



Universidade Federal da Paraíba
Centro de Ciências Humanas, Letras e Artes
Programa de Pós-Graduação em Neurociência Cognitiva e Comportamento

Modelo computacional sobre a dinâmica temporal da neurogênese no giro denteado e seu impacto nas funções de memória do CA3

Marlon Valmórbida Cendron

João Pessoa - PB
2025

Marlon Valmórbida Cendron

**Modelo computacional sobre a dinâmica temporal
da neurogênese no giro denteado e seu impacto
nas funções de memória do CA3**

Projeto a ser apresentado no Centro de Ciências Humanas, Letras e Artes da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação de Flávio Freitas Barbosa e coorientação de Wilfredo Blanco Figuerola, no mês de Agosto de 2025.

Orientador: Flávio Freitas Barbosa
Coorientador: Wilfredo Blanco Figuerola

Resumo

Resumo

Palavras-chave: Palavra1. Palavra2. Palavra3. Palavra4. Palavra5.

Lista de tabelas

Tabela 1	–	Parâmetros do modelo Izhikevich por tipo de neurônio.	15
Tabela 2	–	Parâmetros das sinapses entre as populações neuronais. Conexões aleatórias ocorrem entre todas as células de ambas as populações; conexões lamelares ocorrem entre células da mesma lamela; conexões interlamelares ocorrem entre as células de uma lamela com todas as demais. A probabilidade de conexão P diz respeito à porcentagem de conexões entre as populações neuronais de acordo com a condição de conexão.	17
Tabela 3	–	Cronograma	23

Lista de ilustrações

Figura 1 – Arquitetura da rede DG-CA3. Sinapses inibitórias são representadas por círculos e excitatórias por flechas.	12
Figura 2 – Regra STDP simétrica e hebbiana com $A = 70$	18

Sumário

1	INTRODUÇÃO	7
2	JUSTIFICATIVA	9
3	OBJETIVOS	10
3.1	Objetivo geral	10
3.2	Objetivos específicos	10
4	HIPÓTESES	11
5	MATERIAIS E MÉTODOS	12
5.1	Modelo da rede neural DG-CA3	12
5.2	Modelo de neurônio	14
5.3	Modelo de sinapse	15
5.4	Plasticidade de longo prazo	16
5.5	Neurogênese temporal	18
5.6	Separação de padrões	19
5.7	Auto-associação e completamento de padrões	20
5.7.1	Protocolo de treinamento e teste	20
5.7.2	Quantificação	21
6	RESULTADOS	22
6.1	Separação de padrões	22
6.2	Auto-associação	22
7	CRONOGRAMA	23
	REFERÊNCIAS	24

1 Introdução

Ao hipocampo atribui-se fundamental papel na codificação, consolidação e recordação de memórias declarativas (EICHENBAUM, 1999). O hipocampo dos mamíferos recebe aferências de diversas áreas de associação do cérebro, onde informações de várias modalidades sensoriais são combinadas, através do córtex para-hipocampal, que inclui, de principal importância, o córtex entorrinal (CE) (EICHENBAUM, 2000). Com toda essa informação sensorial convergindo para o hipocampo, ele codifica associações de eventos experienciados, servindo sua principal função de aprendizado e memória (BERDUGO-VEGA; DHINGRA; CALEGARI, 2023; HENKE, 2010).

Simplista e tradicionalmente, a estrutura do hipocampo tem sido descrita como sendo composta principalmente pelo circuito tri-sináptico (GD - CA3 - CA1). O CE serve como principal entrada para o giro denteado (GD), através da via perfurante (VP), seus neurônios se conectam com as células granulares (CG) numa razão de 1:10; importante, o CE também envia aferências para CA3 e CA1, o que vai contra a noção simplista de que o hipocampo é composto apenas pelo circuito tri-sináptico (BASU; SIEGELBAUM, 2015). Justamente por essa conectividade divergente do CE para o GD, acredita-se que o GD seja responsável por uma função computacional chamada separação de padrões, através de sua atividade esparsa e da frequência de disparos das CGs (HAINMUELLER; BARTOS, 2020; KESNER; HOPKINS, 2006; YASSA; STARK, 2011). A separação de padrões desambigua informações similares, permitindo identificar e diferenciar experiências distintas mas extremamente similares, por exemplo experiências de um mesmo lugar, com as mesmas pessoas e objetos presentes e em uma rotina similar (EICHENBAUM, 2004).

A projeção do giro denteado (GD) para o CA3 é altamente convergente. As células piramidais do CA3 (PCA3) excitam interneurônios e outras PCA3s, formando uma rede associativa com conexões recorrentes em uma ampla área, mas com baixa conectividade, permitindo a aquisição e recordação de representações neurais através do completamento de padrões (DUIGOU et al., 2014). Através dos colaterais de Schaffer, o CA3 projeta-se ao CA1, que atua como uma interface entre o hipocampo e o córtex, onde memórias são consolidadas e recordadas (BARTSCH et al., 2011).

Além do seu papel fundamental na separação de padrões, o GD é uma das únicas áreas do encéfalo de mamíferos que apresenta neurogênese adulta, a formação de novos neurônios a partir de células-tronco após o desenvolvimento, gerando células granulares jovens continuamente durante a vida (BOLDRINI et al., 2018). A neurogênese adulta em mamíferos ocorre apenas em algumas outras áreas específicas, como no bulbo olfatório em roedores e possivelmente no estriado, amígdala e hipotálamo em humanos (ALONSO; PETIT; LLEDO, 2024; JURKOWSKI et al., 2020). CGs jovens (CGj) apresentam características eletrofisiológicas distintas cerca de quatro a seis semanas após o nascimento, período em que formam conexões com o CA3 (ZHAO

et al., 2006), desenvolvem dendritos complexos e mostram maior plasticidade sináptica e hiperexcitabilidade comparadas às CGs adultas (CGas) (AIMONE et al., 2014), oferecendo uma janela crítica para a plasticidade e a codificação de memória (BERDUGO-VEGA; DHINGRA; CALEGARI, 2023).

Dada a dificuldade de experimentação no GD e a complexidade da informação processada no hipocampo, modelos computacionais têm sido inestimáveis para compreender o papel da neurogênese, que ainda não é bem entendida (AIMONE, 2016). Modelos computacionais variam em escala, realismo biológico, circuitos modelados e diversos outros fatores; portanto há uma gama de diferentes resultados acerca da função da neurogênese, mas as principais teorias postulam que as CGjs estão envolvidas ou diretamente com a codificação de memórias, ou como moduladoras do sistema (AIMONE, 2016; BERDUGO-VEGA; DHINGRA; CALEGARI, 2023).

Este projeto de mestrado propõe uma abordagem inovadora ao empregar um modelo computacional do hipocampo para investigar a função da neurogênese adulta no GD e as consequências dela no CA3, com o objetivo de completar lacunas no entendimento da função da neurogênese na codificação, armazenamento e recordação de memórias.

