



Ministero della Salute

**DIPARTIMENTO DELLA SANITA' PUBBLICA E
DELL'INNOVAZIONE**

Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e
Biomedica e della Vigilanza sugli Enti
Ufficio III-IV

RELAZIONE FINALE RICERCA FINALIZZATA

Istituto/D.I.	Istituto Neurologico IRCCS C. Mondino		
Titolo ricerca	Studio della risonanza ad input a frequenze in banda theta nella corteccia cerebellare: implicazioni nella atassia cerebellare. Theta-band oscillations and resonance in the cerebellum: implications for cerebellar ataxia.		
Responsabile	Sergio Solinas		
Data convenzione	25 Ottobre 2011		
Cod. ricerca	GR-2009-143804		
Data Inizio	2 Dicembre 2011	Data fine autorizzata	31 Dicembre 2014

Relazione Finale	Data Compilazione: 28 Gennaio 2015
-------------------------	---------------------------------------

A. Unità Operative partecipanti:

1) Istituto Neurologico Nazionale IRCCS C. Mondino – Brain Connectivity Center – Sergio Solinas, Via Mondino 2 Pavia 27100

B. Obiettivi del progetto:

Studio delle dinamiche di oscillazione dell'attività neuronale e loro risonanza a frequenze nella banda θ per input sensoriali nel circuito cerebro-talamo-cerebellare mediante registrazioni elettrofisiologiche *in vitro* e *in vivo* in modelli animali, modelli computazionali della corteccia cerebellare e registrazioni mediante Magneto-Encefalografia (MEG) in soggetti umani.

- Caratterizzazione elettrofisiologia delle basi cellulari dei fenomeni di risonanza presenti nello strato granulare della corteccia cerebellare.
- Riproduzione dei fenomeni di risonanza in un modello computazionale di singola cellula granulare
- Costruzione di un modello computazionale della corteccia cerebellare
- Registrazioni MEG in soggetti sani dell'attività oscillatoria e sua sincronizzazione nel circuito cerebro-talamo-cerebellare durante lo svolgimento di compiti motori ripetitivi.

C. Metodologia applicata:

Il progetto applica e coordina multiple tecnologie di ricerca scientifica:

- 1) Elettrofisiologia cellulare:
 - a) whole cell patch-clamp di neuroni nella corteccia cerebellare *in vitro*
 - b) registrazioni extra-cellulari mediante Voltage Sensitive Dye imaging
 - c) registrazioni *in vivo* di potenziali evocati nella corteccia cerebellare
- 2) Miografia e Magneto-Encefalografia correlata da soggetti umani
- 3) Modellizzazione computazione biologicamente realistica e relative simulazioni al computer



Ministero della Salute

**DIPARTIMENTO DELLA SANITA' PUBBLICA E
DELL'INNOVAZIONE**

Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e
Biomedica e della Vigilanza sugli Enti
Ufficio III-IV

D. Risultati ottenuti complessivi e delle singole unità operative:

D.1. Risultati Complessivi

La corteccia cerebellare filtra la maggior parte dei suoi input attraverso il suo strato granulare nel quale le cellule granulari costituiscono il canale di trasmissione dei segnali afferenti e le cellule del Golgi esercitano una operazione di controllo dinamico su tale canale (D'Angelo et al. 2013). Gli esperimenti di elettrofisiologia *in vitro* e *in vivo* eseguiti sullo strato granulare della corteccia cerebellare hanno evidenziato la presenza di dinamiche di risonanza alle frequenze di ripetizione degli stimoli delle fibre afferenti. Le cellule granulari mostrano un chiaro picco nell'intensità della loro risposta agli stimoli quando attivate alle frequenze comprese tra 5 Hz e 7 Hz. I protocolli sperimentali sono stati ricostruiti nelle simulazioni computazionali e hanno permesso di rilevare anche nei modelli computazionali la presenza di dinamiche di risonanza. L'uso dei modelli ha fornito uno strumento in grado di identificare l'origine delle dinamiche di risonanza nell'interazione dinamica della attivazione e inattivazione di specifici canali ionici presenti nelle cellule granulari (Gandolfi et al. 2013).

