Josiane da Silva Freitas

Estudo computacional de efeitos de alterações nas condutâncias de
canais iônicos sobre a atividade elétrica de modelos
morfológicamente realistas de células granulares do giro denteado
do hipocampo de ratos

Ribeirão Preto

2016

Josiane da Silva Freitas

Estudo computacional de efeitos de alterações nas condutâncias de
canais iônicos sobre a atividade elétrica de modelos
morfologicamente realistas de células granulares do giro denteado
do hipocampo de ratos

Dissertação apresentada a pós-
graduação em psicobiologia da
Universidade de São Paulo
campus Ribeirão Preto
Para obtenção do título de
Mestre em ciências, Área:
Psicobiologia

Versão corrigida

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos
Roque da Silva Filho

Ribeirão Preto

2016

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.

FREITAS, J.S. Estudo computacional de efeitos de alterações nas condutâncias de canais iônicos sobre a atividade elétrica de modelos morfolologicamente realistas de células granulares do giro denteado do hipocampo de ratos. Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Psicobiologia

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Agradecimentos

Agradeço principalmente a minha mãe me ensinado a importância dos estudos.

A minha avó.

Aos amigos Carol, Fer, Querusche, Diogo e as Gabis.

Aos amigos que fiz em Ribeirão em especial a Nayara e o André.

Aos amigos do Laboratório de Anatomia da UFSCar: prof Luiz e prof^a Máira que sempre me apoiaram.

Aos colegas do Laboratório Sisne e ao Julian e a Denise.

Ao orientador Antônio Roque pela oportunidade e aprendizado.

A organização da escola Latin American School for Computational Neurosciences (LASCON), que ampliou minha visão sobre ciência.

A todos que de alguma forma contribuíram para que eu pudesse realizar esse trabalho muito obrigada!

RESUMO

FREITAS, J. S. **Estudo computacional de efeitos de alterações nas condutâncias de canais iônicos sobre a atividade elétrica de modelos morfologicamente realistas de células granulares do giro denteado do hipocampo de ratos** 2016 Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1995.

A ocorrência de *status epilepticus* (SE) desencadeia algumas alterações no sistema nervoso central. O giro denteado (GD) do hipocampo sofre com modificações na expressão gênica dos canais iônicos das células granulares (CGs) e essas células sofrem alterações—morfológicas. Essas alterações se manifestam com o brotamento de fibras musgosas, redução no número de espinhas dendríticas, encurtamento e estreitamento da arborização dendrítica.

As modificações na expressão gênica dos canais iônicos afetam suas densidades máximas de condutância. Este estudo utilizou 40 modelos computacionais realistas para simular alterações nas condutâncias de canais iônicos e seus efeitos sobre dois grupos de CGs do GD. Os modelos foram construídos com base em reconstruções tridimensionais de 20 CGs com morfologia alterada após SE induzido por pilocarpina (CG-PILO) e 20 de morfologia normal (CG-controle). Foram dotados dos canais iônicos de sódio rápido (Na), canal de potássio de retificação tardia rápido (fKdr), canal de potássio de retificação tardia lento (fKdr), canal de potássio de tipo A (KA), canal de potássio dependente de cálcio e de voltagem de alta condutância (BK), canal de potássio dependente de cálcio de baixa condutância (SK) e canais de cálcio dos tipos T, N e L. As simulações foram realizadas no software Neuron. Foram realizados test t para detectar se ocorre diferenças significativas entre os grupos CG-controle e CG-PILO. As alterações nas densidades máximas de condutância provocaram mudanças nos parâmetros de excitabilidade dos grupos CG-PILO e CG-controle, alterando valores de frequência de disparos, reobase e cronaxia. Os grupos apresentam respostas significativamente diferentes para as médias de reobase para a maioria dos valores de densidade máxima de condutância, porém para cronaxia a maioria dos grupo não apresentou diferenças significativas. O grupo CG-controle apresentou médias maiores de frequência de disparos que o CG-PILO e o grupo CG-PILO apresentou valores de reobase maior para as alterações de densidade de condutância da maioria dos canais, sendo essas diferenças significativas.

Palavras-chave: células granulares, epilepsia, neurociência computacional, canais iônicos

ABSTRACT

FREITAS, J. S. **Computational study about effects of ionic conductance alterations on electrical activity of realistic models of dentate gyrus granule cells from rats** 2016

Dissertação(Mestrado) - Faculdade de Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1995

The occurrence of *status epilepticus* (SE) triggers some changes in the central nervous system. The dentate gyrus (DG) of the hippocampus suffers from changes in gene expression of ion channels of granule cells (GCs) and these cells undergo morphological changes. These changes manifest themselves with mossy fiber sprouting, reduction in the number of dendritic spines, shortening and narrowing of dendritic branching. Changes in gene expression of ion channels affect their maximum densities of conductance. This study used 40 realistic computer models to simulate changes in conductance of ion channels and its effect on two groups of CGs of the GD. The models were built based on three-dimensional reconstructions of 20 CGS with morphology changed after pilocarpine-induced SE (CG-PILO) and 20 normal morphology (CG-control). The models were equipped with the ion channels of fast sodium (Na), fast delayed rectifying potassium channel (fK_{DR}), slow delayed rectifying potassium channel (fK_{dr}), potassium channel type A (KA), potassium channel dependent calcium and high voltage conductance (BK), potassium channel dependent calcium low conductance (SK) and the calcium channel types T, N and L. The simulations were performed at Neuron software. T tests were performed to p-values <0.05 for detecting significant differences between the GC-control group and GC-PILO. Changes in maximum densities conductance caused changes in excitability parameters CG-PILO and GC-control groups, by changing frequency values of spikes, rheobase and chronaxie. The groups have significantly different responses to the averages for the most rheobase maximum density values of conductance, but these differences were shortly found for chronaxie values. The CG-control group had higher average frequency of spikes than the CG-PILO group. The CG-PILO group had rheobase values higher for conductance density changes the most channels. These differences are significant.

Keywords: granule cells, epilepsy, computational neuroscience, ionic channels.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Encéfalo de rato com destaque para o hipocampo, o corte transversal mostra as regiões Ca1, CA2, CA3, e GD (Andersen et al., 2007.....p.2
- Figura 2.** Circuito elétrico equivalente com 3 canais iônicos. C_m é a capacitância da membrana, G_{vaz} é a condutância de vazamento, G_K é a condutância de potássio e G_{Na} é a condutância de sódio. E_{vaz} é potencial de reverão da corrente de vazamento, E_K potencial de reversão do potássio e E_{Na} potencial de reversão do sódio, I é a corrente injetada, I_{Na} , I_K , I_{vaz} são respectivamente a corrente de sódio, corrente de potássio e corrente de vazamento, V_m é a voltagem da membrana, dentro faz referência a parte nterna do neurônio e fora a parte externa (figura adaptada de Jaeger, 2015).....p.12
- Figura 3.** Ilustração da abordagem compartimental de Rall. **A.** Modelo de neurônio reconstruído. **B.** Modelo de cabo para o neurônio, **C.** Modelo compartimental para o neurônio adaptado de (BOWER & BEEMAN, 2012.). A. Modelo de neurônio reconstruído. B. Modelo de cabo para o neurônio. C. Modelo compartimental para o neurônio. Cada compartimento é representado por um circuito elétrico equivalente com um único potencial de membrana (Rall 1962).....p14
- Figura 4.** Reconstruções tridimensionais das árvores dendríticas de células granulares do giro denteado do hipocampo com o auxílio do programa Neurolucida System (©MBF Bioscience, EUA) por Arisi & Garcia-Cairasco (2007). a) CG-controle. b) CG-controle. c) CG-PILO. d) CG-PILO. Dendritos apicais estão representados em verde e dendritos basais em roxo.....p16
- Figura 5.** Desenho esquemático da árvore dendrítica de um neurônio ilustrando o método de segmentação em regiões dendríticas baseado na ordem das bifurcações ao longo de um ramo dendrítico a partir do soma. Definido por descritos por Aradi & Holmes,(1999). As bifurcações são identificadas e numeradas segundo a ordem em que se apresentam em relação ao soma.Distribuição dos canais iônicos ao longo da árvore dendrítica. Soma: ocorre a presença dos canais de Na , fK_{DR} , sK_{DR} , KA , SK , BK , $Ca-T$, $Ca-L$, $Ca-N$. CCG ou camada celular granular estão presentes os canais Na , fK_{DR} , sK_{DR} , SK , BK , $Ca-T$, $Ca-L$, $Ca-N$. Dep , os dendritos proximais apresentam canais: Na , fK_{DR} , sK_{DR} , KA , SK , BK , $Ca-T$, $Ca-L$, $Ca-N$. Dem, os dendritos mediais possuem Na , fK_{DR} , sK_{DR} , BK , $Ca-T$, $Ca-L$, $Ca-N$. Dem, os dendritos distais têm canais de Na , fK_{DR} , sK_{DR} , BK , $Ca-T$, $Ca-N$ p18

Figura 6. Gráfico de voltagem pelo tempo dos neurônios das células granulares sujeitas a uma simulação de 0.1 nA e 150 ms de duração. A, B, C e D são de neurônios do grupo controle respectivamente n01, n03, n05 e n07. Os gráficos F, G, H e I pertencem ao grupo PILO respectivamente n11, 13, 15 e 17.....p29

Figura 7. *Figura 7.* Dois grupos de células granulares CG-PILO (esferas azuis) e CG-controle (quadrados vermelhos) foram submetidos a diversas simulações, os neurônios receberam um pulso de corrente de 0.1nA no soma durante 500ms para cada uma com o objetivo de avaliar três parâmetros de excitabilidade: médias das frequências de disparos, reobase e cronaxia. Os triângulos verdes marcam os valores de γ onde houve diferença significativa entre as médias dos parâmetros avaliados nos grupos CG-PILO e CG-controle. Foi utilizado o teste t de student com $\alpha < 0.05$. **A** Frequência média de disparos em (Hz), os valores de densidade máxima de condutâncias originais de sódio para cada uma das regiões do neurônio foi multiplicado por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,01 em 300 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância. **B** Média de valores de reobase em nA em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de sódio para cada uma das regiões do neurônio foi multiplicado por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **C** Média de valores de cronaxia em ms em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de sódio para cada uma das regiões do neurônio foi multiplicado por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1.....p31

Figura 8. *Figura 8.* Dois grupos de células granulares CG-PILO (esferas azuis) e CG-controle (quadrados vermelhos) foram submetidos a diversas simulações, os neurônios receberam um pulso de corrente de 0.1nA no soma durante 500ms para cada uma com o objetivo de avaliar três parâmetros de excitabilidade: médias das frequências de disparos, reobase e cronaxia. Os triângulos verdes marcam os valores de γ onde houve diferença significativa entre as médias dos parâmetros avaliados nos grupos CG-PILO e CG-controle. Foi utilizado o teste t de student com $\alpha < 0.05$. **A** Frequência média de disparos em (Hz), os valores de densidade máxima de condutâncias originais de sK_{DR} para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,01 em 300 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância. **B** Média de valores de reobase em nA em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de sK_{DR} para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **C** Média de valores de cronaxia em ms em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de sK_{DR} para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **D** Frequência média de disparos em (Hz), os valores de densidade máxima de condutâncias.....p32

Figura 9. *Dois grupos de células granulares CG-PILO (esferas azuis) e CG-controle (quadrados vermelhos) foram submetidos a diversas simulações, os neurônios receberam um pulso de corrente de 0.1nA no soma durante 500ms para cada uma com o objetivo de avaliar três parâmetros de excitabilidade: médias das frequências de disparos, reobase e cronaxia. Os triângulos verdes marcam os valores de γ onde houve diferença significativa entre as médias dos parâmetros avaliados nos grupos CG-PILO e CG-controle. Foi utilizado o teste t de student com $\alpha < 0.05$. **A** Frequência média de disparos em (Hz), os valores de densidade máxima de*

condutâncias originais K_A para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,01 em 300 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância. B Média de valores de reobase em nA em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de K_A para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1.....p33

Figura 10 Dois grupos de células granulares CG-PILO (esferas azuis) e CG-controle (quadrados vermelhos) foram submetidos a diversas simulações, os neurônios receberam um pulso de corrente de 0.1nA no soma durante 500ms para cada uma com o objetivo de avaliar três parâmetros de excitabilidade: médias das frequências de disparos, reobase e cronaxia. Os triângulos verdes marcam os valores de γ onde houve diferença significativa entre as médias dos parâmetros avaliados nos grupos CG-PILO e CG-controle. Foi utilizado o teste t de student com $\alpha < 0.05$. A Frequência média de disparos em (Hz), os valores de densidade máxima de condutâncias originais de BK para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,01 em 300 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância. B Média de valores de reobase em nA em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de BK para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. C Média de valores de cronaxia em ms em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de BK para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. D Frequência média de disparos em (Hz), os valores de densidade máxima de condutâncias originais de SK para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,01 em 300 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância. E Média de valores de reobase em nA em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de SK para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. F Média de valores de cronaxia em ms em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de SK para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1.....p35

Figura 11. Dois grupos de células granulares CG-PILO (esferas azuis) e CG-controle (quadrados vermelhos) foram submetidos a diversas simulações, os neurônios receberam um pulso de corrente de 0.1nA no soma durante 500ms para cada uma com o objetivo de avaliar três parâmetros de excitabilidade: médias das frequências de disparos, reobase e cronaxia. Os triângulos verdes marcam os valores de γ onde houve diferença significativa entre as médias dos parâmetros avaliados nos grupos CG-PILO e CG-controle. Foi utilizado o teste t de student com $\alpha < 0.05$. A Frequência média de disparos em (Hz), os valores de densidade máxima de condutâncias originais de CA-L para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,01 em 300 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de

condutância. **B** Média de valores de reobase em nA em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de *CA-L* para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **C** Média de valores de cronaxia em ms em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de *Ca-L* para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **D** Frequência média de disparos em (Hz), os valores de densidade máxima de condutâncias originais de *Ca-N* para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,01 em 300 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância. **E** Média de valores de reobase em nA em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de *Ca-N* para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **F** Média de valores de cronaxia em ms em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de *Ca-N* para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **G** Frequência média de disparos em (Hz), os valores de densidade máxima de condutâncias originais de *Ca-T* para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,01 em 300 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância. **H** Média de valores de reobase em nA em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de *Ca-T* para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **I** Média de valores de cronaxia em ms em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de *Ca-T* para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1.p38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros passivos utilizados no modelop16

Tabela 2. Densidades de condutância máxima das correntes iônicas para os modelos de células granulares utilizados nos grupos CGs-controle e CGs-PILO. **CCG** camada celular granular, **Dep**: dendrito proximal, **Dem** dendrito medial, **Ded** dendrito distal (Aradi & Holmes 1999).....p18

Tabela 3. valores de densidade máxima de condutância do canal de sódio para cada fator XX, ao longo dos diferentes regiões do neurônio, soma, camada celular granular (CCG), dendrito proximal (Dep), dendrito medial (Dem), dendrito distal (Ded).....p26

LISTA DE SIGLAS:

