

MODELAGEM COMPUTACIONAL DO CRESCIMENTO DE REDES NEURONAIS UTILIZANDO O MODELO DE VAN PELT

L. A. Oliveira*, A. N. Silva*, R. Havela**, M. L. Linne**, J. B. Destro-Filho*

* Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Brasil

** Tampere University of Technology, Tampere, Finlândia

email: livia.alvesoliveira@hotmail.com

Resumo: O crescimento de neurônios, bem como a formação de redes neuronais é um processo bastante complexo e dinâmico. A neurociência computacional, apoiando-se na modelagem e simulação, auxilia na investigação dos mecanismos que coordenam esses processos já que ela une tanto conhecimentos teóricos quanto experimentais. Este trabalho se baseia no uso de modelagem computacional para investigar o estudo do crescimento de uma rede neuronal. O objetivo consiste em modificar um modelo consolidado da literatura de modo que ele apresente um comportamento mais próximo da realidade observada em células cultivadas *in vitro*. Por meio das simulações realizadas, foi possível observar que os resultados obtidos foram interessantes e ajudaram a entender as dinâmicas dos modelos. No entanto, apenas uma delas apresentou o resultado desejado, sugerindo que um estudo mais aprofundado de todos os parâmetros é necessário para se atingir resultados melhores.

Palavras-chave: Neurociência computacional, modelos de crescimento de redes neuronais, morfologia.

Abstract: *Neuronal and network growth can be understood as a complex and dynamic process. Computational neuroscience, by using modeling and simulation, might be a valuable tool into understanding the mechanisms underlying this process since it puts together both theoretical and experimental knowledge. This work is based on the use of computational modeling to study neuronal network growth. The objective is to modify a consolidated model in order to make it present a behavior similar to the one that is observed in vitro. The simulations presented interesting results, providing a better understanding of the dynamics that the model presented. However, only one of them generated the expected results, suggesting that further and detailed studies of all the parameters are necessary in order to achieve better results.*

Keywords: *Computational neuroscience, neuronal network growth models, morphology.*

Introdução

A neurociência computacional tem por objetivo propor modelos matemáticos que permitam simular diferentes estruturas do sistema nervoso com o propósito de auxiliar o entendimento dos diversos mecanismos que regem o seu funcionamento [1]. É uma

área em constante evolução e que ganhou força devido ao aumento no poder de processamento dos computadores atuais e da grande quantidade de dados experimentais. Um projeto ambicioso nesta linha é o *Blue Brain Project* dirigido pelo professor Henry Markram. Este projeto visa criar um modelo virtual completo do cérebro humano, exemplificando um dos objetivos que a comunidade científica espera ser capaz de alcançar no futuro [2, 3].

Os modelos desenvolvidos podem ter uma abordagem mais voltada à biofísica, desejando-se entender os processos celulares que permeiam a comunicação dos neurônios entre si e as diferentes dinâmicas fisiológicas que podem emergir dessas conexões [4]. Outro foco está na modelagem da estrutura morfológica dos neurônios e de redes neuronais que podem ser reconstruídos baseados em dados experimentais [5]. Para ambos, existem diferentes simuladores que auxiliam no desenvolvimento de modelos, bem como na realização de experimentos *in silico* e suas análises, sendo que permitem até mesmo a construção rápida e sistemática de modelos neurais em larga escala. Neste contexto, existem os modelos de crescimento que visam investigar os processos envolvidos no alongamento neurítico e ramificação, através dos vários estágios de desenvolvimento intermediários até que formem uma rede madura [5, 6]. Desta forma, esta modelagem é uma abordagem adequada para estudar os princípios da formação de redes neuronais [6].

No contexto apresentado, o objetivo deste trabalho consiste em alterar os valores de diferentes parâmetros de um modelo computacional baseado no trabalho de van Pelt [7, 8], adaptado para o trabalho de Havela [9], visando obter um comportamento mais próximo ao observado experimentalmente em relação ao crescimento axonal de redes neuronais *in vitro*.

Materiais e métodos

Existem dois simuladores conhecidos que tem como objetivo reproduzir as alterações morfológicas e estruturais de redes neuronais durante crescimento que são o NETMORPH e CX3D [10, 11]. Ambos são capazes de reproduzir características morfológicas dos neurônios ao longo de todo o processo de crescimento e não apenas em sua fase final e podem reproduzi-lo em duas e três dimensões. Para este trabalho foi utilizado o

CX3D.

O modelo base foi desenvolvido por van Pelt utilizando o NETMORPH e foi validado para várias células, sendo capaz de descrever, com precisão, a variedade topológica e a métrica dendrítica. Posteriormente, esse modelo foi adaptado por Havela utilizando o CX3D e representa o crescimento de uma rede de 100 neurônios *in vitro* ao longo de 21 dias.

