



Il bilanciamento tra eccitazione ed inibizione controlla l'organizzazione temporale dell'attività cerebrale spontanea

Lucilla de Arcangelis

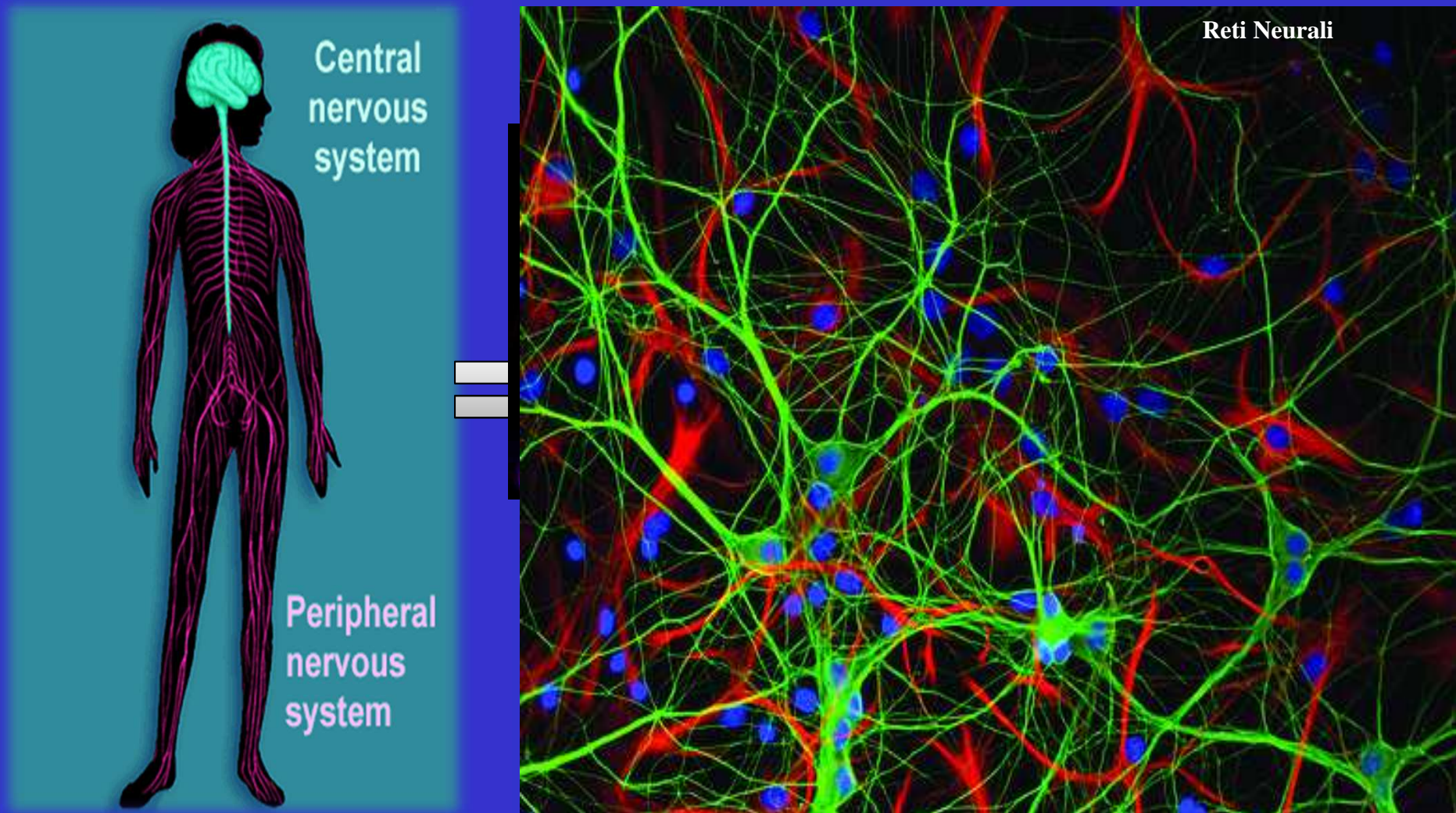
Seconda Università di Napoli
E-mail: lucilla@fisica.unina.it

Carla Perrone Capano

Università di Napoli "Federico II"
&
IGB, CNR, Napoli
E-mail: perrone@unina.it

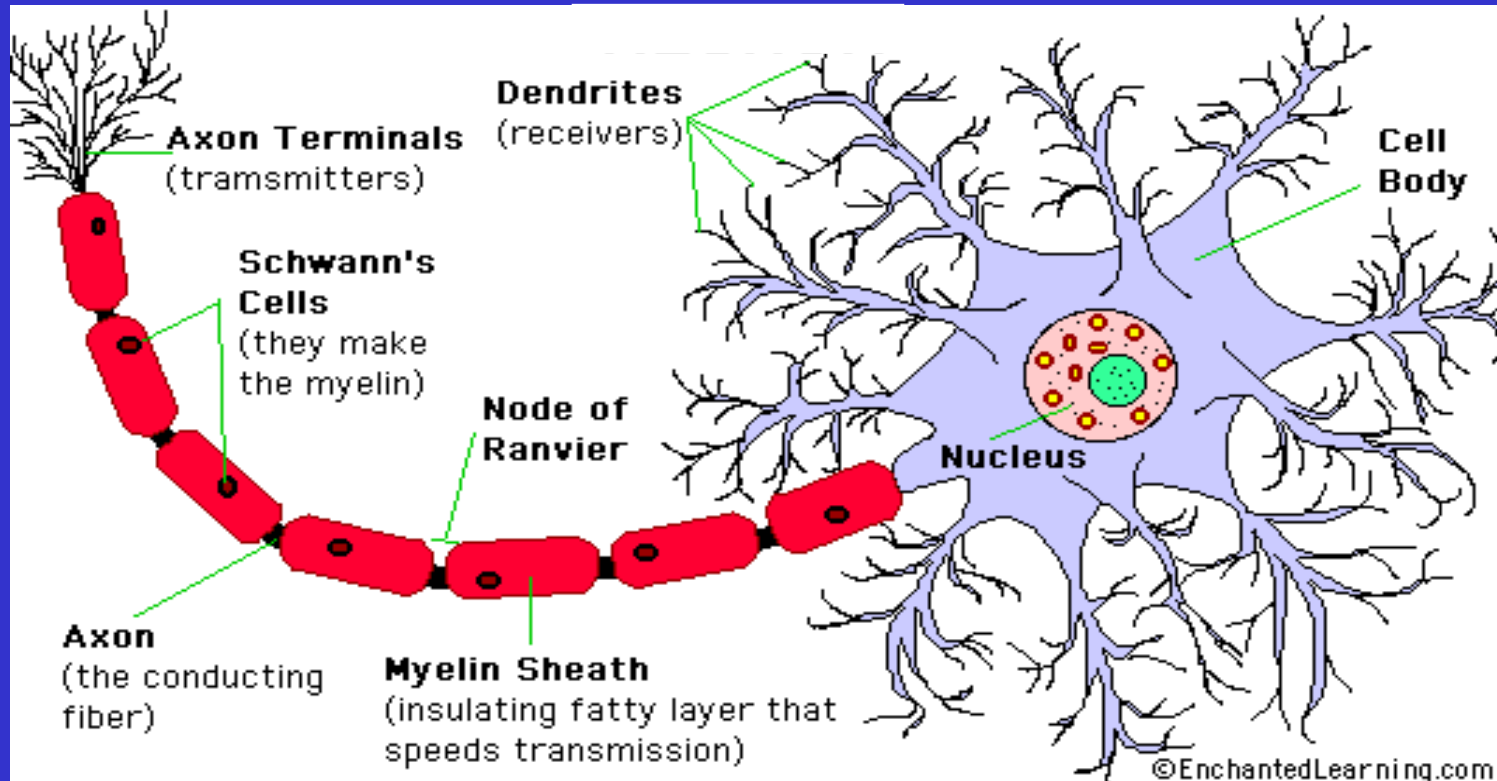
31 gennaio 2013, MSA

Complessità del Sistema Nervoso



Circa 10^{11} neuroni nel SNC dell'uomo e 10^{15} sinapsi + 10^{12} cellule gliali

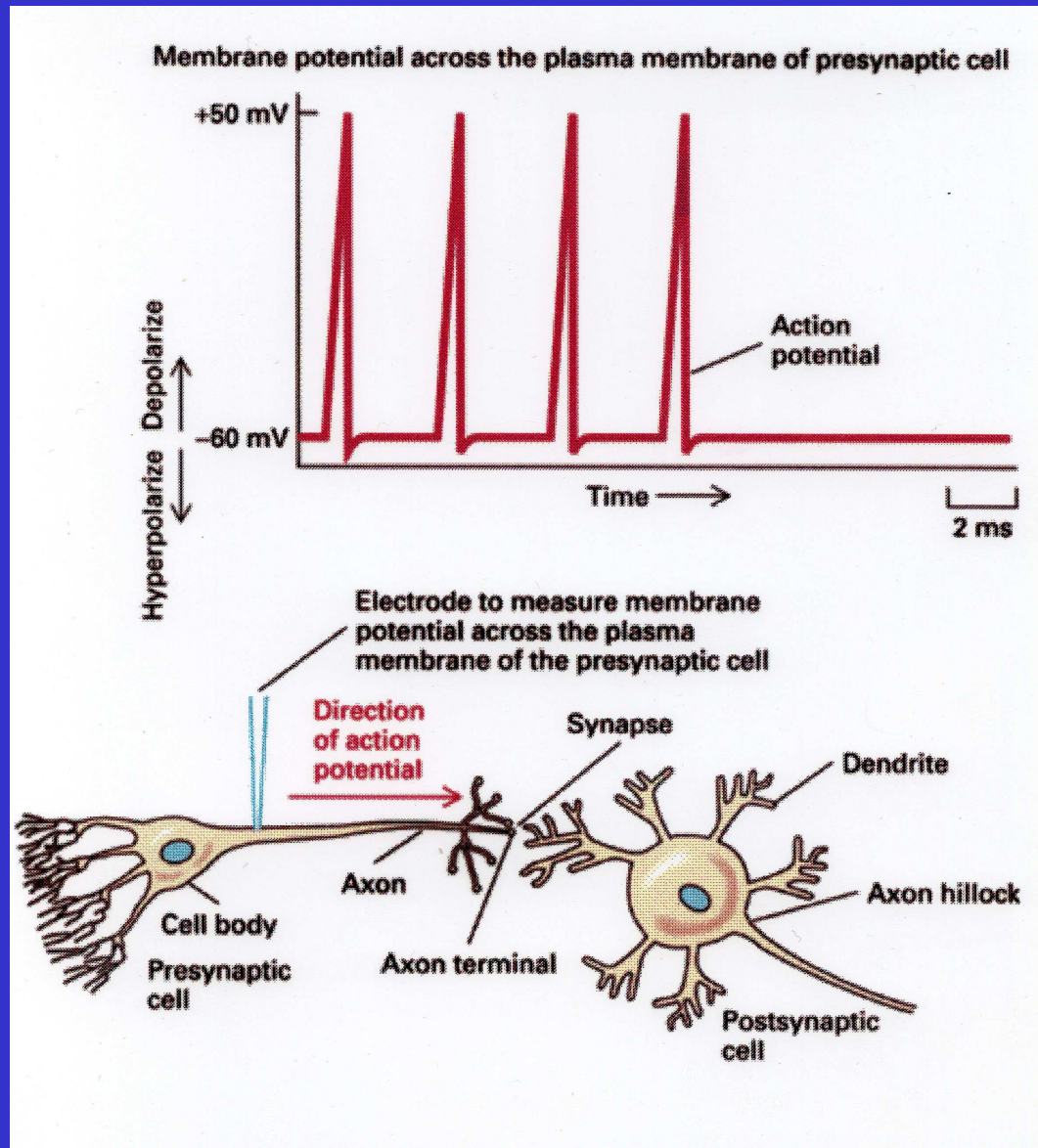
Il neurone



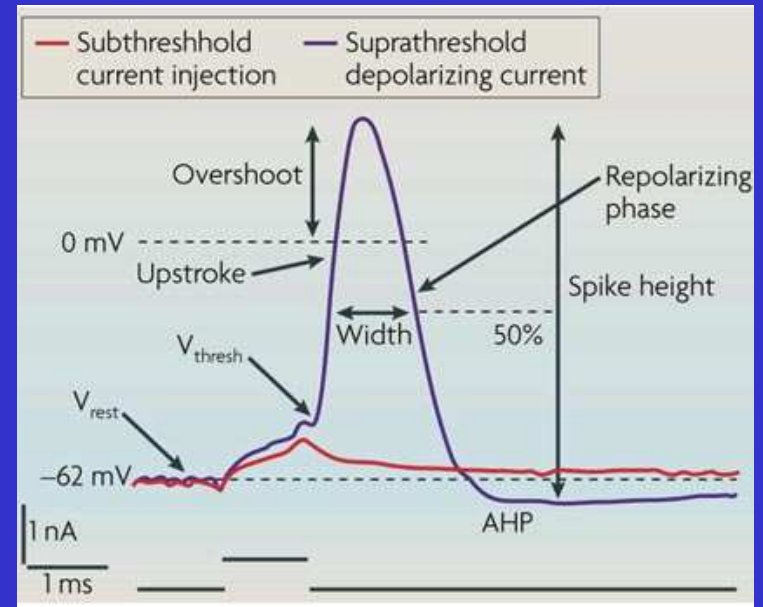
COMPITO FONDAMENTALE DEL NEURONE E' QUELLO DI RICEVERE, ORGANIZZARE E TRASMETTERE INFORMAZIONI

La codificazione delle informazioni avviene mediante una combinazione di segnali elettrici e chimici

Come comunicano tra di loro le cellule nervose?

