M = T_{PG} - T_M = -120$ entre os tempos de estímulos nas células PG e mitral. As flechas indicam o início da injeção do pulso de corrente na célula PG em $T_{PG} = 80$ ms (flecha vermelha) e na célula mitral em $T_M = 200$ ms (flecha azul)

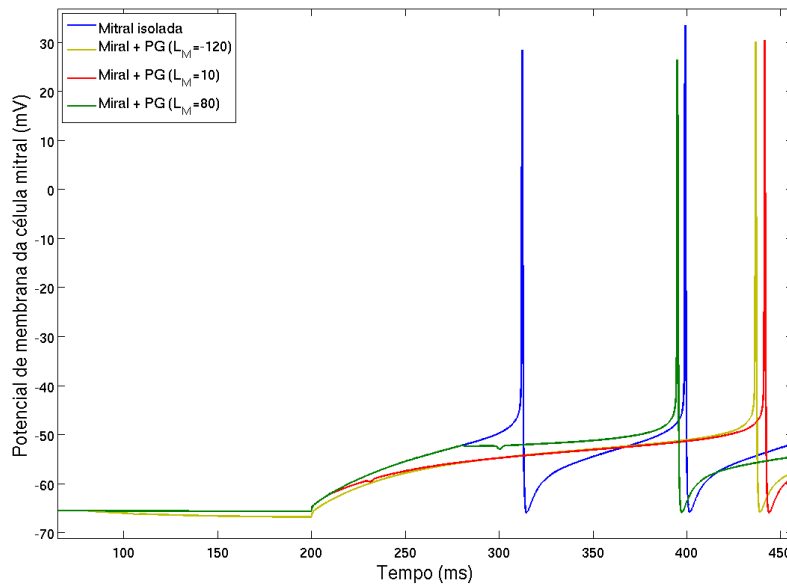


Figura 4.25: Efeito do atraso L_M no potencial de membrana da célula mitral.

4.4.2 Efeito da Inibição das células PG e Granular sobre a célula Mitral

O passo seguinte para a construção da rede simplificada consistiu em adicionar a célula granular através de uma interação recíproca, sendo uma sinapse inibitória da granular para mitral e uma sinapse excitatória da mitral para granular. Considerando as condutâncias máximas $G = 0.06 \mu\text{S}$ para todas as sinapses envolvidas no pequeno circuito formado pelas células PG, mitral e granular, as quais receberam pulsos de correntes contantes, verificou-se o efeito da inibição na reposta da célula mitral. A figura 4.26 mostra o potencial de membrana da célula mitral na ausência e na presença da inibição, a figura apresenta um histograma que compara as frequências de disparo na célula mitral provocadas pela inibição somente da célula PG e pela inibição das duas células, PG e granular. Nota-se que a entrada de mais uma sinapse inibitória reduz a frequência de disparos da célula mitral e aumenta o tempo de disparo do seu primeiro potencial de ação. Este comportamento também pode ser observado em função das entradas sinápticas na célula mitral fornecidas pela célula PG e pela célula granular através da variação de suas condutâncias máximas. A figura 4.27 apresenta a frequência de disparos e a figura 4.28 o tempo de disparo do primeiro potencial de ação em função dessas variações. Na ausência de inibição, a célula mitral dispara o primeiro potencial de ação por volta de 300 ms. Quando as sinapses são adicionadas e suas condutâncias máximas são aumentadas, o atraso para a célula disparar seu primeiro potencial de ação torna-se cada vez maior, conforme ilustra a figura 4.28.

Outro aspecto observado foi a influência do atraso entre os tempos iniciais de estímulo da

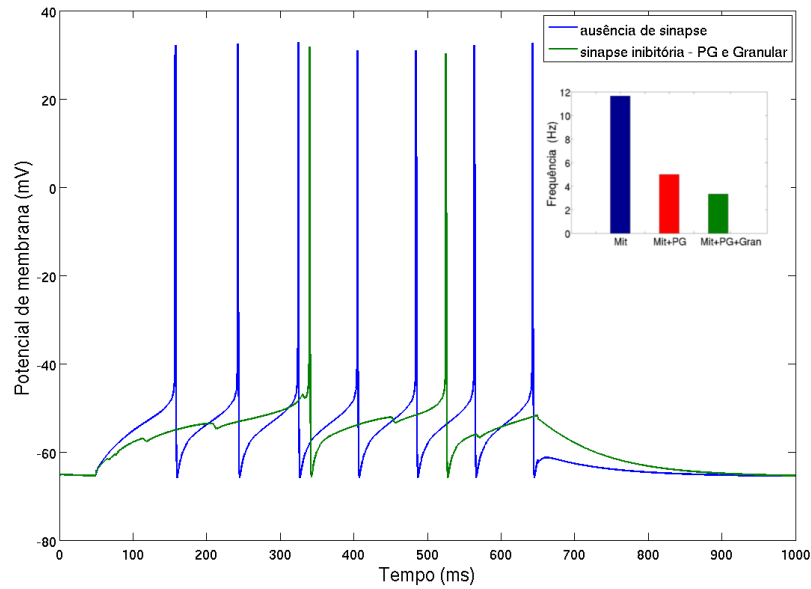


Figura 4.26: Efeito da inibição das células PG e Granular no potencial de membrana da célula mitral. As células PG, mitral e granular receberam pulsos de corrente constantes de 0.18 nA, 0.274 nA e , respectivamente, por 600 ms.