2 Justificativa

Muito embora já existam diversos trabalhos que tentam definir uma função para a neurogênese, o papel desempenhado pelas células imaturas geradas por ela no circuito que integram, bem como o que ocorre com esse circuito durante sua maturação ainda não são entendidos (AIMONE, 2016; AIMONE; GAGE, 2011; BERDUGO-VEGA; DHINGRA; CALEGARI, 2023; FARES et al., 2019).

Diversos estudos acerca desse tema têm se concentrado principalmente nos efeitos da neurogênese no próprio DG e na separação de padrões realizada por tal (BERDUGO-VEGA; DHINGRA; CALEGARI, 2023; KIM; LIM, 2024a; WANG; YANG; SUN, 2024), negligenciando seu impacto nas regiões conectadas, como a área CA3. Portanto, este projeto visa preencher essa lacuna ao examinar também como as iGCs afetam as funções de memória da área CA3 (auto-associação e completamento de padrões), e como as retroprojeções dessa área para o DG influenciam o sistema (MYERS; SCHARFMAN, 2011), visando um modelo mais holístico e biologicamente realista.

Também é comum que diversos trabalhos estudem a função de uma população de iGCs estática (AIMONE, 2016; BERDUGO-VEGA; DHINGRA; CALEGARI, 2023), sendo muito raros modelos que levem em consideração a maturação dessas células através do tempo e a substituição de mGCs (AIMONE; WILES; GAGE, 2009). Esses estudos podem explicar a função (ou falta de) dessas células imaturas apenas enquanto imaturas, mas não são capazes de explicar como essa fase impacta essas células ao maturarem.

Portanto, este estudo se justifica pela sua abordagem inovadora, preenchendo as lacunas existentes na literatura ao simular a maturação das iGCs e suas consequências no CA3.

3 Objetivos

3.1 Objetivo geral

Desenvolver um modelo em escala reduzida, porém com alto grau de fidelidade biológica, baseado em dados experimentais, do circuito DG-CA3 para analisar os impactos da neurogênese adulta na capacidade de auto-associação e completamento e separação de padrões.

3.2 Objetivos específicos

- Analisar os efeitos da neurogênese adulta na separação de padrões do DG em diferentes condições de similaridade dos padrões de entrada.
- Considerar os efeitos da integração incompleta das iGCs no circuito, simulando diferentes níveis de conectividade.
- Analisar os efeitos da integração das iGCs no circuito na auto-associação e completamento de padrões do CA3, bem como seu papel na ativação de assembleias neuronais.
- Simular a maturação das GCs geradas pela neurogênese adulta através do tempo.

4 Hipóteses

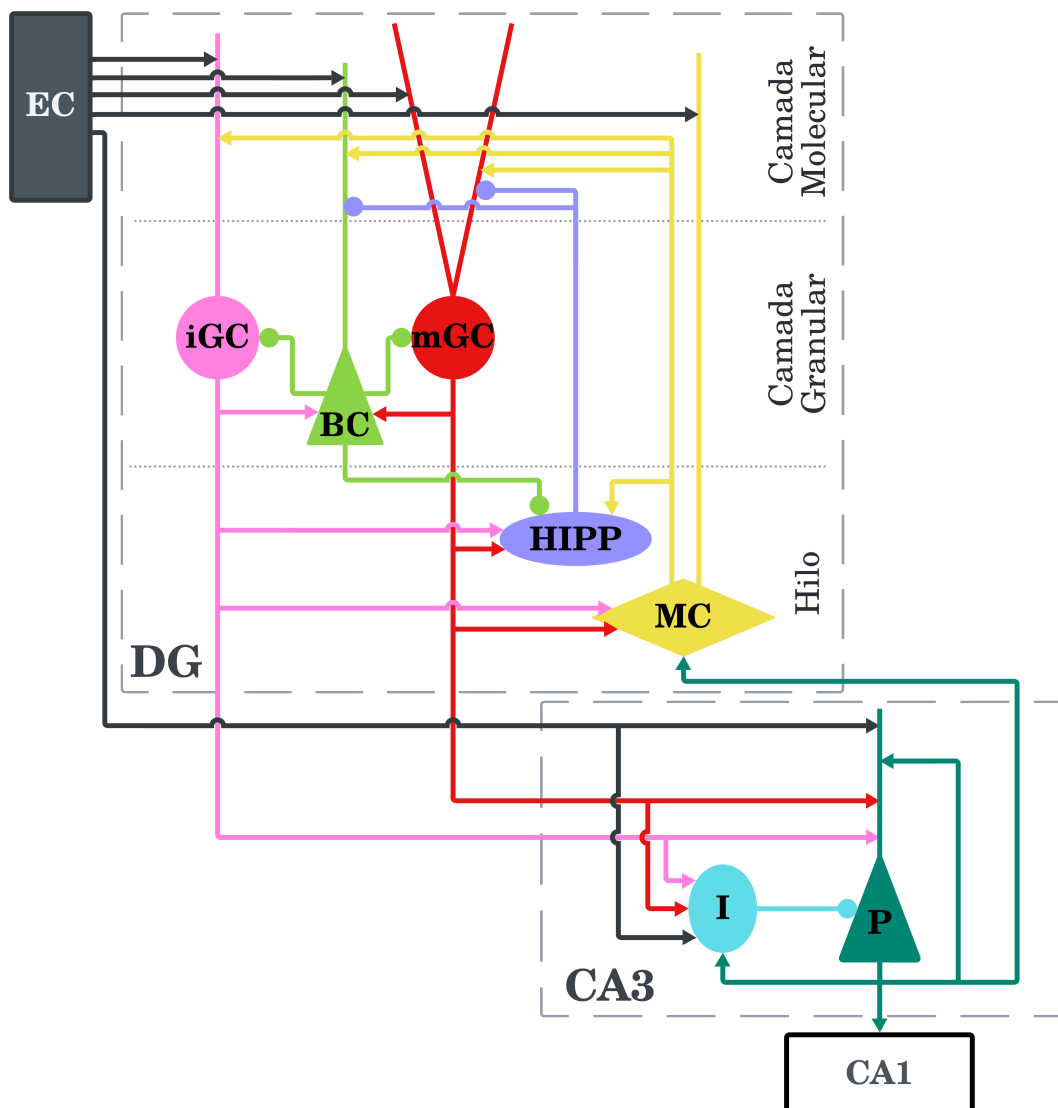
Hipóteses

5 Materiais e Métodos

5.1 Modelo da rede neural DG-CA3

Baseada principalmente nos modelos de (KOPSICK et al., 2024; KIM; LIM, 2024a; YANG; SUN; WANG, 2025; CHAVLIS; PETRANTONAKIS; POIRAZI, 2017), a arquitetura da rede DG-CA3 foi modelada conforme a Figura 1 em escala $\frac{1}{500}$ do hipocampo do rato. Os neurônios foram modelados de forma simples, com um único compartimento, mas com alta fidelidade biológica, utilizando os modelos neuronais e sinápticos, o censo e dados de conectividade do Hippocampome.org, uma base de conhecimento de acesso livre que compila diversas fontes de dados sobre a formação hipocampal (WHEELER et al., 2023).