Este trabalho consistiu na variação de dois parâmetros para verificar o comportamento do modelo em resposta a diferentes alterações, visando aproximá-lo de dados experimentais existentes na literatura. O que foi percebido na tese de Havela é que o crescimento axonal teve um pico inicialmente, se estabilizando rapidamente, o que não condiz com a realidade de culturas *in vitro*.

O crescimento dos axônios está diretamente relacionado à probabilidade de ramificação e ao alongamento dos segmentos terminais. A primeira é descrita pela Equação 1 e está relacionada a probabilidade de ocorrer eventos de ramificação em segmentos terminais da célula neuronal com o decorrer do tempo.

$$p_{ij} = n_i^{-E} B_{inf} e^{-\frac{t_i}{\tau}} (e^{\frac{\Delta t}{\tau}} - 1) 2^{-S\gamma_j} / C_{n_i} \quad (1)$$

Onde, j expressa o segmento inicial no tempo $(t_i, t_i + \Delta t)$, n_i é o número de segmentos terminais na célula no tempo t_i , E é uma constante que define a magnitude da competição e β_{inf} e τ são parâmetros constantes que governam, respectivamente, a intensidade e a morosidade de ramificação [9,11]. A variável γ_j representa o número de segmentos entre o soma e o segmento terminal j (ordem centrífuga), S é uma constante que determina o efeito da ordem centrífuga na taxa de ramificação, e C_{n_i} é uma constante de normalização.

Foram selecionados dois parâmetros que influenciam na probabilidade ramificação para serem variados e analisados, sendo eles: a intensidade (B_{inf}) e a morosidade (τ) de ramificação. Foram conduzidos experimentos no qual se varia o valor de uma das duas separadamente. A primeira altera o número de ramificações ao longo do axônio enquanto a segunda altera o tempo da ramificação.

O alongamento dos segmentos terminais é dada pela equação 2 e foi escolhido o parâmetro que determina a taxa de alongamento inicial de um segmento terminal (v_0) para ser variado e analisado.

$$v(t) = v_0 n(t)^{-F} \quad (2)$$

Onde, $v(t)$ representa a taxa de alongamento média do segmento terminal no tempo t , v_0 é uma constante que representa a taxa de alongamento inicial, $n(t)$ é o número de segmentos terminais no neurônio, F é um parâmetro constante que determina o nível de competição para recursos entre segmentos terminais.

Os valores foram projetados com o intuito de atrasar o pico do crescimento axonal que foi o problema

enfrentado pelo modelo de Havela.

A Tabela 1 apresenta um resumo dos experimentos realizados indicando os valores de cada parâmetro no modelo original e os utilizados neste trabalho.

Tabela 1 – Parâmetros utilizados e seus respectivos valores

Parâmetros	Valor original de Havela (2011) [9]	Valores testados	Unidades
v_0	4.5	6	$\mu\text{m} / \text{dia}$
B_{inf}	17.38	19, 21, 23, 25	-
τ	336	360, 380, 400, 420	horas

Para as simulações computacionais foram utilizados os servidores do grupo de Biologia de Sistemas Computacionais da Universidade de Tecnologia de Tampere, Viherjoa e Isojora. Eles possuem alto poder computacional e grande capacidade de armazenamento o que facilita a execução dos experimentos bem como a sua produtividade.

Os resultados foram analisados segundo a técnica Sholl. Esta análise permite a observação do crescimento dos axônios (Figura 1) [12]. Ela consiste em posicionar círculos concêntricos equidistantes ao redor do soma do neurônio e então é feita a contagem do número de axônios que cruzam cada círculo.

Foi desenvolvido um script em MATLAB que gera os histogramas Sholl no qual o eixo x representa os raios dos círculos Sholl e o eixo y o número de axônios cruzando cada círculo, sendo que as barras indicam valores de desvio padrão. Para as simulações, apenas o 21º dia do crescimento neuronal foi considerado, já que é o estágio mais avançado obtido e no qual é possível observar melhor o desenvolvimento dos axônios.

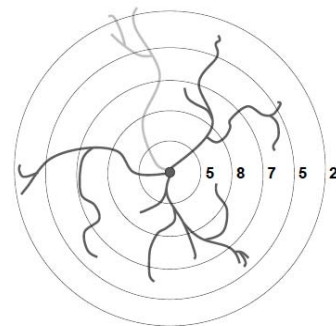


Figura 1: Representação da análise sholl. A contagem dos neuritos é mostrada para cada círculo.

Resultados

A Figura 2 apresenta os resultados obtidos por Havela em seu trabalho utilizando os valores originais descritos na Tabela 1. Esse foi o padrão a ser comparado com os resultados obtidos. A Figura 3 apresenta o resultado obtido para a alteração da taxa de

alongamento inicial, a Figura 4 apresenta o resultado obtido quando o valor da intensidade de ramificação foi igual a 19 e a Figura 5 apresenta o resultado obtido quando o valor da morosidade de ramificação foi igual a 360.