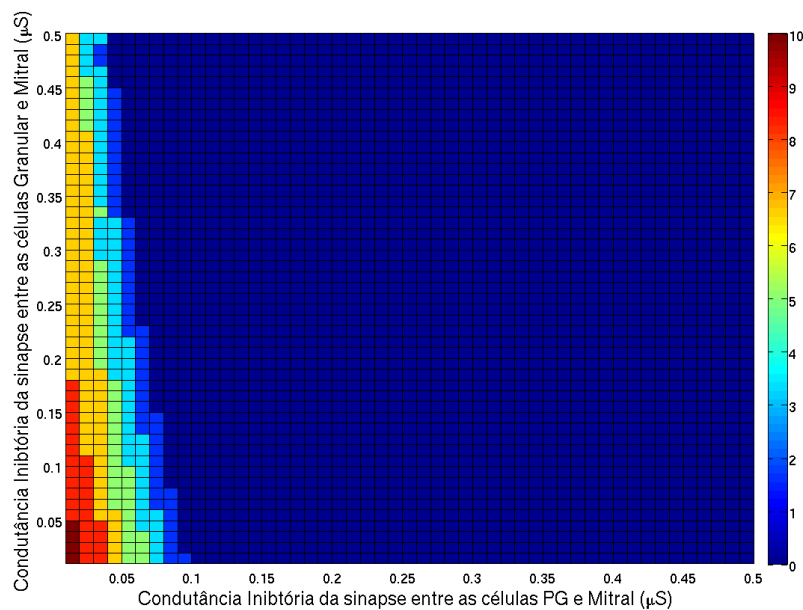


Figura 4.27: Diagrama da condutância inibitória da sinapse entre as células granular e mitral ($G_{gaba(G)}$) versus condutância inibitória da sinapse entre as células PG e mitral ($G_{gaba(PG)}$) e as respectivas frequências de disparo (Hz) da célula mitral mostradas no código de cores conforme a barra ao lado

célula PG (T_{PG}) e da célula granular (T_G), representado por $L_g = T_{PG} - T_G$, na frequência de disparos da célula mitral. A condutância máxima da sinapse inibitória da célula granular foi mantida a $0.06 \mu S$ e a sinapse inibitória da célula PG teve sua condutância máxima variada

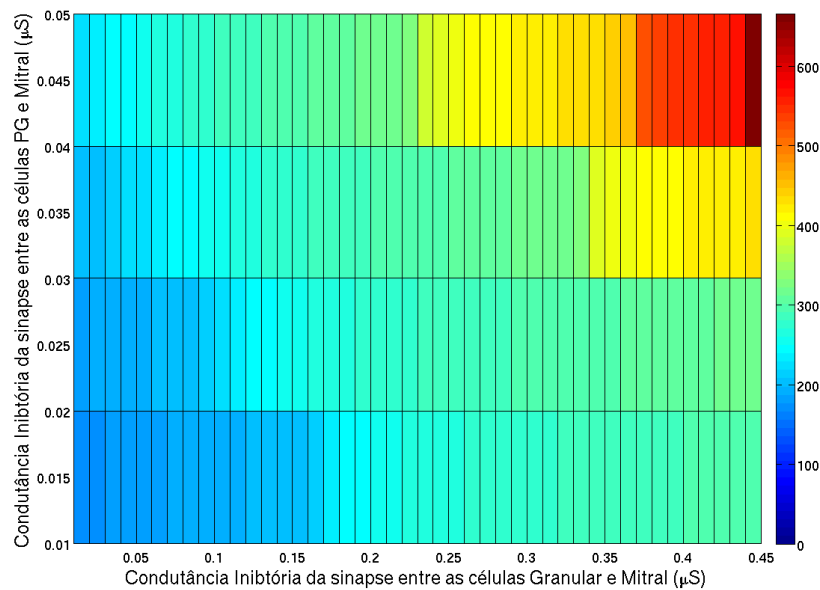


Figura 4.28: Diagrama da condutância inibitória da sinapse entre as células granular e mitral ($G_{gaba(G)}$) versus condutância inibitória da sinapse entre as células PG e mitral ($G_{gaba(PG)}$) e os respectivos tempos de disparo do primeiro potencial de ação (ms) da célula mitral mostrados no código de cores conforme a barra ao lado

em função do atraso L_g , conforme ilustra a figura 4.29. Esta análise considera variações de parâmetros que pertencem a níveis de processamento distintos a fim de verificar como a relação entre eles pode afetar a resposta da célula mitral. A figura 4.29 mostra o efeito desta relação, onde nota-se que o aumento do atraso L_g permite o crescimento da frequência de disparos da célula mitral, enquanto que a condutância sináptica máxima age no sentido inverso, seu aumento provoca a redução da frequência.

Como última análise considerou-se como parâmetros ativos da célula PG poderiam influenciar na resposta da célula mitral. Um interessante efeito foi observado variando a densidade de condutância da corrente de cálcio tipo T da célula PG. A figura 4.30 mostra o efeito desta variação no potencial de membrana da célula mitral. O aumento da condutância da corrente de cálcio aumenta o atraso do disparo do potencial de ação. O tempo de disparo do primeiro potencial de ação é analisado através da figura 4.31, onde nota-se uma dependência aproximadamente linear com a densidade de condutância desta corrente.