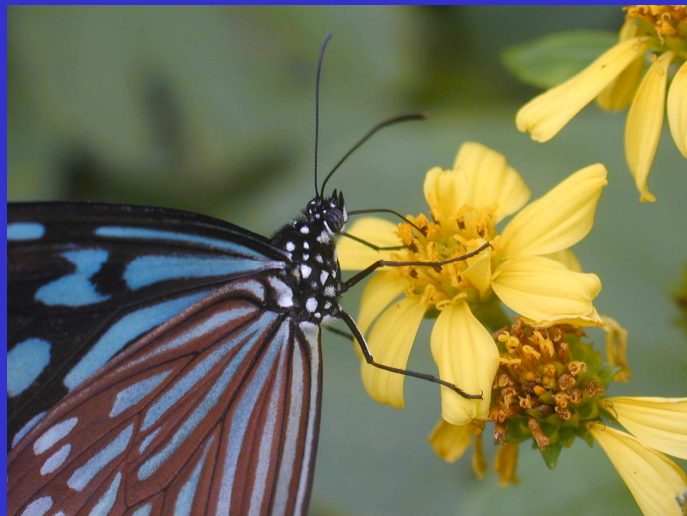
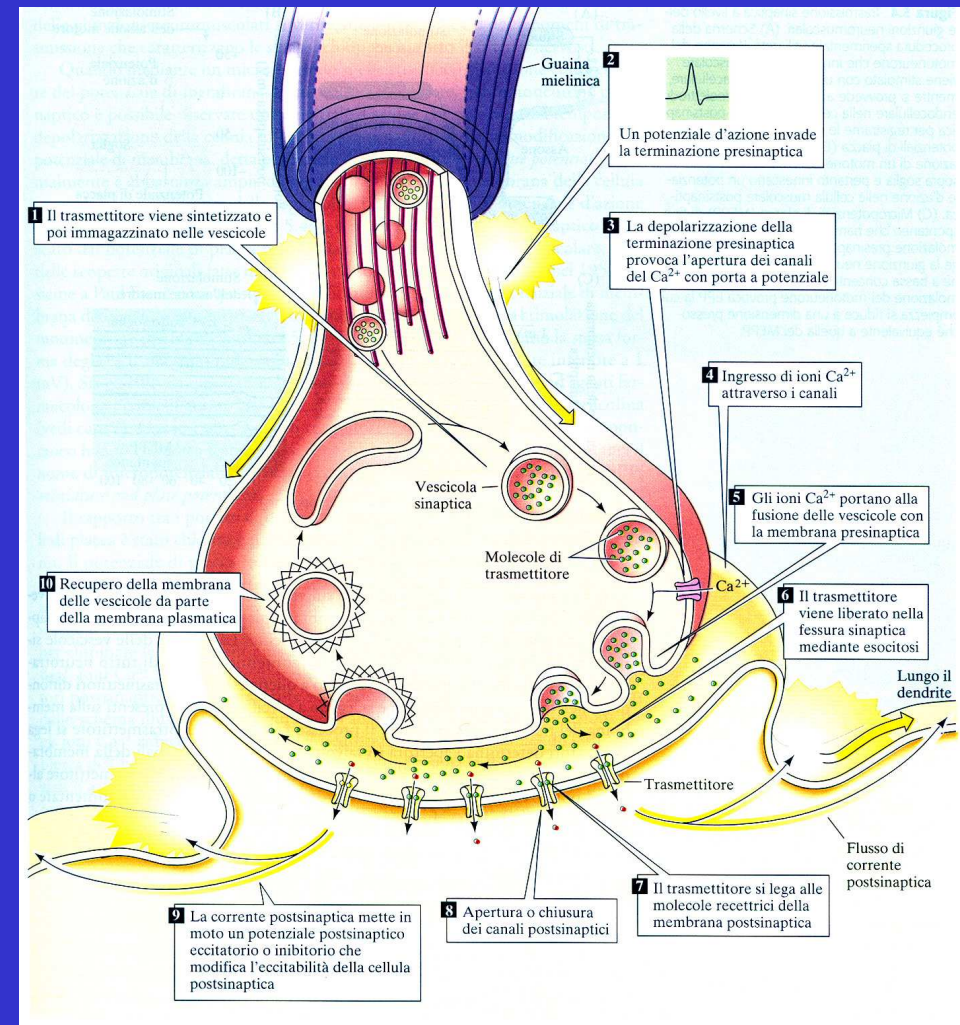
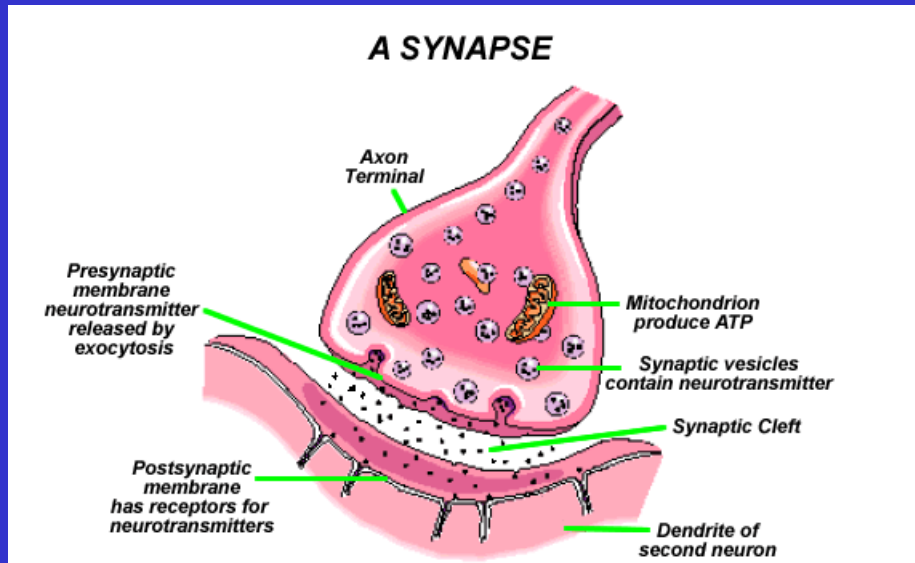


Anatomia del potenziale d'azione (Da: Bean 2007 Nat.Rev.Neurosci.)



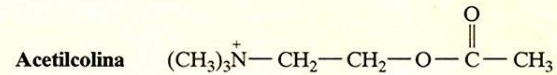
La sinapsi chimica

Sito specializzato di comunicazione tra un neurone e la sua cellula bersaglio

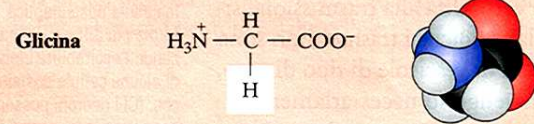
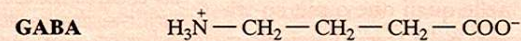
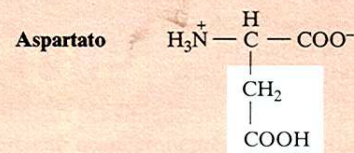
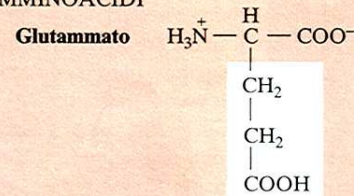


I neurotrasmettitori

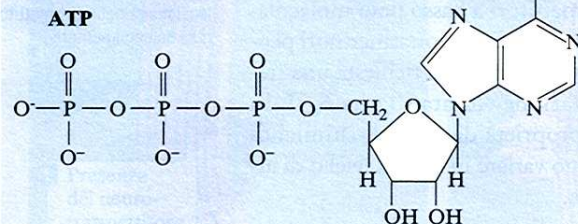
NEUROTRASMETTITORI A BASSO PESO MOLECOLARE



AMMINOACIDI

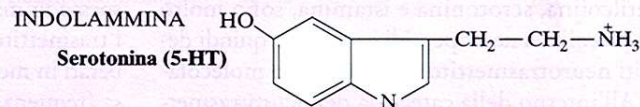
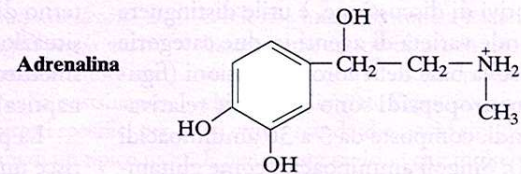
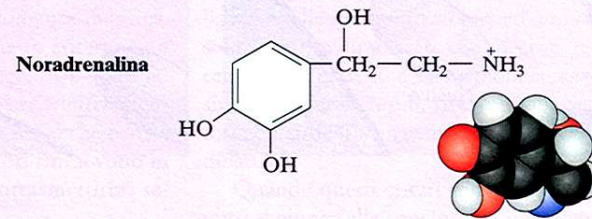
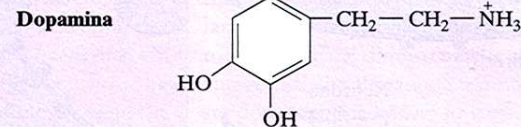


PURINE

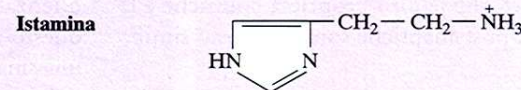


AMMINE BIOGENE

CATECOLAMMINE



IMIDAZOLAMMINA



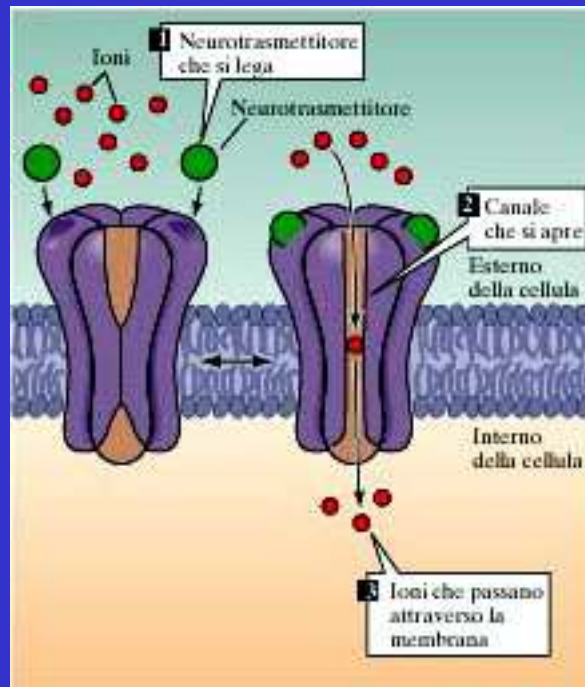
✓ Nts classici o a basso PM

✓ Neuropeptidi

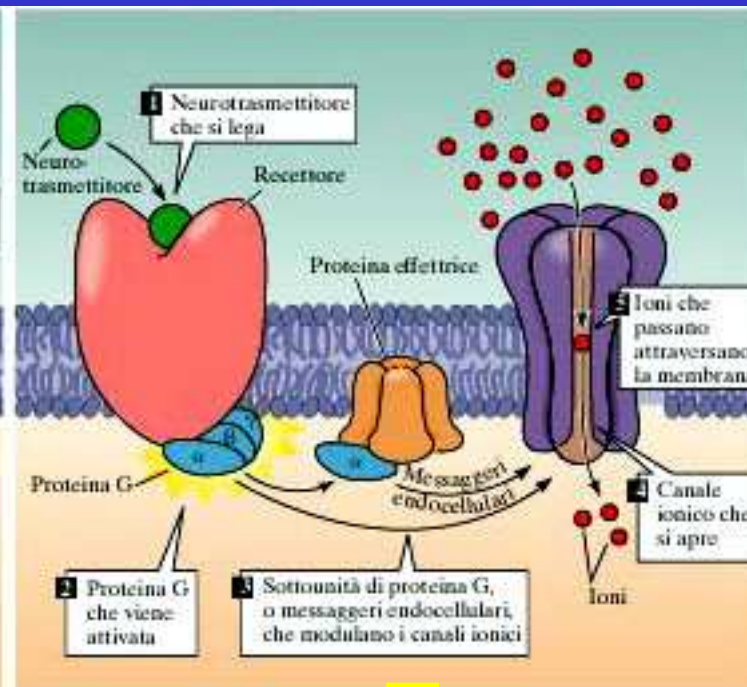
✓ Nts non convenzionali (gassosi o lipidici, quali ossido nitrico o endocannabinoidi)

Recettori dei neurotrasmettitori

DIRETTI



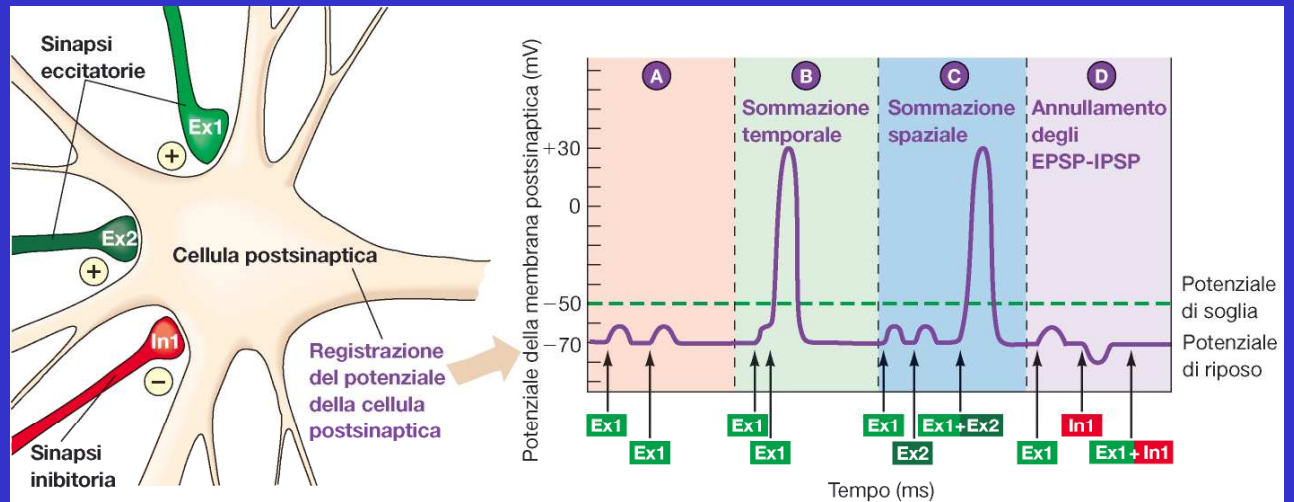
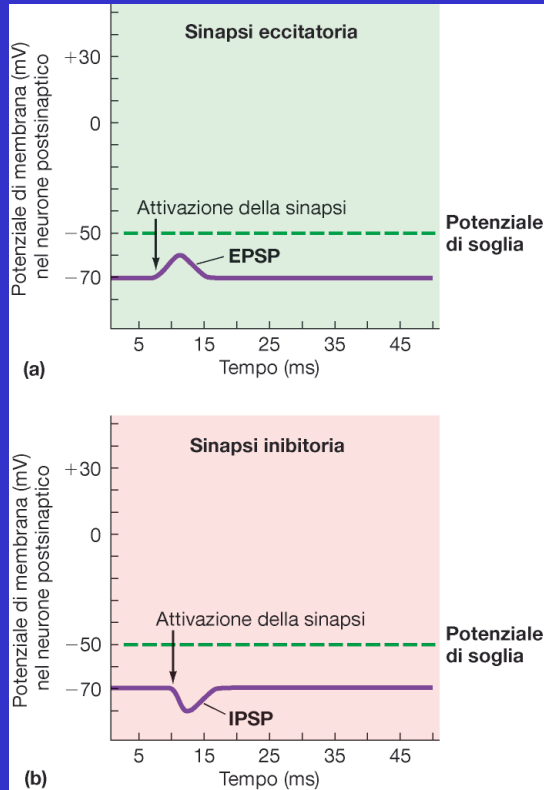
INDIRETTI



Trasduzione del segnale (II mess. e PK)

L'interazione neurotrasmettitore-recettore determina l'apertura o la chiusura di canali ionici nella cellula post-sinaptica e l'insorgenza di **potenziali postsinaptici eccitatori o inibitori (EPSP o IPSP)**

