UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA POLITÉCNICA

LEONARDO ABDALA ELIAS

**ESTUDO POR SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DE MODELOS DE
MOTONEURÔNIOS COM DENDRITO ATIVO EM RESPOSTA A ENTRADAS
SINÁPTICAS**

SÃO PAULO
2009

LEONARDO ABDALA ELIAS

**ESTUDO POR SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DE MODELOS DE
MOTONEURÔNIOS COM DENDRITO ATIVO EM RESPOSTA A ENTRADAS
SINÁPTICAS**

Dissertação apresentada à Escola Politécnica da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Mestre em Engenharia Elétrica.

SÃO PAULO
2009

LEONARDO ABDALA ELIAS

**ESTUDO POR SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DE MODELOS DE
MOTONEURÔNIOS COM DENDRITO ATIVO EM RESPOSTA A ENTRADAS
SINÁPTICAS**

Dissertação apresentada à Escola Politécnica da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Mestre em Engenharia Elétrica.

Área de Concentração:
Engenharia Biomédica

Orientador:
Prof. Dr. André Fabio Kohn

SÃO PAULO
2009

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Elias, Leonardo Abdala

**Estudo por simulação computacional de modelos de moto-
neurônios com dendrito ativo em resposta a entradas sinápticas / L.A.
Elias. -- São Paulo, 2009.**

125 p.

**Dissertação (Mestrado) - Escola Politécnica da Universidade
de São Paulo. Departamento de Engenharia de Telecomunica-
ções e Controle.**

**1. Neurociências (Sistemas computacionais) 2. Neurônios
motores 3. Matemática (Modelagem) 4. Sistemas dinâmicos I.
Universidade de São Paulo. Escola Politécnica. Departamento de
Engenharia de Telecomunicações e Controle II. t.**

ERRATA

Elias, L. A. **Estudo por simulação computacional de modelos de motoneurônios com dendrito ativo em resposta a entradas sinápticas.** 2009, 125 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, 2009.

Página	Linha	Onde se lê	Leia-se
xv	23 ^a	Ms	ms
8	13 ^a	aumentando à medida que se aumenta o tamanho da célula	diminuindo à medida que se aumenta o tamanho da célula
11	14 ^a	MNs de baixa R_N (menores que 1,25 M Ω)	MNs de alta R_N (maiores que 1,25 M Ω)
11	15 ^a	MNs de alta R_N	MNs de baixa R_N
12	2 ^a	Curva I-V para MNs de baixa R_N (A) e de alta R_N (B)	Curva I-V para MNs de alta R_N (A) e de baixa R_N (B)
13	7 ^a	MNs de baixa R_N (menores que 1,25 M Ω)	MNs de alta R_N (maiores que 1,25 M Ω)
13	9 ^a	MNs de alta R_N	MNs de baixa R_N
23	18 ^a	Equação 2.23	Equação 2.24
27	Tabela 3.2	MN tipo F	MN tipo FR
36	Tabela 3.6	MN tipo F	MN tipo FR
39	27 ^a	A intervalo	O intervalo
47	10 ^a , 11 ^a	de forma praticamente linear	monotonicamente
48	16 ^a	MNs do tipo	MNs dos tipos
55	15 ^a , 16 ^a	também aumenta à medida que aumenta o tamanho do MN	também aumenta à medida que diminui o tamanho do MN
59	Figura 4.7	I_{PIC}	I_{PIC} (nA)
59	Figura 4.7	G_{Ca}	G_{Ca} (mS/cm ²)
60	20 ^a	corrente de curta duração (0,5 ms)	corrente de longa duração (50 ms)
66	15 ^a	centenas	dezenas
73	24 ^a	seja maior	seja menor
75	13 ^a	Tal fenômeno é observado tanto em MNs de baixa, quanto de alta R_N	Tal fenômeno é observado tanto em MNs de alta, quanto de baixa R_N
86	16 ^a	ativo	passivo
88	21 ^a	condutância sináptica	frequência de ativação das sinapses
91	9 ^a	para as variações de	às
94	17 ^a	constante de tempo de ativação	constante de tempo
96	3 ^a	sobre as entradas sinápticas inibitórias	sobre os efeitos das entradas sinápticas inibitórias
98	28 ^a	pode necessitar	necessita
103	30 ^a	Hodgking	Hodgkin

- A Equação 2.22 deve ser alterada para:

$$I_{sin-d}(t) = \sum_{i=1}^{N_e} g_{sin_{exc}}(t)(V_d(t) - E_{sin_{exc}}) + \sum_{j=1}^{N_i} g_{sin_{ini}}(t)(V_d(t) - E_{sin_{ini}})$$

- Na legenda da Figura 4.12, acrescentar: Adaptado de Hounsgaard e colaboradores (1988).
- Na Figura 4.13, os gráficos à esquerda referem-se ao modelo de MN tipo S, à direita ao modelo de MN do tipo FF e no centro ao modelo de MN do tipo FR.
- Na Figura 5.2A, a linha preta refere-se ao modelo de MN do tipo S com dendrito passivo, ao passo que a linha vermelha refere-se ao modelo de MN do tipo S com dendrito ativo.

Aos meus pais, João e Eliza, e minha irmã, Sarah.

À Luciana, meu amor, pelo apoio e dedicação incondicionais.

AGRADECIMENTOS

Ao professor André, por sua extrema dedicação na orientação deste trabalho. Agradeço a confiança depositada e o estímulo diário para o desenvolvimento científico e pessoal.

Aos colegas, funcionários e professores do Laboratório de Engenharia Biomédica (LEB), que sempre foram solícitos e agradáveis no convívio diário.

Aos amigos Guilherme e Natália, pela forma como me incluíram em suas vidas.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa (processo nº 2007/05898-4) e dos demais recursos que possibilitaram a execução do projeto.

Às demais pessoas que me auxiliaram, aconselharam e criticaram.

“Peço enfaticamente que o que aqui realizei seja lido com indulgência e que meus trabalhos em um assunto tão difícil sejam examinados não tanto com espírito de censura, mas com o de reparar seus defeitos.”

(Sir Isaac Newton)

RESUMO

Modelos matemáticos de motoneurônios têm sido desenvolvidos para auxiliar na compreensão dos fenômenos que envolvem o sistema neuromuscular. Entretanto, a maioria dos modelos já desenvolvidos baseou-se na premissa de que a árvore dendrítica tem um comportamento passivo, o que ocorre em animais anestesiados, mas pode não ocorrer durante o comportamento motor normal de um animal intacto. Experimentos com animais descerebrados, em que as vias monoaminérgicas encontravam-se ativas, mostraram que os motoneurônios podem apresentar comportamentos mais complexos decorrentes da presença de condutâncias iônicas voltagem-dependentes que se situam nos dendritos e são responsáveis pela gênese de uma corrente de entrada persistente. Nesse sentido, um primeiro objetivo deste trabalho foi o de desenvolver novos modelos matemáticos de motoneurônios de diferentes tipos (i.e. dos tipos S, FR e FF), computacionalmente eficientes e contendo em seus compartimentos dendríticos uma condutância de cálcio do tipo L, de forma que os fenômenos de biestabilidade, potencial platô e amplificação da corrente sináptica efetiva possam ser gerados. Um segundo objetivo foi o de verificar como a presença da condutância iônica ativa no dendrito influencia o comportamento motoneuronal quando o mesmo está sujeito a entradas sinápticas de diferentes tipos. Os novos modelos foram parametrizados baseando-se em dados da literatura experimental para motoneurônios de gatos descerebrados e validados segundo os protocolos experimentais básicos que permitem caracterizar cada tipo de modelo como sendo totalmente ou parcialmente biestável. As entradas sinápticas foram simuladas por processos pontuais de Poisson e os trens de potenciais de ação dos motoneurônios foram analisados. Uma modulação senoidal da intensidade do processo pontual foi usada para estimar as respostas em frequência de cada modelo. Observou-se que, funcionalmente, a presença da condutância iônica dendrítica pode favorecer a ação do motoneurônio durante tarefas posturais, pois, uma vez ativada, a corrente de entrada persistente eleva a excitabilidade motoneuronal tornando os disparos mais regulares, além de prover uma alta sensibilidade dos modelos a entradas sinápticas de baixa frequência, correspondentes às oscilações observadas durante a manutenção da postura ereta quieta.

Palavras-chave: Biestabilidade. Canal de cálcio do tipo L. Correntes persistentes. Integração sináptica. Modelos compartimentais. Postura. Potencial platô.

ABSTRACT

Elias, L. A. **A computer simulation study of motoneuron models with active dendrites in response to synaptic inputs.** 2009, 125 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, 2009.

Mathematical models of motoneurons have been developed as an aid to the understanding of phenomena involving the neuromuscular system, but most of these models have been based on the hypothesis of a passive dendritic tree. This holds for anesthetized animals but not necessarily during normal motor behavior of the intact animal. Experiments with decerebrate animals in which the monoaminergic tracts were maintained intact have shown that more complex behaviors may emerge in motoneurons due to dendritic voltage-gated ionic conductances, which are responsible for a persistent inward current. Therefore, the first aim of this work was to develop computationally-efficient new motoneuron models of different types (i.e. type S, FR and FF) that include a dendritic L-type calcium conductance so that bistability, plateau potential and enhancement of effective synaptic current may be generated. The second aim of this research was to evaluate the effects of the active dendritic ionic conductance on the input-output mapping of presynaptic to postsynaptic spike trains. The new models were parameterized based on data reported in experimental literature on the decerebrate cat preparation, and they were validated using appropriate protocols for either fully or partially bistable dynamics. The synaptic inputs were simulated by Poisson point processes and the output spike trains were analyzed. Sinusoidal modulation of the point process intensity was used for the estimation of each model's frequency response. The results suggested that an active dendritic ionic conductance in motoneurons has a functional role during postural tasks, because, when activated, the persistent inward current enhances the motoneuronal excitability, reducing the variability of interspike intervals, and focusing the sensitivity of the models to low frequency inputs that correspond to the low-frequency oscillations that typically occur during quiet standing posture.

Keywords: Bistability. Compartmental models. L-type calcium channel. Persistent currents. Plateau potential. Posture. Synaptic integration.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.1. Visão geral de fatores que exercem influência sobre um MN. Adaptado de Rekling e colaboradores (2000).	1
Figura 1.2. (A) Biestabilidade em MN espinhal de tartaruga quando feita a administração de 5-HT. Os disparos autossustentados foram iniciados após uma breve entrada sináptica excitatória e finalizados após uma breve entrada sináptica inibitória (Kiehn; Eken, 1998). (B) Potencial platô visto em MN espinhal de tartaruga numa preparação <i>in vivo</i> . A adição de apamina suprime os disparos de potenciais de ação (PAs) e possibilita a visão do platô, ao passo que a adição de nifedipina bloqueia canais de Ca^{++} suprimindo o potencial platô. Adaptado de Hounsgaard e Mintz (1988).	2
Figura 1.3. Amplificação da corrente sináptica devido à presença de condutâncias iônicas voltagem-dependentes nos dendritos. A linha verde representa um MN cujas condutâncias iônicas estão ativas, ao passo que a linha vermelha representa um MN cuja árvore dendrítica é passiva. Adaptado de Heckman e colaboradores (2008).	3
Figura 1.4. Visão geral de um núcleo motor desenvolvido no ReMoto. Adaptado de Cisi e Kohn (2008).	4
Figura 2.1. Representação esquemática de uma unidade motora (UM). Adaptado de Bear e colaboradores (2002).	6
Figura 2.2. Registro do potencial de membrana de três tipos principais de MNs de gatos anestesiados em resposta a um pulso de corrente de 1 nA e 100 ms (Zengel <i>et al.</i> , 1985).	8
Figura 2.3. Registro do decurso temporal da AHP em MNs dos tipos FF e S de gatos anestesiados (Zengel <i>et al.</i> , 1985).	9
Figura 2.4. Condutâncias iônicas que estão envolvidas nas diferentes fases de um PA. Adaptado de Rekling e colaboradores (2000).	10
Figura 2.5. Curva I-V para MNs de baixa R_N (A) e de alta R_N (B) de gatos descerebrados, levantadas por uma variação triangular do potencial de membrana. As setas indicam o sentido de subida e de descida do pulso. Adaptado de Lee e Heckman (1998a).	12
Figura 2.6. (A) Comportamento biestável de um MN espinhal de gato. (B) Potencial platô observado quando se bloqueia os mecanismos que geram os PAs. As barras pretas indicam a ativação de entradas sinápticas excitatórias, enquanto que as barras vermelhas indicam a	

ativação de entradas sinápticas inibitórias. Adaptado de Hounsgaard e colaboradores (1988).	13
Figura 2.7. Amplificação da corrente sináptica efetiva que atinge o soma proveniente da atividade das aferências Ia (I_{aI_N}) para diferentes níveis de atividade das vias monoaminérgicas. Adaptado de Lee e Heckman (2000).	14
Figura 2.8. Curvas F-I para diferentes tipos de MNs de gatos anestesiados. (A) Curva F-I típica para um MN do tipo S. (B) Curva F-I típica para um MN do tipo F. Adaptado de Schwindt e Crill (1982).	15
Figura 2.9. Curva F-I para MNs totalmente (A) e parcialmente biestáveis (B) de gatos descerebrados. Adaptado de Lee e Heckman (1998b).	16
Figura 3.1. (A) Geometria e (B) circuito elétrico equivalente dos modelos de MNs com dendrito passivo. Adaptado de Cisi e Kohn (2007; 2008).	18
Figura 3.2. Exemplo em que eventos pré-sinápticos excitatórios (exc) e inibitórios (ini) promovem o desencadeamento de sucessivos potenciais pós-sinápticos que se somam devido à dinâmica utilizada nos modelos.	24
Figura 3.3. Eventos pré-sinápticos modelados como um processo pontual de Poisson. No gráfico interno verifica-se a estimativa da função densidade de probabilidade ($p_w(w)$) dos intervalos entre eventos (w), onde o valor médio de w ($w = 1$ ms; indicado pela seta) corresponde à recíproca da taxa média λ do processo.	25
Figura 3.4. Via monossináptica excitatória (seta preta) e inibição recíproca (seta vermelha). As sinapses dos modelos foram parametrizadas para representarem estas duas vias de estimulação dos MNs. Adaptado de Purves e colaboradores (2004).	28
Figura 3.5. Esquema da estrutura de arquivos utilizados para a implementação dos modelos de MNs com dendrito passivo (Cisi, 2007; Cisi; Kohn, 2008) em Matlab®. As setas pretas indicam que os parâmetros globais calculados na rotina principal são distribuídos para todos os arquivos. A seta bidirecional vermelha indica que a função “ode4.m” chama a função “mn.m” e retorna os valores de V_s e V_d calculados numericamente. A cada passo de integração, a rotina “mn.m” chama as funções “r_exc.m”, “r_ini.m” e “I_inj.m” (setas bidirecionais verdes) que fornecem as variáveis $r_{exc}(t)$, $r_{ini}(t)$ e $I_{inj-s}(t)$ para o cálculo do modelo. No final da simulação, os resultados são mostrados em gráficos (seta azul).	30
Figura 3.6. PAs gerados nos modelos de MNs dos tipos S (A) e FF (B) com dendrito passivo. Correntes iônicas responsáveis pelas diferentes fases dos PAs (despolarização, repolarização e AHP) geradas nos modelos de MNs dos tipos S (C) e FF (D) com dendrito passivo. Note a	

convenção utilizada de que correntes de entrada são negativas e correntes de saída positivas.	32
Figura 3.7. Decurso temporal da AHP para os três modelos de MNs com dendrito passivo. O PA foi truncado em 10 mV.....	33
Figura 3.8. Adaptação nos modelos de MN com dendrito passivo.	34
Figura 3.9. Gráficos superiores: Curvas F-I dos modelos de MNs dos tipos S, FR e FF com dendrito passivo. Gráficos inferiores: Pulsos de corrente triangular injetados nos compartimentos somáticos dos respectivos modelos. As taxas de subida e descida dos pulsos são indicadas no interior dos gráficos. As setas indicam as fases de subida e descida do pulso de corrente.	35
Figura 3.10. PEPS obtidos por ativação sináptica unitária dos modelos de MNs com dendrito passivo. O gráfico interno, reportado em (Finkel; Redman, 1983), mostra um PEPS obtido em MN espinhal de gato (anestesiado).....	37
Figura 3.11. PIPS obtidos por ativação sináptica unitária nos modelos de MNs com dendrito passivo. O gráfico interno, reportado em (Stuart; Redman, 1990), mostra um PIPS obtido em MN espinhal de gato (anestesiado).....	37
Figura 3.12. (A) Histograma dos ISIs registrados em uma UM do músculo sóleo (Matthews, 1996). (B) Relação entre o desvio-padrão (σ) e a média (μ) dos ISIs obtida no músculo reto femoral (Person; Kudina, 1972). A seta indica a região na qual σ é praticamente independente de μ (vide texto para mais detalhes).	38
Figura 3.13. Histograma de V_s nos modelos de MNs com dendrito passivo quando o WGN é ajustado com uma média de -0,9 nA e um desvio-padrão de 25 nA. A média (μ) e o desvio-padrão (σ) de V_s , para cada modelo, estão indicados no próprio gráfico. (A) MN tipo S: faixa -2,80 mV a 1,02 mV; (B) MN tipo FR: faixa -1,25 mV a 0,84 mV; (C) MN tipo FF: faixa -0,70 mV a 0,38 mV.	39
Figura 3.14. Registro dos PAs e os respectivos ISIs em três diferentes situações para os modelos com dendrito passivo. (A) Modelo de MN tipo S disparando a uma frequência média de 6,88 Hz. (B) Modelo de MN tipo FR disparando a uma frequência média de 13,75 Hz. (C) Modelo de MN tipo FF disparando a uma frequência média de 29,10 Hz. A linha tracejada vermelha representa o instante de tempo a partir do qual as estatísticas dos ISIs foram calculadas, ou seja, excluiu-se o primeiro segundo de cada simulação (vide texto). Os gráficos foram truncados em 2 segundos para facilitar a visualização dos dados.....	41

Figura 3.15. Histograma dos ISIs para os registros mostrados na Figura 3.14. As estatísticas dos ISIs estão indicadas nos respectivos gráficos.	42
Figura 3.16. Relação entre o desvio-padrão (σ) e a média (μ) dos ISIs obtidas para os modelos MNs com dendrito passivo. Os pontos representam cada uma das simulações realizadas em cada tipo de MN.	42
Figura 3.17. (A) Histograma de ciclos para diferentes frequências de modulação (indicadas nos gráficos). (B) Resposta em frequência para um MN tipo F. Gráficos adaptados de Baldissera e colaboradores (Baldissera <i>et al.</i> , 1984).	44
Figura 3.18. Histograma de ciclos obtido através da simulação do modelo de MN tipo S.	46
Figura 3.19. (A) Ganho e (B) Fase para diferentes modelos de MNs: Booth e colaboradores (x) e Traub (linha tracejada, traços curtos com cruces) (Traub, 1977; Booth <i>et al.</i> , 1997); Booth e colaboradores com dendrito passivo (Δ); <i>leaky-integrator</i> (linha tracejada, traços longos); e <i>leaky-integrator</i> com AHP ($\circ$). Comparação com os dados de MNs reais (linha contínua) reportados por Baldissera e colaboradores (1984). Adaptado de Goroso e colaboradores (2000).	46
Figura 3.20. Curvas de resposta em frequência para os modelos de MNs dos tipos S (A) e FF (B) com dendrito passivo.	47
Figura 4.1. Circuito elétrico equivalente dos novos modelos de MNs com dendrito ativo.	49
Figura 4.2. Gráficos superiores: Curvas F-I dos modelos de MNs dos tipos S, FR e FF com dendrito ativo. Gráficos inferiores: Pulsos de corrente triangular injetados nos somas dos respectivos modelos. A taxa da subida e descida dos pulsos é igual a 4 nA/ms (MN tipo S), 6 nA/ms (MN tipo FR) e 8 nA/ms (MN tipo FF). As setas indicam as fases de subida e descida do pulso de corrente.	54
Figura 4.3. Curva F-I esquemática indicando os pontos onde foram obtidas as propriedades de interesse. A seta vermelha indica o ganho da aceleração e a seta azul o ganho da pós-aceleração, ambos na fase de subida do pulso de corrente triangular. Adaptado de (Lee; Heckman, 1998b).	54
Figura 4.4. Comparação das curvas F-I entre os modelos de MNs com dendrito passivo (curvas vermelhas) e com dendrito ativo (curvas pretas). As setas indicam a fase de subida e de descida do pulso de corrente triangular.	56
Figura 4.5. Análise da sensibilidade dos modelos de MNs com dendrito ativo em relação à variação dos parâmetros da condutância de Ca^{++} do tipo L. Nos gráficos as linhas pretas representam o modelo do tipo S, as linhas vermelhas o modelo do tipo FR e as linhas azuis o	

modelo do tipo FF. As linhas tracejadas sinalizam a faixa de $\pm 20\%$ com relação ao valor nominal de cada ponto de interesse da curva F-I.....	57
Figura 4.6. Superfície formada pelo levantamento da curva F-I do modelo de MN do tipo S para diferentes valores de g_{Ca-L}	59
Figura 4.7. Relação entre a magnitude da PIC e o valor de g_{Ca-L} para o modelo de MN do tipo S. Os pontos pretos indicam os valores simulados, ao passo que a linha vermelha representa o ajuste por uma função reta dos pontos ($IPIC=67,84g_{Ca-L}+0,39$).....	59
Figura 4.8. PAs gerados nos modelos de MNs dos tipos S (A) e FR (B) com dendrito ativo. Correntes iônicas somáticas responsáveis pelas diferentes fases dos PAs (despolarização, repolarização e AHP) gerados nos modelos de MNs dos tipos S (C) e FR (D) com dendrito ativo. Corrente iônica dendrítica responsável pela PIC. Note a convenção utilizada de que correntes de entrada são negativas e correntes de saída positivas.	62
Figura 4.9. Dinâmica das variáveis de estado (m, h, n, q e p) das condutâncias iônicas voltagem-dependentes.	62
Figura 4.10. Decurso temporal da AHP para os três modelos de MNs com dendrito ativo. O PA foi truncado em 10 mV.....	63
Figura 4.11. Resposta repetitiva dos novos modelos matemáticos de MNs dos tipos S (A), FR (B) e FF (C) com dendrito ativo. A seta preta indica a fase de aceleração da frequência de disparo do MN. A seta vermelha indica o potencial platô observado após o fim do degrau de corrente.	65
Figura 4.12. Resposta repetitiva de um MN de gato descerebrado em com a administração de 5-HT. A seta indica o início da aceleração da frequência de disparo do MN. O gráfico inferior mostra o registro da corrente injetada no soma e logo acima mostra-se o registro do potencial de membrana somático.	66
Figura 4.13. Curvas I-V para os modelos de MNs com dendrito ativo. As setas indicam o sentido da variação do potencial de membrana somático.....	68
Figura 4.14. (A) Exemplo de uma curva I-V obtida por simulação computacional de um modelo de MN do tipo S com dendrito ativo (totalmente biestável). A seta dupla indica a medida utilizada para caracterizar a magnitude da I_{PIC} . (B) Exemplo de uma curva I-V obtida experimentalmente em um MN totalmente biestável (Lee; Heckman, 1998a). O potencial de repouso neste caso é igual a -70 mV.	69
Figura 4.15. Histograma da magnitude da I_{PIC} obtida experimentalmente em MNs de gatos (Lee; Heckman, 1999). As setas indicam, aproximadamente, o valor que se encontra a	

magnitude da I_{PIC} para os modelos de MNs dos tipos S (preta), FR (vermelha) e FF (azul) com dendrito ativo.....	69
Figura 4.16. Registro dos PAs e os respectivos ISIs em três diferentes situações para os modelos com dendrito ativo. (A) Modelo de MN tipo S disparando a uma frequência média de 25,88 Hz. (B) Modelo de MN tipo FR disparando a uma frequência média de 35,94 Hz. (C) Modelo de MN tipo FF disparando a uma frequência média de 40,35 Hz. A linha tracejada vermelha representa o instante de tempo a partir do qual as estatísticas dos ISIs foram calculadas, ou seja, excluiu-se o primeiro segundo de cada simulação. Os gráficos foram truncados em 2 segundos para facilitar a visualização dos dados.	71
Figura 4.17. Histograma dos ISIs para os registros mostrados na Figura 4.16 para os modelos com dendrito ativo. As estatísticas dos ISIs estão indicadas nos respectivos gráficos.	72
Figura 4.18. Curvas σ versus μ dos ISIs para os modelos de MNs dos tipos S (A), FR (B) e FF (C). Em cada gráfico os pontos azuis representam os resultados das simulações dos modelos com dendrito ativo, ao passo que os pontos pretos representam os resultados das simulações dos modelos com dendrito passivo. As linhas vermelhas representam os ajustes das curvas (ou trechos) por uma reta.	73
Figura 5.1. Curvas I-V com a corrente de fuga subtraída e sujeitas à atividade excitatória de fundo ($I_{aIN} = 4,8$ nA) para os modelos de MNs dos tipos S (A), FR (B) e FF (C) com dendrito passivo (linha preta) e dendrito ativo (linha vermelha).	76
Figura 5.2. Respostas dos modelos de MNs dos tipos S (A), FR (B) e FF (C) com dendrito passivo (linha preta) e com dendrito ativo (linha vermelha) quando estes estão sujeitos às entradas mostradas abaixo de cada um dos gráficos, onde a linha preta representa a corrente injetada no soma e a linha grossa vermelha representa a atividade sináptica excitatória.	77
Figura 5.3. (A) Padrões de disparo de PAs do modelo de MN do tipo S com dendrito ativo quando estimulado por uma entrada sináptica excitatória. Este modelo apresenta disparos autossustentados típicos de MNs totalmente biestáveis, sendo que uma breve entrada sináptica inibitória é suficiente para “desligar” a PIC e retornar o MN para o estado de repouso. Os gráficos inferiores mostram que a atividade sináptica excitatória imposta é insuficiente para promover disparos de PAs nos modelos de MNs dos tipos FR (B) e FF (C) com dendrito ativo. Apenas com a injeção de uma corrente despolarizante no compartimento somático tais modelos atingem seus respectivos V_{th} . As setas indicam que com o fim dos estímulos excitatórios os modelos de MNs dos tipos FR e FF apresentam um potencial platô que perdura por algumas centenas de milissegundos.	78

Figura 5.4. (A) Padrões de disparo de MNs de gatos totalmente biestáveis sujeitos à atividade excitatória proveniente das aferências Ia. (B) Padrões de disparo de MNs de gatos parcialmente biestáveis sujeitos à atividade excitatória proveniente das aferências Ia. Note que nos MNs totalmente biestáveis a entrada sináptica foi suficiente para recrutar o MN, ao passo que nos MNs parcialmente biestáveis essa entrada promove apenas uma despolarização da membrana, sendo necessária a injeção de uma corrente despolarizante no soma para que o MN atinja seu limiar de disparo. Adaptado de Lee e Heckman (1998b).	79
Figura 5.5. Mudanças na magnitude da PIC induzida por entradas sinápticas inibitórias, em MNs de gatos descerebrados. O efeito das entradas inibitórias foi medido como as mudanças na condutância de entrada da célula (eixo das abscissas) devidas à atividade inibitória. Adaptado de Kuo e colaboradores (2003).	80
Figura 5.6. Taxa de disparo dos modelos de MNs do tipo S com dendrito passivo (A) e com dendrito ativo (B) como função das taxas de ativação das sinapses excitatórias (λ_{exc}) e inibitórias (λ_{ini}). No modelo com dendrito passivo λ_{exc} e λ_{ini} foram variadas de 0 a 20 kHz e de 0 a 4 kHz, respectivamente. No modelo com dendrito ativo λ_{exc} e λ_{ini} foram variadas de 0 a 5 kHz e de 0 a 2 kHz, respectivamente.....	81
Figura 5.7. Relações de entrada-saída (frequência de disparo <i>versus</i> λ_{exc}) para os modelos de MN do tipo S com dendrito passivo (A) e com dendrito ativo (B) quando estes são sujeitos a diferentes níveis de entrada sináptica inibitória (λ_{ini}).	82
Figura 5.8. Relação entre a diminuição percentual da F_{sus} e a intensidade da corrente sináptica inibitória para o modelo de MN do tipo S com dendrito ativo. Os círculos pretos foram obtidos em diferentes simulações (vide texto) ao passo que a linha tracejada representa o ajuste de curva por uma reta.	83
Figura 5.9. Padrões de disparo do modelo de MN do tipo S com dendrito passivo (A) e com dendrito ativo (B) quando estimulado por vias sinápticas. Em (A) $\lambda_{exc} = 20$ kHz e $\lambda_{ini} = 0$ kHz. A frequência média de disparo do modelo é de 25,32 Hz. Em (B) $\lambda_{exc} = 2$ kHz e $\lambda_{ini} = 0$ kHz. A frequência média de disparo do modelo é de 25,52 Hz. A linha tracejada vermelha indica que o primeiro segundo de cada análise foi eliminado da análise estatística dos ISIs. Os gráficos foram truncados em 2 segundos para facilitar a visualização dos dados.....	84
Figura 5.10. Histogramas dos ISIs mostrados na Figura 5.9. (A) Modelo de MN do tipo S com dendrito passivo. (B) Modelo de MN do tipo S com dendrito ativo.	85
Figura 5.11. Aumento da variabilidade dos ISIs devido às entradas sinápticas inibitórias. (A) Modelo de MN do tipo S com dendrito passivo. (B) Modelo de MN do tipo S com dendrito	

ativo. As linhas cheias representam ajustes de curva feitos para os resultados de simulação (círculos pretos), sendo que para o modelo com dendrito passivo utilizou-se uma curva de potência e para o modelo com dendrito ativo uma reta.	86
Figura 5.12. Exemplo da modulação da taxa de disparo de um MN do tipo S com dendrito passivo quando estimulado por vias sinápticas excitatórias. A frequência de ativação das sinapses (f) foi modulada senoidalmente conforme mostrado no gráfico inferior.	88
Figura 5.13. Histograma de ciclos obtido através da simulação do modelo de MN tipo FF com dendrito passivo.	90
Figura 5.14. Curvas de resposta em frequência para os modelos de MNs dos tipos S (A) e FF (B) com dendrito passivo.	90
Figura 5.15. Histograma de ciclos obtido através da simulação do modelo de MN tipo S com dendrito ativo.	92
Figura 5.16. Curvas de resposta em frequência para os modelos de MNs dos tipos S (A) e FF (B) com dendrito ativo. As setas indicam as frequências de corte ($H(f) = -1$ dB).	92
Figura 6.1. Aumento do limiar de disparo do MN (V_{th}) com o aumento da corrente injetada no soma (I). As duas curvas representam duas diferentes células que foram registradas por Schwindt e Crill (1982).	102

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1. Condutâncias iônicas presentes nas membranas somática e/ou dendrítica dos MNs. Adaptado de Reikling e colaboradores (2000) e Kernell (2006).....	11
Tabela 3.1. Propriedades dos MNs dos tipos S, FR e FF reportados por Zengel e colaboradores (1985).	26
Tabela 3.2. Parâmetros geométricos e eletrotônicos adotados nos modelos de MNs de diferentes tipos (Cisi, 2007; Cisi; Kohn, 2008).	27
Tabela 3.3. Parâmetros adotados nas condutâncias iônicas voltagem-dependentes (Cisi, 2007; Cisi; Kohn, 2008).	28
Tabela 3.4. Parâmetros das sinapses excitatórias e inibitórias (Cisi, 2007; Cisi; Kohn, 2008).	29
Tabela 3.5. Propriedades da AHP (magnitude e duração) para os três modelos de MNs com dendrito passivo.	33
Tabela 3.6. Ganhos das curvas F-I obtidas por dois diferentes métodos: corrente em degrau e pulso triangular. O erro percentual ($e\%$) foi calculado entre os ganhos obtidos pelos métodos do pulso triangular na fase de subida e da corrente em degrau, tendo como referência o valor obtido com este último caso.	36
Tabela 3.7. Amplitude dos PEPS e PIPS unitários obtidos nos modelos de MNs com dendrito passivo.	37
Tabela 3.8. Resumo das estatísticas dos ISIs para os modelos de MNs com dendrito passivo. Os dados são apresentados como a média $\pm$ desvio-padrão (faixa).	42
Tabela 4.1. Propriedades das curvas F-I obtidas experimentalmente em MNs totalmente e parcialmente biestáveis de gatos descerebrados (Lee; Heckman, 1998b).	53
Tabela 4.2. Valores dos parâmetros da condutância de Ca^{++} do tipo L adotados nos novos modelos de MNs com dendrito ativo.	53
Tabela 4.3. Propriedades da curva F-I obtidos nos três novos modelos de MNs com dendrito ativo.	55
Tabela 4.4. I_{th} dos novos modelos de MNs com dendrito ativo. Os valores reportados por Lee e Heckman (1998b) são para MNs totalmente e parcialmente biestáveis e foram separados de acordo com a modelagem proposta no presente trabalho, ou seja, MN tipo S é caracterizado	

como totalmente biestável e MNs dos tipos FR e FF são caracterizados como parcialmente biestáveis.	61
Tabela 4.5. Propriedades da AHP (magnitude e duração) para os três modelos de MNs com dendrito ativo.	63
Tabela 4.6. Magnitude da I_{PIC} dos novos modelos de MNs com dendrito ativo.	68
Tabela 4.7. Resumo das estatísticas dos ISIs para os modelos de MNs com dendrito ativo. Os dados são apresentados como a média $\pm$ desvio-padrão (faixa).	72
Tabela 5.1. Resumo das estatísticas dos ISIs para os modelos de MNs do tipo S com dendrito passivo e com dendrito ativo. Os dados são apresentados como a média $\pm$ desvio-padrão (faixa).	86

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT	5-Hidroxitriptamina (Serotonina)
ACh	Acetilcolina
AHP	Hiperpolarização pós-potencial de ação (<i>AfterHyperPolarization</i>)
Ca⁺⁺	Íon cálcio
Cl⁻	Íon cloreto
F	Unidades motoras de contração rápida (<i>Fast</i>). Pertencem a esta classe de unidades motoras as unidades dos tipos FR, F _{Int} e FF
F-I	Curva de frequência de disparo <i>versus</i> corrente injetada
FR	Unidade motora de contração rápida e resistente à fadiga (<i>Fatigue Resistant</i>)
FF	Unidade motora de contração rápida e rapidamente fatigável (<i>Fast Fatigable</i>)
Glu	Glutamato
ISI	Intervalo de tempo entre dois potenciais de ação consecutivos (<i>InterSpike Interval</i>)
I-V	Curva de corrente <i>versus</i> potencial de membrana
K⁺	Íon potássio
LVA	Tipo de canal ativado com uma pequena despolarização da membrana (<i>Low Voltage-Activated</i>)
MN	Motoneurônio. Neste trabalho esta sigla se refere somente a motoneurônios alfa
Na⁺	Íon sódio
NE	Norepinefrina
PA	Potencial de Ação
PEPS	Potencial Excitatório Pós-Sináptico
PIC	Corrente de entrada persistente (<i>Persistent Inward Current</i>)
PIPS	Potencial Inibitório Pós-Sináptico
S	Unidade motora de contração lenta (<i>Slow</i>)
UM	Unidade Motora
WGN	Ruído branco gaussiano (<i>White Gaussian Noise</i>)