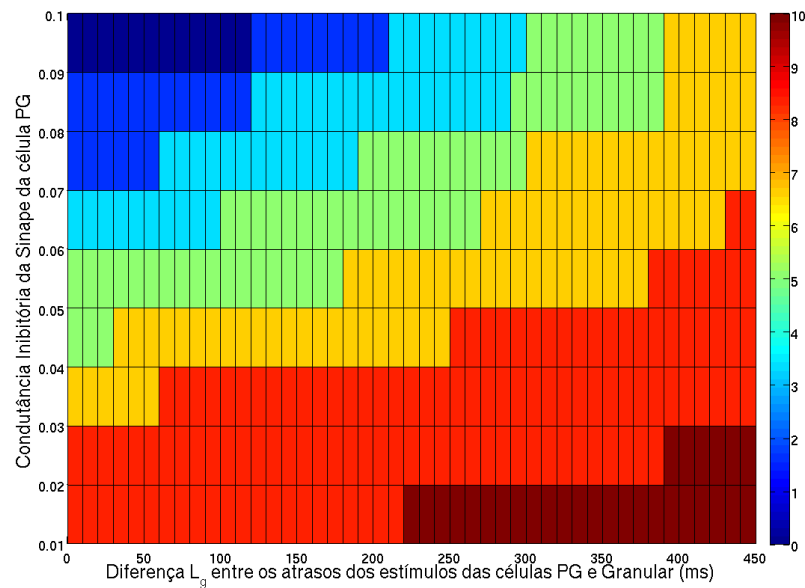


Figura 4.29: Diagrama da condutância inibitória da sinapse entre as células PG e mitral ($G_{gaba(PG)}$) versus a diferença entre os atrasos dos estímulos da célula PG e granular e as respectivas frequências de disparo da célula mitral (Hz) mostradas no código de cores conforme a barra ao lado

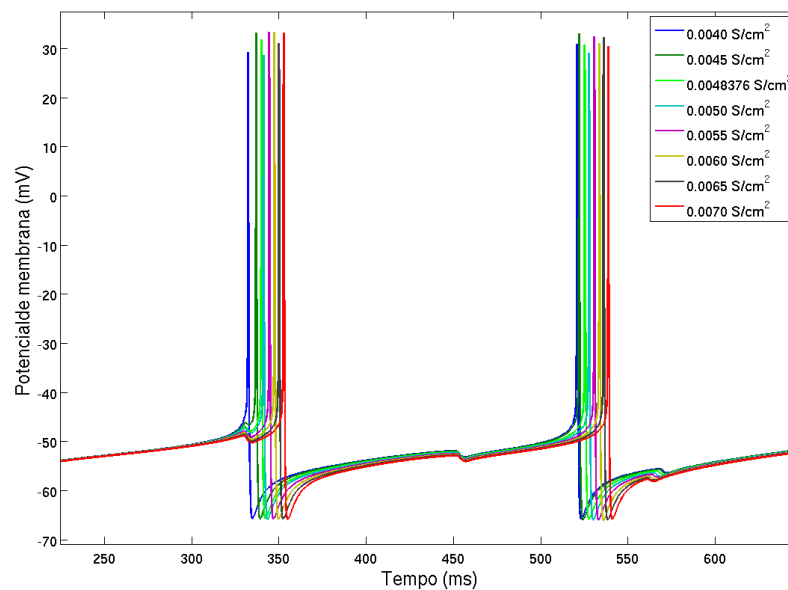


Figura 4.30: Efeito da variação da densidade de condutância da corrente de cálcio da célula PG no potencial de membrana da célula mitral

O efeito da corrente de cálcio na resposta da célula mitral foi investigado em função da sinapse inibitória com a célula PG. A figura 4.32 apresenta um diagrama de frequências de disparos da célula mitral resultante das variações da densidade da corrente de cálcio e da condutância (g_{GABA}) da sinapse com a célula PG. Nota-se que aumento dos parâmetros envolvidos

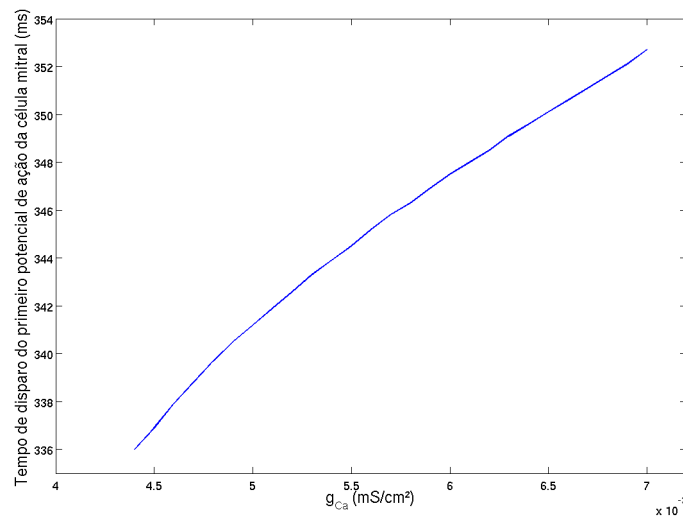


Figura 4.31: Efeito da variação da densidade de condutância da corrente de cálcio da célula PG no tempo do primeiro potencial de ação da célula mitral

provocam uma redução gradual da frequência de disparos.

