

**WALTER SANTOS**

**ANÁLISE ESTATÍSTICA DO ELETROCORTICOGRAMA DURANTE O  
FENÔMENO DA DEPRESSÃO ALASTRANTE EM CÓRTEX CEREBRAL DE  
RATOS NUTRIDOS E DESNUTRIDOS**

**Recife**

**2007**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE ESTATÍSTICA E INFORMÁTICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOMETRIA**

**ANÁLISE ESTATÍSTICA DO ELETROCORTICOGRAMA DURANTE O FENÔMENO  
DA DEPRESSÃO ALASTRANTE EM CÓRTEX CEREBRAL DE RATOS NUTRIDOS  
E DESNUTRIDOS**

**WALTER SANTOS**

Dissertação submetida ao  
Programa de Pós- Graduação em  
Biometria da Universidade Federal  
Rural de Pernambuco para  
obtenção do título de Mestre em  
Biometria.

**ORIENTADOR:** Dr. Romildo de Albuquerque Nogueira

**RECIFE - 2007**

Ficha catalográfica  
Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central – UFRPE

S237a Santos, Walter  
Análise estatística do eletrocorticograma durante o fenômeno da depressão alastrante em córtex cerebral de ratos nutridos e desnutridos / Walter Santos. -- 2007.  
87 f. : il.

Orientador : Romildo de Albuquerque Nogueira  
Dissertação (Mestrado em Biometria) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Estatística e Informática.  
Inclui apêndice e bibliografia

1. Eletrocorticograma
  2. Depressão Alastrante
  3. Dimensão fractal
  4. Coeficiente de Hurst
  5. Espaço de fase
  6. Caos
- I. Nogueira, Romildo de Albuquerque  
II. Título

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE ESTATÍSTICA E INFORMÁTICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOMETRIA

ANÁLISE ESTATÍSTICA DO ELETROCORTICOGRAMA DURANTE O  
FENÔMENODA DEPRESSÃO ALASTRANTE EM CÓRTEX CEREBRAL DE RATOS  
NUTRIDOS E DESNUTRIDOS

WALTER SANTOS

Dissertação defendida e aprovada pela banca examinadora em 28 de fevereiro  
de 2007.

ORIENTADOR: *RANogueira*  
Prof. Dr. Romildo de Albuquerque Nogueira-UFRPE

EXAMINADORES: *Laélia Pumilla Botelho Campos*  
Profª. Drª. Laélia Pumilla Botelho Campos-UFRPE

*Rosângela*  
Profª. Drª. Rosângela Paula Texeira Lessa-UFRPE

*CBarbosa*  
Prof. Dr. Catão Temístocles Freitas Barbosa-UFPE

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar agradeço a Deus tudo que conquistei nessa vida e continuarei conquistando ao longo da minha existência.

Aos meus familiares agradeço o apoio e incentivo constante, sem medir sacrifícios, dando sua importante parcela de contribuição para a conclusão deste trabalho.

Ao meu orientador Romildo Nogueira agradeço eternamente porque sem a sua valiosa orientação jamais chegaria a esse grande momento de minha vida.

Aos amigos e colaboradores Catão Barbosa, Rubem Guedes e George Jimenez agradeço o incentivo constante e a contribuição de seus conhecimentos e experiências.

Aos professores Eufrázio de Sousa, Gauss Cordeiro, Borko Stosic, Paulo de Paula, Adélia Oliveira, Cláudia Dezotti, Romildo Nogueira e Tatyana Stosic, que diretamente deu-me uma parcela de contribuição muito significativa na minha formação de biometrista, vou ficar sempre agradecido ao longo da vida.

Aos meus colegas da biometria Adalmeres Vasconcelos, Ana Virginia, Cristiane Almeida, Cristiane Rocha, Joanne Medeiros, Luciano Souza, Oscar Raposo, Richarlyson Alves e Simone Simões agradeço a parceria nos estudos e o clima familiar do dia-a-dia dentro e fora da sala de aula.

Aos meus queridos amigos do Laboratório de Biofísica Teórica e Computacional – LABITEC – Ana Carolina, Antônio Oliveira, Bruno Tenório, Edbhergue Costa, Hellen White, Heliovânio Bandeira, Jeine Emanuele e José Augusto agradeço o apoio incondicional e a contribuição para esse trabalho.

Finalmente, agradeço ao Coordenador do Programa de Pós-graduação em Biometria, professor Eufrázio de Souza, por acreditar em nosso projeto e por sua dedicação paternal aos alunos da biometria 2005/2006. E agradeço-lhe ainda por sua incansável luta a fim da aprovação do Programa de Doutorado em Biometria, um sonho de todos os “Biometristas” formados pela UFRPE, esperando que se torne realidade em 2008.

## LISTA DE TABELAS

01- Dimensão fractal (D) e coeficiente de Hurst (H) dos ECoG's de ratos nutridos.....	36
02- Dimensão fractal (D) e coeficiente de Hurst (H) dos ECoG's de ratos Desnutridos.....	37
03- Resultados do teste de normalidade (Teste de Shapiro-Wilks) da dimensão fractal (D) e o do coeficiente de Hurst (H) para os animais nutridos.....	38
04- Resultados do teste de normalidade (Teste de Shapiro-Wilks) da dimensão fractal (D) e o do coeficiente de Hurst (H) para os animais desnutridos.....	38
05- Significância estatística da dimensão fractal (D) para os ratos nutridos.	39
06- Significância estatística do coeficiente de Hurst (H) para os ratos nutridos.....	40
07- Significância estatística da dimensão fractal (D) para os ratos desnutridos.....	40
08- Significância estatística do coeficiente de Hurst (H) para os ratos desnutridos.....	41
09- Significância estatística da dimensão fractal (D) dos grupos nutridos versus os desnutridos.....	41
10- Significância estatística do coeficiente de Hurst (H) dos grupos nutridos versus os desnutridos.....	42

## LISTA DE FIGURAS

01- Sinapse química.....	06
02- Sinapse elétrica.....	07
03- Imagem do cérebro.....	09
04- Imagem do cérebro humano mostrando a área do córtex.....	10
05- Eletrocorticograma.....	16
06- ECoG identificando o fenômeno da DA precedida da avalanche.....	17
07- ECoG do experimento de Leão.....	19
08- Imagem do ECoG (série temporal) e seu espaço de fase.....	24
09- Esquema de montagem do eletrocorticograma.....	28
10- Espaço de fase como arquivo de extensão BMP.....	31
11- Dimensão fractal mostrada no gráfico duplo-log.....	31
12- ECoG e o espaço de fase antes, na avalanche e após à DA para ratos nutridos.....	34
13- ECoG e o espaço de fase antes, na avalanche e após à DA para ratos desnutridos.....	35

## RESUMO

A Depressão Alastrante (DA) foi descrita como uma onda de supressão da atividade elétrica do córtex em resposta a estímulos corticais. Neste trabalho investigamos a dinâmica da atividade cerebral registrada no eletrocorticograma (ECoG) a partir da dimensão fractal do espaço de fase e do coeficiente de Hurst (parâmetro que indica a presença de memória) do ECoG. Os ECoG's foram obtidos através de registros extracelulares na região cortical de ratos nutridos e desnutridos e digitalizados num microcomputador PC compatível. No sinal do ECoG pode-se observar que após o estímulo ocorreu um aumento, durante poucos milissegundos, da atividade elétrica cortical (fenômeno denominado de avalanche) seguido de uma depressão dessa atividade elétrica a nível mais baixo que da atividade elétrica normal do córtex (fenômeno denominado depressão alastrante - DA). Após alguns minutos a atividade elétrica cortical retorna ao seu nível de normalidade, aquele observado antes da estimulação cortical. Para realizar uma análise estatística da série temporal da atividade elétrica cortical (ECoG) dois parâmetros foram utilizados: i) a dimensão fractal (D) do espaço de fase do ECoG, e ii) o coeficiente H da análise R/S de Hurst, parâmetro que identifica correlação de longo alcance (memória) em séries temporais. Durante o fenômeno da avalanche os valores da dimensão fractal do espaço de fase ( $D = 1,34 \pm 0,06$ ,  $n = 30$ , para animais nutridos e  $D = 1,31 \pm 0,07$ ,  $n = 32$ , em animais desnutridos) e da memória ( $H = 0,52 \pm 0,13$ ,  $n = 30$ , em animais nutridos e  $H = 0,61 \pm 0,21$ ,  $n = 32$ , em animais desnutridos) foram significativamente diferentes dos valores dos parâmetros tanto de antes da DA ( $D = 1,27 \pm 0,10$ ,  $n = 41$  e  $H = 0,32 \pm 0,07$ ,  $n = 41$ , para animais nutridos e  $D = 1,18 \pm 0,14$ ,  $n = 29$  e  $H = 0,44 \pm 0,13$ ,  $n = 29$ , em animais desnutridos) como de depois da DA ( $D = 1,28 \pm 0,10$ ,  $n = 39$  e  $H = 0,35 \pm 0,10$ ,  $n = 39$ , para animais nutridos e  $D = 1,15 \pm 0,15$ ,  $n = 30$  e  $H = 0,43 \pm 0,13$ ,  $n = 30$ , em animais desnutridos). Um teste de normalidade de Shapiro-Wilks mostrou que os parâmetros D e H não seguem distribuições normais. Por esta razão, um teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e um teste post-hoc de Dunn foram usados na análise estatística. Esta análise mostra que em animais nutridos a dimensão fractal do espaço de fase do ECoG na avalanche é diferente das dimensões fractais (anterior e posterior a DA) com níveis de significância inferiores a 1%. O coeficiente H do ECoG na avalanche também difere dos H's (antes da DA e após a DA) com níveis de significância inferiores a 0,1%. Para os animais

desnutridos os parâmetros D e H na avalanche também diferiram significativamente dos seus valores antes e depois da DA. Quando animais nutridos e desnutridos foram comparados, diferenças significativas foram observadas entre os valores dos parâmetros D e H somente antes da DA. Concluindo assim, que a atividade elétrica do córtex cerebral de ratos nutridos e desnutridos durante o fenômeno da depressão alastrante é um processo caótico, reversível e apresenta memória.

## ABSTRACT

The Cortical Spreading Depression (CSD) was described as a wave of electric cortical activity suppression in reply to cortical stimulation. In this work we investigate the dynamics of the cerebral activity, registered in the electrocorticogram (ECoG), from the fractal dimension of the space of phase and the coefficient of Hurst (parameter that indicates the memory presence) of the ECoG. ECoG's had been extracellularly recorded in the cerebral cortex of nourished and malnourished rats and analysed with a PC-compatible microcomputer. In the signal of the ECoG can be observed that after the stimulation occurred an increase, during few milliseconds, of the cortical electric activity (called avalanche phenomenon), followed of a depression of this electric activity for levels lower than normal electric activity of the cortex (called cortical spreading depression - CSD phenomenon). After some minutes the cortical electric activity returns to its level of normality, that one observed before the cortical stimulation. To carry through an analysis statistics of the time series of the cortical electric activity (ECoG), two parameters had been used: (i) the fractal dimension (D) of the space of phase of ECoG and (ii) coefficient H of R/S analysis of Hurst, parameter that identifies long-range correlation (memory) in time series. During the phenomenon of the avalanche the values of the fractal dimension of the space of phase ( $D = 1,34 \pm 0,06$ ,  $n = 30$ , for nourished animals and  $D = 1,31 \pm 0,07$ ,  $n = 32$ , in animals malnourished) and of the memory ( $H = 0,52 \pm 0,13$ ,  $n = 30$ , in nourished animals and  $H = 0,61 \pm 0,21$ ,  $n = 32$ , in animals malnourished) were significantly different of the values of those parameters as before ( $D = 1,27 \pm 0,10$ ,  $n = 41$  and  $H = 0,32 \pm 0,07$ ,  $n = 41$ , for nourished animals and  $D = 1,18 \pm 0,14$ ,  $n = 29$  and  $H = 0,44 \pm 0,13$ ,  $n = 29$ , in animals malnourished) as after the CSD ( $D = 1,28 \pm 0,10$ ,  $n = 39$  and  $H = 0,35 \pm 0,10$ ,  $n = 39$ , for nourished animals and  $D = 1,15 \pm 0,15$ ,  $n = 30$  and  $H = 0,43 \pm 0,13$ ,  $n = 30$ , in animals malnourished). The Shapiro-Wilks test discloses that the parameters D and H do not follow a normal distribution. Thus a non-parametric test of Kruskal-Wallis and the post-hoc test of Dunn were used in the statistic analysis. That analysis showed that in nourished animals the fractal dimension of the space of phase of the ECoG in the avalanche is different of the fractal dimension (before and after the CSD), with equal levels of significance,  $p \leq 0,01$ . The coefficient H of the ECoG in the avalanche differs also from the H's (before of the CSD and

after the CSD), with equal levels of significance,  $p \leq 0,001$ . For the malnourished animals the parameters D and H in avalanche differs significantly from values also before and after the CSD. When animals nourished and malnourished were compared, significant differences had been observed between the values of the parameters D and H only before of the CSD. In conclusion, the electric activity of the cerebral cortex of rats nourished and malnourished during the phenomenon of the spreading depression is a chaotic, reversible process and presents memory.

# ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	iv
LISTA DE TABELAS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vi
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÍNDICE.....	xi
I- INTRODUÇÃO.....	1
II – REVISÃO DA LITERATURA.....	4
2.1 - O Cérebro.....	4
2.2 – O Eletroencefalograma (EEG) e o Eletrocorticograma (ECoG).....	14
2.3 – A Depressão Alastrante (DA).....	16
2.4 – Teoria do caos.....	22
2.5 – Transformação do ECoG em um objeto no espaço de fase.....	23
III - OBJETIVOS.....	26
3.1. Objetivo geral.....	26
3.2. Objetivos específicos.....	26
IV – MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1 - Métodos experimentais.....	27
4.2 - Métodos teóricos.....	29
4.2.1. Análise do registro do ECoG.....	29
4.2.2. Determinação do espaço de fase.....	30
4.2.3. O cálculo da dimensão fractal.....	30
4.2.4. Análise da correlação de longo alcance do sinal do ECoG.....	32
4.2.4.1. A Análise R/S de Hurst.....	32
V – RESULTADOS.....	34
5.1. - ECoG e espaço de fase.....	34
5.2 – Dimensão fractal e coeficiente de Hurst do sinal do ECoG.....	36
5.3. – Análise estatística.....	37
VI – DISCUSSÃO.....	43
VII – CONCLUSÕES.....	46
VIII - REFERÊNCIAS.....	47
Apêndice 1.....	51
Apêndice 2.....	74

## I- INTRODUÇÃO

O cérebro é o sistema mais complexo conhecido pelos pesquisadores da área de sistemas dinâmicos. A complexa atividade do cérebro é gerada por uma rede de neurônios interligados através de conexões chamadas de sinapses. A sinalização nesta complexa rede de neurônios ocorre através de impulsos elétricos que se propagam por intermédio dos axônios e dendritos e são transmitidos de uma célula a outra através das conexões sinápticas. Os sinais que chegam a um neurônio podem ou não disparar atividade elétrica naquele neurônio, ou seja, podem permitir ou não a passagem de sinal elétrico neste trecho da rede neural. A superposição de todos esses sinais constitui a atividade elétrica cerebral que reflete e ao mesmo tempo comanda a interação com o meio ambiente e o resto do organismo.

A análise de sistemas complexos como a atividade elétrica cerebral tem sido realizada usando-se a teoria do caos. O termo caos se refere ao comportamento imprevisível de sistemas determinísticos não-lineares. Os sistemas caóticos caracterizam-se: i) por apresentarem um conjunto de pontos no espaço de fase de baixa dimensão fractal em relação a um sistema aleatório; ii) pela alta sensibilidade às condições iniciais; iii) por apresentarem grandes mudanças no seu comportamento em resposta a pequenas variações em valores de parâmetros que descrevem o sistema – fenômeno denominado bifurcação.

O registro da atividade elétrica cortical teve início com o eletroencefalograma (EEG) em 1929 e evoluiu para o eletrocorticograma (ECoG). O ECoG é um sinal elétrico que reflete a atividade do cérebro, obtido registrando-se a voltagem ao longo do tempo, através de eletrodos colocados no córtex de animal ou de humano. Um gráfico cartesiano dessa voltagem obtida em determinado instante “ $i+1$ ” (considerado como uma variável “ $V_{i+1}$ ”) em função da voltagem registrada no instante anterior (considerado como uma variável “ $V_i$ ”) é denominado espaço de fase do ECoG. Gráficos do ECoG e do EEG em espaço de fase têm sido usados por alguns autores para analisar a atividade cerebral em diferentes condições experimentais. Por exemplo, Rapp et al.(1988) mostraram que a dimensão fractal do conjunto do espaço de fase da atividade cerebral é menor em repouso que durante a execução de uma tarefa aritmética. Mayer-Kress e Layne (1987) mostraram que a dimensão fractal do conjunto de pontos do EEG no espaço de fase

atinge um valor fixo mesmo que a dimensão desse espaço de fase seja aumentada, sugerindo que as flutuações do EEG podem ser resultantes de um processo caótico determinístico.

Neste trabalho será usado o espaço de fase do ECoG como ferramenta para a análise do fenômeno da depressão alastrante (DA), através do parâmetro denominado dimensão fractal(D).

Uma outra ferramenta importante para investigar o ECoG é a análise R/S de Hurst (H), que é usada neste trabalho para investigar a existência de correlação de longo alcance (memória) na série temporal da atividade elétrica cortical, durante o fenômeno da DA e nos instantes anteriores e posteriores a DA.

A depressão alastrante, descoberta por Aristides Leão (LEÃO, 1944a), é um fenômeno em que ocorre uma queda acentuada na amplitude da atividade elétrica espontânea observada no eletrocorticograma (ECoG) após estímulo artificial. Essa depressão do sinal do ECoG se propaga para as regiões vizinhas e, após certo intervalo de tempo, a atividade elétrica espontânea retorna ao normal. O estímulo pode ser de natureza diversa: desde uma leve pressão sobre a superfície cortical, um flash de luz, choque elétrico ou substância química. No entanto, até hoje não se sabe qual é o mecanismo molecular subjacente ao fenômeno.