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Descrição	Unidade
t	Tempo	ms
$g_{Na}(t)$	Condutância do canal de Na^+	μS
$g_{Kf}(t)$	Condutância do canal rápido de K^+	μS
$g_{Ks}(t)$	Condutância do canal lento de K^+	μS
$g_{Ca-L}(t)$	Condutância do canal de Ca^{++} tipo L	μS
g_{Lx}	Condutância de fuga	μS
$g_{sin-z}(t)$	Condutância sináptica	μS
$\bar{g}_{Na}$	Densidade de canais de Na^+	mS/cm^2
$\bar{g}_{Kf}$	Densidade de canais rápidos de K^+	mS/cm^2
$\bar{g}_{Ks}$	Densidade de canais lentos de K^+	mS/cm^2
$\bar{g}_{Ca-L}$	Densidade de canais de Ca^{++} tipo L	mS/cm^2
$\bar{g}_{sin-z}$	Condutância sináptica máxima	nS
g_c	Condutância de acoplamento soma-dendrito	μS
E_{rep}	Potencial de membrana no repouso	mV
E_{Na}	Potencial de equilíbrio para o íon Na^+	mV
E_K	Potencial de equilíbrio para o íon K^+	mV
E_{Ca}	Potencial de equilíbrio para o íon Ca^{++}	mV
E_L	Potencial de Nernst para os íons que compõem a corrente de fuga	mV
E_{sin-z}	Potencial de reversão das sinapses	mV
$V_x(t)$	Potencial de membrana	mV
C_x	Capacitância do compartimento	nF
l_x	Comprimento do compartimento	μm
r_x	Raio do compartimento	μm
A_x	Área do compartimento	cm^2
R_m	Resistência específica da célula	Ωcm^2
R_{m-x}	Resistência específica do compartimento	Ωcm^2
C_m	Capacitância específica da membrana	$\mu F/cm^2$
R_i	Resistividade citoplasmática	Ωcm
R_N	Resistência de entrada da célula	$M\Omega$
I_{rh}	Corrente de reobase	nA
τ_m	Constante de tempo da membrana	ms
V_{th}	Limiar de disparo do PA	mV
V_{th-Ca}	Limiar de ativação do canal de Ca^{++} do tipo L	mV
$I_{inj-x}(t)$	Corrente injetada	nA
$I_{sin-z}(t)$	Corrente sináptica	nA
$I_{Na}(t)$	Corrente gerada pela condutância de Na^+	nA
$I_{Kf}(t)$	Corrente gerada pela condutância rápida de K^+	nA
$I_{Ks}(t)$	Corrente gerada pela condutância lenta de K^+	nA
$I_{Ca}(t)$	Corrente gerada pela condutância de Ca^{++} do tipo L	nA
$I_{PIC}(t)$	Corrente de entrada persistente	nA
IaI_N	Magnitude da corrente sináptica excitatória efetiva que atinge o soma.	nA
$m(t)$	Variável de ativação para o canal de Na^+	1

h (t)	Variável de inativação para o canal de Na^+	1
n (t)	Variável de ativação para o canal rápido de K^+	1
q (t)	Variável de ativação para o canal lento de K^+	1
p (t)	Variável de ativação para o canal de Ca^{++} do tipo L	1
r_z (t)	Fração de receptores ligados a neurotransmissores	1
α_y (V)	Taxa de transferência iônica, dependente do potencial de membrana, do meio extracelular para o meio intracelular	ms^{-1}
β_y (V)	Taxa de transferência iônica, dependente do potencial de membrana, do meio intracelular para o meio extracelular	ms^{-1}
α_Y	Taxa de transferência iônica, constante, do meio extracelular para o meio intracelular	ms^{-1}
β_Y	Taxa de transferência iônica, constante, do meio intracelular para o meio extracelular	ms^{-1}
α_z	Taxa de transferência de neurotransmissores que se ligam aos receptores (constante)	ms^{-1}
β_z	Taxa de transferência de neurotransmissores que se desligam dos receptores (constante)	ms^{-1}
τ_p	Constante de tempo de ativação da condutância de Ca^{++} do tipo L	ms
N_e	Número de sinapses excitatórias	Sinapses
N_i	Número de sinapses inibitórias	Sinapses
[T]	Concentração de neurotransmissores na fenda sináptica	mM
$T_{\text{máx}}$	Concentração máxima de neurotransmissores na fenda sináptica	mM
τ_{r-z}	Constante de tempo de ativação das sinapses	Ms
$r_{\infty-z}$	Valor-limite da variável r_z (t)	1
λ	Frequência média de ocorrência de eventos pré-sinápticos	(Hz)
w	Intervalo entre PAs pré-sinápticos consecutivos	(ms)
p_w (w)	Função densidade de probabilidade dos intervalos entre dois eventos pré-sinápticos consecutivos	1
c.v.	Coefficiente de variação	%
μ	Média	?
σ	Desvio-padrão	?
ε	Coefficiente de assimetria	1
κ	Coefficiente de curtose	1
R^2	Coefficiente de determinação	1
f	Frequência de modulação	Hz
H(f)	Ganho	dB
Φ(f)	Fase	°
F_{min}	Frequência mínima de disparo.	Hz
F_{sus}	Frequência de disparo autossustentada.	Hz

- O subscrito “x” é relativo ao compartimento do modelo: “s” para soma; “d” para dendrito.
- O subscrito “y” é relativo às variáveis de estado das condutâncias iônicas voltagem-dependentes: “m” para a variável de ativação do canal de Na^+ ; “h” para a variável de inativação do canal de Na^+ ; “n” para a variável de ativação do canal rápido de K^+ ; “q” para a variável de ativação do canal lento de K^+ ; e “p” para a variável de ativação do canal de Ca^{++} tipo L.
- O subscrito “Y” é relativo às variáveis de estado das condutâncias iônicas voltagem-dependentes após a aproximação pelo formalismo de Destexhe (1997).
- O subscrito “z” é relativo ao tipo da sinapse: “exc” para sinapses excitatórias; e “ini” para as sinapses inibitórias.
- Atribui-se “1” na coluna das unidades quando a variável referente ao símbolo descrito for adimensional.
- Atribui-se “?” quando a variável referente ao símbolo descrito depender da unidade de outra variável, por exemplo, a média (μ) do potencial de membrana (V_x (t)) tem unidade mV, ao passo que a média (μ) dos ISIs tem unidade ms.

SUMÁRIO

Resumo	i
Abstract.....	ii
Lista de Ilustrações	iii
Lista de Tabelas	xi
Lista de Abreviaturas e Siglas	xiii
Lista de Símbolos	xiv
1 Introdução.....	1
1.1 Motivação	4
1.2 Objetivos	5
2 Fisiologia dos Motoneurônios	6
2.1 Propriedades eletrofisiológicas dos MNs.....	7
2.2 Condutâncias iônicas	9
2.3 Corrente de entrada persistente	11
2.3.1 Comportamento biestável e potencial platô.....	12
2.3.2 Amplificação da corrente sináptica	13
2.4 Resposta repetitiva do motoneurônio.....	15
3 Modelos-base de Motoneurônios com Dendrito Passivo	17
3.1 Equacionamento e dinâmica dos modelos	18
3.1.1 Dinâmica das condutâncias voltagem-dependentes	20
3.1.2 Dinâmica das condutâncias sinápticas.....	22
3.2 Parâmetros adotados nos modelos-base.....	26
3.2.1 Parâmetros geométricos e eletrotônicos	26
3.2.2 Parâmetros das condutâncias voltagem-dependentes	27

3.2.3	Parâmetros das condutâncias sinápticas	28
3.3	Implementação computacional dos modelos	29
3.4	Alguns resultados iniciais	31
3.4.1	Potencial de ação e AHP	32
3.4.2	Adaptação e curva frequência de disparo versus corrente.....	33
3.4.3	Potenciais pós-sinápticos unitários.....	36
3.4.4	Variabilidade dos intervalos entre disparos devido ao ruído sináptico	38
3.4.5	Resposta em frequência.....	43
4	Novos Modelos de Motoneurônios com Dendrito Ativo	48
4.1	Equacionamento e dinâmica da condutância de Ca^{++} do tipo L	49
4.2	Implementação computacional dos novos modelos.....	51
4.3	Parametrização dos novos modelos	52
4.3.1	Parametrização da condutância de Ca^{++} do tipo L.....	52
4.3.2	Análise da sensibilidade dos modelos	56
4.3.3	Variação da excitabilidade nos modelos	58
4.4	Validação dos novos modelos de MNs	60
4.4.1	Reobase.....	60
4.4.2	Potencial de ação e AHP	61
4.4.3	Resposta repetitiva e comportamento biestável.....	64
4.4.4	Curva de corrente versus potencial de membrana	66
4.4.5	Variabilidade dos intervalos entre disparos devido ao ruído sináptico	70
5	Efeito de Entradas Sinápticas no Comportamento dos Modelos de Motoneurônios	74
5.1	Amplificação da corrente sináptica efetiva.....	75
5.2	Resposta repetitiva evocada por entradas sinápticas	77
5.2.1	Efeito de entradas sinápticas inibitórias na resposta repetitiva	79
5.2.2	Variabilidade dos intervalos entre disparos	83
5.3	Modulação senoidal da ativação sináptica excitatória	87

6	Discussão	94
6.1	Comparação com outros modelos de MNs com dendrito ativo	97
6.2	Limitações dos modelos.....	100
7	Comentários Finais	103
	Referências Bibliográficas.....	105
	Apêndice A – Rotinas Matlab® para Simulação dos Modelos	114
	Rotina Principal (main.m)	114
	Algoritmo de Runge-Kutta de 4ª ordem (ode4.m)	118
	Modelo de MN (mn.m).....	120
	Dinâmica das sinapses excitatórias (r_exc.m)	122
	Dinâmica das sinapses inibitórias (r_ini.m)	122
	Corrente injetada no soma (Iinj_s.m)	123
	Cálculo da frequência instantânea de disparo do MN e curva F-I (finst.m).....	124
	Histograma de ciclos (cyclehistogram.m)	125

1 INTRODUÇÃO

Devido à sua acessibilidade em pesquisas experimentais, os motoneurônios (MNs) classicamente exercem um papel fundamental na compreensão de diversos fenômenos relacionados ao funcionamento neuronal. Do ponto de vista do sistema motor, estes elementos não são meramente estações repetidoras de comandos provenientes do encéfalo, e seus padrões de disparo, que comandarão os músculos esqueléticos periféricos, dependerão de suas propriedades intrínsecas, bem como das redes neuronais medulares associadas (Figura 1.1).

Figura 1.1. Visão geral de fatores que exercem influência sobre um MN. Adaptado de Rekling e colaboradores (2000).

A modelagem matemática e a simulação computacional têm permitido estudar fenômenos e mecanismos de importância tanto conceitual, quanto prática, no que se refere ao comportamento dos MNs. Ao longo dos anos, muitos modelos matemáticos de MNs de vertebrados têm sido desenvolvidos baseando-se na premissa de que a árvore dendrítica tem um comportamento passivo (Jones; Bawa, 1997; McIntyre; Grill, 2002; Vieira; Kohn, 2007; Cisi; Kohn, 2008), entretanto, isso é válido, em boa aproximação, somente quando se simulam experimentos realizados com o animal anestesiado, sem a presença de neuromoduladores (e.g., serotonina (5-HT) e norepinefrina (NE)) na medula espinhal. Estes neuromoduladores, provenientes do tronco encefálico (e.g., núcleo da rafe e locus cerúleo), podem modificar as propriedades elétricas dos MNs e, de forma geral, tendem a aumentar sua

excitabilidade através da ativação de condutâncias iônicas voltagem-dependentes que se situam nos dendritos (Rekling *et al.*, 2000).

Portanto, em certas condições experimentais, ou mesmo no animal intacto, os MNs apresentarão fenômenos mais complexos do que aqueles representados pelos modelos com dendrito passivo (para maiores detalhes vide capítulo 2). Exemplos destes fenômenos são a biestabilidade e o potencial platô (Figura 1.2), que estão sendo largamente estudados em diferentes espécies animais (e.g., em tartarugas (Hounsgaard; Mintz, 1988), gatos (Schwindt; Crill, 1980a; b; Hounsgaard *et al.*, 1988; Lee; Heckman, 1998a; b), ratos (Powers; Binder, 2003; Li *et al.*, 2004; Rank *et al.*, 2007) e seres humanos (Gorassini *et al.*, 1998; Collins *et al.*, 2001; 2002; Nickolls *et al.*, 2004; Fuglevand *et al.*, 2006; Kamen *et al.*, 2006)). Cogita-se que funcionalmente MNs que apresentem características biestáveis sejam responsáveis por tarefas posturais e, em certo grau, estejam relacionados com a espasticidade em pacientes neurológicos.

Figura 1.2. (A) Biestabilidade em MN espinhal de tartaruga quando feita a administração de 5-HT. Os disparos autossustentados foram iniciados após uma breve entrada sináptica excitatória e finalizados após uma breve entrada sináptica inibitória (Kiehn; Eken, 1998). (B) Potencial platô visto em MN espinhal de tartaruga numa preparação *in vivo*. A adição de apamina suprime os disparos de potenciais de ação (PAs) e possibilita a visão do platô, ao passo que a adição de nifedipina bloqueia canais de Ca^{++} suprimindo o potencial platô. Adaptado de Hounsgaard e Mintz (1988).

Alguns estudos em neurociência computacional propuseram modelos matemáticos de MNs que apresentam condutâncias iônicas voltagem-dependentes em seus dendritos (Booth; Rinzel, 1995; Booth *et al.*, 1997; Dai *et al.*, 2002; Taylor; Enoka, 2004; Elbasiouny *et al.*, 2005; 2006), sendo que os trabalhos de Booth e colaboradores (1997) foram os pioneiros na caracterização do comportamento biestável de MNs. Seus modelos são simples, do ponto de vista do número de compartimentos (apenas dois, sendo um somático e outro dendrítico) e incluem condutâncias de Ca^{++} voltagem-dependentes e de K^+ dependente de Ca^{++} , ambas no compartimento dendrítico, bem como uma dinâmica apropriada para a concentração de Ca^{++} . Já os trabalhos de Taylor e Enoka (2004) e Dai e colaboradores (2002) se propuseram a

estudar outros fenômenos não relacionados ao comportamento específico do MN quando em biestabilidade. O trabalho de Mahl (2005) propõe um modelo mais complexo, multicompartimental, e incorpora, em seu ramo dendrítico, as mesmas condutâncias adotadas na modelagem de Booth e colaboradores (1997), entretanto, sua complexidade computacional (19 compartimentos) não o torna conveniente em estudos cujo objetivo seja a avaliação do comportamento de uma rede motoneuronal (*motoneuron pool*) onde haja milhares de neurônios interconectados. Além disso, é realizada a modelagem somente de MNs do tipo S, que tendem a apresentar com maior probabilidade o fenômeno da biestabilidade, porém, estudos recentes têm revelado que há diferentes níveis de biestabilidade e que possivelmente células com menor resistência de entrada (R_N), ou seja, MNs dos tipos FR e FF, também apresentam tal fenômeno em níveis diferenciados (Lee; Heckman, 1998a; b; 2000; Heckman *et al.*, 2005; Heckman *et al.*, 2008).

Devido à sua localização dendrítica, as condutâncias iônicas voltagem-dependentes alteram a forma como se dá a integração sináptica nos MNs, ou seja, entradas sinápticas excitatórias e/ou inibitórias provenientes tanto de comandos descendentes, quanto da periferia, serão amplificadas (Figura 1.3) e controlarão o grau de excitabilidade do MN (Heckman; Lee, 1999; Lee; Heckman, 2000; Kuo *et al.*, 2003; Elbasiouny *et al.*, 2005; 2006; Heckman *et al.*, 2008; Hyngstrom *et al.*, 2008). Neste sentido, torna-se relevante um melhor entendimento de como diferentes tipos de entradas sinápticas irão alterar o comportamento de um dado MN quando levado a um estado mais excitado.

Figura 1.3. Amplificação da corrente sináptica devido à presença de condutâncias iônicas voltagem-dependentes nos dendritos. A linha verde representa um MN cujas condutâncias iônicas estão ativas, ao passo que a linha vermelha representa um MN cuja árvore dendrítica é passiva. Adaptado de Heckman e colaboradores (2008).

1.1 Motivação

Um simulador da medula espinhal foi desenvolvido no Laboratório de Engenharia Biomédica da EPUSP (Figura 1.4). Denominado ReMoto (Cisi; Kohn, 2008), é composto de todos os elementos necessários para se verificar o comportamento motor desde os comandos descendentes até a geração de força e eletromiograma (EMG). Este simulador possui modelos compartimentais de MNs de diferentes tipos (i.e. tipos S, FR e FF) e que leva em consideração tanto os parâmetros geométricos, quanto eletrotônicos, de MNs reais de gatos. Entretanto, nenhuma condutância iônica voltagem-dependente foi inserida no compartimento dendrítico dos mesmos, fazendo com que seja representada somente uma gama dos fenômenos que são observados na literatura experimental. Sendo assim, para estudar como a biestabilidade influencia tanto o comportamento de MNs isolados, quanto o comportamento motor como um todo, ou melhor, como a presença de canais iônicos ativos nos dendritos influenciará os padrões de disparo dos MNs e a consequente geração de força e EMG, torna-se relevante o aprimoramento dos modelos de MNs descritos por Cisi e Kohn (2007; 2008), incluindo condutâncias iônicas voltagem-dependentes de forma que fenômenos como a biestabilidade e o potencial platô passem a ser observados.

Figura 1.4. Visão geral de um núcleo motor desenvolvido no ReMoto. Adaptado de Cisi e Kohn (2008).

1.2 Objetivos

De acordo com o exposto acima, os objetivos do presente trabalho são:

- Aprimorar os modelos matemáticos de MNs de diferentes tipos reportados por Cisi e Kohn (2007; 2008), inserindo, *a priori*, uma única condutância iônica voltagem-dependente no compartimento dendrítico de cada um dos modelos, desta forma, aumentando muito pouco a complexidade computacional dos mesmos.
- Uma vez parametrizados e validados, os novos modelos com dendrito ativo serão submetidos a diferentes tipos de entradas sinápticas provenientes tanto de aferências excitatórias, quanto de inibitórias, como forma de verificar as mudanças no comportamento dos modelos quando há a presença de condutâncias iônicas voltagem-dependentes em comparação com os respectivos modelos com dendrito puramente passivo.

2 FISIOLOGIA DOS MOTONEURÔNIOS

A interação de um indivíduo com o ambiente que o cerca é realizada fundamentalmente através do movimento, executando tarefas simples (e.g., manutenção da postura), rítmicas (e.g., locomoção e respiração) ou mais complexas (e.g., falar e tocar um instrumento musical). O controle desse movimento é realizado, em grande parte, pelos MNs que estão localizados na medula espinhal, sendo que seus diferentes padrões de disparo chegam até os músculos esqueléticos periféricos, contraindo-os ou relaxando-os, e assim produzindo diferentes comportamentos motores (Rekling *et al.*, 2000). Portanto, Sherrington definiu que a unidade fundamental do controle motor, chamada de unidade motora (UM), é representada por um MN e as fibras musculares que o mesmo inerva (Figura 2.1).

Figura 2.1. Representação esquemática de uma unidade motora (UM). Adaptado de Bear e colaboradores (2002).

Classicamente, a classificação dos MNs se baseia no tipo de UM às quais os mesmos pertencem, sendo que os MNs do tipo S (*slow*) tendem a inervar fibras musculares de contração lenta e resistentes à fadiga, ao passo que MNs do tipo F (*fast*) tendem a inervar fibras musculares de contração rápida, podendo ser resistentes à fadiga (MNs do tipo FR (*fatigue resistant*)) ou rapidamente fatigáveis (MNs do tipo FF (*fast fatigable*)).

Nesse sentido, esse capítulo abordará, de forma sucinta, as propriedades eletrofisiológicas que diferenciam os tipos de MNs, além de fornecer uma breve revisão sobre os fenômenos que estes importantes elementos do controle motor podem apresentar quando sujeitos a comandos provenientes tanto de centros superiores quanto da periferia.

2.1 Propriedades eletrofisiológicas dos MNs

A classificação dos tipos de MNs não se limita às diferenças existentes nas propriedades mecânicas das UMs à que pertencem. MNs de diferentes tipos possuem características geométricas e eletrofisiológicas que os diferem, sendo que MNs do tipo S são geometricamente menores do que os do tipo FR, que por sua vez são menores que os do tipo FF. Além disso, MNs menores possuem uma menor velocidade de condução axonal quando comparados com MNs maiores.

Uma importante medida indireta da excitabilidade motoneuronal é a sua resistência de entrada (R_N), cujo valor pode ser obtido através da inclinação da curva de corrente *versus* potencial de membrana (I-V) para valores de corrente subliminares (Zengel *et al.*, 1985; Kernell, 2006). A Figura 2.2 mostra o exemplo da resposta dos três tipos principais de MNs a um pulso de corrente de longa duração (100 ms) com intensidade de 1 nA. Observa-se que quanto maior o MN, menor é a variação do potencial de membrana causada pelo pulso de corrente, logo, pela lei de Ohm ($\Delta V = R_N \times I$) pode-se concluir que o valor de R_N é inversamente proporcional ao tamanho do MN, ou seja, MNs menores possuem valores de R_N maiores e vice-versa. Isso significa que para atingir um dado limiar de disparo (V_{th}) os MNs com menor R_N necessitarão de uma maior corrente fluindo através de sua membrana. Dessa forma, a mínima corrente de longa duração (maior que 50 ms) capaz de provocar o disparo de um potencial de ação (PA), conhecida como corrente de reobase (I_{th}), está relacionada com o tamanho do MN, ou seja, MNs maiores (menores) possuem valores de I_{th} maiores (menores).

Outra propriedade específica dos MNs que pode ser observada ainda durante o regime subliminar é a constante de tempo da membrana (τ_m). Essa propriedade depende das propriedades passivas da membrana, tais como resistência de membrana (R_m) e capacitância de membrana (C_m), sendo que ambas variam com a geometria da célula. Dessa forma, verifica-se experimentalmente que MNs menores possuem um maior valor de τ_m e vice-versa, sendo que a faixa de valores encontrada para MNs de gatos vai de 2 a 14 ms (Kernell, 2006).

Figura 2.2. Registro do potencial de membrana de três tipos principais de MNs de gatos anestesiados em resposta a um pulso de corrente de 1 nA e 100 ms (Zengel *et al.*, 1985).

Quando o MN é estimulado através de uma corrente suficiente para gerar um PA verifica-se que logo em seguida há uma região de potencial de membrana hiperpolarizado cuja duração varia de algumas dezenas até centenas de milissegundos. Essa região, conhecida como hiperpolarização pós-potencial de ação (AHP), é devida às condutâncias iônicas ativas, principalmente as condutâncias rápida de K^+ e de K^+ dependente de Ca^{++} (cf. seção 2.2), e é a responsável pelas características de disparo repetitivo de um dado MN.

A Figura 2.3 mostra o decurso temporal da AHP para dois tipos de MNs de gatos anestesiados. De uma forma geral, tanto a magnitude, quanto a duração da AHP são maiores para MNs menores, aumentando à medida que se aumenta o tamanho da célula. Entretanto, esta propriedade dos MNs é fortemente alterada quando há a ação de neuromoduladores (e.g., 5-HT e NE), que tendem a diminuir tanto sua magnitude, quanto sua duração, aumentando assim a excitabilidade do MN (Rekling *et al.*, 2000).

Figura 2.3. Registro do decurso temporal da AHP em MNs dos tipos FF e S de gatos anestesiados (Zengel *et al.*, 1985).

2.2 Condutâncias iônicas

Diversas condutâncias iônicas estão localizadas nas membranas somática e dendrítica de um MN e são as responsáveis pelos diferentes fenômenos que são observados durante o comportamento motoneuronal. Muitas destas condutâncias são voltagem-dependentes e somente após uma despolarização da membrana suficientemente próxima do V_{th} as mesmas são ativadas, entretanto, outras têm um baixo limiar e estão ativas mesmo quando não há o disparo de um PA, ou seja, atuam no regime subliminar. Além destas, existem condutâncias iônicas que têm sua ativação dependente da concentração de um determinado tipo de íon no meio intracelular.

Estas condutâncias se dividem em três grandes grupos principais: i) condutâncias de Na^+ ; ii) condutâncias de K^+ ; e iii) condutâncias de Ca^{++} . Aqui serão revisadas as funções de apenas alguns dos tipos existentes, para maiores detalhes vide Rekling e colaboradores (2000) e Kernell (2006).

A Figura 2.4 indica quais as condutâncias iônicas participam de cada uma das fases do PA. A condutância de Na^+ (g_{Na}) e a condutância de K^+ (g_K), ambas voltagem-dependentes, são as responsáveis pelas fases de despolarização e de repolarização do PA. Ainda na fase de repolarização há a contribuição de um tipo de condutância de K^+ que é dependente da concentração de Ca^{++} ($g_{K-Ca(BK)}$). Após o PA, na fase da AHP, há a participação de outro tipo

de condutância de K^+ dependente da concentração de Ca^{++} ($g_{K-Ca(SK)}$), além de uma condutância de Ca^{++} do tipo N voltagem-dependente.

Quando os MNs estão sob a ação de neuromoduladores (e.g., 5-HT, NE, Glutamato (Glu) e Acetilcolina (ACh)) algumas condutâncias iônicas voltagem-dependentes são ativadas, tanto no soma, quanto no dendrito, e passam a colaborar com as diferentes fases do PA. Em geral há o aumento da excitabilidade do MN quando estas condutâncias são ativadas, pois duas delas (condutância de Na^+ persistente (g_{Na-p}) e de Ca^{++} do tipo L (g_{Ca-L})) tendem a produzir uma corrente de entrada persistente (PIC) que irá promover uma despolarização sustentada da membrana e alterar significativamente as propriedades do MN, tais como, R_N e AHP. Além disso, a ativação de uma condutância de Ca^{++} do tipo T (g_{Ca-T}) é responsável por uma despolarização pós-potencial de ação.

Figura 2.4. Condutâncias iônicas que estão envolvidas nas diferentes fases de um PA. Adaptado de Rekling e colaboradores (2000).

A Tabela 2.1 resume os principais tipos de condutâncias iônicas encontradas nos diferentes tipos de MNs de vertebrados e a função que as mesmas exercem durante o comportamento motoneuronal. Além disso, são indicados os tipos de neuromoduladores que são responsáveis pela ativação de uma determinada condutância. A condutância h (g_h) que não foi citada como participante do PA é uma condutância ativada por hiperpolarização e é responsável pela estabilização do potencial de repouso da célula (Rekling *et al.*, 2000).

Tabela 2.1. Condutâncias iônicas presentes nas membranas somática e/ou dendrítica dos MNs. Adaptado de Reikling e colaboradores (2000) e Kernell (2006).

Condutância	Função	Neuromodulador
g_{Na}	Fase de despolarização e repolarização do PA.	
g_{Na-p}	Resposta repetitiva.	5-HT
g_{Ca-T}	Despolarização pós-potencial de ação.	5-HT
g_{Ca-L}	PIC.	5-HT, NE, Glu e ACh
g_{Ca-N}	AHP.	
g_K	Repolarização do PA e fase rápida da AHP.	
$g_{K-Ca(BK)}$	Repolarização do PA.	
$g_{K-Ca(SK)}$	AHP.	
g_h	Potencial de repouso da membrana.	5-HT, NE

2.3 Corrente de entrada persistente

A PIC é gerada pelas condutâncias voltagem-dependentes de Na^+ persistente (g_{Na-p}) e de Ca^{++} do tipo L (g_{Ca-L}), e sua ativação promove uma despolarização sustentada do potencial de membrana (Heckman *et al.*, 2008). Schwindt e Crill (1980a; 1980b) mostraram que a PIC pode ser observada através de uma região de inclinação negativa da curva I-V característica de MNs, sendo que o limiar de ativação desta corrente é, em geral, abaixo do V_{th} (Kernell, 2006).

Lee e Heckman (1998a; 1999) reportaram que em MNs de gatos descerebrados a magnitude da PIC pode chegar a algumas dezenas de nano ampères (faixa de 10 a 35 nA), porém, observa-se uma diferença entre os comportamentos de MNs de baixa e os de alta R_N . MNs de baixa R_N (menores que 1,25 M Ω) têm o início da PIC em um potencial de membrana mais hiperpolarizado do que os MNs de alta R_N , além de apresentarem uma maior histerese na curva I-V quando a mesma é levantada através da variação triangular do potencial de membrana.

Figura 2.5. Curva I-V para MNs de baixa R_N (A) e de alta R_N (B) de gatos descerebrados, levantadas por uma variação triangular do potencial de membrana. As setas indicam o sentido de subida e de descida do pulso. Adaptado de Lee e Heckman (1998a).

2.3.1 Comportamento biestável e potencial platô

A presença da PIC eleva significativamente a excitabilidade dos MNs fazendo com que os mesmos passem a apresentar fenômenos que não são vistos quando o animal está anestesiado e as vias monoaminérgicas estão inativas. Estes fenômenos têm sido largamente estudados e são conhecidos como biestabilidade e potencial platô (Hounsgaard *et al.*, 1988; Hounsgaard; Mintz, 1988; Lee; Heckman, 1998a; b).

A biestabilidade (Figura 2.6A) pode ser observada através da ativação do MN por uma entrada sináptica excitatória. Quando esta corrente sináptica é interrompida, observa-se que o MN continua disparando PAs de forma autossustentada devido à presença da PIC que decai de forma bastante lenta. Esses disparos autossustentados só são interrompidos quando uma entrada sináptica inibitória hiperpolariza suficientemente a membrana do MN, desativando as condutâncias iônicas voltagem-dependentes (Hounsgaard *et al.*, 1988; Kiehn; Eken, 1998).

Eliminando-se os disparos de PA do MN (e.g., bloqueando os canais de Na^+) é possível observar que o potencial de membrana após o fim da entrada sináptica excitatória se mantém em um nível despolarizado devido à PIC Figura 2.6B. Esse nível despolarizado é conhecido como potencial platô e também pode ser eliminado pela aplicação de uma corrente que hiperpolarize a membrana (Hounsgaard *et al.*, 1988; Kiehn; Eken, 1998).

Figura 2.6. (A) Comportamento biestável de um MN espinhal de gato. (B) Potencial platô observado quando se bloqueia os mecanismos que geram os PAs. As barras pretas indicam a ativação de entradas sinápticas excitatórias, enquanto que as barras vermelhas indicam a ativação de entradas sinápticas inibitórias. Adaptado de Hounsgaard e colaboradores (1988).

Lee e Heckman (Lee; Heckman, 1998b) mostraram que em gatos descerebrados, em geral MNs de baixa R_N (menores que 1,25 $M\Omega$) apresentam o comportamento biestável por mais de três segundos de duração, portanto, foram classificados como totalmente biestáveis. Já os MNs de alta R_N , em geral, apresentam tal comportamento durante menos de três segundos ou simplesmente não o apresentam, sendo, portanto, classificados como parcialmente biestáveis.

2.3.2 Amplificação da corrente sináptica

Além dos fenômenos de biestabilidade e potencial platô, recentemente outros fenômenos relativos à presença da PIC nos MNs têm sido observados. O principal deles é a amplificação da corrente sináptica efetiva.

A Figura 2.7 mostra a amplificação da corrente sináptica proveniente das aferências Ia quando há diferentes níveis de atividade das vias monoaminérgicas agindo sobre MNs de baixa e alta R_N . O nível aumentado (gráfico superior) representa aquele em que as vias monoaminérgicas encontram-se ativas e há um alto nível de alerta. O nível padrão (gráfico do meio) é o que provavelmente ocorre durante o comportamento motor normal de um animal, e nele as vias monoaminérgicas encontram-se ativas. Já o nível mínimo (gráfico inferior) representa aquele em que as vias monoaminérgicas encontram-se inativas ou há pouca atividade das mesmas, fazendo com que as condutâncias iônicas voltagem-dependentes responsáveis pela PIC encontrem-se praticamente inativadas e a árvore dendrítica tem um comportamento passivo.

O que se observa é que tanto MNs de baixa, quando MNs de alta R_N promovem a amplificação da corrente sináptica efetiva, sendo que esta amplificação é tão maior quanto maior for o nível da atividade das vias monoaminérgicas, ou seja, quanto maior for a magnitude da PIC. No nível monoaminérgico aumentado há uma amplificação de cerca de seis vezes da corrente sináptica, ao passo que no nível padrão essa amplificação cai para cerca de quatro vezes (Lee; Heckman, 2000).

Funcionalmente, a presença deste comportamento sugere que uma pequena corrente de entrada proveniente de vias sinápticas irá se somar à PIC gerada pelos canais iônicos voltagem-dependentes que, em geral, situam-se nos dendritos, e juntas promoverão mais facilmente o recrutamento do MN (Lee; Heckman, 2000; Heckman *et al.*, 2003; Heckman *et al.*, 2004).

Figura 2.7. Amplificação da corrente sináptica efetiva que atinge o soma proveniente da atividade das aferências Ia (Ia_N) para diferentes níveis de atividade das vias monoaminérgicas. Adaptado de Lee e Heckman (2000).

2.4 Resposta repetitiva do motoneurônio

Quando o MN é estimulado por uma corrente em degrau supraliminar, este disparará PAs de forma repetitiva, sendo que um aumento na magnitude da corrente injetada promoverá também um aumento na frequência de disparo do MN (Kernell, 1999; 2006). Essa relação entre a corrente injetada e a frequência média de disparo (curva F-I) é uma característica própria de cada tipo de MN e em geral é representada por uma curva linear ou, como visto em alguns tipos de MNs, por uma curva com duas ou três faixas lineares distintas: a faixa primária; a faixa secundária e a faixa terciária (Figura 2.8). A inclinação destas curvas varia largamente entre as diferentes espécies animais, sendo que para MNs de gatos anestesiados as inclinações encontram-se entre 1 e 3 Hz/nA para os diferentes tipos de MNs (Schwindt; Crill, 1984).

Figura 2.8. Curvas F-I para diferentes tipos de MNs de gatos anestesiados. (A) Curva F-I típica para um MN do tipo S. (B) Curva F-I típica para um MN do tipo F. Adaptado de Schwindt e Crill (1982).

A presença de neuromoduladores altera significativamente o formato da curva F-I dos MNs. Lee e Heckman (1998b) mostraram que para MNs totalmente biestáveis, pequenos valores de correntes já são suficientes para fazer os mesmos dispararem a uma taxa elevada (≈ 20 Hz) e que há uma histerese quando esta curva é levantada através de um pulso triangular de corrente injetada no soma. Já os MNs parcialmente biestáveis apresentam pouca histerese e necessitam de uma maior corrente para iniciarem os disparos repetitivos.

As curvas são caracterizadas por duas faixas com inclinações distintas: as faixas de aceleração e de pós-aceleração (Figura 2.9). Em ambos os tipos de MNs, na faixa de aceleração a curva possui uma inclinação elevada, porém, na faixa de pós-aceleração, MNs parcialmente biestáveis apresentam uma saturação ou até mesmo uma diminuição da sua frequência média de disparo, ao passo que MNs totalmente biestáveis apresentam um ganho

sempre positivo, porém, menor que o da faixa de aceleração (Lee; Heckman, 1998b; Heckman *et al.*, 2005; Heckman *et al.*, 2008).

Figura 2.9. Curva F-I para MNs totalmente (A) e parcialmente biestáveis (B) de gatos descerebrados. Adaptado de Lee e Heckman (1998b).

3 MODELOS-BASE DE MOTONEURÔNIOS COM DENDRITO PASSIVO

Neste capítulo, serão descritos os modelos matemáticos de MNs que serviram como ponto de partida para o desenvolvimento dos novos modelos com dendrito ativo (capítulo 4). Estes modelos, descritos em (Cisi, 2007; Cisi; Kohn, 2008), não apresentam uma complexidade elevada, uma vez que foram concebidos para serem utilizados em uma rede contendo milhares de outros elementos, situação na qual se requer um compromisso entre fidedignidade biológica e velocidade de processamento.