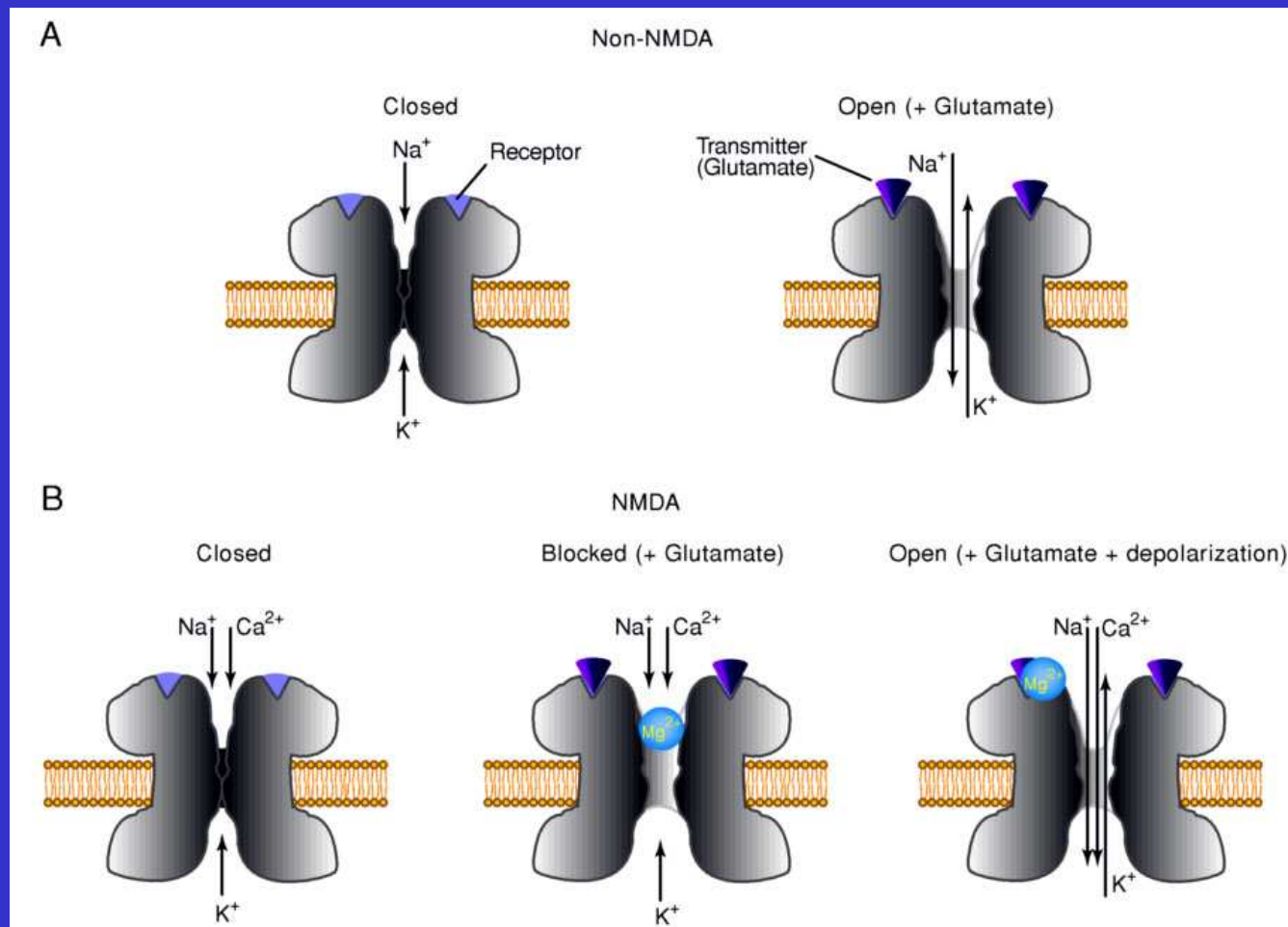
Sinapsi eccitatorie ed inibitorie



- Pannello A** Se una terminazione presinaptica eccitatoria (Ex1) viene stimolata una seconda volta dopo che il primo EPSP nella cellula postsinaptica è ormai estinto, compare un secondo EPSP della stessa ampiezza del primo.
- Pannello B** Se, tuttavia, Ex1 viene stimolata una seconda volta prima che il primo EPSP sia estinto, il secondo EPSP andrà a sommarsi al primo e il risultato di questa sommazione temporale può portare la cellula postsinaptica al potenziale di soglia.
- Pannello C** La cellula postsinaptica potrebbe essere portata alla soglia per sommazione spaziale degli EPSP generati dalla simultanea attivazione di due (Ex1 + Ex2) o più sinapsi eccitatorie.
- Pannello D** L'attivazione simultanea di una sinapsi eccitatoria (Ex1) e di una inibitoria (In1) non produce alcun cambiamento del potenziale postsinaptico, in quanto i risultanti EPSP e IPSP si annullano reciprocamente.

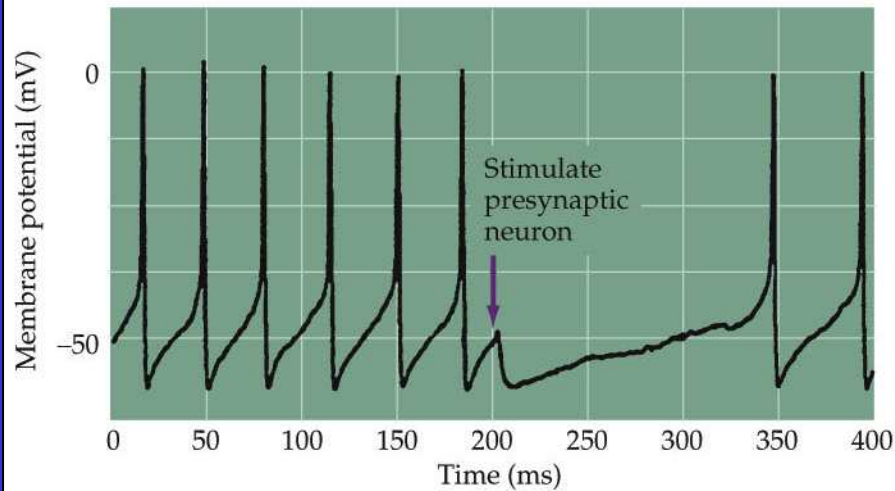
Recettori diretti per il glutammato

I recettori diretti per il glutammato sono canali tetramericici selettivi per i cationi (sodio, potassio e calcio), codificati da diverse subunità. La loro attivazione determina un **EPSP** nella cellula postsinaptica

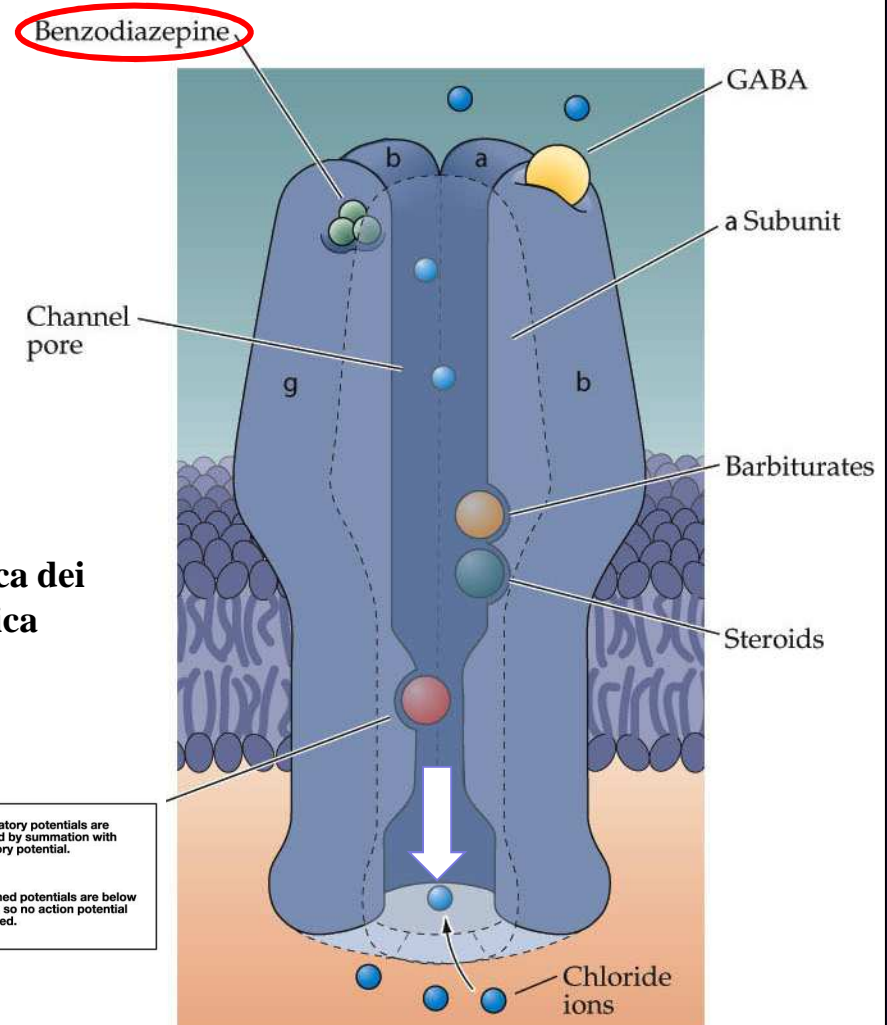
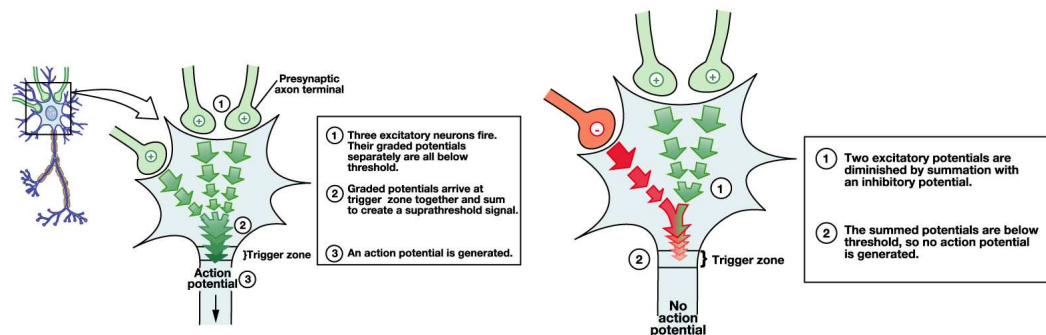


Recettori del GABA_A

I recettori GABA_A sono canali pentamerici selettivi per lo ione cloro, codificati da diverse subunità appartenenti ad una grande famiglia genica



La stimolazione presinaptica di un **interneurone GABAergico** causa un'inibizione transitoria della scarica dei potenziali d'azione nella cellula bersaglio postsinaptica



La neuroplasticità

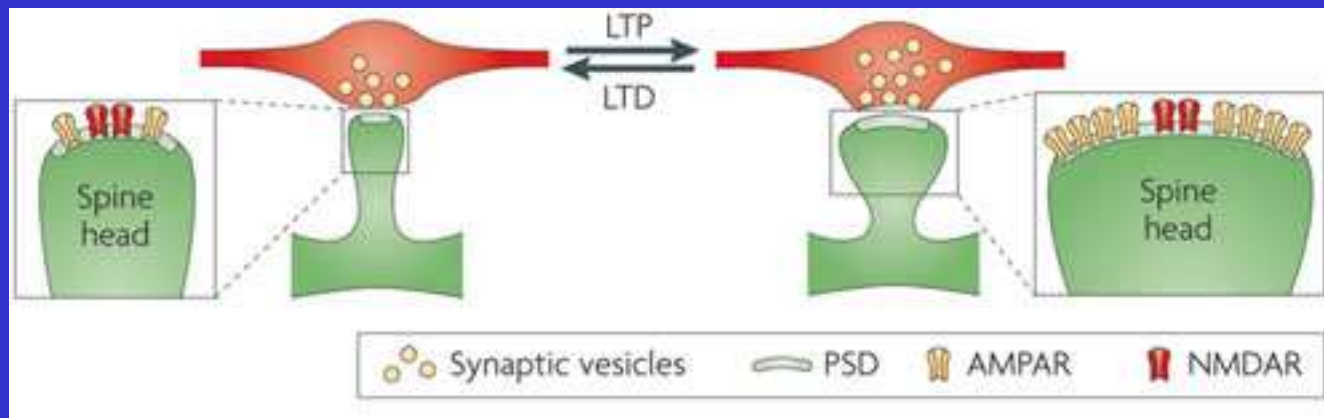
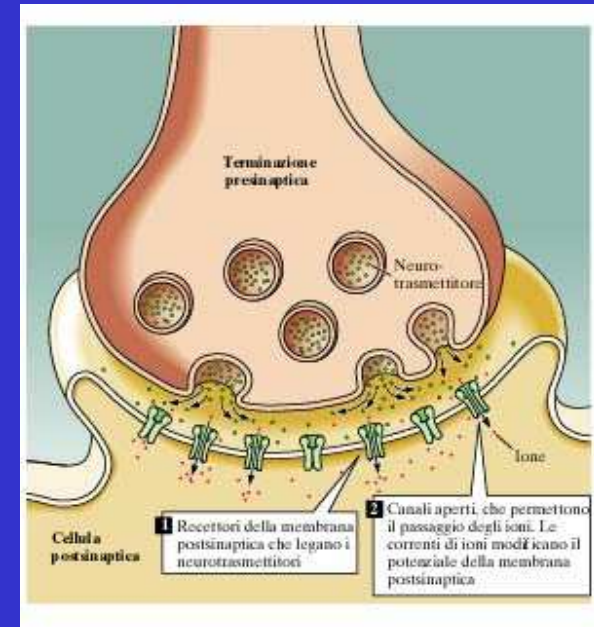
Per plasticità s'intende la capacità del Sistema Nervoso di riorganizzare le connessioni **dal punto di vista strutturale e funzionale**, in risposta, a stimoli ambientali, e ad eventi fisiologici e patologici.



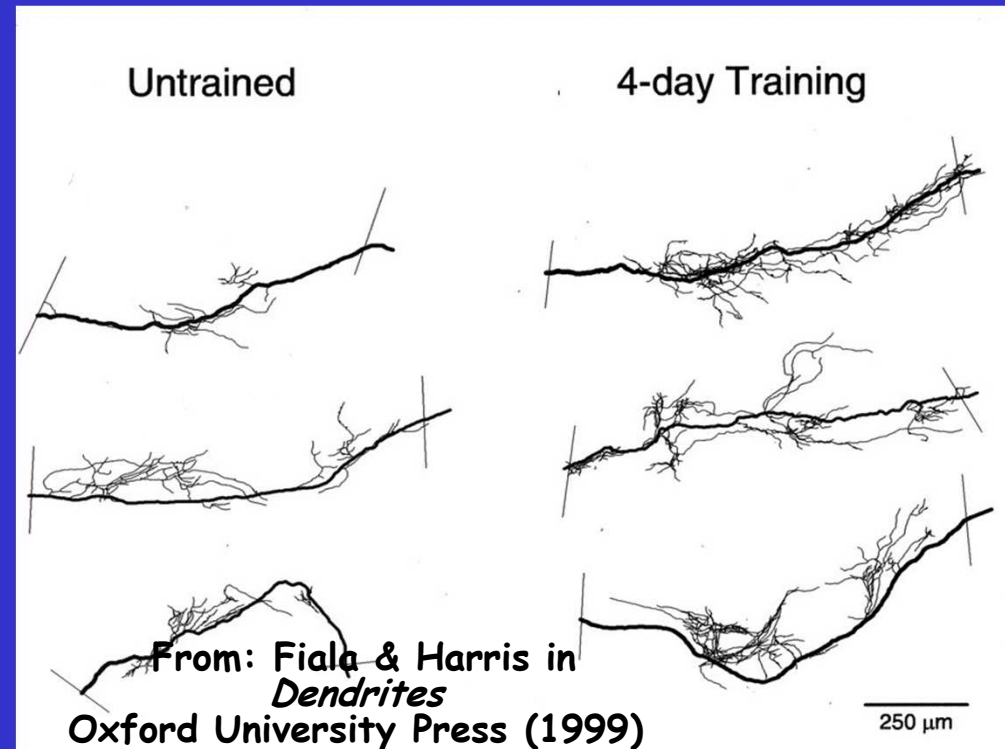
Le sinapsi sono il sito privilegiato dove si possono verificare le **"modificazioni plastiche"** che consentono al cervello di adattarsi e modificarsi in risposta a stimoli diversi

Meccanismi alla base della plasticità sinaptica

- ✓ Cambiamenti nella **forza delle connessioni sinaptiche esistenti** (aumentata o diminuita probabilità di rilascio del neurotrasmettitore, aumentata o diminuita risposta recettoriale)
- ✓ Cambiamenti morfologici con formazione o eliminazione di nuovi bottoni sinaptici: **rimodellamento** della struttura dei dendriti e degli assoni, sostenuto dalla sintesi di nuove proteine