Espera-se que a DA possa ajudar no diagnóstico de doenças ainda pouco compreendidas como a epilepsia e a enxaqueca. "Não conhecemos o mecanismo responsável pela depressão, mas compreendemos que ela está profundamente ligada ao metabolismo" afirma o Prof. Hiss Martins Ferreira do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, um dos pesquisadores que mais contribuiu para a compreensão do fenômeno da DA (MARTINS-FERREIRA et al., 1974). Foi sugerido que algumas substâncias participassem da gênese e propagação da DA como o potássio (GRAFSTEIN, 1956), o cloreto (GUEDES et al., 1980), o cálcio (SIESJO e BENGTTSSON, 1989), os aminoácidos excitatórios (GUEDES et al., 1988; HICKS et al., 1996; HARREVELD e FIFKOVA, 1970) e outros neurotransmissores (CABRAL-FILHO et al., 1995; GUEDES et al., 1987,1988,1992, 2002; RODRIGUES et al.,1988).

Tem sido mostrado que a DA está relacionada a doenças neurodegenerativas (DO CARMO e SOMJEN, 1994). Recentemente foi demonstrado que a DA é capaz de induzir um aumento ou potenciação na resposta evocada no tecto óptico de anfíbios (GUEDES et al., 2005). O fato da DA poder influenciar nas respostas

evocadas pode auxiliar na compreensão dos estudos da potenciação de longa duração (PLD), que é uma resposta evocada no hipocampo, descrita como modelo da base da aprendizagem e memória. Além do córtex cerebral, a DA pode ocorrer em diversas outras regiões do sistema nervoso central, inclusive no tectum óptico (FIFTKOVÁ, 1966). Nesta pesquisa, será analisada a dinâmica da atividade cerebral observada no registro do ECoG – antes da DA, na avalanche, e depois da DA – em animais nutridos e desnutridos.

A desnutrição é um dos fatores extrínsecos que provocam alterações no sistema nervoso. Ivanovic et al. (2000) realizaram um estudo com grupos de indivíduos que sofreram desnutrição severa no primeiro ano de vida e foram avaliados na idade adulta, comparando-os com outro grupo que não havia sofrido o stress da desnutrição. Eles encontraram no primeiro grupo diminuição da capacidade intelectual com valores médios de escores de QI 25 pontos mais baixos quando comparados aos controles.

Pesquisas realizadas em ratos submetidos à desnutrição no início da vida mostraram diminuição dos pesos corporais e encefálicos, que persiste mesmo após recuperação nutricional (ROCHA DE MELO e GUEDES, 1997). Alterações na excitabilidade do sistema nervoso central (BRONZINO et al., 1986) e periférico (DA SILVA et al., 1987) já foram demonstradas em animais submetidos à desnutrição em períodos precoces da vida.

Espera-se, que a aplicação das novas ferramentas matemáticas e computacionais propostas nesse trabalho para análise do ECoG possibilite compreender melhor a influência da DA na atividade cerebral e no funcionamento normal e patológico do cérebro.

## II – REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 - O Cérebro

O Cérebro é um órgão do sistema nervoso central situado no interior da caixa craniana de diversos animais vertebrados, dentre eles o ser humano. Divide-se em córtex cerebral e estruturas sub-corticais e apresenta dois hemisférios que se caracterizam pelo pregueamento das suas superfícies, que formam os giros, os quais são separados por sulcos ou fendas. A sua rede de neurônios interligados através de conexões sinápticas gera uma complexa atividade cerebral. O tecido que forma o cérebro (nervoso) possui além de neurônio também células gliais. Um neurônio típico é composto de: soma (ou corpo celular), prolongamentos dendríticos e do axônio. O corpo celular é a “usina” metabólica do neurônio. Muitos dendritos brotam do soma, porém apenas um axônio sai dele. Os neurônios são células que através da propagação de potenciais elétricos controlam as informações no cérebro. As células gliais não conduzem potencial de ação nem formam sinapses funcionais com outras células, embora possam ser polarizadas passivamente pela atividade neural adjacente. As funções dessas células são complexas e não totalmente compreendidas. Em linhas gerais, elas têm o papel de fornecer sustentação aos neurônios e desempenhar funções metabólicas e nutritivas. Embora até há poucos anos se pensasse que a função das células da glia fosse essencialmente a de nutrir, isolar e proteger os neurônios, estudos mais recentes sugerem que os astrócitos (tipo de célula glial) podem ser tão críticos para certas funções corticais quanto os neurônios. Essas células podem: contribuir na regulação do fluxo sanguíneo cerebral; atuar como escoadouro ou fonte de íons; isolar eletricamente os axônios e suas sinapses como também fagocitar fragmentos neurais após lesão. Um desses tipos de células, os oligodendrócitos, formam a bainha de mielina, ao se enrolarem várias vezes em torno de um axônio. Essa bainha não apenas isola os axônios uns dos outros, porém principalmente limita o fluxo de corrente através do axolema, exceto nos nodos de Ranvier. Os oligodendrócitos são encontrados, sobretudo entre os axônios mielinizados do cérebro e da medula espinhal. As células de Schwann formam as bainhas de mielina, de maneira muito parecida, nos nervos periféricos.

Além dos oligodendrócitos existem mais quatro tipos de células gliais; são eles: astrócitos; células endoteliais; micróglia e células de Schwann.

Os neurônios, as células responsáveis pelo processamento e transmissão de informação no sistema nervoso, com a exceção de determinados interneurônios que não têm axônios longos, possuem axônios que conduzem potenciais de ação por distâncias consideráveis. A bainha de mielina, quando existente, começa perto do soma, logo após o cone axônico. No final do axônio a bainha de mielina termina e se originam ramos desmielinizados que vão formar sinapses com outros neurônios, fibras musculares, etc. Em alguns neurônios, o soma e os dendritos e, possivelmente, as porções pré-terminais do axônio não são excitáveis eletricamente. Em outros neurônios o soma e dendritos sofrem alterações de condutância dependentes de voltagem a íons específicos, e isso representa uma reação ativa e não-linear aos sinais elétricos, bastante diferentes da reação passiva e linear de um cabo passivo. Da mesma forma, tem-se percebido que nem toda transferência de informações entre as sinapses e o segmento inicial do axônio precisa ser conduzida de forma eletrotônica.

No cérebro existem mais de 100 bilhões de células neurais individuais, interconectadas em sistemas que produzem nossa percepção do mundo exterior. A conexão que ocorre entre essas células neurais individuais é chamada sinapse. Portanto, a **sinapse** é o local especializado de comunicação entre dois neurônios. A complexidade cerebral pode ser atribuída ao fato de cada neurônio poder conectar-se com mais de 10 mil outros neurônios através de **sinapses químicas** e também serem capazes de fazer **sinapses elétricas** entre si. A diferença entre as sinapses químicas e elétricas baseia-se na facilidade com que a atividade elétrica é transferida a outra célula: As sinapses elétricas ou junções eletrolíticas (“gap-junctions”) comunicam diretamente as duas células em contato, por meio de grandes poros aquosos conhecidos por conexinas, enquanto, a sinapse química possui a constituição básica semelhante à junção neuromuscular que é uma membrana pré-sináptica, fenda sináptica e a membrana pós-sináptica.

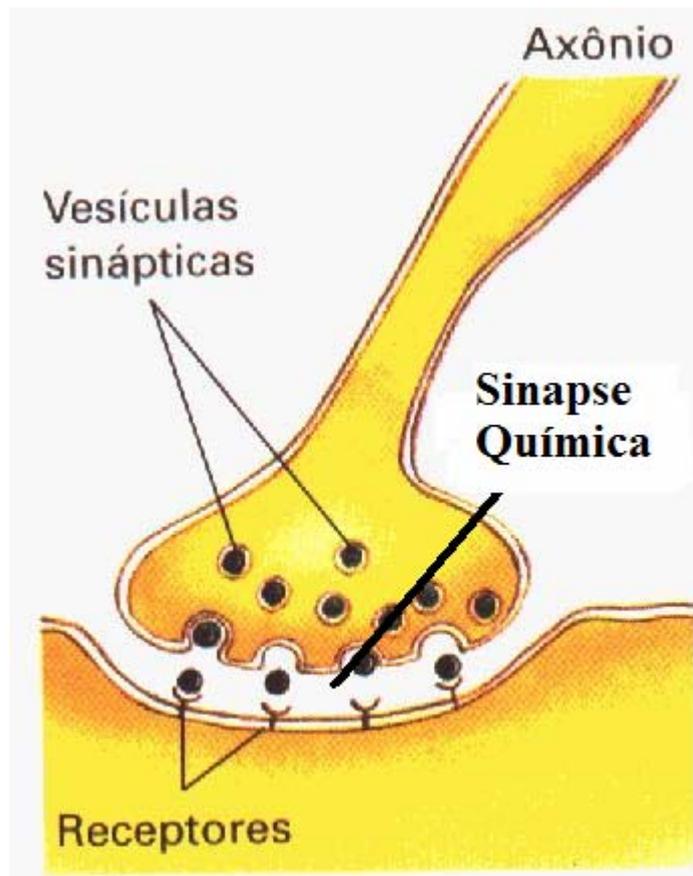
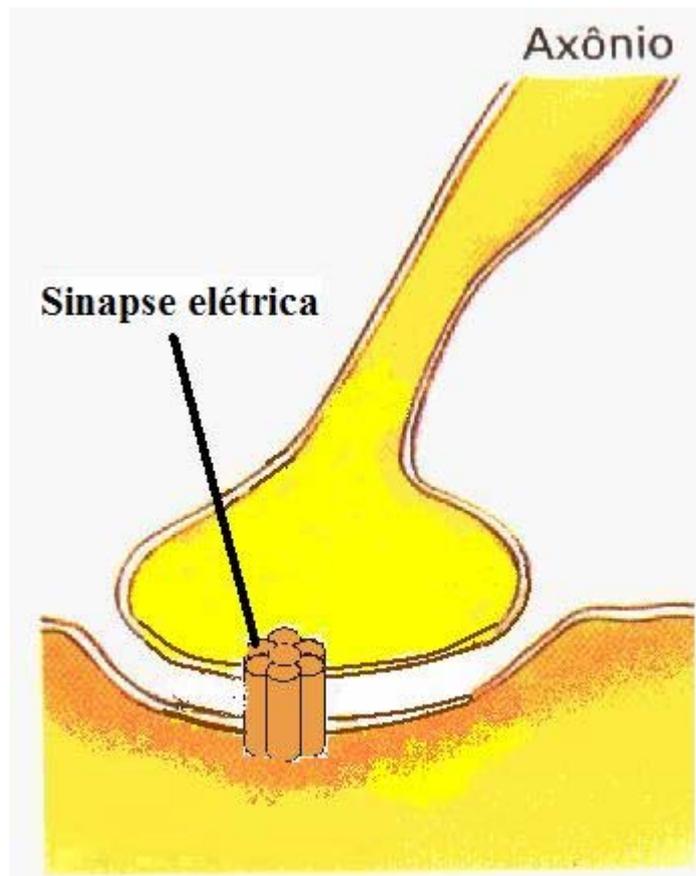


Figura 1 - Sinapse química

O mecanismo de ação da sinapse química inicia-se com a despolarização da membrana pós-sináptica que induz a abertura dos canais iônicos de cálcio que levam a liberação das vesículas de neurotransmissores na fenda sináptica que se difundem até a membrana pós-sináptica, e assim, ativando os receptores acoplados a canais iônicos e/ou a proteína G que fosforilam uma proteína alvo podendo ser um canal iônico (veja Figura 1). O tempo de resposta da sinapse química é lento devido ao tempo de difusão do neurotransmissor através da fenda sináptica.



**Figura 2 - Sinapse elétrica**

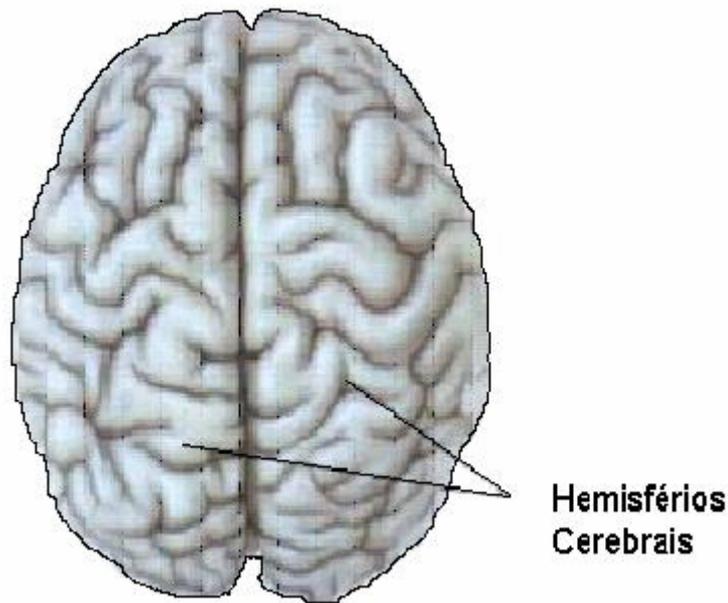
A sinapse elétrica responde instantaneamente (veja Figura 2), enquanto as sinapses químicas que possuem receptores acoplados a canais iônicos ativam-se em milissegundos e aquelas que possuem receptores metabotrópicos que são acoplados a proteína G são ativados mais lentamente, chegando a levar de segundos até horas para as células pós-sinápticas responderem. As sinapses químicas e elétricas variam em densidade no tecido nervoso durante o desenvolvimento, isto é, na fase embrionário e recém-nascido existe uma grande densidade de sinapses elétricas, enquanto, na fase jovem e adulta a densidade dessas sinapses entre os neurônios diminui, entretanto, demonstra-se que as células gliais continuam se comunicando através de “gap-junctions”. Na fase adulta 2/3 dos contatos sinápticos são químicos entre os neurônios. Aos neurônios principais atribui-se a transmissão do impulso nervoso, por outro lado, os interneurônios são capazes de inibir ou ativar a atividade dos outros neurônios. As células gliais são em torno de 50 para cada neurônio e a sua participação na transmissão do impulso nervoso restringe-se a remoção do excesso de

neurotransmissores após a sua liberação. Os sinais que chegam a um neurônio podem ou não disparar atividade elétrica naquele neurônio, ou seja, podem permitir ou não a passagem de sinal elétrico neste trecho da rede neural. A superposição de todos esses sinais constitui a atividade elétrica cerebral observada no eletroencefalograma.

As ações cerebrais são subjacentes a todo comportamento, não apenas a comportamentos motores relativamente simples como andar e comer, mas a todas as complexas ações cognitivas que associamos ao comportamento especificamente humano como pensar, falar e criar obras de arte.

Em termos anatômicos o sistema nervoso central (SNC) divide-se em duas partes o cérebro e a medula espinhal. O cérebro por sua vez divide-se em seis regiões: os hemisférios cerebrais que se apresentam de forma bilaterais e simétricos e constituem o que chamamos de córtex cerebral sendo dividido em direito e esquerdo, o bulbo, a ponte, o cerebelo, o mesencéfalo e o diencéfalo, conforme Figuras 3 e 4 adaptadas do Kandel e colaboradores (1995).

Os **hemisférios cerebrais** consistem no córtex cerebral e três estruturas situadas em sua profundidade: os gânglios da base, o hipocampo e o núcleo amigdalóide. Os gânglios da base participam na regulação do desempenho motor; o hipocampo participa em diversos aspectos do armazenamento das memórias e o núcleo amigdalóide coordena as respostas autonômicas e endócrinas, em conjunto com os estados emocionais. Sobre os dois hemisférios cerebrais, fica a camada extremamente enrugada do córtex cerebral, que é dividido em quatro lobos: frontal, parietal, temporal e occipital. Os lobos cerebrais são designados pelos nomes dos ossos cranianos nas suas proximidades e que os recobrem. O lobo frontal fica localizado na região da testa; o lobo occipital, na região da nuca; o lobo parietal, na parte superior central da cabeça e os lobos temporais, nas regiões laterais da cabeça, por cima das orelhas.



**Figura 3** - Imagem do cérebro, identificando a sua bilateralidade e a sua simetria nos dois hemisférios cerebrais.

A **medula espinhal** é encarregada de receber e processar a informação sensorial oriunda da pele, das articulações e dos músculos dos membros e do tronco e controlar os movimentos dos membros e do tronco. O tronco cerebral contém diversos grupos distintos de corpos celulares, os núcleos dos nervos cranianos. Alguns desses núcleos recebem informação da pele e dos músculos da cabeça; outros controlam a eferência motora para os músculos da face, do pescoço e dos olhos. Ainda, outros são especializados em receber informação advinda dos sentidos especiais: da audição, do equilíbrio e do paladar.

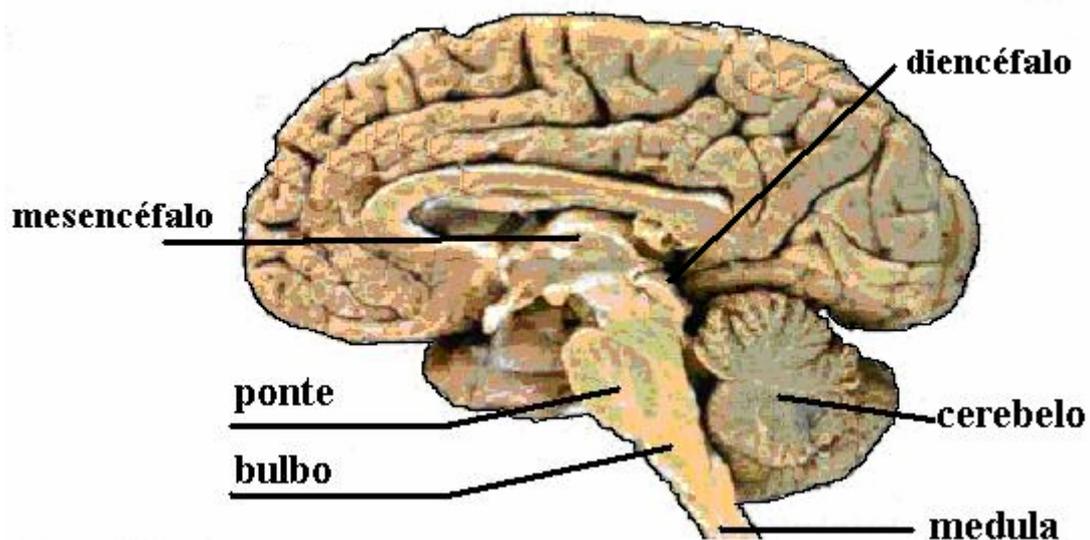
O **bulbo**, que fica situado imediatamente acima da medula espinhal, contém diversos centros responsáveis por funções autonômicas vitais, tais como digestão, respiração e controle da frequência cardíaca.