Il modello dello strato granulare è stato completato e validato mediante il confronto con i dati sperimentali registrati mediante la tecnica di Voltage Sensitive Dye Imaging riproducendo i dati precedentemente pubblicati (Mapelli et al. 2010a,b). Il modello ha permesso di indurre dinamiche di oscillazione e risonanza nella ricostruzione computazionale della rete dello strato granulare.

Lo studio delle dinamiche di risonanza è stato esteso anche al modello della cellula del Purkinje (Masoli et al. 2015) mostrandone l'attitudine ad amplificare segnali con frequenze in banda θ . Inoltre, la modellizzazione della cellula stellata dello strato molecolare ha permesso di completare la modellizzazione di tutto il circuito della corteccia cerebellare.

Durante lo svolgimento del progetto è stata compiuta la modellizzazione della Unipolar Brush cell che verrà successivamente inclusa nel modello dello strato granulare.

L'attività cerebrale e cerebellare di 4 soggetti sani di sesso maschile è stata registrata mediante un apparato di Magneto-Encefalografia (MEG, 275 channels - VSM, Vancouver Canada) contemporaneamente a registrazioni elettromiografiche dei muscoli flessori ed estensori delle dita. L'analisi dati mostra attività cerebellare nelle frequenze della banda θ in relazione al movimento ritmico del dito indice (finger tapping task).

D.2 Risultati Singole UO:

Il progetto è stato sviluppato da una singola UO.

E. Abstract Ricerca per la pubblicazione Internet

La presenza di oscillazioni nell'attività della corteccia cerebrale e cerebellare in relazione a specifici stati funzionali è supportata da molteplici evidenze sperimentali (Buzsáki, 2006, Ros et al. 2009). In particolare, le registrazioni mediante Magneto-Encefalografia (MEG) hanno collegato lo svolgimento di semplici movimenti delle dita o delle mani ad attività oscillatorie del circuito cerebellare in banda θ sincronizzate con diverse aree cerebrali, tra cui aree motorie primarie e aree premotorie (Gross et al., 2002; Pollok et al., 2005). La cooperazione del cervelletto in sincronia con le altre aree cerebrali all'interno del loop Cortico-Cerebellare (CCL) potrebbe essere un requisito fondamentale per il funzionamento dell'intero circuito. In presenza di attività ciclica in processi collettivi che coinvolgono grandi aree del cervello, l'identificazione dell'elemento



Ministero della Salute

**DIPARTIMENTO DELLA SANITA' PUBBLICA E
DELL'INNOVAZIONE**

Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e
Biomedica e della Vigilanza sugli Enti
Ufficio III-IV

circuitale promotore dell'attività oscillatoria risulta difficile e la conseguente distinzione tra elementi controllori e elementi controllati nel CCL è tuttora una questione di intenso studio. L'ipotesi principale da noi proposta stabilisce che il cervelletto amplifichi il suo input oscillatorio e lo rimandi alla corteccia cerebrale stabilendo un circuito chiuso capace di risuonare sostenendo tali oscillazioni. Il cervelletto sarebbe quindi un elemento controllato dal CCL ma essenziale per sostenerne il ritmo e la sua precisione nel ciclo oscillatorio. Per validare l'ipotesi avanzata, l'attività oscillatoria indotta nella corteccia cerebellare e le sue proprietà di risonanza sono state caratterizzate mediante registrazioni di elettrofisiologia di singole cellule, Voltage Sensitive Dye imaging e potenziali evocati in vivo dello strato granulare del cervelletto (Gandolfi et al. 2013). Dato che la registrazione di segnali MEG dalla corteccia cerebellare risulta di difficile attuazione (Dalal et al., 2013), nel corso del progetto sono stati utilizzati e validati con successo nuovi metodi di analisi dei segnali MEG registrati da soggetti umani sani confermando la presenza di attività oscillatoria in banda θ . I risultati sperimentali ottenuti sono stati integrati in un modello computazionale biologicamente realistico della rete della corteccia cerebellare. Il modello computazionale è in grado di riprodurre le oscillazioni dell'attività registrata nella rete cerebellare e manifesta dinamiche di risonanza a stimoli ripetuti a frequenze nella banda θ . Il percorso di risultati sperimentali e modellistici ottenuti hanno dimostrato che il cervelletto amplifica gli input oscillatori in banda θ confermando la validità dell'ipotesi fondamentale avanzata dal progetto.

