UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS
DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA

MISAE FERNANDO GARCÍA CARRILLO

Alterações da Morfologia Dendrítica e Epilepsia:
Uma abordagem neurocomputacional

Ribeirão Preto – SP

2012

MISAEL FERNANDO GARCÍA CARRILLO

Alterações da Morfologia Dendrítica e Epilepsia:
Uma abordagem neurocomputacional

Tese apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão
Preto – USP, como parte das
exigências para obtenção do título de
Mestre.

Área de concentração: Psicobiologia
Orientador: Prof. Dr. Carlos Antônio
Roque da Silva Filho

Ribeirão Preto – SP

2012

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha Catalográfica

García Carrillo, Misael Fernando

Alterações da Morfologia Dendrítica e Epilepsia: Uma abordagem Neurocomputacional / Misael Fernando García Carrillo; Orientador Prof. Dr. Carlos Antônio Roque da Silva Filho – Ribeirão Preto, 2012.

49 f.

Tese (Mestrado – Programa Pós-graduação em Ciências. Área de concentração de Psicobiologia) Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo.

1. Alterações Morfologia Dendrítica. 2. Neurônio Piramidal 3. Modelo Biologicamente Realista 4. Eletrofisiologia. 5. Variações Padrão de Disparo 6. Epilepsia

FOLHA DE APROVAÇÃO

Misael Fernando García Carrillo

Alterações da Morfologia Dendrítica e Epilepsia: Uma abordagem neurocomputacional

Tese apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão
Preto – USP, como parte das
exigências para obtenção do título de
Mestre.

Área de concentração: Psicobiologia

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição _____

Assinatura _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____

Assinatura _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____

Assinatura _____

DEDICATÓRIA

A minha família, com gratidão e carinho, por me ensinar a acreditar nos meus sonhos, e trabalhar muito na procura deles.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Carlos Antônio Roque da Silva Filho, pela sua orientação, os seus ensinamentos, e ter me aceito como seu aluno.

À Universidade de São Paulo, pela oportunidade de fazer o meu mestrado.

A CAPES, pelo apoio financeiro.

A Renata, Regina, Igor, meus companheiros do laboratório e da psicobiologia, por toda a sua ajuda e amabilidade.

RESUMO

GARCÍA, M.F. Alterações da Morfologia Dendrítica e Epilepsia: Uma abordagem neurocomputacional. 2012. 49f. Tese (Mestrado) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

Pesquisas *in vivo* e *in vitro*, têm estabelecido uma correlação entre alterações na morfologia dendrítica e a epilepsia. No entanto, ainda não se conhecem em detalhe as consequências dessas modificações, sobre a eletrofisiologia e o padrão de disparo. Também existe um fenômeno que não tem sido completamente explicado, conhecido como o paradoxo do dendrito epiléptico, no qual neurônios piramidais, mesmo com a diminuição dramática do principal lugar de inervação glutamatérgica (como consequência de, por exemplo, uma redução do diâmetro e comprimento das árvores dendríticas), inesperadamente apresentam um estado de hiperexcitabilidade crônica.

Nesta pesquisa foram aproveitadas as vantagens de uma abordagem neurocomputacional, para induzir sistematicamente alterações na arquitetura dendrítica do mesmo tipo às observadas na epilepsia, e avaliar os seus efeitos sobre a eletrofisiologia e o padrão de disparo. Para isso foi construído um modelo computacional biologicamente realista, de um neurônio piramidal do neocórtex. O código-fonte do modelo está na linguagem do NEURON, e foi baseado em dados eletrofisiológicos (i.e. propriedades da membrana e condutâncias iônicas) e morfométricos, obtidos *in vitro* previamente por outros pesquisadores. A análise foi feita com base em parâmetros eletrofisiológicos do padrão de disparo.

O nosso modelo sugere uma influencia muito forte da morfologia dendrítica sobre a eletrofisiologia, a geração de potencias de ação e o padrão de disparo. Os resultados obtidos mostram que, mesmo mantendo constantes todos parâmetros biofísicos (que têm a ver com as dinâmicas elétricas dos canais iônicos), é possível induzir um aumento grande no comportamento elétrico e na geração de potenciais de ação, a partir da redução do diâmetro e comprimento das ramificações das árvores dendríticas. Estes resultados, também permitem contribuir no fornecimento de uma explicação para o paradoxo mencionado.

ABSTRACT

GARCÍA, M.F. Dendritic Morphology Alterations and Epilepsy: A Neurocomputational Approach. 2012. 49f. Tese (Mestrado) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

In vivo and *in vitro* studies had found a correlation between dendritic morphology alterations and epilepsy. Nevertheless, it has not been established in detail the consequences of those modifications, over the electrophysiology and firing pattern. There is also a phenomenon still not completely understood, known as “*the epileptic dendrite paradox*”, in which pyramidal neurons with a dramatic reduction in the principal place of glutamatergic innervation (due to, for example, a loss in dendritic trees' diameter and length), unexpectedly present a chronic hyperexcitable state.

In this study we took advantage of a neurocomputational approach, to systematically induce dendritic alterations of the same type as observed in Epilepsy, and evaluate their effect over the electrophysiology and firing behavior. With that purpose in mind, we constructed a biologically realistic computational model of a pyramidal neuron of the neocortex. For this model, it was implemented the programming language (*hoc*) of the NEURON software, and was elaborated based on electrophysiological data (i.e. membrane properties and ionic conductances), and morphological measurements, taken *in vitro* previously by other investigators. The analysis was done from electrophysiological parameters of the firing pattern.

Our model suggests a great influence of dendritic morphology over the electrophysiology, spike generation and firing pattern. The results obtained show that, even when all the biophysical parameters involved in ion channel dynamics are maintained constant, it is possible to induce a strong increase in electric behavior and spike firing, from a reduction in the length and diameter of the dendritic trees' ramifications. These results also contribute for an explanation of the mentioned paradox.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Árvores Dendríticas: Processamento de Informação e Eletrofisiologia	12
1.2 Epilepsia e Alterações da Morfologia Dendrítica	14
1.3 O paradoxo do dendrito epiléptico	18
2 OBJETIVOS	19
3 MATERIAL E MÉTODO	20
3.1 Sujeito	20
3.2 Equipamentos	21
3.3 Procedimento	22
3.4 Análise de dados	25
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 Correlação de Pearson e Spearman entre variáveis morfológicas e parâmetros do padrão de disparo	27
4.2 Redução do Comprimento Árvore Apical	28
4.3 Redução do Diâmetro Árvore Apical	34

4.4 Redução do Diâmetro Árvore Basilar	36
4.5 Redução do Comprimento Árvore Basilar	37
4.6 Interação entre variáveis morfológicas e efeito combinado sobre padrão de disparo	38
 6 CONCLUSÕES	 45
 7 REFERÊNCIAS	 46

1 INTRODUÇÃO

1.1 Árvores Dendríticas: Processamento de Informação e Eletrofisiologia

Pesquisas acerca da função dos dendritos, iniciadas com os trabalhos pioneiros de Rall (1995), têm tornado possível estabelecer a importância dessas estruturas para a integração dos sinais sinápticos e, portanto, para o processamento de informação no cérebro. De fato, estudos recentes têm demonstrado o papel dos dendritos em importantes processos como, por exemplo, a integração e o processamento da informação sináptica (YUSTE e TANK, 1996; SINGLE et al., 1997; SINGLE e BORST, 1998; MAGEE, 2000; LONDON e HÄUSSER, 2005; BROWN et al., 2008; STUART et al., 2008;), a transmissão glutamatérgica (ENGEL e PEDLEY, 2008), a potenciação a longo prazo (HÄUSSER, 2004; MEHTA, 2004; SEGAL, 2005; STUART et al., 2008) e outras mudanças plásticas que subjazem a processos de aprendizagem e memória (RALL, 1995; SCHWARTZKROIN, 2009).