Figura 1 – Arquitetura da rede DG-CA3. Sinapses inibitórias são representadas por círculos e excitatórias por flechas.



A entrada da rede é composta pelas células do córtex entorrinal (EC, *Entorhinal Cortex*), com um total de $N_{EC} = 400$ neurônios (AMARAL; ISHIZUKA; CLAIBORNE, 1990; KIM; LIM, 2024a). Em cada simulação, o EC como um todo apresenta um padrão específico, onde cada padrão é representado por uma subpopulação de 10% de neurônios do EC ativa (MCNAUGHTON; CHEN; MARKUS, 1991). Os neurônios inativos não pertencentes ao padrão não disparam durante a simulação, enquanto que os neurônios ativos disparam de acordo com a distribuição de Poisson com uma taxa de disparo de $\lambda = 40$ Hz. Os neurônios do EC projetam seus axônios através da via perfurante para neurônios com dendritos na camada molecular do DG: células granulares (GC, *Granule Cells*), células musgosas (MC, *Mossy Cells*) (SCHARFMAN; MYERS, 2013) e células em cesto (BC, *Basket Cells*); bem como para os neurônios do CA3.

As GCs são subdivididas em duas subpopulações: as células granulares maduras (mGC, *mature Granule Cells*) e as células granulares imaturas (iGC, *immature Granule Cells*), representando as GCs geradas por neurogênese adulta em sua fase eletrofisiológica característica de 3-4 semanas de idade (AIMONE et al., 2014). No total, a rede é composta por $N_{GC} = 2000$ GCs ($\frac{1}{500}$ das 10^6 células granulares do rato) (WEST; SLOMIANKA; GUNDERSEN, 1991), com 5% delas sendo iGCs (CAMERON; MCKAY, 2001), ou seja $N_{mGC} = 1900$ e $N_{iGC} = 100$. Seguindo a organização lamelar do DG (SLOVITER; LØMO, 2012), as GCs são distribuídas em 20 lamelas, com 100 células por lamela. Cada GC conecta-se com as BCs, MCs e neurônios do CA3 da mesma lamela, bem como faz conexões excitatórias aleatórias e não lamelares com as células inibitórias do hilo associadas à via perfurante (HIPPI, *Hilar Perforant Path-associated*).

As iGCs, diferentemente das mGCs, não recebem inibição das HIPPs e possuem características eletrofisiológicas distintas, o que as torna mais excitáveis que as mGCs. Além do mais, para simular a ainda não completa integração no circuito, as iGCs recebem aferências do EC apenas em uma fração $x_{EC:iGC}$ da probabilidade de conexão entre o EC e as mGCs. O Hippocampome.org (WHEELER et al., 2023) não fornece as características das iGCs. Portanto, os parâmetros utilizados para as iGCs foram ajustados a partir dos dados de disparos de Espósito et al. (2005) utilizando o método de Nelder e Mead (1965) (Tabela 1).

As BCs ($N_{BC} = 40$) são células inibitórias que garantem a ativação esparsa das GCs através da competição de estilo “vencedor leva tudo” entre elas (COULTRIP; GRANGER; LYNCH, 1992; CHAVLIS; PETRANTONAKIS; POIRAZI, 2017; KIM; LIM, 2024a), onde apenas as GCs mais ativas de uma lamela se mantêm ativas, inibindo as demais. As HIPPs ($N_{HIP} = 60$) também contribuem para a esparsidade da ativação das GCs, com uma inibição mais global, que atua sobre todas as GCs de uma lamela. As MCs ($N_{MC} = 100$) são células excitatórias do hilo que recebem excitação das GCs e que se projetam para as GCs, BCs e HIPPs através de conexões interlamelares. Por mais que existam essas projeções excitatórias das MCs para as GCs, seu efeito é, em geral, inibitório através do controle das BCs e HIPPs (MYERS; SCHARFMAN, 2009; SCHARFMAN; MYERS, 2013).

Os parâmetros das HIPPs presentes no Hippocampome.org (WHEELER et al., 2023) modelam a característica de “rajada de disparos de rebote” (tradução livre do inglês “*rebound*

burst firing”), em que o neurônio apresenta uma rajada de disparos após o final de um período de hiperpolarização. Esse modelo é incompatível com a rede, pois grandes hiperpolarizações levam a rajadas de disparos infinitas. Portanto, os parâmetros utilizados para as HIPPs foram retirados de Modak e Chakravarthy (2018).

O CA3, diferentemente do DG, não segue uma estrutura lamelar no modelo, já que ele forma uma rede neural muito mais integrativa (PAK et al., 2022; WATSON et al., 2025). O modelo do CA3 é composto por 600 neurônios piramidais ($N_{PCA3} = 600$) e 60 neurônios inibitórios ($N_{ICA3} = 60$), modelados de acordo com os dados fisiológicos das células em cesto do CA3 (WHEELER et al., 2023) de forma a simplificar a variedade de neurônios inibitórios presentes no CA3 (KOPSICK et al., 2024). Ambas as populações neuronais recebem aferências do EC e das GCs, com as ICA3s inibindo as PCA3s. As PCA3s excitam as ICA3s e, importante, formam uma rede recorrente ao conectarem-se com outras PCA3s, característica fundamental para as funções de auto-associação e completamento de padrões do CA3 (KOPSICK et al., 2024; ROLLS, 2013). As PCA3s também enviam retroprojeções para o DG, conectando-se com as MCs no modelo, processo que contribui para a separação de padrões (MYERS; SCHARFMAN, 2011).

Todas as simulações foram realizadas com o Brian2 (STIMBERG; BRETTE; GOODMAN, 2019), utilizando o método de Runge-Kutta de 4ª ordem com passo de tempo fixo de 0.1 ms (BUTCHER, 1996). Os parâmetros dos neurônios e suas sinapses podem ser encontrados nas Tabelas 1 e 2, respectivamente. A duração de uma única simulação para um padrão de entrada é de 0.5 s para que a rede alcance um estado de equilíbrio, com a fase de gravação de padrões ocorrendo em seguida por 1 s.