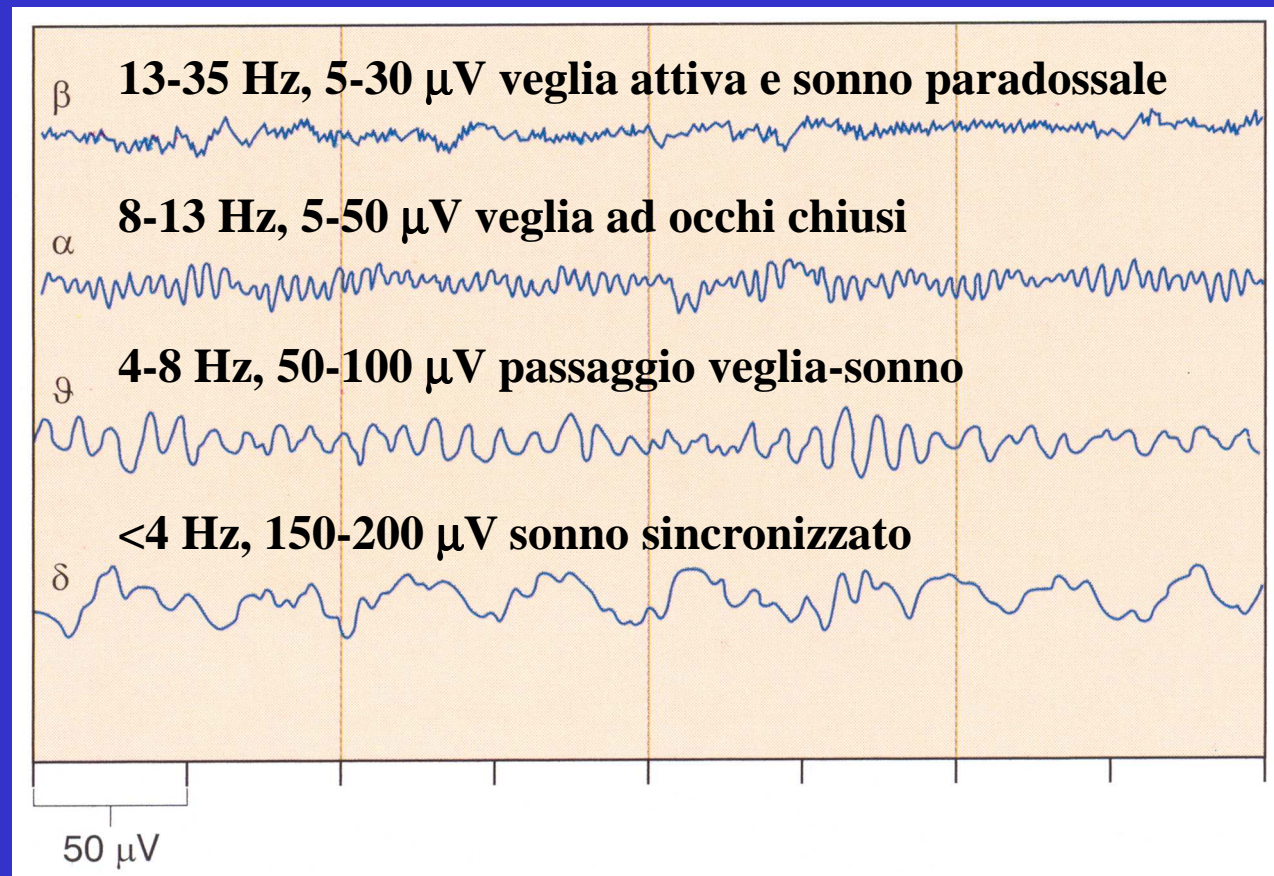
L' apprendimento induce modificazioni molecolari, strutturali e funzionali a livello delle sinapsi



Il rimodellamento delle spine dendritiche è dipendente dall'attività nervosa e accompagna molte forme di memoria a lungo termine, sia negli invertebrati che nei vertebrati

EEG e attività elettrica spontanea

L'EEG è una misura delle oscillazioni del potenziale elettrico, che vengono generate dalla somma delle attività di un elevato numero di neuroni della corteccia cerebrale. L'EEG dipende in grande misura da quanto è sincronizzata l'attività dei neuroni implicati.



NewScientist

Brain avalanches help us think

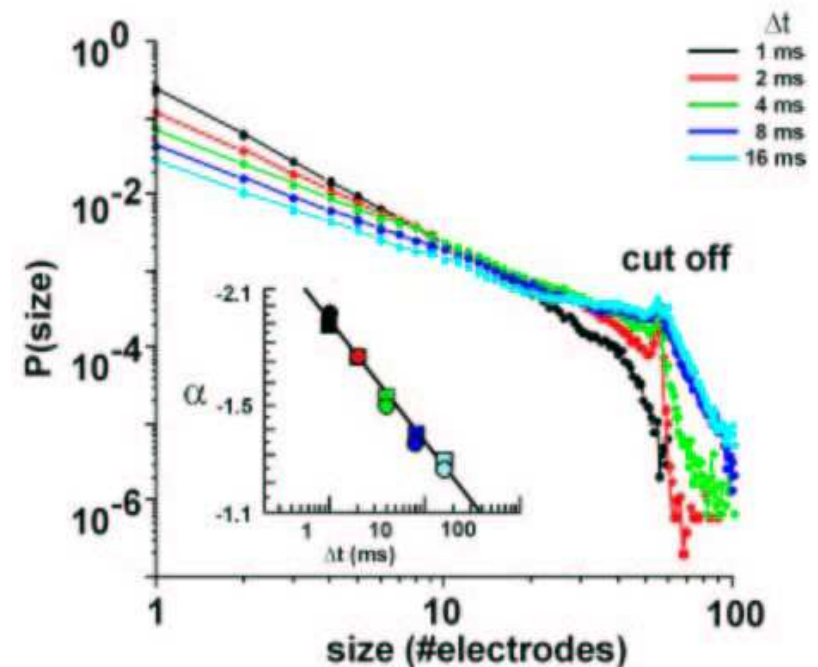
Neuronal avalanches

Beggs & Plenz (J. Neuroscience 2003, 2004) have measured spontaneous local field potentials continuously using a 60 channel multielectrode array in mature organotypic cultures of rat cortex *in vitro* and *in vivo* (PNAS 2008, 2009)

They have shown that spontaneous activity has an avalanche mode:

- Several avalanches (active electrodes) of all size per hour
- Activity initiated at one electrode may spread later to other electrodes in a not necessarily contiguous manner
- Avalanche size distribution is a power law with an exponent close to $-3/2$
- Avalanche duration distribution is a power law with an exponent close to -2.0

→ Critical state optimizes information transmission

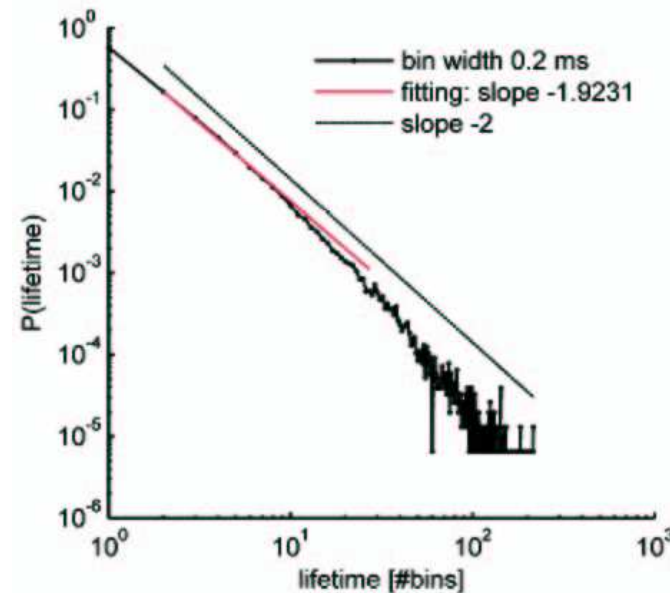
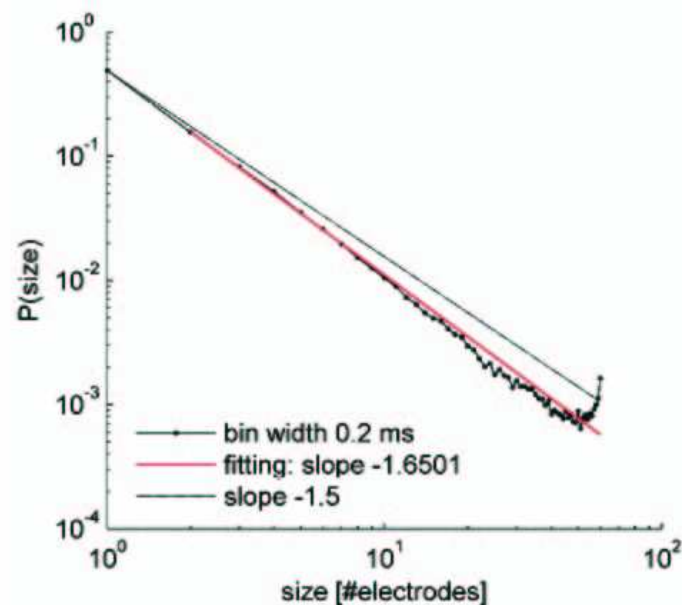


Δt temporal resolution of binning

Avalanche activity found also in dissociated rat cortical neurons

(V. Pasquale et al, Neuroscience 2008)

- Neuronal avalanche behavior depends on time scale of observation
- Neuronal cultures developing in vitro organize differently and exhibit different dynamic state (critical, subcritical, supercritical)
- Critical behaviour depends on the interplay between spiking and bursting activity



- Similar scaling behavior found for dissociated rat hippocampal neurons and leech ganglia (A. Mazzoni et al PLoS ONE 2007)

ACTIVITY DEPENDENT MODEL

LdA, CPC, HJH, PRL 2006, PRE 2007

We introduce within SOC the main ingredients of neural activity:

Threshold firing, Neuron refractory period, Activity dependent synaptic plasticity

- We assign to each neuron a potential v_i and to each synapse a strength g_{ij}

$$g_{ij} \neq g_{ji}$$

- A neuron fires when the potential is at or above threshold v_{\max} (-55mV) distributing to the connected neurons $k_{out}^i v_i$ proportionally to the strength of each synapse

$$v_j(t+1) = v_j(t) \pm \frac{k_{out}^i}{k_{in}^j} v_i \frac{g_{ij}(t)}{\sum_k g_{ik}(t)}$$

- Synapses can be excitatory or inhibitory (i.e. at the postsynaptic neuron the potential can be added or subtracted) and form a **scale free network**

$$n(k_{out}) \propto k_{out}^{-2}$$

- After firing a neuron is set to zero resting potential (-70mV) and remains quiescent for one time step (refractory period), the action potential is not allowed to reverberate back to the cell body

PLASTICITY RULES

- The active synapses connecting neurons not at resting potential have their strength increased proportionally to the potential variation

$$g_{ij}(t+1) = g_{ij}(t) + \alpha (v_j(t+1) - v_j(t)) / v_{\max}$$

- The avalanche goes on and at the end all inactive synapses have their strength reduced by the average strength increase per bond

→ Conservation of total synaptic weight through balanced synaptic depression and potentiation (Experiments on coronal slices of the amygdala from guinea-pigs Royer & Paré Nature 2003)

α is the parameter controlling synaptic plasticity

(represents all physiological factors influencing synaptic plasticity)

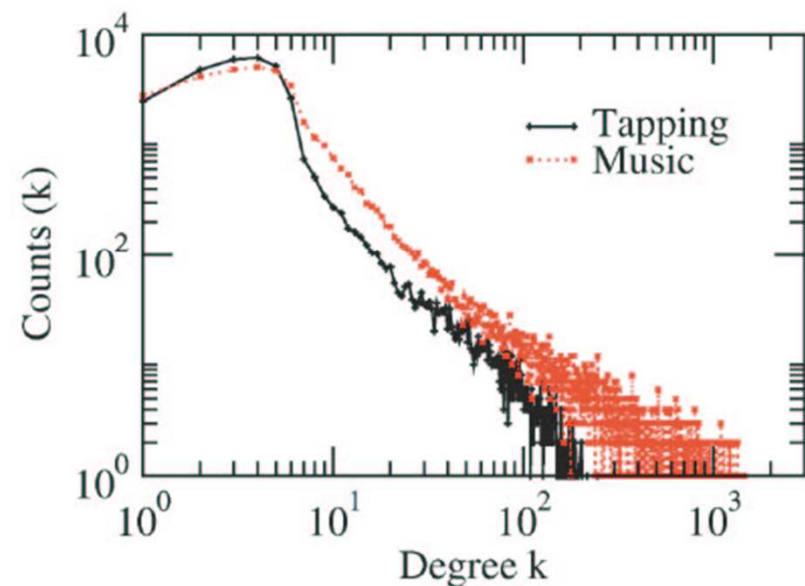
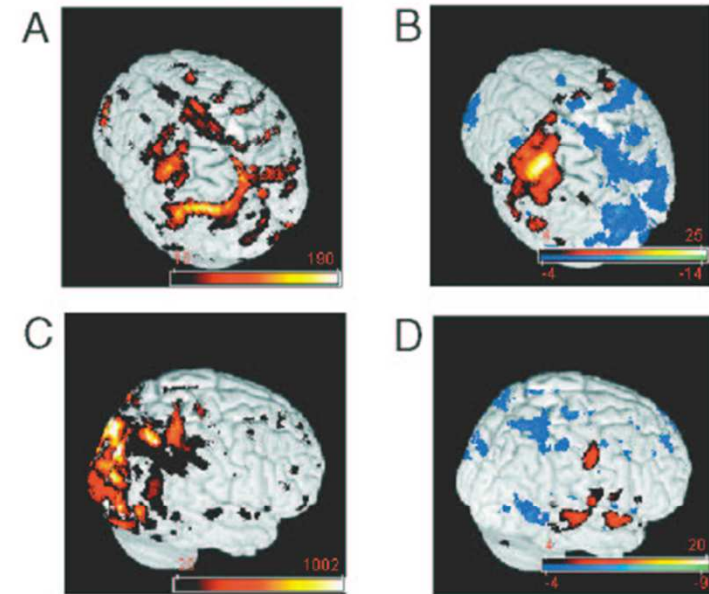
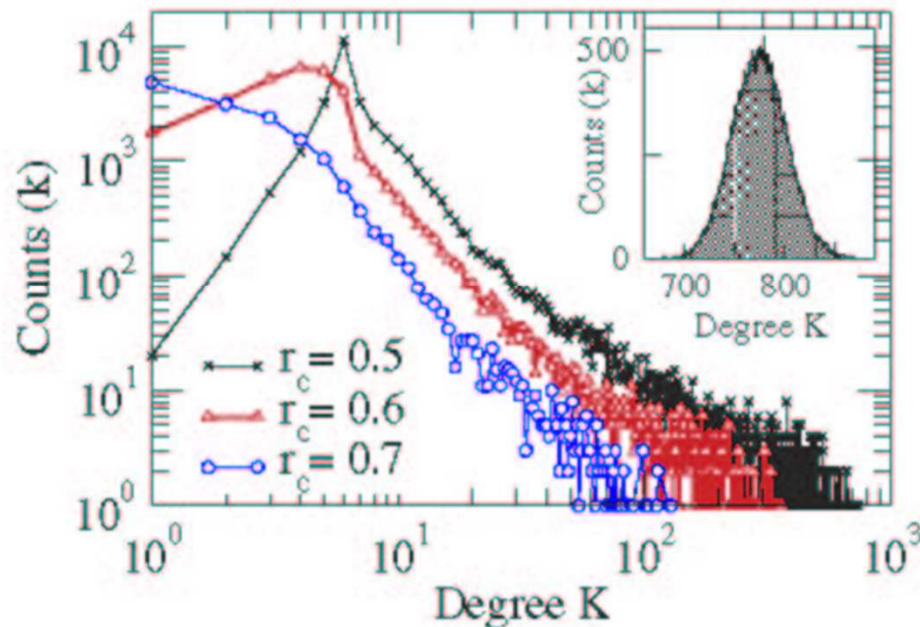
Network memorizes the most used paths, less used synapses atrophy