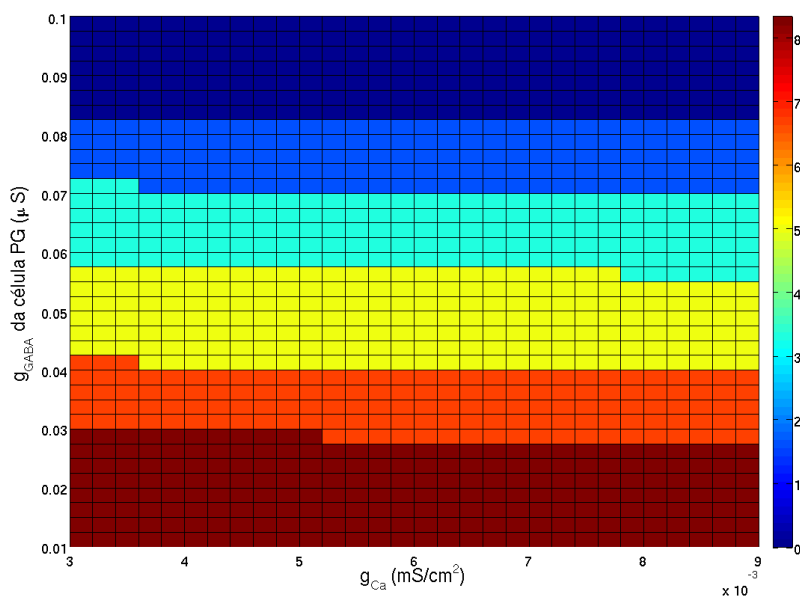


Figura 4.32: Diagrama da condutância inibitória da sinapse entre as células PG e mitral ($G_{gaba(PG)}$) versus densidade de condutância da corrente de cálcio tipo T (g_{Ca}) da célula PG e as respectivas frequências de disparo (Hz) da célula mitral mostrados no código de cores conforme a barra ao lado

Assim finaliza-se os resultados obtidos através dos estudos da rede simplificada construída neste trabalho.

5 *Discussões*

Neste capítulo são discutidos os principais resultados obtidos pelo estudo dos modelos individuais das células periglomerular (PG), mitral e granular e posteriormente da rede simplificada constituída por estas células. Embora o grande número de detalhes biológicos que sustentam tais modelos permita o estudo de diversos mecanismos de processamento de odores do bulbo olfatório, nosso estudo se restringe apenas à compreensão dos modelos individuais e de uma simples interação entre eles para que estudos futuros possam apresentar maior grau de complexidade. Este trabalho, portanto pode ser visto como uma primeira etapa de um trabalho maior que consistirá na modelagem de uma rede maior do bulbo olfatório. Para se chegar ao modelo maior, porém, é necessário primeiro entender o comportamento de seus componentes mais simples e este foi o objetivo do presente trabalho.

5.1 **Célula Periglomerular**

A construção do modelo da célula PG se baseou em dados experimentais morfológicos e eletrofisiológicos fornecidos pela literatura (PINCHING; POWELL, 1971b; PINCHING; POWELL, 1971a; PINCHING; POWELL, 1971c; MCQUISTON; KATZ, 2001; CADETTI; BELLUZZI, 2001). As características e propriedades levadas em conta foram suficientes para produzir uma curva de reposta correspondente ao comportamento eletrofisiológico experimental sob as mesmas condições. Até chegarmos numa reposta satisfatória, foi observado o efeito de cada corrente iônica na curva de resposta através da variação de suas densidades de condutância.

Para todas as correntes adicionadas ao modelo foi feita uma variação buscando sempre encontrar valores limiares que separassem o comportamento em dois regimes: de disparo e de ausência de disparo.

Como podemos acompanhar na seção resultados a corrente ativada por hiperpolarização foi a primeira a ser investigada, cujo efeito pode ser observado nas figuras 4.1 e 4.2. Claramente, podemos verificar que existe um valor limiar de densidade de condutância acima do qual não

ocorre disparo do potencial de ação. Tal fato pode ocorrer devido ao deslocamento do potencial de repouso, observado na figura 4.1, pois isso resulta numa mudança no estado inicial da célula antes da injeção de corrente, mostrando que o modelo é sensível às condições iniciais. Portanto a mudança provocada pela corrente de hiperpolarização no potencial de repouso não permite que o modelo dispare um potencial de ação nas condições estabelecidas (com estímulo de 100 pA). Outro aspecto observado foi a influência deste canal no atraso do potencial de ação, quanto menor seu valor de densidade de condutância, menor o atraso. Assim, foi possível verificar que esta corrente atua na excitabilidade da célula, ou seja, na sua capacidade de responder à um estímulo nervoso.

A corrente transiente de sódio atua na geração do spike. A figura 4.3 mostra como a densidade de condutância influencia na amplitude e no tempo de disparo do potencial de ação. A ausência de potenciais de ação para alguns valores de densidade de condutância pode ser explicada pelo fato de que tais valores não são suficientes para gerar o potencial de ação, ou seja, a corrente injetada não é suficiente para elevar o potencial de membrana para que a densidade de condutância da corrente de sódio, que é dependente desse potencial, provoque o aumento da corrente de sódio e esta por sua vez, supere a corrente de potássio resultando no potencial de ação.