5.2 Modelo de neurônio

Os neurônios foram modelados de acordo com o modelo de neurônio de Izhikevich de 9 parâmetros (IZHIKEVICH, 2006, cap. 8) e um único compartimento, sem considerar dendritos ou axônios. Esse modelo foi escolhido neste trabalho e por Wheeler et al. (2023) por ser capaz de capturar o comportamento dinâmico de neurônios em uma ampla variedade de condições com plausibilidade biológica, como o modelo de Hodgkin-Huxley (HODGKIN; HUXLEY, 1952), ao mesmo tempo em que apresenta um modelo matemático mais simples e computacionalmente mais eficiente. O modelo de neurônio de Izhikevich é descrito pelas seguintes equações:

$$C_m \frac{dV_m}{dt} = k(V_m - V_r)(V_m - V_t) - u + I \quad (5.1)$$

$$\frac{du}{dt} = a[b(V_m - V_r) - u] \quad (5.2)$$

Onde V_m é o potencial de membrana, u é a variável de recuperação, C_m é a capacitância da membrana, V_r é o potencial de repouso, V_t é o potencial de limiar, I é a corrente total que flui para

o neurônio e k , a e b são constantes que definem as características dinâmicas do neurônio. Além das equações diferenciais acima, que definem a evolução temporal do potencial de membrana e da variável de recuperação, o modelo de neurônio de Izhikevich também inclui uma regra para a geração de potenciais de ação, definida pela equação 5.3.

$$\text{se } V_m \geq V_{\text{peak}}, \quad \begin{cases} V_m \leftarrow V_{\text{min}} \\ u \leftarrow u + d \end{cases} \quad (5.3)$$

Quando o potencial de membrana atinge o valor de pico V_{peak} , um potencial de ação é gerado e o potencial de membrana é redefinido para o potencial pós-disparo V_{min} e a variável de recuperação u é incrementada em d , dificultando a geração de um próximo potencial de ação.








Célula	k (nS/mV)	a (ms ⁻¹)	b (nS)	d (pA)	C_m (pF)	V_r (mV)	V_t (mV)	V_{min} (mV)	V_{peak} (mV)
 Granular madura	0.45	0.003	24.48	50	38	-77.4	-44.9	-66.47	15.49
 Granular imatura	0.139	0.002	-1.877	12.149	24.6	-63.66	-38.41	-48.2	83.5
 Musgosa	1.5	0.004	-20.84	117	258	-63.67	-37.11	-47.98	28.29
 HIPP	0.01	0.004	-2	40.52	58.7	-70	-50	-75	90
 Em cesto	0.81	0.097	1.89	553	208	-61.02	-37.84	-36.23	14.08
 Piramidal do CA3	0.79	0.008	-42.55	588	366	-63.2	-33.6	-38.87	35.86
 Inibitória do CA3	1	0.004	9.26	-6	45	-57.51	-23.38	-47.56	18.45

Tabela 1 – Parâmetros do modelo Izhikevich por tipo de neurônio.

5.3 Modelo de sinapse

O modelo de sinapse, assim como o de neurônio, foi definido a partir do Hippocampome.org (WHEELER et al., 2023), seguindo a formulação de Senn, Markram e Tsodyks (2001), Mongillo, Barak e Tsodyks (2008). Esse modelo modela a plasticidade de curto prazo, seja ela depressão de curto prazo, causada pela depleção de neurotransmissores, ou potenciação de curto prazo, causada pelo acúmulo de cálcio, ambas na escala dos décimos de segundos. Cada sinapse possui 5 parâmetros (descritos na Tabela 2): a condutância máxima da sinapse no caso de nenhuma depleção de recursos sinápticos g , a proporção de recursos utilizados a cada disparo U_{se} , a constante de tempo de decaimento da corrente sináptica τ_d , a constante de tempo de facilitação τ_f , e a constante de tempo de recuperação dos recursos τ_r (MORADI et al., 2022). Outro parâmetro apresentado na Tabela 2 é a probabilidade de conexão P . Por mais que o Hippocampome.org possua dados das probabilidades de conexão entre as populações neuronais *in vivo*, pela escala reduzida da rede, foi necessário aumentá-la de forma a que haja atividade na rede enquanto a atividade esparsa fosse mantida.

O modelo é descrito por três variáveis de estado: a utilização dos recursos sinápticos (U), a recuperação desses recursos (R) e a porcentagem de recursos em estado ativo (A). Inicialmente, $U_{t_0} = 0$, $R_{t_0} = 1$ e $A_{t_0} = 0$, visto que todos os recursos estão disponíveis para ser utilizados. A evolução temporal dessas variáveis é governada pelo seguinte sistema de equações diferenciais:

$$\frac{dU}{dt} = \frac{-U}{\tau_f} + U_{se}(1 - U_-)\delta(\Delta t_i) \quad (5.4)$$

$$\frac{dR}{dt} = \frac{1 - R - A}{\tau_r} - U_+R_-\delta(\Delta t_i) \quad (5.5)$$

$$\frac{dA}{dt} = \frac{-A}{\tau_d} + U_+R_-\delta(\Delta t_i) \quad (5.6)$$

nde δ é a função delta de Dirac, que resulta em 1 apenas quando $\Delta t_i = t - t_i = 0$, ou seja, apenas no tempo t correspondente ao tempo do evento sináptico t_i . U_+ corresponde ao valor de U logo após o evento sináptico, enquanto que R_- corresponde ao valor de R logo antes do mesmo.

A partir dessas equações, a corrente sináptica é dada por:

$$I = k \cdot A \cdot g \cdot (V_m - E) \quad (5.7)$$

onde V_m é o potencial de membrana do neurônio pós-sináptico, E é o potencial de reversão da sinapse, para sinapses inibitórias e excitatórias, respectivamente, $E_{inh} = -86$ mV e $E_{exc} = 0$ mV, e k é uma constante de escala definida como $k = 10$ para todas as sinapses. Essa constante de escala é necessária por conta da escala reduzida da rede, visto que, pelo baixo número de sinapses do modelo comparado ao hipocampo do rato, sem o escalamento a rede toda ficaria silenciosa.

5.4 Plasticidade de longo prazo

A plasticidade de longo prazo será implementada exclusivamente nas sinapses recorrentes entre as células piramidais do CA3 (PCA3), permitindo que a rede aprenda e armazene padrões de memória. O modelo de plasticidade será baseado no trabalho de Kopsick et al. (2024), que utiliza uma regra de plasticidade dependente do tempo de disparo (STDP, *Spike-Timing-Dependent Plasticity*).