Vários pesquisadores consideram os dendritos como o principal substrato computacional, para a integração de sinais e processamento de informação no sistema nervoso. Alguns deles têm enfatizado a grande relevância da árvore dendrítica, ao afirmar que “ocultas dentro dos dendritos, estão as respostas para muitos dos mistérios de como o cérebro representa o mundo, mantém lembranças de experiências passadas, e faz que sejamos conscientes do mundo ao nosso redor” (RALL, 1995). Isso faz muito sentido ao levar em conta que a grande maioria das sinapses são feitas na árvore dendrítica. Além disso, a área da superfície destas estruturas complexas

pode ser entre 10 a 20 vezes maior que a do corpo celular em neurônios motores e piramidais (AITKEN 1955; SHADÉ e BAXTER, 1960; SHOLL, 1955; YOUNG, 1958) e, em alguns casos, até cem vezes maior como nas células de Purkinje (FOX e BARNARD, 1957).

As características dos dendritos mais estudadas em termos de seu efeito sobre o processamento neuronal têm sido (1) a classe morfológica geral à qual o neurônio pertence, i.e. piramidal, estrelado, etc (McCORMICK et al., 1985; BASTIAN e NGUYENKIM, 2000; VETTER et al., 2001), e (2) os tipos, as distribuições e as densidades das condutâncias dos canais iônicos presentes na árvore dendrítica (TRAUB, R.D., 1979; KIM e CONNORS, 1993; LERCHE et al., 2001; DOIRON et al., 2002; MIZIELINSKA, S.M., 2007).

Recentemente, diversos estudos demonstram que variações na morfologia da árvore dendrítica afetam o processamento de informação neuronal (MAINEN e SEJNOWSKI, 1996; SHAEFER et al., 2003; CHKLOVSKII, 2004; LONDON e HÄUSSER, 2005; DONOHUE e ASCOLI, 2008; VAN ELBURG e VAN OUYEN, 2010), com possíveis efeitos funcionais sobre o sistema nervoso. Essas diferenças estariam influenciando características próprias da eletrofisiologia e padrão de disparo do neurônio (MASON e LARKMAN, 1990; MAINEN e SEJNOWSKI, 1996; BASTIAN e NGUYENKIM, 2000; VETTER et al., 2001; KRICHMAR et al., 2002; VAN ELBURG e VAN OUYEN, 2010).

A extraordinária diversidade de morfologias, composição e plasticidade dos dendritos, além das suas especializações sinápticas, sugerem que as contribuições funcionais destas estruturas à mente e ao cérebro são enormemente variadas (STUART et al., 2008). No entanto, ainda pouco se conhece acerca de como mudanças na estrutura dendrítica, se associam com propriedades funcionais dos neurônios, tais como a integração sináptica, a excitabilidade, e os padrões de disparo (STUART et al., 2008).

1.2 Epilepsia e Alterações da Morfologia Dendrítica

A epilepsia é uma condição devastadora, e uma das patologias neurológicas com maior prevalência, afetando aproximadamente 1% da população (HAUSER et al., 1991; ENGEL e PEDLEY, 2008; SCHWARTZKROIN, 2009).

Ela é uma alteração na atividade elétrica do cérebro, e se caracteriza por episódios recorrentes e pela geração de ataques apopléticos, associados com um padrão de disparos de frequência muito alta em uma população grande de neurônios, durante vários segundos ou até minutos (atividade ictal) (STUART et al., 2008). Os ataques originam-se na chamada área epileptogênica, que envolve uma ou várias regiões corticais. Entre ataques, a área epileptogênica é caracterizada pela geração de outro tipo de atividade patológica: eventos paroxísticos interictais, que são descargas breves do tipo rajadas durante centenas de milissegundos. Essas duas atividades patológicas constituem a assinatura eletrofisiológica de um cérebro epilético (STUART et al., 2008).

A epilepsia envolve dois fenômenos muito interessantes: (1) A hiperexcitabilidade na qual, através de dinâmicas que têm a ver com a despolarização e repolarização da membrana (ENGEL e PEDLEY, 2008), e que ainda não se conhecem completamente, o neurônio pós-sináptico fica muito mais sensível à estimulação elétrica de um neurônio pré-sináptico, gerando respostas com uma intensidade e frequência muito mais fortes que as de um neurônio saudável. (2) Na hipersincronicidade, um grupo de neurônios exibem um padrão de disparo altamente sincrônico entre eles, levando, entre outras coisas, à propagação da atividade epileptiforme a outras áreas do cérebro (ENGEL e PEDLEY, 2008). Acredita-se que a hipersincronicidade tem a ver com um defeito nos mecanismos de integração neural, como consequência de alterações na eletrofisiologia dos neurônios.

Estes dois fenômenos são fundamentais para o entendimento da Epilepsia e, portanto, a Liga Internacional contra a Epilepsia (*International League against Epilepsy* – ILAE), define esta doença como a ocorrência transiente de signos ou sintomas, como consequência de atividade elétrica e sincrônica excessiva no cérebro (ENGEL e PEDLEY, 2008).

Geralmente, a ênfase no estudo desta doença tem sido feita em nível de canais iônicos, levando a descobertas muito interessantes (LERCHE, 2001; BERNARD et al., 2004; STEINLEIN, 2004 ; GRAVES, 2006; YU et al., 2006;). No entanto, outra hipótese para explicar a geração, a manutenção e a propagação da atividade epileptiforme, são as mudanças morfológicas (STUART et al., 2008). Pesquisas *in vivo* e *in vitro* têm correlacionado anormalidades na morfologia dendrítica (tais como diminuição do

diâmetro e comprimento dos segmentos, e uma perda na complexidade das ramificações) com a epilepsia (WESTRUM et al., 1964; SCHEIBEL et al., 1974; MULTANI et al., 1994; COLLING et al., 1996; JIANG et al. 1998; SWANN et al., 2000; WASHINGTON et al, 2000; SCHWARTZKROIN, 2009). Por exemplo, Jiang et al. (1998) usando o modelo de epilepsia experimental pela neurotoxina tetânica, encontraram que neurônios piramidais apresentam uma redução média de 24% no comprimento da árvore dendrítica basilar. Também uma diminuição de 48% no diâmetro máximo da árvore apical e 33% da árvore basilar, junto com a redução de 55% e 35% no diâmetro mínimo da árvore apical e basilar, respectivamente. Ainda não se conhecem em detalhe as consequências eletrofisiológicas desse tipo de modificações; portanto, estas pesquisas oferecem importantes subsídios biológicos a partir dos quais, é possível avaliar sistematicamente as consequências dessas anormalidades, através de uma modelação computacional realista.

O estudo da epilepsia fez possível entender melhor esta doença, levando a avanços fundamentais para o entendimento e tratamento desta patologia. No entanto, ainda não se conhece com exatidão a origem dela (ou origens, pois é uma doença multifatorial). Também ainda não se possui um tratamento para todos os pacientes, sobretudo nos pacientes com epilepsia refratária (não tratável com medicação), e nos quais a cirurgia não é uma opção, devido às características particulares dos seus casos. Por isso, é muito importante continuar aprofundando o conhecimento das causas, e possíveis tratamentos desta doença.

Não obstante várias pesquisas tenham correlacionado modificações na morfologia dendrítica com a epilepsia, ainda não se sabe com precisão se essas correlações implicariam uma relação causal, nem a direção desta possível causalidade, isto é, se as alterações observadas seriam consequência da atividade patológica, ou se estas alterações poderiam levar à geração de atividade epileptiforme.