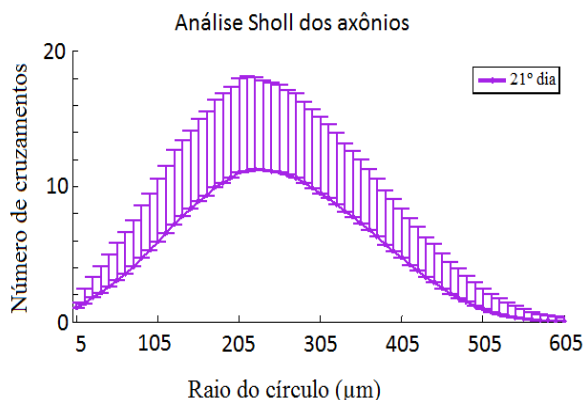


Figura 2 - Resultado obtido a partir do modelo original de van Pelt modificado na dissertação de (Havela, 2011) [9].

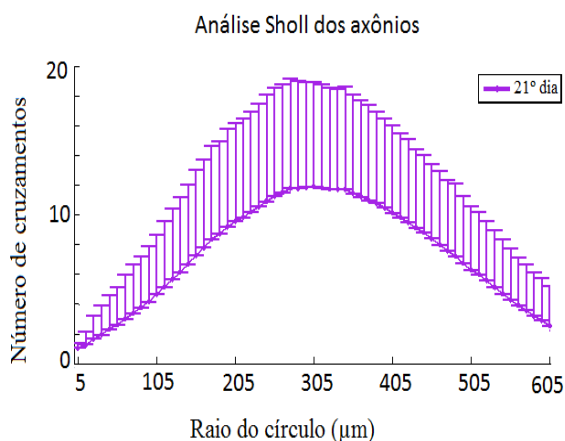


Figura 3 – Resultado obtido para o valor da taxa de alongamento inicial igual a 6.

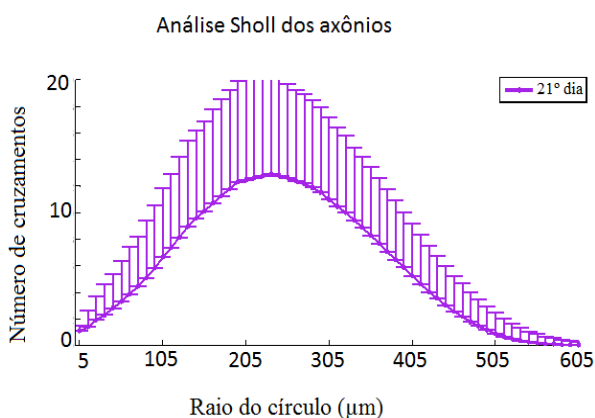


Figura 4 - Resultados obtidos a partir do novo valor adotado para a intensidade de ramificação, Binf, igual a 19.

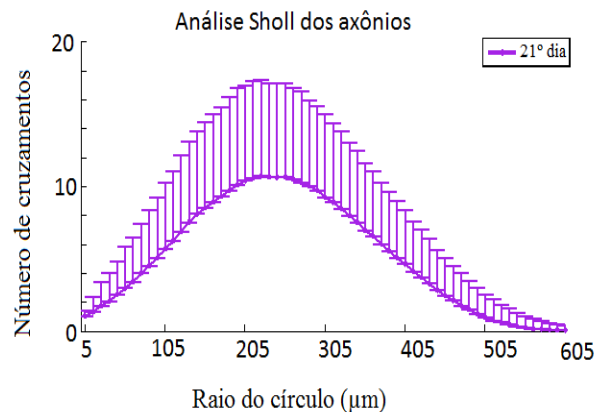


Figura 5 - Ilustração dos resultados do aumento da morosidade de ramificação para 360 horas.

Discussão

A Figura 3 demonstra que o aumento da taxa de alongamento inicial dos axônios apresentou como resultado um deslocamento significativo da distância em que se encontra o pico do número de axônios, atendendo o objetivo do trabalho. No entanto, deve-se estudar mais a fundo o valor utilizado para determinar se ele condiz com a realidade de crescimento axonal. Além disso, o aumento desta taxa afeta outro parâmetro que é a taxa de alongamento média do segmento terminal, o que pode alterar os pontos de ramificação do axônio, causando assim profundas mudanças na estrutura original do neurônio.

A Figura 4 apresenta um dos resultados obtidos para a variação do parâmetro de intensidade de ramificação. As simulações para os novos valores não geraram os resultados desejados, pois o que se observa é um aumento do número de cruzamentos dos axônios de forma igual ao longo de todo o axônio, sendo que era desejável que isto ocorresse apenas nas regiões terminais do mesmo.