Especificamente, será empregada uma regra STDP simétrica e hebbiana, que promove o fortalecimento de sinapses entre neurônios que disparam de forma temporalmente próxima, independentemente da ordem de disparo. Esta regra é descrita pela seguinte equação:

$$\Delta w = A e^{-|\Delta t|/\tau} \quad (5.8)$$



























































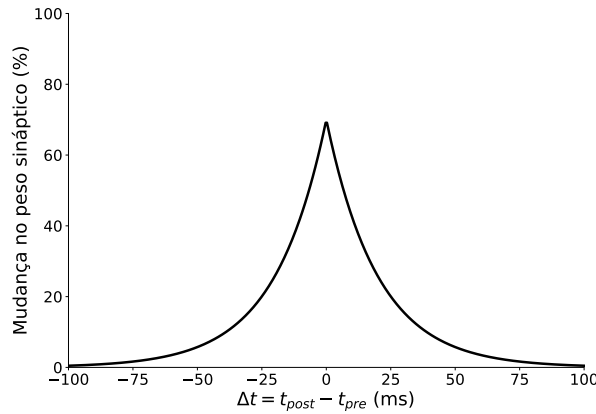
Pré-sináptico	Pós-sináptico	Conexão	P (%)	g (nS)	τ_d (ms)	τ_r (ms)	τ_f (ms)	U
 Córtex Entorrinal	 Granular madura	Aleatória	8	1.825	5.333	266.239	18.714	0.27
 Córtex Entorrinal	 Granular imatura	Aleatória	8	1.825	5.333	266.239	18.714	0.27
 Córtex Entorrinal	 Musgosa	Aleatória	20	1.422	4.671	319.835	57.766	0.204
 Córtex Entorrinal	 Em cesto	Aleatória	20	1.406	3.849	144.415	48.2	0.214
 Córtex Entorrinal	 Piramidal do CA3	Aleatória	4	1.065	6.55	258.318	53.478	0.184
 Córtex Entorrinal	 Inibitória do CA3	Aleatória	20	1.556	3.602	457.468	35.904	0.21
 Granular madura	 Musgosa	Lamelar	20	1.713	5.347	428.583	73.479	0.151
 Granular madura	 HIPP	Aleatória	10	1.305	5.181	462.814	48.986	0.15
 Granular madura	 Em cesto	Lamelar	100	1.458	3.566	151.265	62.278	0.197
 Granular madura	 Piramidal do CA3	Lamelar	60	1.384	6.657	278.286	78.584	0.155
 Granular madura	 Inibitória do CA3	Lamelar	100	1.625	3.915	518.934	43.274	0.176
 Granular imatura	 Musgosa	Lamelar	20	1.713	5.347	428.583	73.479	0.151
 Granular imatura	 HIPP	Aleatória	10	1.305	5.181	462.814	48.986	0.15
 Granular imatura	 Em cesto	Lamelar	100	1.458	3.566	151.265	62.278	0.197
 Granular imatura	 Piramidal do CA3	Lamelar	60	1.384	6.657	278.286	78.584	0.155
 Granular imatura	 Inibitória do CA3	Lamelar	100	1.625	3.915	518.934	43.274	0.176
 Musgosa	 Granular madura	Interlamelar	0.2	2.394	5.357	166.162	20.224	0.304
 Musgosa	 Granular imatura	Interlamelar	0.2	2.394	5.357	166.162	20.224	0.304
 Musgosa	 HIPP	Interlamelar	100	1.376	4.824	358.431	54.872	0.181
 Musgosa	 Em cesto	Interlamelar	100	1.996	3.396	117.365	69.316	0.255
 HIPP	 Granular madura	Aleatória	20	2.002	8.935	559.143	8.396	0.278
 HIPP	 Em cesto	Aleatória	2	1.709	5.982	367.198	15.292	0.221
 Em cesto	 Granular madura	Lamelar	100	2.451	6.543	433.876	6.347	0.332
 Em cesto	 Granular imatura	Lamelar	100	2.451	6.543	433.876	6.347	0.332
 Em cesto	 HIPP	Aleatória	2	1.408	6.544	534.182	8.385	0.24
 Piramidal do CA3	 Piramidal do CA3	Aleatória	2	0.603	9.516	278.258	27.513	0.172
 Piramidal do CA3	 Musgosa	Lamelar	10	2.035	4.297	359.116	40.457	0.236
 Piramidal do CA3	 Inibitória do CA3	Aleatória	100	1.247	4.525	525.605	23.321	0.189
 Inibitória do CA3	 Piramidal do CA3	Aleatória	100	1.462	7.793	416.282	20.63	0.203

Tabela 2 – Parâmetros das sinapses entre as populações neuronais. Conexões aleatórias ocorrem entre todas as células de ambas as populações; conexões lamelares ocorrem entre células da mesma lamela; conexões interlamelares ocorrem entre as células de uma lamela com todas as demais. A probabilidade de conexão P diz respeito à porcentagem de conexões entre as populações neuronais de acordo com a condição de conexão.

Onde Δw é a mudança no peso sináptico, A é um parâmetro que determina a magnitude máxima da mudança no peso, τ é a constante de tempo de decaimento da plasticidade e Δt é a diferença temporal entre os disparos do neurônio pré e pós-sináptico. Seguindo o modelo de (KOPSICK et al., 2024), a constante de tempo τ será definida como 20 ms. O parâmetro A será ajustado para modular a taxa de aprendizado da rede.

Figura 2 – Regra STDP simétrica e hebbiana com $A = 70$.

Para evitar a saturação das sinapses, será empregada uma regra de renormalização dos pesos sinápticos (Seção 5.7.1) e um peso sináptico máximo de w_{max} a ser definido experimentalmente.

5.5 Neurogênese temporal

Para investigar o impacto funcional da integração contínua de novos neurônios, será implementado um modelo de neurogênese temporal. Este processo é fundamental para a manutenção de funções hipocampais como a aprendizagem e a memória ao longo do tempo (AIMONE et al., 2014; BERDUGO-VEGA; DHINGRA; CALEGARI, 2023). A simulação será dividida em duas fases principais. Na primeira fase, a rede operará com sua configuração inicial, com $N_{mGC} = 1900$ e $N_{iGC} = 100$. Durante esta fase, a rede será exposta a um conjunto de N padrões de entrada, que serão aprendidos e armazenados nas sinapses recorrentes do CA3 através do mecanismo de STDP.

Após a fase inicial de aprendizagem, as iGCs passarão por um processo de maturação simulada, transformando-se em mGCs. Esta transição reflete as mudanças biológicas que ocorrem à medida que os novos neurônios se integram totalmente ao circuito do DG, passando de um estado hiperexcitável para um estado maduro mais estável (ABBOTT; NIGUSSIE, 2020). A maturação será implementada através da atualização dos seus parâmetros eletrofisiológicos e sinápticos para os valores correspondentes aos das mGCs (Tabelas 1 e 2). As conexões eferentes existentes, formadas durante a fase imatura, serão preservadas. Adicionalmente, as células recém-maturadas passarão a receber conexões inibitórias das células HIPP e terão sua conectividade aferente do EC aumentada para o mesmo nível das mGCs, completando sua integração funcional no circuito (LUNA et al., 2019).

Na segunda fase da simulação, após a maturação das primeiras iGCs, serão adicionadas mais 100 novas iGCs, simulando a contínua integração de novos neurônios pela neurogênese adulta. Esse processo será repetido 3 vezes, tornando possível avaliar o desempenho da rede gradativamente, com a maturação das iGCs. Serão implementados dois modelos de controle: um em que serão adicionadas sempre mGCs na rede, sem as iGCs, e outro em que ao serem

adicionadas as iGCs, haverá morte neuronal de número equivalente das mGCs. A intenção desses modelos de controle é tornar possível avaliar apenas o papel da neurogênese adulta e das células imaturas geradas por ela, comparando com os efeitos dos modelos de controle que também possuem aumento gradual de neurônios.