Algumas pesquisas, por exemplo, sugerem que as mudanças dendríticas observadas seriam uma consequência, devido ao fato de que a atividade elétrica epileptiforme levaria a uma alteração de mecanismos intrínsecos, que têm a ver com a regulação e manutenção do citoesqueleto dos dendritos (KURZ et al. 2008; SWANN et al, 2000; ZENG et al. 2007). Sabe-se, também, que a plasticidade da árvore é altamente dependente do ambiente local (STUART et al., 2008). Por exemplo, entre os fatores de maior influência sobre a morfologia dendrítica está o fornecimento de novas conexões, pela entrada de sinais excitatórios pré-sinápticos, tal como tem sido estabelecido por estudos como, por exemplo, os desenvolvidos pelo Globus (1975). Segundo outras teorias, existe a possibilidade de que as mudanças encontradas na morfologia dendrítica, além de ser uma consequência da epilepsia, possam agir como algum tipo de mecanismo compensatório ou homeostático, com o fim de reduzir a hiperexcitabilidade dos neurônios epileptogênicos (STUART et al., 2008; SWANN, 2008).

No entanto, existem ainda algumas perguntas, pois a diminuição da excitabilidade deveria levar a uma redução na geração de atividade epileptiforme, e os neurônios epileptogênicos, mesmo com essas mudanças, ainda apresentam um estado

crônico de hiperexcitabilidade. De fato para alguns pesquisadores, as alterações na árvore dendrítica podem estar acompanhadas por mudanças em vários níveis, como, por exemplo, na expressão molecular, e no lugar de implantação de canais iônicos nos dendritos e, por consequência, contribuir na hiperexcitabilidade dos neurônios (SWANN et al., 2000). Além disso, um estudo feito por WASHINGTON et al. (2000) estabelece que um menor tamanho da árvore dendrítica leva a uma maior excitabilidade. Isso faria possível pensar na existência de uma relação causal, entre as alterações dendríticas observadas e a epilepsia, na qual essas mudanças poderiam levar a um aumento da excitabilidade e, portanto, à geração de atividade elétrica patológica.

1.3 O paradoxo do dendrito epiléptico

Por que neurônios piramidais com menor área dendrítica total (i.e. perda de diâmetro, comprimento, espinhas e complexidade das ramificações) e, por consequência, menor entrada de sinais excitatórios do tipo glutamatérgico, inesperadamente apresentam maior excitabilidade? Este fenômeno é conhecido como o paradoxo do dendrito epiléptico (*the epileptic dendrite paradox*) (SCHWARTZKROIN, 2009), que, apesar de intrigar a muitos pesquisadores, ainda continua sem explicação. A possibilidade de estabelecer algum tipo de causalidade entre as mudanças observadas nos neurônios epileptogênicos, e a sua atividade patológica, poderia nos ajudar a entender melhor este paradoxo.

2 OBJETIVOS

- 1) Induzir e avaliar sistematicamente, a partir de uma abordagem neurocomputacional, as consequências na eletrofisiologia e padrão de disparo de alterações morfológicas nas árvores dendríticas, do mesmo tipo às observadas *in vivo* e *in vitro* em neurônios piramidais epileptogênicos.
- 2) Indagar a possibilidade de uma relação causal nas correlações encontradas, junto com a possível direção na qual se daria.
- 3) Contribuir para o fornecimento de uma explicação teórica do paradoxo do dendrito epiléptico.

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 Sujeito

Modelo computacional realista biofísicamente detalhado de um neurônio piramidal (Figura 1), o qual foi representado computacionalmente como na Figura 2. As árvores dendríticas apical e basilar foram modeladas segundo a lei da potência dos diâmetros do Rall (1995), fazendo possível colapsar todas as ramificações num só compartimento para cada árvore (Figura 3). O modelo computacional está composto por quatro compartimentos, que representam a árvore basilar, o axônio, o soma e a árvore apical (Figura 3). Este modelo realista possui as propriedades biofísicas descritas na Tabela 1.

Figura 1. Morfologia Neurônio Piramidal [Imagem tomada e adaptada do artigo do van Elburg e van Ooyen (2010)].

Figura 2. Representação do neurônio piramidal com as árvores dendríticas sem serem colapsadas. Na esquerda localiza-se a árvore dendrítica apical, no centro o soma, e na direita a árvore dendrítica basilar.

Figura 3. Estrutura das árvores dendríticas apical e basilar, colapsadas cada uma segundo a lei do Rall (1995) num só compartimento. Na esquerda localiza-se a árvore dendrítica apical, no centro o soma, e na direita a árvore dendrítica basilar.

3.2 Equipamentos

Cluster de dez nós processadores, do Laboratório de Sistemas Neurais (SisNe), coordenado pelo orientador do projeto.

Softwares: NEURON versão 7.2 e MATLAB 2008b.

3.3 Procedimento

A partir do “software” NEURON, sua linguagem (hoc) e baseado na programação orientada ao objeto (“object oriented”), foi construído um modelo computacional realista de um neurônio piramidal (Figuras 1, 2, 3). Os dendritos das árvores apical e basilar, foram colapsados em um só compartimento cilíndrico para cada árvore, segundo a lei do Rall (1995) (Figura 3). Neste modelo, foram usadas propriedades passivas para as árvores dendríticas (Tabela 1). No caso do soma e do axônio foram usadas propriedades ativas, com base no modelo do Hodgkin e Huxley, para geração e propagação ativa dos potenciais de ação (HODGKIN e HUXLEY, 1952) (Tabela 1).

COMPARTIMENTO	COMPRIMENTO (um)	DIÂMETRO (um)	PARÂMETROS BIOFÍSICOS
Soma	18.8	18.8	Propriedade Ativas: Hodgkin e Huxley $g_{\text{nabar_hh}} = 0.120 \text{ S/cm}^2$ $g_{\text{kbar_hh}} = 0.036 \text{ S/cm}^2$ $g_{\text{l_hh}} = 0.0003 \text{ S/cm}^2$ $e_{\text{na}} = 50 \text{ mV}$ $e_{\text{k}} = -77 \text{ mV}$ $e_{\text{l_hh}} = -54.3 \text{ mv}$
Árvore Apical	710.9	3.18	Propiedades passivas com $R_{\text{a}} = 123 \text{ ohm-cm}$, $E = -65 \text{ mV}$
Árvore Basal	549.1	2	Mesmas propriedades passivas árvore apical
Axônio	1000	1	Mesmas propriedades ativas do soma
Todos os compartimentos	N/A	N/A	$C_{\text{m}} = 1 \mu\text{F/cm}^2$; $R_{\text{C}} = 100 \text{ Ohms*cm}$; $T = 6.3\text{C}$

Tabela 1. Parâmetros morfológicos e biofísicos do modelo computacional do neurônio piramidal. $g_{\text{nabar_hh}}$ é a condutância de membrana específica máxima para os canais de sódio, $g_{\text{kbar_hh}}$ é a condutância de membrana específica máxima para o potássio, $g_{\text{l_hh}}$ é a condutância de membrana específica máxima de vazamento, que tem a ver com a permeabilidade natural da membrana ao fluxo de alguns íons. e_{na} é o potencial de equilíbrio para o sódio, e_{k} o potencial de equilíbrio para o potássio, e $e_{\text{l_hh}}$ o potencial de equilíbrio de vazamento. R_{a} é a resistência axial em ohms por centímetro, e E é o potencial de membrana no equilíbrio. C_{m} é a capacitância específica de membrana. R_{C} é a resistência de membrana e T é a temperatura em graus centígrados.

O protocolo de estimulação foi um “IClamp” de corrente contínua despolarizante, cujos parâmetros são descritos na tabela 2. Esse protocolo de estimulação foi usado para permitir a geração contínua de potenciais de ação durante todo o tempo de estimulação.

PARÂMETROS DO ICLAMP	
Amplitude da estimulação	0.1nA (nanoamperes)
Tempo início	100 ms (milissegundos)
Duração estimulação	900 (milissegundos)
Localização eletrodo	50% do comprimento total árvore apical

Tabela 2. Parâmetros da estimulação com eletrodo.