USP	Universidade de São Paulo
CG	Célula granular
GD	Giro denteado
SE	<i>Status epilepticus</i>
Na	Canal de sódio rápido
fKDR	Canal de potássio de retificação tardia rápido
	Canal de potássio de retificação tardia lento
Skdr	Canal de cálcio tipo T
Ca-T	Canal de cálcio tipo L
Ca-L	Canal de cálcio tipo N
Ca-N	Canal de potássio dependente de cálcio de baixa
SK	condutância
BK	Canal de potássio dependente de cálcio e de
	voltagem de alta condutância
ELT	Epilepsia de lobo temporal
CA	<i>cornus ammonis</i>
Dep	Dendrito proximal
Dem	Dendrito medial
Ded	Dendrito distal
CCG	Camada celular granular

SUMÁRIO:

1 INTRODUÇÃO	p1
1.1	<i>Epilepsia</i>p1
1.2	<i>Hipocampo:</i>p2
1.2.1	<i>Giro denteado:</i>p3
1.2.1.1	<i>Células granulares</i>p3
1.2.1.1.1	<i>Canal rápido de sódio:</i>p4
1.2.1.1.2	<i>Canais de potássio:</i>p4
1.2.1.1.3	<i>Canais de potássio retificadores tardios lento e rápido (sKdr e fKdr):</i>p5
1.2.1.1.4	<i>Canal de potássio Tipo A:</i>p5
1.2.1.1.5	<i>Canal de potássio dependente de Cálcio e de voltagem de grande condutância (BK):</i>p6
1.2.1.1.6	<i>Canal de potássio dependente de Cálcio de baixa condutância (SK).</i>p7
1.2.1.1.7	<i>Canais de cálcio dependentes de voltagem:</i>p7
1.2.1.1.8	<i>Canal de cálcio tipo L (Ca-N):</i>p8
1.2.1.1.9	<i>Canal de cálcio tipo T (Ca-T):</i>p8
1.2.1.1.10	<i>Canal de cálcio tipo N (Ca-N):</i>p9
1.3	<i>Hodking & Huxley</i>p9
1.3.1	<i>Modelo compartimental de Rall</i>p12
2 MATERIAIS E MÉTODOS	p14
2.1	<i>Células granulares</i>p14
2.2	<i>Ferramentas matemáticas e computacionais</i>p15
2.3	<i>Informações biofísicas:</i>p16
2.3.1	<i>Modelos matemáticos dos canais:</i>p19
2.3.1.1.	<i>Corrente rápida de sódio (Na)</i>p19
2.3.1.2.	<i>Corrente de potássio retificadora tardia lenta (sKdr)</i>p20
2.3.1.3.	<i>Corrente retificadora tardia rápida (fKdr)</i>p20
2.3.1.4.	<i>Corrente de potássio tipo A (KA)</i>p21
2.3.1.5.	<i>Canais de cálcio</i>p21
2.3.1.6.	<i>Calculo da concentração de cálcio</i>p21
2.3.1.7.	<i>Corrente de cálcio tipo T</i>p22
2.3.1.8.	<i>Corrente de cálcio tipo N</i>p23
2.3.1.9.	<i>Cálcio tipo L</i>p23
2.3.1.10.	<i>Corrente de potássio dependente de cálcio e de voltagem de alta condutância (BK)</i> p24
2.3.1.11.	<i>Corrente de potássio dependente de cálcio de baixa condutância</i> p25
2.3.2.	<i>Procedimentos experimentais</i>p26
3 RESULTADOS	p28
3.1	<i>Células granulares</i>p28
3.1.1	<i>Canal de sódio (Na):</i>p29
3.1.2	<i>Canal de potássio de retificação tardia rápido (fK_{DR}):</i>p32
3.1.3	<i>Canal de potássio de retificação tardia lento (sK_{DR}):</i>p35
3.1.4	<i>Canal de potássio tipo A (KA):</i>p38
3.1.5	<i>Canal de potássio dependente de cálcio e de voltagem de alta condutância (BK):</i>p41

3.1.6	<i>Canal de potássio dependente de cálcio baixa condutância (SK):.....</i>	<i>p44</i>
3.1.7	<i>Canal de cálcio tipo T (Ca-T):.....</i>	<i>p47</i>
3.1.8	<i>Canal de cálcio tipo L (Ca-L):.....</i>	<i>p50</i>
3.1.9	<i>Canal de cálcio tipo N (Ca-N):.....</i>	<i>p53</i>
4	DISCUSSÃO	p56
5	CONCLUSÕES	p61
6	REFERÊNCIAS	p62

1 *Introdução*

O presente estudo buscou contribuir sobre o conhecimento dos efeitos de alterações das densidades máximas de condutância dos canais de sódio rápido (Na), canal de potássio de retificação tardia rápido (fKdr), canal de potássio de retificação tardia lento (fKdr), canal de potássio de tipo A (KA), canal de potássio dependente de cálcio e de voltagem de alta condutância (BK), canal de potássio dependente de cálcio de baixa condutância (SK) e canais de cálcio dos tipos T, N e L ocasionadas por SE nas CGs jovens do hipocampo utilizando simulações computacionais.

Reconstruções digitais de neurônios contribuem como fontes de investigações neuroanatômicas comparativas e modelos computacionais biofísicos (ASCOLI et al., 2007). A modelagem computacional de neurônios deste estudo permite realizar testes que levariam muito tempo e recurso para serem realizados experimentalmente, permitindo um controle fino das variações das densidades máximas de condutância e consequentemente maior entendimento sobre seus efeitos. Informações sobre a dinâmica dos canais em várias densidades máximas de condutância contribuem para a compreensão dos mecanismos eletrofisiológicos do neurônio, e consequentemente com futuros trabalhos experimentais indicando regiões de valores de densidade de condutância a serem testados para provocar reações específicas, como torná-lo mais ou menos excitável assim colaborando com estudo com drogas antiepiléticas.

1.1 *Epilepsia*

A Epilepsia é uma ocorrência transiente de um sinal ou sintoma que se manifesta em função da atividade neuronal excessiva ou sincronia anormal do cérebro (FISHER et al., 2005), aparecendo como uma variedade de crises que vão desde mudança leve de comportamento até convulsões severas, espasmos musculares e perda de consciência (SAGNE et al., 1997).

A incidência de apenas uma crise epilética é considerado um evento isolado e não define um quadro de epilepsia, porém caso um indivíduo sofra duas crises o risco de sofrer uma terceira

é muito maior do que alguém que tenha sofrido apenas uma (HAUSER et al., 1998). Para que uma crise epiléptica seja classificada como *SE* essa, deve se prolongar por 5 minutos ou mais (LOWENSTEIN., 1999).

Uma das formas mais comuns de epilepsia em humanos é a epilepsia de lobo temporal (ELT) que ocorre com a participação do hipocampo (SUTULA et al., 1989). A ELT representa 60% de todas as epilepsias parciais (ANDERSEN et al., 2006), assim esta região cortical é uma importante área na patologia da epilepsia. Conhecimentos sobre esta estrutura e sua função são críticos para o entendimento dos papéis na fisiopatologia, especialmente na expressão da epilepsia de lobo temporal (ELT).

1.2 Hipocampo:

Figura 1. Encéfalo de rato com destaque para o hipocampo, o corte transversal mostra as regiões CA1, CA2, CA3, e DG (Andersen et al., 2007)

Hippocampus é uma palavra de origem grega que dá nome aos cavalos-marinhos e faz referência ao formato curvo dessa distinta estrutura cerebral. O hipocampo é uma estrutura bilateral localizada no lobo temporal (TAUPIN., 2007). Nos ratos essa formação é alongada com um formato parecido com uma banana possuindo seu eixo se estendendo em forma de C com a sua linha medial do cérebro perto do núcleo septal (rostrrodorsalmente) sobre e atrás do

tálamo no lobo temporal (AMARAL., et al 2007), já em humanos ele surge no corno temporal do ventrículo lateral e é arqueado ao longo do mesencéfalo (DUVERNO, 2005)

O hipocampo está relacionado com a memória declarativa, formação de memórias cotidianas e eventos que podem ser conscientemente retomados (SQUIRE, 1992), com amemória espacial e a formação de mapas cognitivos que podem ser utilizados para se deslocar através do espaço (SQUIRE, 2004). O hipocampo, além de participar da memória, do aprendizado e da orientação espacial, é uma das regiões do cérebro onde ocorre neurogênese, especificamente no giro denteado, e muitos trabalhos relatam os efeitos do *SE* nesse processo (PARENT et al., 2007; VARODAYAN et al., 2009).

A estrutura hipocampal é formada por duas regiões o *cornu ammonis* (CA) e o giro denteado (GD), os dois possuem forma em C e se entrelaçam, o CA é dividido em 3 regiões CA1, CA2 e CA3 e a região da sua interface com o DG é chamado de hilo. (CUTSURIDIS, 2010)

1.2.1 *Giro denteado:*

O GD é uma estrutura em formato de V ou U localizada no hipocampo, é formado por diversas camadas: a camada molecular que possui essencialmente dendritos das células granulares e fibras da via perfurante que chegam no GD vindas do córtex entorrinal e a camada das células granulares composta principalmente pelas células granulares. A camada celular granular encapsula uma terceira camada a camada celular polimórfica também conhecida como hilo (AMARAL, 1989).

O tipo celular mais comum nessa estrutura é a célula granular. Porém possui também células em cesto, células musgosas, células em candelabro, células MOPP (molecular layer perforant path-associated cell) (LI et al., 2013), axo-axônicas (SORIANO & FROTSCHER, 1989), células HICAP (hilar commissural-associational pathway-related cells) e células HIPP (hilar perforant path-associated cell) (AMARAL, 1978). Dentre os processos patológicos que envolvem o hipocampo estão a doença de Alzheimer e a epilepsia (TAUPIN, 2007). O giro denteado é uma região crucial para o estudo da epilepsia, pois age como um filtro prevenindo a passagem de sincronizações de alta frequência do neocórtex para o hipocampo (NADLER, 2003; LOTHMAN, 1991).

1.2.1.1 *Células granulares*

As CGs quando submetidas a estimulação apresentam como características eletrofisiológicas determinantes a presença de disparos seguidos de despolarização pós potencial (DAP) e hiperpolarização de longa duração (AHP), além dos seus trens de disparos apresentarem adaptação, ou seja, o intervalo entre os sucessivos disparos aumenta progressivamente (FOURNIER, 1984; FRANCK, 1995).

O GD do hipocampo de mamíferos adultos é uma das poucas regiões cerebrais onde ocorre a formação de novos neurônios, fenômeno chamado de neurogênese onde células precursoras localizadas na zona subgranular desta estrutura dão origem a novas CGs. (GOULD & GROSS, 2002; ERIKSSON, 1998). Um dos fatores capazes de estimular a neurogênese são as crises epiléticas, que também são capazes de provocar conexões aberrantes nestes novos neurônios (PARENT et al., 1997). As CGs recebem entradas sinápticas da via perforante do córtex entorrinal e seus axônios formam uma via unidirecional: as fibras musgosas, que inervam a região CA3 do CA e também as células do hilo (SERESS, 2007).

Dentre os efeitos do *SE* sobre as CGs jovens do GD estão as seguintes alterações morfológicas: encurtamento e estreitamento da arborização dendrítica (ARISI & GARCIA-CAIRASCO, 2007) e redução no número de espinhas dendríticas (MURPHY & DANZER, 2011). Além disso, os axônios dessas células, que em condições normais fariam sinapses com neurônios piramidais da região CA3 do hipocampo, perdem seu alvo original e terminam fazendo sinapses com outras CGs em um fenômeno chamado de brotamento de fibras musgosas (SUTULA et al., 1989; PARENT et al., 1997). Ocorre também a formação de dendritos basais decorrentes do *SE* nesses novos neurônios (RIBAK et al., 2000; SPIGELMAN et al., 1998; ARISI & GARCIA-CAIRASCO, 2007). As CGs também sofrem após *SE* alterações nos seus canais iônicos que serão melhores detalhadas a seguir.

1.2.1.1.1 *Canal rápido de sódio:*

Os canais de sódio existem na filogenia antes do aparecimento dos neurônios

(ZACON, 2012), surgindo ao longo da evolução paralelamente nos medusozoa e bilateria (LIEBESKIND, 2011). O canal de sódio é uma proteína transmembrânica composta de uma subunidade alfa grande e subunidades auxiliares betas menores. A subunidade alfa é um grande polipeptídeo organizado em 4 domínios, sendo que cada um consiste em 6 segmentos transmembrânicos (CATTERALL, 2000). Os domínios I, II, III são apontados como responsáveis pela ativação e o S4 do domínio IV pela inativação, assim como foi sugerido inicialmente no modelo de Hodgkin-Huxley m^3h . (CHUNG et al., 2007 p227).

Ellerkmann (2003) realizou um estudo com ratos que sofreram SE induzido por pilocarpina e encontrou redução da expressão das subunidades β_1 e β_2 e subunidades α $Na_v1.1$, $Na_v1.3$ e $Na_v1.5$, $Na_v1.6$ dos canais de sódio dependentes de voltagem. Em outro estudo foram encontradas alterações nos mRNA codificantes de canais de sódio em ratos neonatos após SE induzido por estimulação elétrica (ARONICA et al., 2001).

1.2.1.1.2 *Canais de potássio:*

Um canal de potássio completo consiste em quatro subunidades que juntas formam um tetrâmero simétrico (o canal de potássio 2P tandem pore é exceção), cada canal possuindo cada 8 ou 4 domínios transmembrânicos e um poro (BUCKINGHAM et al., 2005). Existem mais de 150 genes conhecidos (GOLDSTEIN et al., 2001) codificando mais de 150 variedades de canais de potássio, que podem ser classificados em alguns grupos: dependentes de voltagem (KV), dependentes de cálcio (KCa), inward rectifier (Kir) e tandem pore (2P) (CHUNG et al., 2007).

1.2.1.1.3 *Canais de potássio retificadores tardios lento e rápido (sKdr e fKdr):*

O termo retificador tardio é aplicado a diversos tipos de correntes de potássio com propriedades semelhantes (HILLE, 1984; RUDY, 1988), as correntes retificadoras tardias lentas (*sKdr*) são atribuídas as subunidades Kv1 e Kv2 e as correntes retificadoras tardias rápidas (*fKdr*) são atribuídas as subunidades Kv3.1 e Kv3.2. (MARTINA et al., 1998; RUDY 1999). Os canais retificadores tardios abrem com um pequeno atraso e se fecham lentamente

quando a membrana se hiperpolariza (CHUNG et al., 2007). Correntes retificadoras tardias podem ser observadas em todas as CGs (BECK, 1996), sendo que as do hipocampo parecem pertencer a um grupo de correntes retificadoras tardias de limiar alto, lentas e sensíveis a TEA (RUDY, 1988). Foi demonstrado que essas correntes são alteradas em processos patológicos de várias doenças neurológicas, como Alzheimer (Alonso et al., 2012) e epilepsia (MEIER et al., 2014). Um estudo realizado por Tsaur (1992) mostrou a redução da expressão de RNAs mensageiros de canais de potássio de retificação tardia no hipocampo após atividade epilética induzida por pentilenetetrazol em ratos.