5.6 Separação de padrões

A metodologia para quantificar a separação de padrões foi baseada na que foi utilizada em (KIM; LIM, 2024b). Para caracterizar a separação de padrões, é comparada a sobreposição entre os padrões de atividade neural na entrada (células do córtex entorrinal) e na saída (células granulares do DG, ou piramidais do CA3) da rede. Um padrão é definido por uma representação binária de tamanho N , onde N é o número total de neurônios de uma população específica, em que neurônios que dispararam ao menos uma vez durante o intervalo de tempo da simulação são representados por 1 e os que não dispararam são representados por 0. Para um par de padrões $A^{(l)}$ e $B^{(l)}$ (onde $l \in \{in, out\}$ para entrada e saída, respectivamente), a distância entre os padrões $D_p^{(l)}$ é definida como:

$$D_p^{(l)} = \frac{O^{(l)}}{D_a^{(l)}} \quad (5.9)$$

Nesta equação, $O^{(l)}$ representa o grau de ortogonalização e $D_a^{(l)}$ o grau médio de ativação dos dois padrões. O grau médio de ativação $D_a^{(l)}$ é a média aritmética dos graus de ativação de cada padrão, $A^{(l)}$ e $B^{(l)}$:

$$D_a^{(l)} = \frac{D_a^{(A^{(l)})} + D_a^{(B^{(l)})}}{2} \quad (5.10)$$

O grau de ativação de um padrão individual é a fração de neurônios ativos (representados por 1 em uma codificação binária) no padrão. O grau de ortogonalização $O^{(l)}$, que mede a dissimilaridade entre os padrões, é calculado a partir do coeficiente de correlação de Pearson, $\rho^{(l)}$:

$$O^{(l)} = \frac{1 - \rho^{(l)}}{2} \quad (5.11)$$

Onde $\rho^{(l)}$ é o coeficiente de correlação de Pearson entre os padrões $A^{(l)}$ e $B^{(l)}$. Considerando $\{a_i^{(l)}\}$ e $\{b_i^{(l)}\}$ ($i = 1, \dots, N_l$) como as representações binárias do estado da i -ésima célula nos padrões $A^{(l)}$ e $B^{(l)}$ ($l \in \{in, out\}$), o coeficiente de correlação de Pearson é dado por:

$$\rho^{(l)} = \frac{\sum_{i=1}^{N_l} \Delta a_i^{(l)} \cdot \Delta b_i^{(l)}}{\sqrt{\sum_{i=1}^{N_l} (\Delta a_i^{(l)})^2} \sqrt{\sum_{i=1}^{N_l} (\Delta b_i^{(l)})^2}} \quad (5.12)$$

em que $\Delta a_i^{(l)} = a_i^{(l)} - \langle a^{(l)} \rangle$ e $\Delta b_i^{(l)} = b_i^{(l)} - \langle b^{(l)} \rangle$. A notação $\langle \dots \rangle$ indica a média populacional sobre todas as células. O valor de $\rho^{(l)}$ varia entre -1 e 1, portanto, $O^{(l)}$ varia entre 0 e 1 (Equação 5.11).

A partir das distâncias dos padrões de entrada ($D_p^{(in)}$) e saída ($D_p^{(out)}$), o grau de separação de padrões, S_d , é calculado como a razão entre elas:

$$S_d = \frac{D_p^{(out)}}{D_p^{(in)}} \quad (5.13)$$

Um valor de $S_d > 1$ indica que os padrões de saída são mais distintos que os de entrada, caracterizando a separação de padrões. Inversamente, $S_d < 1$ indica uma convergência de padrões, onde os padrões de saída se tornam mais similares entre si.

5.7 Auto-associação e completamento de padrões

5.7.1 Protocolo de treinamento e teste

O protocolo de treinamento e teste da rede para avaliar o armazenamento e a recuperação de padrões será baseado no método descrito por (KOPSICK et al., 2024).

Na fase de treinamento, a rede será exposta a um conjunto de padrões de entrada distintos. Cada padrão consiste na ativação de uma subpopulação específica de neurônios piramidais do CA3 através da injeção de corrente. Essa ativação induz um trem de disparos em uma janela de tempo de 20 ms, correspondente a um ciclo gama. Os diferentes padrões serão apresentados em sequência, separados por janelas de 200 ms, simulando um código neural teta-gama. Durante toda a fase de treinamento, a plasticidade sináptica (STDP) estará habilitada, permitindo o fortalecimento das conexões entre os neurônios codificantes do mesmo padrão, formando uma assembleia neuronal. Após um determinado número de apresentações de padrões a ser definido experimentalmente, os pesos sinápticos entre os neurônios piramidais serão renormalizados, um processo que simula a homeostase sináptica que ocorre durante o sono de ondas lentas, para evitar a saturação das sinapses e estabilizar os padrões aprendidos (González-Rueda et al., 2018; KOPSICK et al., 2024).

Na fase de teste, a plasticidade sináptica será desabilitada para avaliar a capacidade da rede de recuperar os padrões memorizados sem que haja modificações nas conexões. Serão apresentadas versões degradadas dos padrões originais, onde apenas uma fração dos neurônios da assembleia correspondente é ativada. A resposta da rede será então analisada para verificar se a atividade das conexões recorrentes é capaz de reconstruir o padrão completo, através do completamento de padrões.

5.7.2 Quantificação

A força da auto-associação, ou seja, a formação das assembleias, será medida através de duas características das sinapses entre os neurônios piramidais. A primeira é a razão sinal-ruído (SNR) da auto-associação, definida como a média dos pesos sinápticos entre neurônios da mesma assembleia dividida pela média dos pesos sinápticos entre neurônios de assembleias distintas. Um SNR elevado indica uma forte distinção entre as conexões intra e inter-assembleias. A segunda métrica é a porcentagem de sinapses dentro de uma assembleia que atingiram o peso máximo, o que serve como um indicador de saturação sináptica.

O completamento de padrões será avaliado através de uma métrica de precisão de reconstrução de padrão, baseada em (KOPSICK et al., 2024). Esta métrica utiliza o coeficiente de correlação de Pearson (Equação 5.12) entre os padrões de entrada ou saída durante a fase de treinamento e de teste.

Primeiramente, calcula-se a correlação do padrão de entrada, $\rho^{(in)}$, que é a correlação entre o padrão completo do EC apresentado durante a fase de treinamento e o padrão degradado, ou incompleto, apresentado durante a fase de teste. Em seguida, calcula-se a correlação do padrão de saída, $\rho^{(out)}$, que corresponde à correlação entre a atividade neural das PCA3s em resposta ao padrão de treinamento completo, durante a codificação da assembleia, e a atividade em resposta ao padrão de teste degradado.