Por outro lado a corrente persistente de potássio, atua na repolarização da célula. Logo após o disparo do potencial de ação, o potencial de membrana cai para aproximadamente -46mV (figura 4.4) e segue este valor num platô durante o período de injeção da corrente de 100 pA. Para se estabelecer no platô, o potencial de membrana apresenta um decaimento maior à medida que a densidade de condutância aumenta, pois quanto maior seu valor, maior é o poder da corrente de conduzir o potencial membrana na direção do potencial de reversão do potássio (E_K). Além disso, para elevados valores de densidades de condutância a célula não dispara, isso ocorre pois a corrente de potássio supera a corrente de sódio, não permitindo assim que ocorra disparo do potencial de ação.

Outra corrente de potássio, a corrente inativante tipo A, com comportamento semelhante, também foi analisada. Esta corrente transiente atua no potencial de repouso, na repolarização da célula e também no atraso do disparo do potencial de ação. Na figura 4.5 é possível observar que à medida que sua densidade de condutância aumenta a célula passa a apresentar um atraso cada vez maior para disparar o potencial de ação até não disparar mais. A corrente, portanto, age no sentido de dificultar o spike.

A corrente de cálcio tipo-T, responsável pelo potencial de ação de baixo limiar tem seu efeito apresentado nas figuras 4.6 e 4.7, onde é possível verificar sua influência no tempo de

disparo e na forma do potencial de ação provocando um aumento no potencial de membrana da célula PG após o potencial de ação, o que chamamos de *rebound*. Este comportamento foi observado para elevadas densidades de condutância e, para valores bem altos acima de 0.008 S/cm^2 , a célula exibiu um comportamento interessante, disparando mais do que um potencial de ação (figura 4.7). Isso pode ser explicado pelo fato de que a corrente de cálcio é ativada por baixos valores de voltagem, assim a voltagem após o término do potencial de ação é suficiente para produzir a corrente de cálcio e gerar outro ou mais potenciais de ação. Estes efeitos mostram que a corrente de cálcio tipo T atua na atividade sublimiar da célula e desempenhando a função de gerar disparos repetitivos.

A auto-sinapse também foi investigada de forma análoga a dos canais iônicos, variando sua condutância máxima. Verificou-se que além de inibir a propagação do potencial de ação na célula, seu efeito refletia no valor do potencial de membrana no platô. Esta característica foi explorada com mais detalhe pois não encontramos uma corrente que produzisse tal efeito na resposta do modelo. Assim, considerou-se uma variação de parâmetros, na qual a auto-sinapse permitia o disparo do potencial de ação, mas ao mesmo tempo reduzia o valor do potencial de membrana no platô (figura 4.9).

As variações das densidades de condutância das correntes iônicas conduziram à identificação dos parâmetros de mais forte influência na resposta da célula PG. Entre eles destacou-se as densidades de condutância da corrente de sódio e da corrente de cálcio tipo-T e a condutância sináptica. O efeito desses parâmetros refletiam em características significativas para a incorporação do modelo da célula PG em rede, como amplitude e tempo de disparo do potencial de ação e valor do potencial no platô. Os valores ajustados produziram uma resposta, na qual há o disparo de um único potencial de ação seguido por um platô, onde a amplitude e o tempo de disparo do potencial de ação e o valor do potencial no platô obtidos são próximos dos respectivos valores experimentais.

O modelo da PG proposto no trabalho é capaz de reproduzir o comportamento experimental e foi construído para incorporação em rede. Assim, a conexão com a célula Mitral e esta, por sua vez, conectada à célula granular foi investigada após a caracterização dos modelos individuais dessas células. Tal caracterização consistiu em reproduzir os protocolos realizados por Davison (DAVISON, 2001) na redução dos modelos das células mitral e granular propostos, inicialmente, por Bhalla e Bower (BHALLA; BOWER, 1993). O objetivo da caracterização é verificar se os modelos adaptados para incorporação em rede mantinham a mesma resposta dos modelos originais. As figuras de 4.14 a 4.17 confirmam a funcionalidade dos modelos.

5.2 Rede simplificada

Nos primeiros estudos com a rede simplificada, investigou-se o efeito da inibição da célula PG na resposta da célula mitral. Notou-se a alteração na resposta do potencial de membrana através da redução do número de disparos e do aumento do atraso do tempo de disparo do primeiro potencial de ação. A sinapse inibitória age gradativamente diminuindo a frequência de disparos da célula mitral à medida que a condutância máxima aumenta. Seu efeito pode inibir totalmente os diparos (para elevados valores de condutância máxima) ou simplesmente reduzir a frequência de disparos.

Foi verificado também o efeito da inibição envolvendo as amplitudes dos pulsos de corrente injetados em cada uma das células, onde o resultado observado mostra como os dois parâmetros podem influenciar a resposta da célula mitral, por um lado a inibição torna-se mais forte quando a amplitude da corrente injetada na PG é aumentada. Por outro lado vê-se que a inibição é superada quando o estímulo é mais forte na célula mitral, ou seja, quando sua amplitude de corrente injetada é aumentada.