Geometricamente os modelos possuem apenas dois compartimentos cilíndricos, um relativo ao soma e outro representando toda a arborização dendrítica (Figura 3.1A), cujas propriedades geométricas e eletrotônicas são baseadas em dados da literatura experimental para MNs dos tipos S, FR e FF de gatos anestesiados (Fleshman *et al.*, 1988).

O circuito elétrico equivalente (Figura 3.1B) mostra que no compartimento relativo ao soma foram incluídas condutâncias iônicas de Na^+ (g_{Na}), rápida de K^+ (g_{Kf}) e lenta de K^+ (g_{Ks}), sendo que as duas primeiras são as responsáveis pela gênese do PA e a última pela AHP (Barrett *et al.*, 1980; Crill; Schwindt, 1984). Além disso, ainda no soma, foi incluída uma condutância de fuga (g_{Ls}) e um gerador de corrente que é utilizado para a simulação de diferentes protocolos experimentais. No compartimento relativo ao dendrito há somente uma condutância de fuga (g_{Ld}) e N condutâncias sinápticas (g_{sin1} , ..., g_{sinN}), podendo estas ser excitatórias ou inibitórias. As dinâmicas das condutâncias iônicas voltagem-dependentes (g_{Na} , g_{Kf} e g_{Ks}) e das condutâncias sinápticas excitatórias ou inibitórias serão descritas adiante.

Figura 3.1. (A) Geometria e (B) circuito elétrico equivalente dos modelos de MNs com dendrito passivo. Adaptado de Cisi e Kohn (2007; 2008).

3.1 Equacionamento e dinâmica dos modelos

As Equações 2.1 e 2.2 descrevem a dependência temporal do potencial de membrana no soma (V_s) e no dendrito (V_d), respectivamente. Deste ponto em diante convencionou-se que as correntes que entram no soma do MN têm sinal negativo e que o potencial de membrana no repouso (E_{rep}) é igual a 0 mV.

$$C_s \frac{dV_s(t)}{dt} = -g_{Ls}(V_s(t) - E_L) - g_c(V_s(t) - V_d(t)) - I_{ion}(t) + I_{inj-s}(t) \quad (2.1)$$

$$C_d \frac{dV_d(t)}{dt} = -g_{Ld}(V_d(t) - E_L) - g_c(V_d(t) - V_s(t)) - I_{sin-d}(t) \quad (2.2)$$

Em algumas simulações utiliza-se a injeção de uma corrente determinística no compartimento dendrítico. Nestes casos, acrescenta-se à Equação 2.2 o termo $I_{inj-d}(t)$, semelhante ao que está descrito na Equação 2.1 para o compartimento somático. É importante ressaltar que nas aplicações do presente trabalho não se utilizou nenhuma entrada sináptica incidindo sobre o compartimento somático, justificando assim a falta do termo $I_{sin-s}(t)$ na Equação 2.1.

Os parâmetros g_c (condutância de acoplamento soma-dendrito), g_{Ls} (condutância de fuga do soma), g_{Ld} (condutância de fuga do dendrito), C_s (capacitância somática) e C_d (capacitância dendrítica) são dependentes das propriedades geométricas e eletrotônicas de

cada um dos três tipos de MNs (i.e. tipos S, FR e FF) e são descritos pelas Equações 2.3 a 2.7, onde: R_i é a resistividade citoplasmática; l_s e l_d são os comprimentos do soma e do dendrito, respectivamente; r_s e r_d são os raios do soma e do dendrito, respectivamente; R_{m-s} e R_{m-d} são as resistências específicas das membranas somática e dendrítica, respectivamente; e C_m é a capacitância específica de membrana. E_L é o potencial de Nernst para os íons que compõem a corrente de fuga (i.e. K^+ , Na^+ e Cl^-) e foi definido como sendo igual ao potencial de repouso em todos os modelos (i.e. $E_L = E_{rep} = 0$ mV).

$$g_c = \frac{2}{\frac{R_i l_s}{\pi r_s^2} + \frac{R_i l_d}{\pi r_d^2}} \quad (2.3)$$

$$g_{Ls} = \frac{2\pi r_s l_s}{R_{m-s}} \quad (2.4)$$

$$g_{Ld} = \frac{2\pi r_d l_d}{R_{m-d}} \quad (2.5)$$

$$C_s = 2\pi r_s l_s C_m \quad (2.6)$$

$$C_d = 2\pi r_d l_d C_m \quad (2.7)$$

A Equação 2.8 representa o termo $I_{ion}(t)$ que é dado pelo somatório das correntes iônicas existentes nos modelos. Nessa equação, os parâmetros $\overline{g_{Na}}$, $\overline{g_{Kf}}$ e $\overline{g_{Ks}}$ são os valores máximos para as condutâncias de Na^+ , rápida de K^+ e lenta de K^+ , respectivamente. E_{Na} e E_K são os potenciais de equilíbrio para o Na^+ e K^+ , respectivamente. As variáveis m , h , n e q são variáveis de estado que serão descritas detalhadamente a seguir.

$$I_{ion}(t) = \overline{g_{Na}} m^3 h (V_s(t) - E_{Na}) + \overline{g_{Kf}} n^4 (V_s(t) - E_K) + \overline{g_{Ks}} q^2 (V_s(t) - E_K) \quad (2.8)$$

Uma observação importante a ser feita acerca dos modelos de MNs é a de que eles possuem uma dinâmica do tipo *integrate-and-fire* (Koch, 2004; Burkitt, 2006; Rudolph; Destexhe, 2006), ou seja, a cada instante de tempo é verificado se o potencial de membrana no soma (V_s) atingiu um dado limiar (V_{th}) e caso isto tenha ocorrido desencadeiam-se os mecanismos de geração do PA e da AHP. Desta forma, antes de se atingir o limiar os modelos comportam-se como um circuito RC cuja constante de tempo (τ_m) é dada pelo produto da resistência específica da membrana (R_m), descrita pela Equação 2.9 (onde: A_s e A_d são as áreas do soma e do dendrito, respectivamente; e A_T é a área total da célula), e C_m (Equação 2.10).

$$R_m = \frac{1}{\frac{1}{R_m-sA_T} + \frac{A_s}{R_m-dA_T} + \frac{1}{R_m-dA_T} + \frac{A_d}{R_m-dA_T}} \quad (2.9)$$

$$\tau_m = R_m C_m \quad (2.10)$$

O limiar para cada um dos modelos é fixo e dado pelo produto da resistência de entrada da célula vista pelo compartimento somático (R_N) e a corrente de reobase (I_{rh}) (Equações 2.11 e 2.12). Uma vez disparado o PA todos os modelos entram em um período refratário absoluto com duração fixa de 5 ms, limitando a frequência de disparo em 200 Hz (Cisi, 2007; Cisi; Kohn, 2008).

$$R_N = \frac{1}{G_{Ls} + \frac{G_{Ld} \cdot g_c}{G_{Ld} + g_c}} \quad (2.11)$$

$$V_{th} = R_N I_{rh} \quad (2.12)$$

3.1.1 Dinâmica das condutâncias voltagem-dependentes

As condutâncias iônicas voltagem-dependentes dos modelos são descritas pelas Equações 2.13 a 2.15. As duas primeiras condutâncias são semelhantes às originalmente propostas por Hodgkin e Huxley (1952) para o Na^+ e K^+ , mas a condutância lenta de K^+ (g_{Ks}) é uma adição à proposta original. Nestas equações, as variáveis m , h , n e q são variáveis de estado que representam a ativação e inativação dos canais de Na^+ , a ativação dos canais rápidos de K^+ e a ativação dos canais lentos de K^+ , respectivamente. A dinâmica de cada variável é classicamente descrita por uma equação diferencial de primeira ordem (Hodgkin; Huxley, 1952), conforme mostrado nas Equações 2.16 a 2.19.

$$g_{Na} = \overline{g_{Na}} m^3 h \quad (2.13)$$

$$g_{Kf} = \overline{g_{Kf}} n^4 \quad (2.14)$$

$$g_{Ks} = \overline{g_{Ks}} q^2 \quad (2.15)$$

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m(V)(1 - m) - \beta_m(V)m \quad (2.16)$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h(V)(1 - h) - \beta_h(V)h \quad (2.17)$$

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(V)(1 - n) - \beta_n(V)n \quad (2.18)$$

$$\frac{dq}{dt} = \alpha_q(V)(1 - q) - \beta_q(V)q \quad (2.19)$$

Diferentemente de outros modelos de MNs com dendrito passivo descritos na literatura (Jones; Bawa, 1997; McIntyre; Grill, 2002; Vieira; Kohn, 2007), os modelos de Cisi e Kohn (2007; 2008) não apresentam uma dinâmica das condutâncias iônicas voltagem-dependentes descritas segundo o formalismo de Hodgkin e Huxley (1952), na qual as taxas constantes ($\alpha_y(V)$ e $\beta_y(V)$) são funções contínuas dependentes do potencial de membrana. Como a integração numérica do modelo de Hodgkin e Huxley (1952) exige um elevado tempo de computação, preferiu-se adotar a proposta de Destexhe (1997), que é uma solução de compromisso entre a eficiência computacional e o realismo biológico.

Nesta proposta (Destexhe, 1997), quando o potencial de membrana no soma atinge um dado V_{th} (definido na Equação 2.12) as taxas constantes são aproximadas por pulsos de transição de estado com duração finita. Assim, define-se que antes e após o pulso têm-se:

$$\begin{aligned} \alpha_m &= 0 & \beta_m &= \beta_M \\ \alpha_h &= \alpha_H & \beta_h &= 0 \\ \alpha_n &= 0 & \beta_n &= \beta_N \\ \alpha_q &= 0 & \beta_q &= \beta_Q \end{aligned}$$

enquanto que durante o pulso:

$$\begin{aligned} \alpha_m &= \alpha_M & \beta_m &= 0 \\ \alpha_h &= 0 & \beta_h &= \beta_H \\ \alpha_n &= \alpha_N & \beta_n &= 0 \\ \alpha_q &= \alpha_Q & \beta_q &= 0 \end{aligned}$$

Desta forma, é fácil demonstrar que as equações diferenciais de primeira ordem que descrevem o comportamento das variáveis de estado (Equações 2.16 a 2.19) tornam-se funções analíticas do tempo (Equações 2.20 e 2.21).

Antes e após o pulso:

$$\begin{cases} m(t) = m_0 e^{-\beta_M(t-t_0)} \\ h(t) = 1 + (h_0 - 1)e^{-\alpha_H(t-t_0)} \\ n(t) = n_0 e^{-\beta_N(t-t_0)} \\ q(t) = q_0 e^{-\beta_Q(t-t_0)} \end{cases} \quad (2.20)$$

onde t_0 é o instante de término do último pulso e m_0 , h_0 , n_0 e q_0 são os valores das variáveis de estado neste instante.

Enquanto que durante o pulso:

$$\begin{cases} m(t) = 1 + (m_0 - 1)e^{-\alpha_M(t-t_0)} \\ h(t) = h_0 e^{-\beta_H(t-t_0)} \\ n(t) = 1 + (n_0 - 1)e^{-\alpha_N(t-t_0)} \\ q(t) = 1 + (q_0 - 1)e^{-\alpha_Q(t-t_0)} \end{cases} \quad (2.21)$$

onde t_0 é o instante de início do novo pulso e m_0 , h_0 , n_0 e q_0 são os valores das variáveis de estado neste instante.

A duração dos pulsos para todas as variáveis e em todos os modelos é fixa e igual a 0,6 ms (Destexhe, 1997; Cisi, 2007; Cisi; Kohn, 2008).

3.1.2 Dinâmica das condutâncias sinápticas

Um dos objetivos do presente trabalho é avaliar o comportamento dos modelos de MNs com dendrito passivo e dendrito ativo em resposta a entradas sinápticas. Desta forma, é extremamente relevante uma descrição apropriada da dinâmica das condutâncias sinápticas, tanto excitatórias quanto inibitórias, para as simulações que serão propostas nos capítulos subsequentes.

A corrente sináptica no dendrito dos modelos ($I_{\text{sin-d}}(t)$) é dada pela Equação 2.22, onde: N_e é o número de sinapses excitatórias e N_i o número de sinapses inibitórias que incidem sobre o MN ($N_e + N_i = N$).

$$I_{\text{sin-d}}(t) = \sum_{i=1}^{N_e} g_{\text{sin}_{exc}}(t)(E_{\text{sin}_{exc}} - V_d(t)) + \sum_{j=1}^{N_i} g_{\text{sin}_{ini}}(t)(E_{\text{sin}_{ini}} - V_d(t)) \quad (2.22)$$

As condutâncias sinápticas excitatórias e inibitórias foram modeladas segundo a proposta de Destexhe e colaboradores (1994), na qual $g_{sin}(t)$ é dado por:

$$g_{sin}(t) = \overline{g_{sin}} r(t) \quad (2.23)$$

A variável $\overline{g_{sin}}$ é o valor máximo da condutância sináptica e $r(t)$ representa a fração de receptores ligados a neurotransmissores que pode ser descrito pela Equação 2.24, onde: α e β são as taxas constates direta e reversa para a ligação de neurotransmissores; e $[T]$ é a concentração de neurotransmissor lançado na fenda sináptica. Essa descrição é mais conveniente por levar em consideração os mecanismos de transmissão/recepção de neurotransmissores que estão realmente envolvidos durante uma sinapse química.

$$\frac{dr}{dt} = \alpha[T](1 - r) - \beta r \quad (2.24)$$

Destexhe e colaboradores (1994) propõem que se $[T]$ puder ser modelada como um pulso, ou seja, dado um evento pré-sináptico a concentração de neurotransmissor na fenda sináptica eleva-se instantaneamente para um valor $T_{m\acute{a}x}$ e se mantém constante por um instante de tempo finito, então a Equação 2.23 torna-se analítica e tem sua solução dada pelas Equações 2.25 e 2.28.

Durante o pulso ($t_0 < t < t_1$), $[T] = T_{m\acute{a}x}$ e $r(t)$ é dado por:

$$r(t - t_0) = r_{\infty} + (r(t_0) - r_{\infty})e^{\frac{-(t-t_0)}{\tau_r}} \quad (2.25)$$

onde:

$$r_{\infty} = \frac{\alpha T_{m\acute{a}x}}{\alpha T_{m\acute{a}x} + \beta} \quad (2.26)$$

e

$$\tau_r = \frac{1}{\alpha T_{m\acute{a}x} + \beta} \quad (2.27)$$

Após o pulso ($t > t_1$), $[T] = 0$ e $r(t)$ é dado por:

$$r(t - t_1) = r(t_1)e^{-\beta(t-t_1)} \quad (2.28)$$

Os ajustes da duração do pulso (t_1-t_0) bem como dos demais parâmetros mostrados acima serão os responsáveis pelas diferenças entre as sinapses excitatórias e inibitórias nos modelos, assunto que será discutido adiante quando se mostrar os parâmetros utilizados para os modelos.

3.1.2.1 Ativação sináptica

Uma vez definida a dinâmica de cada entrada sináptica, resta ainda descrever como estas podem ser ativadas. Fisiologicamente, quando um axônio traz informação da célula pré-sináptica “para a pós-sináptica”, cada PA pré-sináptico promove a liberação de neurotransmissores específicos na fenda sináptica e estes, por sua vez, se ligam aos receptores localizados na célula pós-sináptica, permitindo o influxo de íons e uma consecutiva mudança no potencial de membrana desta célula, ou seja, a geração de um potencial pós-sináptico (excitatório ou inibitório).

Nos modelos aqui apresentados, o PA pré-sináptico é considerado um evento instantâneo que, ao incidir sobre o MN, promove o desencadeamento de toda a dinâmica sináptica descrita anteriormente (seção 3.1.2). Caso sucessivos eventos sejam apresentados à entrada dos MNs estes produzirão sucessivos potenciais pós-sinápticos que, devido à dinâmica utilizada, têm a propriedade de somarem-se produzindo flutuações do potencial de membrana (Figura 3.2), além de produzirem uma saturação da corrente pós-sináptica, devido à saturação da variável $r(t)$, em situações em que a taxa de ocorrência dos eventos pré-sinápticos é suficientemente elevada.

Figura 3.2. Exemplo em que eventos pré-sinápticos excitatórios (exc) e inibitórios (ini) promovem o desencadeamento de sucessivos potenciais pós-sinápticos que se somam devido à dinâmica utilizada nos modelos.

Da teoria de processos pontuais aleatórios (Cox; Isham, 1980) sabe-se que os intervalos de tempo entre eventos consecutivos podem ser modelados com diferentes estatísticas. Neste trabalho, de uma forma geral as entradas aleatórias serão modeladas como processos pontuais de Poisson, ou seja, processos aleatórios nos quais os intervalos entre eventos (w) têm uma função densidade de probabilidade exponencial ($p_w(w) = \lambda e^{-\lambda w}$) e intervalos subsequentes são independentes entre si (Cox; Isham, 1980; Kay, 2006). Esta forma se torna interessante, pois mimetiza a chegada de milhares de PAs pré-sinápticos em diferentes sítios dendríticos. A Figura 3.3 mostra o exemplo de um processo pontual de Poisson com taxa média (λ) igual a 1,0 kHz.

Figura 3.3. Eventos pré-sinápticos modelados como um processo pontual de Poisson. No gráfico interno verifica-se a estimativa da função densidade de probabilidade ($p_w(w)$) dos intervalos entre eventos (w), onde o valor médio de w ($\bar{w} = 1$ ms; indicado pela seta) corresponde à recíproca da taxa média λ do processo.

Além dessa forma aleatória de ativação sináptica serão utilizados trens periódicos de PAs pré-sinápticos atingindo o MN com uma taxa (λ) constante e com λ variando segundo uma função senoidal. Este último caso mimetiza a ativação periódica do MN que ocorre quando se aplica vibração senoidal de baixa frequência sobre o tendão de um dado músculo, neste caso, as aferências Ia terão seus disparos modulados na mesma frequência da vibração.

3.2 Parâmetros adotados nos modelos-base

Os modelos reportados em (Cisi, 2007; Cisi; Kohn, 2008) foram parametrizados para que pudessem apresentar propriedades de MNs de gatos anestesiados, tais como: i) resistência de entrada (R_N); ii) constante de tempo de membrana (τ_m); iii) reobase (I_{rh}); iv) amplitude da AHP; e v) duração da AHP. Os dados reportados pela literatura experimental para MNs de gatos anestesiados (Zengel *et al.*, 1985) estão descritos na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Propriedades dos MNs dos tipos S, FR e FF reportados por Zengel e colaboradores (1985).

	MN tipo S	MN tipo FR	MN tipo FF
R_N ($M\Omega$)	$1,6 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,0$	$0,6 \pm 0,0$
τ_m (ms)	$10,4 \pm 0,7$	$8,0 \pm 0,3$	$5,9 \pm 0,2$
I_{rh} (nA)	$5,0 \pm 0,3$	$12,0 \pm 0,4$	$21,3 \pm 0,5$
Amplitude da AHP (mV)	$4,9 \pm 0,6$	$4,3 \pm 0,4$	$3,0 \pm 0,2$
Duração da AHP (ms)	$161,0 \pm 14,0$	$78,0 \pm 4,0$	$65,0 \pm 2,0$

Além disso, parametrizaram-se os canais iônicos voltagem-dependentes para que os modelos pudessem apresentar ganhos na faixa primária da curva F-I condizentes com o que fora reportado por Schwindt e Crill (1984), ou seja, para os três tipos de MNs as curvas F-I têm inclinações que variam de 1 a 3 Hz/nA.

3.2.1 Parâmetros geométricos e eletrotônicos

A Tabela 3.2 mostra os valores dos parâmetros geométricos e eletrotônicos adotados nos modelos descritos em (Cisi, 2007; Cisi; Kohn, 2008). Estes valores se basearam em dados reportados pela literatura experimental para MNs de gatos anestesiados (Fleshman *et al.*, 1988). Os valores apresentados abaixo são os valores médios da faixa reportada por Cisi e Kohn (2007; 2008), uma vez que o objetivo do referido trabalho foi representar todo o *pool* de MNs, enquanto que neste trabalho o interesse é representar o comportamento de três modelos isolados.

Tabela 3.2. Parâmetros geométricos e eletrotônicos adotados nos modelos de MNs de diferentes tipos (Cisi, 2007; Cisi; Kohn, 2008).

	MN tipo S	MN tipo F	MN tipo FF
r_s (μm)	40,0	42,5,0	50,0
l_s (μm)	80,0	85,0	100,0
r_d (μm)	26,0	36,5	44,0
l_d (μm)	6154,0	7423,5	9318,0
R_{m-s} (Ωcm^2)	1100,0	1000,0	800,0
R_{m-d} (Ωcm^2)	12500,0	8800,0	6500,0
C_m ($\mu\text{F}/\text{cm}^2$)	1,0	1,0	1,0
R_i (Ωcm)	70,0	70,0	70,0

Com os valores apresentados na tabela anterior pode-se facilmente calcular os parâmetros dos modelos que estão representados nas Equações 2.3 a 2.7 e 2.9. Consequentemente, ficam diretos os cálculos de R_N e de τ_m para cada um dos modelos (Equações 2.10 e 2.11), não necessitando de simulações específicas para constatar que os valores são iguais à média apresentada na Tabela 3.1. Além disso, definiu-se, para cada um dos modelos, I_{th} como sendo o valor médio da faixa reportada por Zengel e colaboradores (1985) e que também está apresentada na Tabela 3.1. Dessa forma, pela Equação 2.12, é possível determinar V_{th} para todos os modelos, sendo estes iguais a: i) 8,0 mV para o MN tipo S; ii) 10,8 mV para o MN tipo FR; e iii) 12,78 mV para o MN tipo FF. Como V_{th} foi obtido a partir do produto entre R_N e I_{th} , seus valores são ligeiramente menores do que os estimados experimentalmente para MNs de gatos dos três tipos, uma vez que o processo de retificação subliminar não contribuirá para a I_{th} (Gustafsson; Pinter, 1984). As faixas reportadas por Gustafsson e Pinter (1984) são: i) $14,4 \pm 3,7$ mV para MNs tipo S; ii) $18,5 \pm 3,5$ mV para MNs tipo FR; e iii) $20,1 \pm 2,4$ mV para MNs tipo FF.

3.2.2 Parâmetros das condutâncias voltagem-dependentes

Para as condutâncias iônicas voltagem-dependentes utilizaram-se os parâmetros mostrados na Tabela 3.3. Novamente, estes parâmetros são os valores médios reportados por Cisi e Kohn (2007; 2008) de modo que os modelos aqui apresentados pudessem representar as propriedades da AHP mostradas na Tabela 3.1 e os ganhos da curva F-I conforme reportado por Schwindt e Crill (1984).

Tabela 3.3. Parâmetros adotados nas condutâncias iônicas voltagem-dependentes (Cisi, 2007; Cisi; Kohn, 2008).

	MN tipo S	MN tipo FR	MN tipo FF
$\overline{g_{Na}}$ (mS/cm ²)	30,0	30,0	30,0
$\overline{g_{Kf}}$ (mS/cm ²)	4,0	4,0	0,5
$\overline{g_{Ks}}$ (mS/cm ²)	19,15	27,5	15,4
E_{Na} (mV)	120,0	120,0	120,0
E_K (mV)	-10,0	-10,0	-10,0
α_M (ms ⁻¹)	22,0	22,0	22,0
β_M (ms ⁻¹)	13,0	13,0	13,0
α_H (ms ⁻¹)	0,5	0,5	0,5
β_H (ms ⁻¹)	4,0	4,0	4,0
α_N (ms ⁻¹)	1,5	1,5	1,5
β_N (ms ⁻¹)	0,1	0,1	0,1
α_Q (ms ⁻¹)	1,5	1,5	1,5
β_Q (ms ⁻¹)	0,025	0,055	0,056

3.2.3 Parâmetros das condutâncias sinápticas

Apesar de serem representadas através de uma mesma dinâmica (vide seção 3.1.2), as sinapses excitatórias e inibitórias apresentam parâmetros que diferem entre si devido às diferenças funcionais existentes quando cada tipo incide sobre um dado MN (Heckman; Binder, 1988; 1991). Neste trabalho, as sinapses excitatórias foram parametrizadas de forma a representarem entradas provenientes das aferências Ia, enquanto que as sinapses inibitórias foram representadas como provenientes de interneurônios inibitórios através de inibição recíproca (Figura 3.4).

Figura 3.4. Via monossináptica excitatória (seta preta) e inibição recíproca (seta vermelha). As sinapses dos modelos foram parametrizadas para representarem estas duas vias de estimulação dos MNs. Adaptado de Purves e colaboradores (2004).

A parametrização das sinapses excitatórias através de dados relativos aos potenciais excitatórios pós-sinápticos (PEPS) evocados pelas aferências Ia é largamente utilizada em simulações computacionais (Segev *et al.*, 1990; Jones; Bawa, 1997; Vieira, 2002; Taylor; Enoka, 2004), entretanto, os parâmetros adotados por Cisi e Kohn (2007; 2008) diferem dos estudos acima citados uma vez que com as propriedades da membrana adotadas nos diferentes modelos (seção 3.2.1) não se conseguiu gerar PEPS e potenciais inibitórios pós-sinápticos (PIPS) unitários compatíveis com dados da literatura experimental para gatos anestesiados (Finkel; Redman, 1983; Munson, 1990; Stuart; Redman, 1990). Dessa forma, ajustaram-se tanto as sinapses excitatórias, quanto as inibitórias, de forma que ambas pudessem apresentar PEPS e PIPS, para uma ativação unitária, similares aos reportados em (Finkel; Redman, 1983; Munson, 1990; Stuart; Redman, 1990), ou seja, PEPS médio da ordem de 160 μV e PIPS médio da ordem de -70 μV , ambos para MNs do tipo S.

A Tabela 3.4 mostra os valores adotados para os parâmetros das sinapses excitatórias e inibitórias. Estes parâmetros são iguais para os três modelos de MNs, sendo que as diferenças no pico dos PEPS e PIPS unitários se dão pelas diferenças nos respectivos valores de R_N . Para os potenciais de reversão (E_{sin}) adotaram-se valores similares aos reportados por Finkel e Redman (1983), para as sinapses excitatórias, e Stuart e Redman (1990), para as inibitórias.

Tabela 3.4. Parâmetros das sinapses excitatórias e inibitórias (Cisi, 2007; Cisi; Kohn, 2008).

	Sinapse excitatória	Sinapse inibitória
$\overline{g_{\text{sin}}}$ (nS)	600,0	500,0
$T_{\text{máx}}$ (mM)	1,0	1,0
α (ms^{-1})	0,5	0,5
β (ms^{-1})	2,5	1,2
$t_1 - t_0$ (ms)	0,2	0,4
E_{sin} (mV)	70,0	-16,0

3.3 Implementação computacional dos modelos

Para a simulação dos modelos até agora descritos utilizou-se o *software* Matlab® (The Mathworks, Inc.) onde foram escritos programas em arquivos “.m” (Apêndice A). Basicamente, os arquivos de cada modelo de MN estão estruturados conforme a Figura 3.5.

Figura 3.5. Esquema da estrutura de arquivos utilizados para a implementação dos modelos de MNs com dendrito passivo (Cisi, 2007; Cisi; Kohn, 2008) em Matlab®. As setas pretas indicam que os parâmetros globais calculados na rotina principal são distribuídos para todos os arquivos. A seta bidirecional vermelha indica que a função “ode4.m” chama a função “mn.m” e retorna os valores de V_s e V_d calculados numericamente. A cada passo de integração, a rotina “mn.m” chama as funções “r_exc.m”, “r_ini.m” e “linj.m” (setas bidirecionais verdes) que fornecem as variáveis $r_{exc}(t)$, $r_{ini}(t)$ e $I_{inj-s}(t)$ para o cálculo do modelo. No final da simulação, os resultados são mostrados em gráficos (seta azul).

Uma rotina principal (main.m) define, ou calcula, todos os parâmetros do modelo em questão com base nos dados apresentados anteriormente (parâmetros geométricos, eletrotônicos, parâmetros das condutâncias iônicas voltagem-dependentes e das condutâncias sinápticas excitatórias e inibitórias) e os declara como parâmetros globais que serão utilizados em outros módulos do programa (setas unidirecionais pretas). Nesta mesma rotina, define-se o intervalo de tempo de simulação, o passo de integração (em geral, o passo é fixo e igual a 0,05 ms, a menos que se informe o contrário) e as condições iniciais. Feito isso, chama-se a função de integração (ode4.m) a qual solucionará numericamente o modelo utilizando o algoritmo de Runge-Kutta de 4ª ordem com passo fixo (Ruggiero; Lopes, 1997). Terminada a resolução numérica, são retornados os valores do potencial de membrana no soma (V_s) e no dendrito (V_d), além de outras variáveis que podem ser monitoradas ao longo da simulação (seta bidirecional vermelha). Por fim, esta mesma rotina gera os gráficos de V_s e V_d ao longo do tempo (seta unidirecional azul).

Na função “ode4.m” é necessário que se entre com a função a ser resolvida numericamente. Esta função é definida em um segundo arquivo (mn.m) que utiliza os parâmetros declarados na rotina principal e implementa toda a dinâmica das condutâncias iônicas voltagem-dependente. Além disso, em simulações onde se utilizam entradas sinápticas excitatórias e/ou inibitórias ativadas por processos pontuais (conforme descrito na seção 3.1.2.1), chamam-se, nesta mesma rotina, os arquivos “r_exc.m” e “r_ini.m”. Nestas sub-rotinas estão descritas as dinâmicas das sinapses excitatórias e inibitórias, baseando-se nos

parâmetros que foram outrora declarados na rotina principal. Além destas, outra sub-rotina que é chamada na função “mn.m” é a “inj.m”. Neste arquivo estão implementadas diferentes formas de onda que podem ser aplicadas no soma do modelo em questão. Estão incluídas formas de onda do tipo pulso, degrau, senóide e rampa.

Uma vez definidas todas as variáveis envolvidas na descrição do modelo, definem-se, de forma apropriada, as Equações 2.1 e 2.2 que são utilizadas para se calcular numericamente V_s e V_d .

Toda descrição acima é para o caso em que se deseja simular protocolos de injeção de corrente no soma (*current-clamp*). Entretanto, caso se deseje simular um protocolo experimental onde seja realizada a técnica de *voltage-clamp*, basta que na rotina definida anteriormente (mn.m) se faça $\frac{dV_s(t)}{dt} = 0$ e que se defina, na rotina principal, um valor diferente de zero para a condição inicial de V_s .

O tempo médio¹ de computação de um modelo (de qualquer tipo de MN), utilizando-se um protocolo onde se gera um PA em resposta à injeção de um pulso de corrente no soma, para um intervalo de tempo de simulação de 200 ms e passo de integração igual a 0,05 ms, é de 4,57 s. Entretanto, o tempo de computação sobe consideravelmente quando se eleva a complexidade das simulações (e.g., ativando-se as entradas sinápticas através de processos pontuais).

Para as simulações foi utilizado um servidor Itautec (Itautec S/A) com processador Intel® Xeon® (Intel Corp.) com quatro núcleos de 2 GHz e 64 bits, além de 4 GB de memória RAM. O ambiente de trabalho foi o Windows Server® 2003 (Microsoft® Corp.).

3.4 Alguns resultados iniciais

Os primeiros resultados, a serem abordados nesta seção, correspondem, em grande parte, aos protocolos utilizados por Cisi e Kohn (2007; 2008) para a validação dos modelos propostos. Entretanto, outros protocolos foram simulados para prover uma validação adicional dos modelos e possibilitar uma melhor comparação entre os comportamentos dos modelos com dendrito passivo e dendrito ativo, que serão apresentados no próximo capítulo.

¹ Foi calculada a média de 10 simulações independentes do mesmo protocolo.

3.4.1 Potencial de ação e AHP

A geração de um PA possibilita a análise da dinâmica das correntes iônicas que são responsáveis por este fenômeno além de poder se avaliar as propriedades relativas à AHP. Para a geração de um único PA nos modelos, estes foram estimulados através de um pulso de corrente supraliminar de curta duração (Zengel *et al.*, 1985). A intensidade do estímulo foi fixada em 50,0 nA, com uma duração de 0,5 ms, para os três tipos de MNs.

Nos gráficos C e D da Figura 3.6 têm-se o decurso temporal das correntes iônicas que contribuem para a geração dos PAs, mostrados nos gráficos A e B, para MNs dos tipos S e FF, respectivamente. Nestas figuras é possível observar que as correntes de Na^+ e rápida de K^+ são responsáveis pelas fases de despolarização e repolarização da membrana, respectivamente, enquanto que a corrente lenta de K^+ contribui para a AHP.

Figura 3.6. PAs gerados nos modelos de MNs dos tipos S (A) e FF (B) com dendrito passivo. Correntes iônicas responsáveis pelas diferentes fases dos PAs (despolarização, repolarização e AHP) geradas nos modelos de MNs dos tipos S (C) e FF (D) com dendrito passivo. Note a convenção utilizada de que correntes de entrada são negativas e correntes de saída positivas.

A Figura 3.7 mostra o decurso temporal da AHP nos três tipos de MNs (i.e. tipo S, FR e FF). A magnitude e duração são fornecidas na Tabela 3.5 e podem ser comparadas com os dados experimentais mostrados na Tabela 3.1. É possível observar que todos os valores encontram-se dentro da faixa reportada por Zengel e colaboradores (1985) para os respectivos tipos de MNs.

Figura 3.7. Decurso temporal da AHP para os três modelos de MNs com dendrito passivo. O PA foi truncado em 10 mV.

Tabela 3.5. Propriedades da AHP (magnitude e duração) para os três modelos de MNs com dendrito passivo.

	MN tipo S	MN tipo FR	MN tipo FF
Magnitude da AHP (mV)	4,90	4,30	3,03
Duração da AHP (ms)	162,90	78,50	66,05

3.4.2 Adaptação e curva frequência de disparo versus corrente

Em geral, quando estimulado por um degrau de corrente supraliminar de longa duração o MN responderá com um trem de PAs, cuja frequência instantânea tende a diminuir ao longo do tempo (adaptação), estabelecendo-se, em regime permanente, em um nível aproximadamente constante (Kernell, 1999; 2006). Essa resposta repetitiva do MN será influenciada diretamente pelas propriedades das diferentes condutâncias iônicas envolvidas, ou seja, cada tipo de MN terá sua resposta característica (Schwindt; Crill, 1982; Crill; Schwindt, 1984; Kernell, 2006).

A Figura 3.8 mostra as diferenças na adaptação dos três modelos de MNs com dendrito passivo quando estimulados por degraus de longa duração (1000 ms), injetados no soma, e intensidades de 21,0 nA, 18,5 nA e 25,0 nA para MNs tipo S, FR e FF, respectivamente. A frequência instantânea foi calculada como o inverso do intervalo entre

disparos consecutivos e a referida frequência posicionada no instante de tempo médio do intervalo (vide rotina no Apêndice A).

Figura 3.8. Adaptação nos modelos de MN com dendrito passivo.

Em animais anestesiados quando se aumenta a intensidade da corrente em degrau aplicada no soma do MN este responderá com consequente aumento em sua frequência média de disparo (Kernell, 1999; 2006). Essa relação entrada-saída também é uma característica própria de cada tipo de MN cujo ganho (inclinação da reta que aproxima a relação entrada-saída) pode se apresentar dentro de uma faixa bastante ampla: 1 a 3 Hz/nA segundo os dados de Schwindt e Crill (1984) para MNs de gatos anestesiados.