1.2.1.1.4 Canal de potássio Tipo A:

Os canais de potássio tipo A são proeminentes no hipocampo de mamíferos (HOFFMAN et al., 1997). Estes canais contribuem para regulação da excitabilidade da membrana, definindo mecanismos fundamentais de funções neuronais como sinalização da dor (VALENTIN & LEONARD, 2009), também atenuando o início do potencial de ação e reduzem as sinapses excitatórias em dendritos CA1, modulando a excitabilidade neuronal (MARTINA et al., 1998; MIGLIORE et al. 1999). Canais tipo A da família Kv1 são expressas no hipocampo em terminais pré-sinápticos contribuindo para regulação da liberação dos neurotransmissores (DODSON & FORSYTHE, 2004) enquanto canais tipo A Kv4 somato-dendríticos fazem um papel dinâmico determinando a excitabilidade dendrítica (JOHNSTON et al., 2003). Esta corrente é caracterizada eletrofisiologicamente por uma inativação rápida seguida de despolarização (FALK et al 2003). A epilepsia afeta o comportamento deste canal: em um estudo realizado por Lugo (2009) foram encontrados a redução dos níveis de Kv4.2 nos sinaptossomas do hipocampo e na superfície das membranas sugerindo mecanismos adicionais para o decrescimento da corrente dendrítica tipo A o que pode levar a alterar a excitabilidade intrínseca da membrana durante o SE.

1.2.1.1.5 Canal de potássio dependente de Cálcio e de voltagem de grande condutância (BK):

O canal de potássio BK (big potassium channel) recebe esse nome devido a sua grande capacidade de condutância (CHUNG et al., 2007). Este canal é formado por quatro subunidades que estruturam o poro dos canais codificados por um único gene Slo1 (BUTLER et al., 1993; ADELMAN et al., 1992) Esses canais são abertos em resposta a ligação de cálcio a regiões localizadas na parte intracelular dos canais, e por potenciais que despolarizam a membrana (MARTY, 1981; PALLOTTA et al., 1981). Os canais BK contribuem para a repolarização do potencial de ação e pela rápida hiperpolarização e desta maneira influenciam a frequência de disparos (SHAO et al., 1999). Estes canais também são responsáveis por um componente inicial de rápida pós hiperpolarização (fast afterhyperpolarization, fAHP1) em alguns neurônios (BRENNER 2005). O hipocampo possui elevada expressão destes canais nas regiões do da via colateral de Schaffer's e nas fibras musgosas das células granulares do GD (HU et al., 2001; KNAUS et al., 1996). A ocorrência de SE produz modificações nesses canais, em um modelo de pilocarpina de epilepsia de lobo temporal de ratos epiléticos apresentaram uma redução de 47% de canais BK nas fibras musgosas quando comparados ao grupo controle não epilético (OTALORA et al., 2008).

1.2.1.1.6 Canal de potássio dependente de Cálcio de baixa condutância (SK):

O Canal de potássio dependente de cálcio de baixa condutância é seletivo para potássio, não depende de voltagem e é ativado pelo influxo de cálcio dos canais de potássio dependentes de voltagem (LANCASTER & ADAMS, 1986 apud BOND et al., 2004). Estes canais são complexos heteroméricos compostos por quatro subunidades que formam um poro com seis regiões transmembrânicas e possuem um sítio de ligação de cálcio formado por uma proteína calmodulina (TRIGLE, 2006). Eles são amplamente expressos no sistema nervoso

central contribuindo para o controle da excitabilidade neuronal (BOND et al., 2000; SAILER et al., 2002; STOCKER & PEDARZANI, 2000). São responsáveis pela adaptação da frequência em muitos neurônios (HILLE 2001, YAROM et al., 1985) e quando ativados produzem pós-hiperpolarização média (mAHP) e lenta pós-hiperpolarização (Sah, 1996), fenômenos envolvidos na plasticidade sináptica que possuem um importante papel na memória e aprendizado (STACKMAN et al., 2002).

Os canais SK são afetados por atividade epilética: em um estudo feito por Oliveira et al. (2010) em ratos modelo de epilepsia de lobo temporal utilizando pilocarpina encontraram expressão anormal dos canais de potássio de condutância lenta (SK) no hipocampo após SE.

1.2.1.1.7 Canais de cálcio dependentes de voltagem:

Os canais de cálcio dependentes de voltagem em membranas excitáveis são controlados por gatilhos dependentes de voltagem isto é sua cinética de abertura e fechamento como resultado das mudanças de potencial de membrana (REUTER, 1983). Existem, pelo menos, seis subtipos de canais de cálcio dependentes de voltagem que foram caracterizados e diferenciados por suas propriedades farmacologias e físicas, são designados como L, N, P, Q, R e tipo T (RANDALL, 1998). Os subtipos de canais de cálcio dependentes de voltagem, são composto por pelo menos 3 subunidades, a subunidade que forma o poro α_1 e a estrutural regulatória α_2 - δ e a subunidade β . (ISOM et al., 1994). Os canais de cálcio são conhecidos por ativar outros canais iônicos, controlar o formato e a duração de potenciais de ação e muitos outros processos (CHUNG et al 2007 p 240).

1.2.1.1.8 Canal de cálcio tipo L (Ca-N):

O canal de cálcio tipo L leva esse nome devido a grande condutância unitária ao cátion de bário (as correntes de bário através do canal de cálcio auxiliam a geração de um perfil dos canais mais distinto do que a de carreamento de cálcio) (Zamponi, 2005). Os canais tipo L são formados por subunidades Cav1.1, Cav1.2, Cav1.3 e Cav1.4 (Zamponi, 2005). Eles são

membros da família de canais de cálcio ativados por altas voltagens (HVA - high voltage activation type), pois são ativados por fortes despolarizações de 0 ou + 10mV e são de longa duração já que são lentos pra inativar. (Chung 2007 p 243). Apesar de serem ativados por despolarizações fortes a cinética de sua ativação é considerada lenta. (Mermelstein et al., 2000; Yasuda et al., 2003).

1.2.1.1.9 Canal de cálcio tipo T (Ca-T):

O canal de cálcio tipo T possui esse nome devido as suas correntes pequenas “tiny” ou “transient” transiente. (NOEBELS, 2012) Este canal é formado por subunidades Cav3.1, Cav3.2, Cav3.3 que são importantes para a repetição de potenciais de ação em neurônios do cérebro e no marca-passo do nodo sino atrial do coração. (PEREZ-REYES, 2003)

O canal de cálcio tipo T possui um limiar baixo de ativação e uma cinética rápida de inativação (HUGUENARD 1996) e são rapidamente ativados e inativados a -30mV, enquanto a maioria dos canais de cálcio tipo L não ativam nesse potencial (TRIGGLE, 2006) Assim como a maioria dos canais apresentados neste estudo esse também mostrou alterações decorrentes de atividade epilética. Um estudo utilizando modelo de epilepsia baseado em kindling mostrou o aumento de 50% das correntes transientes ativadas por altas voltagens (HVA) e em 80% de correntes ativadas por baixas voltagens (LVA) (FAAS et al., 1996). Outro estudo com modelo de epilepsia baseado em pilocarpina foi detectado o aumento da densidade de corrente de canal de cálcio tipo T tanto no tálamo quanto no hipocampo em uma patologia de canal adquirida após SE (GRAEF, 2009).

1.2.1.1.10 Canal de cálcio tipo N (Ca-N):

O canal de cálcio tipo N é formado por subunidade do tipo Cav2.2, ele é expresso exclusivamente em neurônios e células neuroendócrinas (Dubel et al., 1992). Possuem uma condutância intermediária a bário, e é ativado por altas voltagens (HVA) (Zamponi, 2005). Eles estão relacionados a transmissão espinhal de sinais de dor da periferia pra região central

do sistema nervoso (Gupta, 2001). Estudos eletrofisiológicos de células granulares do giro denteado obtidos em cirurgia de epilepsia em humanos e ratos que sofreram SE a densidade de corrente tipo N aumentou comparado ao grupo de ratos controles. Esses estudos sugerem que a epileptogênese hipocampal pode resultar na regulação positiva de densidade de correntes de cálcio (Beck et al., 1997, 1998).

1.3 *Hodking & Huxley*

O formalismo de Hodgkin & Huxley é um dos modelos mais importantes na neurociência computacional (IZHIKEVICH, 2007) sendo a base da maioria de modelos subsequentes de potenciais de ação e modelos de fluxo de corrente através de canais iônicos da membrana no sistema nervoso em geral (JAEGER & JUNG 2015). Ele reproduz adequadamente o comportamento de correntes registradas, e seus parâmetros são fáceis de se obter através de dados experimentais (SCHUTTER, 2009). Modelos baseados nele garantem descrições macroscópicas das condutâncias e tem a vantagem de ser bem estudados e bem implementados (JAEGER & JUNG, 2015). O formalismo de Hodgkin & Huxley é um exemplo de como modelos computacionais podem revelar propriedades biológicas que não podem ser examinadas diretamente (Lytton, 2007).

Um dos primeiros modelos de excitabilidade de membrana foi proposto por Alan Hodgkin & Andrew Huxley através de uma série de experimentos realizados com o axônio gigante da lula do gênero *Loligo* (Lamarck, 1798) publicados em vários artigos na década de 50. Eles utilizaram grampos de voltagem para registrar correntes iônicas geradas em diferentes voltagens e a partir daí inferir como essas correntes poderiam ser moduladas dinamicamente por oscilações no potencial de membrana (SCHUTTER, 2010). Utilizando esses resultados experimentais eles propuseram um sistema de equações diferenciais ordinárias que sumarizaram e organizaram tais dados (CRONIN, 1987) elucidando como ocorria a propagação do potencial de ação ao longo de um axônio.

A membrana celular é uma bicamada lipídica que impede o fluxo de moléculas entre o meio externo e interno da célula isolando as duas regiões. Proteínas que atravessam essa camada, os canais iônicos permitem a passagem de íons de acordo com certos estímulos que

podem abrir ou fechar os portões dos seus poros, algumas dessas proteínas possuem esses poros permanentemente abertos. De uma maneira geral elas são extremamente seletivas e permitem apenas a passagem de íons específicos. Quando os canais se encontram abertos os íons fluem através de seu gradiente de difusão que segue a equação a seguir: a equação de Nerst. No equilíbrio o valor dessa diferença de potencial é dado pela equação de Nerst.

$$V_{eq} = V_{intracelular} - V_{extracelular} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[íon]_{intracelular}}{[íon]_{extracelular}} \quad (1)$$

Equação 1. Onde R é a constantes dos gases ideais (8.315 J/K.mol), T a temperatura absoluta (em kelvin), F a constante de Faraday ($9,648 \times 10^4$ C/mol), z é a valência do íon. E_{ion} é o potencial de reversão do íon ou potencial de Nerst ou ainda potencial de equilíbrio, $[íon]_{fora}$ é a contração do íon no meio extracelular, e $[íon]_{dentro}$ a concentração do íon no meio intracelular. V_{eq} é a voltagem equivalente, V_{dentro} é a voltagem no meio interno e V_{fora} a voltagem no meio externo.

Hodgkin e Huxley utilizaram esta equação para calcular o potencial de reversão dos íons através da membrana do axônio. O modelo de Hodgking-Huxey foi baseado na equação de membrana descrevendo 3 correntes iônicas em um compartimento isopotencial. (SCHUTTER, 2010).

$$C_m \frac{dV}{dt} = -g_{vaz}(V - E_{vaz}) - g_{Na}(V)(V - E_{Na}) - g_K(V)(V - E_K) \quad (2)$$

Equação 2. C_m é a capacitância da membrana, V é o potencial de membrana g_{vaz} é a condutância de vazamento, g_{Na} a condutância de sódio e g_K a condutância de potássio. E_{vaz} é o potencial de reversão da corrente de vazamento, E_{Na} o potencial de reversão da corrente de sódio e E_K potencial de reversão da corrente de potássio dados pela equação de Nerst. Esta é

uma representação útil para visualizar o comportamento do potencial da membrana em termos de circuito elétrico é chamada de circuito equivalente (Fig1.).

Figura 2. Circuito elétrico equivalente com 3 canais iônicos. C_m é a capacitância da membrana, G_{vaz} é a condutância de vazamento, G_K é a condutância de potássio e G_{Na} é a condutância de sódio. E_{vaz} é potencial de reversão da corrente de vazamento, E_K potencial de reversão do potássio e E_{Na} potencial de reversão do sódio, I é a corrente injetada, I_{Na} , I_K , I_{vaz} são respectivamente a corrente de sódio, corrente de potássio e corrente de vazamento, V_m é a voltagem da membrana, dentro faz referência a parte interna do neurônio e fora a parte externa (figura adaptada de Jaeger, 2015).

A membrana celular funciona como um capacitor isolando o meio externo e o meio interno do neurônio, mantendo diferentes concentrações iônicas nestas duas regiões. Os resistores são na sequência as condutâncias dos canais iônicos presentes na célula G_{vaz} é a condutância de vazamento (representa canais iônicos passivos), G_K é a condutância de potássio e G_{Na} é a condutância de sódio. Cada íon presente possui seu próprio potencial de reversão, representados pelas baterias E_{vaz} potencial de reversão da corrente de vazamento, E_K potencial de reversão do potássio e E_{Na} potencial de reversão do sódio. I é a corrente que pode ser injetada por um eletrodo ou gerada quando os íons fluem pelos canais iônicos cruzando membrana através do seu gradiente de concentração gerando uma corrente que pode carregar ou descarregar o capacitor. (JAEGER 2015)

O passo importante que Hodgkin & Huxley tomaram a partir dessa equação foi determinar como as condutâncias iônicas g_K e g_{Na} são dependentes do potencial de membrana (SCHUTTER, 2010). Essa explicação se deu através dos portões iônicos que posteriormente se confirmou com os estudos das estruturas moleculares dos canais iônicos.

$$\begin{aligned}
C_m \frac{dV}{dt} &= -g_{vaz}(V - E_{vaz}) - \bar{g}_{Na} m^3 h (V - E_{Na}) - \bar{g}_K n^4 (V - E_K) \\
\frac{dm}{dt} &= \alpha_m(V)(1 - m) - \beta_m(V)m \\
\frac{dh}{dt} &= \alpha_h(V)(1 - h) - \beta_h(V)h \\
\frac{dn}{dt} &= \alpha_n(V)(1 - n) - \beta_n(V)n
\end{aligned} \tag{3}$$

Equação 3. Onde C_m é a capacitância da membrana, V a voltagem, g_{Na} é o máximo valor que a densidade de condutância do sódio pode atingir (densidade de condutância máxima do sódio), g_K é o máximo valor que a densidade de condutância do potássio pode atingir (densidade de condutância máxima do potássio), g_{vaz} é a densidade de condutância da corrente de vazamento, m é a variável de ativação do sódio, h é a variável de inativação do sódio, n é a variável de ativação do potássio e E_{Na} , E_K e E_{vaz} são os potenciais de reversão, respectivamente, de sódio, potássio e vazamento. m e n são variáveis de ativação e h variável de inativação elas variam em função do tempo e voltagem. As funções α e β são constantes de velocidades determinadas a partir dos dados experimentais obtidos em seus estudos (HODGKIN & HUXLEY, 1952).

1.3.1 *Modelo compartimental de Rall*

A abordagem compartimental de Rall (1962) é um método numérico que divide um sistema contínuo e com extensão espacial (Figura 2). Por exemplo um dendrito, em um número de segmentos pequenos o suficiente para que sejam considerados isopotenciais e espacialmente uniformes nas propriedades físicas, de maneira que as equações diferenciais parciais contínuas de modelos analíticos baseados na equação do cabo sejam substituídas por um

conjunto de equações diferenciais ordinárias (Equação 2). Como resultado as propriedades biofísicas variam de um compartimento para o outro, mas nunca dentro de um mesmo compartimento.