A **ponte** fica acima do bulbo e transmite informação sobre o movimento do cérebro para o cerebelo.

O **cerebelo** fica por trás da ponte e é ligado ao tronco cerebral por diversos tratos de fibras, chamados de pedúnculos. Modula a força e o alcance do movimento e participa do aprendizado de habilidades motoras.

O **mesencéfalo**, situado rostralmente à ponte, controla muitas funções sensoriais e motoras, incluindo os movimentos oculares e a coordenação dos reflexos visuais e auditivos.

O **diencéfalo** fica rostral ao mesencéfalo e contém duas estruturas. Uma é o tálamo, que processa a maior parte da informação que chega ao córtex cerebral, vinda do resto do sistema nervoso central. A outra é o hipotálamo, que regula as funções autonômicas, endócrinas e viscerais.



**Figura 4** - Imagem do cérebro humano mostrando a área do córtex na qual são identificadas as sete regiões principais do sistema nervoso central.

O **córtex cerebral humano** é um tecido fino (como uma membrana) que tem uma espessura entre 1 e 4 mm e uma estrutura laminar formada por 6 camadas distintas de diferentes tipos de corpos celulares de neurônios. Perpendicularmente

às camadas, existem grandes neurônios chamados neurônios piramidais que ligam as várias camadas entre si e representam cerca de 85% dos neurônios no córtex. Os neurônios piramidais estão interligados uns aos outros através de ligações excitatórias e pensa-se que a sua rede é o «esqueleto» da organização cortical. Podem receber entradas de milhares de outros neurônios e podem transmitir sinais a distâncias da ordem de centímetros, atravessando várias camadas do córtex. Os estudos realizados indicam que cada célula piramidal está ligada a tantas outras células piramidais quantas forem as suas sinapses (cerca de 4 mil).

Os diversos sistemas do organismo, como o sistema cardiovascular ou o digestivo, dependem fundamentalmente de uma nutrição adequada para seu o bom desempenho. Nesse sentido o trabalho do professor Rubem Guedes e colaboradores (2004) deixa bem claro no seu artigo - nutrição adequada: a base do funcionamento cerebral - a importância nutricional para o desenvolvimento do cérebro, conforme descrição abaixo:

“Para o cérebro funcionar eficientemente na vida adulta, requer-se, como condição fundamental, que ele tenha se desenvolvido de forma adequada no início da vida. Nos mamíferos, o desenvolvimento do cérebro começa já na embriogênese e continua durante uma fase relativamente curta da vida pós-natal. Essa fase, em seres humanos, termina ao final dos primeiros dois a quatro anos de vida. No rato albino, o mamífero mais usado para estudos experimentais sobre o tema, tal fase compreende as três primeiras semanas da vida pós-natal, ou seja, o período do aleitamento. Nesse período, o cérebro é mais vulnerável às agressões do ambiente, inclusive às nutricionais, devido ao fato de que nessa fase os processos implicados no desenvolvimento cerebral ocorrem com muita rapidez. Esses processos compreendem, sobretudo a hiperplasia (aumento da quantidade de células nervosas), a hipertrofia (aumento do seu tamanho), a mielinização (formação nas fibras nervosas, de um envoltório de material lipídico - a mielina, fundamental para a transmissão eficiente dos impulsos elétricos neuronais) e a organização das sinapses (pontos de comunicação entre os neurônios). A deficiência de um ou mais nutrientes na alimentação diária pode, sem dúvida, perturbar a organização estrutural (histológica) e bioquímica de um ou mais dos processos acima descritos, levando, geralmente, a repercussões sobre as suas funções. Dependendo da intensidade e da duração das alterações nutricionais, as conseqüências terão impacto maior ou menor sobre todo o organismo. Funções neurais básicas, como o

processamento de informações sensoriais (por meio dos nossos cinco órgãos dos sentidos) e a percepção das sensações correspondentes, bem como a execução de tarefas motoras (produção de movimentos, resultantes da ativação dos músculos pelo sistema nervoso) podem ser afetadas em extensões variadas e de forma diretamente proporcional à intensidade e à duração das deficiências nutricionais. Isto também se aplica no caso de funções neurais mais elaboradas, como aquelas envolvendo cognição, consciência, emoção, aprendizado e memória, processos cuja perturbação na infância pode levar a condições patológicas importantes para a vida adulta, tanto no que se refere à qualidade da vida do indivíduo, como à da sua contribuição para a sociedade em que vive.”

Por outro lado é extremamente importante se conhecer o outro lado da moeda, ou, colocando melhor, o outro lado do cérebro (desnutrido). Isso fica esclarecido quando se faz a seguinte pergunta: Como funcionaria o cérebro submetido a alterações nutricionais? Para responder a esta indagação, diferentes abordagens têm sido utilizadas, visando compreender até que ponto distúrbios nutricionais afetam aspectos da organização e funções cerebrais (GUEDES, 1985 e GUEDES et al., 1996 ). Sob essas condições, a atividade eletrofisiológica produzida pelo sistema nervoso pode ser bastante afetada, tanto ao nível periférico (nos nervos que levam informações do cérebro para os demais setores do organismo e vice-versa), quanto ao nível central (processamento de informações nas conexões intrínsecas, dentro do cérebro). Evidências experimentais indicam que animais desnutridos apresentam elevada susceptibilidade a processos relacionados à excitabilidade neural, tais como reatividade aumentada a estímulos aversivos e facilitação para se obter crises convulsivas induzidas experimentalmente. O estudo da excitabilidade cerebral pode ser feito registrando-se e analisando-se a atividade elétrica produzida pelo cérebro. Este, enquanto está vivo, produz espontaneamente (isto é, sem qualquer estímulo intencional aplicado pelo pesquisador) um padrão de ondas elétricas de caráter oscilatório, o eletroencefalograma (abreviadamente, EEG). Na vigência de um estímulo sensorial específico (por exemplo, um flash de luz diante dos olhos), o cérebro produz potenciais elétricos, que se distinguem daqueles das ondas espontâneas do EEG pelo menos por três características principais: (i) têm forma gráfica característica (têm amplitude e duração distintas daquelas da atividade espontânea); (ii) apresentam relação temporal com o estímulo que os provocou; (iii) são produzidos em regiões específicas do cérebro, as quais estão

funcionalmente relacionadas ao canal sensorial estimulado (se o estímulo é luminoso, os potenciais elétricos dele decorrentes são produzidos na região occipital, que é a que processa as informações visuais). Tais potenciais elétricos constituem a resposta do cérebro ao estímulo sensorial (no caso, o flash de luz) e constituem o que chamamos de atividade elétrica provocada ou evocada.

No Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio (LAFINNT), pesquisa-se experimentalmente o funcionamento do sistema nervoso utilizando-se uma abordagem eletrofisiológica. Para isso, usa-se como modelo o fenômeno conhecido como “depressão alastrante da atividade elétrica cerebral”(COSTA-CRUZ & GUEDES, 2006).

Para registrar a sinalização da complexa atividade elétrica cerebral as clínicas médicas usam o eletroencefalograma, obtendo-se assim o registro de milhões de neurônios na superfície cortical.

## **2.2 – O Eletroencefalograma (EEG) e o Eletrocorticograma (ECoG)**

O Eletroencefalograma (EEG) é uma técnica de exame cerebral usada desde 1929, depois da descoberta do psiquiatra alemão Hans Berger de que o cérebro gerava uma atividade elétrica capaz de ser registrada. Na prática o Eletroencefalograma é realizado através da colocação de eletrodos na pele da cabeça do paciente que são conectados a um poderoso amplificador de corrente elétrica. Esse amplificador aumenta a amplitude do sinal elétrico gerado pelo cérebro milhares de vezes e, através de um dispositivo chamado galvanômetro, as oscilações para mais ou para menos dessa corrente elétrica são inscritas numa tira de papel sob a forma de ondas. Os eletroencefalógrafos mais modernos permitem o registro simultâneo de até 40 canais (eletrodos).

Fisiologicamente sabe-se que as características das ondas elétricas cerebrais variam conforme o funcionamento (situação funcional) do órgão. As maiores variações se observam entre os estados de vigília, ou seja, entre o estar acordado, dormindo, sonolento, em coma, etc. O eletroencefalograma é usado em neurologia e psiquiatria, principalmente para auxiliar no diagnóstico de doenças do cérebro, tais como a epilepsia, as desordens do sono e alguns tipos de tumores cerebrais.

Nas últimas décadas a informática foi acoplada ao método eletroencefalográfico e novos horizontes se descortinaram. Uma dessas novas aplicações do EEG é tentar localizar com exatidão os focos epilépticos ou tumores cerebrais. Os focos epilépticos são pequenas regiões no cérebro onde a atividade elétrica se apresenta anormal. Pela observação, o neurologista que interpreta o EEG é capaz de deduzir onde exatamente esta anormalidade está situada.

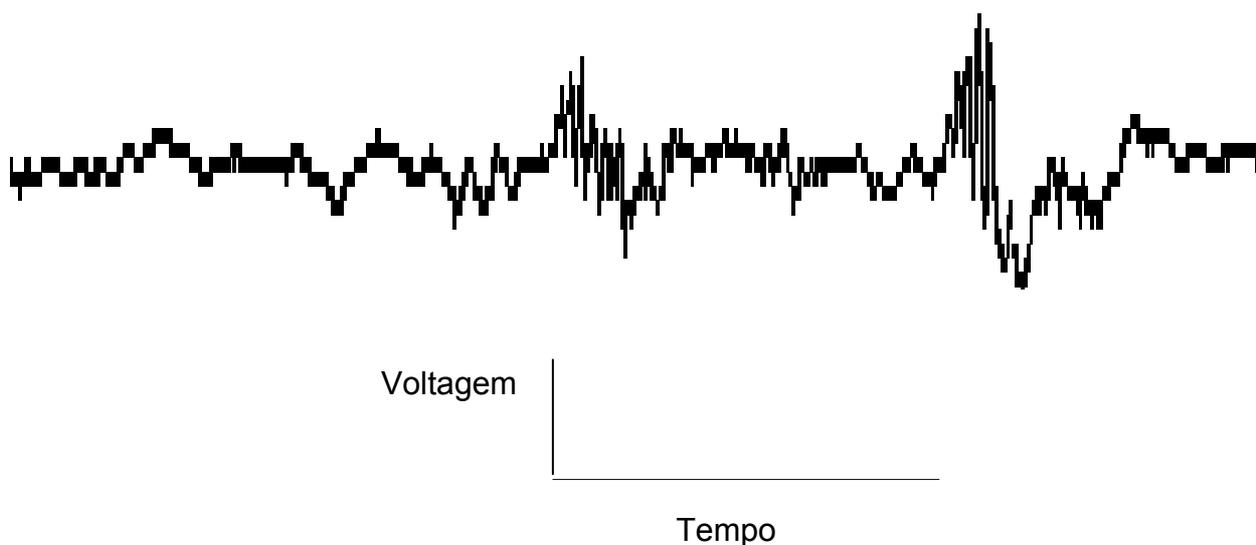
Quando se pretende estudar a atividade elétrica diretamente no córtex, com a colocação de eletrodos sobre a dura-mater, na superfície do córtex, a técnica utilizada para registrar os sinais elétricos é denominada de eletrocorticograma (ECoG). É um sinal elétrico da atividade do cérebro obtido registrando-se a voltagem ao longo do tempo através de eletrodos posicionados no córtex de animal ou de humano. Assim, o ECoG registra os impulsos elétricos da atividade neuronal em um determinado intervalo de tempo. Essa técnica tem os mesmos objetivos do EEG, ou

seja permite obter informações da atividade elétrica cerebral de animal ou de humano, para detectar possíveis anormalidades cerebrais.

A informática, através de softwares próprios e de cálculos matemáticos complexos, tem sido usada para obter-se melhor resolução dos registros do ECoG. O acoplamento de métodos digitais de análise de sinais ao ECoG, permite o processamento de melhores imagens pelos computadores, bem como reprocessar todos os sinais originalmente registrados.

A diferença do ECoG para o EEG (eletroencefalograma) é que este último registra a atividade de milhões de neurônios na superfície do crânio enquanto o ECoG registra a atividade na superfície ou no interior do córtex cerebral. O tipo de registro de voltagem, em função do tempo, apresentado pelo EEG e ECoG, é denominado de série temporal (veja Fig. 5). Portanto, trata-se de um sistema não-linear bastante estudado pelos pesquisadores de sistemas dinâmicos, a fim de obter respostas a respeito de sistemas complexos, através do uso de ferramentas computacionais e estatísticas adequadas.

Novas ferramentas estatísticas para análise desse tipo de série temporal serão introduzidas neste trabalho visando identificar o comportamento da dinâmica cerebral e, particularmente, a presença de memória nos registros do ECoG (série temporal). Uma dessas ferramentas é o traçado do espaço de fase do ECoG, que permite identificar se um sistema resulta de um processo aleatório ou caótico. Uma outra ferramenta é a aplicação da análise R/S de Hurst, que permite a determinação do coeficiente de Hurst ( $H$ ), um parâmetro que identifica memória numa série temporal.



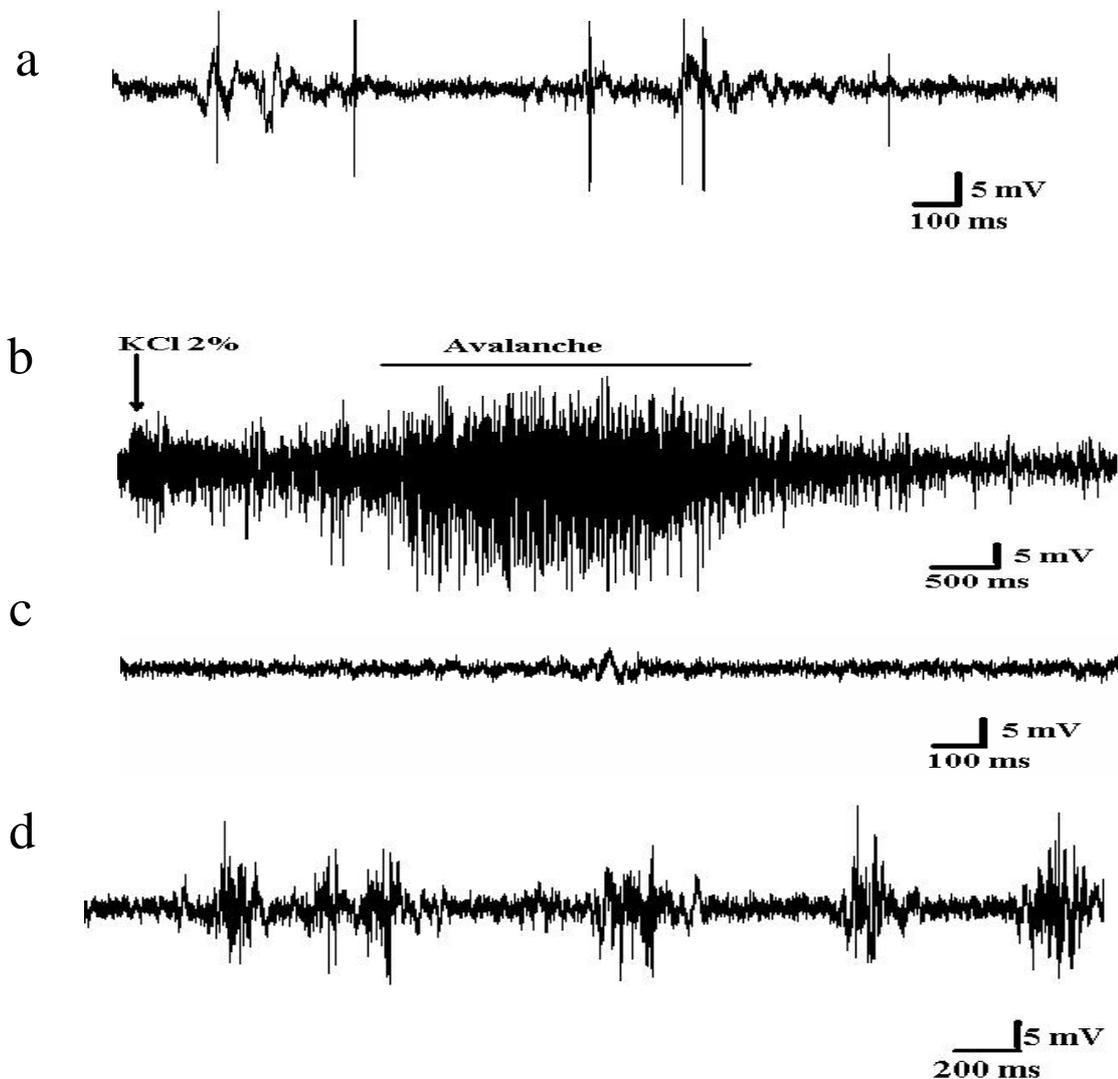
**Figura 5** – Eletrocorticograma, mostrando a voltagem ao longo do tempo.