Scale-free Brain Functional Network

Eguiluz, Chialvo, Cecchi, Baliki, and Apkarian (PRL 2005) measured by MRI the functionality network in humans performing different tasks

- Correlation coefficient between magnetic resonance activity in any pair of voxels, $r(x_1, x_2)$ averaged over time
- Two voxels are functionally correlated if

$$r(x_1, x_2) > r_c$$



AVALANCHE SIZE AND DURATION

After training the network by plastic adaptation, we apply a sequence of stimuli to trigger avalanche activity

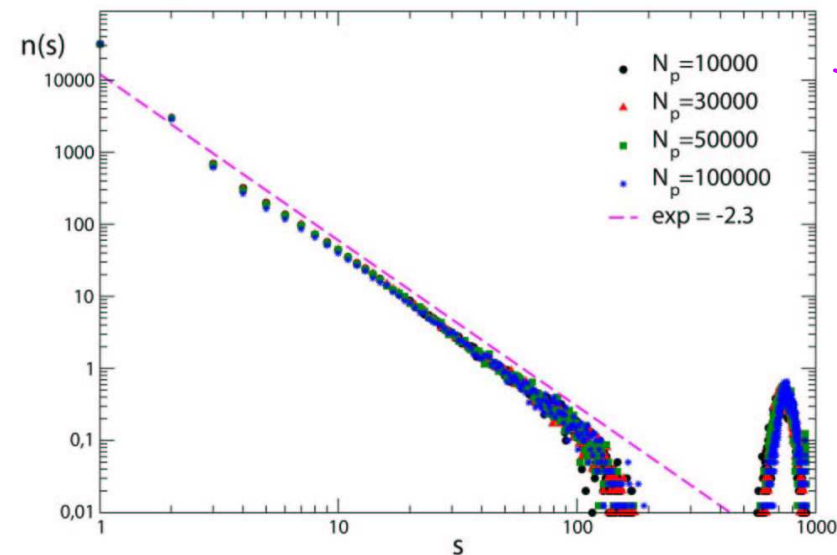
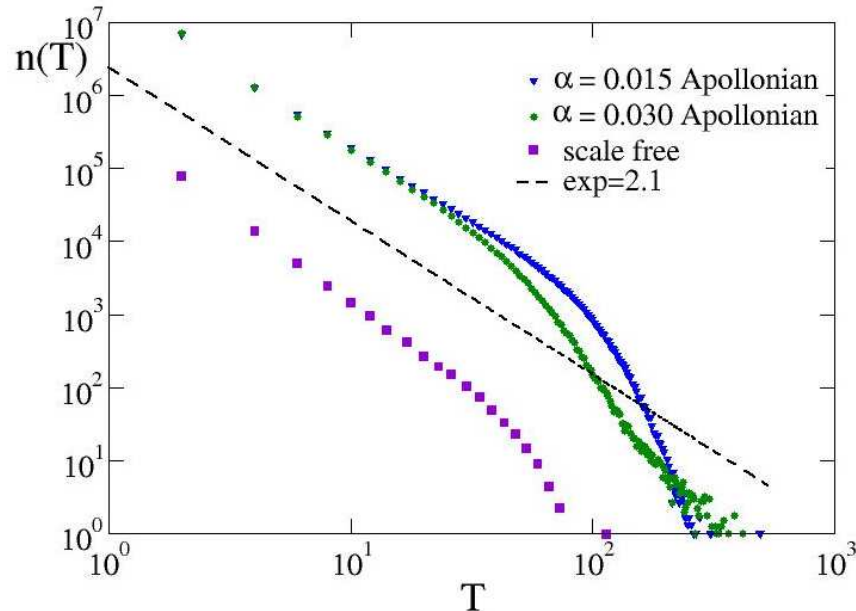
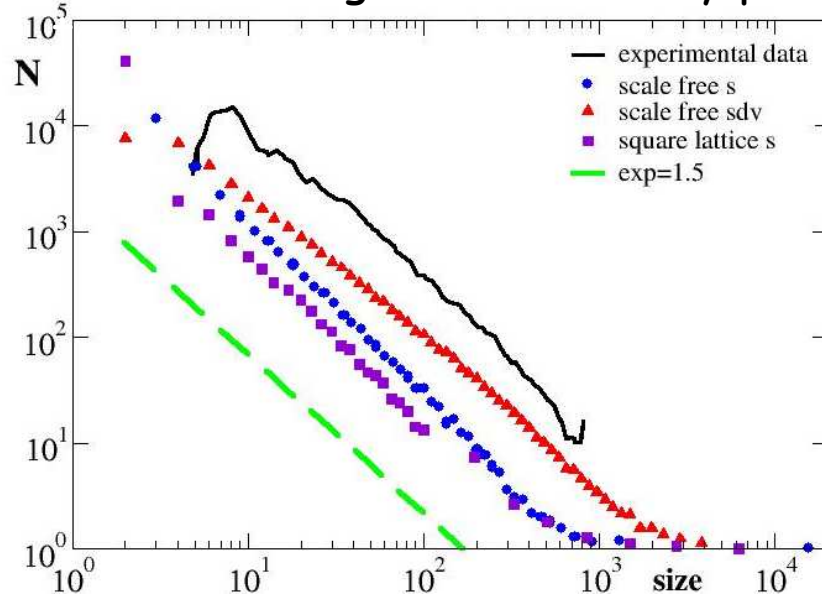
→ avalanches of all size

We measure the avalanche size distribution for

- different α
- regular, small world, scale-free networks
- excitatory and inhibitory synapses

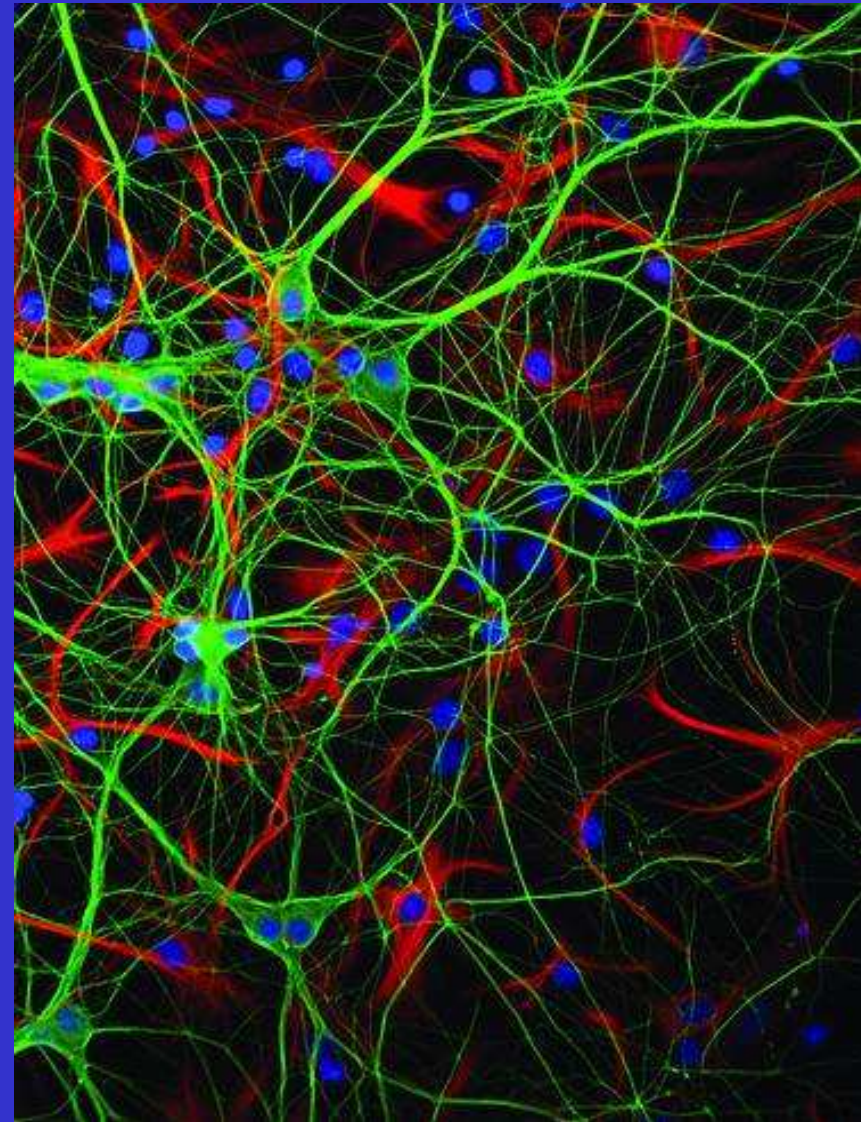
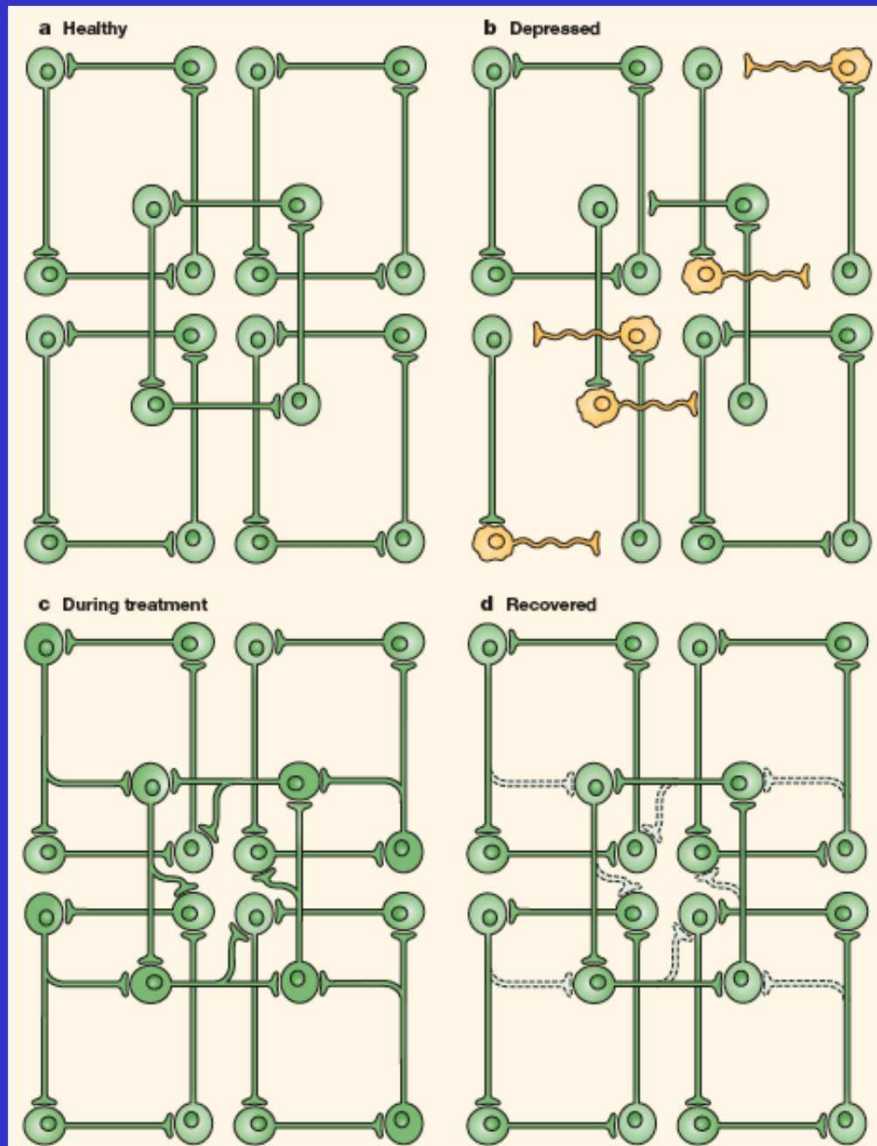
1.5 ± 0.1 for avalanche size

2.1 ± 0.1 for avalanche duration



Fully connected networks

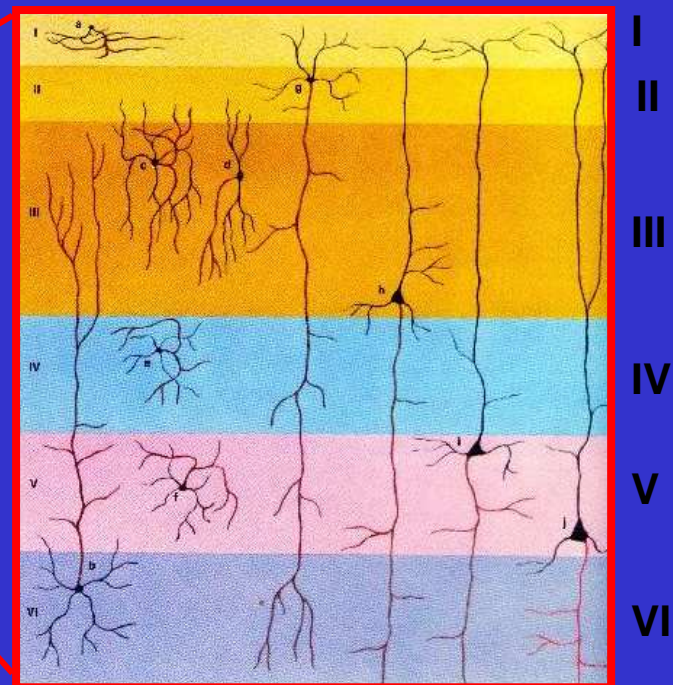
Connettività dei circuiti neuronali



ORGANIZZAZIONE RADIALE DELLA CORTECCIA

Ogni strato della corteccia differisce dagli altri per il tipo di neuroni, per il tipo di connessioni e per le sue proprietà funzionali.

Al di sopra dello strato IV (che riceve afferenze talamiche) ci sono neuroni che mandano assoni ad altre aree della corteccia cerebrale, sia nello stesso emisfero (strato II) che nell'altro emisfero (strato III). Al di sotto del IV strato originano proiezioni verso altre aree del SNC



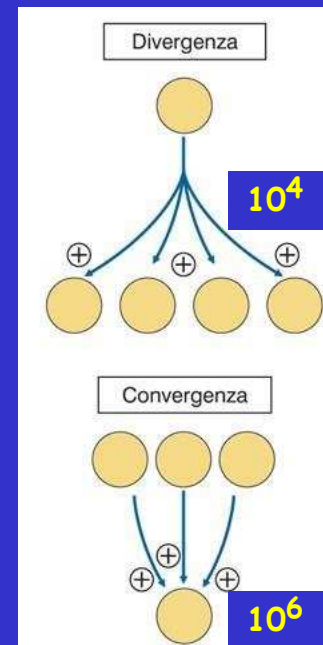
L'esistenza di un'architettura ordinata delle connessioni che i neuroni formano è una condizione necessaria affinché avvengano complessi processi integrativi che hanno sede nel SN

Principi organizzativi delle reti neurali cerebrali

Ad ogni stazione sinaptica, i segnali sono oggetto di modifiche dovute a numerosi fattori:

- La **plasticità sinaptica** a breve e a lungo termine consente al sistema nervoso di modulare e memorizzare specifici pattern di scarica.
- La **convergenza e la divergenza** delle connessioni neuronali consente l'integrazione temporale e spaziale dei segnali.
- I segnali nervosi possono essere intensificati e protratti nel tempo da circuiti riverberanti eccitatori (feedback positivo).
- Viceversa i segnali nervosi possono essere limitati nella loro diffusione nello spazio e nel tempo mediante il processo di **inibizione sinaptica** operato da interneuroni inibitori (inibizione laterale, a feedback negativo, o a feedforward).