Figura 3. Ilustração da abordagem compartimental de Rall. **A** Modelo de neurônio reconstruído. **B.** Modelo de cabo para o neurônio, **C.** Modelo compartimental para o neurônio adaptado de (BOWER & BEEMAN, 2012.). A. Modelo de neurônio reconstruído. B. Modelo de cabo para o neurônio. C. Modelo compartimental para o neurônio. Cada compartimento é representado por um circuito elétrico equivalente com um único potencial de membrana (Rall, 1962).

2. *Materiais e métodos:*

2.1 *Células granulares:*

Os modelos computacionais das CGs foram elaborados a partir de modelos morfológicos reconstruídos tridimensionalmente de neurônios de ratos que sofreram *SE*. Esses modelos foram produzidos por Arisi & Garcia-Cairasco (2007), utilizando o software Neurolucida System (©MBF Bioscience, EUA) e disponibilizados para uso público na base de dados NeuroMorpho (neuromorpho.org). Os animais que forneceram os neurônios eram ratos machos de 6 a 7 semanas. o grupo controle recebeu injeção de solução salina e o grupo pilocarpina(PILO) recebeu uma injeção de 320 mg/kg de pilocarpina em dose única. Foram utilizados neste estudo 40 neurônios granulares, sendo 20 de ratos controle e 20 de ratos PILO, os neurônios nascido após SE apresentara alterações morfológicas nas suas árvores dendríticas. Dentre essas alterações foi observada maior ramificação dos dendritos apicais na camada granular e maior concentração de suas terminações na camada molecular, além de aumento em tamanho e número dos dendritos basais e perda de dendritos distais (ambos em relação ao soma) (Arisi & Garcia-Cairasco 2007)Fig 3.

Um estudo prévio realizado por Tejada et al. (2012) utilizando esses modelos morfológicos em conjunto com simulações computacionais indicou que as alteações morfológicas observadas por Arisi & Garcia-Cairasco (2007) nas células com morfologia alterada tornam esses neurônios menos excitáveis que aquelas células controle.

Para a construção dos modelos computacionais e das simulações dos neurônios foram utilizados 40 modelos de células granulares novas do giro denteado do hipocampo, (20 modelos do grupo CG-PILO) (20 modelos do grupo CG-controle).

Figura 4. Reconstruções tridimensionais das árvores dendríticas de células granulares do giro denteado do hipocampo com o auxílio do programa Neurolucida System (©MBF Bioscience, EUA) por Arisi & Garcia-Cairasco (2007). a) CG-controle. b) CG-controle. c) CG-PILO. d) CG-PILO. Dendritos apicais estão representados em verde e dendritos basais em roxo.

2.2 Ferramentas matemáticas e computacionais:

O programa NEURON (CARNEVALE & HINES, 2006) foi utilizado como ferramenta para a construção dos modelos computacionais neste trabalho. Este software é um ambiente para simulação de neurônios individuais e redes de neurônios, utilizado principalmente para desenvolvimento de modelos que tenham relações próximas aos dados experimentais (CARNEVALE & HINES 2006). Este software faz uso do formalismo de Hodgkin e Huxley e da abordagem compartimental de Rall (1962) para modelar neurônios (KOCH & SEGEV 1998; DAYAN & ABBOTT, 2001; STERRAT et al., 2011).

O neuro-simulador NEURON possui duas interfaces com o usuário, uma gráfica (GUI, *graphical user interface*) e a outra via texto que permite a utilização de linguagens de programação, análise de dados avançada e otimização do processamento (CARNEVALE & HINES, 2006). O neuro-simulador utiliza a linguagem de programação Hoc no seu interpretador, porém recentemente tornou-se possível utilizá-lo em combinação com a linguagem de programação Python. Esta é uma linguagem de programação de alto nível que confere muitas vantagens ao NEURON quando usada conjuntamente com ele, tornando-o uma ferramenta de programação flexível e permitindo a incorporação de instrumentos de

análise de dados como Scipy, análise estatística e o Matplotlib Lib para geração de gráficos. Matplotlib Lib é uma biblioteca baseada em Python, com funções semelhantes ao Matlab, sendo uma alternativa de software livre pra este, e que é utilizada para gerar gráficos 2D (HUNTER, 2007). O programa NEURON permite a integração dos modelos morfológicos tridimensionais com as propriedades biofísicas oriundas de trabalhos experimentais: como modelos matemáticos de canais iônicos e as propriedades passivas da membrana.

2.3 *Informações biofísicas:*

Os modelos das CGs-PILO e CGs-controle utilizadas neste trabalho têm suas propriedades biofísicas baseadas nos trabalhos de Aradi & Holmes, (1999); Aradi & Soltesz, (2002); Santhakumar et al., (2005); Tejada et al. (2012). Foram utilizados os mesmos valores dos parâmetros passivos da membrana (Tabela 1) e os mesmos números e tipos de modelos de canais iônicos apresentados por esses autores.

Parâmetro	Valor	Referência
C_m (soma)	1 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$	Aradi & Holmes (1999)
C_m (dendritos)	1,6 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$	Aradi & Holmes (1999)
R_a	210 Ωcm	Aradi & Holmes (1999)
R_m (soma)	40,000 Ωcm^2	Aradi & Holmes (1999)
R_m	25,000 Ωcm^2	Aradi & Holmes (1999)
Condutância de vazamento	0,00004 S/cm^2	Aradi & Holmes (1999)

Tabela 1. Parâmetros passivos utilizados no modelo

Os canais iônicos presentes nesse modelo computacional de CGs são: potássio de retificação tardia rápido ($I_{K_{DR}}$), canal de potássio de retificação tardia lenta ($I_{K_{DL}}$), canal de potássio de tipo A (I_{K_A}), canal de potássio dependente de voltagem e dependente de cálcio de alta condutância (BK), canal de potássio dependente de cálcio de baixa condutância (SK) e canais de cálcio dependentes de voltagem o canal de cálcio tipo T que é ativado por voltagens baixas (LVA: low-voltage-activated) e cálcio do tipo N e cálcio do tipo L que são ativados por voltagens altas (HVA: high-voltage activated) (ZAMPONI 2005). Esses canais estão

distribuídos pelos dois tipos de células (CGs-controle e CGs-PILO) segundo métodos descritos por Aradi & Holmes,(1999) (Figura 4).

Esta distribuição dos tipos de canais iônicos ao longo do neurônio ocorre de acordo com certos critérios de divisão da árvore dendrítica, ela é dividida em quatro regiões medidas a partir do soma de acordo com a ordem das bifurcações (Figura 4.): o segmento dendrítico entre o soma e a primeira bifurcação é considerado como camada celular granular (CCG); os segmentos dendríticos entre a primeira e a terceira bifurcação são considerados como proximais (Dep); os segmentos dendríticos entre a terceira e a quinta bifurcação são considerados como mediais (Dem); e os segmentos dendríticos além da quinta bifurcação são considerados como distais (Ded). Para cada uma dessas quatro regiões os nove canais iônicos possuem densidades máximas de condutância que dependem da região.

Figura 5. Desenho esquemático da árvore dendrítica de um neurônio ilustrando o método de segmentação em regiões dendríticas baseado na ordem das bifurcações ao longo de um ramo dendrítico a partir do soma. Definido por descritos por Aradi & Holmes (1999). As bifurcações são identificadas e numeradas segundo a ordem em que se apresentam em relação ao soma. Distribuição dos canais iônicos ao longo da árvore dendrítica. Soma: ocorre a presença dos canais de Na, fK_{DR} , sK_{DR} , KA, SK, BK, Ca-T, Ca-L, Ca-N. CCG ou camada celular granular estão presentes os canais Na, fK_{DR} , sK_{DR} , SK, BK, Ca-T, Ca-L, Ca-N. Dep, os dendritos proximais apresentam canais: Na, fK_{DR} , sK_{DR} , KA, SK, BK, Ca-T, Ca-L, Ca-N. Dem, os dendritos mediais possuem Na, fK_{DR} , sK_{DR} , BK, Ca-T, Ca-L, Ca-N. Dem, os dendritos distais têm canais de Na, fK_{DR} , sK_{DR} , BK, Ca-T, Ca-N.

As densidades máximas de condutância para tipos de canal iônicos seguem os valores

indicados na Tabela 2 definidos e anteriormente empregado por Aradi & Holmes (1999) esses valores são utilizados nos dois grupos de modelos computacionais de células CGs-controle e CGs-PILO (ver Tabela 1).

Densidades de canal em uma célula normal em mS/cm ²					
	Soma	CCG	Dep	Dem	Ded
Na	120	18	13	8	0
fKDR	16	4	4	1	1
sKDR	3	3	3	3	4
KA	12	0	0	0	0
Ca tipo T	0,15	0,3	1	2	2
Ca tipo N	2	3	1	1	1
Ca tipo L	10	15	15	1	0
BK	0,3	0,3	0,5	1,2	1,2
SK	0,5	0,2	0,1	0	0

Tabela 2. Densidades de condutância máxima das correntes iônicas para os modelos de células granulares utilizados nos grupos CGs-controle e CGs-PILO. **CCG** camada celular granular, **Dep**: dendrito proximal, **Dem** dendrito medial, **Ded** dendrito distal (Aradi & Holmes, 1999).

2.3.1 Modelos matemáticos dos canais:

As correntes iônicas utilizadas nos modelos de CGs são baseadas em equações matemáticas construídas com base em trabalhos experimentais, isso define as propriedades dos canais iônicos em questão levando em considerações suas variáveis de ativação e inativação e a cinética dos canais. Estas equações são incorporados ao modelo computacional através do Software NEURON e fazem parte

2.3.1.1. Corrente rápida de sódio (Na)

A corrente rápida de sódio é descrita pela seguinte equação baseada nos trabalhos de Yuen and Durand (1991) e Aradi & Holmes (1999).

$$\begin{aligned} I_{Na} &= G_{Na}(V,t) * (V - E_{Na}), \quad E_{Na} = 45 \text{ mV} \\ G_{Na}(V,t) &= g_{Na}^{max} * m^3(V,t) * h(V,t) \\ \alpha_h(V) &= -0.3(V - 25) / (e^{(V - 25)/-5} - 1) \\ \beta_h(V) &= 0.3(V - 53) / (e^{(V - 53)/5} - 1) \\ \alpha_m(V) &= 0.23 / e^{(V - 3)/20} \\ \beta_m(V) &= 3.33 / (e^{(V - 3)/20} + 1) \end{aligned} \tag{4}$$

Equação 4. Equação matemática que modela a corrente de sódio rápida. G_{Na} é a condutância de sódio, V é a voltagem, E_{Na} é o potencial de reversão do canal de sódio, g_{Na}^{max} é a condutância máxima do canal de sódio, t é o tempo, m é a variável de ativação do canal de sódio, h é variável de inativação do canal de sódio.

2.3.1.2. Corrente de potássio retificadora tardia lenta (sKdr)

A corrente retificadora tardia lenta (sK_{DR}) é descrita pela seguinte equação, sua descrição cinética foi adaptada do trabalho de Yuen & Durand (1991) por Aradi & Holmes (1999).

$$\begin{aligned}
I_{sK_{DR}} &= G_{sK_{DR}}(V, t) * (V - E_{sK_{DR}}), \quad E_{sK_{DR}} = -85 \text{ mV} \\
G_{sK_{DR}}(V, t) &= g_{sK_{DR}}^{max} * n_s^4(V, t) \\
\alpha_{n_s}(V) &= -0.028(V - 35) / (e^{(V - 35)/-6} - 1) \\
\beta_{n_s}(V) &= 0.1056 / (e^{(V - 10)/40})
\end{aligned} \tag{5}$$

Equação 5. Equação matemática que modela a corrente de potássio do canal retificador tardio lento (sKDR). G_{sKDR} é a condutância de potássio, V é a voltagem, E_{sKDR} é o potencial de reversão do canal de potássio, g_{sKDR}^{max} é a condutância máxima do canal sKDR, t é o tempo, n é a variável de ativação do canal de potássio. (Yuen & Durand, 1991; Aradi & Holmes, 1999.)

2.3.1.3. *Corrente retificadora tardia rápida (fKdr)*

A corrente retificadora tardia lenta (fK_{DR}) é descrita pela seguinte equação, sua descrição cinética foi assim como a equação anterior também foi adaptada do trabalho de Yuen & Durand (1991) por Aradi & Holmes (1999).

$$\begin{aligned}
I_{fK_{DR}} &= G_{fK_{DR}}(V, t) * (V - E_{fK_{DR}}), \quad E_{fK_{DR}} = -85 \text{ mV} \\
G_{fK_{DR}}(V, t) &= g_{fK_{DR}}^{max} * n_f^4(V, t) \\
\alpha_{n_f}(V) &= -0.07(V - 47) / (e^{(V - 47)/-6} - 1) \\
\beta_{n_f}(V) &= 0.264 / (e^{(V - 22)/40})
\end{aligned} \tag{6}$$

Equação 6. Equação matemática que modela a corrente de potássio do canal retificador tardio rápido (fKDR). G_{sKDR} é a condutância de potássio, V é a voltagem, E_{fKDR} é o potencial de reversão do canal de potássio, g_{fKDR}^{max} é a condutância máxima do canal fKDR, t é o tempo, n é a variável de ativação. (Yuen & Durand 1991 Aradi & Holmes 1999).

2.3.1.4. Corrente de potássio tipo A (KA)

A corrente de potássio tipo A é descrita pela seguinte equação fornecida pelo trabalho de Aradi & Holmes (1999). Seus mecanismos de ativação e inativação foram adaptados por eles a partir do trabalho de Warman et al. (1994). Segundo Storm, 1990 esse canal é responsável por provocar um atraso de 100ms ou mais no início de um potencial de ação, com isso aumentando o limiar de excitação e modulando a parte inicial do potencial de ação.

$$\begin{aligned}
 I_{KA} &= G_{KA}(V,t) * (V - E_{KA}), \quad E_{KA} = -85 \text{ mV} \\
 G_{KA}(V,t) &= g_{KA}^{max} * k(V,t) * l(V,t) \\
 \alpha_k(V) &= -0.05(V + 25) / (e^{(V+25)/-15} - 1) \\
 \beta_k(V) &= 0.1(V + 15) / (e^{(V-15)/8} - 1) \\
 \alpha_l(V) &= 0.00015 / e^{(V-13)/15} \\
 \beta_l(V) &= 0.06 / (e^{(V+68)/-12} + 1)
 \end{aligned} \tag{7}$$

Equação 7. Equação matemática que modela a corrente de potássio tipo A (KA). G_{KA} é a condutância de potássio, V é a voltagem, E_{KA} é o potencial de reversão do canal de potássio, g_{KA}^{max} é a condutância máxima do canal KA, t é o tempo, k é a variável de ativação deste canal de potássio e l a variável de inativação (Yuen & Durand 1991 Aradi & Holmes 1999)

2.3.1.5. Canais de cálcio

Correntes de cálcio dos tipos Ca-T, Ca-L e Ca-N encontradas nas CG do DG de ratos (Blaxter et al., 1989) também foram encontrados em neurônios de humanos adultos indicado uma base para que sejam feitas comparações com modelos animais de epilepsia e assim contribuindo para entender mecanismos de ação de drogas utilizadas em doenças humanas (BECK et al., 1997).