F1. Prodotti della Ricerca (correlati al progetto)

Le ricerche scientifiche condotte hanno prodotto un corpo di evidenze sperimentali che sono state riassunte in un modello computazionale della corteccia cerebellare. Il modello così costruito rappresenta un concreto contributo all'insieme delle conoscenze scientifiche disponibili in letteratura. Questo risultato colma un vuoto considerevole nell'insieme dei modelli computazionali attualmente disponibili fornendo in un unico modello una descrizione funzionale coerente delle principali evidenze sperimentali sinora documentate sulla elettrofisiologia e funzione cerebellare. Il modello è inoltre stato trasferito sulla piattaforma di simulazione dello HUMAN BRAIN PROJECT in modo da favorirne l'integrazione in un framework di simulazione più ampio agevolando il riutilizzo del modello stesso in lavori di ricerca futuri. Allo stesso modo, l'uso del modello computazionale insieme all'applicazione di metodi di analisi avanzati alla ricostruzione di segnali MEG registrati dalla corteccia cerebellare permetterà un ulteriore sviluppo di questa tecnica di diagnosi non-invasiva nella diagnosi precoce di patologie neurodegenerative.

F.2 Elenco pubblicazioni su riviste indicizzate

1. Masoli S, Solinas S, D'Angelo E (2015) Action potential processing in a detailed Purkinje cell model reveals a critical role for axonal compartmentalization. *Front Cell Neurosci* in press.
2. Yoosef A, Parasuram H, Medini C, Solinas S, D'Angelo E, Nair B, Diwakar S (2014) Parallelization of a Computational Model of a Biophysical Neuronal Circuitry of Rat Cerebellum. In: *Proceedings of the 2014 International Conference on Interdisciplinary Advances in Applied Computing*, p 48: ACM.
3. Subramaniyam S, Solinas S, Perin P, Locatelli F, Masetto S, D'Angelo E (2014) Computational modeling predicts the ionic mechanism of late-onset responses in unipolar brush cells. *Frontiers in cellular neuroscience* 8.
4. Rössert C, Solinas S, D'Angelo E, Dean P, Porrill J (2014) Model cerebellar granule cells can faithfully transmit modulated firing rate signals. *Frontiers in cellular neuroscience* 8.
5. Mapelli L, Solinas S, D'Angelo E (2014) Integration and regulation of glomerular inhibition in the cerebellar granular layer circuit. *Frontiers in cellular neuroscience* 8.



Ministero della Salute

**DIPARTIMENTO DELLA SANITA' PUBBLICA E
DELL'INNOVAZIONE**

Direzione Generale della Ricerca Sanitaria e
Biomedica e della Vigilanza sugli Enti
Ufficio III-IV

6. Subramaniam S, Perin P, Locatelli F, Masetto S, Solinas S, D'Angelo E (2013) The mechanisms of late-onset synaptic responses in a realistic model of Unipolar Brush Cells. *BMC Neuroscience* 14:P79.
7. Solinas S, Colnaghi T, D'Angelo E (2013) Ensemble neuronal responses in a large-scale realistic model of the cerebellar cortex. *BMC Neuroscience* 14:P82.
8. Gandolfi D, Lombardo P, Mapelli J, Solinas S, D'Angelo E (2013) Theta-frequency resonance at the cerebellum input stage improves spike timing on the millisecond time-scale. *Frontiers in neural circuits* 7.
9. D'Angelo E, Solinas S, Garrido J, Casellato C, Pedrocchi A, Mapelli J, Gandolfi D, Prestori F (2013) Realistic modeling of neurons and networks: towards brain simulation. *Functional neurology* 28:153.
10. Gleeson P, Piasini E, Crook S, Cannon R, Steuber V, Jaeger D, Solinas S, D'Angelo E, Silver RA (2012) The Open Source Brain Initiative: enabling collaborative modelling in computational neuroscience. *BMC Neuroscience* 13:O7.
11. Gandolfi D, Lombardo P, Mapelli J, Solinas S, D'Angelo E (2012) Theta-frequency resonance emerges from intrinsic properties of neurons and synapses in the cerebellum granula layer circuit. In: *ACTA PHYSIOLOGICA*, pp 49-49.
12. D'Angelo E, Solinas S, Mapelli J, Gandolfi D, Mapelli L, Prestori F (2012) The cerebellar Golgi cell and spatiotemporal organization of granular layer activity. *Frontiers in neural circuits* 7.