Quem fez uso do eletrocorticograma para registrar a DA pela primeira vez foi Aristides Leão, quando pesquisava a epilepsia experimental em coelhos, colocando uma fileira de eletrodos no córtex, a fim de registrar a atividade elétrica do animal (coelho) após um estímulo artificial. Com os resultados obtidos no ECoG Leão identificou uma depressão da atividade elétrica do cérebro, cujo fenômeno ele chamou de Depressão Alastrante (DA).

### **2.3 – A Depressão Alastrante (DA)**

O primeiro estudo conhecido na literatura da “Depressão Alastrante” (DA) pertence a um brasileiro – Aristides A. Pacheco Leão – que, em agosto de 1944, apresentou o seu primeiro trabalho de pesquisa sobre o tema ao departamento de Fisiologia da Escola Médica de Harvard, Boston, Massachusetts. Esse estudo visava a busca de novos dados experimentais que permitissem compreender o eletrograma cortical que ocorre na epilepsia experimental quando o cérebro é estimulado eletricamente. Nesses experimentos, Leão observou que a estimulação elétrica do córtex de coelhos induzia uma redução espontânea da atividade elétrica cortical. Porém, antes de ocorrer essa redução espontânea da atividade elétrica cortical, Leão também observou que imediatamente ao estímulo houve um disparo da

atividade elétrica por alguns milissegundos precedendo a DA, no qual além do aumento da frequência do sinal ocorria uma elevação na sua amplitude (veja a Fig.6). Naquele momento ele não considerou algo relevante, comentando apenas no final do seu trabalho a ocorrência desse fenômeno sem apresentar nenhum destaque ao longo de sua narrativa. Mesmo depois de ter elaborado outros trabalhos relacionados à DA, Leão não fez abordagem sobre a avalanche.

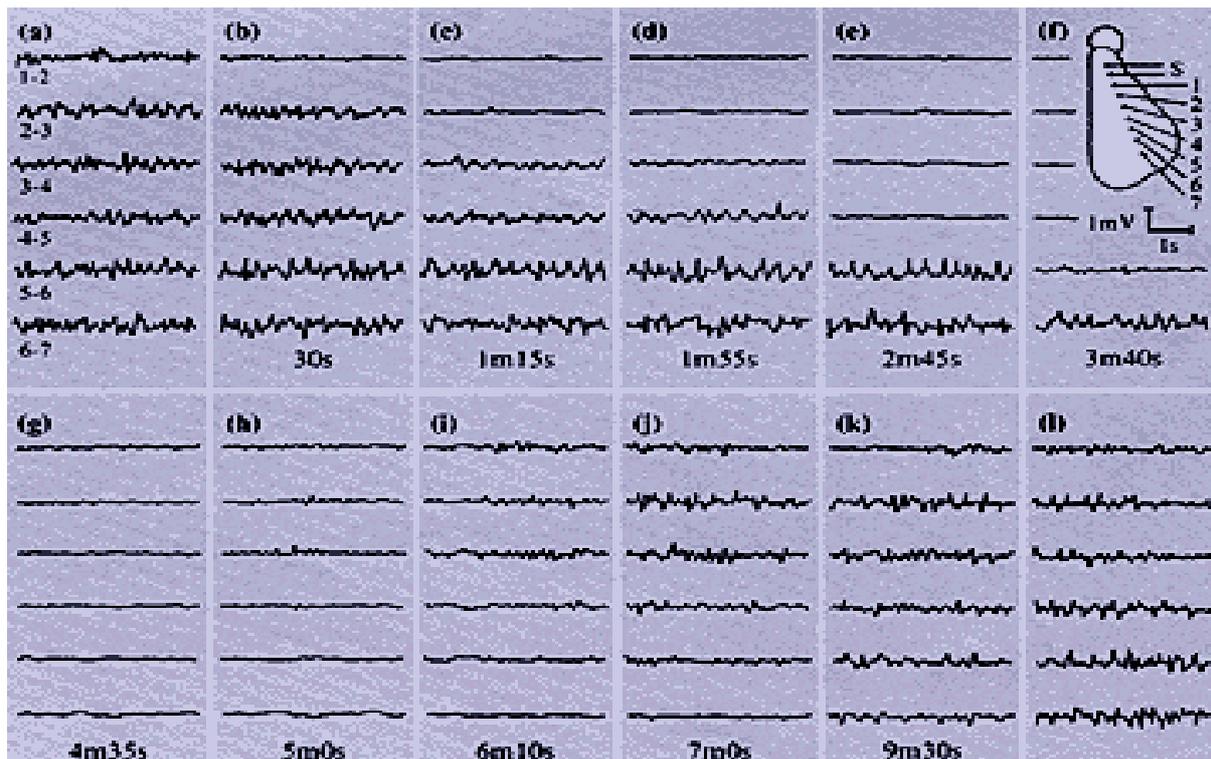


**Figura 6** - Registros do EcoG. **a**-antes da Depressão Alastrante (DA). **b**-Durante a Avalanche. **c**-durante a DA e **d**- após a DA.

Beggs e Plenz (2004) estudando a propagação de potenciais de campos locais (LFPs- Local Field Potentials) em circuitos corticais mostraram que esses potenciais podem ser descritos por equações que governam avalanches. Esses autores sugerem que uma atividade elétrica cerebral do tipo avalanche pode estar relacionada com a transmissão e armazenamento de informação (memória) no cérebro. Eles afirmam, ainda, que o fenômeno de avalanche da atividade elétrica no cérebro, apesar de durar alguns poucos milissegundos, tem seus padrões espaço-temporais estáveis e repetitivos durante muitas horas. Porém, ainda não se conhece o real papel da avalanche na atividade elétrica relacionada à depressão alastrante.

No protocolo experimental usado por Leão, 7 (sete) eletrodos de registros da atividade elétrica foram colocados em diferentes posições do córtex cerebral de um coelho, em um hemisfério apenas, além de 1 (um) eletrodo de estimulação instalado no mesmo hemisfério cerebral. A Figura 7 mostra um esquema do protocolo experimental sugerido por Leão.

Os registros mostram uma depressão intensa e duradoura das oscilações elétricas espontâneas cerebrais entre os eletrodos de registros 1 e 2 a partir de 30 segundos e até 6 minutos após a estimulação elétrica do córtex. Em todos os outros eletrodos ocorre o mesmo fenômeno (veja figura 7), evidenciando que a depressão da atividade cortical se propaga para regiões adjacentes do córtex cerebral. Neste experimento observou-se que a DA se propaga concentricamente desde o local do estímulo, em todas as direções, atingindo áreas cada vez mais distantes do córtex, ao passo que a região onde se inicia o fenômeno vai se recuperando progressivamente, havendo restabelecimento da atividade elétrica basal ao fim de 5 a 10 minutos.



**Figura 7** – O ECoG do experimento de Leão aplicando 7 eletrodos de registros no córtex de um coelho (LEÃO, 1944a).

Alterações iônicas (GRAFSTEIN, 1956) na impedância (LEÃO E MARTINS-FERREIRA, 1953) e circulatórias (LEÃO, 1944b) foram encontradas no tecido cerebral durante a passagem da DA. Durante a propagação da DA cortical outras atividades também se desenvolvem, sendo mais freqüentemente observada a do tipo ondas lentas, de voltagem contínua de grande amplitude, com componente predominantemente negativo. Observa-se, durante o fenômeno da DA, potenciais rápidos e agudos, normalmente positivos, que se seguem às ondas lentas e que ocorrem em breves descargas ou em sucessões continuadas. Este padrão dura alguns segundos, lembrando o padrão típico de descargas encontradas no eletroencefalograma de humanos portadores de epilepsia. Leão ainda mostrou no seu trabalho que as respostas evocadas por estímulos sensoriais também ficavam deprimidas durante o fenômeno da DA (LEÃO, 1944a).

Tem sido sugerido na literatura que a DA pode estar relacionada a doenças ainda pouco compreendidas como a epilepsia e a enxaqueca. Do Carmo e Somjen

(1994) mostraram que a onda de Leão é semelhante à marcha de um tipo de epilepsia estudada pelo médico inglês Hughlings Jackson (1835-1911).

O estudo da participação de vários íons na gênese e propagação da depressão alastrante contou com a contribuição importante de pesquisadores, entre eles: Grafstein (1956) com o potássio; Guedes et al. (1980) com o cloreto; Siesjo e Bengtsson (1989) com o cálcio; Guedes et al. (1988), Hicks (1996) e Harreveld e Fifkova (1970) com os aminoácidos excitatórios; Cabral-Filho et al. (1995), Guedes et al. (1987), (1988), (1992), (2002) e Rodrigues et al. (1988) com os outros neurotransmissores.

Outro aspecto da DA que é relevante salientar diz respeito à variação lenta da voltagem (VLV) mostrada por Guedes et al., (2004), no qual ele faz uma descrição completa desse mecanismo, citada na íntegra, a seguir:

...“Assim, a DA foi descrita originalmente como uma “onda” reversível e propagável que reduz (“depressão”) a atividade elétrica cerebral (tanto a espontânea como a evocada), acompanhada do aparecimento de uma “variação lenta de voltagem” (VLV) na região do cérebro invadida pelo fenômeno, em resposta à estimulação elétrica, mecânica ou química de um ponto da superfície cerebral (LEÃO, 1944a e LEÃO, 1947). Tanto a depressão do EEG, quanto a VLV, se propaga de forma concêntrica a partir do ponto estimulado, atingindo gradualmente regiões corticais mais e mais distantes, enquanto a área inicialmente deprimida começa a se recuperar (Figura 7). Como regra geral, a recuperação completa do EEG é obtida após 10 a 20 minutos. Ao contrário do EEG, a VLV tem características do tipo “tudo ou nada”, ou seja, a sua presença, com uma “forma de onda” bem definida, com início e fim fáceis de identificar, sempre indica a existência da DA. Por isso, a VLV é muito usada para se calcular a velocidade com que o fenômeno se propaga pelo tecido nervoso. Surpreendentemente, em todos os vertebrados em que já se registrou a DA (desde peixes até mamíferos), a sua velocidade de propagação tem se mostrado notavelmente baixa (alguns mm/min), em comparação com a ordem de grandeza da propagação dos impulsos nervosos em axônios (até dezenas de m/s). Essa peculiar velocidade da DA levou alguns autores a postular um mecanismo humoral para a propagação do fenômeno. Esse mecanismo seria baseado na liberação de um ou mais fatores químicos pelas células neurais, no momento em que elas fossem submetidas à DA. De acordo com tal idéia, à medida que esses compostos se difundissem através do espaço extracelular, como consequência da DA, eles “contaminariam” as células vizinhas, deflagrando então, nelas, a DA. Uma vez “deprimidas” eletricamente, essas células também passariam

a liberar os fatores químicos, que contaminariam novas células, e assim por diante, dando lugar a uma propagação auto-sustentada por essa verdadeira “alça de retro-alimentação positiva”. No entanto, o esclarecimento dos mecanismos finais da DA não foi ainda totalmente atingido, a despeito de que durante essas quase seis décadas, desde a sua descrição inicial, se tenha acumulado um grande volume de informações sobre o fenômeno. Algumas dessas informações são sugestivas de possíveis conexões entre a DA e três patologias humanas relevantes e merecem ser aqui comentadas. Essas patologias são a epilepsia, a enxaqueca com aura e a isquemia cerebral. Durante as observações iniciais sobre a DA, Leão já havia notado que enquanto a atividade espontânea estava deprimida, ondas epileptiformes, semelhantes às que se encontram no EEG de pacientes epiléticos, eventualmente apareciam e também se propagavam, acompanhando o fenômeno (LEÃO, 1944b). Isso levou à idéia de que talvez os mecanismos da DA e da epilepsia tivessem características comuns. A descrição de alterações vasculares durante a DA, similares àsquelas encontradas em pacientes com enxaqueca clássica (hoje chamada “enxaqueca com aura”) levou também a que se associassem os dois fenômenos, em termos de mecanismos (LEHMENKUHNER et al., 1993). Finalmente, por uma lógica semelhante alguns autores têm postulado um importante papel para a DA na fisiopatologia da isquemia cerebral (TAKANO et al., 1995). Em todos os casos, as discussões atuais do tema frequentemente mencionam o possível envolvimento de certos íons, (GUEDES e DO CARMO, 1980 e SIESJO e BENGTSSON, 1989) ou de radicais livres produzidos no tecido nervoso (EL-BACHÁ et al., 1998; GUEDES et al., 1996 e NETTO e MARTINS-FERREIRA, 1987), ou da atividade de neurotransmissores. Neste último caso, tem-se demonstrado que a ativação de diferentes sistemas de neurotransmissores cerebrais resulta em efeitos distintos sobre a DA. Esses efeitos são, em alguns casos, facilitadores e em outros, inibidores do fenômeno. Para uma visão geral dos conhecimentos sobre a DA e das tendências atuais na sua pesquisa, pode-se consultar, dentre outras, as referências (LEHMENKUHNER et al., 1993 e GORJI, 2001). No estudo eletrofisiológico do cérebro submetido a alterações nutricionais, o LAFINNT-Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio - tem utilizado a DA como um indicador da normalidade ou anormalidade cerebral".

Hoje há mais de 1.700 trabalhos experimentais mostrando a DA como um fenômeno cortical capaz de tentar explicar a complexidade da atividade elétrica do cérebro e de outras regiões neuronais a partir de estímulos artificiais já mencionados. Porém, até o momento da conclusão deste estudo, nenhum trabalho

experimental com animais, identificando o comportamento da atividade do córtex cerebral antes da DA, durante (avalanche) e após a DA, existe no acervo literário.

Em trabalhos atuais envolvendo séries temporais decorrentes de registros da atividade elétrica cortical, a teoria do caos tem sido usada frequentemente para tentar explicar a complexidade dos padrões observados no cérebro em atividade. Sendo assim, nesta pesquisa com o fenômeno da DA a sistemática não poderia fugir à regra, pois a DA é mais uma dessas atividades complexas do cérebro.

## 2.4 – Teoria do caos

Um conjunto de objetos que se inter-relacionem é chamado de sistema. Entre os sistemas consideram-se duas categorias: lineares e não-lineares, que divergem entre si na sua relação de causa e efeito. Na primeira, a resposta a perturbação do sistema é diretamente proporcional à intensidade desta perturbação. Já na segunda a resposta não é necessariamente proporcional à intensidade do distúrbio, e é esta a categoria de sistemas que serve de objeto à teoria do caos, mais conhecidos como sistemas dinâmicos não-lineares.

A análise de sistemas dinâmicos não-lineares (complexos) como a atividade elétrica cerebral tem sido realizada usando-se a teoria do caos. O termo caos se refere ao comportamento imprevisível de sistemas determinísticos não-lineares. A **Teoria do Caos** permite transformar uma série temporal num objeto geométrico denominado de **conjunto do espaço de fase**. O espaço de fase pode ser utilizado para distinguir entre sistemas **aleatórios** e **determinísticos**.

Uma série temporal randômica decorre do comportamento aleatório da variável dependente, enquanto numa série temporal caótica a variável dependente pode ser descrita por uma equação ou um conjunto de equações.

Os sistemas caóticos caracterizam-se por apresentarem (i) um conjunto de pontos no espaço de fase de baixa dimensão fractal em relação a um sistema

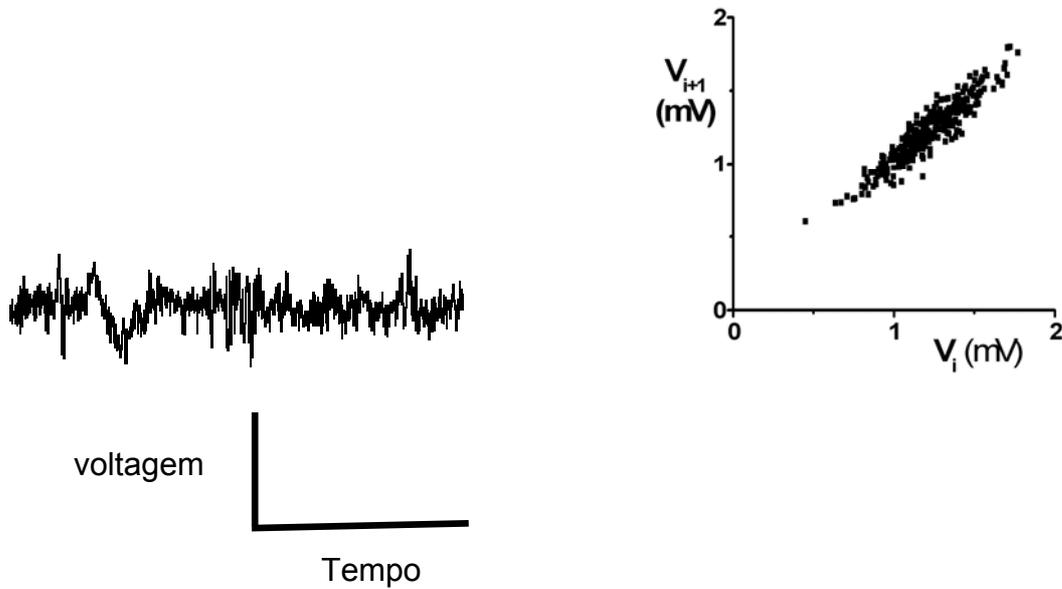
randômico; (ii) alta sensibilidade às condições iniciais; (iii) grandes mudanças no seu comportamento em resposta a pequenas variações em valores de parâmetros que descrevem o sistema – fenômeno denominado de bifurcação.

O conjunto de pontos no espaço de fase é uma construção teórica que requer alguns requisitos básicos. Esses requisitos encontram-se na estrutura da seqüência temporal, que são: (i) as variáveis voltagem (mivolts) e tempo (milessegundos) e (ii) a confirmação de que se trata de um sistema caótico.