Existem duas técnicas distintas para se obter o ganho de uma curva F-I de um dado MN. Na primeira, aplica-se no soma degraus de corrente com diferentes intensidades e mede-se a frequência média de disparo após a fase de adaptação, ou seja, em regime permanente (Kernell, 1999; 2006). Neste caso, o ganho da curva será dado pela inclinação da região (ou regiões) linear (es). Na segunda técnica, aplica-se no soma um pulso triangular de corrente com taxas de subida e de descida suficientemente lentas de tal forma que o MN se comporte como se estivesse em regime permanente. Em seguida, mede-se a frequência instantânea de disparo do MN. A curva levantada com este método deve apresentar um comportamento similar ao caso anterior, porém, demanda menos tempo para ser obtida, tanto em simulações computacionais, quanto em experimentação animal.

Nos trabalhos de Cisi e Kohn (2007; 2008) as curvas F-I foram obtidas utilizando-se a primeira técnica (degrau de corrente) descrita no parágrafo anterior e suas inclinações estão representadas na Tabela 3.6. Entretanto, no presente trabalho as curvas F-I foram obtidas através da segunda técnica (pulso triangular), uma vez que a literatura experimental que

analisa o comportamento de MNs tem utilizado este método. Os gráficos superiores da Figura 3.9 mostram as curvas F-I para os três modelos de MNs com dendrito passivo e suas inclinações são apresentadas na Tabela 3.6. As taxas de subida e descida do pulso triangular utilizadas para cada um dos modelos foi de 4,0 nA/ms, 6,0 nA/ms e 8,0 nA/ms para os MNs tipo S, FR e FF, respectivamente. Essas taxas são as mesmas utilizadas por Lee e Heckman (1998b) de forma a produzir um pico de corrente desejado dentro de uma duração fixa de cinco segundos. O intervalo de tempo de simulação foi de dez segundos em cada modelo, sendo cinco para a subida e cinco para a descida do pulso (gráficos inferiores da Figura 3.9). As regiões lineares (selecionadas visualmente) das curvas F-I, tanto na subida do pulso, quanto na sua descida, foram ajustadas por uma reta ($y = ax + b$) através do método dos mínimos quadrados, onde o coeficiente “a” do ajuste fornece o ganho desejado.

Figura 3.9. Gráficos superiores: Curvas F-I dos modelos de MNs dos tipos S, FR e FF com dendrito passivo. Gráficos inferiores: Pulsos de corrente triangular injetados nos compartimentos somáticos dos respectivos modelos. As taxas de subida e descida dos pulsos são indicadas no interior dos gráficos. As setas indicam as fases de subida e descida do pulso de corrente.

Tabela 3.6. Ganhos das curvas F-I obtidas por dois diferentes métodos: corrente em degrau e pulso triangular. O erro percentual ($e\%$) foi calculado entre os ganhos obtidos pelos métodos do pulso triangular na fase de subida e da corrente em degrau, tendo como referência o valor obtido com este último caso².

Método	MN tipo S	MN tipo F	MN tipo FF
Corrente em degrau	2,14 Hz/nA	2,79 Hz/nA	3,62 Hz/nA
Pulso triangular (subida)	2,08 Hz/nA	2,50 Hz/nA	2,97 Hz/nA
Pulso triangular (descida)	2,04 Hz/nA	2,41 Hz/nA	2,91 Hz/nA
$e\%$	-2,80 %	-10,39 %	-17,95 %

A quarta linha da Tabela 3.6 mostra o erro percentual ($e\%$) entre o ganho obtido pelo método da corrente em degrau e pelo obtido na subida do pulso triangular. Note que esse erro é sempre inferior a 20%, portanto, é possível considerar os dois métodos equivalentes. É importante observar ainda que nos modelos com dendrito passivo as inclinações obtidas na subida e na descida do pulso triangular praticamente coincidem, além disso, a curva F-I não apresenta histerese, que é tipicamente observada quando o MN sofre influência de neuromoduladores (Hounsgaard *et al.*, 1988; Hounsgaard; Mintz, 1988; Bennett *et al.*, 1998; Lee; Heckman, 1998b; Li *et al.*, 2004; Heckman *et al.*, 2005; Heckman *et al.*, 2008).

3.4.3 Potenciais pós-sinápticos unitários

A Figura 3.10 mostra os PEPS obtidos nos três modelos de MNs com dendrito passivo após a ocorrência de um único PA pré-sináptico. Os valores de pico deste potencial pós-sináptico (Tabela 3.7) estão dentro da faixa reportada por Finkel e Redman (1983) para MNs espinhais de gatos anestesiados, sendo que PEPS maiores ocorrem em MNs menores (i.e. MNs tipo S).

$$^2 e\% = \frac{G_{t-s} - G_d}{G_d} \times 100\%$$

Onde: G_{t-s} é o ganho da curva F-I na fase de subida do pulso triangular e G_d o ganho da curva F-I quando se injetam degraus de corrente com diferentes intensidades.

Figura 3.10. PEPS obtidos por ativação sináptica unitária dos modelos de MNs com dendrito passivo. O gráfico interno, reportado em (Finkel; Redman, 1983), mostra um PEPS obtido em MN espinhal de gato (anestesiado).

Já na Figura 3.11 são mostrados os PIPS obtidos nos três modelos de MNs com dendrito passivo após a ocorrência de um único evento sobre uma sinapse inibitória. Na Tabela 3.7 têm-se os valores de pico dos PIPS dos modelos que se encontram dentro da faixa reportada por Stuart e Redman (1990). Novamente, PIPS maiores (maior valor absoluto) ocorrem em MNs menores devido à maior R_N destes tipos de MNs.

Figura 3.11. PIPS obtidos por ativação sináptica unitária nos modelos de MNs com dendrito passivo. O gráfico interno, reportado em (Stuart; Redman, 1990), mostra um PIPS obtido em MN espinhal de gato (anestesiado).

Tabela 3.7. Amplitude dos PEPS e PIPS unitários obtidos nos modelos de MNs com dendrito passivo.

*Faixa reportada em (Finkel; Redman, 1983) para PEPS provenientes de aferências Ia.

**Faixa reportada em (Stuart; Redman, 1990) para PIPS provenientes de inibição recíproca.

	MN tipo S	MN tipo FR	MN tipo FF
PEPS (μV)	117,50	70,50	42,34
(75 a 200 μ V)*			
PIPS (μV)	-81,48	-48,05	-28,36
(-25 a -215 μ V)**			

3.4.4 Variabilidade dos intervalos entre disparos devido ao ruído sináptico

Até o momento todas as características observadas nos modelos de MNs com dendrito passivo se deram na ausência de ruído. Entretanto, é sabido que quando um neurônio está disparando a uma frequência média constante os intervalos entre disparos consecutivos (ISIs) são variáveis, devido à natureza estocástica das entradas sinápticas que promovem flutuações no potencial de membrana (Calvin; Stevens, 1967; 1968).

Diversos estudos na literatura experimental em seres humanos (Clamann, 1969; Person; Kudina, 1972; Shiavi; Negin, 1975; Poliakov *et al.*, 1995; Matthews, 1996; Sturm *et al.*, 1997; Johnson *et al.*, 2004; Macdonell *et al.*, 2008) sugerem que o ruído sináptico (Calvin; Stevens, 1967; 1968) é o responsável pela variabilidade nos ISIs durante uma contração isométrica (em que a frequência de disparo de uma UM é mantida em um nível aproximadamente constante). Em contrações isométricas fracas os ISIs apresentam uma distribuição unimodal assimétrica (com predominância de ISIs mais longos) com um coeficiente de variação (c.v.) situado entre 10% e 30% (Figura 3.12A). Além disso, o desvio-padrão (σ) tem uma relação com a média (μ), conforme mostrado na Figura 3.12B. Para contrações mais intensas Person e Kudina (1972) reportam que as distribuições dos ISIs tornam-se mais simétricas, tendendo a uma distribuição normal, e o desvio-padrão, cujo valor nesses casos é da ordem de 5%, passa a ser independente da média (seta na Figura 3.12B).

Figura 3.12. (A) Histograma dos ISIs registrados em uma UM do músculo sóleo (Matthews, 1996). (B) Relação entre o desvio-padrão (σ) e a média (μ) dos ISIs obtida no músculo reto femoral (Person; Kudina, 1972). A seta indica a região na qual σ é praticamente independente de μ (vide texto para mais detalhes).

Estudos por simulação computacional em modelos de MNs têm representado o ruído sináptico de duas formas distintas: i) injetando-se, no dendrito, uma corrente do tipo ruído branco gaussiano (WGN) com estatística apropriada (Jones; Bawa, 1997; Piotrkievicz, 1999);

e ii) ativando sinapticamente o MN através de um processo pontual de Poisson com taxa média apropriada (Piotrkiewicz, 1999; Vieira, 2002). Esta última forma é “fisiologicamente” mais correta e será abordada no capítulo 5. Entretanto, nesta seção, avaliaremos como os modelos de MNs com dendrito passivo, sujeitos a uma corrente do tipo WGN, se comportam quando estimulados por uma corrente em degrau injetada no soma (Jones; Bawa, 1997).

A média e o desvio-padrão do WGN foram parametrizados de forma que as flutuações subliminares do potencial de membrana no soma (V_s) dos modelos fossem similares às reportadas por Jones e Bawa (1997) em simulações computacionais cujos resultados aproximam os dados reportados pela literatura experimental para MNs de gatos anestesiados. Essas flutuações foram caracterizadas pela média (μ) e o desvio-padrão (σ) de V_s , cujos valores diferem entre os modelos devido os diferentes valores de R_N . A Figura 3.13 mostra o histograma de V_s quando a média e o desvio-padrão do WGN foram ajustados, em todos os modelos, em -0,9 nA e 25 nA, respectivamente.

Figura 3.13. Histograma de V_s nos modelos de MNs com dendrito passivo quando o WGN é ajustado com uma média de -0,9 nA e um desvio-padrão de 25 nA. A média (μ) e o desvio-padrão (σ) de V_s , para cada modelo, estão indicados no próprio gráfico. (A) MN tipo S: faixa -2,80 mV a 1,02 mV; (B) MN tipo FR: faixa -1,25 mV a 0,84 mV; (C) MN tipo FF: faixa -0,70 mV a 0,38 mV.

Uma vez parametrizada a corrente que mimetiza o ruído sináptico, uma série de simulações foram realizadas injetando-se uma corrente em degrau, com diferentes intensidades, no compartimento somático dos três modelos com dendrito passivo, procedimento similar ao utilizado por Calvin e Stevens (1967; 1968), em MNs de gatos anestesiados, e por Jones e Bawa (1997), em simulações computacionais de modelos de MNs mais complexos.

A intervalo de tempo de simulação foi de 60 segundos, de forma a se obter um número total de ISIs grande o suficiente para garantir uma boa estimativa de suas estatísticas (Perkel *et al.*, 1967). Em cada simulação desconsiderou-se o primeiro segundo para evitar qualquer transitório dos modelos e em seguida mediu-se a média (μ), o desvio-padrão (σ) e o

coeficiente de variação (c.v.) dos ISIs, além do coeficiente de assimetria (Equação 2.29) e o coeficiente de curtose (Equação 2.30) do histograma dos ISIs.

$$\varepsilon(x) = \frac{E(x - \mu(x))^3}{\sigma(x)^3} \quad (2.29)$$

$$\kappa(x) = \frac{E(x - \mu(x))^4}{\sigma(x)^4} \quad (2.30)$$

onde, “x” é a variável aleatória e “E(x)” é o valor esperado da variável.

A Figura 3.14 mostra três exemplos de trens de PAs com diferentes frequências médias de disparo e os respectivos ISIs. O valor de cada ISI foi posicionado no instante de tempo médio entre dois PAs consecutivos. Nos três modelos foi observado que à medida que se aumenta a frequência média de disparo diminui-se a variabilidade dos ISIs, esse fenômeno também foi observado pela literatura experimental em seres humanos (Clamann, 1969; Person; Kudina, 1972; Poliakov *et al.*, 1995; Matthews, 1996) e pode ser explicado pelo fato de que quando a frequência de disparo do MN é baixa a corrente injetada causa uma pequena despolarização da membrana tornando o disparo de um PA dependente quase que exclusivamente do ruído sináptico, porém, quando essa frequência de disparo aumenta, o ruído passa a ter pouca influência na geração do PA, uma vez que a célula já está despolarizada bem acima do seu V_{th} (Matthews, 1996).

Figura 3.14. Registro dos PAs e os respectivos ISIs em três diferentes situações para os modelos com dendrito passivo. (A) Modelo de MN tipo S disparando a uma frequência média de 6,88 Hz. (B) Modelo de MN tipo FR disparando a uma frequência média de 13,75 Hz. (C) Modelo de MN tipo FF disparando a uma frequência média de 29,10 Hz. A linha tracejada vermelha representa o instante de tempo a partir do qual as estatísticas dos ISIs foram calculadas, ou seja, excluiu-se o primeiro segundo de cada simulação (vide texto). Os gráficos foram truncados em 2 segundos para facilitar a visualização dos dados.

Os histogramas dos ISIs mostrados na Figura 3.14 são apresentados na Figura 3.15. A Tabela 3.8 mostra o resumo das estatísticas dos ISIs para os três modelos de MNs com dendrito passivo. Em todos os modelos, independente de seu tipo, em média o coeficiente de assimetria (ϵ) é positivo e a distribuição leptocúrtica (i.e. coeficiente de curtose (κ) maior que 3). Observa-se, nos dados individuais, que à medida que a média dos ISIs diminui (frequência média de disparo aumenta) tanto ϵ quanto κ diminuem (Figura 3.15C), tendendo aos valores de uma distribuição normal ($\epsilon = 0$; $\kappa = 3$).

Figura 3.15. Histograma dos ISIs para os registros mostrados na Figura 3.14. As estatísticas dos ISIs estão indicadas nos respectivos gráficos.

Tabela 3.8. Resumo das estatísticas dos ISIs para os modelos de MNs com dendrito passivo. Os dados são apresentados como a média $\pm$ desvio-padrão (faixa).

	MN tipo S	MN tipo FR	MN tipo FF
μ (ms)	72,74 $\pm$ 40,48 (37,08 a 159,24)	51,49 $\pm$ 36,36 (22,74 a 152,60)	31,80 $\pm$ 11,51 (18,76 a 59,99)
σ (ms)	11,77 $\pm$ 15,93 (1,39 a 54,11)	13,35 $\pm$ 25,53 (0,62 a 89,51)	2,43 $\pm$ 3,18 (0,40 a 12,89)
c.v. (%)	11,03 $\pm$ 9,87 (3,75 a 33,98)	14,32 $\pm$ 17,25 (2,73 a 58,66)	5,92 $\pm$ 5,17 (2,13 a 21,49)
ϵ	0,53 $\pm$ 0,53 (0,01 a 1,91)	0,72 $\pm$ 0,60 (0,01 a 2,08)	0,39 $\pm$ 0,43 (0,01 a 1,34)
κ	3,93 $\pm$ 1,58 (2,88 a 9,52)	4,27 $\pm$ 1,61 (2,91 a 8,75)	3,54 $\pm$ 1,00 (2,83 a 6,27)
Número de ISIs	1039,15 $\pm$ 456,29 (370 a 1591)	1519 $\pm$ 639 (386 a 2594)	2063,10 $\pm$ 636,59 (983 a 3144)

Na Figura 3.16 são apresentadas as relações entre o desvio-padrão (σ) e a média (μ) dos ISIs para os três modelos. Pode-se verificar que o formato da curva (tendência) se assemelha aos resultados experimentais de seres humanos mostrados na Figura 3.12 (Person; Kudina, 1972).

Figura 3.16. Relação entre o desvio-padrão (σ) e a média (μ) dos ISIs obtidas para os modelos MNs com dendrito passivo. Os pontos representam cada uma das simulações realizadas em cada tipo de MN.

É possível notar ainda que os modelos dos tipos FR e FF apresentam um comportamento similar, ao passo que o modelo tipo S apresenta-se ligeiramente diferente. A principal distinção entre os modelos S e F (i.e. FR e FF) se dá no ISI a partir do qual σ passa a ter uma dependência acentuada do μ , ou seja, a região “quase linear” da curva. No modelo do tipo S esse início está por volta dos 80 ms, ao passo que nos modelos do tipo F o início está por volta dos 50 ms.

Person e Kudina (1972) e Matthews (1996) atribuem estas diferenças nas curvas σ *versus* μ às diferenças existentes na duração da AHP dos MNs que compõem as UMs avaliadas. Mais tarde, Piotrkiewicz (1999) corroborou, em um estudo por simulação computacional, os achados da literatura experimental, mostrando que realmente a AHP é o principal fator responsável pelas diferentes curvas σ *versus* μ . Nesse sentido, pode-se atribuir os resultados descritos no parágrafo anterior às diferenças na duração da AHP (Tabela 3.5) entre os modelos de MNs com dendrito passivo. Vale ainda ressaltar que é pequena a diferença na duração da AHP entre os modelos de MNs dos tipos FR e FF (variação menor que 20%) ao passo que comparando os modelos do tipo F com o modelo tipo S a diferença é bem mais significativa (variação de 51% para o tipo FR e de 60% para o tipo FF), fato que pode justificar as curvas serem similares entre os MNs tipos FR e FF e diferentes quando comparadas com a do MN tipo S.

3.4.5 Resposta em frequência

Com o objetivo de verificar suas respostas em frequência, Baldissera e colaboradores (1984) estimularam MNs espinhais de gatos anestesiados com uma corrente senoidal sobreposta a um degrau supraliminar, ambas injetadas no soma, e mediram suas frequências instantâneas de disparo. Eles verificaram que a frequência de disparo do MN é modulada na mesma frequência da senóide de entrada (Figura 3.17A), sendo que a sensibilidade (ganho) e a fase, em regime permanente, aumentam com o aumento da frequência de modulação (Figura 3.17B).

Figura 3.17. (A) Histograma de ciclos para diferentes frequências de modulação (indicadas nos gráficos). (B) Resposta em frequência para um MN tipo F. Gráficos adaptados de Baldissera e colaboradores (Baldissera *et al.*, 1984).

Dessa forma o MN atua como um transdutor sensível tanto à intensidade, quanto à primeira derivada do sinal de entrada (Baldissera *et al.*, 1984), sendo que esse comportamento tende a pré-compensar os efeitos de filtragem passa baixas que são desempenhados pelo músculo que é innervado pelo respectivo MN (Baldissera *et al.*, 1998).

Nesse sentido, como forma de validar os modelos de MNs propostos por Cisi e Kohn (2007; 2008) utilizou-se o protocolo proposto por Baldissera e colaboradores (1984). Para estimular os MNs injetou-se um degrau de corrente supraliminar capaz de levar o MN a disparar a uma dada frequência basal (≈ 30 Hz para o modelo de MN do tipo S e ≈ 57 Hz para o modelo de MN do tipo FF). Sobreposta ao degrau, injetou-se uma corrente senoidal com amplitude de 1 nA para ambos os modelos avaliados. A frequência da senóide (frequência de modulação) foi variada de 0,2 a 20 Hz em simulações independentes (Baldissera *et al.*, 1984; Goroso *et al.*, 2000).

Para cada frequência de modulação mediu-se, após o primeiro segundo de simulação, a frequência instantânea de disparo do MN e obteve-se o histograma de ciclos (Apêndice A) a partir do qual foi feito um ajuste de curva, pelo método dos mínimos quadrados, por uma função senóide somada a um nível constante ($y = a + b \sin(2\pi x + c)$). O ganho foi obtido pelo coeficiente “b” e a fase ($\Phi(f)$) pelo coeficiente “c” convertido de radianos para graus. A curva de ganho foi normalizada pelo valor obtido a 0,2 Hz ($b|_{0,2\text{Hz}}$) e é expressa em decibéis (dB) de acordo com a transformação da Equação 2.31.

$$H(f) = 20 \log_{10} \left(\frac{b}{b|_{0,2\text{Hz}}} \right) \quad (2.31)$$

A Figura 3.18 mostra exemplos de histogramas de ciclos para algumas frequências de modulação no modelo de MN tipo S. Em todas as curvas obtidas para os modelos avaliados (MNs tipos S e FF) os ajustes pela função senóide forneceram coeficientes de determinação (R^2) (Equação 2.32)³ superiores a 0,90.

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^L (y_i - y_{data-i})^2}{\sum_{i=1}^L (y_i - \bar{y})^2} \quad (2.32)$$

³ Nessa equação, y_i é o valor da frequência de disparo do MN obtido pelo ajuste de curva; y_{data-i} é o valor da frequência de disparo do MN obtido pela simulação (valor não ajustado); e $\bar{y}$ é o valor médio da frequência de disparo após o ajuste de curva. L é o comprimento do vetor de dados.

Figura 3.18. Histograma de ciclos obtido através da simulação do modelo de MN tipo S.

As curvas de resposta em frequência (ganho e fase) da Figura 3.20 apresentam resultados que são distintos dos reportados em (Baldissera *et al.*, 1984) para MNs tipo F de gatos anestesiados. Goroso e colaboradores (2000) mostraram que diferentes modelos de MNs reportados na literatura (Traub, 1977; Booth *et al.*, 1997) e modelos do tipo *leaky-integrator* e *leaky-integrator* com AHP (Koch, 2004; Burkitt, 2006; Rudolph; Destexhe, 2006) apresentam comportamentos distintos (Figura 3.19), sendo que modelos cuja dinâmica responsável pelo fenômeno da adaptação é mais bem representada tendem a ter um comportamento similar ao reportado por Baldissera e colaboradores (1984).

Figura 3.19. (A) Ganho e (B) Fase para diferentes modelos de MNs: Booth e colaboradores (x) e Traub (linha tracejada, traços curtos com cruces) (Traub, 1977; Booth *et al.*, 1997); Booth e colaboradores com dendrito passivo (Δ); *leaky-integrator* (linha tracejada, traços longos); e *leaky-integrator* com AHP (○). Comparação com os dados de MNs reais (linha contínua) reportados por Baldissera e colaboradores (1984). Adaptado de Goroso e colaboradores (2000).

O fato de a adaptação exercer influência sobre a resposta em frequência de MNs justifica os resultados apresentados pelos modelos de MNs com dendrito passivo, uma vez que estes apresentam pouca adaptação (cf. seção 3.4.2). Talvez, uma melhor representação da dinâmica da AHP (e.g., tornando o canal lento de K^+ dependente da concentração de Ca^{++} e

assumindo uma dinâmica de Ca^{++} mais realista (Sala; Hernandezcruz, 1990; Booth *et al.*, 1997; Mahl, 2005)) faça com que os modelos de MNs com dendrito passivo (Cisi, 2007; Cisi; Kohn, 2008) passem a apresentar um comportamento mais fidedigno.

Figura 3.20. Curvas de resposta em frequência para os modelos de MNs dos tipos S (A) e FF (B) com dendrito passivo.

Entretanto, com os modelos aqui apresentados é possível observar qualitativamente que MNs do tipo FF tendem a ter um comportamento conforme reportado em (Baldissera *et al.*, 1984; Baldissera *et al.*, 1998), em que o ganho e o avanço de fase aumentam de forma praticamente linear à medida que se aumenta a frequência de modulação (Figura 3.20B). Já MNs do tipo S apresentam um limite a partir do qual o ganho passa a decrescer com o aumento da frequência de modulação (fenômeno que carece de comprovação experimental), muito embora o avanço de fase continue crescente (Figura 3.20A). Essas diferenças entre os dois tipos de MNs justificam suas diferenças funcionais durante o comportamento motor, uma vez que MNs tipo F são mais fásicos (Tansey; Botterman, 1996) e tendem a responder mesmo com entradas de alta frequência, ao passo que MNs mais tônicos (e.g. tipo S) respondem melhor a entradas de baixa frequência.

4 NOVOS MODELOS DE MOTONEURÔNIOS COM DENDRITO ATIVO

Os modelos descritos no capítulo anterior, bem como outros modelos já propostos na literatura (Jones; Bawa, 1997; McIntyre; Grill, 2002; Vieira; Kohn, 2007), representam, aproximadamente, o comportamento de MNs em situações nas quais as vias monoaminérgicas estão inativas (e.g., animal anestesiado). Nestes casos, pressupõe-se que a árvore dendrítica tem um comportamento passivo. Entretanto, durante o comportamento motor de um animal intacto ou em diferentes condições experimentais, nas quais as vias monoaminérgicas estão ativas (e.g., animal descerebrado) ou, de uma forma geral, quando neuromoduladores (e.g., 5-HT e NE) estão presentes na medula espinhal, fenômenos, tais como a biestabilidade e o potencial platô, surgem devido à ativação das PICs (Schwindt; Crill, 1980a; b; Hounsgaard *et al.*, 1988; Lee; Heckman, 1996; Bennett *et al.*, 1998; Reklings *et al.*, 2000; Heckman *et al.*, 2003; Heckman *et al.*, 2005; Heckman *et al.*, 2008). Nesse sentido, este capítulo abordará o desenvolvimento de novos modelos matemáticos de MNs de diferentes tipos (i.e. MNs do tipo S, FR e FF) com dendrito ativo, ou seja, com a presença de uma condutância iônica voltagem-dependente no compartimento dendrítico, de forma que os fenômenos de biestabilidade e/ou potencial platô possam ser representados. Alguns resultados aqui apresentados já foram publicados na forma de resumo (Elias; Kohn, 2009a; b).

A estrutura geométrica dos novos modelos é a mesma adotada nos modelos-base (Cisi, 2007; Cisi; Kohn, 2008), ou seja, um compartimento cilíndrico relativo ao soma e outro relativo a toda arborização dendrítica (vide Figura 3.1A). O circuito elétrico equivalente (Figura 4.1) é similar ao do modelo passivo, mas contando com a inserção de uma única condutância iônica de Ca^{+} do tipo L ($g_{\text{Ca-L}}$) no compartimento dendrítico, sendo esta a responsável pela gênese da PIC (Schwindt; Crill, 1980a; b; Hounsgaard *et al.*, 1988; Hounsgaard; Mintz, 1988; Lee; Heckman, 1998a; b). As demais condutâncias foram mantidas iguais aos modelos com dendrito passivo (vide Figura 3.1B para comparação).

Figura 4.1. Circuito elétrico equivalente dos novos modelos de MNs com dendrito ativo.

Como o objetivo deste trabalho é o de desenvolver modelos simples, do ponto de vista computacional, para que posteriormente estes possam ser incorporados a redes neuronais contendo milhares de elementos (Cisi, 2007; Cisi; Kohn, 2008), optou-se pela inserção de somente uma condutância voltagem-dependente nos dendritos, muito embora outros modelos de MNs com dendritos ativos insiram, juntamente com a condutância de Ca^{++} do tipo L, uma condutância de K^+ dependente de Ca^{++} e/ou uma condutância de Ca^{++} tipo N voltagem-dependente (Booth; Rinzel, 1995; Booth *et al.*, 1997; Dai *et al.*, 2002; Taylor; Enoka, 2004; Elbasiouny *et al.*, 2005; Mahl, 2005; Shapiro; Lee, 2007). Além disso, não será considerado neste trabalho o efeito da corrente de Na^+ persistente, que também contribui para a PIC e atua na iniciação do PA (Powers; Binder, 2003; Li *et al.*, 2004; Heckman *et al.*, 2005; Rank *et al.*, 2007; Heckman *et al.*, 2008).

4.1 Equacionamento e dinâmica da condutância de Ca^{++} do tipo L

Todo o equacionamento e as dinâmicas mostradas na seção 3.1, incluindo a dinâmica das sinapses, permanecem válidos para os novos modelos de MNs com dendrito ativo. Entretanto, a dependência temporal do potencial de membrana no dendrito (V_d) passa agora a ser representada pela Equação 3.1.

$$C_d \frac{dV_d(t)}{dt} = -g_{Ld}(V_d(t) - E_L) - g_c(V_d(t) - V_s(t)) - I_{PIC}(t) - I_{sin-d}(t) \quad (3.1)$$

O termo $I_{PIC}(t)$ acrescentado é relativo à corrente gerada pela nova condutância de Ca^{++} do tipo L e é dado pela Equação 3.2. Nesta equação, o parâmetro $\overline{g_{Ca-L}}$ é o valor máximo para a condutância de Ca^{++} do tipo L, E_{Ca} é o potencial de equilíbrio para o íon Ca^{++} e p é a variável de ativação da respectiva condutância e que será descrita detalhadamente a seguir.

$$I_{PIC}(t) = \overline{g_{Ca-L}}p(V_d(t) - E_{Ca}) \quad (3.2)$$

Essa descrição da corrente de Ca^{++} do tipo L é apresentada em diferentes modelos de MNs já propostos na literatura (Powers, 1993; Booth *et al.*, 1997; Elbasiouny *et al.*, 2005), onde a variável de ativação é dependente do tempo e do potencial de membrana. Entretanto, outros autores utilizam uma descrição mais complexa, acrescentando uma variável de estado dependente da concentração do íon Ca^{++} (Mahl, 2005; Carlin *et al.*, 2009), o que neste estudo se torna inconveniente devido ao aumento no número de equações nos modelos, aumentando a carga computacional dos mesmos.

A variável de estado p é a solução de uma equação diferencial de primeira ordem (Equação 3.3), conforme descrito na seção 3.1.1 para as demais variáveis representadas nos modelos (i.e. m , h , n e q).

$$\frac{dp}{dt} = \alpha_p(V)(1 - p) - \beta_p(V)p \quad (3.3)$$

Entretanto, para manter a uniformidade na dinâmica das condutâncias iônicas voltagem-dependentes e a simplicidade computacional dos novos modelos, utilizou-se a simplificação proposta por Destexhe (1997), ou seja, quando o potencial de membrana atinge um dado limiar (V_{th-Ca}) as taxas constantes ($\alpha_p(V)$ e $\beta_p(V)$) são aproximadas por pulsos de transição de estado com duração finita. Dessa forma, antes e após o pulso:

$$\alpha_p = 0 \quad \beta_p = \beta_P$$

enquanto que durante o pulso:

$$\alpha_p = \alpha_P \quad \beta_p = 0$$

Para obter os valores de α_p e β_p , as funções $\alpha_p(V)$ e $\beta_p(V)$, reportadas por Booth e colaboradores (1997), foram aproximadas segundo as Equações 3.4.

$$\begin{cases} \alpha_p = \alpha_p(20 \text{ mV}) = \frac{1}{\tau_p} \\ \beta_p = \beta_p(-70 \text{ mV}) = \frac{1}{\tau_p} \end{cases} \quad (3.4)$$

onde τ_p é a constante de tempo de ativação da condutância de Ca^{++} do tipo L.

Assim, de forma similar ao que fora descrito para os modelos passivos, a Equação 3.3 torna-se analítica, sendo que antes e após o pulso:

$$p(t) = p_0 e^{-\beta_p(t-t_0)} \quad (3.5)$$

onde t_0 é o instante de término do último pulso e p_0 é o valor da variável de estado neste instante.

Enquanto que durante o pulso:

$$p(t) = 1 + (p_0 - 1)e^{-\alpha_p(t-t_0)} \quad (3.6)$$

onde t_0 é o instante de início do novo pulso e p_0 é o valor da variável de estado neste instante.

A duração do pulso de transição de estado foi mantida a mesma das demais condutâncias iônicas, ou seja, 0,6 ms em todos os modelos de MNs.

4.2 Implementação computacional dos novos modelos

Para implementar computacionalmente os novos modelos foi utilizada a mesma estrutura que foi anteriormente descrita para os modelos com dendrito passivo (seção 3.3). A alteração consistiu em acrescentar, nas rotinas Matlab® específicas, os parâmetros da nova condutância (Ca^{++} do tipo L) e sua respectiva dinâmica.

Basicamente, na rotina principal (main.m) foram adicionados os parâmetros da condutância de Ca^{++} do tipo L e os mesmos foram declarados como globais para serem utilizados em outras rotinas do pacote que representa cada modelo. Em seguida, na função “mn.m”, que representa toda a dinâmica dos modelos e seus equacionamentos, foi

acrescentada a dinâmica específica da nova condutância bem como a descrição apropriada da Equação 3.1. No Apêndice A, utiliza-se a formatação “negrito-sublinhado” para destacar os trechos que distinguem os modelos de MNs com dendrito ativo daqueles com dendrito passivo.

Com relação ao tempo médio de computação de um modelo (de qualquer tipo de MN), utilizando-se um protocolo onde se gera um PA através da injeção de um pulso de corrente no soma, com um intervalo de tempo de simulação de 200 ms e passo de integração igual a 0,05 ms, há um aumento de cerca de 30% (4,57 para 6,10 segundos) simplesmente devido à inclusão da condutância ativa dendrítica. É importante ressaltar que esse acréscimo se baseia em um programa desenvolvido no ambiente Matlab®, porém, em trabalhos futuros verificar-se-á qual o impacto da inclusão desta condutância em linguagens de programação mais eficientes (e.g., Java™).

4.3 Parametrização dos novos modelos

A literatura experimental não reporta alterações nos parâmetros geométricos e eletrotônicos de MNs de gatos quando estes estão sujeitos à ação de neuromoduladores, portanto nos novos modelos de MNs com dendrito ativo tais parâmetros foram mantidos iguais aos adotados nos modelos com dendrito passivo (vide Tabela 3.2). Além disso, foram também mantidos os valores dos parâmetros das condutâncias iônicas voltagem-dependentes que estão localizadas no soma dos modelos (vide Tabela 3.3), muito embora Reikling e colaboradores (2000) tenham observado que os neuromoduladores 5-HT e NE alteram as propriedades das correntes geradas por algumas destas condutâncias (e.g., reduzindo a corrente de K^+ dependente de Ca^{++}).

4.3.1 Parametrização da condutância de Ca^{++} do tipo L

A parametrização dos novos modelos consistiu em caracterizar a condutância de Ca^{++} do tipo L que foi inserida no compartimento dendrítico, ou seja, ajustar os valores de V_{th-Ca} , $\overline{g_{Ca-L}}$, α_P e β_P . Para tanto, cada parâmetro foi ajustado, individualmente ou em conjunto, de forma aleatória partindo de um ponto inicial (valores médios reportados na literatura). Para cada ajuste, em cada modelo, simulou-se um protocolo de levantamento da curva F-I pela

técnica do pulso de corrente triangular e compararam-se as propriedades desta curva com as reportadas por Lee e Heckman (1998b) em seu estudo com MNs de gatos descerebrados (Tabela 4.1). O modelo de MN do tipo S foi parametrizado para apresentar as propriedades da curva F-I de MNs totalmente biestáveis, ao passo que os modelos de MNs dos tipos FR e FF foram parametrizados para apresentarem as propriedades da curva F-I de MNs parcialmente biestáveis.

Tabela 4.1. Propriedades das curvas F-I obtidas experimentalmente em MNs totalmente e parcialmente biestáveis de gatos descerebrados (Lee; Heckman, 1998b).

	MNs Totalmente biestáveis	MNs Parcialmente biestáveis
Limiar da subida (nA)	$1,0 \pm 3,6$	$10,9 \pm 4,6$
Limiar da descida (nA)	$-5,0 \pm 4,7$	$11,8 \pm 4,6$
Ganho da aceleração (Hz/nA)	$13,0 \pm 11,0$	$30,0 \pm 25,0$
Ganho da pós-aceleração (Hz/nA)	$1,3 \pm 0,9$	$-5,0 \pm 6,2$

A Tabela 4.2 mostra os valores dos parâmetros da condutância de Ca^{++} do tipo L adotados em cada modelo de MN com dendrito ativo. Os valores de α_P e β_P são ambos iguais a $1/\tau_P$ (Equação 3.4), logo, as constantes de tempo de ativação da condutância são iguais a 76,9 ms para o modelo do tipo S, 55,6 ms para o modelo do tipo FR e 50,0 ms para o modelo do tipo FF, valores que estão dentro da faixa reportada por Schwindt e Crill (1980a; 1980b) para a PIC em MNs de gatos.

Tabela 4.2. Valores dos parâmetros da condutância de Ca^{++} do tipo L adotados nos novos modelos de MNs com dendrito ativo.