As figuras 4.20 e 4.21 fornecem um espaço das possíveis frequências de disparos da célula mitral para uma região de valores de amplitudes de correntes que podem representar, de forma indireta, a quantidade de moléculas ou intensidade de odor que chega ao bulbo olfatório levando em conta que as sinapses podem ser variadas seja por tais quantidades ou por outros mecanismos. O espaço de frequências resultante apresenta diferentes regiões de disparos, sendo que consideramos para os próximos experimentos regiões onde há disparos de potenciais de ação porém de forma controlada, ou seja, com presença de um processo inibitório parcial, o qual age apenas como controlador na célula mitral. É importante ressaltar que o estudo apresentado pela figura 4.21 demonstra como a relação entre os parâmetros de células distintas afeta as células de saída de bulbo sugerindo a existência de um comando que pode ser controlado por ambas as células.

O efeito da inibição também pôde ser verificado através do atraso no tempo de disparo do primeiro potencial de ação da célula mitral em função da diferença entre os instantes de início dos estímulos de corrente na célula mitral e na célula PG. Nota-se que o tempo inicial do estímulo na célula PG regula o tempo de disparo do primeiro potencial de ação através da sinapse inibitória. Este estudo sugere uma outra forma de controlar os diparos da célula mitral.

Quando a interação com a célula granular é adicionada ao circuito formado pelas células PG e mitral, investigou-se como mais uma inibição poderia influenciar na resposta da célula mitral. Os resultados apresentados mostram uma redução ainda maior na frequência de disparos da

célula mitral (figuras 4.26 e 4.27). O tempo de disparo de potenciais de ação é fortemente dependente das condutâncias sinápticas (figura 4.28) e da diferença entre os tempos iniciais de estímulo das células PG e granular.

Os estudos envolvendo parâmetros da célula PG e da célula granular mostram a inibição resultante de um processo inicial representado pela interação com a célula PG, na camada glomerular do bulbo, e de um processo subsequente representado pela interação com a célula granular, numa camada mais profunda. Os resultados obtidos revelam a forte influência das duas interações na resposta das células de saída do bulbo olfatório.

Os estudos realizados mostram a influência da inibição em diferentes níveis, seja na frequência de disparos ou no tempo de disparo do primeiro potencial de ação que foram afetados por parâmetros das entradas inibitórias. Uma análise, no entanto, levou em conta o efeito da variação de uma corrente iônica da célula PG, a corrente de cálcio tipo T. A densidade de condutância desta corrente mostrou que as propriedades ativas podem interferir de forma rápida e eficiente na propagação do potencial de ação, não apenas da célula PG (figura 4.6 e 4.7), mas também da célula mitral (figura 4.30) mesmo que o mecanismo não esteja presente nesta última célula. Isso significa que uma alteração significativa no potencial de membrana da célula PG provocará uma mudança correspondente na resposta da célula mitral. Este e os estudos anteriores mostram como a participação da célula PG pode afetar o processamento da informação via célula mitral.

Em síntese, pode-se verificar que todos os resultados demonstram que a resposta da célula mitral é fortemente dependente das entradas sinápticas inibitórias e ilustram como as interações podem regular a frequência e o tempo de disparo da célula mitral. Tais resultados são importantes no contexto de estudos experimentais e teóricos indicando que interações entre a célula mitral e interneurônios podem regular a sincronização de potenciais de ação entre populações de células mitrais.

A célula PG, em particular, pode influenciar na frequência, no tempo de disparo e gerar atrasos na propagação do potencial da célula mitral. Apesar do presente estudo se restringir a uma pequena rede simplificada ele é suficiente para mostrar que a célula PG desempenha um mecanismo de controle atuando nas camadas iniciais do processamento de odor do bulbo olfatório.

De fato o estudo desta pequena rede demonstrou-se efetivo pois foi possível verificar a relevância da célula PG na camada interglomerular, como o interneurônio atua de maneira significativa no processamento de informação para camadas superiores do bulbo confirmando hipóteses de que a célula PG pode exibir um importante papel nas camadas iniciais do bulbo,

possivelmente agindo como um mecanismo de controle para estabelecer o fenômeno de sincronia que é observado durante a transmissão do cheiro (DAVID; LINSTER; CLELAND, 2008).

6 *Conclusões*

O estudo realizado para a construção do modelo compartimental baseado em condutância da célula periglomerular (PG) conduz a uma combinação ótima de parâmetros, a qual gerou uma resposta que reproduziu com qualidade seu comportamento eletrofisiológico experimental. Apesar de haver poucas informações disponíveis sobre atividade intracelular deste neurônio, este trabalho preocupou-se em relatar e utilizar tais informações com o objetivo de obter uma resposta teórica capaz de reproduzir as características essenciais para a incorporação do modelo da célula PG em uma rede, exatamente como acontece in vivo.

Os resultados obtidos da análise da rede simplificada demonstram que a resposta da célula mitral é fortemente dependente das entradas sinápticas inibitórias e ilustram como a intensidade da conexão sináptica pode regular o padrão de disparos desta célula. A interação com a célula PG, em particular, é investigada com mais detalhes. Seu papel é controlar a frequência, o tempo de disparo e gerar atrasos na propagação do potencial da célula mitral, atuando como um mecanismo de controle nas camadas iniciais do processamento de odor do bulbo olfatório.