O modelo foi construído de modo que alguns dos parâmetros, que caracterizam a morfologia das árvores dendríticas apical e basilar, além dos parâmetros que têm a ver com o tipo de estimulação, pudessem ser modificados sistematicamente para a realização dos estudos propostos. Os parâmetros morfológicos que foram avaliados, com base no tipo de alterações observadas na epilepsia, foram o diâmetro e comprimento das ramificações da árvore apical e da árvore basilar. Todos os mecanismos e parâmetros biofísicos relacionados com as dinâmicas dos canais iônicos, foram mantidos constantes para todas as morfologias neurais.

Paralelamente, foram construídos 14 códigos diferentes para a interação do NEURON com o Matlab, para a indução sistemática da mudança nas variáveis morfológicas avaliadas no NEURON, junto à automatização da obtenção e análise dos dados correspondentes no Matlab. Isso tornou possível a criação de uma plataforma de

alta complexidade na qual ao correr o código principal, só é necessário introduzir no “prompt” do Matlab, os vetores com as magnitudes percentuais (em números decimais), da redução exercida sobre os valores originais dos parâmetros morfológicos avaliados (i.e. diâmetros e comprimentos árvore apical e basilar). Tudo isso foi feito trabalhando diretamente com a linguagem do NEURON e do MATLAB, sem fazer uso da interface gráfica, o que permitiu induzir sistematicamente várias mudanças morfológicas, fazer combinatórias entre as distintas variáveis, e ter maior versatilidade para uma avaliação e análise muito mais abrangente.

Já tendo a representação do neurônio piramidal no código *hoc*, além de toda a plataforma, foram induzidas sistematicamente alterações no diâmetro e comprimento da árvore dendrítica e da árvore basilar. Essas modificações morfológicas foram do mesmo tipo observado na epilepsia. Com esse fim, em cada iteração foi reduzido o 2.5% da magnitude de cada uma das variáveis morfológicas separadamente (84 iterações/novas morfologias neurais), ou fazendo combinatórias entre elas (1764 iterações/novas morfologias neurais), para simular uma situação, por exemplo, na qual as duas árvores perdem diâmetro ou se recolhem simultaneamente, tal como é observado em neurônios epileptogênicos. A simulação foi feita até atingir uma redução de 50% nas variáveis morfológicas de interesse.

Os parâmetros a partir dos quais foi feita a análise do efeito sobre a eletrofisiologia e padrão de disparo foram: (1) Latência para a geração do primeiro potencial de ação, definida como o tempo desde o início da estimulação ($t = 100\text{ms}$), até atingir o primeiro máximo local superior a 20mv. (2) Média do intervalo interdisparo,

baseado na média do tempo entre os picos de cada potencial de ação gerado (máximos locais). (3) Média do comprimento do potencial de ação, definido como a média da duração entre o ponto no qual a voltagem de membrana aumenta positivamente até atingir o patamar para a geração do potencial (-55mv), e o tempo no qual a voltagem de membrana retorna ao potencial de repouso (-65mv) (4) Média da amplitude da despolarização (média do valor dos máximos locais da voltagem). (5) Média da amplitude da hiperpolarização (média do valor mínimos locais da voltagem). (6) Taxa de disparos durante a janela de análise, isto é, o número de potenciais gerados em 800ms dividido por esse intervalo de tempo.

3.4Análise de dados

Os primeiros 100 milissegundos da simulação não foram levados em conta na análise, para evitar artifícios e permitir que se estabilizasse o potencial de membrana. Foi criada uma janela de análise de 800ms entre $t = 100\text{ms}$ e $t = 900\text{ms}$, dos 1000ms totais da simulação.

Foi feita uma análise inicial dos dados obtidos, para avaliar uma correlação entre as diferentes variáveis morfológicas testadas, e os 6 parâmetros a partir dos quais foram quantificadas as modificações no padrão de disparo. Para isso, foram calculados os coeficientes de Pearson e Spearman para cada uma das interações possíveis.

Já tendo correlacionado as diferentes variáveis morfológicas com cada parâmetro do padrão do disparo, uma segunda análise foi feita com base na magnitude do efeito que exerce cada mudança da morfologia, sobre os diferentes parâmetros avaliados. Para que isso fosse possível, dentro dos códigos feitos para a interação do NEURON e o Matlab, foram elaborados diferentes algoritmos com a capacidade de detetar e extrair sistematicamente, a informação de interesse contida no vetor da voltagem no tempo, e calcular os valores correspondentes a cada parâmetro para cada iteração ($n = 1848$), de maneira tal que fosse quantificado o efeito das diferentes morfologias neurais, sobre as características do padrão de disparo. A magnitude do efeito de cada modificação dendrítica, foi avaliada com base no valor calculado para cada parâmetro durante cada iteração. Também a partir da porcentagem calculada a partir da diferença entre o valor de cada parâmetro obtido para cada nova morfologia, em relação ao valor desse mesmo parâmetro na morfologia inalterada.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Correlação de Pearson e Spearman entre variáveis morfológicas e parâmetros do padrão de disparo.

Na análise inicial dos resultados obtidos, foi possível estabelecer uma correlação muito forte para cada uma das interações testadas, entre as variáveis morfológicas e os parâmetros usados para quantificar diferenças no padrão de disparo (Tabela 3 e 5). No caso do coeficiente de Spearman (Tabela 4), as correlações apresentaram uma magnitude maior para todas as associações avaliadas, o que permite inferir que o efeito das diferentes morfologias sobre o padrão de disparo, é melhor explicado em termos não lineares.

Correlação (Pearson) Variáveis Morfológicas e Parâmetros Padrão de Disparo						
	LGPD	PIID	CPPA	APD	APR	Taxa Disparos
dAA	0.9494	0.9849	0.9878	-0.9970	0.9995	-0.9838
dAB	0.9947	0.9957	0.9903	-0.9969	0.9986	-0.9826
CAA	0.9986	0.9983	0.9690	-0.9988	0.8442	-0.9934
CAB	0.9340	0.9974	0.9699	-0.9984	0.8728	-0.9407

Tabela 3. Correlação de Pearson para a interação entre variáveis morfológicas (dAA = diâmetro árvore apical; dAB = diâmetro árvore basilar; CAA = comprimento árvore apical; CAB = comprimento árvore basilar) e os parâmetros do padrão de disparo (LGPD = latência para a geração do primeiro disparo; PIID = Média do intervalo interdisparo; CPPA = Média do comprimento do potencial de ação; APD = Média da amplitude da despolarização; APR= Média da amplitude da repolarização, e Taxa de disparos)

Correlação (Spearman) Variáveis Morfológicas e Parâmetros Padrão de Disparo						
	LGPD	PIID	CPPA	APD	APR	Taxa Disparos
dAA	0.9854	1.0000	1.0000	-1.0000	1.0000	-0.9889
dAB	1.0000	1.0000	0.9997	-1.0000	1.0000	-0.9840
CAA	1.0000	1.0000	0.9987	-1.0000	0.7766	-0.9935
CAB	0.9793	1.0000	0.9987	-1.0000	0.8636	-0.9415

Tabela 4. Correlação de Spearman para a interação entre variáveis morfológicas (dAA = diâmetro árvore apical; dAB = diâmetro árvore basilar; CAA = comprimento árvore apical; CAB = comprimento árvore basilar) e os parâmetros do padrão de disparo (LGPD = latência para a geração do primeiro disparo; PIID = média do intervalo interdisparo; CPPA = média do comprimento do potencial de ação; APD = amplitude média da despolarização; APR= Amplitude média da repolarização, e Taxa de disparos)

Correlação CPPA e APD		
	Pearson	Spearman
CAA	-0.9714	-0.9987
CAB	-0.9798	-0.9987
dAA	-0.9969	-1.0000
dAB	-0.9975	-0.9997

Tabela 5. Correlações de Pearson e Spearman, para a interação entre a média do comprimento do potencial de ação (CPPA), e a média da amplitude da despolarização (APD).