2.3.1.6. Calculo da concentração de cálcio:

A concentração de cálcio no modelo é calculada para cada compartimento dando a taxa de

entrada de corrente de cálcio e sua remoção. A taxa de mudança da concentração do cálcio intracelular é dada pela seguinte equação:

$$\boxed{\frac{d[Ca^{2+}](t)}{dt} = B \sum_{T,N,L} I_{Ca} - \frac{[Ca^{2+}](t) - [Ca^{2+}]_0}{\tau}} \quad (8)$$

Equação 8. Onde $B=5.2 \cdot 10^{-6}$ mols para uma cobertura de área A com a espessura de 0.2 μm e taxa de remoção de cálcio de $\tau = 9$ ms (Yuen and Durand, 1991). A concentração de repouso de cálcio é de $[Ca^{2+}]_0 = 70$ (Aradi & Holmes, 1999)

O potencial de reversão de cálcio é calculado a cada passo de tempo com a equação de Nerst para acomodar as mudanças da força motriz durante mudanças na concentração de cálcio intracelular. A concentração de cálcio intracelular é calculada como um compartimento estreito bem junto a membrana celular para cada compartimento dando um corrente de entrada de cálcio e corrente de remoção. A taxa de mudança da concentração intracelular de cálcio é dada por:

2.3.1.7. *Corrente de cálcio tipo T:*

A corrente de cálcio tipo T é descrita pela seguinte equação baseada descrita pelo trabalho de Aradi & Holmes (1999).

$$\boxed{\begin{aligned} I_{CaT} &= G_{CaT}(V,t) * (V - E_{CaT}) \\ G_{CaT}(V,t) &= g_{CaT}^{max} * a^2(V,t) * b(V,t) \\ \alpha_a(V) &= 0.2(19.26 - V) / (e^{(19.26 - V)/10} - 1) \\ \beta_a(V) &= 0.009 e^{-V/22.03} \\ \alpha_b(V) &= 10^{-6} e^{-V/16.26} \\ \beta_b(V) &= 1 / (e^{(29.79 - V)/10} + 1) \end{aligned}} \quad (9)$$

Equação 9. Equação matemática que modela a corrente de cálcio tipo T, G_{CaT} é a condutância de cálcio tipo T, V é a voltagem, E_{CaT} é o potencial de reversão do canal de cálcio, g_{CaT}^{max} é a condutância máxima do canal de cálcio, t é o tempo, a é a variável de ativação do canal de cálcio, b é variável de inativação do canal.

2.3.1.8. *Corrente de cálcio tipo N*

A corrente de cálcio tipo N é descrita pela seguinte equação também descrita pelo trabalho por Aradi & Holmes (1999).

$$\begin{aligned}
 I_{CaN} &= G_{CaN}(V, t) * (V - E_{CaN}) \\
 G_{CaN}(V, t) &= g_{CaN}^{max} c^2(V, t) * d(V, t) \\
 \alpha_c(V) &= 0.19(19.88 - V) / (e^{(19.98 - V)/10} - 1) \\
 \beta_c(V) &= 0.046 e^{-V/22.73} \\
 \alpha_d(V) &= 1.6 * 10^{-4} e^{-V/48.4} \\
 \beta_d(V) &= 1 / (e^{(39 - V)/10} + 1)
 \end{aligned} \tag{10}$$

Equação 10. Equação matemática que modela a corrente de cálcio tipo N, G_{CaN} é a condutância de cálcio tipo T, V é a voltagem, E_{CaN} é o potencial de reversão do canal de cálcio, g_{CaN}^{max} é a condutância máxima do canal de cálcio, t é o tempo, c é a variável de ativação do canal de cálcio, d é variável de inativação.

2.3.1.9. *Cálcio tipo L*

A corrente de cálcio tipo L é descrita pela seguinte equação baseada descrita pelo trabalho de Aradi & Holmes (1999).

$$\begin{aligned}
 I_{CaL} &= G_{CaL}(V, t) * (V - E_{CaL}) \\
 G_{CaL}(V, t) &= g_{CaL}^{max} e^2(V, t) \\
 \alpha_e(V) &= 15.69(81.5 - V) / (e^{(81.5 - V)/10} - 1) \\
 \beta_e(V) &= 0.29 e^{-V/10.86}
 \end{aligned}
 \tag{11}$$

Equação 11. Equação matemática que modela a corrente de cálcio tipo N, G_{CaL} é a condutância de cálcio tipo T, V é a voltagem, E_{CaL} é o potencial de reversão do canal de cálcio, g_{CaL}^{Max} é a condutância máxima do canal de cálcio, t é o tempo, e é a variável de ativação do canal de cálcio, d é variável de inativação.

2.3.1.10. *Corrente de potássio dependente de cálcio e de voltagem de alta condutância(BK)*

A equação da corrente do canal BK é baseada no trabalho de Aradi & Holmes (1999). que a adaptou de um estudo de De Schutter & Bower (1994):

$$\begin{aligned}
 I_{BK} &= G_{BK}(V, [Ca^{2+}], t) * (V - E_{BK}), \quad E_K - 85 mV \\
 G_{BK}(V, [Ca^{2+}], t) &= g_{BK}^{max} r(V, t) * s^2([Ca^{2+}]) \\
 \alpha_r(V) &= 7.5 \\
 \beta_r(V) &= 0.11 / e^{(V - 35)/14.9} \\
 s_{\infty} &= 1 / (1 + 4/[Ca^{2+}]) \\
 \tau_s &= 10
 \end{aligned}
 \tag{12}$$

Equação 12. Equação matemática que modela a corrente do canal BK. G_{BK} é a condutância do canal de potássio BK, V é a voltagem, E_K é o potencial de reversão do canal de potássio, g_{BK}^{Max} é a condutância máxima do canal BK, t é o tempo, r é a variável de ativação do canal. O símbolo τ é a constante de tempo de sítio de ativação, s é a variável de ativação e r variável de inativação.

2.3.1.11. *Corrente de potássio dependente de cálcio de baixa condutância*

A equação da corrente determina pelo canal SK utilizada provem de uma adaptação de Aradi & Holmes (1999) do trabalho de Yuen & Durand (1991).

$$\begin{aligned}
 I_{SK} &= G_{SK}([Ca^{2+}]) * (V - E_K), \quad E_K = -85 mV \\
 G_{SK}([Ca^{2+}]) &= g_{SK}^{max} * q^2([Ca^{2+}]) \\
 \alpha_q([Ca^{2+}]) &= 0.00246 / e^{(12 \log_{10}([Ca^{2+}]) + 28.48) / -4.5} \\
 \beta_q([Ca^{2+}]) &= 0.006 / e^{((12 \log_{10}([Ca^{2+}]) + 60.4) / 35)}
 \end{aligned}
 \tag{13}$$

Equação 13. Equação matemática que modela a corrente do canal SK. G_{SK} é a condutância do canal de potássio SK, V é a voltagem, E_K é o potencial de reversão do canal de potássio, g_{SK}^{Max} é a condutância máxima do canal SK, t é o tempo, q é constante de ativação do canal.

2.3.2. *Experimento in sílico:*

O objetivo das simulações e seus protocolos experimentais utilizados foi a análise da frequência média de disparos, valor da reobase e da cronaxia.

Para o cálculo da média da frequência de disparos foram realizadas 300 simulações para cada neurônio de cada grupo. Cada uma das simulações teve a duração de estímulo de 500 ms e um grampo de voltagem localizado no soma injetando uma corrente de 0.1 nA. Para cada simulação era alterado o valor da densidade máxima de condutância de um determinado canal, o valor estabelecido como padrão do normal celular foi multiplicado por um fator γ que

variou de 0 a 3 em intervalos de 0.01. Esse fator multiplicou os valores específicos de condutância para cada região do neurônio, respeitando as diferentes valores de densidade máxima de condutância, no soma, camada celular granular (CCG), dendrito proximal dendrito medial (Dem), dendrito distal (Ded) como o exemplo do canal de sódio da Tabela 3. Essa análise foi realizada para cada um dos nove canais presentes neste modelo. Segue o exemplo para o canal rápido de sódio, na Tabela3.

Canal sódio	Simulação	Simulação nº1	Simulação nº50	Simulação nº100	Simulação nº150	Simulação nº200	Simulação nº250	Simulação nº300
	Valor do fator γ	0	0,5	1	1.5	2	2.5	3
Densidade máxima de condutância do canal de sódio para cada região da CG	Soma	0	0,06 S/cm ²	0,12 S/cm ²	0,18 S/cm ²	0,24 S/cm ²	0,3 S/cm ²	0,36 S/cm ²
	CCG	0	0,009 S/cm ²	0,018 S/cm ²	0,027 S/cm ²	0,036 S/cm ²	0,045 S/cm ²	0,054 S/cm ²
	Dep	0	0,0065 S/cm ²	0,013 S/cm ²	0,0195 S/cm ²	0,026 S/cm ²	0,0325 S/cm ²	0,039 S/cm ²
	Dem	0	0,004 S/cm ²	0,008 S/cm ²	0,012 S/cm ²	0,016 S/cm ²	0,02 S/cm ²	0,024 S/cm ²
	Ded	Não possui	Não possui	Não possui	Não possui	Não possui	Não possui	Não possui

Tabela 3. Valores de densidade máxima de condutância do canal de sódio para cada fator XX, ao longo dos diferentes regiões do neurônio, soma, camada celular granular (CCG), dendrito proximal (Dep), dendrito medial (Dem), dendrito distal (Ded).

Para cada valor do fator γ as frequências médias de disparos foram comparadas entre os 2 grupos de neurônios CG-Pilo e CG-controle para determinar se a diferença entre os valores médios de frequencial de disparos é considerada estatisticamente significativa, para isso foi aplicado o teste T, para $p < 0,05$.

O valor mínimo de corrente suficiente para evocar um disparo em um neurônio, em tempo “infinito” ou longo é chamado de reobase, e o tempo necessário para que um estímulo com o dobro do valor da reobase provoque um potencial de ação é chamado de cronaxia (ERMENTROUT, 2010). Esses dois valores são inversamente proporcionais, quanto maior o valor da reobase menor o valor da cronaxia (GEDDES, 1985), quanto mais fracos o pulso de corrente para estimular a célula maior a latência para que ocorra o primeiro potencial de ação (IZHIKEVICH, 2007). O valor de reobase é utilizado em muitos estudos como parâmetro para avaliar a excitabilidade celular.

Os protocolos para reobase e cronaxia foram semelhantes ao utilizado para o calculo

da frequência de disparos, foram realizadas 30 simulações de reobase para cada neurônio do grupo CG-PILO e CG-controle. Ao longo dessas 30 simulações foram variados os valores de densidade máxima de condutância para cada tipo de canal e para cada região específica do neurônio. A densidade máxima de condutância padrão foi multiplicada por um fator que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. As médias dos valores de reobase para o grupo CG-PILO e CG-controle foram comparadas utilizando o teste T com $\alpha < 0,05$. O mesmo procedimento se repetiu para o cálculo da cronaxia.

As simulações foram construídas no neuro-simulador NEURON, utilizando a linguagem Python como auxiliar nos protocolos de estimulação, a biblioteca Numpy para a manipulação dos dados e o Scipy para a análise estatística e Matplotlib foi utilizada para geração dos gráficos. As simulações foram construídas e executadas nos computadores do Laboratório de Sistemas Neurais (SisNe) do Departamento de Física da FFCLRP-USP.

3 *Resultados*

3.1 *Células granulares:*

Figura 6. Gráfico de voltagem pelo tempo dos neurônios das células granulares sujeitas a uma simulação de 0.1 nA e 150 ms de duração. A, B, C e D são de neurônios do grupo controle respectivamente n01, n03, n05 e n07. Os gráficos F, G, H e I pertencem ao grupo PILO respectivamente n11, 13, 15 e 17.

Os comportamentos eletrofisiológicos característicos das células granulares foram reproduzidos por todas as células modeladas computacionalmente nesse trabalho. Entre as características apresentadas estão a presença de disparos seguidos de despolarização pós potencial (DAP), hiperpolarização de longa duração (AHP), além dos seus trens de disparos apresentarem adaptação (Fournier 1984; Franck 1995). Para isso foram realizadas simulações de 500ms de duração e 0.1 nA de corrente de estimulação com o grampo de voltagem localizado no soma. Esse resultado mostrou que o modelo foi capaz de reproduzir as características destes neurônios de forma eficiente.

Figura 7. Gráficos de voltagem pelo tempo, para várias simulações de 2 nA e 0.5 ms de duração mostrando potenciais de ação de acordo com a variação do valor de densidade de condutância de um canal multiplicada por um fator que varia de 0 a 3 a passos de 0.1. As cores mais próxima do vermelho moram densidades de condutância maiores e próximas do preto menores. Sendo eles **A** Na, **B** Ca-L, **C** fKDR, **D** Ca-T, **F** sKDR, **G** Ca-N, **H** K, **I** Ka.

3.1.1 Canal de sódio (Na):

Figura 8. Dois grupos de células granulares CG-PILO (esferas azuis) e CG-control (quadrados vermelhos) foram submetidos a diversas simulações, os neurônios receberam um pulso de corrente de 0.1nA no soma durante 500ms para cada uma com o objetivo de avaliar três parâmetros de excitabilidade: médias das frequências de disparos, reobase e cronaxia. Os triângulos verdes marcam os valores de γ onde houve diferença significativa entre as médias dos parâmetros avaliados nos grupos CG-PILO e CG-control. Foi utilizado o teste t de student com $\alpha < 0.05$. **A** Frequência média de disparos em (Hz), os valores de densidade máxima de condutâncias originais de sódio para cada uma das regiões do neurônio foi multiplicado por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,01 em 300 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância. **B** Média de valores de reobase em nA em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de sódio para cada uma das regiões do neurônio foi multiplicado por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **C** Média de valores de cronaxia em ms em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de sódio para cada uma das regiões do neurônio foi multiplicado por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1.

Os grupos CG-PILO e CG-control apresentam um crescimento das médias de frequências de disparos com o aumento da densidade máxima de condutância de sódio para os valores iniciais de γ com o pico entre $0,5 < \gamma < 1$, após esse valor as médias de frequência de disparos decaem. O CG-control apresentou uma média de frequência de disparos maior para praticamente todos os valores de γ , porém essa diferença foi significativa apenas entre os valores de $0,5 < \gamma < 1$.

O aumento da densidade máxima de condutância de sódio causou a redução das médias de reobase nos dois grupos de CGs. O grupo CG-Pilo apresentou valores médios de reobase maiores e com diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo CG-control em todas as simulações realizadas para todos os valores de γ .

Os valores de cronaxia apresentados nesse gráfico mostram o aumento do valor das

médias de cronaxia com a elevação do valor de densidade máxima de condutância de sódio para os dois grupos de CG. Os valores de cronaxia do grupo CG-controle apresentou valores de médias de cronaxia maiores em relação ao CG-PILO na maioria das simulações, sendo essa diferença significativa para valores $\gamma > 1$.