	MN tipo S	MN tipo FR	MN tipo FF
V_{th-Ca} (mV)	2,75	6,80	9,28
$\bar{g}_{Ca-L}$ (mS/cm²)	0,28	0,14	0,11
E_{Na} (mV)	140	140	140
α_P (ms⁻¹)	0,013	0,018	0,020
β_P (ms⁻¹)	0,013	0,018	0,020

As curvas F-I dos três novos modelos de MNs com dendrito ativo são apresentadas nos gráficos superiores da Figura 4.2 após o ajuste final dos parâmetros da condutância de Ca^{++} , cujos valores foram mostrados anteriormente (Tabela 4.2). As propriedades da curva foram definidas como: i) limiar de subida - valor de corrente injetada no qual o modelo de MN inicia o disparo repetitivo de PAs; ii) limiar de descida - valor de corrente injetada no qual o modelo cessa o disparo repetitivo de PAs; iii) ganho da fase de aceleração - inclinação

da faixa linear da curva F-I, em sua região mais inclinada, na fase de subida do pulso de corrente triangular; e iv) ganho de pós-aceleração - inclinação da segunda faixa linear da curva F-I, calculada a partir do ponto onde há uma mudança significativa na inflexão da curva até o último ponto obtido na fase de subida do pulso de corrente triangular. Na Figura 4.3 tem-se um esquema representando cada uma das propriedades da curva F-I dos modelos (Tabela 4.3).

Figura 4.2. Gráficos superiores: Curvas F-I dos modelos de MNs dos tipos S, FR e FF com dendrito ativo. Gráficos inferiores: Pulsos de corrente triangular injetados nos somas dos respectivos modelos. A taxa da subida e descida dos pulsos é igual a 4 nA/ms (MN tipo S), 6 nA/ms (MN tipo FR) e 8 nA/ms (MN tipo FF). As setas indicam as fases de subida e descida do pulso de corrente.

Figura 4.3. Curva F-I esquemática indicando os pontos onde foram obtidas as propriedades de interesse. A seta vermelha indica o ganho da aceleração e a seta azul o ganho da pós-aceleração, ambos na fase de subida do pulso de corrente triangular. Adaptado de (Lee; Heckman, 1998b).

Tabela 4.3. Propriedades da curva F-I obtidos nos três novos modelos de MNs com dendrito ativo.

	MN tipo S	MN tipo FR	MN tipo FF
Limiar da subida (nA)	1,91	6,84	14,47
Limiar da descida (nA)	-2,61	2,22	9,61
Ganho da aceleração (Hz/nA)	6,10	3,98	4,00
Ganho da pós-aceleração (Hz/nA)	1,90	0,49	0,23

Comparando-se os dados da Tabela 4.3 com os apresentados na Tabela 4.1 pode-se concluir que, com base nas propriedades das curvas F-I, os novos modelos de MNs com dendrito ativo estão devidamente parametrizados, sendo estes capazes de representar o comportamento de MNs totalmente e parcialmente biestáveis. Entretanto, olhando para o formato das curvas F-I, tanto na fase de subida, quanto na descida do pulso, percebe-se que existem algumas diferenças com relação às apresentadas por Lee e Heckman (1998b) para MNs reais (vide Figura 2.9). Essas diferenças podem ser atribuídas às simplificações que são feitas na modelagem matemática e à adoção de uma única condutância para representar a PIC.

Um cuidado que se teve ao realizar a parametrização dos modelos foi o de preservar o princípio do tamanho, ou seja, a corrente necessária para recrutar um MN do tipo S é menor do que a necessária para recrutar um MN do tipo FR, que por sua vez é menor do que a necessária para recrutar um MN do tipo FF. Além disso, a excitabilidade dos modelos, que pode ser inferida pelos ganhos da curva F-I, também aumenta à medida que aumenta o tamanho do MN, sendo que os modelos dos tipos FR e FF apresentam praticamente o mesmo ganho de aceleração, ao passo que o ganho do modelo do tipo S é cerca de 50% maior do que os demais.

Quando comparados os modelos de MNs com dendrito passivo e dendrito ativo, fica evidente o aumento na excitabilidade de todos os modelos (Figura 4.4). Considerando somente o ganho de aceleração, nos modelos com dendrito ativo, e o ganho na fase de subida do pulso de corrente triangular, nos modelos com dendrito passivo, há um aumento de 193% para o modelo de MN do tipo S, 60% para o MN tipo FR e 35% para o MN tipo FF. Além disso, observa-se uma diminuição da mínima corrente capaz de provocar disparos repetitivos e um aumento na frequência mínima de disparo ($F_{\min}$). Esses efeitos são reportados pela literatura experimental (Delgado-Lezama; Hounsgaard, 1999; Kernell, 1999; Reklings *et al.*, 2000; Kernell, 2006) e serão explicados mais adiante quando forem tratados os comportamentos da AHP nos novos modelos.

Figura 4.4. Comparação das curvas F-I entre os modelos de MNs com dendrito passivo (curvas vermelhas) e com dendrito ativo (curvas pretas). As setas indicam a fase de subida e de descida do pulso de corrente triangular.

4.3.2 Análise da sensibilidade dos modelos

Com o objetivo de avaliar a robustez dos novos modelos desenvolvidos, foi feita uma análise da sensibilidade dos mesmos quanto à variação dos parâmetros da condutância de Ca^{++} do tipo L. Para tanto, todos os demais parâmetros foram mantidos fixos e os parâmetros $\overline{g_{\text{Ca-L}}}$, τ_p (i.e. α_p e β_p) e $V_{\text{th-Ca}}$ foram variados em $\pm 5\%$ ⁴ dos seus valores nominais (vide Tabela 4.2). Em seguida, para cada conjunto de parâmetros e em cada modelo, foi realizada uma simulação onde se levantou a curva F-I pelo método do pulso de corrente triangular. Por fim, alguns pontos de interesse da curva foram medidos: i) limiar da subida; ii) F_{min} ; iii) ganho da aceleração; e iv) ganho da pós-aceleração. Os valores de cada um dos pontos de interesse da curva foram então comparados com os valores obtidos pelos parâmetros originais.

A Figura 4.5 mostra os valores obtidos para os parâmetros de interesse da curva F-I em cada uma das oito simulações realizadas. Esses valores estão normalizados pelo valor original obtido quando os parâmetros são aqueles reportados na Tabela 4.2. É possível notar

⁴ Foram feitas 8 simulações: na primeira aumentou-se o valor de todos os parâmetros em 5%; na segunda diminuiu-se o valor de todos os parâmetros em 5%; na terceira aumentou-se apenas o valor de $\overline{g_{\text{Ca-L}}}$ em 5%; na quarta diminuiu-se o valor de $\overline{g_{\text{Ca-L}}}$ em 5%; na quinta aumentou-se o valor de τ_p (i.e. α_p e β_p) em 5%; na sexta diminuiu-se o valor de τ_p (i.e. α_p e β_p) em 5%; na sétima aumentou-se apenas o valor de $V_{\text{th-Ca}}$ em 5%; e na oitava diminuiu-se apenas o valor de $V_{\text{th-Ca}}$ em 5%.

que os modelos são robustos quanto à variação dos parâmetros da condutância de Ca^{++} do tipo L, sendo que em geral os pontos de interesse da curva F-I não extrapolam o limite de $\pm 20\%$ do valor nominal. Entretanto, todos os modelos são bastante sensíveis na região de pós-aceleração da curva F-I, ou seja, uma pequena variação dos parâmetros da condutância promove uma grande variação do ganho da curva nesta região. Porém, essa alta sensibilidade dos modelos na região de pós-aceleração não invalida a parametrização, uma vez que os modelos de MNs (e também MNs reais) dificilmente operam a taxas de disparo tão elevadas.

Figura 4.5. Análise da sensibilidade dos modelos de MNs com dendrito ativo em relação à variação dos parâmetros da condutância de Ca^{++} do tipo L. Nos gráficos as linhas pretas representam o modelo do tipo S, as linhas vermelhas o modelo do tipo FR e as linhas azuis o modelo do tipo FF. As linhas tracejadas sinalizam a faixa de $\pm 20\%$ com relação ao valor nominal de cada ponto de interesse da curva F-I.

Neste estudo da sensibilidade dos modelos foi possível identificar que o parâmetro $\overline{g_{\text{Ca-L}}}$ é o que mais exerce influência na excitabilidade dos modelos com dendrito ativo, muito embora, o efeito combinado de todos os parâmetros é o que produz o comportamento desejado na curva F-I.

4.3.3 Variação da excitabilidade nos modelos

É importante ressaltar que o trabalho de Lee e Heckman (1998b), no qual se baseou a parametrização dos modelos apresentados neste capítulo, foi realizado em gatos descerebrados e com a administração da substância metoxamina, cujo efeito é o de aumentar a probabilidade de ocorrência do comportamento biestável uma vez que ela eleva naturalmente a excitabilidade motoneuronal. Essa, porém, não é a condição na qual o animal deve ser encontrado durante todo o tempo, mas cogita-se que após uma perturbação este seja o primeiro estágio no aumento da excitabilidade do MN, típico em comportamentos onde seja necessário um alto nível de alerta (e.g., *flight or fight*) (Heckman *et al.*, 2004; Fuglevand *et al.*, 2006). Dessa forma, os novos modelos mostrados nas seções anteriores representam um caso extremo onde há um alto nível de comando descendente pelas vias monoaminérgicas (nível aumentado), contrapondo o caso onde não há atividade destas vias (nível mínimo), ou seja, os modelos com dendrito passivo (Lee; Heckman, 2000; Heckman *et al.*, 2003; Heckman *et al.*, 2008).

Na seção anterior (4.3.2) foi observado que o parâmetro $\overline{g_{Ca-L}}$ é o maior responsável pela excitabilidade dos modelos de MNs com dendrito ativo, nesse sentido, levantou-se a curva F-I dos modelos para diferentes valores da condutância máxima de Ca^{++} do tipo L de modo a observar os diferentes níveis de excitabilidade que estes podem apresentar variando-se apenas um de seus parâmetros. A Figura 4.6 mostra uma representação da superfície tridimensional na qual o eixo das abscissas representa a corrente injetada, o das ordenadas os valores de $\overline{g_{Ca-L}}$ e o das cotas a frequência de disparo do modelo de MN do tipo S (totalmente biestável). Pode-se observar que o aumento do parâmetro $\overline{g_{Ca-L}}$ produz um aumento na excitabilidade do modelo, fazendo com que o mesmo comece a disparar com correntes mais baixas e com frequências mais elevadas, sendo esse aumento gradual para valores de $\overline{g_{Ca-L}}$ superiores a 0,05 mS/cm².

Figura 4.6. Superfície formada pelo levantamento da curva F-I do modelo de MN do tipo S para diferentes valores de $\overline{g_{Ca-L}}$.

O aumento gradual da excitabilidade do modelo de MN do tipo S (que pode também ser observado nos demais modelos) pode ser explicado pelo fato de a magnitude da PIC ter uma dependência “quase linear” com $\overline{g_{Ca-L}}$ (Figura 4.7). Portanto, variar o parâmetro $\overline{g_{Ca-L}}$ implica em uma variação da corrente persistente que invade o compartimento somático o que causa uma variação na excitabilidade do modelo de MN em função do nível de atividade descendente das vias monoaminérgicas, que varia desde um valor nulo até uma atividade máxima.

Figura 4.7. Relação entre a magnitude da PIC e o valor de $\overline{g_{Ca-L}}$ para o modelo de MN do tipo S. Os pontos pretos indicam os valores simulados, ao passo que a linha vermelha representa o ajuste por uma função reta dos pontos ($I_{PIC}=67,84\overline{g_{Ca-L}}+0,39$).

Esses resultados mostram que os diferentes níveis de atividade das vias monoaminérgicas que agem sobre um MN podem ser simulados nos novos modelos apenas pela variação da PIC, ou melhor, de $\overline{g_{Ca-L}}$. Entretanto, nas simulações que seguem, somente o

nível para o qual os modelos foram parametrizados será utilizado (i.e. nível aumentado), comparando-os com o nível mínimo (i.e. dendrito passivo).

4.4 Validação dos novos modelos de MNs

Uma vez caracterizados e parametrizados, os novos modelos de MNs foram avaliados durante outros protocolos de simulação com o objetivo de validar a modelagem. Alguns protocolos são frequentemente encontrados na literatura para MNs de gatos descerebrados e, portanto, seus resultados simbolizam o conjunto básico de características que um modelo deve apresentar para representar MNs totalmente ou parcialmente biestáveis. Entretanto, outros protocolos de validação foram simulados para comparar o comportamento dos novos modelos com aqueles apresentados pelos modelos cujo dendrito é passivo. Neste capítulo não serão abordados os efeitos de entradas sinápticas sobre os MNs, uma vez que isto será explorado no capítulo seguinte.

4.4.1 Reobase

Lee e Heckman (1998b) mostraram em seus estudos que as correntes I_{th} dos MNs totalmente e parcialmente biestáveis são estatisticamente distintas daquelas reportadas para MNs de gatos anestesiados. Nesse sentido, com o objetivo de verificar a I_{th} dos novos modelos de MNs com dendrito ativo, simulações foram feitas injetando-se degraus de corrente de curta duração (0,5 ms), com diferentes intensidades.

É possível notar que os valores mostrados na Tabela 4.4 estão dentro da faixa reportada por Lee e Heckman (1998b) e, portanto, fundamentam ainda mais a escolha dos parâmetros dos modelos. Essa redução na I_{th} pode ser explicada pela característica LVA da condutância de Ca^{++} do tipo L, onde sua ativação nos modelos de MNs se dá sempre abaixo de V_{th} . Dessa forma, a PIC gerada atuará no sentido de alterar o potencial de membrana no regime subliminar, aumentando a R_N da célula e consecutivamente diminuindo a I_{th} .

Tabela 4.4. I_{th} dos novos modelos de MNs com dendrito ativo. Os valores reportados por Lee e Heckman (1998b) são para MNs totalmente e parcialmente biestáveis e foram separados de acordo com a modelagem proposta no presente trabalho, ou seja, MN tipo S é caracterizado como totalmente biestável e MNs dos tipos FR e FF são caracterizados como parcialmente biestáveis.

	MN tipo S	MN tipo FR	MN tipo FF
Lee e Heckman (1998b) (Faixa de -5 a 14 nA)	$1,4 \pm 4,1$ nA	$8,8 \pm 3,3$ nA	
Novos modelos	1,77 nA	6,73 nA	14,35 nA

4.4.2 Potencial de ação e AHP

De forma similar ao que fora realizado nos modelos de MNs com dendrito passivo, os novos modelos com dendrito ativo foram estimulados por um pulso de corrente supraliminar, injetado no compartimento somático, com o objetivo de gerar um PA. A intensidade e a duração do pulso foram fixados em 50 nA e 0,5 ms, respectivamente. Nos gráficos A e B da Figura 4.8 pode-se observar o decurso temporal dos PAs gerados nos modelos de MNs dos tipos S e FR com dendrito ativo, respectivamente, ao passo que os gráficos C, D, E e F apresentam as correntes iônicas que são ativadas durante um PA.

Deve-se notar que as correntes de Na^+ (I_{Na}), rápida de K^+ (I_{Kf}) e lenta de K^+ (I_{Ks}) são idênticas às apresentadas nos modelos com dendrito passivo (vide Figura 3.6), representando as fases de despolarização, repolarização e AHP, respectivamente. Na Figura 4.9 pode-se observar a dinâmica da variável de ativação da condutância de Ca^{++} do tipo L em comparação com as demais variáveis de estado dos modelos. O decaimento lento desta variável é o responsável pela característica persistente da corrente de Ca^{++} (I_{Ca}) que invade o compartimento somático (gráficos E e F da Figura 4.8), fazendo com que ela atue no sentido de contrabalançar a I_{Ks} e altere significativamente as características da AHP.

Figura 4.8. PAs gerados nos modelos de MNs dos tipos S (A) e FR (B) com dendrito ativo. Correntes iônicas somáticas responsáveis pelas diferentes fases dos PAs (despolarização, repolarização e AHP) gerados nos modelos de MNs dos tipos S (C) e FR (D) com dendrito ativo. Corrente iônica dendrítica responsável pela PIC. Note a convenção utilizada de que correntes de entrada são negativas e correntes de saída positivas.

Figura 4.9. Dinâmica das variáveis de estado (m , h , n , q e p) das condutâncias iônicas voltagem-dependentes.

Alguns trabalhos da literatura experimental (Hounsgaard *et al.*, 1988; Hounsgaard; Mintz, 1988; Delgado-Lezama; Hounsgaard, 1999; Kernell, 1999; Reklings *et al.*, 2000; Kernell, 2006) observam que os neuromoduladores 5-HT e NE têm a propriedade de

reduzirem tanto a magnitude quanto a duração da AHP, além de promoverem uma leve despolarização da membrana mesmo sem a manutenção de um estímulo excitatório (potencial platô). Estudos teóricos e experimentais mostram que a AHP exerce um papel importante na resposta repetitiva dos MNs (Schwindt; Crill, 1982; Crill; Schwindt, 1984; Kernell, 1999) e uma diminuição tanto na sua duração, quanto na sua magnitude, promoverá um aumento no ganho da curva F-I e na $F_{\min}$ (Manuel *et al.*, 2005; Meunier; Borejsza, 2005; Manuel *et al.*, 2006; Macdonell *et al.*, 2008).

A Figura 4.10 mostra o decurso temporal da AHP nos novos modelos de MNs com dendrito ativo. Nela é possível observar um potencial de membrana despolarizante que ocorre logo após o fim da AHP, caracterizando o potencial platô descrito no parágrafo anterior. Essa despolarização é devida justamente à dinâmica lenta da I_{Ca} que permanece ativa durante algumas centenas de milissegundos (Schwindt; Crill, 1980a; b) mesmo após o fim do estímulo. Já na Tabela 4.5 são mostrados os valores das propriedades da AHP (magnitude e duração) que podem ser comparados com os dados da Tabela 3.5 para os modelos de MNs com dendrito passivo. Fica evidente a redução que há em ambas as propriedades, e em todos os modelos, quando há a presença de uma condutância iônica ativa no compartimento dendrítico.

Figura 4.10. Decurso temporal da AHP para os três modelos de MNs com dendrito ativo. O PA foi truncado em 10 mV.

Tabela 4.5. Propriedades da AHP (magnitude e duração) para os três modelos de MNs com dendrito ativo.

	MN tipo S	MN tipo FR	MN tipo FF
Magnitude da AHP (mV)	4,11	4,24	3,08
Duração da AHP (ms)	60,85	32,40	28,36

Esses resultados justificam o aumento na excitabilidade motoneuronal que é mostrado na seção 4.3.1 (aumento no ganho da curva F-I e na $F_{\min}$) e mostram que a inclusão de uma condutância de Ca^{++} do tipo L no dendrito dos modelos fez com que os mesmos apresentassem resultados, relativos à AHP, qualitativamente similares aos reportados na literatura experimental para MNs de gatos. É válido ressaltar que nenhum trabalho consultado quantificou as alterações nas propriedades da AHP, impossibilitando uma comparação mais precisa dos resultados.

4.4.3 Resposta repetitiva e comportamento biestável

Conforme discutido na seção anterior (4.4.2) as mudanças nas propriedades da AHP, decorrentes da ativação da PIC dendrítica, promoverão alterações significativas na resposta repetitiva dos modelos de MNs (Schwindt; Crill, 1982; Crill; Schwindt, 1984; Kernell, 1999). Para avaliar tais alterações, simulações foram feitas injetando-se degraus de corrente supraliminar de longa duração (1500 ms) no compartimento somático e medindo, em cada modelo, sua frequência instantânea de disparo. A intensidade da corrente injetada foi de 10 nA, 15 nA e 25 nA para os modelos de MNs dos tipos S, FR e FF, respectivamente, conforme mostrado na Figura 4.11.

Figura 4.11. Resposta repetitiva dos novos modelos matemáticos de MNs dos tipos S (A), FR (B) e FF (C) com dendrito ativo. A seta preta indica a fase de aceleração da frequência de disparo do MN. A seta vermelha indica o potencial platô observado após o fim do degrau de corrente.

Uma mudança importante observada na resposta repetitiva dos novos modelos é quanto a não existência de uma adaptação e sim uma aceleração da frequência de disparo do MN (setas pretas). Esse fenômeno curioso corrobora o que foi observado por diferentes pesquisadores em MNs de gatos descerebrados (Hounsgaard *et al.*, 1988; Bennett *et al.*, 1998), vide gráfico superior da Figura 4.12.

Figura 4.12. Resposta repetitiva de um MN de gato descerebrado em com a administração de 5-HT. A seta indica o início da aceleração da frequência de disparo do MN. O gráfico inferior mostra o registro da corrente injetada no soma e logo acima mostra-se o registro do potencial de membrana somático.

Com o término do degrau de corrente apenas o modelo de MN do tipo S continuou disparando de forma autossustentada devido à PIC. Esses disparos perduram por pelo menos três segundos, caracterizando o modelo como totalmente biestável (Lee; Heckman, 1996; 1998a; b), e só são finalizados após a aplicação de um pulso de corrente capaz de hiperpolarizar a membrana e desativar a PIC. A frequência média dos disparos autossustentados do modelo do tipo S é de 23,52 Hz, valor que está dentro da faixa reportada por Heckman e Lee (1999) para MNs de gatos totalmente biestáveis (21 ± 10 Hz).

Os demais modelos (tipos FR e FF) param de disparar de forma repetitiva com o término do degrau, porém, apresentam uma despolarização da membrana que persiste durante algumas centenas de milissegundos, caracterizando o potencial platô (setas vermelhas). Esses modelos, portanto, têm as características de MNs parcialmente biestáveis (Lee; Heckman, 1996; 1998a; b).

Nesse sentido, também com relação às suas respostas repetitivas, os modelos de MNs com dendrito ativo apresentam características bastante semelhantes aos MNs de gatos descerebrados, tanto os totalmente (MN do tipo S), quanto os parcialmente biestáveis (MNs dos tipos FR e FF).

4.4.4 Curva de corrente versus potencial de membrana

Uma característica observada em MNs de diferentes espécies animais (e.g., Schwindt e Crill (1980a; 1980b) e Lee e Heckman (1998a; 1999) para MNs de gatos; Powers e Binder (2003), Li e colaboradores (2004) e Rank e colaboradores (2007) para MNs de ratos) é a

presença de uma região de inclinação negativa na curva I-V, fazendo com que a mesma tenha uma forma de “N”, devido à ativação da PIC. Lee e Heckman (1998a) mostraram que as diferenças existentes nas características de disparos dos MNs totalmente e parcialmente biestáveis são devidas principalmente às diferenças nas suas curvas I-V e consequentemente na PIC. Nesse sentido, as curvas I-V dos novos modelos de MNs foram levantadas de forma a verificar as diferenças existentes entre eles e permitindo uma melhor caracterização da I_{PIC} .

Para o levantamento da curva utilizou-se o protocolo proposto em (Schwindt; Crill, 1980a; b), no qual o potencial de membrana no compartimento somático foi variado desde o repouso até 40 mV em cinco segundos, ou seja, com uma taxa de subida de 8 mV/s. Em seguida, na mesma simulação, retornou-se o potencial de membrana desde 40 mV até o repouso, novamente em cinco segundos (taxa de descida de -8 mV/s). Essa variação lenta do potencial de membrana permite supor que o modelo está operando como se estivesse em regime permanente. Ao final da simulação a corrente de acoplamento soma-dendrito (Equação 3.7) é calculada obtendo-se assim a relação I-V.

$$I_c = g_c(V_s - V_d) \quad (3.7)$$

Na Figura 4.13 é possível observar que nos três novos modelos de MNs com dendrito ativo as relações I-V apresentam uma região de inclinação negativa, devida à PIC dendrítica. Os valores dos potenciais de membrana a partir dos quais as curvas I-V mudam suas inflexões, nestes casos, são iguais aos V_{th-Ca} que são mostrados na Tabela 4.2. Esses valores são ligeiramente diferentes dos reportados por Lee e Heckman (1998a) para MNs totalmente e parcialmente biestáveis: $19,30 \pm 4,5$ mV e $26,2 \pm 3,7$ mV, respectivamente. Essas diferenças podem ser explicadas pela característica LVA da condutância de Ca^{++} , ou seja, a condutância responsável pela PIC será ativada sempre em um potencial de membrana abaixo de V_{th} , que por sua vez, conforme discutido na seção 3.2.1, apresentam valores ligeiramente menores do que os que são encontrados em MNs de gatos (Gustafsson; Pinter, 1984).

Figura 4.13. Curvas I-V para os modelos de MNs com dendrito ativo. As setas indicam o sentido da variação do potencial de membrana somático.

Entretanto, uma característica que é mantida e contribui para as diferenças nos padrões de disparo de PAs entre os modelos é que MNs totalmente biestáveis apresentam uma ativação da PIC com potenciais de membrana mais baixos do que os parcialmente biestáveis, sendo que a ordem é crescente à medida que aumentamos o tamanho dos MNs ($S < FR < FF$). Isso, em parte, garante que o princípio do tamanho para o recrutamento de um MN seja mantido, mesmo quando este passa a ter um aumento na sua excitabilidade.

Contudo, a maior contribuição que a curva I-V pode fornecer é que através dela é possível medir a magnitude da I_{PIC} que atinge o compartimento somático para diferentes despolarizações da membrana. Para tanto, deve-se primeiramente subtrair das curvas obtidas na Figura 4.13 o valor da corrente de fuga (Schwindt; Crill, 1980a; Lee; Heckman, 1998a). A Figura 4.14 mostra o exemplo de uma curva I-V com a corrente de fuga subtraída para um modelo de MN do tipo S, onde a seta indica a medida utilizada para caracterizar a I_{PIC} .

A Tabela 4.6 mostra o valor da magnitude da I_{PIC} apresentada por cada um dos três modelos. Estes valores estão dentro da faixa reportada por Lee e Heckman (2000) que é indicada pelo histograma da Figura 4.15.

Tabela 4.6. Magnitude da I_{PIC} dos novos modelos de MNs com dendrito ativo.

	MN tipo S	MN tipo FR	MN tipo FF
I_{PIC} (nA)	19,16	14,48	12,47

Figura 4.14. (A) Exemplo de uma curva I-V obtida por simulação computacional de um modelo de MN do tipo S com dendrito ativo (totalmente biestável). A seta dupla indica a medida utilizada para caracterizar a magnitude da I_{PIC} . (B) Exemplo de uma curva I-V obtida experimentalmente em um MN totalmente biestável (Lee; Heckman, 1998a). O potencial de repouso neste caso é igual a -70 mV.

Figura 4.15. Histograma da magnitude da I_{PIC} obtida experimentalmente em MNs de gatos (Lee; Heckman, 1999). As setas indicam, aproximadamente, o valor que se encontra a magnitude da I_{PIC} para os modelos de MNs dos tipos S (preta), FR (vermelha) e FF (azul) com dendrito ativo.

É importante observar que embora as magnitudes da I_{PIC} dos modelos sejam compatíveis com os dados da literatura experimental, os formatos das curvas I-V com a corrente de fuga subtraída (Figura 4.14A) apresentam uma diferença para aquelas obtidas experimentalmente (Figura 4.14B). Essa diferença, em todos os modelos, se dá em potenciais de membrana mais despolarizados (acima de 30 mV) região na qual, possivelmente, correntes de saída (e.g., correntes de K^+) atuem contrabalançando a PIC (Schwindt; Crill, 1980a; b). Nos modelos essas correntes de saída dendríticas não foram inseridas para evitar um aumento na complexidade dos modelos e, portanto, a curva I-V fica praticamente constante após a ativação da PIC. Porém, isso não invalida a modelagem, uma vez que os fenômenos básicos relacionados à presença de condutâncias ativas dendríticas são representados e qualitativamente as curvas I-V, sem a subtração da corrente de fuga, são similares às apresentadas na literatura experimental para os diferentes tipos de MNs.

4.4.5 Variabilidade dos intervalos entre disparos devido ao ruído sináptico

De modo similar ao que foi feito na seção 3.4.4 para os modelos de MNs com dendrito passivo, os novos modelos de MNs com dendrito ativo foram avaliados quando estimulados por degraus de corrente de longa duração (60 segundos) injetados no soma e uma corrente do tipo WGN injetada no compartimento dendrítico de modo a mimetizar o ruído sináptico (Calvin; Stevens, 1967; 1968). As estatísticas do ruído de corrente foram mantidas as mesmas em todos os modelos (i.e. $\mu = -0,9$ nA; $\sigma = 25$ nA), pois nenhum trabalho consultado da literatura experimental investiga as flutuações subliminares do potencial de membrana, causadas por ruído sináptico, quando um MN passa para um estado mais excitado. Além disso, é válido ressaltar também que nenhum trabalho consultado da literatura experimental objetivou o estudo da variabilidade dos ISIs em MNs sujeitos à ação de neuromoduladores, portanto, os resultados aqui apresentados servirão mais como uma comparação entre os comportamentos dos modelos com dendrito passivo e aqueles com dendrito ativo do que uma comparação entre os novos modelos e dados obtidos experimentalmente em animais, em especial, nos seres humanos.

A Figura 4.16 mostra trens de PAs e os ISIs associados para os três modelos de MNs com dendrito ativo. Durante as simulações observou-se que mesmo as correntes de baixa intensidade provocaram disparos repetitivos a uma taxa média superior a 20 Hz, uma vez que a PIC tem a propriedade de aumentar a $F_{\min}$ do modelo (cf. seção 4.4.2). Dessa forma, o que se verifica é que os modelos de MNs com dendrito ativo apresentam pouca variabilidade nos ISIs em toda a faixa de frequências médias de disparo avaliada.

Figura 4.16. Registro dos PAs e os respectivos ISIs em três diferentes situações para os modelos com dendrito ativo. (A) Modelo de MN tipo S disparando a uma frequência média de 25,88 Hz. (B) Modelo de MN tipo FR disparando a uma frequência média de 35,94 Hz. (C) Modelo de MN tipo FF disparando a uma frequência média de 40,35 Hz. A linha tracejada vermelha representa o instante de tempo a partir do qual as estatísticas dos ISIs foram calculadas, ou seja, excluiu-se o primeiro segundo de cada simulação. Os gráficos foram truncados em 2 segundos para facilitar a visualização dos dados.

Os gráficos da Figura 4.17 mostram exemplos de histogramas dos ISIs para três frequências de disparo médias distintas nos três tipos de MNs com dendrito ativo. Já a Tabela 4.7 resume as estatísticas dos ISIs e mostra que para todas as simulações realizadas, em média, o c.v. é cerca de 50% menor para o modelo do tipo S, 60% menor para o modelo do tipo FR e 30% menor para o modelo do tipo FF, quando comparados com os valores obtidos para os respectivos modelos com dendrito passivo (vide Tabela 3.8). Quanto aos coeficientes de assimetria (ϵ) e curtose (κ) pode-se perceber que, em média, as distribuições são mais simétricas ($\epsilon \approx 0$), com exceção dos modelos de MNs dos tipos S e FF que apresentam um ϵ ligeiramente negativo. Além disso, os histogramas têm um aspecto mesocúrtico ($\kappa \approx 3$).

Figura 4.17. Histograma dos ISIs para os registros mostrados na Figura 4.16 para os modelos com dendrito ativo. As estatísticas dos ISIs estão indicadas nos respectivos gráficos.

Tabela 4.7. Resumo das estatísticas dos ISIs para os modelos de MNs com dendrito ativo. Os dados são apresentados como a média $\pm$ desvio-padrão (faixa).

	MN tipo S	MN tipo FR	MN tipo FF
μ (ms)	$37,52 \pm 2,09$ (32,81 a 40,33)	$25,21 \pm 2,84$ (19,02 a 28,37)	$23,07 \pm 2,59$ (15,75 a 25,65)
σ (ms)	$2,24 \pm 0,51$ (1,26 a 3,02)	$0,99 \pm 0,45$ (0,43 a 1,68)	$0,87 \pm 0,38$ (0,30 a 1,36)
c.v. (%)	$5,93 \pm 1,06$ (3,84 a 7,49)	$3,81 \pm 1,37$ (2,26 a 5,92)	$3,65 \pm 1,33$ (1,09 a 5,30)
ϵ	$-0,09 \pm 0,13$ (-0,30 a 0,22)	$0,03 \pm 0,12$ (-0,24 a 0,24)	$-0,03 \pm 0,17$ (-0,35 a 0,21)
κ	$2,95 \pm 0,19$ (2,68 a 3,36)	$2,95 \pm 0,23$ (2,62 a 3,36)	$2,89 \pm 0,35$ (2,49 a 3,55)
Número de ISIs	$1571,53 \pm 98,21$ (1420 a 1798)	2372 ± 297 (2079 a 3101)	$2595,86 \pm 371,74$ (2300 a 3746)

Do ponto de vista funcional disparos mais regulares do MN implicariam em menor variabilidade na força gerada pela UM, justificando, em parte, a hipótese de que a ativação da PIC dendrítica estaria relacionada à manutenção da postura ereta quieta (Kiehn; Eken, 1998; Heckman *et al.*, 2003; Heckman *et al.*, 2005; Heckman *et al.*, 2008), situação na qual uma variabilidade menor na força é desejável.

Porém, como se comportam os modelos de MNs com dendrito passivo na mesma faixa de frequências de disparo dos modelos com dendrito ativo? Para responder a esta questão tomou-se uma subpopulação das simulações realizadas com os modelos de MNs com dendrito passivo (seção 3.4.4) de modo que as curvas σ versus μ dos ISIs pudessem ser comparadas àquelas dos modelos com dendrito ativo. Os gráficos da Figura 4.18 mostram que na mesma faixa de frequências os modelos de MNs com dendrito ativo apresentam uma maior variabilidade (i.e. maior c.v.) quando comparados aos modelos com dendrito passivo, muito embora em ambos os casos os valores de c.v. sejam relativamente pequenos (menores que 8%). Isso foi quantificado através do ajuste das curvas por uma reta, de modo que em todos os

modelos houve um aumento na inclinação da reta de ajuste para frequências abaixo de 40 Hz (MN do tipo S: 0,08 para 0,24; MN do tipo FR: 0,10 para 0,32; MN do tipo FF: 0,05 para 0,28). Entretanto, para os modelos de MNs dos tipos FR e FF operando em frequências de disparo mais altas, as inclinações das retas dos modelos com dendrito passivo diferem relativamente pouco das apresentadas pelos modelos com dendrito ativo (MN tipo FR e FF com dendrito passivo: 0,10 e 0,05, respectivamente; MN tipo FR e FF com dendrito ativo: 0,05 e 0,04, respectivamente).

Figura 4.18. Curvas σ versus μ dos ISIs para os modelos de MNs dos tipos S (A), FR (B) e FF (C). Em cada gráfico os pontos azuis representam os resultados das simulações dos modelos com dendrito ativo, ao passo que os pontos pretos representam os resultados das simulações dos modelos com dendrito passivo. As linhas vermelhas representam os ajustes das curvas (ou trechos) por uma reta.

Hounsgaard e colaboradores (1988) e Lee e Heckman (1998b) mostraram que em MNs cuja árvore dendrítica está ativa devido à presença de neuromoduladores na medula espinhal, há um aumento na variabilidade dos ISIs causada, possivelmente, pelos mecanismos de abertura e fechamento dos canais de Ca^{++} do tipo L. Entretanto, Piotrkiewicz (1999) e Matthews (1996) mostraram que, para um mesmo ruído de membrana, MNs cuja inclinação da AHP é mais lenta apresentarão uma maior variabilidade dos ISIs quando comparados a MNs cuja AHP tem maior inclinação. Nesse sentido, a menor magnitude da AHP dos novos modelos de MNs com dendrito ativo em comparação com os de dendrito passivo faz com que, para uma mesma frequência de disparo, a inclinação da AHP para os MNs com dendrito ativo seja maior do que o caso passivo. Portanto, isso explica os resultados mostrados no parágrafo anterior, onde, para uma mesma frequência de disparo, os modelos de MNs com dendrito passivo apresentam uma menor variabilidade dos ISIs quando comparados aos MNs com dendrito ativo.