Já tendo estabelecidas tais correlações, uma análise detalhada das consequências que exercem cada uma das variações feitas na morfologia dendrítica, permite observar alguns padrões interessantes:

4.2 Redução comprimento árvore dendrítica apical

De todas as variáveis morfológicas avaliadas, a redução do comprimento da árvore dendrítica apical foi a variável morfológica cuja modificação, teve o maior efeito sobre a maioria dos parâmetros do padrão de disparo. Por exemplo, uma redução de 10% no comprimento desta árvore, levou à diminuição de mais de 8% na latência para a geração do primeiro disparo (Tabela 6, Figura 4), e de quase 5% no intervalo interdisparo

(Tabela 6, Figura 5), junto com um aumento de 3.12% na taxa de disparo (Tabela 6, Figura 9). Ainda mais interessante, foi o achado de que a magnitude do efeito sobre o padrão de disparo, ao atingir porcentagens de redução bem maiores, os quais se encontram dentro dos porcentagens observados experimentalmente. Por exemplo, a diminuição de 50% nesta variável morfológica, se reflete na redução de 36.6% da latência para a geração do primeiro disparo (Tabela 6, Figura 4), de 21.1% no intervalo interdisparo (Tabela 6, Figura 5) e, conseqüentemente, em um 25% de aumento na taxa de disparo (Tabela 6, Figura 9), passando de uma frequência de 40Hz até 50Hz. Essas variações são bastante relevantes, pois indicam que um neurônio com as mesmas propriedades biofísicas, altera suas características eletrofisiológicas envolvidas na geração de potenciais de ação, e modifica o seu comportamento e funcionamento.

PORCENTAGENS DO EFEITO DA VARIAÇÃO NA MORFOLOGIA SOBRE PÂRAMETROS DO PADRÃO DE DISPARO						
	% Variação LGPD	% Variação PIID	% Variação PCPA	% Variação APD	% Variação APR	% Variação TPA
dAA (10%)	-6.29	-5.18	-4.90	6.16	0.94	6.25
dAA (20%)	-10.86	-9.30	-8.34	11.51	1.82	9.38
dAA (30%)	-14.29	-12.51	-11.48	16.24	2.70	12.50
dAA (40%)	-15.43	-14.98	-13.81	20.52	3.53	15.63
dAA (50%)	-15.43	-16.62	-15.71	24.45	4.30	18.75
dAB (10%)	-5.71	-3.57	-2.72	3.40	0.43	3.12
dAB (20%)	-10.29	-6.62	-4.96	6.34	0.85	6.25
dAB (30%)	-14.29	-9.27	-6.81	8.94	1.25	9.38
dAB (40%)	-17.71	-11.61	-8.24	11.28	1.61	12.50
dAB (50%)	-20.57	-13.63	-9.63	13.37	1.94	15.63
CAA (10%)	-8.57	-4.97	-0.88	2.25	-0.20	3.12
CAA (20%)	-16.57	-9.16	-1.25	4.01	-0.23	9.38
CAA (30%)	-23.43	-12.90	-1.49	5.55	0.15	15.63
CAA (40%)	-30.29	-16.62	-1.96	7.35	0.76	18.75
CAA (50%)	-36.57	-20.11	-3.15	9.10	1.98	25.00
CAB (10%)	-0.57	-1.14	-0.28	0.88	-0.07	0.00
CAB (20%)	-0.57	-2.52	-0.57	1.84	-0.03	3.13
CAB (30%)	-1.71	-4.10	-0.85	2.91	0.12	3.13
CAB (40%)	-2.86	-5.81	-1.34	4.04	0.54	6.25
CAB (50%)	-5.14	-7.60	-2.22	5.28	1.08	6.25

Tabela 6. Variação (em porcentagem) dos parâmetros do padrão de disparo, com base numa redução sistemática de até 50% nas diferentes variáveis morfológicas da arquitetura dendrítica: Diâmetro Árvore Apical (d AA), Diâmetro Árvore Basilar (dAB), Comprimento Árvore Apical (CAA), Comprimento Árvore Basilar (CAB). Nas diferentes colunas encontra-se o valor percentual da magnitude da variação (aumento ou diminuição) para cada um dos parâmetros avaliados i.e. 1) LGPD: Latência geração primeiro disparo; 2) PIID: Média do intervalo interdisparo; 3) PCPA: Média do comprimento dos potenciais de ação; 4) APD: Média da amplitude da despolarização; 5) APR: Média da amplitude da repolarização; 6) TPA: Taxa potenciais de ação.

Figura 4. Mudança da Latência para a geração do primeiro disparo (LGPD) para cada variação na morfologia. O eixo x mostra os distintos valores percentuais (em decimal) para cada variável morfológica (CAA: Comprimento Árvore Apical, CAB: Comprimento Árvore Basilar, dAA: Diâmetro Árvore Apical e dAB: Diâmetro Árvore Basilar), sendo 1 o 100% do tamanho original, e 0.5 o 50% do tamanho original. O eixo Y na esquerda, representa a LGPD (em milissegundos). O eixo Y na direita, representa a porcentagem de variação da LGPD, em relação ao valor obtido para a morfologia original.

Figura 5. Mudança na média do intervalo interdisparo (PIID) para cada variação na morfologia. O eixo x mostra os distintos valores percentuais (em decimal) para cada variável morfológica (CAA: Comprimento Árvore Apical, CAB: Comprimento Árvore Basilar, dAA: Diâmetro Árvore Apical e dAB: Diâmetro Árvore Basilar), sendo 1 o 100% do tamanho original, e 0.5 o 50% do tamanho original. O eixo Y na esquerda, representa o PIID (em milissegundos). O eixo Y na direita, representa a porcentagem de variação do PIID, em relação ao valor obtido para a morfologia original.

Figura 6. Mudança na média do comprimento do potencial de ação (PCPA) para cada variação na morfologia. O eixo x mostra os distintos valores percentuais (em decimal) para cada variável morfológica (CAA: Comprimento Árvore Apical, CAB: Comprimento Árvore Basilar, dAA: Diâmetro Árvore Apical e dAB: Diâmetro Árvore Basilar), sendo 1 o 100% do tamanho original, e 0.5 o 50% do tamanho original. O eixo Y na esquerda, representa o PCPA (em milissegundos). O eixo Y na direita, representa a porcentagem de variação do PCPA, em relação ao valor obtido para a morfologia original.

Figura 7. Mudança na média da amplitude da despolarização (APD) para cada variação na morfologia. O eixo x mostra os distintos valores percentuais (em decimal) para cada variável morfológica (CAA: Comprimento Árvore Apical, CAB: Comprimento Árvore Basilar, dAA: Diâmetro Árvore Apical e dAB: Diâmetro Árvore Basilar), sendo 1 o 100% do tamanho original, e 0.5 o 50% do tamanho original. O eixo Y na esquerda, representa o APD (em milivolts). O eixo Y na direita, representa a porcentagem de variação do APD, em relação ao valor obtido para a morfologia original.

Figura 8. Mudança na média da amplitude da repolarização (APR) para cada variação na morfologia. O eixo x mostra os distintos valores percentuais (em decimal) para cada variável morfológica (CAA: Comprimento Árvore Apical, CAB: Comprimento Árvore Basilar, dAA: Diâmetro Árvore Apical e dAB: Diâmetro Árvore Basilar), sendo 1 o 100% do tamanho original, e 0.5 o 50% do tamanho original. O eixo Y na esquerda, representa o APR (em milivolts). O eixo Y na direita, representa a porcentagem de variação do APR, em relação ao valor obtido para a morfologia original.