## **2.5 – Transformação do ECoG em um objeto no espaço de fase**

Uma maneira de analisar se uma série temporal decorre de um fenômeno randômico (aleatório) ou caótico é a realização da transformação desta série em um objeto no espaço de fase. A série temporal do ECoG, que é um registro da voltagem ao longo do tempo (Figura 8a), pode ser transformada num objeto no espaço de fase traçando-se um gráfico cartesiano da voltagem obtida em determinado instante “ $i+1$ ” (considerado como uma variável “ $V_{i+1}$ ”) em função da voltagem registrada no instante anterior (considerado como uma variável “ $V_i$ ”) (Figura 8b). No sistema randômico o gráfico do espaço de fase apresenta pontos distribuídos aleatoriamente em todo o plano, enquanto no sistema caótico o gráfico representa um conjunto localizado de pontos no espaço. O conjunto dos pontos no espaço de fase para qual o sistema dinâmico necessariamente migra ao passar do tempo (se a função for contínua) ou com o aumento número de iterações (se a função for discreta) é denominado de Atrator (LIEBOVITCH, 1998).

Pode-se calcular a dimensão fractal de um espaço de fase, porém, é necessário levar em consideração algumas propriedades para esse tipo de análise.



**Figura 8** – (a) Imagem do ECoG (série temporal). (b) Espaço de fase do ECoG

Depois da transformação da série temporal em um objeto no espaço (espaço de fase), o próximo passo é a medição desse objeto. Essa medida requer conhecimentos teóricos pertinentes aos sistemas complexos. Como se trata de medir um objeto com característica geométrica não-euclidiana, novos conceitos serão introduzidos aqui, com a finalidade de explicar essa nova geometria, denominada de geometria fractal.

O termo fractal foi introduzido por Benoit Mandelbrot, em 1975, quando ficaram consolidadas as bases da geometria fractal. É dele a frase que ficou famosa por conter uma espécie de *slogan* da nova geometria que se propunha: “Nuvens não são esferas, montanhas não são cones, linhas costeiras não são círculos nem o raio se propaga em linha reta”(MANDELBROT, 1975).

Os fractais são conjuntos cuja forma é extremamente irregular ou fragmentada e que têm, essencialmente, a mesma estrutura em todas as escalas.

As principais propriedades que caracterizam e que permitem definir os conjuntos fractais são as seguintes: 1) auto-similaridade, que pode ser exata ou estatística; 2) dependência de escala; 3) possuir, em geral, uma dimensão fractal não-inteira (NUSSENZVEIG, 1999).

O que é dimensão fractal e como medi-la?

Duas idéias ligadas ao termo “dimensão” são usualmente empregadas: 1) a dimensão cartesiana, proposta por Descartes, caracterizada pelo número de informações (no caso, dadas pelas coordenadas) necessárias para se localizar um ponto no espaço; 2) a noção topológica de espaço. Esta dimensão topológica foi proposta por Poincaré, 1911, e por Brouwer, 1913. Um conjunto tem dimensão topológica  $n$  quando é possível separá-lo com um conjunto de dimensão  $n-1$ . Por esta definição a reta terá dimensão 1 (porque pode ser separada por um ponto), o plano terá dimensão 2 (porque pode ser separado por uma reta), o espaço usual terá três dimensões (porque pode ser separado por um plano). Note-se que nesta definição não há a noção de medida de distância (métrica); trata-se de umas noções topológicas, relacionadas apenas à noção de vizinhança (proximidade) entre os pontos de um conjunto, o que permite a definição de continuidade (NUSSENZVEIG, 1999).

Agora, vamos considerar o aspecto métrico ligado à noção de dimensão. A dimensão de capacidade, definida por Kolmogorov, mede o quanto um conjunto ou objeto fractal preenche o espaço em que está imerso (NUSSENZVEIG, 1999).

Vários métodos são propostos para determinação da dimensão fractal: (i) a dimensão de box-counting; (ii) a dimensão de informação; (iii) a dimensão de correlação; (iv) a dimensão de auto-similaridade; (v) a dimensão de capacidade; (vi) a dimensão de Hausdorff-Besicovitch. Neste trabalho foi usado o método de box-counting para calcular a dimensão fractal do conjunto do espaço de fase. Esta escolha deve-se ao fato desta dimensão ser amplamente conhecida na literatura científica e de ser de fácil utilização.

### **III - OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

O objetivo geral do presente estudo é investigar a dinâmica da atividade cerebral observada no registro do ECoG – antes da DA, na avalanche e após a DA – em ratos nutridos e desnutridos, através da dimensão fractal do espaço de fase e do coeficiente de Hurst do ECoG.

#### **3.2. Objetivos específicos**

1. Analisar o registro da atividade elétrica cortical em ratos nutridos e desnutridos em gráficos de espaço de fase através do cálculo da dimensão fractal (D) do conjunto do espaço de fase antes da DA, na avalanche e após a DA;

2. Investigar a existência de correlação de longo alcance usando o coeficiente de Hurst (H) no registro do ECoG em ratos nutridos e desnutridos antes da DA, na avalanche e depois da DA;

3. Comparar os valores dos parâmetros D e H obtidos a partir da série temporal dos sinais do ECoG entre grupos de ratos nutridos e desnutridos antes da DA, na avalanche e depois da DA.

## IV – MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 - Métodos experimentais

#### Animais

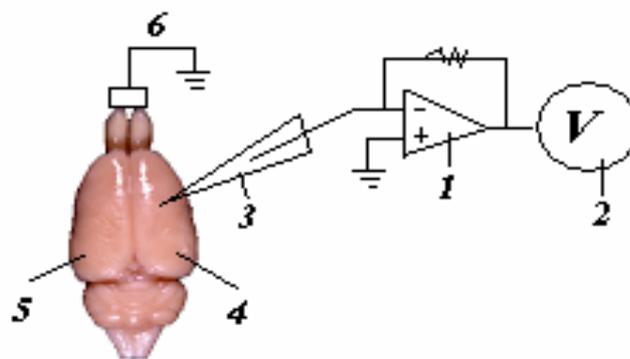
Ratos albinos, machos adultos, da linhagem Wistar, provenientes da colônia do Departamento de Nutrição da UFPE, com idade entre 90 e 120 dias de vida foram submetidos ao registro eletrofisiológico da depressão alastrante cortical (DA), durante a realização de projeto de pesquisa do “Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio” (LAFINNT), do Depto de Nutrição da UFPE. Os experimentos foram realizados pelos professores Catão Temístocles de Freitas Barbosa e Rubem Carlos Araújo Guedes, com a colaboração do aluno de iniciação científica Renato B. Moraes. Esses pesquisadores cederam gentilmente as amostras dos registros digitalizados que foram usados nesta dissertação. Os registros foram obtidos como descrito abaixo.

Vinte e dois (22) ratos foram submetidos ao tratamento cirúrgico necessário para o registro do ECoG, sendo 12 nutridos e 10 desnutridos. Após anestesia com mistura de uretana+cloralose (1.000:40 mg/kg, ip), os ratos receberam uma cânula traqueal de maneira que pudessem respirar espontaneamente. Com a cabeça fixada à base de um aparelho estereotáxico, foi aberta a pele e removido o periósteo até obter-se a exposição da caixa craniana. Foi, então, trepanado um orifício circular sobre um dos hemisférios cerebrais, simetricamente, entre o bregma e a região upilateral, englobando as regiões sensório-motoras (veja figura 9). O mesmo local em que foi colocado o eletrodo de registro (veja na figura 9) serviu também para a estimulação com KCl a 2%. Durante o registro, a temperatura retal foi medida continuamente e mantida em torno de  $37,5 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , por meio de aquecedor elétrico colocado sob o animal (Figura 9).

Os registros extracelulares foram realizados com microeletrodos de vidro (Boro-silicato, World Precision Instruments). Um eletrodo foi colocado na região parietal, no córtex sensório-motor (1,5 a 2,5 mm anterior e 1 a 2 mm lateral ao bregma), para registrar o eletrocorticograma (ECoG) do animal. Um eletrodo de estímulo foi colocado no córtex pré-motor, no outro hemisfério cerebral, para aplicar pulsos quadrados (0.05 ms, 1 mA, 10 Hz). O potencial evocado, assim produzido,

foi observado no ECoG. Um terceiro eletrodo foi colocado sobre os ossos nasais e serviram de referência comum ("eletrodo de referência") ao eletrodo de registro. Os sinais de ECoG foram amplificados e filtrados (10 a 3000 Hz para o ECoG). O ECoG foi digitalizado por um período contínuo de 4 horas em uma placa conversora analógico-digital (DIGIDATA 1322, Axon Instruments Corporation), em um computador IBM compatível. A DA foi provocada uma única vez após 10 minutos de registro de controle, por estimulação química, obtida colocando-se uma pelota de algodão de 1 a 2 mm de diâmetro, embebida em solução de KCl (cloreto de sódio) a 2%, durante 1 minuto sobre um ponto da superfície cortical na região frontal, próximo ao eletrodo de registro. Uma vez deflagrada a DA, a sua propagação foi acompanhada no eletrodo de registro, registrando-se a depressão da atividade elétrica cortical espontânea e o potencial evocado pelo eletrodo de estímulo.

Neste tipo de metodologia utilizamos, além dos eletrodos de alta impedância, um sistema de amortecimento (TMC) com uma gaiola de Faraday para isolar os registros eletrofisiológicos de interferências mecânicas e eletromagnéticas. Foram usados também dois micromanipuladores mecânicos acoplados ao aparelho estereotáxico para que se fizesse o posicionamento preciso dos microeletrodos.



**Figura 9** - Esquema de montagem para obtenção do eletrocorticograma (ECoG) do cérebro do rato. 1. Amplificador. 2. Sistema de aquisição do ECoG. 3. Microeletrodo extracelular. 4. Hemisfério cerebral direito. 5. Hemisfério esquerdo. 6. Eletrodo de referência.

Cada arquivo produzido foi pré-processado pelo programa QuB ([www.QuB.Bufalo.edu](http://www.QuB.Bufalo.edu)), gerando 9 (nove) arquivos (amostras) em média, do tipo texto (ver o apêndice 1), sendo 4 (quatro) antes da DA, 2 (dois) durante a avalanche e 3 (três) após a DA.

## 4.2 - Métodos teóricos

### 4.2.1. Análise do registro do ECoG

Usando o aplicativo QuB 22 arquivos foram pré-processados e possibilitaram a geração de 201 amostras (ECoG's), sendo 110 dos ratos nutridos e 91 dos ratos desnutridos, cujo tamanho (**N**), inicialmente, de cada amostra, ficou situado no intervalo de 1.250 a 65.520 pontos nos diferentes ECoG's. O ECoG registrado num formato DAT do programa Axoscope 10 (Axon Inst. Corp.) foi analisado usando o programa QuB (veja detalhes no apêndice 1) para obtenção de uma seqüência temporal da variação da voltagem em um arquivo no formato de texto (ASCII) que permitisse a viabilidade de aplicação dos demais programas computacionais. Isto porque os arquivos originais apresentavam um tamanho "**N**" superior a um milhão e duzentos mil pontos, sendo inviável, pela limitação dos computadores, para operacionalizar os programas disponíveis. Dessa forma, a redução do tamanho da amostra foi uma solução encontrada a fim de que os programas se tornassem factíveis diante dessa nova estrutura amostral. Além disso, essas novas seqüências temporais possibilitaram a construção do espaço de fase de cada amostra. Com o programa Benoit foi possível determinar a dimensão fractal do espaço de fase, bem como calcular a correlação de longo alcance, definida pelo coeficiente H da análise R/S de Hurst, correspondente a cada registro da série temporal (veja apêndices 1 e 2).

#### 4.2.2. Determinação do espaço de fase

O espaço de fase foi determinado a partir da aplicação do programa Origin 5.0, usando os registros do ECoG (série temporal), obtendo-se para cada registro individual um espaço de fase correspondente. Esse procedimento computacional encontra-se em detalhe no apêndice 1.2.

Alguns trabalhos de natureza experimental têm destacado o espaço de fase para mostrar o grau de correlação existente entre as variáveis envolvidas, quer sejam variáveis de um sistema randômico, quer sejam variáveis de um sistema caótico. Além disso, neste trabalho o conjunto do espaço de fase foi a principal ferramenta para se obter a dimensão fractal, parâmetro importante na identificação de uma série temporal pertencer a um sistema caótico ou a um sistema aleatório.

#### 4.2.3. O cálculo da dimensão fractal

O cálculo da dimensão fractal do espaço de fase de cada registro do ECoG (série temporal) foi determinado pelo método de box-counting.

A dimensão fractal no método de contagem por caixas é obtida cobrindo-se o objeto fractal com  $N(r)$  caixas que contenham pelo menos um ponto do objeto fractal. Repete-se o procedimento com caixas de diferentes tamanhos e traça-se um gráfico duplo logaritmo de  $N(r)$  em função de  $r$  (lado das caixas). A inclinação desse gráfico com o sinal invertido é a dimensão de contagem por caixas (Figura 11) que pode ser definida, formalmente, através da seguinte expressão:

$$D = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \left[ \frac{\log N(r + \varepsilon) - \log N(r)}{\log(r + \varepsilon) - \log(r)} \right]$$

A Figura 10 está ilustrando o espaço de fase construído no programa Origin 5.0 e salvo como arquivo de extensão BMP. O fundo da figura é escuro enquanto os

pontos são representados em branco. Esse procedimento foi realizado visando adequar a figura ao formato exigido pelo programa Benoit®.

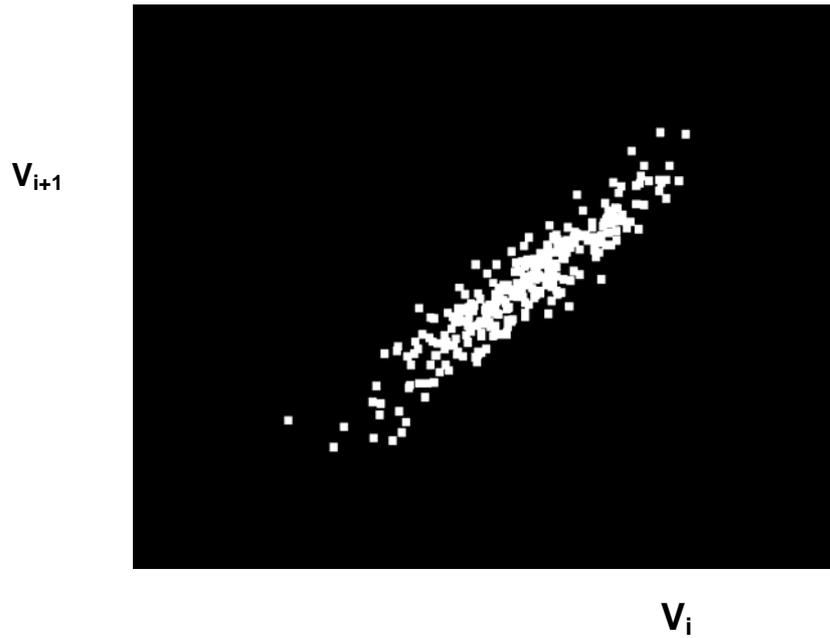


Figura 10 – Espaço de fase construído através do programa Origin.

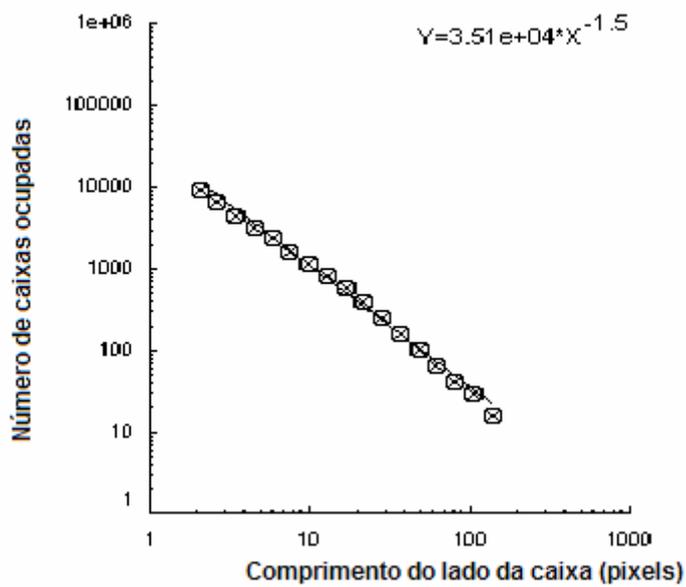


Figura 11 – Dimensão fractal.

A dimensão fractal (dimensão de contagem por caixas) de cada amostra foi determinada usando-se o programa Benoit. Uma saída desse programa é mostrada na Figura 11 onde pode ser observado o gráfico duplo-logarítimo do número de caixas (ordenada) utilizadas para cobrir o objeto fractal versus o tamanho das caixas (abscissa) e a função que melhor se ajusta aos pontos experimentais. O expoente da equação é a dimensão fractal. No apêndice 1 são mostrados os detalhes operacionais desse aplicativo.

#### 4.2.4. Análise da correlação de longo alcance do sinal do ECoG

##### 4.2.4.1. A Análise R/S de Hurst

A análise *R/S* de Hurst foi aqui introduzida considerando-se uma função  $F(t)$  onde o tempo assume valores inteiros  $1, 2, 3, \dots, \tau$ . A soma dos desvios de  $F$  em relação à média da função  $\{ \langle F \rangle = (1/\tau) \sum F(t), 1 \leq t \leq \tau \}$  permite definir uma nova função:

$$X(t, \tau) = \sum [F(t) - \langle F \rangle], 1 \leq t \leq \tau.$$

A função acima representa a soma dos desvios da média de cada ponto da função desde o início dos tempos até um instante  $\tau$ .

A diferença entre os valores máximos e mínimos da função  $X(t, \tau)$  ou "range  $R$ ", definido por  $R(t) = [\max X(t, \tau) - \min X(t, \tau)]$  da função  $X(t, \tau)$  normalizado pelo desvio padrão da função  $F(t)$  ( $S(t) = \{(1/\tau) \sum [F(t) - \langle F \rangle]^2\}^{1/2}$ ) ou seja,  $R/S$ , foi usado neste trabalho para determinar a correlação de longo alcance. Após esta etapa dividiu-se o conjunto de dados em dois subconjuntos iguais, repetindo-se o procedimento do cálculo de  $R/S$  em cada um desses subconjuntos e calculando-se o valor médio de  $R/S$ . A divisão dos dados em subconjuntos foi realizada até um subconjunto de dois dados ser obtido.