5 EFEITO DE ENTRADAS SINÁPTICAS NO COMPORTAMENTO DOS MODELOS DE MOTONEURÔNIOS

Uma das funções mais importantes dos MNs espinhais consiste em integrar toda a informação que chega a sua extensa árvore dendrítica (Bui *et al.*, 2003), através das sinapses excitatórias e inibitórias, e então produzir trens de PAs que comandarão os músculos (Binder; Powers, 1999). Essa integração sináptica, bem como os padrões de disparo do MN, dependerá tanto das propriedades da membrana, quanto das diferentes entradas provenientes das vias que descendem do córtex, das aferências sensoriais (e.g., aferências Ia e cutâneas) e de outros neurônios espinhais (e.g., células de Renshaw). Diversos autores da literatura experimental têm mostrado que a presença de condutâncias iônicas voltagem-dependentes nos dendritos (Hounsgaard *et al.*, 1988; Lee; Heckman, 1998a; b; Zhang *et al.*, 2006; Brownstone, 2007) altera significativamente a forma como essas entradas sinápticas são integradas pelos MNs (Lee; Heckman, 1996; Heckman; Lee, 1999; Lee; Heckman, 2000; Kuo *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2003; Heckman *et al.*, 2004; Heckman *et al.*, 2008), produzindo fenômenos bastante distintos daqueles relacionados ao comportamento passivo dos dendritos (Binder; Powers, 1999).

Nesse sentido, o presente capítulo tem por objetivo avaliar como os novos modelos de MNs com dendrito ativo se comportam quando sujeitos a entradas sinápticas excitatórias e/ou inibitórias e comparar os resultados obtidos tanto com dados da literatura experimental de MNs de gatos descerebrados, quanto com o comportamento dos modelos de MNs com dendrito passivo, verificando assim como a PIC dendrítica altera o comportamento dos modelos propostos neste trabalho com relação à integração sináptica.

Conforme descrito no capítulo 3 (seção 3.1.2.1), as entradas sinápticas dos modelos serão ativadas por processos pontuais com diferentes distribuições dos intervalos entre eventos. Em grande parte das simulações serão utilizados processos pontuais de Poisson com uma taxa média (λ) apropriada de modo a fornecer uma corrente sináptica efetiva similar à obtida na experimentação animal, seja durante a atividade excitatória das aferências Ia, seja durante a atividade inibitória dos interneurônios Ia (i.e. inibição recíproca). É importante ressaltar, porém, que não será possível representar a distribuição espacial das sinapses (Burke;

Glenn, 1996), uma vez que a arborização dendrítica foi representada nos modelos através de um único compartimento.

Em um estudo mais específico, ao invés de serem utilizados intervalos entre eventos com uma distribuição exponencial e independentes entre si, utilizou-se uma modulação senoidal da frequência de ocorrência de eventos (recíproca do intervalo entre eventos). Dessa forma é possível mimetizar experimentos onde se aplica uma vibração senoidal no tendão de um dado músculo, promovendo assim a modulação da taxa de disparo das aferências Ia na mesma frequência da vibração (Matthews, 1994).

5.1 Amplificação da corrente sináptica efetiva

Trabalhos da literatura experimental têm mostrado que um dos fenômenos básicos decorrentes da ativação da PIC é a amplificação da corrente sináptica que atinge o soma (IaI_N). Tal fenômeno é observado tanto em MNs de baixa, quanto de alta R_N (i.e., MNs tipo S e F, respectivamente) e funcionalmente significa que uma menor atividade sináptica excitatória é necessária para promover o recrutamento de um dado MN (Lee; Heckman, 2000; Heckman *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2003; Heckman *et al.*, 2004; Heckman *et al.*, 2005; Manuel *et al.*, 2007; Heckman *et al.*, 2008). Essa amplificação tem sido caracterizada através do levantamento da curva I-V do MN quando este está sujeito a uma atividade sináptica excitatória de fundo. Em seguida mede-se a magnitude da IaI_N no repouso e após a ativação da PIC (Lee; Heckman, 2000).

Nos modelos de MNs com dendrito ativo foi injetada uma corrente constante no compartimento dendrítico de forma a se obter uma IaI_N igual a 4,8 nA, similar à encontrada em MNs de gatos que estão sob a atividade sustentada das aferências Ia (Heckman; Binder, 1988). Com essa atividade de fundo imposta sobre cada um dos modelos levantou-se suas curvas I-V e em seguida subtraiu-se a corrente de fuga (cf. seção 4.4.4). A Figura 5.1 mostra os gráficos contendo as curvas para cada um dos modelos de MNs com dendrito ativo em comparação com aquelas obtidas para os respectivos modelos com dendrito passivo, que foram sujeitos ao mesmo protocolo descrito acima.

Figura 5.1. Curvas I-V com a corrente de fuga subtraída e sujeitas à atividade excitatória de fundo ($IaI_N = 4,8$ nA) para os modelos de MNs dos tipos S (A), FR (B) e FF (C) com dendrito passivo (linha preta) e dendrito ativo (linha vermelha).

Os resultados mostram que quando o MN tem uma árvore dendrítica passiva a IaI_N , para qualquer valor de potencial de membrana, se mantém em um valor constante, neste caso 4,8 nA (linhas pretas). Entretanto, os modelos de MNs com dendrito ativo mostram exatamente o comportamento esperado de amplificação da IaI_N . Antes da ativação da PIC, em todos os modelos com dendrito ativo, a IaI_N é igual a 4,8 nA, porém, quando a PIC está ativa essa corrente passa a ter uma magnitude 4,8 vezes maior para o modelo do tipo S (23,04 nA), 3,95 vezes para o tipo FR (18,96 nA) e 3,55 vezes para o tipo FF (17,03 nA). Os valores da IaI_N após a ativação da PIC estão dentro da faixa reportada por Lee e Heckman (Lee; Heckman, 2000) para MNs de gatos com nível monoaminérgico aumentado ($17,0 \pm 2,7$ nA).

Para avaliar como essa amplificação influencia os padrões de disparo de PAs dos modelos de MNs com dendrito ativo foi realizado um protocolo similar ao reportado por Binder (2002). Neste protocolo tanto os modelos de MNs com dendrito ativo, quanto aqueles com dendrito passivo, foram estimulados por uma corrente injetada no soma durante 3,5 segundos. A intensidade da corrente injetada foi ajustada para que ambos os modelos, ativo e passivo, apresentassem uma mesma frequência média de disparo em regime permanente (calculada entre os instantes 1000 e 2000 ms). Após os dois segundos iniciais da simulação, ativaram-se as entradas sinápticas excitatórias através de processos pontuais de Poisson de forma a promover uma IaI_N média de 4,8 nA. Verificou-se então o incremento na frequência média de disparo do MN (ΔF) devido à atividade sináptica.

Os resultados da Figura 5.2 mostram que todos os tipos de MNs com dendrito ativo promovem um ΔF maior do que os observados nos respectivos modelos com dendrito passivo. A diferença entre os valores de ΔF obtidos nos modelos com dendrito ativo e aqueles obtidos nos modelos com dendrito passivo são iguais a 6,87 Hz para o MN do tipo S, 5,0 Hz para o tipo FR e 4,59 Hz para o tipo FF. Binder (2002) reporta que, em média, a diferença no ΔF de

MNs do tipo S em gatos descerebrados e anestesiados é da ordem de 7,0 Hz (13,5 Hz para gatos descerebrados e 6,4 Hz para gatos anestesiados), valor que é compatível com o que foi apresentado na simulação dos modelos do tipo S aqui apresentados.

É importante notar ainda que com o fim de ambas as correntes, tanto a injetada no soma, quanto a sináptica, o MN do tipo S continua disparando de forma autosustentada (seta), característica típica de MNs biestáveis, ao passo que os modelos dos tipos FR e FF cessam seus disparos tão logo as correntes param de estimulá-los. Na próxima seção serão abordados com maiores detalhes os padrões de disparo dos modelos de MN quando estes são sujeitos a entradas sinápticas.

Figura 5.2. Respostas dos modelos de MNs dos tipos S (A), FR (B) e FF (C) com dendrito passivo (linha preta) e com dendrito ativo (linha vermelha) quando estes estão sujeitos às entradas mostradas abaixo de cada um dos gráficos, onde a linha preta representa a corrente injetada no soma e a linha grossa vermelha representa a atividade sináptica excitatória.

5.2 Resposta repetitiva evocada por entradas sinápticas

Na seção 4.4.3 mostrou-se que os modelos de MNs com dendrito ativo quando estimulados por uma corrente injetada no soma apresentam disparos repetitivos típicos de MNs totalmente (MN do tipo S) e parcialmente biestáveis (MN do tipo FR e FF). Aqui serão apresentados os padrões de disparo dos modelos de MNs com dendrito ativo quando estes são estimulados por vias sinápticas.

Inicialmente, simulações foram feitas onde as sinapses excitatórias foram ativadas por processos pontuais de Poisson de forma a fornecerem uma Ia_N média de 4,8 nA. Esse estímulo excitatório foi aplicado durante 1500 ms em todos os modelos de MNs e os resultados são mostrados na Figura 5.3. Para o modelo de MN do tipo S a Ia_N aplicada foi suficiente para iniciar disparos repetitivos de PAs, ao passo que nos modelos dos tipos FR e FF essa corrente é insuficiente para que o V_{th} seja atingido. Nestes últimos modelos é

necessária a injeção de uma corrente despolarizante no compartimento somático para que os mesmos disparem de forma repetitiva. Resultados similares foram mostrados por Lee e Heckman (1998b) para MNs totalmente (Figura 5.4A) e parcialmente biestáveis (Figura 5.4B).

A frequência média de disparo do modelo de MN do tipo S quando ativado pela corrente sináptica é igual a 35,44 Hz (calculada entre os instantes 1000 e 1500 ms), valor que se encontra dentro da faixa reportada por Heckman e Lee (1999): 53 ± 15 Hz. Ao final dos 1500 ms iniciais, o modelo continua disparando de forma autossustentada por pelo menos três segundos, ou seja, pelo tempo mínimo necessário para caracterizá-los como totalmente biestáveis. A frequência média de disparo autossustentada é igual a 23,44 Hz (calculada entre os instantes 3500 e 4500 ms), valor que é praticamente igual ao reportado na seção 4.4.3, indicando que os disparos autossustentados são controlados por um mecanismo intrínseco ao MN e independe da forma de ativação que fora previamente imposta.

Figura 5.3. (A) Padrões de disparo de PAs do modelo de MN do tipo S com dendrito ativo quando estimulado por uma entrada sináptica excitatória. Este modelo apresenta disparos autossustentados típicos de MNs totalmente biestáveis, sendo que uma breve entrada sináptica inibitória é suficiente para “desligar” a PIC e retornar o MN para o estado de repouso. Os

gráficos inferiores mostram que a atividade sináptica excitatória imposta é insuficiente para promover disparos de PAs nos modelos de MNs dos tipos FR (B) e FF (C) com dendrito ativo. Apenas com a injeção de uma corrente despolarizante no compartimento somático tais modelos atingem seus respectivos V_{th} . As setas indicam que com o fim dos estímulos excitatórios os modelos de MNs dos tipos FR e FF apresentam um potencial platô que perdura por algumas centenas de milissegundos.

Para promover o fim dos disparos autossustentados do modelo de MN do tipo S, sinapses inibitórias foram ativadas por processos pontuais de Poisson de modo a fornecer uma corrente sináptica efetiva média de -3 nA, valor similar ao medido em MNs de gatos sujeitos à inibição recíproca (Heckman; Binder, 1991). Essa corrente sináptica, aplicada durante 500 ms (entre os instantes 4500 e 5000 ms), foi suficiente para “desligar” a PIC e levar o modelo de MN ao estado de repouso, similar ao que ocorre em MNs de gatos descerebrados (Hounsgaard *et al.*, 1988; Kiehn; Eken, 1998).

Figura 5.4. (A) Padrões de disparo de MNs de gatos totalmente biestáveis sujeitos à atividade excitatória proveniente das aferências Ia. (B) Padrões de disparo de MNs de gatos parcialmente biestáveis sujeitos à atividade excitatória proveniente das aferências Ia. Note que nos MNs totalmente biestáveis a entrada sináptica foi suficiente para recrutar o MN, ao passo que nos MNs parcialmente biestáveis essa entrada promove apenas uma despolarização da membrana, sendo necessária a injeção de uma corrente despolarizante no soma para que o MN atinja seu limiar de disparo. Adaptado de Lee e Heckman (1998b).

5.2.1 Efeito de entradas sinápticas inibitórias na resposta repetitiva

Até agora grande parte dos fenômenos foram avaliados quando os modelos de MNs estavam sujeitos somente à atividade sináptica excitatória ou, como no caso do “desligamento” dos disparos autossustentados, a uma atividade sináptica inibitória isolada.

Entretanto, durante o comportamento motor normal de um animal, o efeito combinado das entradas excitatórias e inibitórias é o que promoverá diferentes padrões de disparo do MN.

Trabalhos recentes da literatura experimental têm reportado que entradas sinápticas inibitórias exercem um papel fundamental no controle da excitabilidade motoneuronal atuando diretamente na PIC dendrítica (Kuo *et al.*, 2003; Bui *et al.*, 2008; Hyngstrom *et al.*, 2008). Funcionalmente, essas entradas representam um sistema de controle local da magnitude da PIC (Figura 5.5) contrapondo o efeito da atividade descendente das vias monoaminérgicas (Heckman *et al.*, 2004).

Figura 5.5. Mudanças na magnitude da PIC induzida por entradas sinápticas inibitórias, em MNs de gatos descerebrados. O efeito das entradas inibitórias foi medido como as mudanças na condutância de entrada da célula (eixo das abscissas) devidas à atividade inibitória. Adaptado de Kuo e colaboradores (2003).

Nesse sentido, foi realizado um estudo com os modelos de MNs do tipo S com dendrito passivo e dendrito ativo no qual foi verificado qual o efeito combinado que as entradas sinápticas inibitórias exercem nos padrões de disparo de PAs. Inicialmente, diversas simulações foram realizadas, em ambos os modelos, onde foram ativadas sinapses excitatórias e inibitórias através de processos pontuais de Poisson. As taxas médias de ativação das sinapses excitatórias (λ_{exc}) e das sinapses inibitórias (λ_{ini}) foram variadas de 0 a 20 kHz (passo de 1 kHz) e 0 a 4 kHz (passo de 1 KHz), respectivamente, para o modelo com dendrito passivo, ao passo que para o modelo com dendrito ativo, λ_{exc} e λ_{ini} foram variadas de 0 a 5 kHz (passo de 0,5 kHz) e de 0 a 2 kHz (passo de 0,5 kHz), respectivamente. Ao final da simulação mediu-se a frequência média de disparo, em regime permanente, dos modelos.

Os resultados apresentados na Figura 5.6 mostram que ambos os modelos apresentam um aumento na frequência média de disparo do MN quando λ_{exc} é aumentado, entretanto, como era de se esperar, devido à sua maior excitabilidade, o modelo de MN com dendrito

ativo dispara a taxas muito mais elevadas e com a necessidade de uma atividade sináptica menos intensa quando comparado com o modelo com dendrito passivo. À medida que a intensidade da atividade inibitória aumenta (i.e. aumenta-se λ_{ini}), ambos os modelos passam a requer uma maior atividade excitatória para iniciar os disparos repetitivos. Para uma mesma λ_{exc} a frequência de disparo média do MN é cada vez menor, indicando uma diminuição na excitabilidade do MN.

A curva do modelo de MN com dendrito ativo (Figura 5.6B) apresenta claramente uma não linearidade, fenômeno que é menos evidente no modelo com dendrito passivo (Figura 5.6A). Isso sugere que possivelmente a ativação da PIC no modelo faça com que o mesmo apresente uma soma não linear dos efeitos excitatórios e inibitórios, de forma similar ao que é verificado em MNs de gatos descerebrados, onde uma soma sublinear é observada (Binder, 2002).

Figura 5.6. Taxa de disparo dos modelos de MNs do tipo S com dendrito passivo (A) e com dendrito ativo (B) como função das taxas de ativação das sinapses excitatórias (λ_{exc}) e inibitórias (λ_{ini}). No modelo com dendrito passivo λ_{exc} e λ_{ini} foram variadas de 0 a 20 kHz e de 0 a 4 kHz, respectivamente. No modelo com dendrito ativo λ_{exc} e λ_{ini} foram variadas de 0 a 5 kHz e de 0 a 2 kHz, respectivamente.

A Figura 5.7 mostra uma amostra das relações de entrada-saída obtidas para os modelos de MN com dendrito passivo e com dendrito ativo quando estes são sujeitos a diferentes níveis de atividade inibitória. É possível notar que para os modelos com dendrito passivo a atividade inibitória exerce um efeito subtrativo (Holt; Koch, 1997; Koch, 2004; Rudolph; Destexhe, 2006; Sutherland *et al.*, 2009) não alterando, de forma significativa, o ganho da relação entre a frequência de disparo *versus* λ_{exc} , muito embora quando a atividade inibitória torna-se mais intensa (curva vermelha) há uma certa mudança no ganho para frequências de disparo menores (abaixo de 15 Hz). Entretanto, para os modelos com dendrito

ativo, além de um efeito subtrativo é observado também um efeito divisivo para toda a faixa de frequências avaliada (Holt; Koch, 1997; Koch, 2004; Rudolph; Destexhe, 2006; Sutherland *et al.*, 2009), de forma que a interação das entradas sinápticas excitatórias e inibitórias com a PIC promoverão alterações no ganho da relação de entrada-saída.

Figura 5.7. Relações de entrada-saída (frequência de disparo *versus* λ_{exc}) para os modelos de MN do tipo S com dendrito passivo (A) e com dendrito ativo (B) quando estes são sujeitos a diferentes níveis de entrada sináptica inibitória (λ_{ini}).

Em um novo protocolo foi verificado o efeito da atividade sináptica inibitória sobre a frequência de disparo autossustentada (F_{sus}) do modelo de MN do tipo S com dendrito ativo. Dessa forma é possível verificar como a PIC é controlada por este tipo de entrada sináptica. Para tanto, o mesmo protocolo utilizado para se obter os disparos autossustentados da Figura 5.3 (vide seção 5.2) foi simulado, porém, ao invés de aplicar-se uma breve entrada sináptica inibitória capaz de “desligar” os disparos, ajustou-se, em simulações independentes, a λ_{ini} de modo a fornecer uma corrente sináptica inibitória que variou de 0 a 2 nA. Essa corrente foi aplicada durante os 1500 ms finais de cada simulação. Em seguida, mediu-se a F_{sus} e a frequência média após a aplicação da corrente sináptica inibitória (F_{ini}), ambas em regime permanente. A relação $(F_{ini}/F_{sus})\%$ representa a diminuição percentual da F_{sus} após o início da atividade inibitória.

Pelos resultados mostrados na Figura 5.8 é possível perceber que a frequência de disparo autossustentada diminui à medida que a intensidade da corrente inibitória (valor absoluto) aumenta. Para correntes inibitórias muito baixas, da ordem de 1 nA, praticamente não há alteração na F_{sus} , entretanto, entre 1 e 2 nA há uma queda de aproximadamente 30%, sugerindo o forte impacto que a inibição tem sobre o modelo totalmente biestável. Para

correntes sinápticas com média acima de 2 nA o modelo de MN do tipo S já cessa seus disparos e retorna ao estado de repouso.

Essa relação entre $(F_{ini}/F_{sus})\%$ e a corrente inibitória mostra que nos modelos a magnitude da PIC também tem uma dependência com o nível de inibição que o mesmo recebe, similar ao observado em MNs de gatos descerebrados (Hyngstrom *et al.*, 2008).

Figura 5.8. Relação entre a diminuição percentual da F_{sus} e a intensidade da corrente sináptica inibitória para o modelo de MN do tipo S com dendrito ativo. Os círculos pretos foram obtidos em diferentes simulações (vide texto) ao passo que a linha tracejada representa o ajuste de curva por uma reta.

5.2.2 Variabilidade dos intervalos entre disparos

Para avaliar a variabilidade dos ISIs de uma forma mais “fisiológica”, aproveitaram-se os dados resultantes das simulações mostradas na seção anterior (5.2.1), que foram feitas com os modelos de MN do tipo S com dendrito passivo e com dendrito ativo, onde tais modelos foram estimulados por uma combinação de entradas sinápticas excitatórias e inibitórias, ativadas por processos pontuais de Poisson cujas λ_{exc} e λ_{ini} variaram de 0 a 20 kHz e de 0 a 4 kHz, respectivamente, para o modelo com dendrito passivo e, para o modelo com dendrito ativo, λ_{exc} e λ_{ini} variaram de 0 a 5 kHz e de 0 a 2 kHz, respectivamente. O intervalo de tempo de simulação adotado foi de 10 segundos, sendo que o primeiro segundo de cada simulação foi excluído da análise estatística dos ISIs para evitar o transitório dos modelos.

Os resultados da Figura 5.9 mostram um exemplo dos padrões de disparo e os respectivos ISIs para os modelos de MNs do tipo S com dendrito passivo e com dendrito ativo. Ambos os modelos estão disparando a uma mesma frequência média (≈ 25 Hz), porém, como já havia sido observado na Figura 5.7, um maior valor de λ_{exc} é necessário para fazer o

modelo de MN com dendrito passivo disparar na mesma frequência média do modelo com dendrito ativo.

A

B

Figura 5.9. Padrões de disparo do modelo de MN do tipo S com dendrito passivo (A) e com dendrito ativo (B) quando estimulado por vias sinápticas. Em (A) $\lambda_{exc} = 20$ kHz e $\lambda_{ini} = 0$ kHz. A frequência média de disparo do modelo é de 25,32 Hz. Em (B) $\lambda_{exc} = 2$ kHz e $\lambda_{ini} = 0$ kHz. A frequência média de disparo do modelo é de 25,52 Hz. A linha tracejada vermelha indica que o primeiro segundo de cada análise foi eliminado da análise estatística dos ISIs. Os gráficos foram truncados em 2 segundos para facilitar a visualização dos dados.

Os histogramas dos ISIs (Figura 5.10) mostram que de modo similar ao que foi observado na seção 4.4.5, para uma mesma frequência média de disparo os modelos com dendrito passivo apresentam uma menor variabilidade quando comparados aos de dendrito ativo, muito embora, em ambos os casos esse valor seja relativamente baixo (menor que 5%) devido à frequência de disparo ser elevada.

Figura 5.10. Histogramas dos ISIs mostrados na Figura 5.9. (A) Modelo de MN do tipo S com dendrito passivo. (B) Modelo de MN do tipo S com dendrito ativo.

A ativação das sinapses inibitórias promove, em ambos os modelos, um aumento na variabilidade dos ISIs, possivelmente por dois motivos: i) ela atua na diminuição do valor médio da corrente sináptica efetiva que atinge o soma, consequentemente diminuindo a inclinação da AHP (Person; Kudina, 1972; Matthews, 1996; Piotrkiewicz, 1999); e ii) tende a aumentar o desvio-padrão da corrente sináptica efetiva devido à ativação/desativação tanto das condutâncias sinápticas excitatórias, quanto das inibitórias. O resultado global destes dois efeitos pode ser visto na Figura 5.11, em que tanto no modelo com dendrito passivo, quanto no modelo com dendrito ativo, a presença da atividade inibitória promove um aumento da inclinação da região “quase linear” da curva σ versus μ que é levantada para diferentes valores de λ_{exc} .

Figura 5.11. Aumento da variabilidade dos ISIs devido às entradas sinápticas inibitórias. (A) Modelo de MN do tipo S com dendrito passivo. (B) Modelo de MN do tipo S com dendrito ativo. As linhas cheias representam ajustes de curva feitos para os resultados de simulação (círculos pretos), sendo que para o modelo com dendrito passivo utilizou-se uma curva de potência e para o modelo com dendrito ativo uma reta.

A Tabela 5.1 mostra um resumo das estatísticas dos ISIs obtidos através da estimulação dos modelos de MNs por vias sinápticas excitatórias e/ou inibitórias (c.f. seção 5.2.1). Em média, os valores dos c.v. obtidos para o modelo com dendrito ativo são pequenos (da ordem de 5%), justamente pelo fato de a PIC elevar a excitabilidade do MN de modo que, para frequências elevadas, os ISIs naturalmente apresentam uma pequena variabilidade. Os histogramas dos ISIs para os modelos com dendrito ativo apresentam, em média, uma assimetria negativa, diferentemente do observado nos modelos com dendrito passivo, que mesmo em altas frequências apresenta valores positivos de ϵ . Os valores de κ dos modelos com dendrito ativo são próximos de 3, caracterizando a distribuição como mesocúrtica, ao passo que nos modelos com dendrito ativo há uma maior tendência dos histogramas terem um aspecto leptocúrtico.

Tabela 5.1. Resumo das estatísticas dos ISIs para os modelos de MNs do tipo S com dendrito passivo e com dendrito ativo. Os dados são apresentados como a média $\pm$ desvio-padrão (faixa).

	MN tipo S com dendrito passivo	MN tipo S com dendrito ativo
μ (ms)	75,24 $\pm$ 45,57 (39,55 a 307,60)	38,21 $\pm$ 2,27 (31,34 a 40,76)
σ (ms)	13,88 $\pm$ 32,22 (1,49 a 193,39)	1,82 $\pm$ 0,59 (0,72 a 2,72)
c.v. (%)	10,96 $\pm$ 12,35 (3,61 a 62,87)	4,71 $\pm$ 1,36 (2,09 a 6,67)
ϵ	0,56 $\pm$ 0,47 (-0,01 a 2,65)	-0,18 $\pm$ 0,27 (-0,82 a 0,25)
κ	3,51 $\pm$ 1,28 (2,32 a 10,66)	2,96 $\pm$ 0,61 (2,32 a 4,68)
Número de ISIs	143,51 $\pm$ 46,16 (29 a 228)	234 $\pm$ 18 (207 a 286)

5.3 Modulação senoidal da ativação sináptica excitatória

Os resultados da seção anterior mostraram que devido à presença da PIC mesmo uma pequena atividade excitatória agindo sobre os modelos de MNs faz com que os mesmos disparem a frequências médias elevadas e consequentemente apresentem trens de disparos de PAs cuja variabilidade dos ISIs é pequena. Esse resultado justifica a hipótese de que funcionalmente a ativação dos canais iônicos voltagem-dependentes responsáveis pela PIC estaria relacionada à manutenção de uma postura ereta quieta, na qual uma menor variabilidade na força é requerida (Kiehn; Eken, 1998; Heckman *et al.*, 2003; Heckman *et al.*, 2005; Heckman *et al.*, 2008).

Entretanto, qual a resposta dinâmica do MN quando este passa a ter uma alta excitabilidade devido à ativação das condutâncias responsáveis pela PIC? Esse comportamento justificaria a hipótese colocada no parágrafo anterior, ou seja, a resposta em frequência de um MN com dendrito ativo é compatível com a faixa de frequências das oscilações posturais observadas em seres humanos? Ainda faltam dados experimentais para responder a estas questões, porém, um dos papéis da modelagem matemática e da simulação computacional é prever o que pode ocorrer em determinadas situações e levantar hipóteses sobre as possíveis causas dos fenômenos observados. Nesse sentido, foram avaliadas as respostas em frequência de dois modelos de MNs com dendrito ativo, um totalmente (MN tipo S) e outro parcialmente biestável (MN tipo FF). Porém, de forma diferente ao que fora realizado nos modelos de MNs com dendrito passivo (seção 3.4.5), a resposta em frequência não foi levantada através da injeção de uma corrente senoidal sobreposta a um degrau de corrente (Baldissera *et al.*, 1984; Goroso *et al.*, 2000), e sim através da modulação da frequência de ativação das sinapses excitatórias. Dessa forma é possível mimetizar experimentos onde se aplicam vibrações de diferentes frequências no tendão do músculo innervado por um dado MN, tal que os disparos das aferências Ia ficam modulados na mesma frequência da vibração (Matthews, 1994).

Para comparar os resultados obtidos com os modelos de MNs com dendrito ativo as mesmas simulações foram realizadas com os respectivos modelos com dendrito passivo. Nessas simulações cinco entradas sinápticas excitatórias foram ativadas, em ambos os modelos de MNs (tipos S e FF) com dendrito passivo e no modelo do tipo FF com dendrito ativo. Já nas simulações com o modelo de MN do tipo S com dendrito ativo, devido à sua alta

excitabilidade, apenas duas entradas sinápticas foram ativadas. Em ambos os modelos de MN do tipo FF a atividade excitatória imposta não foi suficiente para recrutá-lo, portanto, nas simulações destes modelos foi injetada uma corrente constante no compartimento somático de forma a despolarizar um pouco a membrana e fazer com que o V_{th} seja alcançado mais facilmente pelas entradas sinápticas. A intensidade dessa corrente foi de 20,0 nA para o modelo com dendrito passivo e de 12,5 nA para o modelo com dendrito ativo.

Nas simulações em que foram utilizadas cinco entradas sinápticas, a frequência de ativação das sinapses (recíproca do intervalo entre eventos) foi ajustada para ter um nível médio de 4 kHz e modulada senoidalmente com uma amplitude de 500 Hz. Já nas simulações do modelo do tipo S ativo, em que foram utilizadas apenas duas sinapses, o nível médio foi ajustado em 2 kHz e a amplitude da senóide modulante foi de 200 Hz. Com estas entradas os modelos de MN do tipo S dispararam a uma frequência média de 31,0 Hz, enquanto que os modelos de MN do tipo FF dispararam a uma frequência média de 57,0 Hz. A frequência de modulação foi variada de 0,2 a 20,0 Hz para os modelos com dendrito passivo (similar à seção 3.4.5), de 0,2 a 5,0 Hz para o modelo do tipo S com dendrito ativo e de 0,2 a 12,0 Hz para o modelo do tipo FF com dendrito ativo.

A Figura 5.12 mostra um exemplo de um modelo de MN do tipo S com dendrito passivo disparando sobre o efeito de uma atividade excitatória modulada a uma frequência de 1 Hz. É possível observar que da mesma forma que ocorria quando o MN era estimulado por uma corrente senoidal sobreposta a um degrau de corrente, os disparos de PAs são também modulados senoidalmente devido à modulação senoidal da condutância sináptica que, quando ativada, modula também o potencial de membrana somático.

Figura 5.12. Exemplo da modulação da taxa de disparo de um MN do tipo S com dendrito passivo quando estimulado por vias sinápticas excitatórias. A frequência de ativação das sinapses (f) foi modulada senoidalmente conforme mostrado no gráfico inferior.

Essa modulação da frequência de disparo do MN é mais bem observada através dos histogramas de ciclos que são mostrados na Figura 5.13 para o modelo de MN do tipo FF com dendrito passivo. Esses histogramas foram ajustados, pelo método dos mínimos quadrados, por uma função seno sobreposta a um nível constante, similar ao que foi realizado nas simulações mostradas na seção 3.4.5. Dessa forma é possível se obter a magnitude da senóide de saída, que consequentemente permite o cálculo do ganho com relação à senóide de entrada, e a fase.

Figura 5.13. Histograma de ciclos obtido através da simulação do modelo de MN tipo FF com dendrito passivo.

Os gráficos da Figura 5.14 mostram que os ganhos ($H(f)$) obtidos para os modelos de MNs com dendrito passivo, quando estes foram estimulados por sinapses excitatórias cuja ativação é modulada por uma função senoidal, não diferem daqueles obtidos quando o modelo é estimulado por uma corrente senoidal sobreposta a um degrau (vide Figura 3.20). Entretanto, a fase ($\Phi(f)$) apresenta uma mudança quando os modelos passam a ser ativados por vias sinápticas. Os resultados mostram que ao invés de apresentar um comportamento crescente com o aumento da frequência, a fase passa a ter uma diminuição. Porém, na frequência a partir da qual o ganho começa a crescer de forma mais acentuada (≈ 5 Hz) essa fase tem um “salto” e logo em seguida já torna a decrescer.

Figura 5.14. Curvas de resposta em frequência para os modelos de MNs dos tipos S (A) e FF (B) com dendrito passivo.

Matthews (1994) reportou que para as UMs dos músculos bíceps braquial e abdutor do dígito mínimo a fase também tem um comportamento decrescente à medida que se aumenta a frequência da modulação, porém, não foi reportado nenhum “salto” para a faixa de

frequências avaliada. Portanto, o que se pode concluir é que a diminuição da fase com o aumento da frequência de modulação parece ser um fenômeno comum quando se ativa o MN através de vias sinápticas, haja vista que Matthews (1994) estimula as UMs através da ativação das aferências Ia. Quanto ao “salto” observado, é necessário um estudo mais detalhado do comportamento do sistema para tentar explicar de forma plausível tal resultado.

Os gráficos da Figura 5.15 mostram os histogramas de ciclos para o MN do tipo S com dendrito ativo. Foi observado que à medida que se aumenta a frequência da modulação, piora-se o ajuste da curva por função senoidal (diminui-se o R^2), indicando que o modelo de MN com dendrito ativo torna-se menos sensível para as variações de frequências mais altas. O gráfico F mostra que para uma frequência de modulação de 5 Hz os disparos do MN tornam-se praticamente independentes da senóide de entrada ($R^2 = 0,88$).

Figura 5.15. Histograma de ciclos obtido através da simulação do modelo de MN tipo S com dendrito ativo.

As curvas de resposta em frequência dos modelos de MNs com dendrito ativo são mostradas na Figura 5.16. Os resultados mostram que à medida que se aumenta a frequência da modulação diminui-se $H(f)$, sendo que a frequência de corte⁵ é igual a 0,7 Hz para o modelo de MN do tipo S e igual a 1,7 Hz para o MN do tipo FF. A fase, novamente, apresenta uma diminuição à medida que se aumenta a frequência da modulação, reforçando os indícios de que a estimulação do MN por vias sinápticas provoca tal comportamento, bem distinto do observado quando se modula a frequência de disparo do MN através de uma corrente senoidal injetada no soma (Baldissera *et al.*, 1984).

Figura 5.16. Curvas de resposta em frequência para os modelos de MNs dos tipos S (A) e FF (B) com dendrito ativo. As setas indicam as frequências de corte ($H(f) = -1$ dB).

Os comportamentos dinâmicos observados nos modelos de MNs com dendrito ativo reforçam ainda mais os indícios de que a presença de condutâncias iônicas voltagem-

⁵ A frequência de corte adotada como sendo a frequência na qual a atenuação no ganho é igual a -1 dB, ou seja, aproximadamente 10% de atenuação.

dependentes nos dendritos dos MNs faz com que os mesmos tenham um papel fundamental na manutenção de uma postura ereta quieta. As oscilações posturais em seres humanos são processos aleatórios que têm componentes espectrais até frequências da ordem de 0,75 Hz associados à movimentação do centro de massa (Sparto *et al.*, 2004; Horlings *et al.*, 2009). Os MNs do tipo S, que estão mais envolvidos em tarefas posturais, estariam, quando na presença de neuromoduladores, com pouca atenuação em sua resposta em frequência, favorecendo entradas de baixa frequência até frequências de aproximadamente 0,7 Hz. Todavia, uma maior faixa de passagem do MN do tipo FF sugere o comportamento mais fásico deste tipo de MN, podendo responder mesmo às perturbações de frequência mais elevada.