Figura 9. Mudança na taxa de disparo para cada variação na morfologia. O eixo x mostra os distintos valores percentuais (em decimal) para cada variável morfológica (CAA: Comprimento Árvore Apical, CAB: Comprimento Árvore Basilar, dAA: Diâmetro Árvore Apical e dAB: Diâmetro Árvore Basilar), sendo 1 o 100% do tamanho original, e 0.5 o 50% do tamanho original. O eixo Y na esquerda, representa a taxa de disparo (em Hertz). O eixo Y na direita, representa a porcentagem de variação da taxa de disparo, em relação ao valor obtido para a morfologia original.

Um fato interessante é que alterações no comprimento da árvore apical, não têm um efeito muito forte sobre os parâmetros do padrão de disparo (em relação a uma diminuição dos diâmetros da árvore apical ou basilar), que têm a ver principalmente com a forma do potencial de ação (i.e. comprimento do disparo, amplitude da despolarização e da repolarização), apresentando, por exemplo, uma redução só de 3.1% no comprimento do potencial de ação (Tabela 6, Figura 6), junto com um aumento de 9.1% e 1.98 na amplitude da despolarização e repolarização, respetivamente. Portanto, no caso desta variável, as consequências sobre o aumento de um parâmetro global tal como a taxa de disparo, relacionam-se principalmente com uma diminuição da latência e do intervalo entre disparos, contrário ao que acontece quando são modificados os diâmetros.

4.3 Redução diâmetro árvore dendrítica apical

O diâmetro da árvore apical foi a segunda variável, cuja redução se refletiu num efeito de maior magnitude sobre as características do padrão de disparo. A redução gradual desta variável apresentou um comportamento muito interessante, no qual durante as primeiras modificações, foi observado um efeito ainda maior sobre parâmetros tais como a taxa de disparo, em comparação ao comprimento da mesma árvore. Uma diminuição de 10%, por exemplo, levou ao aumento de 6.25% na taxa de disparo (Tabela 6, Figura 9), o qual é o dobro do aumento obtido, quando é feita uma diminuição da mesma proporção no comprimento desta árvore (Tabela 6, Figura 9). No entanto, uma redução entre 20% e um 50% do diâmetro original, exerce um efeito bem menor sobre o mesmo parâmetro, levando ao fato de que os valores obtidos neste

intervalo sejam menores, ao serem comparados com o efeito da modificação do comprimento (Tabela 6, Figura 9). O mais interessante, é que ao analisar os parâmetros do padrão de disparo, cuja modificação se reflete diretamente na taxa (i.e. latência geração primeiro disparo, média do intervalo interdisparo, e comprimento do potencial de ação), é possível observar que não existe uma diferença muito alta no efeito das mudanças do diâmetro e do comprimento da árvore apical, sobre o intervalo interdisparo (Tabela 6), mas sim sobre a latência do primeiro potencial e na média do comprimento do disparo. Por exemplo, a redução do 50% nestas duas variáveis morfológicas leva a uma diferença de 4% na diminuição da média do intervalo interdisparo (-16.62% para o diâmetro e -20.11% para o comprimento), quando uma redução morfológica da mesma magnitude leva a uma diferença de mais do dobro na diminuição da latência (-15.43% para o diâmetro em comparação com o -36.57 para o comprimento), e cinco vezes maior no caso da média do comprimento do disparo (-3.15% para o comprimento, e -15.71% para o diâmetro). Isso é bem importante, pois quer dizer que a taxa de disparos depende da interação dos vários parâmetros descritos, e que o efeito da mudança da morfologia se reflete diferencialmente sobre cada um desses parâmetros.

Segundo o nosso modelo, as diferentes morfologias neurais poderiam ter consequências diretamente sobre o processamento e codificação de informação, pois sabe-se que, por exemplo, a codificação neural não depende só da taxa de disparos, mas do tempo no qual eles são transmitidos e processados (*“timing”*), o qual estaria fortemente ligado a variações na latência, no comprimento dos potenciais gerados, e no intervalo interdisparo. Um outro resultado nessa mesma direção, é o fato de que uma

redução de 40% no diâmetro da árvore apical, ou de 30% no comprimento desta mesma árvore, exercem um mesmo efeito enquanto a um aumento de 15.63% na taxa de disparo (Tabela 6, Figura 9), no entanto, esse mesmo efeito está sustentado por diferentes variações ao nível da latência (-23.43% para o comprimento, -15.43% para o diâmetro) (Tabela 6, Figura 4), do comprimento do disparo (-1.49% para o comprimento, -13.81% para o diâmetro) (Tabela 6, Figura 6), e da média do intervalo inter-disparo (-12.90% para o comprimento, -14.98% para o diâmetro) (Tabela 6, Figura 5).

4.4 Redução diâmetro árvore dendrítica basilar

Esta variável foi, em relação à latência, o intervalo interdisparo, e a taxa de disparos, a qual teve a terceira maior influência sobre o padrão de disparo (Tabela 6, Figuras 5, 6 e 10). No entanto, nos parâmetros relacionados mais com a forma do potencial de ação (i.e. comprimento disparo, amplitude da despolarização e repolarização) foi a segunda variável cujo efeito foi mais relevante (Tabela 6, Figuras 7, 8 e 9). De fato, os diâmetros, e em especial o diâmetro da árvore apical, foram as duas variáveis que apresentaram o maior efeito sobre estas variáveis. Isso é bem interessante, pois quer dizer que as consequências da modificação das distintas variáveis da morfologia, não só se refletem seletivamente sobre características diretamente relacionadas com a taxa de disparos, e o tempo de geração e codificação dos potenciais, mas também sobre a forma mesma do potencial que está sendo gerado.

Ao se fazer uma análise da correlação entre o comprimento do potencial e a amplitude da despolarização, inesperadamente foi determinada uma relação inversa entre os dois parâmetros (Tabela 5), isto é, uma amplitude maior se correlaciona com um comprimento menor. Isso é bem interessante, pois quer dizer que mesmo tendo uma variação maior na voltagem de membrana durante a despolarização, isso não levaria a uma maior quantidade de tempo necessário para o disparo ser gerado (i.e. despolarização e repolarização da voltagem de membrana), o que se refletiria num potencial de ação com um comprimento maior. Mais interessante ainda, é o fato de que variações na morfologia, sobretudo no que se relaciona com os diâmetros, estariam mudando o efeito sobre a voltagem de membrana, dos processos biofísicos relacionados principalmente com as dinâmicas dos canais iônicos, mesmo quando os parâmetros que se relacionam com esses processos se mantem constantes.

4.5 Redução do comprimento da árvore dendrítica basilar

Esta foi a variável morfológica, cuja modificação apresentou o menor efeito sobre o padrão de disparo. Além de ter uma magnitude muito menor sobre os distintos parâmetros testados, a variação do comprimento apresentou uma tendência bem diferente em comparação à modificação do comprimento da árvore dendrítica apical, enquanto à maneira como influencia os distintos parâmetros do disparo (Tabela 6). Isso permite inferir que as interações entre as distintas variáveis morfológicas, e mais ainda, as mesmas variáveis morfológicas mas em uma outra árvore dendrítica, são bem complexas, e não necessariamente apresentam uma tendência generalizada.

4.6 Interação entre variáveis morfológicas e efeito combinado sobre padrão de disparo

Figura 10. Efeito combinado da diminuição até um 50% (0.5) do diâmetro da árvore apical e basilar, sobre a taxa de disparo (codificado em cor) do neurônio piramidal.

Figura 11. Efeito combinado da diminuição até um 50% (0.5) do comprimento da árvore apical e basilar, sobre a taxa de disparo (codificado em cor) do neurônio piramidal.

Figura 12. Efeito combinado da diminuição até um 50% (0.5) do diâmetro e comprimento da árvore apical, sobre a taxa de disparo (codificado em cor) do neurônio piramidal.

Figura 13. Efeito combinado da diminuição até um 50% (0.5) do diâmetro e comprimento da árvore basilar, sobre a taxa de disparo (codificado em cor) do neurônio piramidal.