A precisão de reconstrução do padrão, R_p , é então calculada como:

$$R_p = \frac{\rho^{(out)} - \rho^{(in)}}{1 - \rho^{(in)}} \quad (5.14)$$

Um valor de $R_p > 0$ indica que ocorreu o completamento do padrão, ou seja, a representação na saída tornou-se mais similar ao padrão original do que a entrada degradada. Um valor de $R_p = 1$ representa uma reconstrução perfeita.

6 Resultados

6.1 Separação de padrões

6.2 Auto-associação

7 Cronograma

Tabela 3 – Cronograma

Variável	Estatísticas
A	V1
B	V2
C	V3
D	V4

Referências

- ABBOTT, L. C.; NIGUSSIE, F. Adult neurogenesis in the mammalian dentate gyrus. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, v. 49, n. 1, p. 3–16, jan. 2020. ISSN 0340-2096, 1439-0264. 18
- AIMONE, J. B. Computational Modeling of Adult Neurogenesis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, v. 8, n. 4, p. a018960, abr. 2016. ISSN 1943-0264. 8, 9
- AIMONE, J. B.; GAGE, F. H. Modeling new neuron function: A history of using computational neuroscience to study adult neurogenesis. *European Journal of Neuroscience*, v. 33, n. 6, p. 1160–1169, mar. 2011. ISSN 0953-816X, 1460-9568. 9
- AIMONE, J. B. et al. Regulation and Function of Adult Neurogenesis: From Genes to Cognition. *Physiological Reviews*, v. 94, n. 4, p. 991–1026, out. 2014. ISSN 0031-9333, 1522-1210. 8, 13, 18
- AIMONE, J. B.; WILES, J.; GAGE, F. H. Computational Influence of Adult Neurogenesis on Memory Encoding. *Neuron*, v. 61, n. 2, p. 187–202, jan. 2009. ISSN 08966273. 9
- ALONSO, M.; PETIT, A.-C.; LLEDO, P.-M. The impact of adult neurogenesis on affective functions: Of mice and men. *Molecular Psychiatry*, mar. 2024. ISSN 1359-4184, 1476-5578. 7
- AMARAL, D. G.; ISHIZUKA, N.; CLAIBORNE, B. Chapter 1 Chapter Neurons, numbers and the hippocampal network. In: *Progress in Brain Research*. [S.l.]: Elsevier, 1990. v. 83, p. 1–11. ISBN 978-0-444-81149-3. 13
- BARTSCH, T. et al. CA1 neurons in the human hippocampus are critical for autobiographical memory, mental time travel, and autonoetic consciousness. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 108, n. 42, p. 17562–17567, out. 2011. ISSN 0027-8424, 1091-6490. 7
- BASU, J.; SIEGELBAUM, S. A. The Corticohippocampal Circuit, Synaptic Plasticity, and Memory. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, v. 7, n. 11, p. a021733, nov. 2015. ISSN 1943-0264. 7
- BERDUGO-VEGA, G.; DHINGRA, S.; CALEGARI, F. Sharpening the blades of the dentate gyrus: How adult-born neurons differentially modulate diverse aspects of hippocampal learning and memory. *The EMBO Journal*, v. 42, n. 22, p. e113524, nov. 2023. ISSN 0261-4189, 1460-2075. 7, 8, 9, 18
- BOLDRINI, M. et al. Human Hippocampal Neurogenesis Persists throughout Aging. *Cell Stem Cell*, v. 22, n. 4, p. 589–599.e5, abr. 2018. ISSN 19345909. 7
- BUTCHER, J. A history of Runge-Kutta methods. *Applied Numerical Mathematics*, v. 20, n. 3, p. 247–260, mar. 1996. ISSN 01689274. 14
- CAMERON, H. A.; MCKAY, R. D. Adult neurogenesis produces a large pool of new granule cells in the dentate gyrus. *Journal of Comparative Neurology*, v. 435, n. 4, p. 406–417, jul. 2001. ISSN 0021-9967, 1096-9861. 13
- CHAVLIS, S.; PETRANTONAKIS, P. C.; POIRAZI, P. Dendrites of dentate gyrus granule cells contribute to pattern separation by controlling sparsity: DENDRITIC ROLE IN PATTERN SEPARATION. *Hippocampus*, v. 27, n. 1, p. 89–110, jan. 2017. ISSN 10509631. 12, 13

- COULTRIP, R.; GRANGER, R.; LYNCH, G. A cortical model of winner-take-all competition via lateral inhibition. *Neural Networks*, v. 5, n. 1, p. 47–54, jan. 1992. ISSN 08936080. 13
- DUIGOU, C. L. et al. Recurrent synapses and circuits in the CA3 region of the hippocampus: An associative network. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, v. 7, 2014. ISSN 1662-5102. 7
- EICHENBAUM, H. The hippocampus and mechanisms of declarative memory. *Behavioural Brain Research*, v. 103, n. 2, p. 123–133, set. 1999. ISSN 01664328. 7
- EICHENBAUM, H. A cortical–hippocampal system for declarative memory. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 1, n. 1, p. 41–50, out. 2000. ISSN 1471-003X, 1471-0048. 7
- EICHENBAUM, H. Hippocampus. *Neuron*, v. 44, n. 1, p. 109–120, set. 2004. ISSN 08966273. 7
- ESPÓSITO, M. S. et al. Neuronal Differentiation in the Adult Hippocampus Recapitulates Embryonic Development. *The Journal of Neuroscience*, v. 25, n. 44, p. 10074–10086, nov. 2005. ISSN 0270-6474, 1529-2401. 13
- FARES, J. et al. Neurogenesis in the adult hippocampus: History, regulation, and prospective roles. *International Journal of Neuroscience*, v. 129, n. 6, p. 598–611, jun. 2019. ISSN 0020-7454, 1543-5245. 9
- González-Rueda, A. et al. Activity-Dependent Downscaling of Subthreshold Synaptic Inputs during Slow-Wave-Sleep-like Activity In Vivo. *Neuron*, Elsevier BV, v. 97, n. 6, p. 1244–1252.e5, mar. 2018. ISSN 0896-6273. 20
- HAINMUELLER, T.; BARTOS, M. Dentate gyrus circuits for encoding, retrieval and discrimination of episodic memories. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 21, n. 3, p. 153–168, mar. 2020. ISSN 1471-003X, 1471-0048. 7
- HENKE, K. A model for memory systems based on processing modes rather than consciousness. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 11, n. 7, p. 523–532, jul. 2010. ISSN 1471-003X, 1471-0048. 7
- HODGKIN, A. L.; HUXLEY, A. F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *The Journal of Physiology*, v. 117, n. 4, p. 500–544, ago. 1952. ISSN 0022-3751, 1469-7793. 14
- IZHIKEVICH, E. M. *Dynamical Systems in Neuroscience: The Geometry of Excitability and Bursting*. [S.l.]: The MIT Press, 2006. ISBN 978-0-262-27607-8. 14
- JURKOWSKI, M. P. et al. Beyond the Hippocampus and the SVZ: Adult Neurogenesis Throughout the Brain. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, v. 14, p. 576444, set. 2020. ISSN 1662-5102. 7
- KESNER, R. P.; HOPKINS, R. O. Mnemonic functions of the hippocampus: A comparison between animals and humans. *Biological Psychology*, v. 73, n. 1, p. 3–18, jul. 2006. ISSN 03010511. 7
- KIM, S.-Y.; LIM, W. Adult neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus affects sparsely synchronized rhythms, associated with pattern separation and integration. *Cognitive Neurodynamics*, mar. 2024. ISSN 1871-4080, 1871-4099. 9, 12, 13
- KIM, S.-Y.; LIM, W. Effect of adult-born immature granule cells on pattern separation in the hippocampal dentate gyrus. *Cognitive Neurodynamics*, v. 18, n. 4, p. 2077–2093, ago. 2024. ISSN 1871-4080, 1871-4099. 19