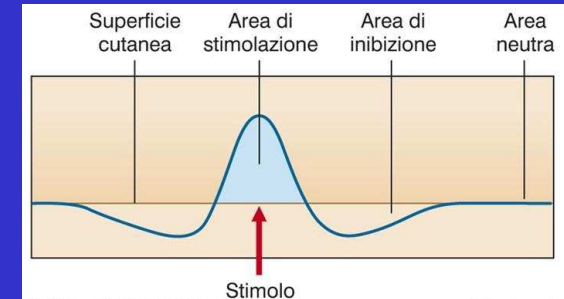
Gli interneuroni inibitori giocano un ruolo critico nel determinare in quale modo i segnali vengono processati nelle reti neurali



Caratteristiche delle reti neurali cerebrali

Separazione di pattern spaziali:

i segnali del canale più forte (che ha più eccitamento e genera più **inibizione laterale**) prevalgono sugli altri. Questo meccanismo ha la funzione di aumentare il contrasto e si riscontra lungo le vie sensoriali.



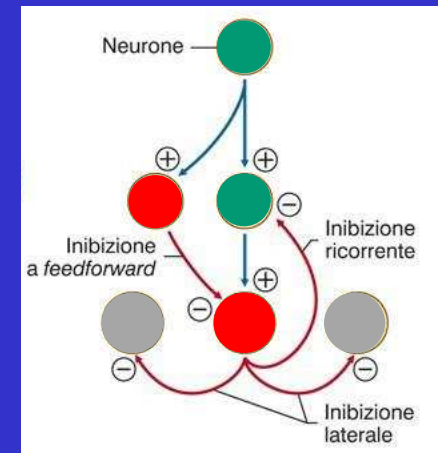
Oscillazioni di rete:

quando un neurone ccitatorio viene attivato da un input continuo, esso scarica per un certo periodo di tempo durante il quale attiva interneuroni inibitori; questi quindi lo bloccano con un meccanismo a **feedback negativo**. La presenza di neuroni autoritmici, e di meccanismi di depressione e facilitazione sinaptica possono contribuire a controllare la stabilità e il periodo delle oscillazioni.

Sincronizzazione di rete (sinapsi elettriche)

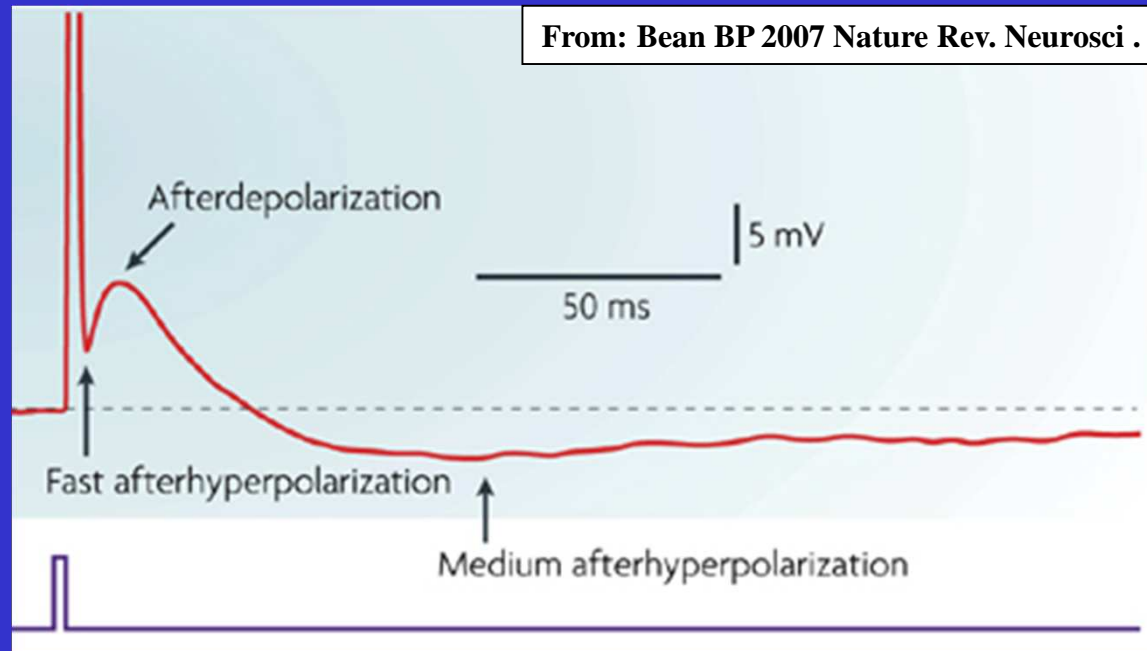
Elaborazione di dinamiche temporali:

le reti possono operare come filtri temporali privilegiando particolari frequenze dell'input e limitandone altre.

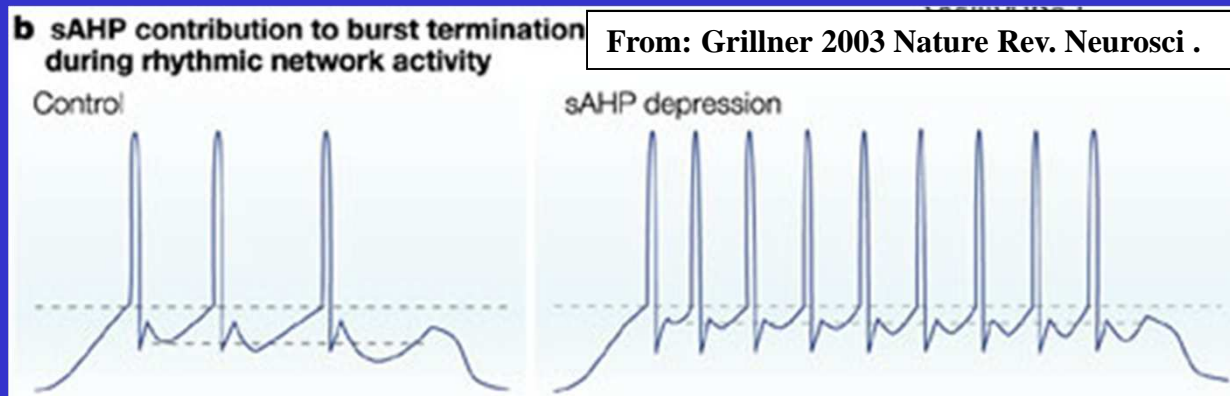


Caratteristiche temporali della scarica neuronale

Le proprietà di **eccitabilità intrinseca** dei neuroni, e la loro modulazione ad opera dell'attività sinaptica, determinano le caratteristiche temporali della scarica neuronale



Afterpotentials in a CA1 pyramidal neuron studied in brain slice. A slow **afterhyperpolarization (sAHP)** continues after the time shown, lasting more than a second (not shown)



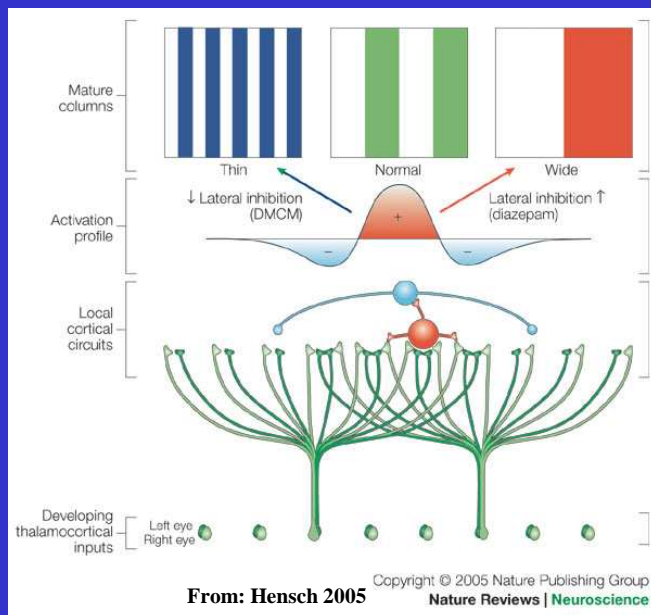
Frequency adaptation in a control situation and when the sAHP is reduced. The upper dashed line indicates spike threshold and the lower indicates the level of the first sAHP.

Ruolo del sistema GABAergico nel funzionamento dei circuiti neurali

Il sistema GABAergico è indispensabile per mantenere un appropriato bilanciamento tra eccitazione ed inibizione, necessario per un corretto funzionamento dei circuiti neurali e delle loro caratteristiche plastiche.

Recenti evidenze sperimentali hanno messo in luce il ruolo chiave dei circuiti corticali inibitori e del bilanciamento E/I nel regolare la **plasticità** sia durante lo sviluppo che nel SN maturo.

Ad esempio l'insorgenza della plasticità della corteccia visiva (**periodi critici**) può essere accelerata o ritardata aumentando o diminuendo la neurotrasmissione GABAergica inibitoria.



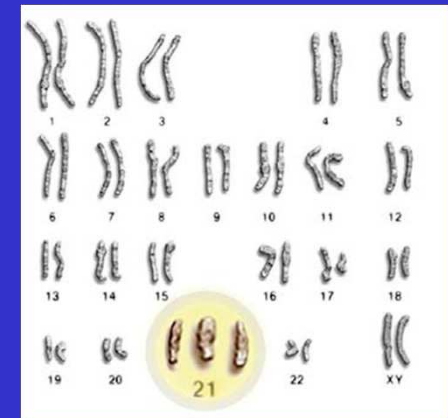
Activity-dependent models of segregation predict that cortical GABA (γ -aminobutyric acid) circuits are involved in determining the final column spacing from an initially overlapping mosaic. Neuronal activity from thalamic inputs serving the right or left eye is spread within the nearby cortex by **local excitatory connections (red cell)** but is **inhibited at greater distances (blue cell)**, producing a 'mexican hat' activation profile. When this profile is modulated during development by preferentially enhancing or reducing horizontal, long-range inhibition (arrows), columns emerge that are wider or thinner than normal, respectively. This hypothesis was verified in vivo in kittens by modulating GABA_A (GABA type A) currents with benzodiazepine agonists (diazepam) or antagonists throughout the critical period.

Sbilanciamento E/I e neuropatologie dello sviluppo

Un alterato bilanciamento tra sinapsi eccitatorie ed inibitorie in circuiti corticali è probabilmente alla base di deficit neurologici dello sviluppo come il **ritardo mentale, l'autismo, l'epilessia e la schizofrenia.**

Ad esempio, modelli murini di sindrome di Down mostrano aumentata neurotrasmissione inibitoria ed alterato LTP:

Kleschevnikov AM, et al. Hippocampal long-term potentiation suppressed by increased inhibition in the Ts65Dn mouse, a genetic model of Down syndrome. J Neurosci. 2004; 24:8153-60.

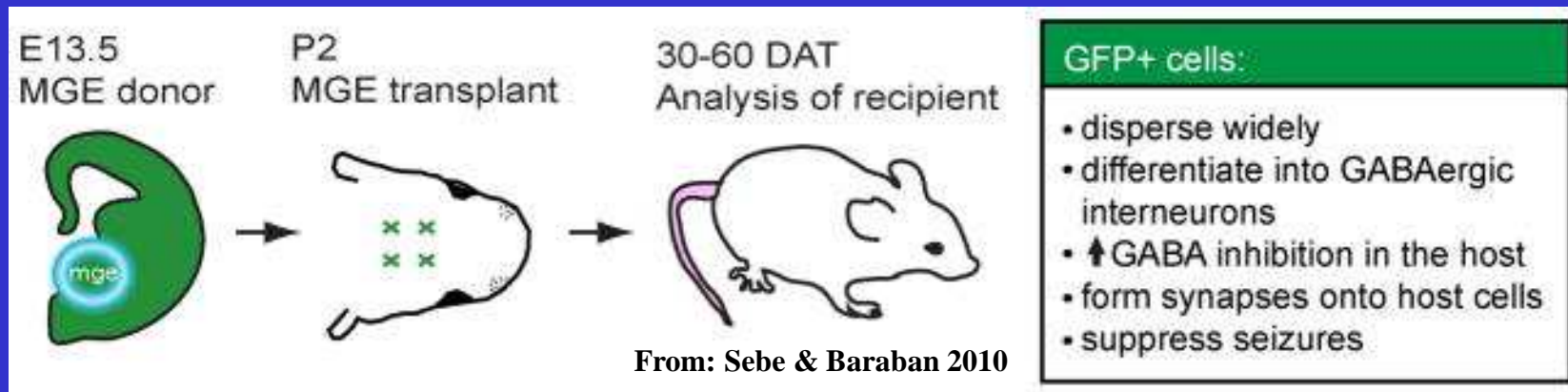


Al contrario, la schizofrenia è associata ad un diminuito livello di GABA, e ad una alterata espressione di recettori NMDA su interneuroni GABAergici
Belforte JE, et al. Postnatal NMDA receptor ablation in corticolimbic interneurons confers schizophrenia-like phenotypes. Nat Neurosci. 2010; 13:76-83.



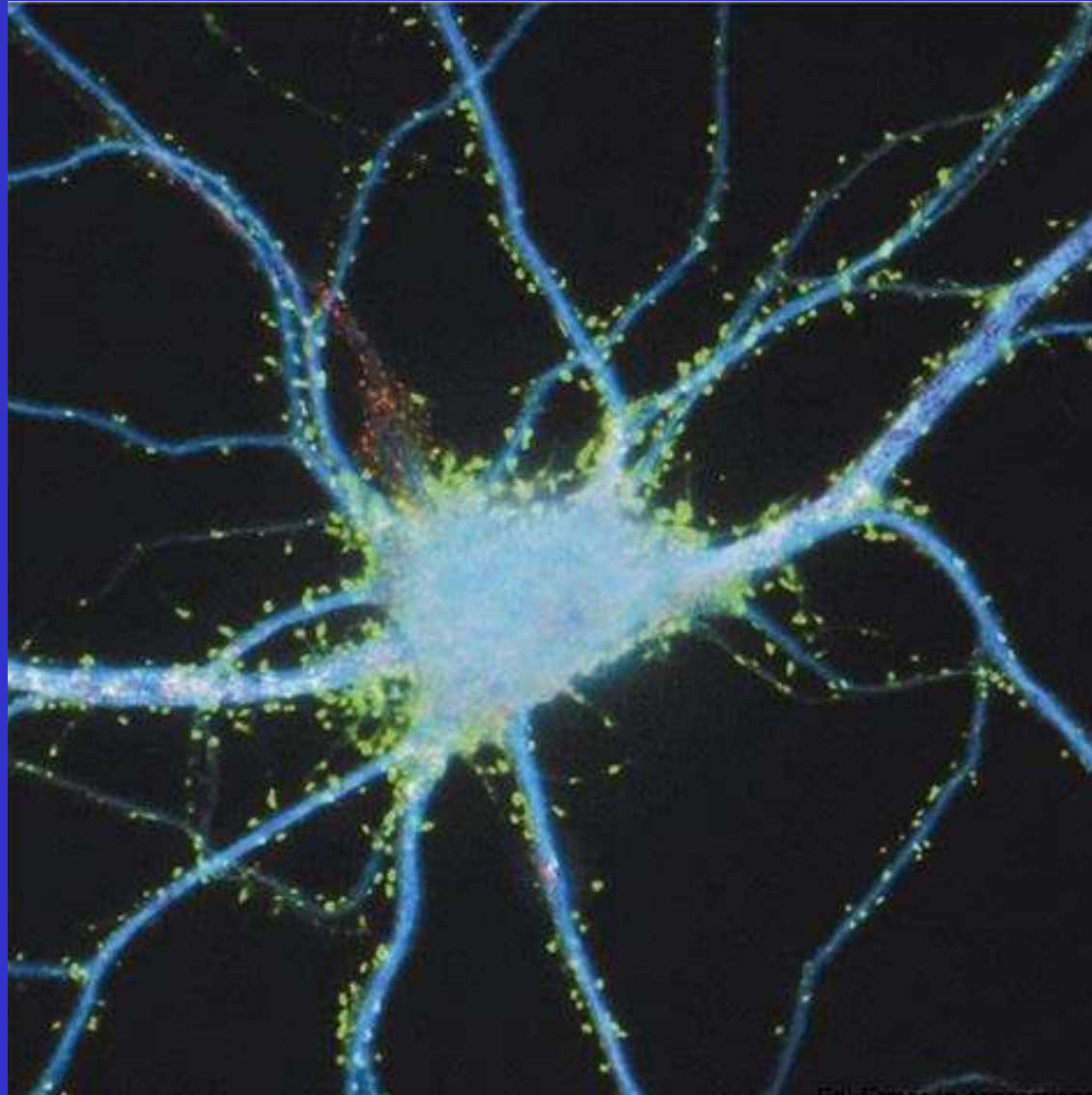
Terapie sperimentali su modelli animali

- ✓ Trapianto di cellule precursori di interneuroni (MGE) nel cervello postnatale di roditori aumenta l'inibizione GABAergica nel cervello ospite e sopprime l'attività convulsiva in animali epilettici



- ✓ Modulazione farmacologica delle sinapsi GABAergiche con agonisti e antagonisti. Ad es. antagonisti dei recettori GABAergici nel modello murino di sindrome di Down migliora i deficit cognitivi:

Fernandez F, et al. Pharmacotherapy for cognitive impairment in a mouse model of Down syndrome. *Nat Neurosci.* 2007; 10:411-3.