Figura 14. Efeito combinado da redução do 50% no diâmetro e comprimento da árvore apical (em azul), da árvore basilar (verde), e das duas árvores simultaneamente (café), para cada

variação percentual (aumento ou redução) do (1) LGDP: Latência para geração do primeiro disparo, (2) PIID: Média do intervalo interdisparo, (3) PCPA: Média do comprimento do potencial de ação, (4) APD: Média da amplitude da despolarização, (5) APR: Média da amplitude da repolarização, (6) TPA: Taxa de disparos.

A partir dos resultados obtidos, também é possível indagar na interação entre as distintas variáveis morfológicas, e o seu efeito combinado sobre parâmetros do padrão de disparo, tais como a taxa de disparo.

A primeira interação avaliada foi a redução simultânea dos diâmetros da árvore dendrítica apical e basilar. Esses resultados são mostrados na Figura 10, na qual é possível observar alguns padrões interessantes. Por exemplo, a primeira linha horizontal (de acima para abaixo), representa a mudança na voltagem (codificada em cor) quando o diâmetro da árvore apical é mudada sistematicamente um 2.5% até atingir um 50% do tamanho original (de direita para esquerda), ao mesmo tempo que se mantém constante o diâmetro da árvore basilar a 100% do seu tamanho original. Em seguida descendo linha por linha, é possível observar como há um aumento do efeito sobre a taxa de disparo, quando a diminuição do diâmetro da árvore apical, interage com a redução do diâmetro da árvore basilar.

Além disso, uma linha diagonal desde o primeiro ponto que representa a taxa de disparo quando a morfologia está nas suas dimensões originais (i.e. o ponto no qual o valor dos diâmetros é 1), até o ponto no qual os dois diâmetros são reduzidos até em 50% (coordenada em decimal 0.5, 0.5), representaria uma situação na qual os dois diâmetros são reduzidos simultaneamente na mesma magnitude quadro por quadro.

Descendo por esta diagonal, é possível observar o efeito combinado da redução nestas duas variáveis sobre a taxa de disparo, levando a um aumento maior na taxa do disparo que o efeito individual da diminuição em só um dos diâmetros. Isso acontece em todas as interações morfológicas avaliadas (Figura 10, 12, 13), exceto ao avaliar o efeito combinado de uma redução simultânea no diâmetro e no comprimento da árvore basilar (Figura 13), na qual o efeito destas duas variáveis sobre o padrão de disparo, pode ser explicado principalmente pelo efeito da redução só do diâmetro (primeira linha horizontal de acima para abaixo); em comparação, há uma diminuição só do comprimento (primeira linha vertical de direita a esquerda). De fato, o efeito observado da combinação na redução simultânea destas duas variáveis em 50%, é basicamente o mesmo efeito de uma redução só do diâmetro na mesma magnitude, mesmo quando existe um efeito significativo sobre a taxa de disparo quando se reduz só comprimento.

Um outro fato interessante é que mesmo quando há um aumento significativo sobre a taxa de disparo, pelo efeito combinado da redução em duas variáveis (Figura 10, 12, 13), este aumento é muito menor que a soma do efeito pela modificação de cada variável independentemente (Figuras 10, 11, 12, 13), o que reafirma a não linearidade não só do efeito da morfologia sobre o padrão de disparo, mas do efeito combinado e da interação entre variáveis morfológicas.

Ao se comparar o efeito combinado de diferentes variáveis morfológicas, mas pertencentes à mesma árvore dendrítica, é possível observar que uma modificação na árvore apical apresenta um efeito muito maior sobre o padrão de disparo, em relação ao mesmo tipo de modificação mas na árvore basilar. Por exemplo, a combinação da

redução no diâmetro e no comprimento da árvore dendrítica apical teve um efeito muito maior sobre a taxa de disparo (Figura 12 e 15), em comparação ao efeito combinado da redução do diâmetro e comprimento da árvore basilar (Figura 13 e 15).

Esse mesmo efeito diferencial da árvore dendrítica apical e basilar sobre o aumento da taxa de disparo, foi observado em todos os parâmetros avaliados (Figura 14). De fato, o efeito da combinação da redução do diâmetro e comprimento da árvore apical, foi maior em todos os parâmetros em comparação com o efeito da mesma combinação mas na árvore basilar (Figura 14).

A magnitude do efeito observado sobre o padrão de disparo das diferentes combinações foi de maior a menor em: (1) Redução da latência para a geração do primeiro disparo; (2) Aumento da taxa de disparo; (3) Diminuição na média do intervalo interdisparo; (4) Aumento na amplitude da despolarização; (5) Redução do comprimento do potencial de ação; e (6) Aumento na amplitude da repolarização.

Um outro resultado interessante é o efeito desses mesmos parâmetros, mas quando há uma redução simultânea do diâmetro e comprimento nas duas árvores dendríticas (Figura 14). Quando isso acontece, o efeito é maior do que a combinação de uma redução no diâmetro e comprimento só da árvore apical, e ainda maior a essa mesma combinação na árvore basilar (Figura 14). Um fato interessante é que o efeito da modificação simultânea da árvore apical e basilar, não é equivalente à soma do efeito da modificação das duas variáveis morfológicas de cada árvore separadamente. Isso, somado ao comportamento não linear já descrito, permite inferir com mais força que os

mecanismos através dos quais as variáveis morfológicas interagem entre elas e exercem o seu efeito sobre as diferentes características do padrão de disparo, possuem uma natureza altamente não linear.

6 CONCLUSÕES

O nosso modelo neural prediz que, mesmo mantendo constantes todos os mecanismos biofísicos envolvidos nas dinâmicas dos canais iônicos, pequenas mudanças na morfologia dendrítica são suficientes para exercer efeitos significativos sobre a geração de potenciais de ação, e sobre o padrão no qual eles são gerados.

Ainda disso, segundo os nossos resultados, é possível sugerir que alterações na morfologia dendrítica do mesmo tipo às observadas na epilepsia, se refletiriam num aumento importante do comportamento elétrico dos neurônios piramidais, e na sua geração de potenciais de ação. Isso é muito interessante pois permite indagar sobre a possibilidade de algum tipo de relação causal nas correlações encontradas *in vivo* e *in vitro*, entre modificações na morfologia dendrítica e a epilepsia.

Estes resultados também contribuem para uma explicação teórica, para o fenômeno conhecido como o paradoxo do dendrito epileptiforme, na qual os neurônios, mesmo perdendo superfície para inervação glutamatérgica, poderiam estar apresentando um aumento na atividade elétrica, como consequência da redução na morfologia dendrítica.

7 REFERÊNCIAS

- AITKEN, J.T. Observations on the larger anterior horn cells in the lumbar region of the cat's spinal cord. **Journal Anatomy.**, v. 89, p. 571, 1955.
- BASTIAN, J.; NGUYENKIM, J. Dendritic Modulation of burst-like firing in sensory neurons. **Journal Neurophysiology**, v. 85, p. 10-22, 2000.
- BERNARD et al. Acquired dendritic channelopathy in temporal lobe epilepsy. **Science** v. 305, p. 532-535, 2004.
- BROWN, K.M.; GILLETTE, T.A.; ASCOLI, G.A. Quantifying neuronal size: Summing up trees and splitting the branch difference. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 19, p. 485-493, 2008.
- CHKLOVSKII, D.B. Synaptic connectivity and neuronal morphology: two sides of the same coin. **Neuron**, v. 43, p. 609–17, 2004.
- COLLING, S.B. et al. Dendritic shrinkage and dye-coupling between rat hippocampal CA1 pyramidal cells in the tetanus toxin model of epilepsy. **Brain Research**, v. 741, p. 38-43, 1996.
- ENGEL, J.Jr.; PEDLEY, T.A. **Epilepsy: a comprehensive textbook**, 2nd Ed. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia. 2008.
- DOIRON, B.; LAING, C.; LONGTIN, A.; MALER, L. Ghostbursting: a novel neuronal burst mechanism. **Journal Computational Neuroscience**. v. 12, p. 5–25, 2002.
- DONOHUE, D.E.; ASCOLI, G.A. A comparative computer simulation of dendritic morphology. **Plos, Computational Biology**, v. 4(6): e1000089. Doi: 10.1371, 2008.
- FOX, C.A.; BARNARD, J.W. A quantitative study of the Purkinje cell dendritic branchlets and their relationship to afferent fibres. **Journal Anatomy**, v.91, p. 299-313, 1957.
- GLOBUS, A. Brain morphology as a function of presynaptic morphology and activity. In **Developmental neurophysiology of sensory deprivation**. Academic Press. New York, 1975.
- GRAVES, T.D. Ion Channels and Epilepsy. **Quarterly Journal of Medicine.**, v. 99, p. 201-217, 2006.
- HAUSER, W.A.; ANNEGERS, J.F.; KURLAND, L.T. Prevalence of epilepsy in Rochester, Minnesota: 1940–1980. **Epilepsia** v. 32, p. 429–445, 1991.
- HÄUSSER, M. Storing memories in dendritic channels. **Nature Neuroscience**, v. 7(2), p. 98-100, 2004.