O valor médio da razão R/S para cada iteração foi mostrado por Hurst obedecer à seguinte relação empírica:  $(R/S)_{\text{médio}} = (T/2)^H$ , onde T assume valores iguais a  $\tau$ ,  $\tau/2$ ,  $\tau/4$  etc. O expoente H da relação empírica, denominado coeficiente de Hurst, permite determinar a existência ou não de memória (correlação) numa série temporal, no nosso caso, a seqüência dos registros eletrofisiológicos definidos como ECoG's. Quando uma série temporal totalmente aleatória é analisada por este método o coeficiente H obtido para esta série é igual a 0,5. Quando  $H \neq 0,5$  diz-se que a função tem memória. Quando  $H > 0,5$  a memória é dita positiva, ou persistente, onde um aumento no presente é mais provável de ser seguido por um aumento no futuro. Se  $H < 0,5$  a memória é dita negativa, ou antipersistente, onde um aumento no presente é mais provável de ser seguido por um decréscimo no futuro.

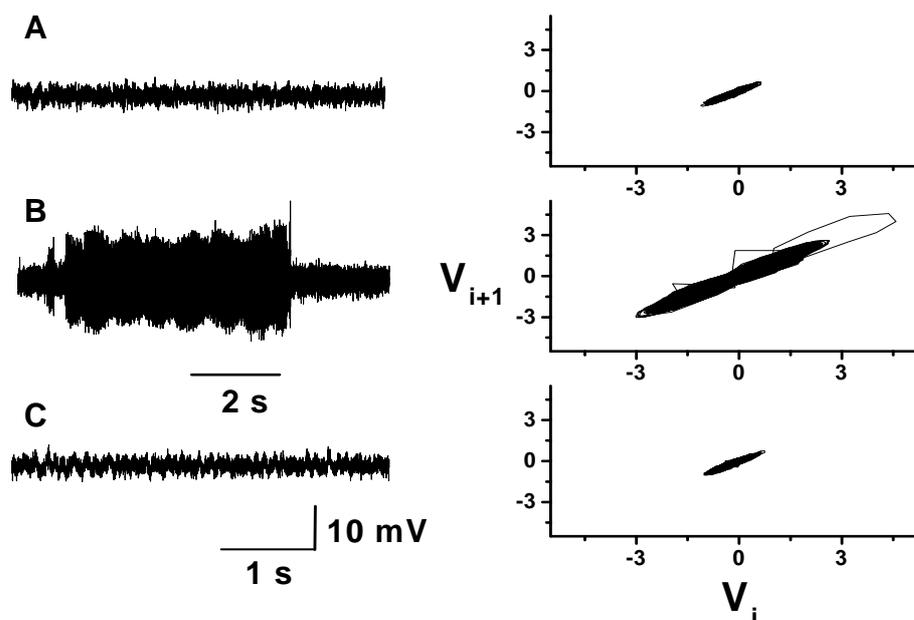
Através da análise R/S, Hurst observou que relativamente poucos eventos naturais são aleatórios. Uma análise para 837 fenômenos naturais, para os quais os valores anuais foram obtidos, conduziu ao valor médio de H de 0,73, com um desvio padrão de mais ou menos 0,09 (HURST et al., 1965; MANDELBROT & WALLIS, 1969; FEDER, 1988; BASSINGTHWAIGHTE, 1994).

## V – RESULTADOS

### 5.1. - ECoG e espaço de fase

Todos os registros experimentais digitalizados (ECoG's) foram reprocessados no programa QuB onde foram obtidos arquivos menores (denominados de amostras) visando a posterior análise dos dados nos programas Origin e Benoit. Os ECoG's para animais nutridos e desnutridos foram analisados em três momentos seqüenciais: (A) antes da DA, (B) na avalanche e (C) após a DA. Nessa mesma seqüência foram obtidos os espaços de fases dos ECoG's no programa Origin.

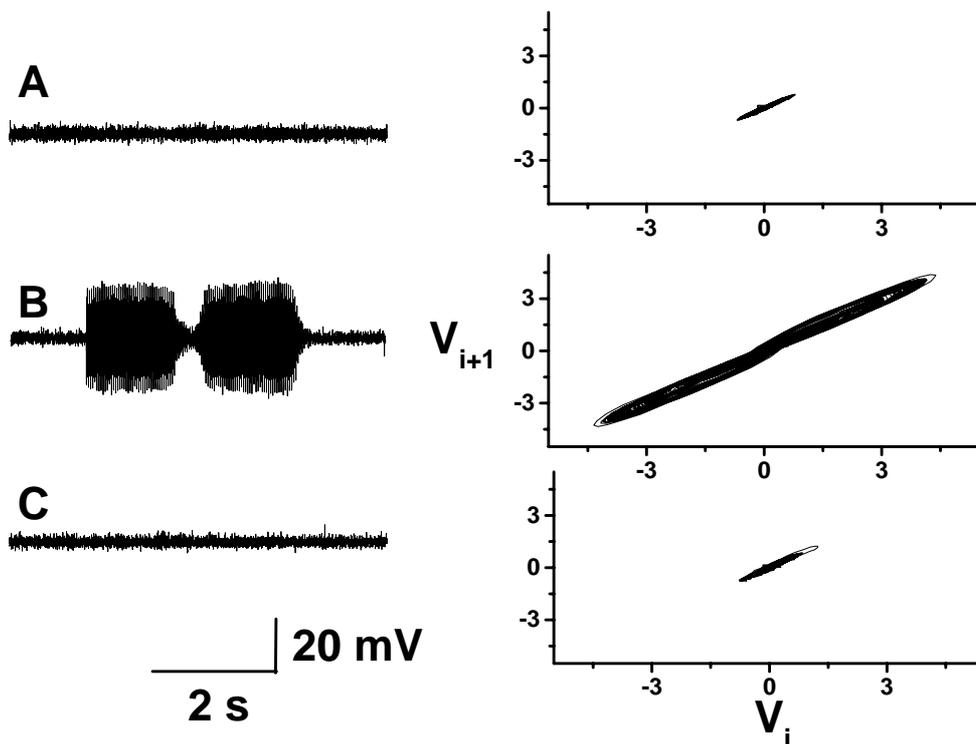
A figura 12 representa o traçado característico do ECoG: A) antes da DA, B) na avalanche e C) após a DA, bem como os seus correspondentes espaços de fase, para ratos nutridos. O ECoG do córtex de rato nutrido, identificado nesta figura, apresenta um perfil característico de uma série temporal cuja variável é a voltagem (mV) em função do tempo (ms). Comparando-se os ECoG's nos três momentos – antes da DA (A), na avalanche (B) e após a DA (C) – observa-se, visualmente, uma diferença entre a amplitude do registro B e a amplitude dos registros A e C. Na mesma figura encontram-se os espaços de fase desses ECoG's.



**Figura 12** - Registros da atividade elétrica do córtex cerebral (ECoG) e seus respectivos espaços de fase antes da DA, (A) na avalanche (B) e após a DA (C), para os ratos nutridos.

A figura 13 mostra os registros da atividade elétrica do córtex cerebral (ECoG) e seus respectivos espaços de fase antes da DA, na avalanche e após a DA, para os ratos desnutridos. Nessa figura pode-se observar que o ECoG da avalanche também difere dos ECoG's antes e depois da DA. O ECoG na avalanche apresenta um perfil distinto daquele encontrado nos animais nutridos. Aqui se observa uma rápida depressão da atividade elétrica cortical durante o fenômeno da avalanche.

Na figura 13 pode-se verificar que o espaço de fase para animais desnutridos também apresenta, durante a avalanche, um conjunto de valores  $V_{i+1}$  versus  $V_i$  mais concentrado no espaço de fase quando comparado aos conjuntos dos espaços de fases anteriores e posteriores à DA.



**Figura 13** - Registros da atividade elétrica do córtex cerebral (ECoG) e seus respectivos espaços de fase antes da DA (A), na avalanche (B) e após a DA (C), para os ratos desnutridos.

## 5.2 – Dimensão fractal e coeficiente de Hurst do sinal do ECoG

A análise quantitativa do espaço de fase de cada ECoG foi realizada calculando-se a dimensão fractal (D) do conjunto de pontos nesse espaço. A Tabela 1 mostra, nos animais nutridos, as dimensões fractais de contagem por caixas e seus respectivos desvios padrões para os espaços de fase dos segmentos de ECoG antes da DA (n=41), na avalanche (n=30) e após a DA (n=39). A Tabela 1 também mostra os valores médios dos coeficientes de Hurst (H) nos supra citados segmentos do ECoG. A presença de correlação de longo alcance (memória) no sinal do ECoG pode ser observada antes da DA e depois dela, porém durante a avalanche a série temporal do ECoG apresentou uma baixa memória.

**Tabela 1** - Dimensão fractal (D) e coeficiente de Hurst (H) dos ECoG's para animais nutridos.

<b>Análise do ECoG</b>			
	<b>Antes da DA (A)</b>	<b>Na avalanche (B)</b>	<b>Após a DA (C)</b>
<b>D</b> ±SD	<b>1,2700</b> ±0,0989	<b>1,3433</b> ±0,0652	<b>1,2851</b> ±0,0995
<b>H</b> ±SD	<b>0,3248</b> ±0,0652	<b>0,5156</b> ±0,1294	<b>0,3464</b> ±0,0952
<b>n</b>	<b>41</b>	<b>30</b>	<b>39</b>

Na Tabela 2 são mostrados os valores médios de D e H para os animais desnutridos, com seus respectivos desvios padrões nos três momentos: antes da DA (n=29), na avalanche (n=32) e após a DA (n=30). Nesta tabela observa-se que o sinal do ECoG apresenta memória não só antes da DA e depois dela, mas também durante o fenômeno da avalanche. No apêndice 2 são mostrados alguns valores das dimensões fractais e coeficientes de Hurst de cada segmento usado na média mostrada nas Tabelas 1 e 2.

**Tabela 2** - Dimensão fractal (D) e coeficiente de Hurst (H) dos ECoG's para animais desnutridos.

<b>Análise do ECoG</b>			
	<b>Antes da DA (A)</b>	<b>Na avalanche (B)</b>	<b>Após a DA (C)</b>
<b>D</b> ±SD	<b>1,1795</b> ±0,1398	<b>1,3131</b> ±0,0670	<b>1,1501</b> ±0,1527
<b>H</b> ±SD	<b>0,4448</b> ±0,1313	<b>0,6092</b> ±0,2068	<b>0,4263</b> ±0,1305
<b>n</b>	<b>29</b>	<b>32</b>	<b>30</b>

### 5.3. – Análise estatística

O teste de Shapiro-Wilks foi realizado com os valores das dimensões fractais dos espaços de fase do ECoG antes da DA (A), na avalanche (B) e depois da depressão alastrante (C) em ratos normais. Os resultados do teste mostram que as dimensões fractais (D) seguem distribuições gaussianas nas três situações: antes da DA ( $p \leq 0,1997$ ), na avalanche ( $p \leq 0,1631$ ) e depois da DA ( $p \leq 0,1596$ ). O teste de Shapiro-Wilks também foi aplicado aos valores dos coeficientes de Hurst (H) obtidos para série temporal do ECoG, mostrando que esses valores não seguem

distribuições gaussianas nas três situações: antes da DA ( $p=0$ ), na avalanche ( $p\leq 0,0009$ ) e depois da DA ( $p\leq 0,0002$ ), conforme tabela 3. Para os ratos desnutridos foi aplicado também o mesmo teste aos valores dos parâmetros D e esses valores não seguem distribuições gaussianas, obtendo-se diferenças significativas antes da DA ( $p\leq 0,0001$ ), na avalanche ( $p\leq 0,0071$ ) e depois da DA ( $p=0$ ). Para o parâmetro H, os valores foram significativamente diferentes antes da DA ( $p\leq 0,0065$ ), na avalanche ( $p\leq 0,0009$ ) e depois da DA ( $p\leq 0,0085$ ).

**Tabela 3** – Resultados do teste de normalidade (Teste de Shapiro-Wilks) da dimensão fractal (D) e o do coeficiente de Hurst (H) para os animais nutridos.

<b>Especificação</b>	<b>Antes da DA (A)</b>	<b>Na avalanche (B)</b>	<b>Após a DA (C)</b>
<b>Dimensão fractal (D)</b>	W=0,96297 $p\leq 0,1997$	W=0,94942 $p\leq 0,1631$	W=0,95856 $p\leq 0,1596$
<b>Coeficiente de Hurst (H)</b>	W=0,89701 $p=0$	W=0,92436 $p\leq 0,0009$	W=0,91109 $p\leq 0,0002$
<b>(n)</b>	41	30	39

**Tabela 4** – Resultados do teste de normalidade (Teste de Shapiro-Wilks) da dimensão fractal (D) e o do coeficiente de Hurst (H) para os animais desnutridos.

<b>Especificação</b>	<b>Antes da DA (A)</b>	<b>Na avalanche (B)</b>	<b>Após a DA (C)</b>
<b>Dimensão fractal (D)</b>	W=0,79489 $p\leq 0,0001$	W=0,90223 $p\leq 0,0071$	W=0,78574 $p=0$
<b>Coeficiente de Hurst (H)</b>	W=0,89235 $p\leq 0,0065$	W=0,86445 $p\leq 0,0009$	W=0,90030 $p\leq 0,0085$
<b>(n)</b>	29	32	30

Como houve diferença significativa entre a maior parte dos valores experimentais e a distribuição teórica normal (não houve diferença significativa na dimensão fractal dos ratos nutridos), foi utilizada uma estatística não-paramétrica. Os testes não-paramétricos usados foram o de Kruskal-Wallis e o post-hoc de Dunn. Estes testes permitiram comparar os parâmetros D e H entre os momentos antes da DA, na avalanche e após a DA no grupo de animais nutridos e no grupo de desnutridos. As tabelas 5, 6, 7 e 8 mostram os valores dos níveis de significâncias obtidos nos testes de Kruskal-Wallis e Dunn na comparação dos parâmetros D e H antes, na avalanche e depois da DA, dentro de cada grupo experimental (nutridos e desnutridos). Nestas tabelas pode-se observar que os valores de D, durante a avalanche, diferiram significativamente dos valores anteriores e posteriores à DA tanto no grupo de animais nutridos como no de desnutridos. Nenhuma diferença significativa foi observada entre os valores de D antes e depois da DA dentro de cada um desses grupos. Para os animais nutridos o parâmetro H apresentou um comportamento semelhante àquele observado para o parâmetro D. Nos animais desnutridos foram observadas diferenças significativas tanto entre o valor do parâmetro H na avalanche e seus valores antes e depois da DA, como também entre os valores anteriores e posteriores à DA.

Nas tabelas 9 e 10 pode-se observar as comparações entre os dois grupos experimentais para os parâmetros D e H nas três situações (antes, na avalanche e depois da DA). As tabelas mostram que somente depois da DA os valores de D diferiram significativamente entre os dois grupos e que somente antes da DA os valores de H foram significativamente diferentes entre os dois grupos.

**Tabela 5** – Significância estatística da dimensão fractal (D) para os ratos nutridos.

<b>Grupos</b>	<b>(A)</b> <b>1,2700 ± 0,0989</b>	<b>(B)</b> <b>1,3433 ± 0,0652</b>	<b>(C)</b> <b>1,2851 ± 0,0995</b>
<b>Antes da DA (A)</b>	–	<b>0,01 **</b>	<b>0,95</b>
<b>Na avalanche (B)</b>	<b>0,01 **</b>	–	<b>0,01 **</b>
<b>Após a DA (C)</b>	<b>0,95</b>	<b>0,01 **</b>	–

(\*\*) Diferença significativa acentuada ( $p \leq 0,01$ ).

**Tabela 6** – Significância estatística do coeficiente de Hurst (H) para os ratos nutridos.

Grupos	(A) 0,3248 ± 0,0652	(B) 0,5156 ± 0,1294	(C) 0,3464 ± 0,0952
Antes da DA (A)	–	0,001 ***	0,95
Na avalanche (B)	0,001 ***	–	0,001 ***
Após a DA (C)	0,95	0,001 ***	–

(\*\*\*) Diferença significativa bastante acentuada (  $p \leq 0,001$  ).

**Tabela 7** – Significância estatística da dimensão fractal (D) para os ratos desnutridos.

Grupos	(A) 1,1795 ± 0,1398	(B) 1,3131 ± 0,0670	(C) 1,1501 ± 0,1527
Antes da DA (A)	–	0,001 ***	0,95
Na avalanche (B)	0,001 ***	–	0,001 ***
Após a DA (C)	0,95	0,001 ***	–

(\*\*\*) Diferença significativa bastante acentuada (  $p \leq 0,001$  ).

**Tabela 8** – Significância estatística do coeficiente de Hurst (H) para os ratos desnutridos.

<b>Grupos</b>	<b>(A)</b> <b>0,4448 ± 0,1313</b>	<b>(B)</b> <b>0,6092 ± 0,2068</b>	<b>(C)</b> <b>0,4263 ± 0,1305</b>
<b>Antes da DA (A)</b>	–	<b>0,001 ***</b>	<b>0,05 *</b>
<b>Na avalanche (B)</b>	<b>0,001 ***</b>	–	<b>0,05 *</b>
<b>Após a DA (C)</b>	<b>0,05 *</b>	<b>0,05 *</b>	–

(\*\*\*) Diferença significativa bastante acentuada (  $p \leq 0,001$  ).

(\*) Diferença significativa moderada (  $p \leq 0,05$  ).