- KOPSICK, J. D. et al. Formation and retrieval of cell assemblies in a biologically realistic spiking neural network model of area CA3 in the mouse hippocampus. *Journal of Computational Neuroscience*, v. 52, n. 4, p. 303–321, nov. 2024. ISSN 0929-5313, 1573-6873. 12, 14, 16, 17, 20, 21
- LUNA, V. M. et al. Adult-born hippocampal neurons bidirectionally modulate entorhinal inputs into the dentate gyrus. *Science*, v. 364, n. 6440, p. 578–583, maio 2019. ISSN 0036-8075, 1095-9203. 18
- MCNAUGHTON, B. L.; CHEN, L. L.; MARKUS, E. J. “Dead Reckoning,” Landmark Learning, and the Sense of Direction: A Neurophysiological and Computational Hypothesis. *Journal of Cognitive Neuroscience*, v. 3, n. 2, p. 190–202, abr. 1991. ISSN 0898-929X, 1530-8898. 13
- MODAK, P.; CHAKRAVARTHY, V. S. Izhikevich Models For Hippocampal Neurons And Its Sub-Region CA3. In: *2018 Conference on Cognitive Computational Neuroscience*. Philadelphia, Pennsylvania, USA: Cognitive Computational Neuroscience, 2018. 14
- MONGILLO, G.; BARAK, O.; TSODYKS, M. Synaptic Theory of Working Memory. *Science*, v. 319, n. 5869, p. 1543–1546, mar. 2008. ISSN 0036-8075, 1095-9203. 15
- MORADI, K. et al. Normalized unitary synaptic signaling of the hippocampus and entorhinal cortex predicted by deep learning of experimental recordings. *Communications Biology*, v. 5, n. 1, p. 418, maio 2022. ISSN 2399-3642. 15
- MYERS, C. E.; SCHARFMAN, H. E. A role for hilar cells in pattern separation in the dentate gyrus: A computational approach. *Hippocampus*, v. 19, n. 4, p. 321–337, abr. 2009. ISSN 1050-9631, 1098-1063. 13
- MYERS, C. E.; SCHARFMAN, H. E. Pattern separation in the dentate gyrus: A role for the CA3 backprojection. *Hippocampus*, v. 21, n. 11, p. 1190–1215, nov. 2011. ISSN 1050-9631, 1098-1063. 9, 14
- NELDER, J. A.; MEAD, R. A Simplex Method for Function Minimization. *The Computer Journal*, v. 7, n. 4, p. 308–313, jan. 1965. ISSN 0010-4620, 1460-2067. 13
- PAK, S. et al. Hippocampal interlamellar cell–cell connectome that counts. *Journal of Cellular Physiology*, v. 237, n. 11, p. 4037–4048, nov. 2022. ISSN 0021-9541, 1097-4652. 14
- ROLLS, E. T. The mechanisms for pattern completion and pattern separation in the hippocampus. *Frontiers in Systems Neuroscience*, v. 7, 2013. ISSN 1662-5137. 14
- SCHARFMAN, H. E.; MYERS, C. E. Hilar mossy cells of the dentate gyrus: A historical perspective. *Frontiers in Neural Circuits*, v. 6, 2013. ISSN 1662-5110. 13
- SENN, W.; MARKRAM, H.; TSODYKS, M. An Algorithm for Modifying Neurotransmitter Release Probability Based on Pre- and Postsynaptic Spike Timing. *Neural Computation*, v. 13, n. 1, p. 35–67, jan. 2001. ISSN 0899-7667, 1530-888X. 15
- SLOVITER, R. S.; LØMO, T. Updating the Lamellar Hypothesis of Hippocampal Organization. *Frontiers in Neural Circuits*, v. 6, 2012. ISSN 1662-5110. 13
- STIMBERG, M.; BRETTE, R.; GOODMAN, D. F. Brian 2, an intuitive and efficient neural simulator. *eLife*, v. 8, p. e47314, ago. 2019. ISSN 2050-084X. 14

- WANG, Z.; YANG, K.; SUN, X. Effect of adult hippocampal neurogenesis on pattern separation and its applications. *Cognitive Neurodynamics*, abr. 2024. ISSN 1871-4080, 1871-4099. 9
- WATSON, J. F. et al. Human hippocampal CA3 uses specific functional connectivity rules for efficient associative memory. *Cell*, v. 188, n. 2, p. 501–514.e18, jan. 2025. ISSN 00928674. 14
- WEST, M. J.; SLOMIANKA, L.; GUNDERSEN, H. J. G. Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. *The Anatomical Record*, v. 231, n. 4, p. 482–497, dez. 1991. ISSN 0003-276X, 1097-0185. 13
- WHEELER, D. W. et al. *Hippocampome.Org v2.0: A Knowledge Base Enabling Data-Driven Spiking Neural Network Simulations of Rodent Hippocampal Circuits*. 2023. 12, 13, 14, 15
- YANG, K.; SUN, X.; WANG, Z. The dynamic impact of adult neurogenesis on pattern separation within the dentate gyrus neural network. *Cognitive Neurodynamics*, v. 19, n. 1, p. 57, dez. 2025. ISSN 1871-4080, 1871-4099. 12
- YASSA, M. A.; STARK, C. E. Pattern separation in the hippocampus. *Trends in Neurosciences*, v. 34, n. 10, p. 515–525, out. 2011. ISSN 01662236. 7
- ZHAO, C. et al. Distinct Morphological Stages of Dentate Granule Neuron Maturation in the Adult Mouse Hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, v. 26, n. 1, p. 3–11, jan. 2006. ISSN 0270-6474, 1529-2401. 8