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

JIANG, M., et al. Spine loss and other persistent alterations of hippocampal pyramidal cell dendrites in a model of early-onset epilepsy. **The Journal of Neuroscience** v. 18(20), p. 8356-8368, 1998.

KIM, H.G.; CONNORS, B.W. Apical dendrites of the neocortex: Correlation between Sodium and Calcium-dependent Spiking and Pyramidal Cell Morphology. **The Journal of Neuroscience**, v. 13 (12), p; 5301-5311, 1993.

KRICHMAR, J. L. et al. Effects of dendritic morphology on CA3 pyramidal cell electrophysiology: a simulation study. **Brain Research**, v. 941, p. 11-28, 2002.

KURZ et al. A cellular mechanism for dendritic spine loss in the pilocarpine model of status epilepticus. **Epilepsia**, v. 49(10), p, 1696-1710, 2008.

LERCHE, H.; JURKAT-ROTT, K.; LEHMANN-HORN, F. Ion Channels and Epilepsy. **American Journal of Medical Genetics**, v. 106, p. 146-159, 2001.

LONDON, M.; HÄUSSER, M. Dendritic computation. **Annual Review Neuroscience** v. 28, p. 503-532, 2005.

MAGEE, J.C. Dendritic integration of excitatory synaptic input. **Nature Reviews**, v. 1, p. 181-190, 2000.

MAINEN, Z.F., et al. A model of spike initiation in neocortical pyramidal neurons. **Neuron**, v. 15, p. 1427-1439, 1995.

MAINEN, Z.F.; SEJNOWSKI, T.J. Influence of dendritic structure on firing pattern in model neocortical neurons. **Nature**, v. 382, p. 363-366, 1996.

MAINEN, Z.F.; SEJNOWSKI, T.J. Modeling active dendritic processes in pyramidal neurons. In C. Koch e L. Segev (Eds.), **Methods in Neuronal Modeling**, Cambridge: MIT Press, 1998.

MASON, A.; LARKMAN, A. Correlations between morphology and electrophysiology of pyramidal neurons in slices of rat visual cortex. II. Electrophysiology. **The Journal of Neuroscience**, v. 10(5), p. 1415-1428. 1990.

McCORMICK, D.A. et al. Comparative electrophysiology of pyramidal and sparsely spiny stellate neurons in the neocortex. **Journal of Neurophysiology**, v. 54(4), p. 782-806, 1985.

MEHTA, M.R. Cooperative LTP can map memory sequences on dendritic branches. **Trends in Neurosciences**, v. 27(2), p. 69-71, 2004.

MIZIELINSKA, S.M. Ion Channels in Epilepsy. **Biochemical society transactions**, v. 35, p. 1077-1079, 2007.

MULTANI, P. et al. Neocortical dendritic pathology in human partial epilepsy: a quantitative Golgi study. **Epilepsia** v. 35(4), p. 728-736, 1994.

RALL, W. **The theoretical foundations of dendritic function**, Cambridge, Massachusetts. The MIT Press, 1995.

SEGAL, M. Dendritic spines and long-term plasticity. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 6(4), p. 277-284, 2005.

SHAEFER, A.T. et al. Coincidence detection in pyramidal neurons is tuned by their dendritic branching pattern. **Journal of Neurophysiology**, v. 89, p. 3143-3154, 2003.

SCHEIBEL, M.E.; CRANDALL, P.H.; SCHEIBEL, A.B. The hippocampal-dentate complex in temporal lobe epilepsy. A Golgi study. **Epilepsia**, v. 15(1), p. 55-80, 1974.

SCHWARTZKROIN, P. **Encyclopedia of basic epilepsy**. Elsevier. USA, 2009.

SHADÉ, J.P.; BAXTER, C.F. Changes during growth in the volume and surface area of cortical neurons in the rabbit. **Experimental Neurology**, v. 2, p. 158-178, 1960.

SHOLL, D.A. The surface area of cortical neurons. **Journal of Anatomy**, v. 89, p. 571-572, 1995.

SINGLE, S.; HAGG, J.; BORST, A. Dendritic computation of direction selectivity and gain control in visual interneurons. **The journal of Neuroscience**, v. 17(16), p. 6023-6030, 1997.

SINGLE, S.; BORST, A. Dendritic integration and its role in computing image velocity. **Science**, v. 281, p. 1848-1850, 1998.

STEINLEIN, O.K. Genetic mechanisms that underlie epilepsy. **Nature Reviews**, v. 5, p. 400-408, 2004.

STUART, G., SPRUSTON, N., HÄUSSER, M. **Dendrites** (Second Edition). Oxford University Press. New York, 2008.

SWANN, J.W. The spine loss paradox: Clues to mechanisms and meaning. **Epilepsy Currents**, v. 8(6), p. 168-169, 2008.

SWANN, J.W. et al. Spine loss and other dendritic abnormalities in epilepsy. **HIPPOCAMPUS**, v. 10, p. 617-625, 2000.

TRAUB, R.D. Neocortical pyramidal cells: A model with dendritic calcium conductance reproduces repetitive firing and epileptic behavior. **Brain Research**, v. 173, p. 243-257, 1979.

VAN ELBURG, R.A.J.; VAN OUYEN, A. Impact of dendritic size and dendritic topology on burst firing in pyramidal cells. **PLoS Computational Biology**, v. 6(5): e1000781 doi: 10.1371/journal.pcbi.1000781, 2010.

VETTER, P., ROTH, A., HÄUSSER, M. Propagation of action potentials in dendrites depends on dendritic morphology. **J. Neurophysiology**, v. 85, p. 926-937, 2001.

YOUNG, J.Z. Anatomical considerations. **EEG Clinical Neurophysiology**, v. 10, p. 9-11, 1958.

YU F.H. et al. Reduced Sodium Current in GABAergic Interneurons in a Mouse Model of Severe Myoclonic Epilepsy in Infancy. **Nature Neuroscience**, p. 1142-1149, 2006.

YUSTE, R., TANK, D.W. Dendritic integration in mammalian neurons, a century after Cajal. **Neuron**, v. 16, p. 701-716, 1996.

WASHINGTON, S.D.; ASCOLI, G.A.; KRICHMAR, J.L. A statistical analysis of dendritic morphology's on neuron electrophysiology of CA3 pyramidal cells. **Neurocomputing**, v. 32-33, p. 261-269, 2000.

WESTRUM, L.E.; WHITE, L.E.; WARD, A.A. Morphology of the experimental epileptic focus. **Journal of Neurosurgery**, v. 21, p. 1033-46, 1964.

ZENG et al. Kainate seizures cause acute dendritic injury and actin depolymerization in vivo. **The Journal of Neuroscience**, v. 27(43), p. 11604-11613, 2007.