**Tabela 9** – Significância estatística da dimensão fractal (D) dos grupos nutridos versus os desnutridos.

<b>Grupos</b>	<b>Ratos nutridos</b> <b>( <math>D \pm SD</math> )</b>	<b>Ratos desnutridos</b> <b>( <math>D \pm SD</math> )</b>	<b>Nível de</b> <b>significância (p)</b>
<b>Antes da DA (A)</b>	<b>1,2700 ± 0,0989</b>	<b>1,1795 ± 0,1398</b>	<b>0,95</b>
<b>Na avalanche (B)</b>	<b>1,3433 ± 0,0652</b>	<b>1,3131 ± 0,0670</b>	<b>0,95</b>
<b>Após a DA (C)</b>	<b>1,2851 ± 0,0995</b>	<b>1,1501 ± 0,1527</b>	<b>0,01**</b>

(\*\*) Diferença significativa acentuada (  $p \leq 0,01$  ).

**Tabela 10** – Significância estatística do coeficiente de Hurst (H) dos grupos nutridos versus os desnutridos.

<i>Grupos</i>	<i>Ratos nutridos (H±SD)</i>	<i>Ratos desnutridos (H±SD)</i>	<i>Nível de significância (p)</i>
<i>Antes da DA (A)</i>	<b>0,3248 ± 0,0652</b>	<b>0,4448 ± 0,1313</b>	<b>0,01 **</b>
<i>Na avalanche (B)</i>	<b>0,5156 ± 0,1294</b>	<b>0,6092 ± 0,2068</b>	<b>0,95</b>
<i>Após a DA (C)</i>	<b>0,3464 ± 0,0952</b>	<b>0,4263 ± 0,1305</b>	<b>0,95</b>

(\*\*) Diferença significativa acentuada ( $p \leq 0,01$ ).

A análise estatística mostra que os parâmetros D e H antes da DA diferem significativamente entre os animais nutridos e desnutridos, em situações opostas. Ou seja, os valores de D diferem depois da DA, enquanto os valores de H são diferentes antes da DA. Levando-se em consideração a teoria da decisão estatística os sinais elétricos registrados nos ECoG's na avalanche e depois da DA não dependem do estado nutricional dos animais.

## VI – DISCUSSÃO

Durante o fenômeno da depressão alastrante o sinal elétrico da atividade cortical sofre uma grande elevação na sua amplitude durante poucos segundos, fenômeno denominado de avalanche, que é seguido por uma acentuada depressão. No presente trabalho foram calculados a dimensão fractal do espaço de fase (D) e o coeficiente de Hurst (H) do registro do eletrocorticograma (ECoG) antes e depois do fenômeno da depressão, que são dois parâmetros bastante sensíveis para revelar alterações numa série temporal como a do ECoG. A análise estatística de D e H no grupo dos animais nutridos mostra que os valores desses parâmetros não sofreram alterações significativas antes e depois da depressão alastrante. Esses resultados mostram que apesar do córtex passar por tão drásticas modificações elétricas, o cérebro consegue restaurar sua atividade elétrica revelando que o processo é perfeitamente reversível. Nos animais desnutridos, a análise estatística mostra que os valores obtidos para D não diferiram significativamente entre os momentos anteriores e posteriores à depressão, o que revela uma reversibilidade da atividade elétrica do cérebro. No entanto, uma diferença significativa nos valores de H antes e depois da DA é observada indicando que a atividade elétrica cortical não é totalmente reversível. Como sabemos  $D = 2 - H$  (BASSINGTHWAIGHTE et al., 1994) portanto, é esperado que uma diferença significativa entre os valores de D antes e depois da DA também apareça entre os valores de H nesses dois momentos, quando um único método de análise do ECoG é utilizado, por exemplo, a análise do coeficiente H de Hurst. Porém, nesse trabalho usamos duas metodologias, que foram: a dimensão fractal do espaço de fase do ECoG pelo método da contagem por caixas e a análise R/S de Hurst da série temporal. Portanto, os valores dos D's obtidos por cada um desses métodos podem diferir entre si, devido às diferenças de convergências dos métodos, em virtude da estrutura finita (pequeno número de pontos) dos fractais analisados. Obviamente, para estruturas infinitas (com um grande número de pontos) o cálculo da dimensão fractal pelos dois métodos deve convergir.

Durante o fenômeno da avalanche tanto nos animais nutridos como nos desnutridos os valores de D e H foram significativamente diferentes dos valores desses mesmos parâmetros antes e depois da DA. Isto revela que, além do

aumento de amplitude do ECoG, esta série temporal também tem sua correlação de longo alcance alterada no decorrer do fenômeno, o que sugere alterações na sincronia da atividade elétrica cortical nesta fase do fenômeno em relação aos momentos anteriores e posteriores à DA.

Em todos os registros as dimensões fractais do espaço de fase do ECoG foram significativamente maiores para animais nutridos que para animais desnutridos tanto antes, quanto na avalanche e depois da DA. O crescimento no valor de H tanto antes como depois da DA, quando os animais nutridos são comparados com os animais desnutridos, ocorre na direção de perda da correlação de longo alcance (memória antipersistente). Isto sugere uma redução na sincronização da atividade elétrica no córtex cerebral. No entanto, durante a avalanche, o valor de H em torno de 0,52 nos animais nutridos eleva-se para 0,61 nos animais desnutridos. Portanto, durante a avalanche, o aumento no valor de H está indicando um aumento na sincronização do sinal elétrico.

Um outro fato interessante a ser ressaltado é que o sinal do ECoG nos animais desnutridos sofre uma nova depressão (mesmo na ausência de um novo estímulo) durante a avalanche. Esse fenômeno foi observado na maioria dos ECoG's registrados, porém, em alguns deles, esta depressão da atividade durante a avalanche não ocorreu. Este fenômeno não foi verificado no registro do ECoG dos animais nutridos.

Beggs e Plenz (2004) têm sugerido que avalanche da atividade elétrica cerebral pode estar relacionada com a transmissão e armazenamento de informação (memória) no cérebro, porém, ainda não se conhece o real papel da avalanche na atividade elétrica relacionada à depressão alastrante. Beggs e Plenz (2004) discutem no seu trabalho que estruturas corticais tanto "in vivo" como "em vitro" podem reproduzir padrões espaço-temporais de atividade que podem ser usados como um substrato de memória. O fenômeno de avalanche da atividade elétrica no cérebro, apesar de durar alguns poucos milissegundos, tem seus padrões espaço-temporais estáveis e repetitivos durante muitas horas. Em nossos experimentos, a avalanche no fenômeno da DA mostrou-se também um processo repetitivo e estável para animais nutridos. Nos animais desnutridos, um padrão repetitivo também foi observado, porém com a característica especial de apresentar depressões da atividade elétrica durante a avalanche. Isto indica que a desnutrição é capaz de alterar o padrão espaço-temporal da avalanche tornando-a mais susceptível a

disparar uma próxima avalanche após a primeira. Uma vez que a depressão alastrante é uma onda que se propaga por todo o tecido cortical e que a sua propagação desenvolve uma avalanche neuronal, a DA pode ser usada como um modelo dinâmico real para a transmissão de informação e memória do sistema nervoso. O fato de a avalanche que antecede a depressão possuir padrões de atividade elétrica neuronal que se repetem sempre que uma DA é produzida pode ser um indicativo de que a depressão alastrante pode ter algum papel nos processos de cognição e aprendizagem atribuídas ao córtex cerebral.

## VII – CONCLUSÕES

1. A atividade elétrica do córtex cerebral de ratos nutridos e desnutridos durante o fenômeno da depressão alastrante é um processo caótico, reversível e apresenta memória.

2. Dentro de cada grupo (nutrido e desnutrido) as dimensões fractais  $D$  e os coeficientes de Hurst  $H$  do ECoG diferiram significativamente entre o período da avalanche e os períodos antes e depois da DA. Somente para os valores de  $H$  do grupo desnutrido houve diferença significativa entre os períodos anteriores e posteriores à DA.

3. Os valores dos coeficientes de Hurst  $H$  do ECoG, entre os grupos nutridos e desnutridos, diferiram significativamente somente nos instantes que antecedem a DA.

4. Os valores das dimensões fractais  $D$  dos espaços de fases do ECoG, entre os grupos nutridos e desnutridos, foram significativamente diferentes somente nos instantes posteriores a DA

## VIII - REFERÊNCIAS

- 1 BASSINGTHWAIGHTE J. B., Evaluating rescaled range analysis for time series. *Ann. Biomed. Eng.* 22, 1994(inpress).
- 2 BASSINGTHWAIGHTE J. B., LIEBOVITCH, L. S. and BRUCE J. W. *Fractal Physiology*. New York Oxford. American Physiological Society. 1994.
- 3 BEGGS J. M. and PLENZ, Neuronal avalanches are diverse and precise activity patterns that are stable for many hours in cortical slice cultures. *The Journal of Neuroscience*. 24(22):5216-5229. 2004.
- 4 BRONSINO, J. D., AUSTIN-LAFRANCE, R. J., SIOK, C. J. and MORGANE, P. J. Effect of Protein Malnutrition on Hippocampal Kindling: Electrographic and Behavioral Measures. *Brain Research*, 384: 348-354, 1986.
- 5 CABRAL-FILHO J.E., TRINDADE-FILHO, E.M. and GUEDES, R.C.A. Effect of difenfluramine on cortical spreading depression in rats, *Braz. J. Med. Biol. Res.* 28 () 347– 350, 1995
- 6 COSTA-CRUZ, R. R. G. and GUEDES, R. C. A. Estudo experimental morfofisiológico das relações entre nutrição, epilepsia e diabetes. Tese de Doutorado em Nutrição. UFPE, 2006
- 7 DA-SILVA, A. T., COSTA, F. B. R., COSTA, J. A., TEODÓSIO, N. R., CABRAL-FILHO, J. E. and GUEDES, R. C. A. Sciatic nerve conduction velocity of malnourished rats fed the human “Basic Regional Diet” of the Northeast of Brazil. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 20 383-392. 1987.
- 8 DO CARMO, R. J. and SOMJEN G.G. Spreading depression of Leão: 50 years since a seminal discovery. *J. Neurophysiol.* 72(1): 1 – 2. 1994.
- 9 EL-BACHÁ, R. S.; GUEDES, R. C. A.; DE-LIMA-FILHO, J. L. Dietary Antioxidant Deficiency Facilitates Cortical Spreading Depression Induced By Photoactivated Riboflavin. *Nutritional Neuroscience*, Los Angeles, v. 1, n. 3, 205-212. 1998.
- 10 FEDER J., *Fractals*. New York; Plenum Press, 1998
- 11 FIFKOVA´, E. Spreading depression in subcortical structures in rabbit, *Brain Res.* 2: 61–70, 1966.

- 12 GORJI, A. Spreading depression: a review of the clinical relevance. *Brain Res Brain Res Rev.* 38 (1-2):33-60. 2001.
- 13 GRAFSTEIN B., Mechanism of spreading cortical depression, *J. Neurophysiol.* 9: 154– 171, 1956.
- 14 GUEDES R.C.A., DOS-SANTOS, A. A., DE-CASTRO, R. M. and COSTA-CRUZ, R. G. Citalopram has an antagonistic action on cortical spreading depression in well-nourished and early-malnourished adult rats, *Nutr. Neurosci.* 5 :115– 123. 2002.
- 15 GUEDES R.C.A., ANDRADE, A.F.D. and CAVALHEIRO, E.A. Excitatory amino acids and cortical spreading depression, in: E.A. Cavalheiro, J. Lehman, L. Turski (Eds.), *Frontiers in Excitatory Amino Acid Research*, Alan R. Liss, New York, pp. 667– 670, 1988.
- 16 GUEDES R.C.A., DE AZEREDO, F.A.M., HICKS, T.P. CLARKE, R.J. and TASHIRO T., Opioid mechanisms involved in the slow potential change and neuronal refractoriness during cortical spreading depression, *Exp. Brain Res.* 69:113– 118, 1987.
- 17 GUEDES R.C.A., CABRAL-FILHO, J.E. and TEODÓSIO, N.R. GABAergic mechanisms involved in cortical spreading depression in normal and early malnourished rats, in: R.J. do Carmo (Ed.), *Spreading Depression*, *Exp. Brain Res. Ser.*, vol. 23, Springer, Berlin, pp. 17– 26, 1992.
- 18 GUEDES R.C.A. and DO CARMO, R.J. Influence of ionic disturbances produced by gastric washing on cortical spreading depression, *Exp. Brain Res.* 39: 341– 349, 1980.
- 19 GUEDES, R. C. A. O Cerebro Desnutrido. *Ciência Hoje*, Rio de Janeiro, v. 3, n. 18, p. 061-065, 1985.
- 20 GUEDES R. C. A. , AMORIM, L. F. and TEODÓSIO N. R. Effect Of Aging On Cortical Spreading depression.. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, São Paulo, v. 29, n. 12, p. 1407-1412, 1996.
- 21 GUEDES, R. C. A. ; MELO, A. P. R. DE ; N. R. TEODÓSIO . Nutrição adequada: a base do funcionamento cerebral. *Ciência e Cultura*, São Paulo, v. 56, n. 1, p. 32-35, 2004.
- 22 GUEDES, R. C. A. ; TSURUDOME, K. MATSUMOTO, N. Spreading depression in vivo potentiates electrically-driven responses in frog optic tectum. **Brain Research**, 1036, 109-114 (2005).

- 23 HARREVELD A.V. and FIFKOVA`, E. Glutamate release from the retina during spreading depression, *J. Neurobiol.* 2 ( ) 13– 29, 1970.
- 24 HICKS T.P., and CONTI, F. Amino acids as the source of considerable excitation in cerebral cortex, *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 74:341– 361, 1996.
- 25 HURST H. E., BLACK, R. P and SIMAIKI, Y. M. Long-term Storage: An Experimental Study. London: Constable, 1965.
- 26 IVANOVIC, D. M., LEIVA, B. P. , PEREZ, H. T., INZUNZA, N. B., ALMAGIAÀ, A. F. , TORO, T. D., URRUTIA, M. S. C., CERVILLA, J. O. and BOSCH, E. O. Long-Term Effects of Severe Undernutrition During the First Year of Live on Brain Development and Learning in Chilean High-School Graduates. *Nutrition*, 16: 1056-1063, 2000.
- 27 KANDEL E. R., SCHWARTZ J. H. and JESSELL T. M., *Fundamentos da Neurociência e do Comportamento*. Editora Prentice-Hall do Brasil. 1995.
- 28 LEÃO A. A. P.. Spreading depression of activity in the cerebral cortex. *J. Neurophysiol.* 1:359-390, 1944a.
- 29 LEÃO A. A. P. Pial circulation and spreading depression of activity in the cerebral cortex. ***J. Neurophysiol.*** 7 : 391-396, 1944b
- 30 LEÃO, A.A.P. Further observations on the spreading depression of activity in the cerebral cortex. *Journal of Neurophysiology* 10, 409-414. 1947.
- 31 LEÃO, A. A. P. and MARTINS-FERREIRA, H. Alteração da Impedância Elétrica no Decurso da Depressão Alastrante da Atividade do Córtex Cerebral. *An. da Acad. Brasileira de Ciências*, 25 (3): 259-266, 1953.
- 32 LEHMENKUEHLER, A., SYKOVA, E., SVOBODA, J., ZILLES, K. and NICHOLSON, C. *Neuroscience* 55(2):339-51, 1993.
- 33 LIEBOVITCH, L. S. – *Fractals and Chaos Simplified for the Life sciences* N. Y. Oxford University Press, 1998.
- 34 MAMDELBROT, B. B. and WALLIS, J. R. Robustness of the rescaled range R/S in the Measurement of monycyclic long run statistical dependence. *Water Resour. Res.* 5:967-988, 1969.
- 35 MAMDELBROT, B. B. *Les objets fractals: forme, hasard, et dimension*. 1<sup>a</sup> édition Paris: Flammarion, 196 pp. 1975.
- 36 MAYER-KRESS G., and LAYNE, S. P. Dimensionality of the human electroencephalogram. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 504:62-87, 1987.

- 37 MARTINS-FERREIRA, H. , DE OLIVEIRA CASTRO, G., STUCHINER, C. J. and RODRIGUES P. S. Liberation of chemical factors during spreading depression in isolated retina. *J. Neurophysiol.* 37: 785. 1974.
- 38 NETTO, M. & MARTINS-FERREIRA, H. Elicitation of spreading depression by rose bengal photodynamic action. *Photochemistry and Photobiology*, 50:229-234. 1989
- 39 NUSSENZVEIG, H. M. *Complexidade & Caos*, 1999 (inpress ).
- 40 ROCHA DE MELO, A. P. and GUEDES, R. C. A. Spreading depression is facilitated in adult rats previously submitted to short episodes of malnutrition during the lactation period. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, Volume 30(5) 663-669, May, 1997.
- 41 RODRIGUES P.S., GUIMARÃES, A.P.O., DE AZEREDO, A.P.O. MARTINS-FERREIRA, H. Involvement of GABA and Ach in retinal spreading depression: effects of low calcium-high magnesium solutions, *Exp. Brain Res.* 73: 659–664. 1988.
- 42 SIESJO B.K., BENGTSSON, F. Calcium fluxes, calcium antagonists and calcium-related pathology in brain ischemia, hypoglycaemia and spreading depression: a unifying hypothesis, *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 9 : 127–140, 1989.
- 43 TAKANO, H., OKAMOTO, A., TERASHIMA, Y. and YOKOTA, J. High incidence of allelic loss at the RB gene locus in advanced human ovarian cancer. *Int J Oncol*, 6:129-135, 1995.

## Apêndice 1

Os programas computacionais utilizados no tratamento dos dados experimentais (registro digital do ECoG) foram os seguintes: QuB, Origin<sup>®</sup> 5.0 e Benoit<sup>®</sup>.