6 DISCUSSÃO

Três novos modelos matemáticos de MNs dos tipos S, FR e FF foram desenvolvidos possuindo em seus dendritos uma condutância de Ca^{++} do tipo L, que é a responsável pela gênese de uma PIC quando o MN está sujeito à ação de neuromoduladores provenientes do tronco encefálico (e.g., 5-HT e NE). Esses modelos se basearam naqueles previamente desenvolvidos por Cisi e Kohn (2007; 2008) que possuíam apenas elementos passivos no compartimento dendrítico e cuja complexidade é relativamente baixa quando comparados a outros modelos reportados na literatura. Entretanto, essa relativa simplicidade torna-os convenientes para serem utilizados em redes neuronais contendo milhares de outros elementos interligados.

Os parâmetros da condutância de Ca^{++} do tipo L foram ajustados de modo que os modelos pudessem representar as características das curvas F-I de MNs totalmente e parcialmente biestáveis reportadas por Lee e Heckman (1998b) com base em dados de gatos descerebrados. Os valores adotados para os parâmetros se basearam nas características biofísicas da PIC (e.g., limiar e constante de tempo de ativação) reportadas por Schwindt e Crill (1980a; 1980b), tornando, portanto, os modelos biologicamente realísticos.

Os resultados mostraram que a característica persistente da corrente gerada pela nova condutância implementada nos modelos contribui para uma redução nas características da AHP, tanto na sua duração, quanto na sua magnitude. Essas alterações, compatíveis com aquelas observadas em MNs quando estes estão sob a ação de neuromoduladores (Rekling *et al.*, 2000), eleva a excitabilidade dos modelos, fazendo-os apresentar uma curva F-I com um alto ganho e com a necessidade de menos corrente para produzir disparos repetitivos. Além disso, é possível observar que os fenômenos da biestabilidade e o potencial platô (Hounsgaard *et al.*, 1988; Hounsgaard; Mintz, 1988; Bennett *et al.*, 1998; Hultborn, 1999) passam a ser representados pelos modelos.

As curvas I-V dos modelos são qualitativamente similares às de MNs de gatos descerebrados, apresentando uma região de inclinação negativa que confere à mesma uma forma de “N”. Entretanto, algumas características são distintas daquelas mostradas em MNs reais, possivelmente devido às limitações dos novos modelos que serão discutidas em seguida.

Porém, a magnitude da PIC encontrou-se dentro da faixa reportada pela literatura experimental (Lee; Heckman, 1998a; 1999) indicando que embora outras condutâncias contribuam para a PIC em MNs, nos modelos aqui apresentados a componente de Ca^{++} do tipo L é suficiente para sua representação.

Quanto aos padrões de disparo de PAs dos modelos, observou-se que os mesmos apresentam uma $F_{\min}$ da ordem de 20 Hz para o modelo de MN do tipo S e de 30 Hz para os modelos de MNs dos tipos F (i.e. FR e FF). Esse valor relativamente elevado da $F_{\min}$ é devido à alta excitabilidade dos modelos, haja vista que estes foram parametrizados baseando-se em dados de MNs com nível monoaminérgico aumentado (Lee; Heckman, 1998b; a; Heckman *et al.*, 2003; Heckman *et al.*, 2005; Heckman *et al.*, 2008). Entretanto, é mostrado que a variação do parâmetro $\overline{g_{\text{Ca-L}}}$ possibilita um ajuste desta excitabilidade, fazendo com que os modelos representem diferentes níveis de atividade das vias monoaminérgicas que descendem do tronco encefálico.

Acrescentando-se uma corrente do tipo WGN no compartimento dendrítico ou estimulando os modelos através de entradas sinápticas ativadas por processos pontuais aleatórios, constatou-se que a PIC eleva a frequência de disparo e, a despeito do ruído sináptico, torna os ISIs mais regulares, ou seja, com uma pequena variabilidade (menor que 10%). Essa maior regularidade, juntamente com o aumento na $F_{\min}$, corroboram as hipóteses de que durante o comportamento motor normal os neuromoduladores atuam no sentido de produzir forças próximas da máxima e com uma menor variabilidade, colaborando dessa forma para tarefas posturais ou situações onde é necessário um alto nível de alerta (Heckman *et al.*, 2003; Heckman *et al.*, 2005; Heckman *et al.*, 2008).

Além disso, os modelos foram capazes de apresentar o fenômeno de amplificação da corrente sináptica efetiva (Lee; Heckman, 2000; Heckman *et al.*, 2003; Heckman *et al.*, 2005; Heckman *et al.*, 2008). Esse fenômeno é encontrado em todos os tipos de MNs, desde os de baixa até os de alta R_N , e funcionalmente significa que uma pequena entrada sináptica (e.g., proveniente das aferências Ia) é fortemente amplificada pela PIC dendrítica. No modelo de MN do tipo S com dendrito ativo essa corrente sináptica excitatória é suficiente para fazê-lo disparar de forma repetitiva, enquanto que nos modelos de MNs dos tipos FR e FF, devido às suas diferentes R_N , ela apenas promove uma maior despolarização da membrana e, conseqüentemente, os modelos necessitarão de uma menor corrente para que sejam recrutados.

Muito embora a amplificação sináptica tenha sido inicialmente definida para entradas excitatórias, trabalhos recentes têm mostrado que a PIC também exerce uma forte influência sobre as entradas sinápticas inibitórias (Kuo *et al.*, 2003; Bui *et al.*, 2008; Hyngstrom *et al.*, 2008). Os resultados das simulações mostraram que a PIC dos modelos de MNs também é fortemente influenciada por entradas inibitórias. Primeiramente, verificou-se que uma breve entrada sináptica inibitória é suficiente para “desligar” o comportamento biestável de MNs do tipo S. Em seguida, variando a intensidade da atividade inibitória que incide sobre o modelo foi possível observar que com uma variação de 1 nA na corrente sináptica inibitória efetiva (de -1 a -2 nA) diminui-se a frequência de disparo autossustentada em cerca de 30%. Logo estes resultados sugerem que, assim como em MNs reais de gatos descerebrados, os modelos apresentam não só uma amplificação da IaI_N , mas sim um aumento na sensibilidade a entradas sinápticas tanto excitatórias, quanto as inibitórias.

A combinação destas entradas excitatórias e inibitórias nos modelos de MNs com dendrito ativo promovem disparos repetitivos que são distintos daqueles observados em MNs com dendrito passivo. Enquanto que na inexistência da PIC dendrítica as entradas sinápticas somam-se de forma praticamente linear, a presença da mesma promove uma não linearidade na soma dos efeitos (Binder, 2002). As entradas inibitórias, nestes casos, servirão mais como um sistema de controle local da ativação/desativação da PIC, pois dada a alta sensibilidade às entradas sinápticas dos modelos não é possível regular a magnitude da PIC em uma faixa ampla utilizando simplesmente a atividade inibitória.

Um protocolo até então não avaliado nos modelos de MNs com dendrito passivo, reportados por Cisi e Kohn (2007; 2008), diz respeito à resposta em frequência dos mesmos. Esse protocolo foi simulado tanto com a injeção, no compartimento somático, de uma corrente senoidal sobreposta a um degrau (Baldissera *et al.*, 1984; Goroso *et al.*, 2000), quanto pela modulação senoidal da frequência de ativação das entradas sinápticas excitatórias. Ambos os protocolos apresentaram curvas de ganho parecidas, muito embora a fase tenha comportamento distinto que depende do tipo de protocolo utilizado. Os resultados mostraram que os modelos não são capazes de representar os dados reportados por Baldissera e colaboradores (1984) para MNs de gatos anestesiados, sendo que tanto o modelo de MN do tipo S, quanto o do tipo FF, apresentaram comportamentos similares a outros modelos cujo fenômeno da adaptação da frequência instantânea de disparo não é bem representado (Goroso *et al.*, 2000). Entretanto, qualitativamente, pode-se observar que os modelos de MNs do tipo FF apresentam um aumento do ganho à medida que se aumenta a frequência de modulação,

enquanto que, na faixa de frequências avaliada (0,2 a 20 Hz) o modelo do tipo S apresenta um aumento no ganho para baixas frequências e uma diminuição no ganho para as altas frequências. Essas diferentes dinâmicas apresentadas pelos modelos são justificadas pelas características dos respectivos tipos de MN, sendo que MNs do tipo FF, por terem uma característica mais fásica respondem mesmo para frequências mais elevadas, ao passo que a característica tônica de MNs do tipo S faz com que os mesmos tenham uma faixa de resposta limitada.

Para verificar a hipótese de que os MNs com dendrito ativo possivelmente estão envolvidos em tarefas posturais, levantou-se a resposta em frequência dos mesmos, ativando-os por vias sinápticas excitatórias, para verificar se o comportamento dinâmico e a faixa de resposta dos modelos são similares à faixa de oscilações posturais. O que se observou foi um comportamento drasticamente distinto do observado em MNs com dendrito passivo, sendo que ao invés de ter-se uma resposta cujo ganho, pelo menos dentro de uma faixa de frequências, aumenta com a frequência de modulação, tem-se um ganho que sempre diminui. A faixa de passagem da resposta em frequência dos MNs é mais extensa para MNs maiores, indo até frequências da ordem de 1,7 Hz, ao passo que para MNs menores, que possivelmente são os que estão envolvidos em tarefas posturais, essa faixa se estende somente até 0,7 Hz. Esse comportamento corrobora a hipótese de que a PIC dendrítica leva o MN a operar em um estado no qual o mesmo é mais favorável a desempenhar tarefas posturais, cujas frequências de oscilação, em geral, não ultrapassam 1,0 Hz (Sparto *et al.*, 2004; Horlings *et al.*, 2009).

6.1 Comparação com outros modelos de MNs com dendrito ativo

Diversos outros modelos de MNs foram concebidos desde o advento dos primeiros dados experimentais sugerindo a existência de canais iônicos voltagem-dependentes na arborização dendrítica. Muitos destes modelos apresentam uma elevada complexidade computacional, enquanto outros têm deficiências nas suas representações de fenômenos relacionados à biestabilidade e potenciais platô em MNs de gatos, dificultando dessa forma suas inclusões em uma rede medular contendo milhares de elementos (Cisi, 2007; Cisi; Kohn, 2008).

Powers (1993) propôs um modelo com um único compartimento representando todo o MN e nele incluiu duas condutâncias de K^+ (uma lenta e uma rápida) e duas de Ca^{++} (uma de

baixo e outra de alto limiar). Nesse modelo ele conseguiu representar o comportamento biestável de MNs, porém, sem uma caracterização quantitativa apropriada, e sendo que os fenômenos observados foram relacionados não à condutância de Ca^{++} do tipo L e sim a uma diminuição drástica na condutância lenta de K^+ . Portanto, apesar de simples, este modelo apresenta deficiências para a representação dos fenômenos associados à gênese da biestabilidade e potencial platô.

Booth e Rinzel (1995) propuseram um modelo com dois compartimentos, um somático e outro dendrítico, e representaram de forma qualitativa os padrões de disparo de MNs biestáveis de tartaruga. Nesse estudo o objetivo foi mais o de discutir aspectos matemáticos relacionados à entrada no regime de biestabilidade (estudo de bifurcação do sistema) do que propriamente uma caracterização quantitativa do fenômeno, muito embora tenha uma contribuição importante no entendimento de como o acoplamento soma-dendrito influencia no comportamento dinâmico do modelo.

Mais tarde, Booth e colaboradores (1997) desenvolveram um modelo mais detalhado, também com dois compartimentos, porém com uma descrição biofísica apropriada das condutâncias iônicas incluídas tanto no soma, quanto no dendrito. Esse modelo dividiu as condutâncias em dois grupos distintos: i) aquelas responsáveis pela gênese do PA e AHP (condutâncias de Na^+ , rápida de K^+ , K^+ dependente de Ca^{++} e Ca^{++} do tipo N); e ii) aquela responsável pela gênese do potencial platô (condutância de Ca^{++} do tipo L). Essa divisão torna-se útil tanto na parametrização do modelo quanto na sua análise *a posteriori*. Foi incluída uma dinâmica para a concentração intracelular de Ca^{++} e a dependência da condutância lenta de potássio para com esta variável. Entretanto, embora pareça um modelo suficientemente bom para aplicações em redes neuronais, ele foi parametrizado para representar dados de MNs de tartaruga, cuja dinâmica difere daquela de MNs de gatos, e consequentemente dos de seres humanos (Bigland-Ritchie *et al.*, 1998; Jankowska; Hammar, 2002). Além disso, dependendo da aplicação utilizada, mesmo parecendo relativamente simples, este modelo, por incluir 7 condutâncias iônicas descritas conforme o formalismo de Hodgkin e Huxley (1952) e uma dinâmica da concentração de Ca^{++} , pode necessitar de uma máquina extremamente robusta e com processamento paralelo de modo a reduzir o tempo de computação de redes neuronais complexas (Williams; Baker, 2009).

O estudo de Dai e colaboradores (2002) é realizado em um modelo de MN de gato que apresenta canais iônicos ativos em seus dendritos, porém, o modelo é relativamente mais complexo, apresentando cinco compartimentos (axônio, segmento inicial, soma, dendrito

proximal e dendrito distal) e nove tipos de condutâncias iônicas distribuídas ao longo dos mesmos. No dendrito foram incluídas condutâncias de Ca^{++} do tipo L, do tipo N e uma condutância de K^+ dependente da concentração de Ca^{++} , cuja dinâmica também foi incluída na modelagem. Esse modelo, muito embora tenha canais iônicos ativos dendríticos, não apresenta os fenômenos de biestabilidade e potencial platô, pois foram parametrizados para representarem MNs de gatos anestesiados. Portanto, seu uso em redes neuronais seria de grande custo computacional.

Taylor e Enoka (2004) utilizaram em seu estudo um modelo relativamente complexo, contendo seis compartimentos e as mesmas condutâncias dendríticas utilizadas por Booth e colaboradores (1997) e Dai e colaboradores (2002) (i.e. Ca^{++} do tipo L, Ca^{++} do tipo N e K^+ dependente de Ca^{++}). Esses modelos representam MNs de gatos e foram ajustados para apresentarem ou não potenciais platô. Apesar de a simulação ter sido realizada com uma rede de até 120 neurônios interligados, esses modelos se tornam proibitivos quando o número de elementos aumenta (e.g., cerca de 1000 neurônios) e quando a rede está sujeita à realimentação negativa das células de Renshaw que eleva significativamente o tempo de computação, mesmo de uma rede mais simples (Uchiyama *et al.*, 2003; Cisi, 2007; Cisi; Kohn, 2008).

Da mesma forma que os supracitados, os modelos de Elbasiouny e colaboradores (2005) e Mahl (2005) são proibitivos devido às suas elevadas complexidades. O primeiro, além de possuir um elevado número de canais iônicos voltagem-dependentes (8 ao todo) apresenta uma descrição da arborização dendrítica através de um modelo tridimensional baseado na morfologia dos MNs espinhais de gatos. Este modelo tem sido utilizado para se avaliarem as diferentes distribuições dos canais iônicos dendríticos ao longo da arborização, colaborando, juntamente com estudos imunohistoquímicos, para uma melhor caracterização de onde os canais voltagem-dependente podem estar localizados de forma que apresentem os comportamentos eletrofisiológicos observados experimentalmente (Elbasiouny *et al.*, 2006).

Já o modelo de Mahl (2005) é decorrente de um estudo, em nível de mestrado, realizado no Laboratório de Engenharia Biomédica da EPUSP. Este modelo apresenta 19 compartimentos, sendo um segmento inicial, um soma e 17 compartimentos dendríticos. Este modelo, baseado no previamente desenvolvido por Vieira (2002; 2007), é capaz de apresentar os fenômenos relativos à biestabilidade e os potenciais platô de MNs de gatos descerebrados, entretanto, tanto a sua geometria, quanto a descrição dinâmica das condutâncias iônicas voltagem-dependentes são extremamente complexas quando se deseja avaliar o

comportamento de uma rede neuronal extensa. Entretanto, do ponto de vista teórico, este modelo pode fornecer subsídios sobre a biofísica dos canais iônicos, bem como o efeito de diferentes tipos de distribuições espaciais tanto das condutâncias responsáveis pela PIC, quanto das condutâncias sinápticas.

Dessa forma, pelo exposto até agora, os modelos desenvolvidos neste trabalho são de complexidade relativamente baixa, quando comparados com alguns que já foram desenvolvidos. Porém, sua baixa complexidade não o impede de representar, aproximadamente, os fenômenos relacionados à biestabilidade e/ou potenciais platô em diferentes tipos de MNs. Entretanto, não foi testada a adição de novas condutâncias, como, por exemplo, as condutâncias de Ca^{++} do tipo N ou a de Na^+ persistente, para verificar se é possível representar os fenômenos com uma melhor aproximação.

Entretanto, em termos de tempo de computação houve, simplesmente pela adição de uma corrente no compartimento dendrítico, um aumento de 30% quando comparado a um protocolo similar realizado nos modelos com dendrito passivo. Esse aumento sugere que modelos mais complexos para representar os fenômenos de biestabilidade e/ou potencial platô seriam proibitivos quando se tem em vista inserir os novos modelos em uma rede medular contendo milhares de elementos. Entretanto, um ponto ainda a ser investigado é se a implementação dos modelos em linguagens de programação mais eficientes (e.g., Java™) permite um menor aumento no tempo de computação em relação ao apresentado na implementação em Matlab®.

6.2 Limitações dos modelos

Por terem apenas dois compartimentos os modelos apresentados neste trabalho não permitem uma modelagem mais realística da distribuição dos canais iônicos voltagem-dependentes ao longo da arborização dendrítica (Elbasiouny *et al.*, 2005; Bui *et al.*, 2006; Elbasiouny *et al.*, 2006; Bui *et al.*, 2008; Carlin *et al.*, 2009), bem como uma distribuição espacial das condutâncias sinápticas (Burke; Glenn, 1996). Portanto, alguns protocolos experimentais que necessitem de uma consideração mais fidedigna da geometria dos MNs ficam impossibilitados de serem simulados com os modelos apresentados.

A adição de uma única condutância dendrítica responsável pela gênese da PIC foi suficiente para que a curva I-V dos modelos apresentassem uma forma de “N”, característica

de MNs sujeitos à ação dos neuromoduladores. Entretanto, quando comparadas às curvas I-V de MNs reais, algumas discrepâncias são observadas. A primeira delas diz respeito à ativação abrupta da PIC: como o modelo utilizado se baseia em uma dinâmica do tipo *integrate-and-fire*, no qual o limiar de ativação de cada condutância é fixo, então a escolha deste limiar é o que determinará o início da PIC, diferentemente do que ocorreria caso os modelos tivessem uma dinâmica segundo a proposta de Hodgkin e Huxley (1952), onde há uma dependência mais “suave” das variáveis de estado para com o potencial de membrana.

Além disso, é observado que para potenciais de membrana mais despolarizados (> 30 mV) não há um efeito compensatório exercido possivelmente por uma corrente de K^+ (Schwindt; Crill, 1980a; b; Lee; Heckman, 1998a). Essa limitação é decorrente da simplificação na representação do modelo, pois conforme mencionado na seção anterior, o acréscimo de mais condutâncias implicaria em um aumento na complexidade computacional e um consequente aumento no tempo de computação.

Outra limitação importante do modelo é quanto à adoção de um V_{th} fixo para o início de um PA. Sabe-se que à medida que a frequência de disparo do MN aumenta (ou a corrente injetada) há um consequente aumento no seu V_{th} (Figura 6.1), fenômeno que é devido às propriedades de acomodação do segmento inicial (Schwindt; Crill, 1982; Crill; Schwindt, 1984). Estudos experimentais em MNs de gatos (Frank; Fuortes, 1960; Burke; Nelson, 1971; Schlue *et al.*, 1974a; b; c) e a simulação computacional de modelos de MNs mais complexos (Vieira; Elias, 2009) mostraram que a acomodação, observada principalmente em MNs dos tipos F, é devida ao regime subliminar da variável de inativação da condutância de Na^+ . Como nos modelos esse regime subliminar não é representado, ou melhor, a condutância de Na^+ é ativada somente quando o modelo atinge o seu V_{th} , então não é possível obter-se naturalmente tal comportamento. Dessa forma, os padrões de disparo dos MNs tornam-se ligeiramente distintos daqueles observados em animais, principalmente em se tratando da variabilidade dos ISIs onde muito provavelmente a acomodação tenha um papel fundamental em aumentar a probabilidade de ocorrência de ISIs mais longos (Crill; Schwindt, 1984).

Figura 6.1. Aumento do limiar de disparo do MN (V_{th}) com o aumento da corrente injetada no soma (I). As duas curvas representam duas diferentes células que foram registradas por Schwindt e Crill (1982).

7 COMENTÁRIOS FINAIS

Os modelos matemáticos de MNs desenvolvidos no presente trabalho apresentam os fenômenos básicos necessários para classificá-los como totalmente e parcialmente biestáveis. Essas características fizeram com que os mesmos apresentassem comportamentos distintos daqueles observados em MNs com dendrito passivo quando estimulados por vias sinápticas, sendo que tanto os padrões de disparo quanto as respostas em frequência justificaram a hipótese de que a ativação da PIC dendrítica está envolvida em tarefas posturais.

Uma possibilidade futura de estudo utilizando os modelos aqui propostos é o acoplamento entre a saída dos MNs e a entrada de um sistema gerador de *twitches*, por exemplo, o proposto por Fuglevand e colaboradores (1993) no qual a saída é a resposta impulsiva de um sistema de segunda ordem criticamente amortecido. Dessa forma seria possível avaliar se os diferentes padrões de disparo dos MNs isoladamente seriam capazes de produzir forças qualitativamente similares às apresentadas em diferentes estudos de seres humanos nos quais se pressupõem o envolvimento de comportamentos biestáveis e os potenciais platôs (Gorassini *et al.*, 1998; Collins *et al.*, 2001; 2002; Nickolls *et al.*, 2004; Baldwin *et al.*, 2006; Fuglevand *et al.*, 2006; Klakowicz *et al.*, 2006; Dean *et al.*, 2007; 2008).

Devido à simplicidade computacional dos modelos, estes se tornam úteis no aprimoramento da rede medular desenvolvida por Cisi e Kohn (2007; 2008). Para tanto, é necessária uma etapa de implementação dos modelos no sistema, que está escrito em linguagem de programação Java™, e em seguida uma validação para verificar se o comportamento dos MNs na presença de um conjunto de elementos não se difere daquele observado isoladamente. Feito isso, é possível estudar-se como a PIC dendrítica influencia o comportamento motor como um todo, olhando os padrões de força e EMG gerados e comparando-os com os observados experimentalmente nos seres humanos.

Do ponto de vista do aprimoramento dos modelos isolados pode-se pensar em uma alteração da dinâmica das condutâncias iônicas voltagem-dependentes, substituindo a atual proposta de Destexhe (1997) pela forma clássica proposta por Hodgking e Huxley (1952). Com isso, espera-se que muitos resultados que quantitativamente não foram similares aos

resultados experimentais (e.g., o limiar abrupto de ativação da PIC e inexistência de acomodação) sejam mais bem representados. Além disso, pode-se acrescentar uma dinâmica apropriada para a concentração de Ca^{++} e tornar a condutância lenta de K^+ dependente desta variável.

Por fim, um aumento no número de compartimentos pode tornar a representação mais realista das entradas sinápticas, uma vez que estas poderão não só apresentar diferentes estatísticas dos intervalos entre eventos, mas também diferentes distribuições espaciais que influenciarão na forma como estas serão integradas pelo compartimento somático. Além disso, múltiplos compartimentos possibilitariam uma distribuição mais realista também das condutâncias iônicas voltagem-dependentes, influenciando na forma de amplificação sináptica e na gênese dos fenômenos de biestabilidade e potenciais platôs (Elbasiouny *et al.*, 2005; Bui *et al.*, 2006; Elbasiouny *et al.*, 2006; Bui *et al.*, 2008; Carlin *et al.*, 2009).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALDISSERA, F. *et al.* The dynamic-response of cat alpha-motoneurons investigated by intracellular injection of sinusoidal currents. **Experimental Brain Research**, v. 54, n. 2, p. 275-282, 1984.

_____. Motoneuronal pre-compensation for the low-pass filter characteristics of muscle. A quantitative appraisal in cat muscle units. **Journal of Physiology-London**, v. 511, n. 2, p. 611-627, 1998.

BALDWIN, E. R. L. *et al.* Wide-pulse-width, high-frequency neuromuscular stimulation: implications for functional electrical stimulation. **Journal of Applied Physiology**, v. 101, n. 1, p. 228-240, 2006.

BARRETT, E. F. *et al.* Voltage-sensitive outward currents in cat moto-neurons. **Journal of Physiology-London**, v. 304, n. Jul, p. 251-276, 1980.

BEAR, M. F. *et al.* **Neurociências - desvendando o sistema nervoso**. 2ª. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

BENNETT, D. J. *et al.* Synaptic activation of plateaus in hindlimb motoneurons of decerebrate cats. **Journal of Neurophysiology**, v. 80, n. 4, p. 2023-2037, 1998.

BIGLAND-RITCHIE, B. *et al.* Contractile properties of human motor units: Is man a cat? **Neuroscientist**, v. 4, n. 4, p. 240-249, 1998.

BINDER, M. D. Integration of synaptic and intrinsic dendritic currents in cat spinal motoneurons. **Brain Research Reviews**, v. 40, n. 1-3, p. 1-8, 2002.

BINDER, M. D.; POWERS, R. K. Synaptic integration in spinal motoneurons. **Journal of Physiology-Paris**, v. 93, n. 1-2, p. 71-79, 1999.

BOOTH, V.; RINZEL, J. A minimal, compartmental model for a dendritic origin of bistability of motoneuron firing patterns. **Journal of Computational Neuroscience**, v. 2, n. 4, p. 299-312, 1995.

BOOTH, V. *et al.* Compartmental model of vertebrate motoneurons for Ca²⁺-dependent spiking and plateau potentials under pharmacological treatment. **Journal of Neurophysiology**, v. 78, n. 6, p. 3371-3385, 1997.

BROWNSTONE, R. M. Take your PIC: Motoneuronal persistent inward currents may be somatic as well as dendritic. Focus on "facilitation of somatic calcium channels can evoke prolonged tail currents in rat hypoglossal motoneurons". **Journal of Neurophysiology**, v. 98, n. 2, p. 579-580, 2007.

BUI, T. V. *et al.* Comparison of the morphological and electrotonic properties of renshaw cells, ia inhibitory interneurons, and motoneurons in the cat. **Journal of Neurophysiology**, v. 90, n. 5, p. 2900-2918, 2003.

_____. Multiple modes of amplification of synaptic inhibition to motoneurons by persistent inward currents. **Journal of Neurophysiology**, v. 99, n. 2, p. 571-582, 2008.

_____. Computational estimation of the distribution of L-type Ca²⁺ channels in motoneurons based on variable threshold of activation of persistent inward currents. **Journal of Neurophysiology**, v. 95, n. 1, p. 225-241, 2006.

BURKE, R. E.; GLENN, L. L. Horseradish peroxidase study of the spatial and electrotonic distribution of group Ia synapses on type-identified ankle extensor motoneurons in the cat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 372, n. 3, p. 465-485, 1996.

BURKE, R. E.; NELSON, P. G. Accommodation to current ramps in motoneurons of fast and slow twitch motor units. **The International Journal of Neuroscience**, v. 1, n. 6, p. 347-56, 1971.

BURKITT, A. N. A review of the integrate-and-fire neuron model: I. Homogeneous synaptic input. **Biological Cybernetics**, v. 95, n. 1, p. 1-19, 2006.

CALVIN, W. H.; STEVENS, C. F. Synaptic noise as a source of variability in interval between action potentials. **Science**, v. 155, n. 3764, p. 842-&, 1967.

_____. Synaptic noise and other sources of randomness in motoneuron interspike intervals. **Journal of Neurophysiology**, v. 31, n. 4, p. 574-&, 1968.

CARLIN, K. P. *et al.* Staircase currents in motoneurons: insight into the spatial arrangement of calcium channels in the dendritic tree. **Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 16, p. 5343-5353, 2009.

CISI, R. R. L. **Sistema de simulação de circuitos neuronais da medula espinhal desenvolvido em arquitetura WEB.** (2007). 202 p. Doutorado (Tese) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

CISI, R. R. L.; KOHN, A. F. Simulation system of spinal cord motor nuclei and associated nerves and muscles, in a Web-based architecture. **Journal of Computational Neuroscience**, v. 25, n. 3, p. 520-542, 2008.

CLAMANN, H. P. Statistical analysis of motor unit firing patterns in a human skeletal muscle. **Biophysical Journal**, v. 9, n. 10, p. 1233-&, 1969.

COLLINS, D. F. *et al.* Large involuntary forces consistent with plateau-like behavior of human motoneurons. **Journal of Neuroscience**, v. 21, n. 11, p. 4059-4065, 2001.

_____. Sustained contractions produced by plateau-like behaviour in human motoneurons. **Journal of Physiology-London**, v. 538, n. 1, p. 289-301, 2002.

COX, D. R.; ISHAM, V. **Point processes**. London: Chapman & Hall, 1980.

CRILL, W. E.; SCHWINDT, P. Ionic mechanisms underlying excitation-to-frequency transduction - Studies by voltage clamp methods. **Archives Italiennes de Biologie**, v. 122, n. 1, p. 31-41, 1984.

DAI, Y. *et al.* A modelling study of locomotion-induced hyperpolarization of voltage threshold in cat lumbar motoneurons. **Journal of Physiology-London**, v. 544, n. 2, p. 521-536, 2002.

DEAN, J. C. *et al.* Turning on the central contribution to contractions evoked by neuromuscular electrical stimulation. **Journal of Applied Physiology**, v. 103, n. 1, p. 170-176, 2007.

_____. Turning off the central contribution to contractions evoked by neuromuscular electrical stimulation. **Muscle & Nerve**, v. 38, n. 2, p. 978-986, 2008.

DELGADO-LEZAMA, R.; HOUNSGAARD, J. Adapting motoneurons for motor behavior. **Peripheral and Spinal Mechanisms in the Neural Control of Movement**, v. 123, p. 57-63, 1999.

DESTEXHE, A. Conductance-based integrate-and-fire models. **Neural Computation**, v. 9, n. 3, p. 503-514, 1997.

DESTEXHE, A. *et al.* An efficient method for computing synaptic conductances based on a kinetic-model of receptor-binding. **Neural Computation**, v. 6, n. 1, p. 14-18, 1994.

ELBASIOUNY, S. M. *et al.* Simulation of dendritic Ca(V)1.3 channels in cat lumbar motoneurons: Spatial distribution. **Journal of Neurophysiology**, v. 94, n. 6, p. 3961-3974, 2005.

_____. Simulation of Ca²⁺ persistent inward currents in spinal motoneurons: mode of activation and integration of synaptic inputs. **Journal of Physiology-London**, v. 570, n. 2, p. 355-374, 2006.

ELIAS, L. A.; KOHN, A. F. Integração sináptica em modelo de motoneurônio com dendrito ativo. In: XXIV Reunião Anual da FeSBE, Águas de Lindóia. Federação das Sociedades de Biologia Experimental, 2009a.

_____. Modelo matemático de motoneurônio do tipo S com dendrito ativo. In: XIII Congresso Brasileiro de Biomecânica, São Paulo. Sociedade Brasileira de Biomecânica, 2009b.

FINKEL, A. S.; REDMAN, S. J. The Synaptic Current Evoked in Cat Spinal Motoneurons by Impulses in Single Group-1a Axons. **Journal of Physiology-London**, v. 342, n. Sep, p. 615-632, 1983.

FLESHMAN, J. W. *et al.* Electrotonic architecture of type-identified alpha-motoneurons in the cat spinal-cord. **Journal of Neurophysiology**, v. 60, n. 1, p. 60-85, 1988.

FRANK, K.; FUORTES, M. G. F. Accommodation of spinal motoneurons of cats. **Archives Italiennes de Biologie**, v. 98, p. 165-170, 1960.

FUGLEVAND, A. J. *et al.* Evaluation of plateau-potential-mediated 'warm up' in human motor units. **Journal of Physiology-London**, v. 571, n. Pt 3, p. 683-93, 2006.

_____. Models of recruitment and rate coding organization in motor-unit pools. **Journal of Neurophysiology**, v. 70, n. 6, p. 2470-2488, 1993.

GORASSINI, M. A. *et al.* Self-sustained firing of human motor units. **Neuroscience Letters**, v. 247, n. 1, p. 13-16, 1998.

GOROSO, D. G. *et al.* The amplitude and phase responses of the firing rates of some motoneuron models. **Biosystems**, v. 58, n. 1-3, p. 33-39, 2000.

GUSTAFSSON, B.; PINTER, M. J. An investigation of threshold properties among cat spinal alpha-motoneurons. **Journal of Physiology-London**, v. 357, p. 453-483, 1984.

HECKMAN, C. J.; BINDER, M. D. Analysis of effective synaptic currents generated by homonymous Ia afferent-fibers in motoneurons of the cat. **Journal of Neurophysiology**, v. 60, n. 6, p. 1946-1966, 1988.

_____. Analysis of Ia-inhibitory synaptic input to cat spinal motoneurons evoked by vibration of antagonist muscles. **Journal of Neurophysiology**, v. 66, n. 6, p. 1888-1893, 1991.

HECKMAN, C. J. *et al.* Persistent inward currents in motoneuron dendrites: Implications for motor output. **Muscle & Nerve**, v. 31, n. 2, p. 135-156, 2005.

_____. Persistent inward currents in spinal motoneurons and their influence on human motoneuron firing patterns. **Neuroscientist**, v. 14, n. 3, p. 264-275, 2008.

_____. Synaptic integration in motoneurons with hyperexcitable dendrites. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 82, n. 8-9, p. 549-555, 2004.

HECKMAN, C. J.; LEE, R. H. Synaptic integration in bistable motoneurons. **Peripheral and Spinal Mechanisms in the Neural Control of Movement**, v. 123, p. 49-56, 1999.

HECKMAN, C. J. *et al.* Hyperexcitable dendrites in motoneurons and their neuromodulatory control during motor behavior. **Trends in Neurosciences**, v. 26, n. 12, p. 688-695, 2003.

HODGKIN, A. L.; HUXLEY, A. F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. **Journal of Physiology-London**, v. 117, n. 4, p. 500-544, 1952.

HOLT, G. R.; KOCH, C. Shunting inhibition does not have a divisive effect on firing rates. **Neural Computation**, v. 9, n. 5, p. 1001-1013, 1997.

HORLINGS, C. G. C. *et al.* Vestibular and proprioceptive influences on trunk movements during quiet standing. **Neuroscience**, v. 161, n. 3, p. 904-914, 2009.

HOUNSGAARD, J. *et al.* Bistability of alpha-motoneurons in the decerebrate cat and in the acute spinal cat after intravenous 5-hydroxytryptophan. **Journal of Physiology-London**, v. 405, p. 345-367, 1988.

HOUNSGAARD, J.; MINTZ, I. Calcium conductance and firing properties of spinal motoneurons in the turtle. **Journal of Physiology-London**, v. 398, p. 591-603, 1988.

HULTBORN, H. Plateau potentials and their role in regulating motoneuronal firing. **Peripheral and Spinal Mechanisms in the Neural Control of Movement**, v. 123, p. 39-48, 1999.

HYNGSTROM, A. S. *et al.* Summation of excitatory and inhibitory synaptic inputs by motoneurons with highly active dendrites. **Journal of Neurophysiology**, v. 99, n. 4, p. 1643-1652, 2008.

JANKOWSKA, E.; HAMMAR, I. Spinal interneurons; how can studies in animals contribute to the understanding of spinal interneuronal systems in man? **Brain Research Reviews**, v. 40, n. 1-3, p. 19-28, 2002.

JOHNSON, K. V. B. *et al.* Properties of human motor units after prolonged activity at a constant firing rate. **Experimental Brain Research**, v. 154, n. 4, p. 479-487, 2004.

JONES, K. E.; BAWA, P. Computer simulation of the responses of human motoneurons to composite 1A EPSPs: Effects of background firing rate. **Journal of Neurophysiology**, v. 77, n. 1, p. 405-420, 1997.