Enfim, os resultados enfatizam a importância de estudos à nível de circuito local para adquirir uma compreensão interdependente de um pequeno sistema para depois entender um processo como um todo. Portanto pode-se dizer que uma consequência do efeito da interação entre as células PG e mitral pode contribuir para o fenômeno da sincronização dentro de um conjunto de células mitrais observado no bulbo olfatório.

Com isso, verifica-se, claramente a necessidade de incorporar a célula PG em modelos de bulbo olfatório em estudos sobre os mais diversos mecanismos para compreender o processamento de odor.

Referências Bibliográficas

- ACHARD, P.; SCHUTTER, E. D. Complex parameter landscape for a complex neuron model. *PLoS Computational Biology*, v. 2, n. 7, p. e94, 2006.
- BAKALYAR, H. A.; REED, R. R. Identification of a specialized adenylyl cyclase that may mediate odorant detection. *Science*, v. 250, p. 1403–1406, 1990.
- BARDONI, P. C. M. R.; BELLUZZI, O. Excitatory synapses in the glomerular triad of frog olfactory bulb in vitro. *Neuroreport*, v. 7, n. 11, p. 1851–1855, 1996.
- BARDONI, R.; MAGHERINI, P. C.; BELLUZZI, O. Sodium current in periglomerular cells of frog olfactory bulb in vitro. *Brain Research*, v. 703, p. 19–25, 1995.
- BARDONI, R.; MAGHERINI, P. C.; BELLUZZI, O. Potassium currents in periglomerular cells of frog olfactory bulb in vitro. *Neuroscience Letters*, v. 210, p. 95–98, 1996.
- BHALLA, U. S.; BOWER, J. M. Exploring parameter space in detailed single neuron models: Simulations of the mitral and granule cells of the olfactory bulb. *Journal of Neurophysiology*, v. 69, n. 6, p. 1948–1965, 1993.
- BUCK, L.; AXEL, R. A novel multigene family may encode odorant receptors: A molecular basis for odor recognition. *Cell*, v. 65, n. 5, p. 175–187, 1991.
- CADETTI, L.; BELLUZZI, O. Hyperpolarisation-activated current in glomerular cells of the rat olfactory bulb. *NeuroReport*, v. 12, n. 14, p. 3117–3120, 2001.
- CLELAND, A.; SETHUPATHY, P. Non-topographical enhancement in the olfactory bulb. *BMC Neuroscience*, v. 7, n. 7, 2006.
- DAVID, F.; LINSTER, C.; CLELAND, T. A. Lateral dendritic shunt inhibition can regularize mitral cell spike patterning. *Journal of Computational Neuroscience*, v. 25, n. 1, p. 25–38, 2008.
- DAVISON, A. P. *Mathematical modelling of information processing in the olfactory bulb*. Tese (Doutorado) — University of Cambridge, 2001.
- DAVISON, A. P.; FENG, J.; BROWN, D. A reduced compartmental model of the mitral cell for use in network models of the olfactory bulb. *Brain Research Bulletin*, v. 51, n. 5, p. 393–399, 2000.
- DAVISON, A. P.; FENG, J.; BROWN, D. Dendrodendritic inhibition and simulated odor responses in a detailed olfactory bulb network model. *Journal of Neurophysiology*, v. 90, p. 1921–1935, 2003.
- DAYAN, P.; ABBOTT, L. F. *Theoretical Neuroscience: Computational and Mathematical Modeling of Neural Systems*. 1. ed. [S.l.]: MIT Press, 2002.

- DESTEXHE, A. et al. In vivo, in vitro, and computational analysis of dendritic calcium currents in thalamic reticular neurons. *The Journal of Neuroscience*, v. 16, n. 1, p. 169–185, 1996.
- DESTEXHE, A. et al. Dendritic low-threshold calcium currents in thalamic relay cells. *The Journal of Neuroscience*, v. 18, n. 10, p. 3574–3588, 1998.
- FRIEDRICH, R. W.; KORSCHING, S. I. Combinatorial and chemotopic odorant coding in the zebrafish olfactory bulb visualized by optical imaging. *Neuron*, v. 18, p. 737–752, 1997.
- HABERLY, L. B. Parallel-distributed processing in olfactory cortex: new insights from morphological and physiological analysis of neuronal circuitry. *Chemical Senses*, v. 26, p. 551–576, 2001.
- HINES, M. L.; CARNAVALE, N. T. The neuron simulation environment. *Neural Computation*, v. 9, n. 6, p. 1179–1209, 1997.
- HINES, M. L.; CARNAVALE, N. T. Expanding neuron's repertoire of mechanisms with nmodl. *Neural Computation*, v. 12, n. 5, p. 995–1007, 2000.
- HINES, M. L. et al. Modeldb: A database to support computational neuroscience. *Journal of Computational Neuroscience*, v. 17, p. 7–11, 2004.
- IZHIKEVICH, E. M. *Dynamical Systems in Neuroscience: The Geometry of Excitability and Bursting*. [S.l.]: MIT Press, 2005.
- JONES, D. T.; REED, R. R. Golf: an olfactory neuron specific g-protein involved in odorant signal transduction. *Science*, v. 244, p. 790–795, 1989.
- KALUZA, J. F.; BREER, H. Responsiveness of olfactory neurons to distinct aliphatic aldehydes. *Journal of Experimental Biology*, v. 203, n. 5, p. 927–933, 2000.
- KAY, L. M.; STOPFER, M. Information processing in the olfactory systems of insects and vertebrates. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, v. 17, p. 433–442, 2006.
- KLEENE, S. J. Origin of the chloride current in olfactory transduction. *Neuron*, v. 11, p. 123–132, 1993.
- KOCH, C. *Biophysics of Computation*. 1. ed. [S.l.]: Oxford University Press, 1999.
- KOCH, C.; SEGEV, I. *Methods in Neuronal Modeling*. 2. ed. [S.l.]: MIT Press, 1998.
- KOSAKA, K.; KOSAKA, T. Synaptic organization of the glomerulus in the main olfactory bulb: compartments of the glomerulus and heterogeneity of the periglomerular cells. *Anatomical Science International*, v. 80, n. 2, p. 80–90, 2005.
- LAURENT, G. et al. Odor encoding as an active, dynamical process: experiments, computation, and theory. *Annual Review of Neuroscience*, v. 24, p. 263–297, 2001.
- MAHER, B. J.; WESTBROOK, G. L. Co-transmission of dopamine and gaba in periglomerular cells. *Journal of Neurophysiology*, v. 99, p. 1559–1564, 2008.
- MALNIC J. HIRONO, T. S. B.; BUCK, L. B. Combinatorial receptor codes for odors. *Cell*, v. 96, n. 5, p. 713–723, 1999.