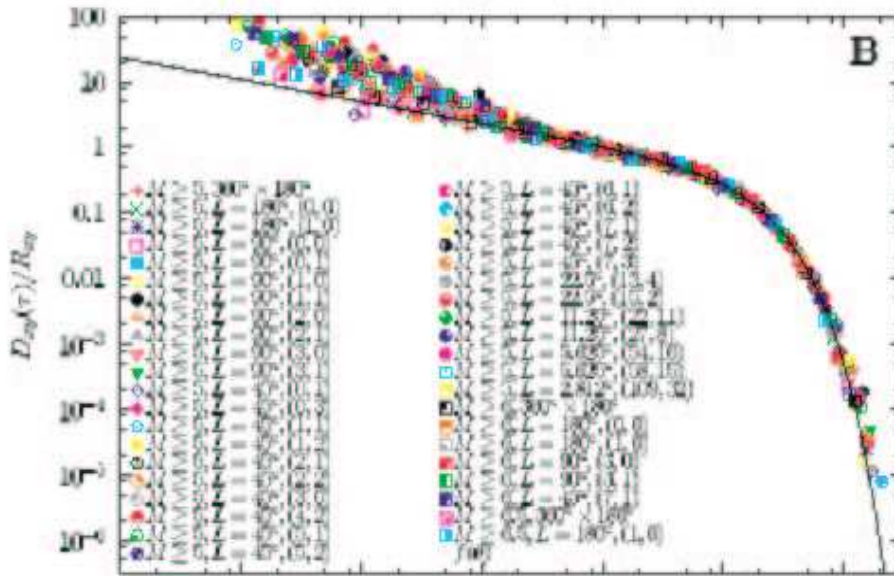
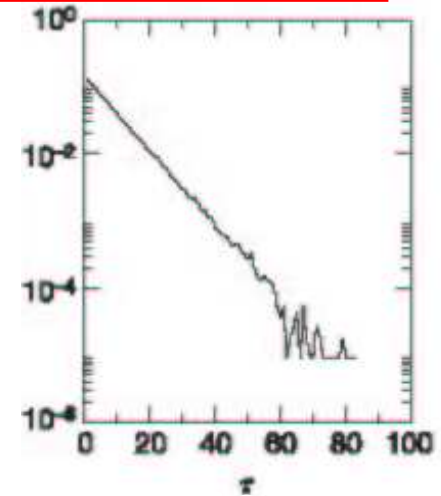
Sinapsi osservate in immunofluorescenza su un neurone di ippocampo in coltura. I neuroni sono marcati con anticorpi per riconoscere i dendriti (MAP2, blu), le sinapsi glutamatergiche (GluR1, verde) e quelle GABAergiche (GABA-R, rosso)

Temporal organization of stochastic processes

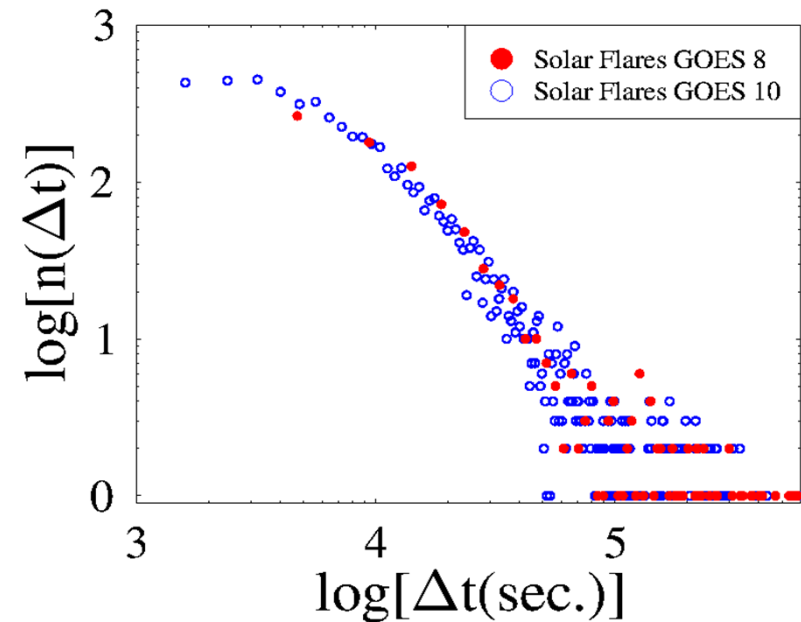
We evaluate the probability distribution of time delay Δt between consecutive events

- $P(\Delta t)$ is an exponential for a Poisson process
Barabasi, Nature 2005

- It exhibits a more complex but **monotonic** structure if temporal correlations are present in the process



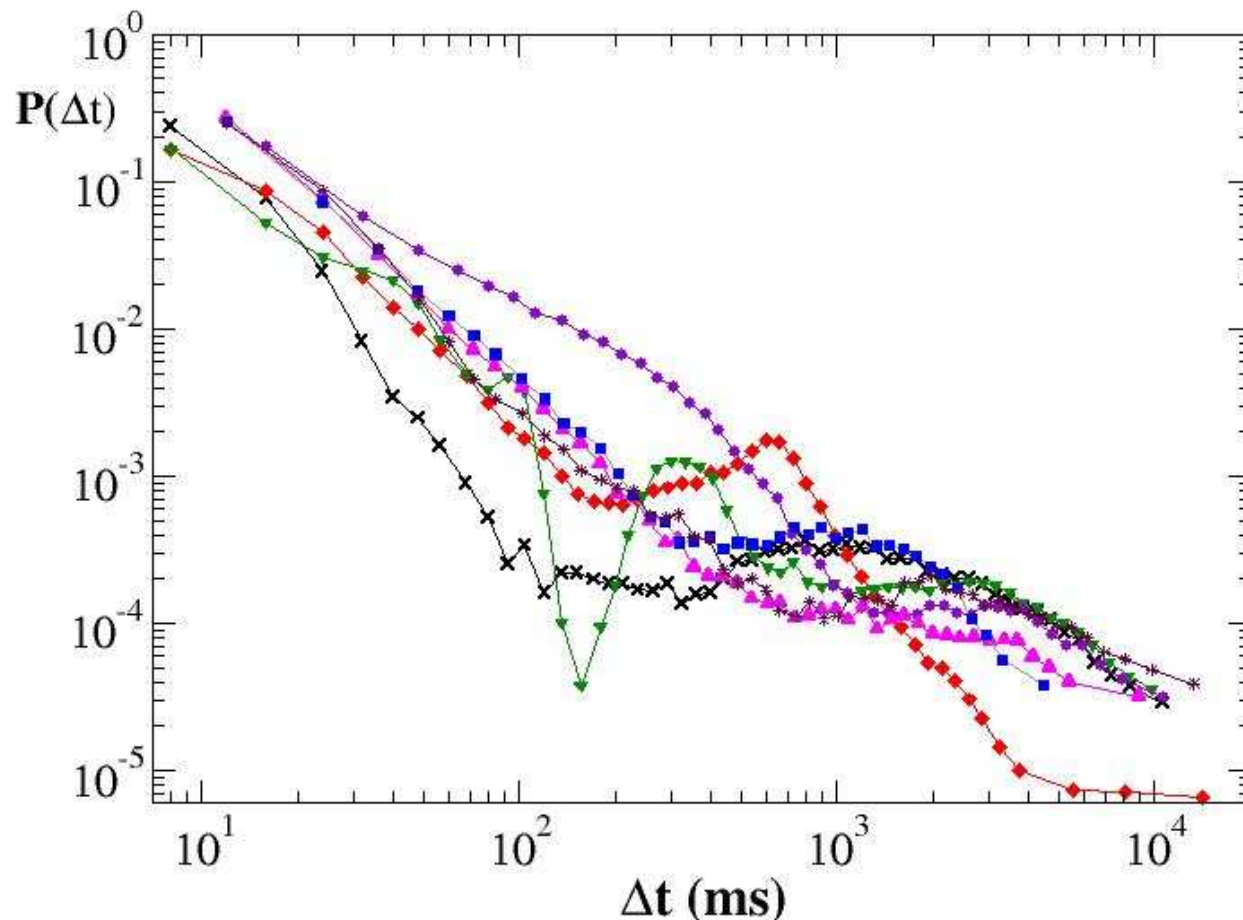
Earthquake worldwide catalog
Corral PRL 2004



Solar flares GOES catalog
Wheatland et al, Solar Physics 2002
de Arcangelis et al PRL 2006

Experimental avalanche inter-time distribution

Experiments are performed by D. Plenz on coronal slices from rat dorsolateral cortex (postnatal day 0-2; 350 μm thick) attached to a poly-D-lysine coated 60-microelectrode array and grown at 35.5 $^{\circ}\text{C}$ in normal atmosphere and standard culture medium without antibiotics for 4-6 weeks before recording. (Lombardi et al PRL 2012)



- Initial power law regime with exponent 2.15 ± 0.32
- Minimum at about $\Delta t \approx 200 \text{ms}$
- Maximum at about $\Delta t \approx 1 - 2 \text{s}$

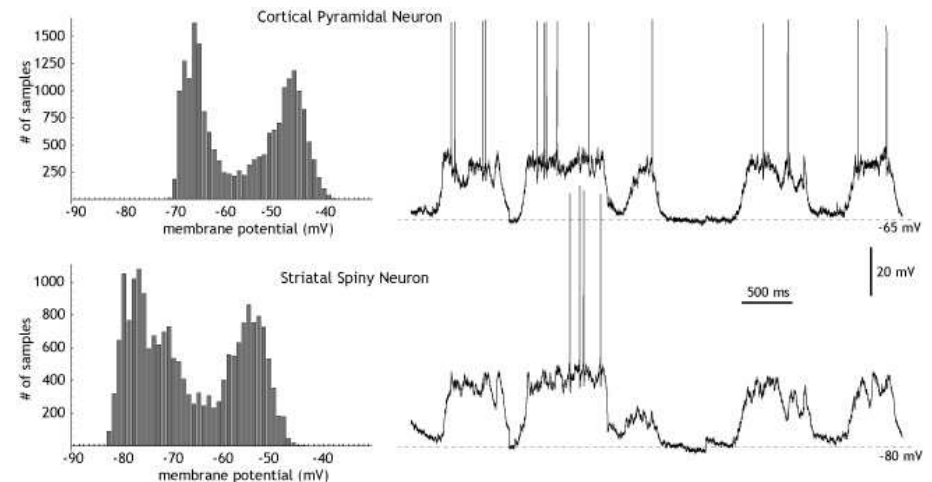
Up-states and down-states

- Spontaneous neuronal activity can exhibit slow oscillations between bursty periods, or **up-states**, and quiet periods, called **down-states**.
- **Down-states** due to a decrease in the neurotransmitter release (exhaustion of available synaptic vesicles or increase of a factor inhibiting the release, as nucleoside adenosine), the blockade of receptor channels by the presence of external magnesium, spike adaptation...
"Down-state of the network is a state of mutually-enforced quiet"
- **Network properties explain the up-state: Any input may trigger some mutual excitation and the network will re-excite itself to the up-state**
- Avalanches are critical in the up-state and subcritical in the down-state (Millman et al Nat Phys 2010)
- **The alternation between US and DS is expression of the balance between excitation and inhibition**

Wilson, Scholarpedia

Neuron state:

Neurons toggle between two preferred membrane potentials: a hyper-polarized one in the down state, and a more positive, depolarized one, in the up-state.



Implementation of up and down states

➤ **Down-state**  After an avalanche with

$$S \geq S_{\min}$$

all neurons active in the last avalanche become **hyperpolarized** depending on their own activity

$$v_i = v_i - h \delta v_i$$

$h > 0$ is a hyper-polarization constant

 **short term memory at neuron level**

System is stimulated by a small constant random drive

➤ **Up-state**  After an avalanche with

$$S < S_{\min}$$

all neurons active in the last avalanche become **depolarized** depending on the last avalanche size

$$v_i = v_{\max} (1 - s / s_{\min})$$

the smaller the last avalanche

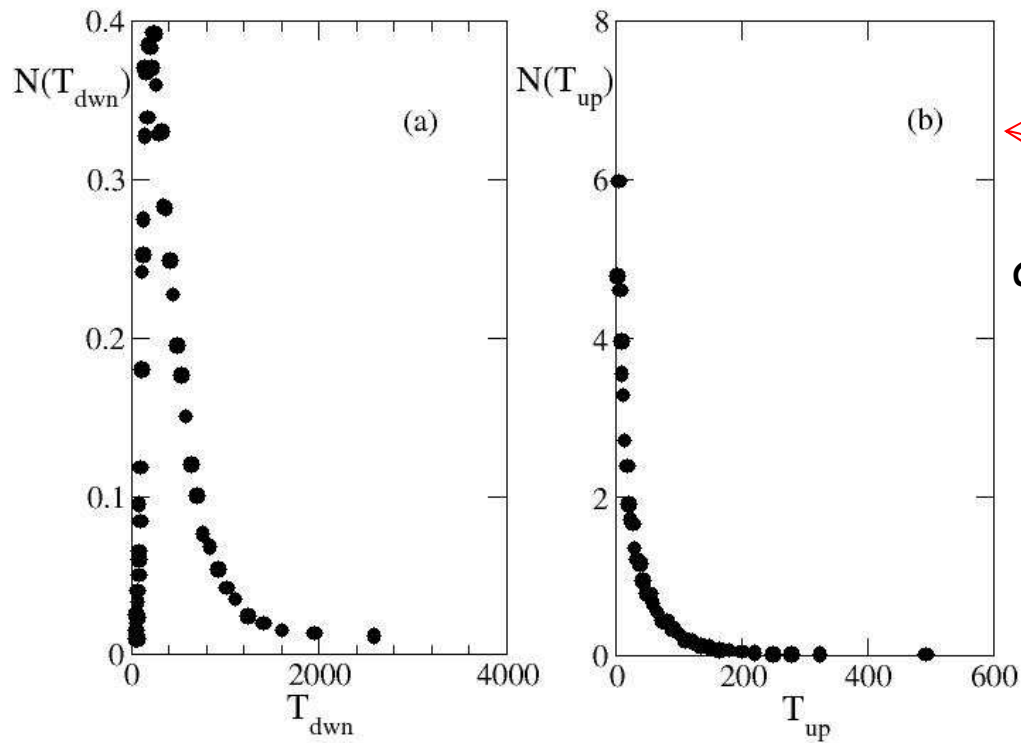
the closer the potential to the firing threshold