KAMEN, G. *et al.* Evidence of self-sustained motoneuron firing in young and older adults. **Journal of Electromyography and Kinesiology**, v. 16, n. 1, p. 25-31, 2006.

KAY, S. M. **Intuitive probability and random processes using MATLAB**. New York: Springer, 2006.

KERNELL, D. Repetitive impulse firing in motoneurons: facts and perspectives. **Peripheral and Spinal Mechanisms in the Neural Control of Movement**, v. 123, p. 31-37, 1999.

_____. **The motoneuron and its muscle fibres**. 1st. ed. New York: Oxford University Press, 2006.

KIEHN, O.; EKEN, T. Functional role of plateau potentials in vertebrate motor neurons. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 8, n. 6, p. 746-752, 1998.

KLAKOWICZ, P. M. *et al.* Contribution of M-waves and H-reflexes to contractions evoked by tetanic nerve stimulation in humans. **Journal of Neurophysiology**, v. 96, n. 3, p. 1293-1302, 2006.

KOCH, C. **Biophysics of computation: Information processing in single neurons**. New York: Oxford University Press, 2004.

KUO, J. J. *et al.* Active dendritic integration of inhibitory synaptic inputs in vivo. **Journal of Neurophysiology**, v. 90, n. 6, p. 3617-3624, 2003.

LEE, R. H.; HECKMAN, C. J. Influence of voltage-sensitive dendritic conductances on bistable firing and effective synaptic current in cat spinal motoneurons in vivo. **Journal of Neurophysiology**, v. 76, n. 3, p. 2107-2110, 1996.

_____. Bistability in spinal motoneurons in vivo: Systematic variations in persistent inward currents. **Journal of Neurophysiology**, v. 80, n. 2, p. 583-593, 1998a.

_____. Bistability in spinal motoneurons in vivo: Systematic variations in rhythmic firing patterns. **Journal of Neurophysiology**, v. 80, n. 2, p. 572-582, 1998b.

_____. Paradoxical effect of QX-314 on persistent inward currents and bistable behavior in spinal motoneurons in vivo. **Journal of Neurophysiology**, v. 82, n. 5, p. 2518-2527, 1999.

_____. Adjustable amplification of synaptic input in the dendrites of spinal motoneurons in vivo. **Journal of Neuroscience**, v. 20, n. 17, p. 6734-6740, 2000.

LEE, R. H. *et al.* Influence of active dendritic currents on input-output processing in spinal motoneurons in vivo. **Journal of Neurophysiology**, v. 89, n. 1, p. 27-39, 2003.

LI, Y. R. *et al.* Role of persistent sodium and calcium currents in motoneuron firing and spasticity in chronic spinal rats. **Journal of Neurophysiology**, v. 91, n. 2, p. 767-783, 2004.

MACDONELL, C. W. *et al.* Afterhyperpolarization time-course and minimal discharge rate in low threshold motor units in humans. **Experimental Brain Research**, v. 189, n. 1, p. 23-33, 2008.

MAHL, L. S. **Modelagem matemática de dendritos ativos em motoneurônios**. (2005). 109 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

MANUEL, M. *et al.* How much afterhyperpolarization conductance is recruited by an action potential? A dynamic-clamp study in cat lumbar motoneurons. **Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 39, p. 8917-8923, 2005.

_____. The afterhyperpolarization conductance exerts the same control over the gain and variability of motoneurone firing in anaesthetized cats. **Journal of Physiology-London**, v. 576, n. 3, p. 873-886, 2006.

_____. Resonant or not, two amplification modes of proprioceptive inputs by persistent inward currents in spinal motoneurons. **Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 47, p. 12977-12988, 2007.

MATTHEWS, P. B. C. The simple frequency-response of human stretch reflexes in which either short-latency or long-latency components predominate. **Journal of Physiology-London**, v. 481, n. 3, p. 777-798, 1994.

_____. Relationship of firing intervals of human motor units to the trajectory of post-spike after-hyperpolarization and synaptic noise. **Journal of Physiology-London**, v. 492, n. 2, p. 597-628, 1996.

MCINTYRE, C. C.; GRILL, W. M. Extracellular stimulation of central neurons: Influence of stimulus waveform and frequency on neuronal output. **Journal of Neurophysiology**, v. 88, n. 4, p. 1592-1604, 2002.

MEUNIER, C.; BOREJSZA, K. How membrane properties shape the discharge of motoneurons: A detailed analytical study. **Neural Computation**, v. 17, n. 11, p. 2383-2420, 2005.

MUNSON, J. B. Synaptic input to type-identified motor units. In: BINDER, M. D.; MENDELL, L. M. (Ed.). **The segmental motor system**. New York: Oxford University Press, 1990.

NICKOLLS, P. *et al.* Forces consistent with plateau-like behaviour of spinal neurons evoked in patients with spinal cord injuries. **Brain**, v. 127, p. 660-670, 2004.

PERKEL, D. H. *et al.* Neuronal spike trains and stochastic point processes .I. Single spike train. **Biophysical Journal**, v. 7, n. 4, p. 391-&, 1967.

PERSON, R. S.; KUDINA, L. P. Discharge frequency and discharge pattern of human motor units during voluntary contraction of muscle. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 32, n. 5, p. 471-&, 1972.

PIOTRKIEWICZ, M. An influence of afterhyperpolarization on the pattern of motoneuronal rhythmic activity. **Journal of Physiology-Paris**, v. 93, n. 1-2, p. 125-133, 1999.

POLIAKOV, A. V. *et al.* Discharge patterns of tonically firing human motoneurons. **Biological Cybernetics**, v. 73, n. 2, p. 189-194, 1995.

POWERS, R. K. A variable-threshold motoneuron model that incorporates time-dependent and voltage-dependent potassium and calcium conductances. **Journal of Neurophysiology**, v. 70, n. 1, p. 246-262, 1993.

POWERS, R. K.; BINDER, M. D. Persistent sodium and calcium currents in rat hypoglossal motoneurons. **Journal of Neurophysiology**, v. 89, n. 1, p. 615-624, 2003.

PURVES, D. *et al.* (Eds.) **Neuroscience**. Sunderland: Sinauer, 2004. 832 p., 3rd ed.

RANK, M. M. *et al.* Role of endogenous release of norepinephrine in muscle spasms after chronic spinal cord injury. **Journal of Neurophysiology**, v. 97, n. 5, p. 3166-3180, 2007.

REKLING, J. C. *et al.* Synaptic control of motoneuronal excitability. **Physiological Reviews**, v. 80, n. 2, p. 767-852, 2000.

RUDOLPH, M.; DESTEXHE, A. Analytical integrate-and-fire neuron models with conductance-based dynamics for event-driven simulation strategies. **Neural Computation**, v. 18, n. 9, p. 2146-2210, 2006.

RUGGIERO, M. A. G.; LOPES, V. L. R. **Cálculo numérico - aspectos teóricos e computacionais**. 2ª. ed. São Paulo: Makron Books, 1997.

SALA, F.; HERNANDEZCRUZ, A. Calcium diffusion modeling in a spherical neuron - relevance of buffering properties. **Biophysical Journal**, v. 57, n. 2, p. 313-324, 1990.

SCHLUE, W. R. *et al.* Accommodation of cat spinal motoneurons to linearly rising currents before and during long-term changes of membrane-potential. **Brain Research**, v. 76, n. 2, p. 213-221, 1974a.

_____. Mechanisms of accommodation to linearly rising currents in cat spinal motoneurons. **Journal of Neurophysiology**, v. 37, n. 2, p. 310-315, 1974b.

_____. Responses of cat spinal motoneuron somata and axons to linearly rising currents. **Journal of Neurophysiology**, v. 37, n. 2, p. 303-309, 1974c.

SCHWINDT, P. C.; CRILL, W. E. Properties of a persistent inward current in normal and TEA-injected moto-neurons. **Journal of Neurophysiology**, v. 43, n. 6, p. 1700-1724, 1980a.

_____. Role of a persistent inward current in moto-neuron bursting during spinal seizures. **Journal of Neurophysiology**, v. 43, n. 5, p. 1296-1318, 1980b.

_____. Factors influencing moto-neuron rhythmic firing - results from a voltage-clamp study. **Journal of Neurophysiology**, v. 48, n. 4, p. 875-890, 1982.

_____. Membrane properties of cat spinal motoneurons. In: DAVIDOFF, R. A. (Ed.). **Handbook of the spinal cord**. New York: Marcel Dekker, 1984. p. 199-242.

SEGEV, I. *et al.* Computer-simulation of group Ia EPSPs using morphologically realistic models of cat alpha-motoneurons. **Journal of Neurophysiology**, v. 64, n. 2, p. 648-660, 1990.

SHAPIRO, N. P.; LEE, R. H. Synaptic amplification versus bistability in motoneuron dendritic processing: A top-down modeling approach. **Journal of Neurophysiology**, v. 97, n. 6, p. 3948-3960, 2007.

SHIAVI, R.; NEGIN, M. Stochastic properties of motoneuron activity and effect of muscular length. **Biological Cybernetics**, v. 19, n. 4, p. 231-237, 1975.

SPARTO, P. J. *et al.* Detecting postural responses to sinusoidal sensory inputs: A statistical approach. **Ieee Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering**, v. 12, n. 3, p. 360-366, 2004.

STUART, G. J.; REDMAN, S. J. Voltage Dependence of Ia Reciprocal Inhibitory Currents in Cat Spinal Motoneurons. **Journal of Physiology-London**, v. 420, p. 111-125, 1990.

STURM, H. *et al.* Firing pattern of type-identified wrist extensor motor units during wrist extension and hand clenching in humans. **Journal of Physiology-London**, v. 504, n. 3, p. 735-745, 1997.

SUTHERLAND, C. *et al.* Feedback-induced gain control in stochastic spiking networks. **Biological Cybernetics**, v. 100, n. 6, p. 475-489, 2009.

TANSEY, K. E.; BOTTERMAN, B. R. Activation of type-identified motor units during centrally evoked contractions in the cat medial gastrocnemius muscle .2. Motoneuron firing-rate modulation. **Journal of Neurophysiology**, v. 75, n. 1, p. 38-50, 1996.

TAYLOR, A. M.; ENOKA, R. M. Quantification of the factors that influence discharge correlation in model motor neurons. **Journal of Neurophysiology**, v. 91, n. 2, p. 796-814, 2004.

TRAUB, R. D. Motoneurons of different geometry and size principle. **Biological Cybernetics**, v. 25, n. 3, p. 163-176, 1977.

UCHIYAMA, T. *et al.* A model of the feline medial gastrocnemius motoneuron-muscle system subjected to recurrent inhibition. **Biological Cybernetics**, v. 89, n. 2, p. 139-151, 2003.

VIEIRA, M. F. **Novos modelos de motoneurônios de vertebrados**. (2002). 304 p. Tese (Doutorado) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

VIEIRA, M. F.; ELIAS, L. A. Accommodation in motoneuron models with passive dendrite: Response to linearly rising currents. **Neurocomputing**, v. 72, n. 13-15, p. 3396-3398, 2009.

VIEIRA, M. F.; KOHN, A. F. Compartmental models of mammalian motoneurons of types S, FR and FF and their computer simulation. **Computers in Biology and Medicine**, v. 37, n. 6, p. 842-860, 2007.

WILLIAMS, E. R.; BAKER, S. N. Circuits generating corticomuscular coherence investigated using a biophysically based computational model. I. Descending systems. **Journal of Neurophysiology**, v. 101, n. 1, p. 31-41, 2009.

ZENGEL, J. E. *et al.* Membrane electrical-properties and prediction of motor-unit type of medial gastrocnemius motoneurons in the cat. **Journal of Neurophysiology**, v. 53, n. 5, p. 1323-1344, 1985.

ZHANG, M. L. *et al.* Localization of L-type calcium channel Ca-v 1.3 in cat lumbar spinal cord - with emphasis on motoneurons. **Neuroscience Letters**, v. 407, n. 1, p. 42-47, 2006.

APÊNDICE A – ROTINAS MATLAB® PARA SIMULAÇÃO DOS MODELOS

Abaixo, são apresentadas as rotinas implementadas em Matlab® e que foram utilizadas nas diversas simulações mostradas neste trabalho. Como os modelos apresentam uma mesma estrutura, apenas o modelo de MN do tipo S será descrito, porém, para diferenciar o modelo com dendrito passivo daquele com dendrito ativo será utilizada a formatação “negrito-sublinhado” na linha ou comando correspondente ao modelo com dendrito ativo. Para os demais modelos (FR e FF), a diferença está restrita às diferentes constantes que foram utilizadas para a parametrização dos modelos e que estão devidamente descritas nos capítulos 3 e 4.

Rotina Principal (main.m)

```
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%% S-type motoneuron model with passive (active) dendrite %%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
close all
clear all
clc

tic
global s SPIKE0 t0 SPIKE1 t1 pd rp Monitor
global gc El Cd gld Cs gls Vth
global ECa GCa ENa GNa EK GKf GKs
global m h n q p m0 h0 n0 q0 p0
global alfa_M beta_M alfa_H beta_H alfa_N beta_N alfa_Q beta_Q alfa P
beta P
% global re we Ge Esyn_exc
% global te0 de fe aux0 j0 X_exc SYNAPSE_exc t2 pd1 r0_exc aux1
% global r_inf_exc tau_R_exc beta_R_exc
% global ri wi Gi Esyn_ini
% global ti0 di aux2 j1 X_ini SYNAPSE_ini t3 pd2 r0_ini aux3
% global r_inf_ini tau_R_ini beta_R_ini

% load W.mat
%Load ISI from a file

% Monitor = [0 0 0 0 0];

%% Simulation Time (ms)
ts = 0.0; %Start Time
s = 0.05; %Step
te = 200.0; %End Time
t = ts:s:te;
```

```

%% Model Parameters
Irh = 5.0; %Rheobase Current [nA]
Ri = 70.0; %Cytoplasm Resistivity [Ohm x cm]
Cm = 1.0; %Membrane Specific Capacitance [uF/cm²]
Rm_d = 12500.0; %Dendritic Membrane Specific Resistance [Ohm x cm²]
Rm_s = 1100.0; %Somatic Membrane Specific Resistance [Ohm x cm²]
ld = 6154.0; %Dendritic Length [um]
ls = 80; %Somatic Length [um]
rd = (52.0)/2; %Dendritic Radius [um]
rs = (80.0)/2; %Somatic Radius [um]
pd = 0.6; %Pulse Duration [ms]
rp = 5.0; %Refractory Period [ms]
SPIKE0 = 0.0;
t0 = -1.0;
SPIKE1 = 0.0;
t1 = -1.0;

%% Common Constants
gc = (2*1e2)/(((Ri*ld)/(pi*(rd^2)))+(Ri*ls)/(pi*(rs^2)))); %Coupling Conductance [uS]
El = 0.0; %Leakage Voltage [mV]

%% Dendritic-compartment Constants
Cd = 2*1e-5*pi*rd*ld*Cm; %Dendritic Capacitance [nF]
gld = (2*1e-2*pi*rd*ld)/Rm_d; %Leakage Conductance [uS]


p = 0.0; %Activation variable for L-type Calcium Conductance



ECa = 140; %Equilibrium Potential - L-type Calcium [mV]



GCa = 2*1e-5*pi*rd*ld*(0.28); %Peak Conductance - L-type Calcium [uS]



%% Somatic-compartment Constants
Cs = 2*1e-5*pi*rs*ls*Cm; %Somatic Capacitance [nF]
gls = (2*1e-2*pi*rs*ls)/Rm_s; %Leakage Conductance [uS]
m = 0; %Activation Variable for Sodium Conductance
h = 1; %Inactivation Variable for Sodium Conductance
ENa = 120; %Equilibrium Potential - Sodium [mV]
GNa = 2*1e-5*pi*rs*ls*(30.0); %Peak Conductance - Sodium [uS] //MAX: 30.0
EK = -10; %Equilibrium Potential - Potassium [mV]
n = 0; %Activation Variable for Fast Potassium Conductance
q = 0; %Activation Variable for Slow Potassium Conductance
GKf = 2*1e-5*pi*rs*ls*(4.0); %Peak Conductance - Fast Potassium [uS] //MAX: 4.0
GKs = 2*1e-5*pi*rs*ls*(19.15); %Peak Conductance - Slow Potassium [uS] //MAX: 19.15
Rn = 1/(gls+((gld*gc)/(gld+gc))); %Input Resistance [Mega Ohm]
Vth = floor(Rn*Irh); %Membrane Potential Threshold [mV]

%% Ionic Channels Constants
alfa_M = 22.00; %[1/ms]
beta_M = 13.00; %[1/ms]
alfa_H = 0.500; %[1/ms]
beta_H = 4.000; %[1/ms]
alfa_N = 1.500; %[1/ms]
beta_N = 0.100; %[1/ms]
alfa_Q = 1.500; %[1/ms]
beta_Q = 0.025; %[1/ms]
alfa P = 0.013; %[1/ms]
beta P = 0.013; %[1/ms]

```

```

%% Synaptic Current Constants
% Tmax = 1.0; %Transmitter [mM]
% Excitatory
% te0 = 0.0;
% Ne = 2; %Afferent Ia fibers //MAX: 54
% Ge = 600.0e-3; %Peak Conductance - Excitatory Synapse [uS]
% Esyn_exc = 70; %Reversal Potential - Excitatory Synapse [mV]
% alfa_R_exc = 0.5; %[1/ms]
% beta_R_exc = 2.5; %[1/ms]
% r_inf_exc = (alfa_R_exc*Tmax)/(alfa_R_exc*Tmax+beta_R_exc);
% tau_R_exc = 1/(alfa_R_exc*Tmax+beta_R_exc);
% pd1 = 0.2; %Pulse Duration [ms]
% re = zeros(Ne,1);
% aux0 = zeros(Ne,1);
% X_exc = zeros(Ne,1);
% SYNAPSE_exc = zeros(Ne,1);
% t2 = -1.0*ones(Ne,1);
% aux1 = zeros(Ne,1);
% j0 = ones(Ne,1);

% Inhibitory
% ti0 = 0.0;
% Ni = 1; %Afferent IN-Ia fibers //MAX: 27
% Gi = 500.0e-3; %Peak Conductance - Inhibitory Synapse [uS]
% Esyn_ini = -16; %Reversal Potential - Inhibitory Synapse [mV]
% alfa_R_ini = 0.5; %[1/ms]
% beta_R_ini = 1.2; %[1/ms]
% r_inf_ini = (alfa_R_ini*Tmax)/(alfa_R_ini*Tmax+beta_R_ini);
% tau_R_ini = 1/(alfa_R_ini*Tmax+beta_R_ini);
% pd2 = 0.4; %Pulse Duration [ms]
% ri = zeros(Ni,1);
% aux2 = zeros(Ni,1);
% X_ini = zeros(Ni,1);
% SYNAPSE_ini = zeros(Ni,1);
% t3 = -1.0*ones(Ni,1);
% aux3 = zeros(Ni,1);
% j1 = ones(Ni,1);

%% ISI [ms]
% Excitatory
% lambda_exc = 2000; %Pre-synaptic neurons firing rate [pps]

% Periodic
% for i = 1:Ne
%     we(i,:) = (1000/lambda_exc)*ones(length(t),1);
% end
% de(1,1) = 0.0;
% for j = 2:Ne
%     de(j,:) = de(j-1)+(1000/(Ne*lambda_exc));
% end

```

```

% Poisson
% for i = 1:Ne
%     we(i,:) = -(1000/lambda_exc).*log(1-rand(length(t),1));
% end
% for j = 1:Ne
%     for k = 1:length(we)
%         if we(j,k) < 0.2
%             we(j,k) = 0.2;
%         end
%     end
% end

% Sinusoidal Modulation
% lambda_exc_target = 400;
% F = 3; %Frequency of the modulation [Hz]
% for i = 1:Ne
%     fe(i,:) = lambda_exc_target.*sin(2.*pi.*(F/1000).*t)+lambda_exc;
% end
% we = 1000./fe;
%
% we = downsample(we',round((1000/s)/lambda_exc))';

% Inhibitory
% lambda_ini = 1500; %Pre-synaptic neurons firing rate [pps]

% Periodic
% for l = 1:Ni
%     wi(l,:) = (1000/lambda_ini)*ones(length(t),1);
% end
% di(1,1) = 0.0;
% for m = 2:Ni
%     di(m,:) = di(m-1)+(1000/(Ni*lambda_ini));
% end

% Poisson
% for l = 1:Ni
%     wi(l,:) = -(1000/lambda_ini).*log(1-rand(length(t),1));
% end
% for m = 1:Ni
%     for n = 1:length(wi)
%         if wi(m,n) < 0.4
%             wi(m,n) = 0.4;
%         end
%     end
% end

% wi = downsample(wi',round((1000/s)/lambda_ini))';

```



```

%% Numerical Integration - 4th Order Runge-Kuta
% Initial Conditions
m0 = 0.0; %Activation Variable for Sodium Conductance
h0 = 1.0; %Inactivation Variable for Sodium Conductance
n0 = 0.0; %Activation Variable for Fast Potassium Conductance
q0 = 0.0; %Activation Variable for Slow Potassium Conductance


p0 = 0.0; %Activation Variable for L-type Calcium Conductance


% r0_exc = zeros(Ne,1); %Fraction of Bound Receptors of Excitatory Synapse
% r0_ini = zeros(Ni,1); %Fraction of Bound Receptors of Inhibitory Synapse
Vd0 = 0.0; %Dendrite Membrane Potential
Vs0 = 0.0; %Somatic Membrane Potential
IC = [Vd0; Vs0];

% In voltage-clamp protocols set Vs0 as a constant value. Comment (A), and
uncomment (B) in the function 'mn.m'

V = ode4(@mn,t,IC);

%% Figures
figure
plot(t,V(:,1),'k')
grid
title('Dendritic Membrane Potential')
xlabel('Time (ms)')
ylabel('Membrane Potential (mV)')

figure
plot(t,V(:,2),'k')
grid
title('Somatic Membrane Potential')
xlabel('Time (ms)')
ylabel('Membrane Potential (mV)')

% I1 = linspace(0,12,60000);
% I2 = linspace(12,-16,140001);
% I = [I1 I2];

% In = gc.*(V(:,2)-V(:,1));
% figure
% plot(t,In,'k')
% grid
% xlabel('Membrane Potential (mV)')
% ylabel('Membrane Current (nA)')

```

Algoritmo de Runge-Kutta de 4ª ordem (ode4.m)

```

function Y = ode4(odefun,tspan,y0,varargin)
%ODE4 Solve differential equations with a non-adaptive method of order 4.
% Y = ODE4(ODEFUN,TSPAN,Y0) with TSPAN = [T1, T2, T3, ... TN] integrates
% the system of differential equations y' = f(t,y) by stepping from T0 to
% T1 to TN. Function ODEFUN(T,Y) must return f(t,y) in a column vector.
% The vector Y0 is the initial conditions at T0. Each row in the solution
% array Y corresponds to a time specified in TSPAN.
%
% Y = ODE4(ODEFUN,TSPAN,Y0,P1,P2...) passes the additional parameters
% P1,P2... to the derivative function as ODEFUN(T,Y,P1,P2...).
%

```

```

% This is a non-adaptive solver. The step sequence is determined by TSPAN
% but the derivative function ODEFUN is evaluated multiple times per
step.
% The solver implements the classical Runge-Kutta method of order 4.
%
% Example
%     tspan = 0:0.1:20;
%     y = ode4(@vdp1,tspan,[2 0]);
%     plot(tspan,y(:,1));
%     solves the system  $y' = \text{vdp1}(t,y)$  with a constant step size of 0.1,
%     and plots the first component of the solution.
%

if ~isnumeric(tspan)
    error('TSPAN should be a vector of integration steps.');
```

```
end

if ~isnumeric(y0)
    error('Y0 should be a vector of initial conditions.');
```

```
end

h = diff(tspan);
if any(sign(h(1))*h <= 0)
    error('Entries of TSPAN are not in order.')
```

```
end

try
    f0 = feval(odefun,tspan(1),y0,varargin{:});
catch
    msg = ['Unable to evaluate the ODEFUN at t0,y0. ',lasterr];
    error(msg);
end

y0 = y0(:); % Make a column vector.
if ~isequal(size(y0),size(f0))
    error('Inconsistent sizes of Y0 and f(t0,y0).');
```

```
end

neq = length(y0);
N = length(tspan);
Y = zeros(neq,N);
F = zeros(neq,4);

Y(:,1) = y0;
for i = 2:N
    ti = tspan(i-1);
    hi = h(i-1);
    yi = Y(:,i-1);
    F(:,1) = feval(odefun,ti,yi,varargin{:});
    F(:,2) = feval(odefun,ti+0.5*hi,yi+0.5*hi*F(:,1),varargin{:});
    F(:,3) = feval(odefun,ti+0.5*hi,yi+0.5*hi*F(:,2),varargin{:});
    F(:,4) = feval(odefun,tspan(i),yi+hi*F(:,3),varargin{:});
    Y(:,i) = yi + (hi/6)*(F(:,1) + 2*F(:,2) + 2*F(:,3) + F(:,4));
end
Y = Y.';

```

Modelo de MN (mn.m)

```
function v = mn(t,V)
%MN Differential equations and dynamics of motoneuron model.
% V = MN(T,V) returns the somatic and dendritic membrane potentials after
% integration.

global SPIKE0 t0 SPIKE1 t1 pd rp Monitor
global gc El Cd gld Cs gls Vth
global ECa GCa ENa GNa EK GKf GKs
global m h n q p m0 h0 n0 q0 p0
global alfa_M beta_M alfa_H beta_H alfa_N beta_N alfa_Q beta_Q alfa P
beta P
% global re we Ge Esyn_exc
% global ri wi Gi Esyn_ini

%% Pulse-based constant rates
if V(2) > Vth && (t0 == -1 || (t-t0) > rp)
    SPIKE0 = 1;
    t0 = t;
    m0 = m;
    h0 = h;
    n0 = n;
    q0 = q;
end
if SPIKE0 == 1 && (t-t0) > pd
    SPIKE0 = 0;
    t0 = t;
    m0 = m;
    h0 = h;
    n0 = n;
    q0 = q;
end

if SPIKE0 > 0
    m = 1+(m0-1)*exp(-alfa_M*(t-t0));
    h = h0*exp(-beta_H*(t-t0));
    n = 1+(n0-1)*exp(-alfa_N*(t-t0));
    q = 1+(q0-1)*exp(-alfa_Q*(t-t0));
else
    m = m0*exp(-beta_M*(t-t0));
    h = 1+(h0-1)*exp(-alfa_H*(t-t0));
    n = n0*exp(-beta_N*(t-t0));
    q = q0*exp(-beta_Q*(t-t0));
end

if V(2) > Vth-5.25 && (t1 == -1 || (t-t1) > rp)
    SPIKE1 = 1;
    t1 = t;
    p0 = p;
end
if SPIKE1 == 1 && (t-t1) > pd
    SPIKE1 = 0;
    t1 = t;
    p0 = p;
end
end
```

```

if SPIKE1 > 0
    p = 1+(p0-1)*exp(-alfa P*(t-t1));
else
    p = p0*exp(-beta P*(t-t1));
end

%% Synaptic current
% Excitatory
% re(1) = r_exc(1,we(1,:),t);
...
% re(54) = r_exc(54,we(54,:),t);

%Inhibitory
% ri(1) = r_ini(1,wi(1,:),t);
...
% ri(27) = r_ini(27,wi(27,:),t);

%% Synaptic Noise
% noise = -0.9+25.*randn(1,1);

%% Integration
% Dendritic Membrane Potential
v(1,1) = (1/Cd)*(-gc*(V(1)-V(2))-gld*(V(1)-El)-GCa*p*(V(1)-ECa)+Iinj_d(t));
% v(1,1) = (1/Cd)*(-gc*(V(1)-V(2))-gld*(V(1)-El)-GCa*p*(V(1)-
ECa)+Iinj_d(t)+noise);
% v(1,1) = (1/Cd)*(-gc*(V(1)-V(2))-gld*(V(1)-El)-GCa*p*(V(1)-ECa)-
Ge*sum(re)*(V(1)-Esyn_exc)+Iinj_d(t));
% v(1,1) = (1/Cd)*(-gc*(V(1)-V(2))-gld*(V(1)-El)-GCa*p*(V(1)-ECa)-
Ge*sum(re)*(V(1)-Esyn_exc)-Gi*sum(ri)*(V(1)-Esyn_ini)+Iinj_d(t));

% Somatic Membrane Potential
% In voltage-clamp protocols uncomment (B), and comment (A). If you want to
% simulate voltage ramp set v(2,1) as the slope value, and Vs0 (main.m) as
% 0.

% (A):
v(2,1) = (1/Cs)*(-gc*(V(2)-V(1))-gls*(V(2)-El)-GNa*m^3*h*(V(2)-ENa)-
GKf*n^4*(V(2)-EK)-GKs*q^2*(V(2)-EK)+Iinj_s(t));

% (B):
% Ramp
% if t < 5000
%     v(2,1) = 0.008;
% else
%     v(2,1) = -0.008;
% end

% Constant
% v(2,1) = 0.0;

% Monitor = [Monitor; m n h q p];

```

Dinâmica das sinapses excitatórias (r_exc.m)

```
function synapse = r_exc(i,w,t)
%R_EXC Fraction of bound receptors of excitatory synapse.
% SYNAPSE = R_EXC(I,W,T) returns a value in order to calculate the synaptic
% current reaching a compartment.

global te0 de s aux0 j0 X_exc SYNAPSE_exc t2 pd1 r0_exc aux1
global r_inf_exc tau_R_exc beta_R_exc

if t >= te0 && t < 0.0
    if s*round((t-(te0+aux0(i)+w(j0(i))))/s) == 0;
        X_exc(i) = 1.0;
        aux0(i) = aux0(i)+w(j0(i));
        j0(i) = j0(i)+1;
    else
        X_exc(i) = 0;
    end

    if X_exc(i) == 1
        SYNAPSE_exc(i) = 1.0;
        t2(i) = t;
        r0_exc(i) = aux1(i);
    end
    if SYNAPSE_exc(i) == 1 && (t-t2(i)) > pd1
        SYNAPSE_exc(i) = 0.0;
        t2(i) = t;
        r0_exc(i) = aux1(i);
    end

    if SYNAPSE_exc(i) > 0
        synapse = r_inf_exc+(r0_exc(i)-r_inf_exc)*exp(-(1/tau_R_exc)*(t-
t2(i)));
    else
        synapse = r0_exc(i)*exp(-beta_R_exc*(t-t2(i)));
    end
else
    synapse = 0.0;
end

aux1(i) = synapse;
```

Dinâmica das sinapses inibitórias (r_ini.m)

```
function synapse = r_ini(i,w,t)
%R_INI Fraction of bound receptors of inhibitory synapse.
% SYNAPSE = R_INI(I,W,T) returns a value in order to calculate the synaptic
% current reaching a compartment.

global ti0 di s aux2 j1 X_ini SYNAPSE_ini t3 pd2 r0_ini aux3
global r_inf_ini tau_R_ini beta_R_ini

if t >= ti0 && t < 0.0
    if s*round((t-(ti0+aux2(i)+w(j1(i))))/s) == 0;
        X_ini(i) = 1.0;
        aux2(i) = aux2(i)+w(j1(i));
        j1(i) = j1(i)+1;
    end
end
```

```

else
    X_ini(i) = 0;
end

if X_ini(i) == 1
    SYNAPSE_ini(i) = 1.0;
    t3(i) = t;
    r0_ini(i) = aux3(i);
end
if SYNAPSE_ini(i) == 1 && (t-t3(i)) > pd2
    SYNAPSE_ini(i) = 0.0;
    t3(i) = t;
    r0_ini(i) = aux3(i);
end

if SYNAPSE_ini(i) > 0
    synapse = r_inf_ini+(r0_ini(i)-r_inf_ini)*exp(-(1/tau_R_ini)*(t-
t3(i)));
else
    synapse = r0_ini(i)*exp(-beta_R_ini*(t-t3(i)));
end
else
    synapse = 0.0;
end

aux3(i) = synapse;

```

Corrente injetada no soma (Iinj_s.m)

```

function current = Iinj_s(t)
%IINJ Injected current into motoneuron soma.
% CURRENT = IINJ(T) returns a current value following the waveform
% selected. There are CONSTANT, PULSE, RAMP and SINUSOID waveforms.

d = 0.0; %Time delay
% d1 = 0.0; %Time delay 1
% d2 = 0.0; %Time delay 2

%% Constant
if t >= d
    current = 0.0;
else
    current = 0.0;
end

%% Pulse
% pd1 = 0.5; %Pulse duration 1
% pd2 = 0; %Pulse duration 2
%
% if t >= d1 && t < d1+pd1
%     current = 50;
% elseif t >= d2 && t < d2+pd2
%     current = 0.0;
% else
%     current = 0.0;
% end

```

```

%% Ramp
% if t >= d && t < 1000
%     rs = 0.005;
%     current = rs.*(t-d);
% else
%     rs = 0.005;
%     current = 24-rs.*(t-d);
% end

%% Sinusoid
% if t > d
%     f = 10;                                     %Sinusoid frequency
%     sa = 0.5;                                   %Sinusoid amplitude
%     current = 2.5+sa*sin(2*pi*(f/1000)*(t-d));
% else
%     current = 0;
% end

```

Cálculo da frequência instantânea de disparo do MN e curva F-I (finst.m)

```

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%% Instantaneous frequency %%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

%% Initialization
peak = 0;
inst = 0;
freq_inst = 0;
inst2 = 0;
% curr = 0;
% curr2 = 0;

%% Peak detection
for i = 2:length(V)
    if V(i,2) > 50 && V(i,2) > V(i+1,2) && V(i,2) > V(i-1,2)
        peak = [peak V(i,2)];
        inst = [inst t(i)];
        % curr = [curr I(i)];
    end
end

peak = peak(2:end);
inst = inst(2:end);
% curr = curr(2:end);

%% Firing rate
for j = 1:(length(inst)-1)
    freq_inst = [freq_inst 1000/(inst(j+1)-inst(j))];
    inst2 = [inst2 (inst(j+1)+inst(j))/2];
    % curr2 = [curr2 (curr(j+1)+curr(j))/2];
end

freq_inst = freq_inst(2:end);
inst2 = inst2(2:end);
% curr2 = curr2(2:end);

```

```

%% Figures
figure
plot(inst,peak,'ok')
grid
xlabel('Time (ms)'), ylabel('Membrane Potential (mV)')
title('Spike times')
axis([0 max(t) min(V(:,2)) max(V(:,2))])

figure
plot(inst2,freq_inst,'xk')
grid
xlabel('Time (ms)'), ylabel('Firing Rate (Hz)')
xlim([0 max(t)])

fmean = mean(freq_inst(5:end))

% figure
% plot(curr2,freq_inst,'ok')
% grid
% xlabel('Injected Current (nA)'), ylabel('Firing rate (Hz)')

```

Histograma de ciclos (cyclehistogram.m)

```

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%% Cycle Histogram %%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

freq = input('Frequency of modulation [Hz]:');
P = 1000/freq;
j = find(inst2 < 1000);
inst3 = inst2(max(j)+1:end)./P;
freq_inst2 = freq_inst(max(j)+1:end);
freq_inst3 = zeros(1,length(freq_inst2));
cycles = (max(t)/1000)*freq;

for i=1:cycles
    for k = 1:length(inst3)
        if inst3(k) >= i && inst3(k) < i+1
            inst3(k) = inst3(k)-i;
        end
    end
end

[inst4,idx] = sort(inst3);
for z = 1:length(inst4)
    freq_inst3(z) = freq_inst2(idx(z));
end

figure
plot(inst4,freq_inst3,'.k')
grid

```