- MCQUISTON, A. R.; KATZ, L. C. Electrophysiology of interneurons in the glomerular layer of the olfactory bulb. *Journal of Neurophysiology*, v. 86, n. 4, p. 1899–1907, 2001.
- MIGLIORE, M. et al. Computer simulations of morphologically reconstructed ca3 hippocampal neurons. *Journal of Neurophysiology*, v. 73, n. 3, p. 1157–1168, 1995.
- MIGLIORE, M.; HINES, M. L.; SHEPHERD, G. M. The role of distal dendritic gap junctions in synchronization of mitral cell axonal output. *Journal of Computational Neuroscience*, v. 18, p. 151–161, 2005.
- MOMBAERTS, P. et al. Visualizing an olfactory sensory map. *Cell*, v. 87, p. 675–686, 1996.
- MORI, H. N. K.; YOSHIHARA, Y. The olfactory bulb: coding and processing of odor molecule information. *Science*, v. 286, n. 5440, p. 711–715, 1999.
- NAKAMURA, T.; GOLD, G. H. A cyclic nucleotide-gated conductance in olfactory receptor cilia. *Nature*, v. 325, p. 442–444, 1987.
- PINCHING, A. J.; POWELL, T. P. The neuron types of the glomerular layer of the olfactory bulb. *Journal of Cell Science*, v. 9, n. 2, p. 305–345, 1971a.
- PINCHING, A. J.; POWELL, T. P. The neuropil of the glomeruli of the olfactory bulb. *Journal of Cell Science*, v. 9, n. 2, p. 347–377, 1971b.
- PINCHING, A. J.; POWELL, T. P. The neuropil of the periglomerular region of the olfactory bulb. *Journal of Cell Science*, v. 9, n. 2, p. 379–409, 1971c.
- RUBIN, D. B.; CLELAND, T. A. Dynamical mechanisms of odor processing in olfactory bulb mitral cells. *Journal of Neurophysiology*, v. 96, p. 555–568, 2006.
- RUBIN, D. B.; KATZ, L. C. Optical imaging of odorant representations in the mammalian olfactory bulb. *Neuron*, v. 23, p. 499–511, 1999.
- SCHOPPA, N. E.; URBAN, N. N. Dendritic processing within olfactory bulb circuits. *Trends in Neurosciences*, v. 26, p. 501–506, 2003.
- SHEPHERD, G. M. *The Synaptic Organization of the Brain*. 5. ed. [S.l.]: Oxford, 2004.
- SMITH, T. C.; JAHR, C. E. Self-inhibition of olfactory bulb neurons. *Nature Neuroscience*, v. 5, p. 760–766, 2002.
- SOUZA, F. M. S. de; ROQUE, A. C. A biophysical model of vertebrate olfactory epithelium and bulb exhibiting gap junction dependent odor-evoked spatiotemporal patterns of activity. *BioSystems*, v. 73, p. 25–43, 2004.
- SPORS, H.; GRINVALD, A. Spatio-temporal dynamics of odor representations in the mammalian olfactory bulb. *Neuron*, v. 34, p. 301–315, 2002.
- STOPFER, M.; JAYARAMAN, V.; LAURENT, G. Intensity versus identity coding in an olfactory system. *Neuron*, v. 39, p. 991–1004, 2003.
- TUMMERS, B. *DataThief III*. abril 2008. <http://www.datathief.org>.

UCHIDA, N. et al. Odor maps in the mammalian olfactory bulb: domain organization and odorant structural features. *Nature Neuroscience*, v. 3, p. 1035–1043, 2000.

XU, F.; GREER, C. A.; SHEPHERD, G. M. Odor maps in the olfactory bulb. *Journal of Comparative Neurology*, v. 422, p. 489–495, 2000.