3.1.2 Canal de potássio de retificação tardia lento (sK_{DR}) e canal de potássio de retificação tardia rápido (fK_{DR}):

Figura 9. Dois grupos de células granulares CG-PILO (esferas azuis) e CG-controle (quadrados vermelhos) foram submetidos a diversas simulações, os neurônios receberam um pulso de corrente de 0.1nA no soma durante 500ms para cada uma com o objetivo de avaliar três parâmetros de excitabilidade: médias das frequências de disparos, rebase e cronaxia. Os triângulos verdes marcam os valores de γ onde houve diferença significativa entre as médias dos parâmetros avaliados nos grupos CG-PILO e CG-controle. Foi utilizado o teste t de student com $\alpha < 0.05$. **A** Frequência média de disparos em (Hz), os valores de densidade máxima de condutâncias originais de sK_{DR} para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,01 em 300 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância. **B** Média de valores de rebase em nA em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de sK_{DR} para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **C** Média de valores de cronaxia em ms em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de sK_{DR} para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **D** Frequência média de disparos em (Hz), os valores de densidade máxima de condutâncias originais de fK_{DR} para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1.

em passos de 0,01 em 300 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância. **E** Média de valores de reobase em nA em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de fK_{DR} para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **F** Média de valores de cronaxia em ms em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de fK_{DR} para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1.

O gráfico de média de frequências de disparos do canal FKDR mostra o aumento da frequência de disparos com crescimento do valor de densidade máxima de condutância desse canal, o grupo CG-controle possui valores médios de frequência de disparo maiores que o grupo CG-PILO ao longo de todas as simulações, entretanto essa diferença só passa a ser significativa acima do valor de $\gamma > 2$.

Os valores de reobase não se alteram para os dois grupos CGs com o aumento das densidades máximas de condutância fK_{DR} , sendo o grupo CG-PILO apresenta valores maiores de reobase, esses valores são considerados estatisticamente significativos para todos os valores de γ .

Os valores de cronaxia do grupo CG-controle são maiores do que dos grupos CG-PILO para todos os valores γ , sendo que este último os valores decaem de forma mais acentuada do que o do primeiro porém as diferenças entre os grupos não são significativas para nenhum valor γ .

As médias de frequência de disparos para os dois grupos CG-PILO e CG-controle sofreu uma regulação positiva com o aumento do valor de γ . O grupo CG-controle apresentou valores de médias de frequência maiores em todas as simulações e essa diferença se mostrou significativa para valores de $\gamma < 0.25$.

Os valores de reobase dos grupos CG-PILO e CG-controle se mantiveram relativamente constantes com o aumento da condutância, sofrendo um leve aumento desse valor a partir de $\gamma=0.6$. O grupo CG-PILO apresentou valores maiores em todas as simulações porém essa diferença foi significativa apenas a partir de $\gamma > 0.7$.

Os valores médios de cronaxia dos grupos CG-PILO e CG-controle decresce com o aumento da densidade máxima de condutância do canal sK_{DR} . Este gráfico apresentou um fenômeno interessante, inicialmente o valor de cronaxia do grupo CG-PILO é maior que o do grupo CG-controle porém após o valor de $\gamma=1.6$ essa situação se inverte e o valor do grupo CG-controle se torna maior do grupo pilocarpina, porém não são encontradas diferenças significativas entre os valores dos 2 grupos nessas simulações.

3.1.4 Canal de potássio tipo A (KA):

Figura 10. Dois grupos de células granulares CG-PILO (esferas azuis) e CG-control (quadrados vermelhos) foram submetidos a diversas simulações, os neurônios receberam um pulso de corrente de 0.1nA no soma durante 500ms para cada uma com o objetivo de avaliar três parâmetros de excitabilidade: médias das frequências de disparos, reobase e cronaxia. Os triângulos verdes marcam os valores de γ onde houve diferença significativa entre as médias dos parâmetros avaliados nos grupos CG-PILO e CG-control. Foi utilizado o teste t de student com $\alpha < 0.05$. **A** Frequência média de disparos em (Hz), os valores de densidade máxima de condutâncias originais KA para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,01 em 300 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância. **B** Média de valores de reobase em nA em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de KA para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **C** Média de valores de cronaxia em ms em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de KA para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1.

Os valores médios de reobase apresentaram um acréscimo com o aumento da densidade máxima de condutância de SK nos dois grupos de CGs, sendo que o CG-PILO apresentou valores maiores que o grupo CG-control para todos os valores de γ sendo essa diferença estatisticamente significativa para valores de $0 < \gamma < 1.5$ aproximadamente.

O gráfico de médias de frequências de disparos do canal KA apresenta um decaimento da frequência com o aumento dos valores das densidades máximas de condutância desse canal para os dois grupos de CG. Não há diferença significativa entre as médias de frequência de disparos dos grupos CG-PILO e CG-control.

Os dois grupos de CGs apresentam redução valores médios de cronaxia com o aumento da densidade máxima de condutância do canal KA. Inicialmente o grupo CG-control mostra valores de médios cronaxia maiores que o do grupo CG-PILO porém a situação se inverte a

partir de valores de $\gamma < 0,6$, então o grupo CG-PILO passa a ter valores maiores com uma diferença significativa entre os grupos para $2,2 < \gamma < 2,9$.

3.1.5 Canal de potássio dependente de cálcio e de voltagem de alta condutância (BK) e canal de potássio dependente de cálcio baixa condutância (SK):

Figura 11. Dois grupos de células granulares CG-PILO (esferas azuis) e CG-controle (quadrados vermelhos) foram submetidos a diversas simulações, os neurônios receberam um pulso de corrente de 0.1nA no soma durante 500ms para cada uma com o objetivo de avaliar três parâmetros de excitabilidade: médias das frequências de disparos, reobase e cronaxia. Os triângulos verdes marcam os valores de γ onde houve diferença significativa entre as médias dos parâmetros avaliados nos grupos CG-PILO e CG-controle. Foi utilizado o teste t de student com $\alpha < 0.05$. **A** Frequência média de disparos em (Hz), os valores de densidade máxima de condutâncias originais de BK para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,01 em 300 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância. **B** Média de valores de reobase em nA em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de BK para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **C** Média de valores de cronaxia em ms em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de BK para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **D** Frequência média de disparos em (Hz), os valores de densidade máxima de condutâncias originais de SK para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,01 em 300 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância. **E** Média de valores de reobase em nA em 30 simulações computacionais com diferentes valores de

densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de *SK* para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **F** Média de valores de cronaxia em ms em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de *SK* para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1.

As médias de frequência de disparos não são afetadas pelo aumento da densidade máxima de condutância do canal BK nos dois grupos de CG, elas se mantêm constantes. O grupo CG-PILO apresenta valores maiores de médias de frequência de disparos porém essa diferença em relação ao outro grupo não é significativa.

Os valores médios de reobase dos grupos CG-PILO e CG-controle não sofrem alterações com o aumento da densidade máxima de condutância do canal BK. O grupo CG-PILO apresenta valores maiores de médias de reobase e para todos os γ essa diferença em relação ao outro grupo é estatisticamente significativa.

As médias dos valores de cronaxia dos grupos CG-PILO e CG-controle não sofrem alterações com a intensificação da densidade máxima de condutância BK. O grupo CG-controle apresenta médias maiores para todos os valores de densidade de condutância.

O gráfico de médias das frequências de disparo canal de potássio SK apresenta uma redução nas médias de frequência com o aumento dos valores de condutância, comportamento que ocorre para os dois grupos CG-controle e CG-PILO sendo que o primeiro apresenta médias maiores para todos os valores de γ e estas diferenças são estatisticamente significativas para γ de 0 a 1,5 e para γ próximos a 3.

Os valores de reobase do gráfico de médias de frequência de disparos produzidas por alterações nas densidades máximas de condutância do canal SK não apresenta alterações nos valores de médias de reobase com o aumento da densidade de condutância, o grupo CG-PILO apresenta valores maiores que o grupo CG-controle para todos os valores de γ e esses valores são estatisticamente significantes.

Os valores de cronaxia apresentados pelo gráfico não se alteram com o aumento da densidade máxima de condutância do canal SK para os dois grupos de neurônios, o grupo CG-controle apresenta médias de cronaxia para todos os valores de γ porém essa diferença não é estatisticamente significativa.

3.1.7 Canais de cálcio: canal de cálcio tipo L (Ca-L), canal de cálcio tipo N (Ca-N) e canal de cálcio tipo T (Ca-T):

Figura 12. Dois grupos de células granulares CG-PILO (esferas azuis) e CG-control (quadrados vermelhos) foram submetidos a diversas simulações, os neurônios receberam um pulso de corrente de 0.1nA no soma durante 500ms para cada uma com o objetivo de avaliar três parâmetros de excitabilidade: médias das frequências de disparos, rebase e cronaxia. Os triângulos verdes marcam os valores de γ onde houve diferença significativa entre as médias dos parâmetros avaliados nos grupos CG-PILO e CG-control. Foi utilizado o teste t de student com $\alpha < 0.05$. **A** Frequência média de disparos em (Hz), os valores de densidade máxima de condutâncias originais de CA-L para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,01 em 300 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância. **B** Média de valores de rebase em nA em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de CA-L para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3

em passos de 0,1. **C** Média de valores de cronaxia em ms em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de *Ca-L* para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **D** Frequência média de disparos em (Hz), os valores de densidade máxima de condutâncias originais de *Ca-N* para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,01 em 300 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância. **E** Média de valores de reobase em nA em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de *Ca-N* para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **F** Média de valores de cronaxia em ms em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de *Ca-N* para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **G** Frequência média de disparos em (Hz), os valores de densidade máxima de condutâncias originais de *Ca-T* para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,01 em 300 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância. **H** Média de valores de reobase em nA em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de *Ca-T* para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1. **I** Média de valores de cronaxia em ms em 30 simulações computacionais com diferentes valores de densidade máxima de condutância para cada uma. Os valores de densidade máxima de condutâncias originais de *Ca-T* para cada uma das regiões do neurônio foram multiplicados por um fator γ que variou de 0 a 3 em passos de 0,1.

Os valores de médias das frequências de disparos do canal de cálcio tipo T decrescem com o aumento dos valores de densidade máxima de condutância nesse canal, os dois grupos de neurônios apresentam o mesmo comportamento e a diferença entre seus valores passa a ser estatisticamente significativa para $\gamma > 1,25$, com o grupo CG-controle apresentando sempre valores maiores em relação ao grupo CG-PILO. Os valores médios de reobase dos dois grupos de CGs grupos decrescem suavemente, com valores de diferença significativa entre eles para $0 < \gamma < 0,7$. O grupo CG-Pilo apresenta valores maiores em relação ao grupo CG-controle para todos os γ . Apesar dos valores de reobase terem um decréscimo suave, os valores de cronaxia para alterações na densidade máxima de condutância do canal CaT se mostraram mais acentuadas. O grupo CG-Pilo apresentou valores médios de cronaxia menores que o grupo CG-controle inicialmente, mas com o aumento da condutância a partir do valor de $\gamma > 0,5$ essa situação se inverte. A diferença de valores de média de cronaxia dos 2 grupos não se mostrou estatisticamente significativa para nenhum γ . As médias de frequências de disparos apresentadas pelas alterações na densidade máxima condutância do canal de cálcio tipo T mostram o decaimento dessas médias para os dois grupos CG-PILO e CG-controle com o aumento dos valores de γ . O grupo CG-controle apresenta médias maiores q o grupo CG-pilo para todos os valores de γ sendo essa diferença estatisticamente significativa apenas para valores entre $0 < \gamma < 0.2$.

Os valores de reobase se mantém constantes nos 2 grupos para todos os valores de γ , o CG-PILO apresenta valores maiores que o grupo CG-controle para todos os valores de

densidade máxima de condutância, e essa diferença é significativa em todos eles.

Os valores médios de cronaxia também se mantêm constantes com o aumento da densidade máxima de condutância do canal Ca-L nos dois grupos CG-PILO e CG-controle. O grupo CG-controle apresenta valores maiores para todos os γ porém essa diferença não é significativa.

As médias das frequências de disparos do grupo CG-PILO e CG-controle decaem com o aumento da densidade máxima de condutância do canal Ca-N, sendo que o grupo controle apresenta frequências maiores para todos os valores de γ sendo essas diferenças estatisticamente significativas para valores de γ entre 0 e 0,5.

Os valores médios de rebase apresentados são constantes para todos os valores de densidade máxima de condutância nos dois grupos de CG, o grupo CG-PILO apresenta valores maiores que o CG-controle e essa diferença é significativa para todos os γ .

Apesar dos valores médios de rebase praticamente não se alterarem com o aumento da densidade condutância do canal, o mesmo não ocorre para a cronaxia que aumenta seu valor nos dois grupos CG-PILO E CG-controle, sendo este último grupo apresenta valores maiores que o primeiro para a maioria dos valores de γ .

4 *Discussão:*

Para a maioria dos gráficos das médias de frequência de disparos em todos os canais apresentados (exceto KA) o grupo CG-controle apresentou médias maiores em relação ao grupo CG-PILO para todos os valores de γ . Essa diferença foi significativa para alguns valores de γ na maioria dos gráficos (Na: $0,41 < \gamma < 0,79$; Ca-T: $0 < \gamma < 3$; Ca-L $0 < \gamma < 0,16$; Ca-N: $0 < \gamma < 0,5$; SK $0 < \gamma < 1,5$ e $2,85 < \gamma < 3$; sK_{DR}: $0 < \gamma < 0,12$; fK_{DR}: $\gamma > 2$) porém não foram encontradas diferenças significativas para nenhum valor de γ nos gráficos de frequência de disparos do canal KA e canal BK. Isso sugere que os grupos de neurônios CG-PILO e CG-controle respondem as alterações de densidade máxima de condutância de alguns canais em faixas de valores específicas de maneiras distintas, no caso das médias de frequência de disparos. Quando usamos o parâmetro de frequência de disparos para determinar excitabilidade podemos dizer que os neurônios do grupo CG-controle são mais excitáveis do que o CG-PILO. Já os parâmetros de média de reobase e cronaxia apresentaram comportamentos diferentes.

A reobase é um parâmetro que avalia valor de corrente necessária em um tempo “longo” (neste protocolo foi utilizado 500 ms) para provocar 1 disparo no neurônio, o valor de cronaxia determina quanto tempo é necessário para que um neurônio dispare com um estímulo de corrente com o dobro do valor da reobase (ERMENTROUT, 2010). Os valores de cronaxia dependem do valor da reobase, as equações que determinam o valor de cronaxia e reobase normalmente mostram uma relação inversa entre eles, maiores valores de corrente (reobase) necessitam de tempos menores para que um disparo seja evocado e como consequência uma cronaxia menor, e valores menores de corrente necessitam de mais tempo resultando em valores maiores de cronaxia (GEDDES, 1985). Nos gráficos apresentados essa relação não foi exata, porém não houve nenhum caso de aumento de reobase com aumento de cronaxia, ou redução de reobase acompanhado de redução de cronaxia, mas em alguns casos a reobase se manteve estável e a cronaxia sofreu reduções (canais BK e fKDR). Isso significa que para as CGs testadas o aumento da densidade de condutância de determinados canais iônicos pode não alterar os valores médios de reobase, mas que isso pode ser acompanhado de alterações na cronaxia tanto para aumento quanto para redução. Sugere também que aumentos de reobase não são acompanhados de aumentos de cronaxia.