A Figura 5 apresenta um dos resultados obtidos para a variação da morosidade de ramificação. Esta variável define o tempo no qual é iniciado o processo de ramificação. Com o aumento do seu valor era esperado que no início do segmento axonal fossem observadas pequenas ramificações que deveriam aumentar ao longo do axônio. No entanto, para todos os valores testados observou-se que houve apenas uma redução do número de cruzamentos, como previsto, mas não houve um aumento de ramificações após certo período de tempo, como era esperado.

O estudo demonstrou que a alteração da taxa de alongamento inicial dos axônios foi capaz de atingir o resultado desejado ao deslocar o pico de crescimento para a direita do gráfico, mas é preciso lembrar que ele é um parâmetro crítico que pode causar outras mudanças morfológicas e estruturais. Já a intensidade e morosidade de ramificação apresentaram uma parcela do comportamento esperado, mas não foram capazes de produzir o efeito final desejável.

Conclusão

Este trabalho apresentou o desenvolvimento de simulações computacionais que envolvem o crescimento de redes neuronais a partir do modelo de van Pelt e adaptado por Havela, buscando parâmetros que o tornassem mais fiel e realístico.

O modelo foi desenvolvido com o auxílio do *software* CX3D e seus resultados foram apresentados por meio de histogramas Sholl e comparados ao resultado original obtido por Havela [9]. Apenas uma variável foi capaz de gerar o resultado esperado, mas deve-se estudar a fundo se o valor utilizado está de acordo com o que é observado experimentalmente.

Os autores acreditam que diante dos resultados obtidos, o modelo de van Pelt pode ser considerado robusto e para que haja alterações mais significativas no seu comportamento, outros parâmetros deveriam ser inclusos e alterados em conjunto. No entanto, este tipo de prática demanda bastante estudo e experiência, pois deve haver um balanço entre os diferentes parâmetros alterados para manter a significância morfofisiológica e, ao mesmo tempo, a fidelidade aos dados experimentais como um todo.

Agradecimentos

A autora gostaria de agradecer aos órgãos de fomento CNPq e CAPES bem como ao programa Ciência Sem Fronteiras que possibilitou a realização deste trabalho em parceria com o grupo de Neurociência Computacional da Tampere University of Technology (TUT), ao Prof. J.B. Destro-Filho pela orientação e pelo suporte e a todos os membros do grupo de pesquisa em neurociência computacional da TUT, em especial à Prof. Marja-Leena Linne e à doutoranda Riika Havela por todo o suporte, estímulo e orientação durante toda a estadia na Finlândia. O intercâmbio foi uma experiência extremamente válida, rica e proveitosa.

Referências

- [1] Dayan P, Abbott LF. Theoretical Neuroscience: Computational and Mathematical Modelling of Neural Systems. The MIT Press; 2002.
- [2] Trappenberg T. Fundamentals of Computational Neuroscience. Oxford University Press, 2010.
- [3] Bower JM, Beeman D. The Book of Genesis: Exploring Realistic Neural Models with the General Neural Simulation System. Electronic Library of Science. New York, Springer-Verlag, 1995.
- [4] Markram H. The blue brain project. Nature Reviews Neuroscience 7.2 (2006): 153-160.
- [5] Kiddie G, McLean D, Van Ooyen A, Graham B. Biologically plausible models of neurite outgrowth. Progress in Brain Research. 2005;147:67-80.
- [6] van Ooyen A. Using theoretical models to analyse neural development. Nature Reviews Neuroscience 12.6 (2011): 311-326.
- [7] Van Pelt J, Van Ooyen, A, Uylings HB. The need for integrating neuronal morphology databases and computational environments in exploring neuronal structure and function. Anat Embryol (Berl), 2001; 204:255-265.
- [8] Van Pelt J, Uylings HB. Branching rates and growth functions in the outgrowth of dendritic branching patterns. Network, 2002; 13:261-281.
- [9] Havela RC. Modeling growth of cultured neocortical neuronal networks: comparison of the simulation tools Cx3D and NETMORPH. 2011. 77 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Biomédica) – Instituto de Tecnologia Biomédica, Universidade de Tampere, Tampere. 2011.
- [10] Zubler F, Douglas R. A framework for modeling the growth and development of neurons and networks. Frontiers in Computational Neuroscience. 2009, 25-25.
- [11] Koene RA, Tijms B, Van Hees P, Postma F, De Ridder, A, Ramaker GJ, Van Pelt J, Van Ooyen A. NETMORPH: A framework for the stochastic generation of large scale neuronal networks with realistic neuron morphologies. Neuroinformatics, 2009b; 7:195-210.
- [12] Sholl DA. Dendritic organization in the neurons of the visual and motor cortices of the cat. Journal of Anatomy. 1953;87:387-406.