 **Memory at the network level**

System is stimulated by a random drive
(network effect which sustains the up-state)

$$\in]0, s_{\min} / s [$$

Durations of up and down-states

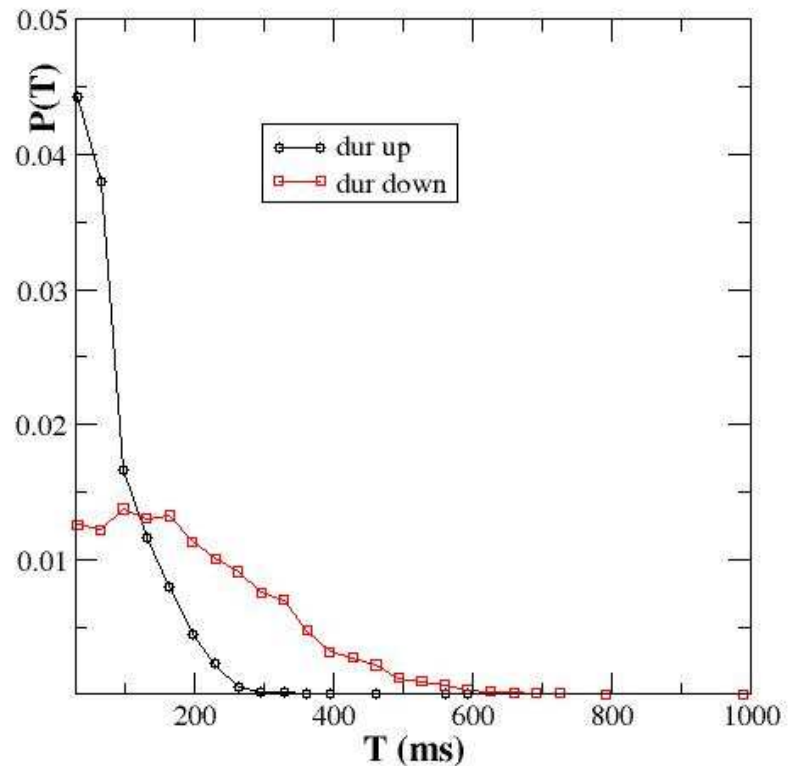


In agreement with Millman et al (Nat Phys 2010) and exp. data on mouse visual cortex (Cossart et al Nature 2003)

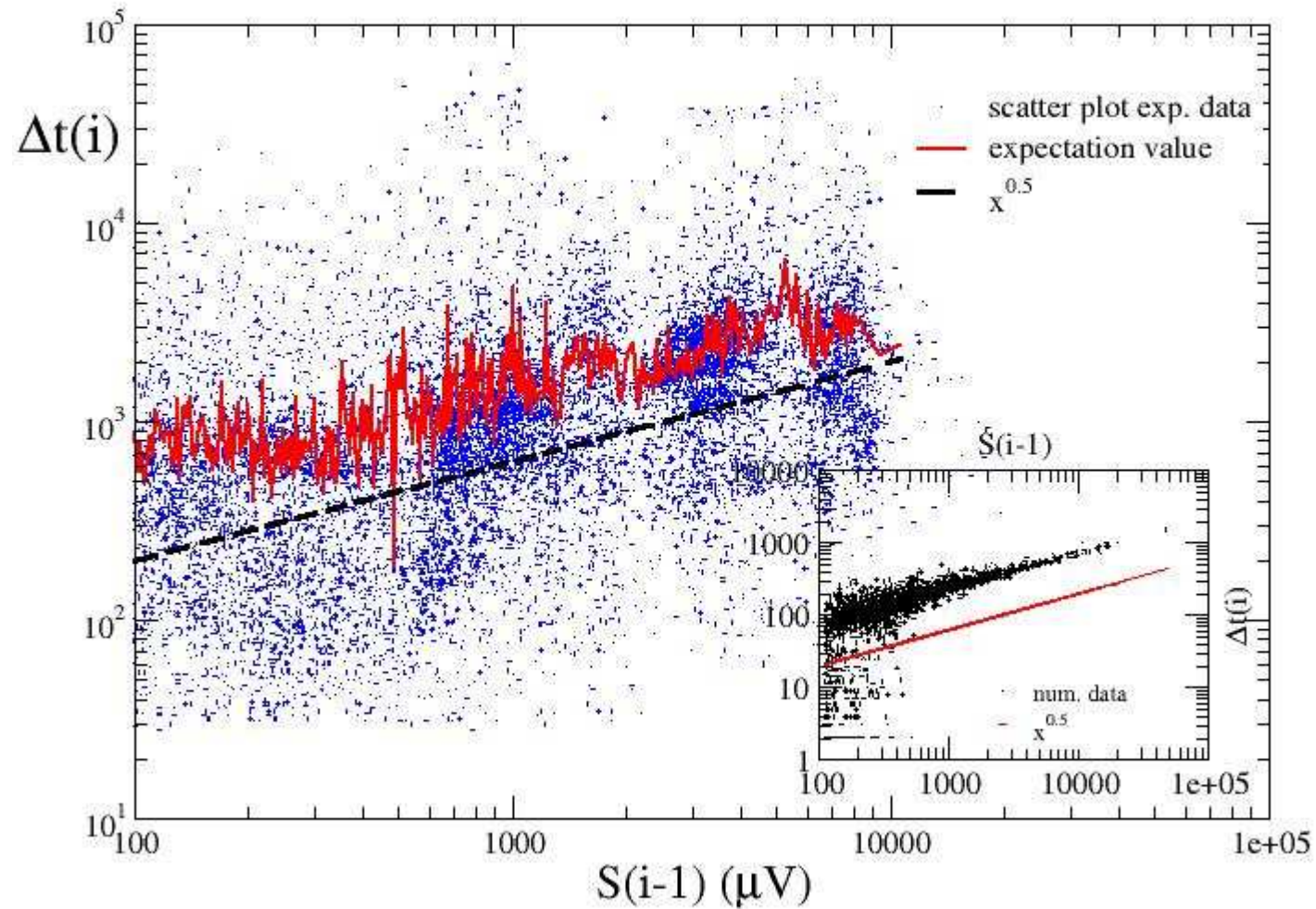
Numerical data

Down-states exhibit longer durations
Several up-states with short duration

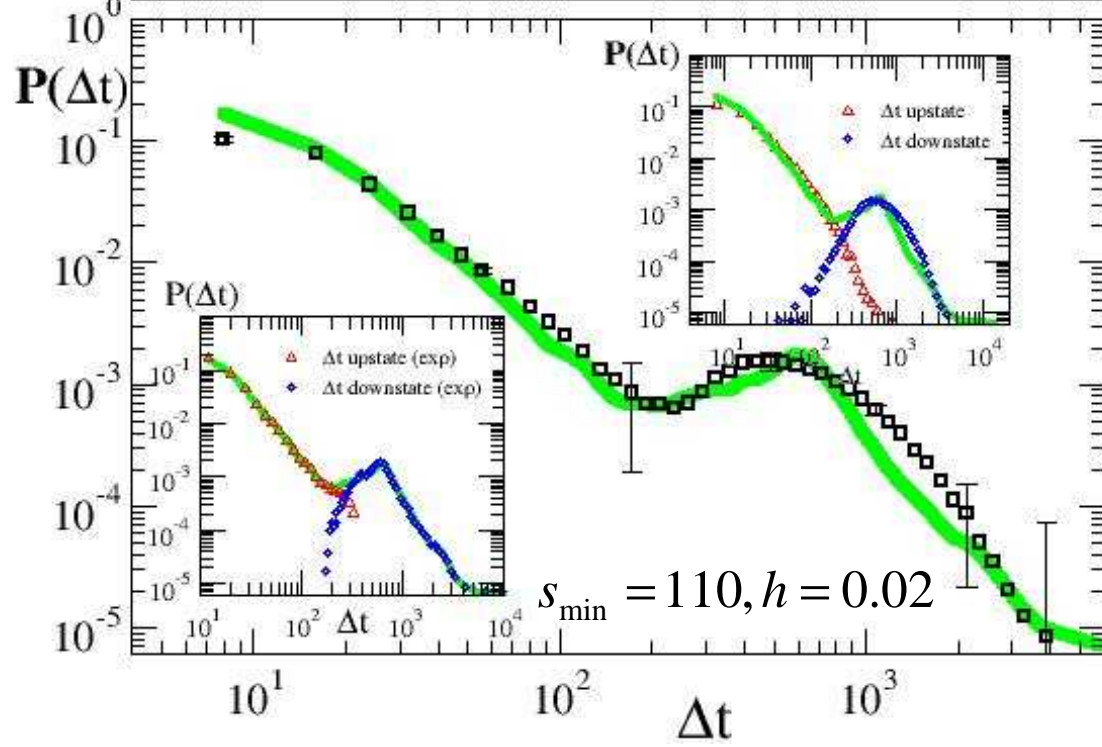
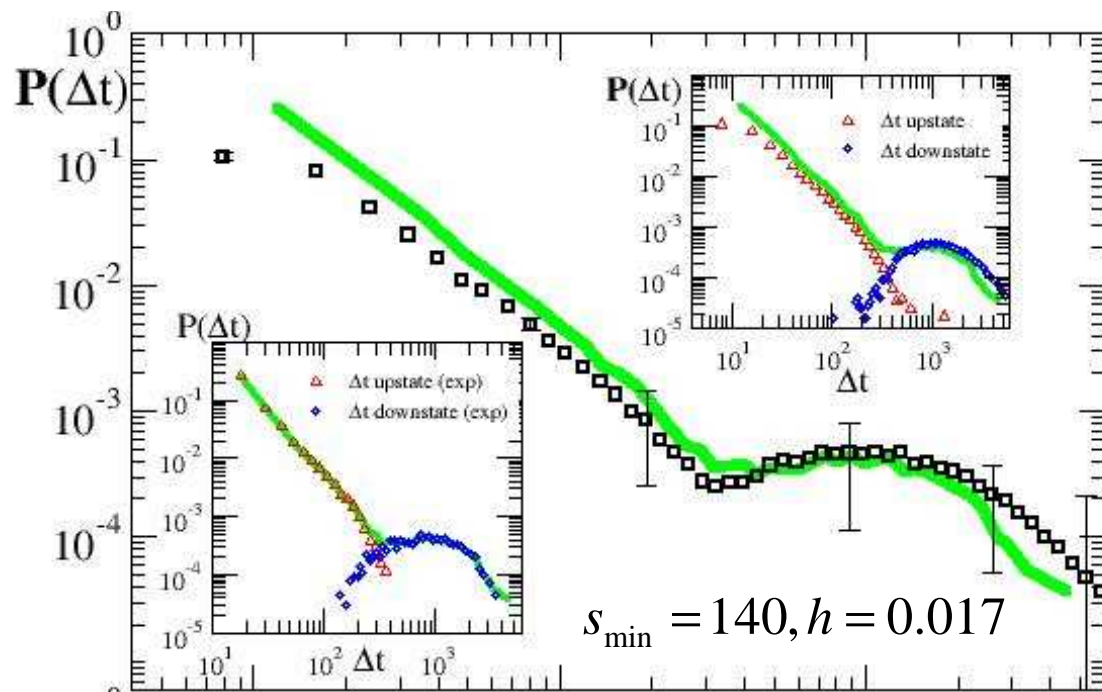
Experimental data on rat cortex slices



Scaling of inter-time with previous avalanche size



Expectation value is evaluated by averaging over a temporal window of 50 ms



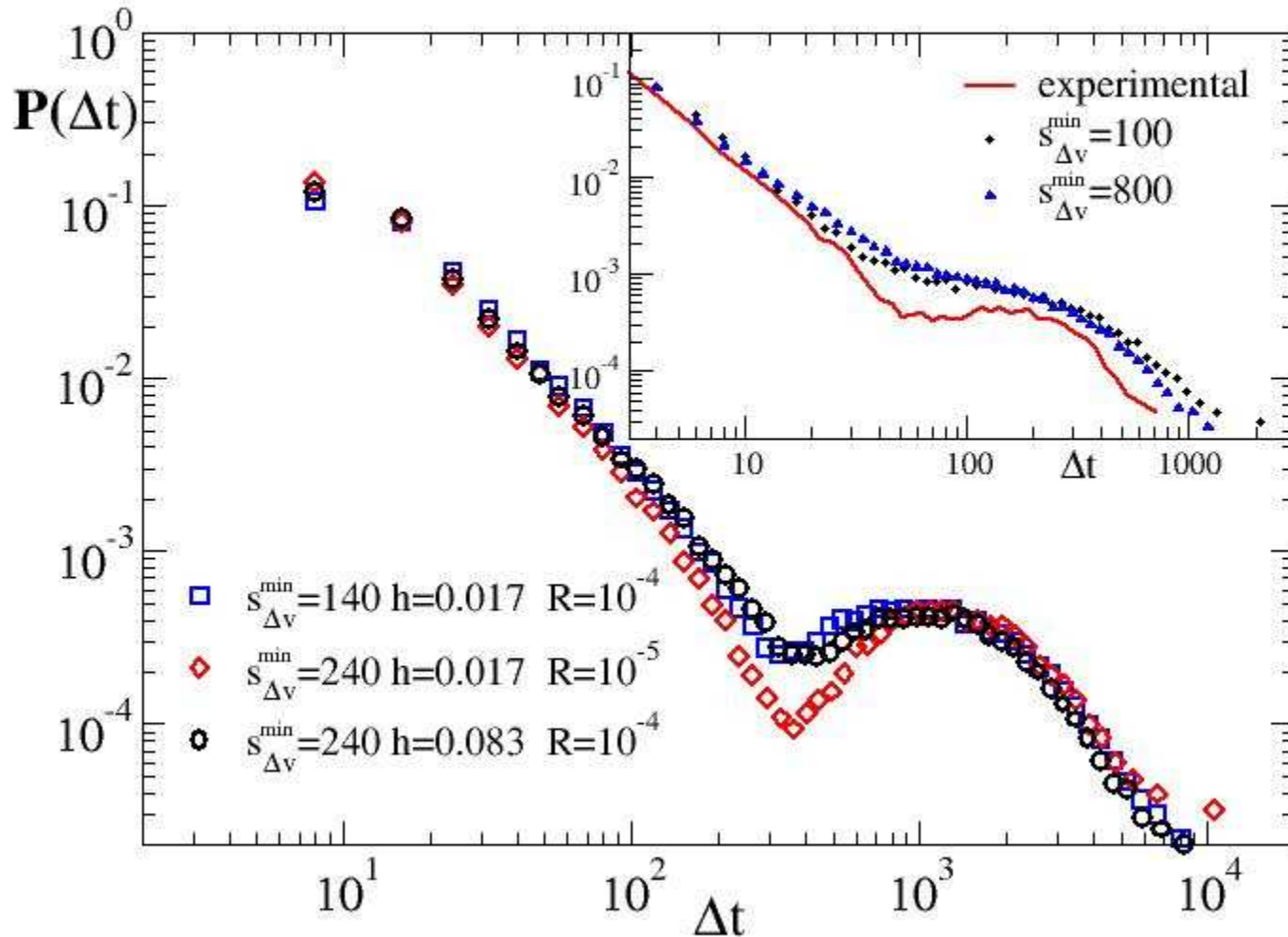
Excellent agreement
with experimental data



- ❖ Kolmogorov-Smirnov test at a $p = 0.05$ significance level. Both distributions pass the statistical test with $p = 0.99$ (bottom panel) and $p = 0.68$ (top panel).
- ❖ Linear Q-Q plots

$$R = h / s_{\min} \approx 10^{-4}$$

for both curves



simple dual drive does not work!

$$R = h / s_{\min}$$

expressing the balance between excitation and inhibition is the unique parameter controlling the distribution

→ Homeostatic regulatory mechanism

CONCLUSIONS

➤ Power law behaviour for avalanche size and duration distribution

—————> experimental data for spontaneous activity

➤ Role of inhibitory neurons in brain activity

➤ Balance between excitation and inhibition (unique parameter **R**)
controls complex avalanche temporal organization