Todos os gráficos de valor de reobase apresentam o grupo CG-PILO com médias maiores que o grupo CG-controle para todos os valores de γ . Nos gráficos dos canais Ca-N, Ca-L, fKDR, BK e SK, existem diferenças significativas entre os 2 grupos para todos os valores de γ . Já para os canais Ca-T essa diferença ocorre de $0 < \gamma < 0,7$, Ka de $0 < \gamma < 1,4$ e no gráfico de reobase do canal sK_{DR} de $0 < \gamma < 0,7$. Esse parâmetro de excitabilidade se destacou em relação aos outros e indica que os neurônios do grupo CG-PILO quando usado a reobase como parametro possui uma excitabilidade significativamente menor que o grupo CG-controle independente do canal iônico testado e do valor da sua densidade máxima de condutância. Tal comportamento mostra que a reobase é o parâmetro de excitabilidade que exibe maior diferença de comportamento entre esses dois grupos de neurônios. Foi utilizado no protocolo experimental in silico os mesmos valores bases de densidade máxima de condutância dos canais estudados nos dois grupos de neurônios, assim a diferença entre eles é morfológica. Esse resultado indica que a morfologia é responsável pelas diferentes médias de reobase, vai ao encontro de trabalhos que observaram que as morfologias alteradas resultantes de SE tornam as células granulares menos excitáveis (TEJADA et al., 2012b).

O padrão apresentado pelas médias de reobase não se repetiu no caso dos valores de cronaxia. Os gráficos das médias de cronaxia apenas 2 canais apresentaram simulações com diferenças significativas entre os grupos CG-controle e CG-PILO para alguns valores de γ , sendo eles o canal KA ($2,3 < \gamma < 2,8$) e o canal Na ($1,3 < \gamma < 2,9$), todos os outros não obtiveram diferenças significativas. Nos canais Na, Ca-N, Ca-L, fK_{DR}, BK, SK o grupo CG-controle apresentou médias de cronaxia maiores para todos os valores de γ , apesar dessa diferença não ser significativa. Os canais Ka, CaT e sK_{DR} apresentaram inversão da posição de maior valor com o aumento da densidade máxima de condutância. Inicialmente o canal KA mostra valores do CG-controle maiores que o valor de CGs-PiLO porém após $\gamma > 0.6$ essa posição se inverte e o CG-PiLO passa a apresentar médias maiores. O canal sK_{DR} inicia o gráfico com valores de CG-PILO maiores que de CG-controle porém isso se inverte após o valor de $\gamma > 1.6$. O canal de cálcio tipo T os valores das médias de cronaxia do grupo CG-controle no começo do gráfico estão maiores porém após o valor de $\gamma > 0.6$ essa configuração se inverte.

O aumento da densidade de condutância dos canais Ka, CaT e sK_{DR} afetou o comportamento dos grupos CG-PiLO e CG-controle em relação ao parâmetro cronaxia de uma maneira que os seus perfis de excitabilidade se inverteram. Esse comportamento não foi observado nem na frequência (CG-controle possui valores maiores) de disparos nem na

reobase (CG-PILO possui valores maiores). Apesar da presença desse fenômeno a presença de poucos valores de diferença significativa sugere que o aumento da densidade de condutância da maioria dos canais iônicos presentes afetou os dois grupos de CG de maneira semelhante quanto aos valores de cronaxia.

As alterações nas densidades máximas de condutância afetam cada canal de maneira diferente, alterando seus parâmetros de excitabilidade de maneira independente. Nem sempre o aumento da frequência de disparos vem acompanhado de alterações na cronaxia e na reobase. O aumento da densidade máxima de condutância afeta a frequência de disparos e a reobase e a cronaxia de maneiras distintas o que nos levam a necessidade de estudos futuros para aprofundar o tema.

Alterações na densidade máxima de condutância do canal de sódio provocaram inicialmente um aumento na frequência média de disparos que entre o valor de $0,5 < \gamma < 1$, após esse valor se inicia um declínio que se estende até $\gamma = 3$. A reobase decresce e a cronaxia aumenta com o aumento da condutância. Alguns estudos anteriores encontraram um padrão semelhante nas frequências de disparos dos neurônios mediante a alteração da densidade máxima de condutância do canal de sódio. Kispersky et al. (2012) utilizando de 1000 modelos de neurônios de compartimento único, baseados em 7 condutâncias dependente de voltagem diferentes apresentou a redução do valor de reobase com o aumento da densidade máxima de condutância de sódio, e em curvas F1 valores baixos de corrente causaram o aumento no número de disparos, valores altos de correntes provocaram uma redução na frequência de disparos dos neurônios para valores triplicados da condutância do canal de sódio.

Gunay et al., (2008) produziu 633 modelos realistas de neurônios do globo pálido baseados em registros experimentais de células in vivo, esses modelos possuíam 9 variedades de condutância: 8 canais dependentes de voltagem e um dependente de cálcio: corrente de sódio rápida, corrente de sódio persistente, K_A , sK_{DR} , fK_{DR} corrente de potássio tipo M, corrente de potássio dependente de cálcio de baixa condutância (SK), de cálcio de ativação por altas voltagens (equivalente aos canais de cálcio L, N, P e Q) e HVC (condutor de cations modulado por nucleotídeos cíclicos ativado por hiperpolarização) induziu o aumento da densidade máxima de condutância do canal de sódio rápido e observou o aumento da frequência de disparos do valor padrão de condutância até o dobro do seu valor e a partir desse limite a frequência de disparos apresentou diminuição e também alterações no formato dos potenciais de ação.

Os dois estudos utilizaram modelos computacionais porém apenas o segundo utilizou modelos realistas e garantiu a robustez dos seus dados ao testá-los experimentalmente. Por não serem modelos de neurônios granulares poderia se descartar o uso destas comparações já que tipos de neurônios distintos possuem valores de densidade de condutância de canais diferentes, porém os modelos criados por Kispersky possuem densidades de condutâncias randômicas para os canais iônicos presentes em seus neurônios, assim seus resultados mostram que o comportamento observado é independente das combinações dos valores distintos de densidade máxima de condutância

Isso pode ser justificado pelo aumento da largura do potencial de ação. Quando o valor de densidade máxima de condutância de sódio aumenta, ocorre um maior período de despolarização e assim mais canais de sódio abertos por mais tempo, isso faz com que seja necessário mais tempo para a inativação dos canais de sódio abertos e para que a corrente de sódio se reduza o suficiente para que a corrente de potássio a compense e ocorra a polarização, assim o potencial de ação se alarga fig 7 A. O período maior de abertura dos canais de sódio produz uma maior ativação dos canais retificadores (sKDR e fKDR), esses canais possuem uma ativação e uma inativação mais lenta contribuindo também para o aumento da largura do potencial de ação e com isso a diminuição na frequência de disparos. A figura 7. A mostra esse efeito no modelo onde o aumento dos valores de densidade de condutância (em vermelho) produz um aumento na largura do spike enquanto a redução (tons que se aproximam do preto) produz uma diminuição.

O aumento da densidade máxima de condutância dos canais retificadores (sKDR e fKDR). acarreta a redução da largura do potencial de ação e com isso o aumento de frequência de disparos. O estudo realizado por Gunay 2008 descrito anteriormente também encontrou o aumento da frequência de disparos junto com o aumento dos valores de condutância do canal fK_{DR} , sendo esse efeito mais acentuado nos registros experimentais do que no modelo computacional. Ele sugere uma relação entre o canal fK_{DR} e o canal rápido de sódio onde o aumento da densidade de condutância de canal fK_{DR} aumentaria a efeito do canal de sódio aumentando a frequência de disparos.

Os gráficos de médias de frequência dos 3 canais de cálcio, Ca-L Ca-T e Ca-N apresentaram redução da frequência de disparos com o aumento da densidade máxima de condutância desses canais. As alterações nos valores de condutância do canal Ca-L modificou apenas os valores de médios frequência de disparos, já os valores de cronaxia e reobase se

mantiveram inalterados mesmo sobre essas mudanças, isso sugere que o principal efeito das alterações da densidade máxima de condutância deste canal é na modificação da frequência de disparos. Isso pode ser justificado pela redução da largura do potencial de ação como apresentado na fig 7 **B**, **D** e **F**. Esses resultados vão ao encontro de um estudo realizado por Gunay 2008 que constatou o decréscimo na frequência de disparos de neurônios com o aumento da densidade de condutância dos canais de cálcio tipo HVA (CaL e CaN).

Os canais de potássio tiveram comportamentos distintos em relação aos efeitos do aumento das densidades de condutância nos parâmetros estudados, o aumento das densidades máximas de condutância de fK_{DR} e sK_{DR} apresentaram aumento das médias de frequência de disparos para os dois grupos de CG. Já os canais K_a e SK exibiram uma redução nas médias das frequências e o canal BK não mostrou nenhuma alteração e manteve as frequências iguais para todos os valores de γ .

O canal SK não apresentou diferenças nos valores de reobase e cronaxia, apenas na frequência de disparos. Ou seja, as alterações na condutância desse canal afetam apenas a frequência de disparos não os outros parâmetros, ela diminui com aumento a condutância

Alterações na condutância do canal BK não apresentaram nenhum efeito sobre os parâmetros estudados nas simulações, os valores de frequência de disparos, reobase e cronaxia se mantiveram constantes para todos os valores de γ . Na literatura não o papel claro do aumento da condutância de BK não foi bem elucidado. Brenner, (2005) sugere que alterações na condutância deste canal pouco contribuem na determinação da frequência de disparos, já por Shao defende que o canal BK contribui com o processo de repolarização dos neurônios em células piramidais e que isso reflete em alterações na frequência dos disparos. Em outro estudo realizado por Faber & Sah (2002) com células da amígdala lateral do rato utilizou bloqueadores seletivos para os canais SK e BK . Os autores observaram que a redução dos valores de condutância desses canais não afetou frequência de disparos dos neurônios. Esses resultados da literatura são conflitantes indicando a necessidade de mais estudos para compreender a dinâmica desse canal.

O canal de potássio tipo SK apresentou uma redução das frequências de disparos com o aumento da densidade máxima de condutância nos 2 grupos de CG, com o aumento do valor da densidade máxima de condutância o potencial aparece deslocado um limiar de disparo menor enquanto a reobase e a cronaxia não sofreram alterações. Gunay (2008) encontrou que o aumento da densidade de condutância do canal SK reduz a frequência de disparos de

neurônios.

O canal de potássio KA apresentou um aumento dos valores médios reobase com o aumento das densidades máximas de condutância, redução dos valores de cronaxia e aumento na frequência de disparos. Gunay (2008) também encontrou uma relação negativa entre o aumento da condutância do canal de potássio KA e a frequência de disparos.

Este trabalho permite que novos estudos possam utilizar desses modelos computacionais e protocolos experimentais para novas investigações explorando especificamente determinados canais iônicos e contribuindo para compreensão da sua cinética.

5 *Conclusões:*

- Os neurônios utilizados no estudo CG-PILO e CG-controle apresentam modificações nas médias de reobase, cronaxia e média de disparos em resposta as simulações que provocaram aumento da densidade de condutância dos seus canais iônicos.
- Os grupos de CG-PILO e CG-controle apresentaram respostas significativamente diferentes aos aumentos das densidades máximas de condutância dos seus canais, em especial para valores de reobase, onde o grupo CG-PILO apresentou valores maiores, indicando menor excitabilidade. Valores maiores e significativamente diferentes de frequências de disparos foram encontrados para o grupo CG-Controle, para maioria dos canais iônicos em determinadas faixas de valores de densidade de condutância (Na: $0,41 < \gamma < 0,79$; Ca-T: $0 < \gamma < 3$; Ca-L $0 < \gamma < 0,16$; Ca-N: $0 < \gamma < 0,5$; SK $0 < \gamma < 1,5$ e $2,85 < \gamma < 3$; sK_{DR}: $0 < \gamma < 0,12$; fK_{DR}: $\gamma > 2$) indicando que este grupo apresenta maior excitabilidade em relação ao grupo CG-PILO. As médias de cronaxia apresentaram pouca diferença de valores significantes entre os grupos CG-PILO e CG-controle.

6 *Referências:*

- Adelman, J. P., Shen, K. Z., Kavanaugh, M. P., Warren, R. A., Wu, Y. N., Lagrutta, A., ... & North, R. A. (1992). Calcium-activated potassium channels expressed from cloned complementary DNAs. *Neuron*, 9(2), 209-216.
- Alonso, E., Fuwa, H., Vale, C., Suga, Y., Goto, T., Konno, Y., ... & Botana, L. M. (2012). Design and synthesis of skeletal analogues of gambierol: Attenuation of amyloid- β and Tau pathology with voltage-gated potassium channel and N-methyl-d-aspartate receptor implications. *Journal of the American Chemical Society*, 134(17), 7467-7479.
- Amaral, D. G. (1978). A Golgi study of cell types in the hilar region of the hippocampus in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 182(5), 851-914.
- Amaral, D. G., & Witter, M. P. (1989). The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience*, 31(3), 571-591.
- Amaral, D. G., Scharfman, H. E., & Lavenex, P. (2007). The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). *Progress in brain research*, 163, 3-790.
- Andersen, P., Morris, R., Amaral, D., Bliss, T., & OKeefe, J. (Eds.). (2006). *The hippocampus book*. Oxford University Press.
- Aradi, I., & Soltesz, I. (2002). Modulation of network behaviour by changes in variance in interneuronal properties. *The Journal of physiology*, 538(1), 227-251.
- Arisi, G. M., & Garcia-Cairasco, N. (2007). Doublecortin-positive newly born granule cells of hippocampus have abnormal apical dendritic morphology in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Brain research*, 1165, 126-134.

Aronica, E., Yankaya, B., Troost, D., Van Vliet, E. A., Da Silva, F. H. L., & Gorter, J. A. (2001). Induction of neonatal sodium channel II and III α -isoform mRNAs in neurons and microglia after status epilepticus in the rat hippocampus. *European Journal of Neuroscience*, 13(6), 1261-1266.

Ascoli, G. A., Donohue, D. E., & Halavi, M. (2007). NeuroMorpho. Org: a central resource for neuronal morphologies. *The Journal of Neuroscience*, 27(35), 9247-9251.

Bond, C. T., Sprengel, R., Bissonnette, J. M., Kaufmann, W. A., Pribnow, D., Neelands, T., ... & Knaus, H. G. (2000). Respiration and parturition affected by conditional overexpression of the Ca^{2+} -activated K^{+} channel subunit, SK3. *Science*, 289(5486), 1942-1946.

Bower, J. M., & Beeman, D. (2012). *The book of GENESIS: exploring realistic neural models with the GEneral NEural SIEmulation System*. Springer Science & Business Media.

Buckingham, S. D., Kidd, J. F., Law, R. J., Franks, C. J., & Sattelle, D. B. (2005). Structure and function of two-pore-domain K^{+} channels: contributions from genetic model organisms. *Trends in pharmacological sciences*, 26(7), 361-367.

Burgess, N., Maguire, E. A., & O'Keefe, J. (2002). The human hippocampus and spatial and episodic memory. *Neuron*, 35(4), 625-641.

Butler, A., Tsunoda, S., McCobb, D. P., Wei, A., & Salkoff, L. (1993). mSlo, a complex mouse gene encoding "maxi" calcium-activated potassium channels. *Science*, 261(5118), 221-224.

Carnevale, N. T., & Hines, M. L. (2006). *The NEURON book*. Cambridge University Press.

Catterall, W. A. (2000). From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. *Neuron*, 26(1), 13-25.

Chung, S. H., Anderson, O. S., & Krishnamurthy, V. V. (2007). *Biological membrane ion*

channels: dynamics, structure, and applications. Springer Science & Business Media.

Cronin, J. (1987). Mathematical aspects of Hodgkin-Huxley neural theory. *Pan*, 148, 678-683.

Saxena, A. K. (2012). *Hippocampal Microcircuits: A Computational Modeler S Resource Book*. Springer.

Dayan, P., & Abbott, L. F. (2001). *Theoretical neuroscience* (Vol. 806). Cambridge, MA: MIT Press.

Dayan, P., & Abbott, L. F. (2003). Theoretical neuroscience: computational and mathematical modeling of neural systems. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 15(1), 154-155.

Dodson, P. D., & Forsythe, I. D. (2004). Presynaptic K⁺ channels: electrifying regulators of synaptic terminal excitability. *Trends in neurosciences*, 27(4), 210-217.

Dubel, S. J., Starr, T. V., Hell, J., Ahljianian, M. K., Enyeart, J. J., Catterall, W. A., & Snutch, T. P. (1992). Molecular cloning of the alpha-1 subunit of an omega-conotoxin-sensitive calcium channel. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(11), 5058-5062.

Durand, D. (1984). The somatic shunt cable model for neurons. *Biophysical journal*, 46(5), 645.

Duvernoy, H. M. (2005). *The human hippocampus: functional anatomy, vascularization and serial sections with MRI*. Springer Science & Business Media.

Ellerkmann, R. K., Remy, S., Chen, J., Sochivko, D., Elger, C. E., Urban, B. W., ... & Beck, H. (2003). Molecular and functional changes in voltage-dependent Na⁺ channels following pilocarpine-induced status epilepticus in rat dentate granule cells. *Neuroscience*, 119(2), 323-333.

Eriksson, P. S., Perfilieva, E., Björk-Eriksson, T., Alborn, A. M., Nordborg, C., Peterson, D.

A., & Gage, F. H. (1998). Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature medicine*, 4(11), 1313-1317.

Ermentrout, G. B., & Terman, D. H. (2010). *Mathematical foundations of neuroscience* (Vol. 35). Springer Science & Business Media.

Faas, G. C., Vreugdenhil, M., & Wadman, W. J. (1996). Calcium currents in pyramidal CA1 neurons in vitro after kindling epileptogenesis in the hippocampus of the rat. *Neuroscience*, 75(1), 57-67.

Fisher, R. S., Boas, W. V. E., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., & Engel, J. (2005). Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*, 46(4), 470-472.

Fournier, E., & Crepel, F. (1984). Electrophysiological properties of dentate granule cells in mouse hippocampal slices maintained in vitro. *Brain research*, 311(1), 75-86.

Franck, J. E., Pokorny, J., Kunkel, D. D., & Schwartzkroin, P. A. (1995). Physiologic and morphologic characteristics of granule cell circuitry in human epileptic hippocampus. *Epilepsia*, 36(6), 543-558.

Geddes, L. A., & Bourland, J. D. (1985). The strength-duration curve. *Biomedical Engineering, IEEE Transactions on*, (6), 458-459.

Goldstein, S. A., Bockenhauer, D., O'Kelly, I., & Zilberberg, N. (2001). Potassium leak channels and the KCNK family of two-P-domain subunits. *Nature Reviews Neuroscience*, 2(3), 175-184.

Gould, E., & Gross, C. G. (2002). Neurogenesis in adult mammals: some progress and problems. *The Journal of Neuroscience*, 22(3), 619-623.

Graef, J. D., Nordskog, B. K., Wiggins, W. F., & Godwin, D. W. (2009). An acquired channelopathy involving thalamic T-type Ca²⁺ channels after status epilepticus. *The Journal*

of Neuroscience, 29(14), 4430-4441.

Gribkoff, V. K., & Kaczmarek, L. K. (Eds.). (2008). *Structure, function and modulation of neuronal voltage-gated ion channels*. John Wiley & Sons.

Günay, C., Edgerton, J. R., & Jaeger, D. (2008). Channel density distributions explain spiking variability in the globus pallidus: a combined physiology and computer simulation database approach. *The Journal of Neuroscience*, 28(30), 7476-7491.

Hauser, W. A., Rich, S. S., Lee, J. R. J., Annegers, J. F., & Anderson, V. E. (1998). Risk of recurrent seizures after two unprovoked seizures. *New England Journal of Medicine*, 338(7), 429-434.

Hines, M. L., & Carnevale, N. T. (1997). The NEURON simulation environment. *Neural computation*, 9(6), 1179-1209.

Hines, M. L., & Carnevale, N. T. (2001). NEURON: a tool for neuroscientists. *The Neuroscientist*, 7(2), 123-135.

Hu, H., Shao, L. R., Chavoshy, S., Gu, N., Trieb, M., Behrens, R., ... & Storm, J. F. (2001). Presynaptic Ca²⁺-activated K⁺ channels in glutamatergic hippocampal terminals and their role in spike repolarization and regulation of transmitter release. *The Journal of Neuroscience*, 21(24), 9585-9597.

Huguenard, J. R. (1996). Low-threshold calcium currents in central nervous system neurons. *Annual review of physiology*, 58(1), 329-348.

Hunter, J. D. (2007). Matplotlib: A 2D graphics environment. *Computing in science and engineering*, 9(3), 90-95.

Isom, L. L., De Jongh, K. S., & Catterall, W. A. (1994). Auxiliary subunits of voltage-gated ion channels. *Neuron*, 12(6), 1183-1194.

Izhikevich, E. M. (2007). *Dynamical systems in neuroscience*. MIT press.

Jaeger, D., & Jung, R. (2015). *Encyclopedia of Computational Neuroscience*. Springer Publishing Company, Incorporated.

Kelly, K. M., Ikonomic, M. D., Abrahamson, E. E., Kharlamov, E. A., Hentosz, T. M., & Armstrong, D. M. (2003). Alterations in hippocampal voltage-gated calcium channel $\alpha 1$ subunit expression patterns after kainate-induced status epilepticus in aging rats. *Epilepsy research*, 57(1), 15-32.

Kispersky, T. J., Caplan, J. S., & Marder, E. (2012). Increase in sodium conductance decreases firing rate and gain in model neurons. *The Journal of Neuroscience*, 32(32), 10995-11004.

Knaus, H. G., Schwarzer, C., Koch, R. O., Eberhart, A., Kaczorowski, G. J., Glossmann, H., ... & Sperk, G. (1996). Distribution of high-conductance Ca (2+)-activated K⁺ channels in rat brain: targeting to axons and nerve terminals. *The Journal of neuroscience*, 16(3), 955-963.

Koch, C., & Segev, I. (1998). *Methods in neuronal modeling: from ions to networks*. MIT press.

Laurberg, S., & Sørensen, K. E. (1981). Associational and commissural collaterals of neurons in the hippocampal formation (hilus fasciae dentatae and subfield CA3). *Brain research*, 212(2), 287-300.

Lugo, J. N., Barnwell, L. F., Ren, Y., Lee, W. L., Johnston, L. D., Kim, R., ... & Anderson, A. E. (2008). Altered phosphorylation and localization of the A-type channel, Kv4. 2 in status epilepticus. *Journal of neurochemistry*, 106(4), 1929-1940.

Koch, C., & Segev, I. (1998). *Methods in neuronal modeling: from ions to networks*. MIT press.

- Li, Y., Stam, F. J., Aimone, J. B., Goulding, M., Callaway, E. M., & Gage, F. H. (2013). Molecular layer perforant path-associated cells contribute to feed-forward inhibition in the adult dentate gyrus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(22), 9106-9111.
- Lothman, E. W., Bertram, E. H., & Stringer, J. L. (1991). Functional anatomy of hippocampal seizures. *Progress in neurobiology*, 37(1), 1-82.
- Lowenstein, D. H. (1999). Status epilepticus: an overview of the clinical problem. *Epilepsia*, 40(s1), s3-s8.
- Lu, R., Alioua, A., Kumar, Y., Eghbali, M., Stefani, E., & Toro, L. (2006). MaxiK channel partners: physiological impact. *The Journal of physiology*, 570(1), 65-72.
- Lytton, W. W. (2007). *From computer to brain: foundations of computational neuroscience*. Springer Science & Business Media.
- Martina, M., Schultz, J. H., Ehmke, H., Monyer, H., & Jonas, P. (1998). Functional and molecular differences between voltage-gated K⁺ channels of fast-spiking interneurons and pyramidal neurons of rat hippocampus. *The Journal of neuroscience*, 18(20), 8111-8125.
- Marty, A. (1981). Ca-dependent K channels with large unitary conductance in chromaffin cell membranes.
- Meier, J. C., Semtner, M., Winkelmann, A., & Wolfart, J. (2014). Presynaptic mechanisms of neuronal plasticity and their role in epilepsy. *Front Cell Neurosci*, 8, 164.
- Mermelstein, P. G., Bito, H., Deisseroth, K., & Tsien, R. W. (2000). Critical dependence of cAMP response element-binding protein phosphorylation on L-type calcium channels supports a selective response to EPSPs in preference to action potentials. *The Journal of Neuroscience*, 20(1), 266-273.

Migliore, M., Hoffman, D. A., Magee, J. C., & Johnston, D. (1999). Role of an A-type K⁺ conductance in the back-propagation of action potentials in the dendrites of hippocampal pyramidal neurons. *Journal of computational neuroscience*, 7(1), 5-15.

Monaghan, M. M., Menegola, M., Vacher, H., Rhodes, K. J., & Trimmer, J. S. (2008). Altered expression and localization of hippocampal A-type potassium channel subunits in the pilocarpine-induced model of temporal lobe epilepsy. *Neuroscience*, 156(3), 550-562.

Murphy, B. L., & Danzer, S. C. (2011). Somatic translocation: a novel mechanism of granule cell dendritic dysmorphogenesis and dispersion. *The Journal of Neuroscience*, 31(8), 2959-2964.

Nadler, J. V. (2003). The recurrent mossy fiber pathway of the epileptic brain. *Neurochemical research*, 28(11), 1649-1658.

Noebels, J., Avoli, M., Rogawski, M., Olsen, R., & Delgado-Escueta, A. (Eds.). (2012). *Jaspers basic mechanisms of the epilepsies*. Oxford University Press.

O'keefe, J., & Conway, D. H. (1978). Hippocampal place units in the freely moving rat: why they fire where they fire. *Experimental Brain Research*, 31(4), 573-590.

Otalora, L. F. P., Hernandez, E. F., Arshadmansab, M. F., Francisco, S., Willis, M., Ermolinsky, B., ... & Garrido-Sanabria, E. R. (2008). Down-regulation of BK channel expression in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Brain research*, 1200, 116-131.

Parent, J. M., Timothy, W. Y., Leibowitz, R. T., Geschwind, D. H., Sloviter, R. S., & Lowenstein, D. H. (1997). Dentate granule cell neurogenesis is increased by seizures and contributes to aberrant network reorganization in the adult rat hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 17(10), 3727-3738.

Parent, J. M. (2007). Adult neurogenesis in the intact and epileptic dentate gyrus. *Progress in*

brain research, 163, 529-817.

Parent, J. M., Elliott, R. C., Pleasure, S. J., Barbaro, N. M., & Lowenstein, D. H. (2006). Aberrant seizure-induced neurogenesis in experimental temporal lobe epilepsy. *Annals of neurology*, 59(1), 81-91.

Parent, J. M., Timothy, W. Y., Leibowitz, R. T., Geschwind, D. H., Sloviter, R. S., & Lowenstein, D. H. (1997). Dentate granule cell neurogenesis is increased by seizures and contributes to aberrant network reorganization in the adult rat hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 17(10), 3727-3738.

Perez-Reyes, E. (2003). Molecular physiology of low-voltage-activated t-type calcium channels. *Physiological reviews*, 83(1), 117-161.

Rall, W. (1962). Electrophysiology of a dendritic neuron model. *Biophysical journal*, 2(2 Pt 2), 145.

Rall, W. (1967). DISTINGUISHING THEORETICAL SYNAPTIC POTENTIALS COMPUTED FOR DIFFERENT SOMA-DENDRITIC DISTRIBUTIONS OF SYNAPTIC INPUT.

Randall, A. D. (1998). The molecular basis of voltage-gated Ca²⁺ channel diversity: is it time for T?. *The Journal of membrane biology*, 161(3), 207-213.

Rattay, F. (1990). *Electrical nerve stimulation*. Wien: Springer.

Ribak, C. E., Tran, P. H., Spigelman, I., Okazaki, M. M., & Nadler, J. V. (2000). Status epilepticus-induced hilar basal dendrites on rodent granule cells contribute to recurrent excitatory circuitry. *Journal of Comparative Neurology*, 428(2), 240-253.

Sagné, C., El Mestikawy, S., Isambert, M. F., Hamon, M., Henry, J. P., Giros, B., & Gasnier,

- B. (1997). Cloning of a functional vesicular GABA and glycine transporter by screening of genome databases. *FEBS letters*, 417(2), 177-183.
- Sah, P. (1996). Ca²⁺-activated K⁺ currents in neurones: types, physiological roles and modulation. *Trends in neurosciences*, 19(4), 150-154.
- Sailer, C. A., Hu, H., Kaufmann, W. A., Trieb, M., Schwarzer, C., Storm, J. F., & Knaus, H. G. (2002). Regional differences in distribution and functional expression of small-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels in rat brain. *The Journal of neuroscience*, 22(22), 9698-9707.
- Sankar, R., Shin, D., Liu, H., Katsumori, H., & Wasterlain, C. G. (2000). Granule cell neurogenesis after status epilepticus in the immature rat brain. *Epilepsia*, 41(s6), S53-S56.
- Santhakumar, V., Aradi, I., & Soltesz, I. (2005). Role of mossy fiber sprouting and mossy cell loss in hyperexcitability: a network model of the dentate gyrus incorporating cell types and axonal topography. *Journal of neurophysiology*, 93(1), 437-453.
- Schutter, E. D. (2009). *Computational modeling methods for neuroscientists*. The MIT Press.
- Schutter, E. D. (2009). *Computational modeling methods for neuroscientists*. The MIT Press.
- Seress, L. (2007). Comparative anatomy of the hippocampal dentate gyrus in adult and developing rodents, non-human primates and humans. *Progress in brain research*, 163, 23-798.
- Shao, L. R., Halvorsrud, R., Borg-Graham, L., & Storm, J. F. (1999). The role of BK-type Ca²⁺-dependent K⁺ channels in spike broadening during repetitive firing in rat hippocampal pyramidal cells. *The Journal of Physiology*, 521(1), 135-146.
- Soriano, E., & Frotscher, M. (1989). A GABAergic axo-axonic cell in the fascia dentata controls the main excitatory hippocampal pathway. *Brain research*, 503(1), 170-174.

Spigelman, I., Yan, X. X., Obenaus, A., Lee, E. S., Wasterlain, C. G., & Ribak, C. E. (1998). Dentate granule cells form novel basal dendrites in a rat model of temporal lobe epilepsy. *Neuroscience*, 86(1), 109-120.

Squire, L. R. (1992). Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychological review*, 99(2), 195.

Squire, L. R. (2004). Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiology of learning and memory*, 82(3), 171-177.

Stackman, R. W., Hammond, R. S., Linardatos, E., Gerlach, A., Maylie, J., Adelman, J. P., & Tzounopoulos, T. (2002). Small conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels modulate synaptic plasticity and memory encoding. *The Journal of neuroscience*, 22(23), 10163-10171.

Sterratt, D., Graham, B., Gillies, A., & Willshaw, D. (2011). *Principles of computational modelling in neuroscience*. Cambridge University Press.

Sterratt, D., Graham, B., Gillies, A., & Willshaw, D. (2011). *Principles of computational modelling in neuroscience*. Cambridge University Press.