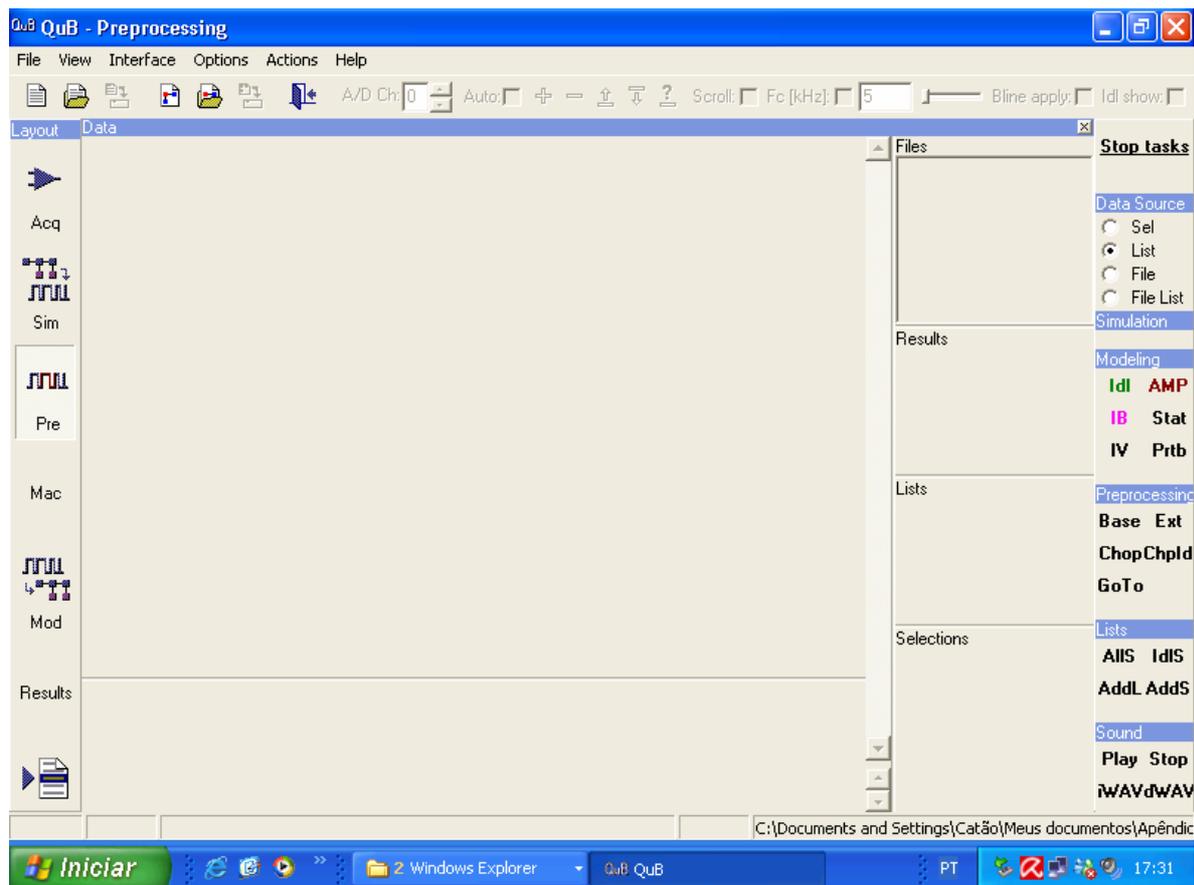
Os dados experimentais foram obtidos na forma de arquivo de extensão DAT a partir do programa Axoscope 10 (Molecular Devices, <http://www.moleculardevices.com>) e foram utilizados vinte e dois registros do ECoG com mais de um milhão de pontos (sinais elétricos corticais) em cada registro para o trabalho computacional.

### 1.1 QuB

O programa QuB teve como finalidade, neste trabalho, transformar os arquivos DAT (sinais elétricos corticais gravados no ECoG) em arquivos do tipo txt que são compatíveis com o Origin, no qual foram traçados os espaços de fase do ECoG.

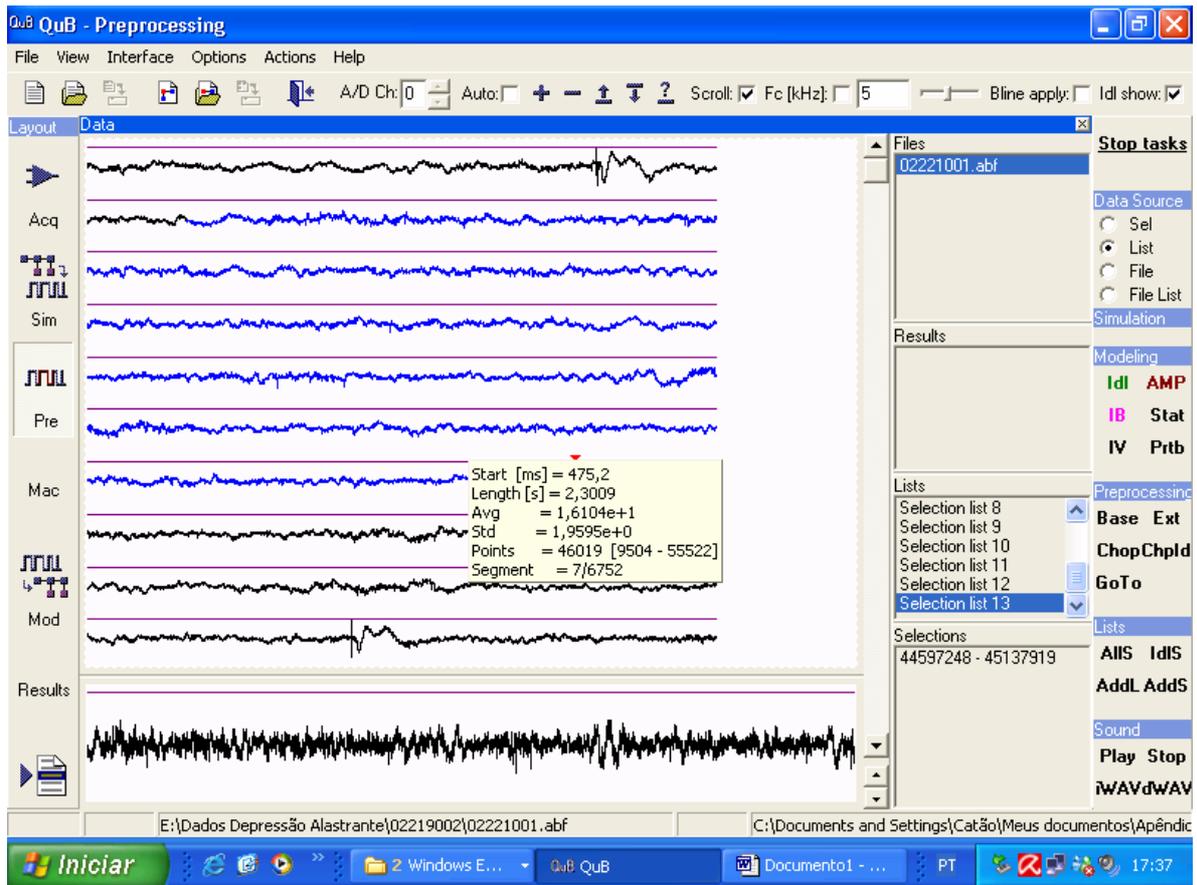
O programa QUB foi utilizado de acordo com a seguinte seqüência:

1.1.1– Visualização e seleção dos registros do ECoG foram realizadas com a interface de pré-processamento “***Preprocessing Interface***” do QUB. Esta interface permite visualizar e selecionar os arquivos e usar ferramentas que identificam e selecionam regiões de interesse dos registros do sinal digitalizado do ECoG.

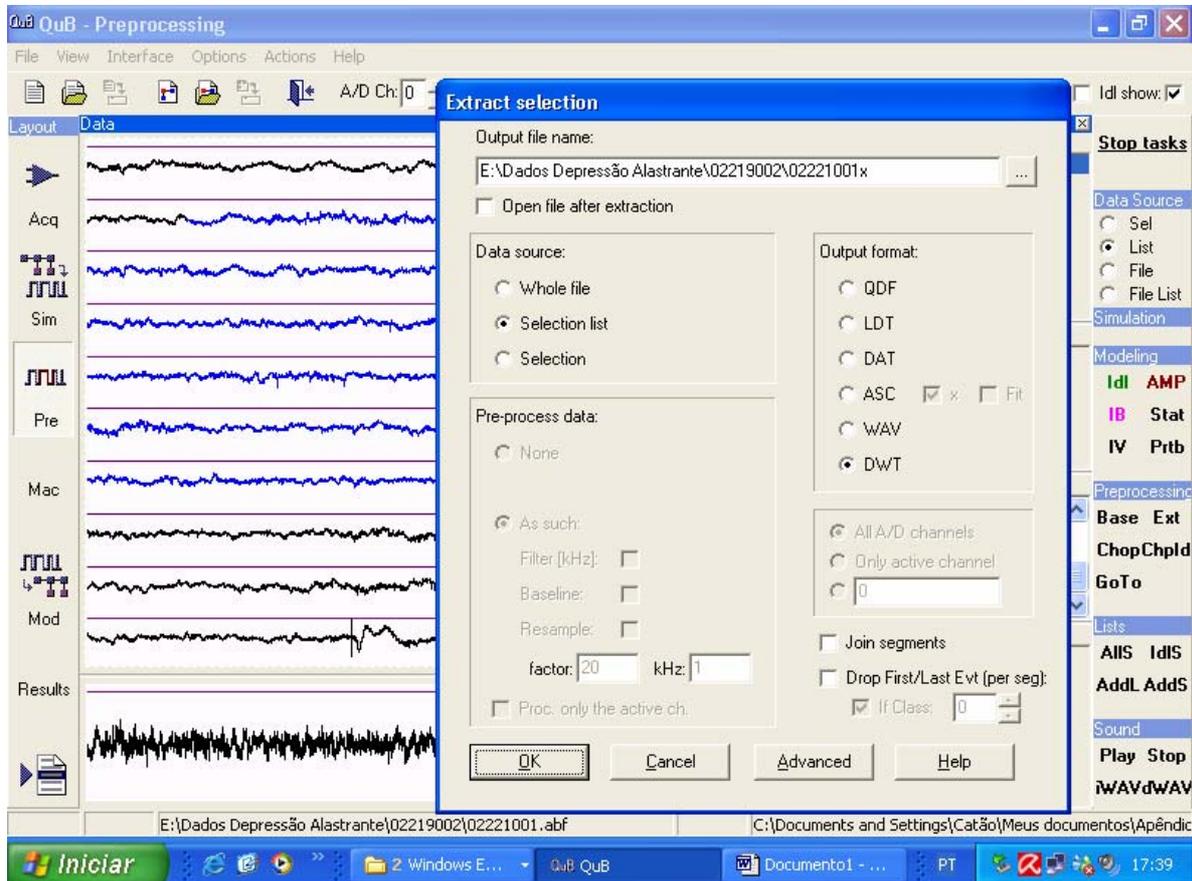


1.1.2- Seleção da região do arquivo a ser analisada ocorreu através de *clicks* do *mouse* semelhante à seleção de textos em processadores de texto.

1.1.3- Após seleção do trecho para análise no arquivo, criou-se uma lista de trechos selecionados através de funções como “***selection list***”.



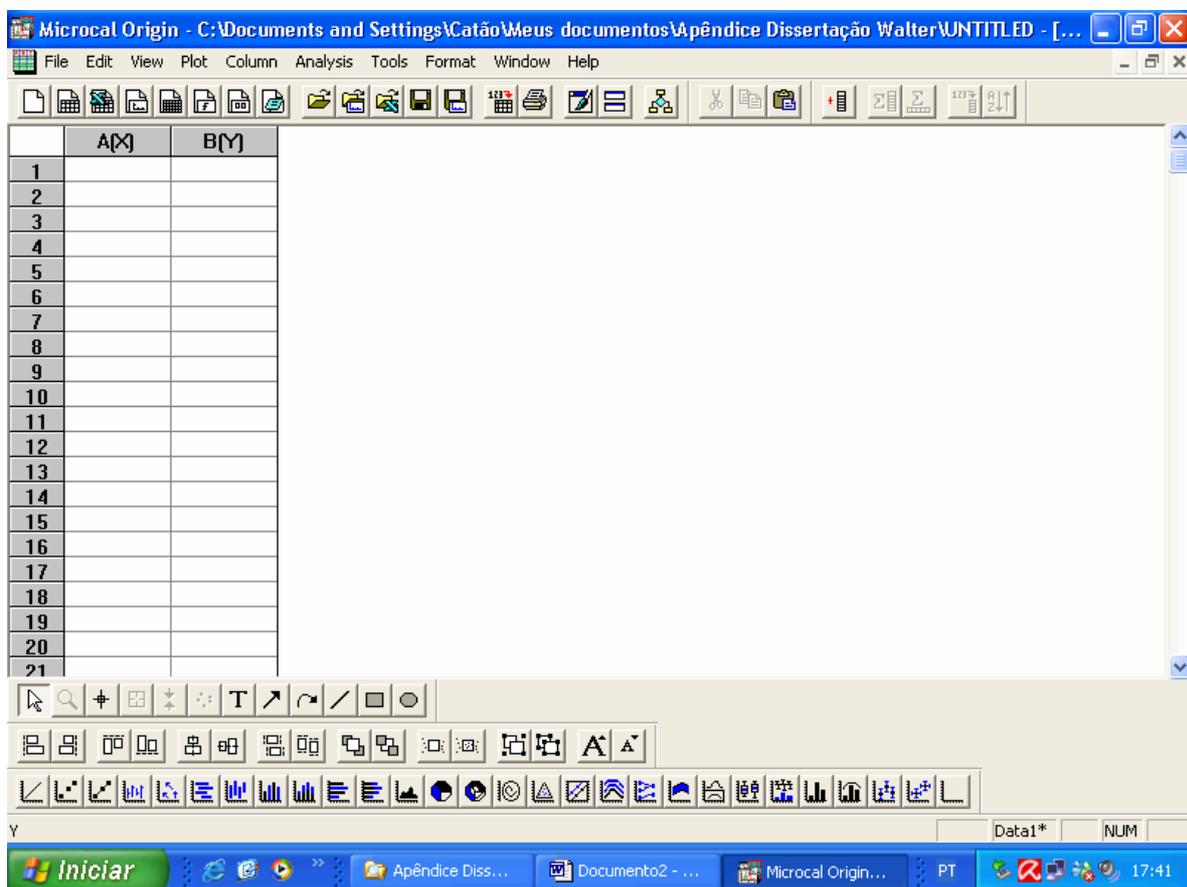
1.1.4- Utilização da função extrair ou “ext” para obtenção de arquivos do tipo texto (txt ascii). Uma vez gerados os arquivos do tipo texto, estes foram exportados para os programas Origin<sup>®</sup> e Benoit<sup>®</sup>.



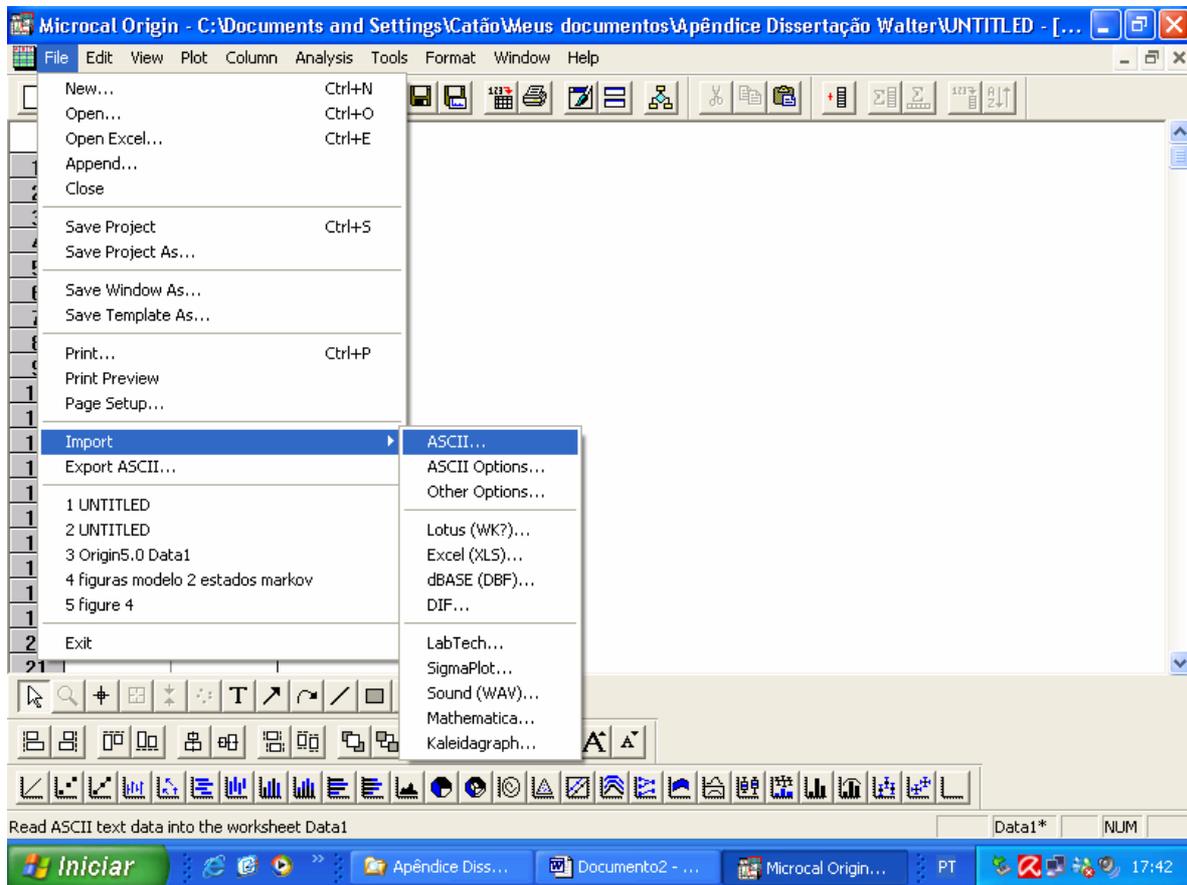
## 1.2 – ORIGIN®

O programa Origin® foi usado para construir os gráficos de espaço de fase. A sua operacionalização obedeceu a uma seqüência de etapas conforme especificação abaixo:

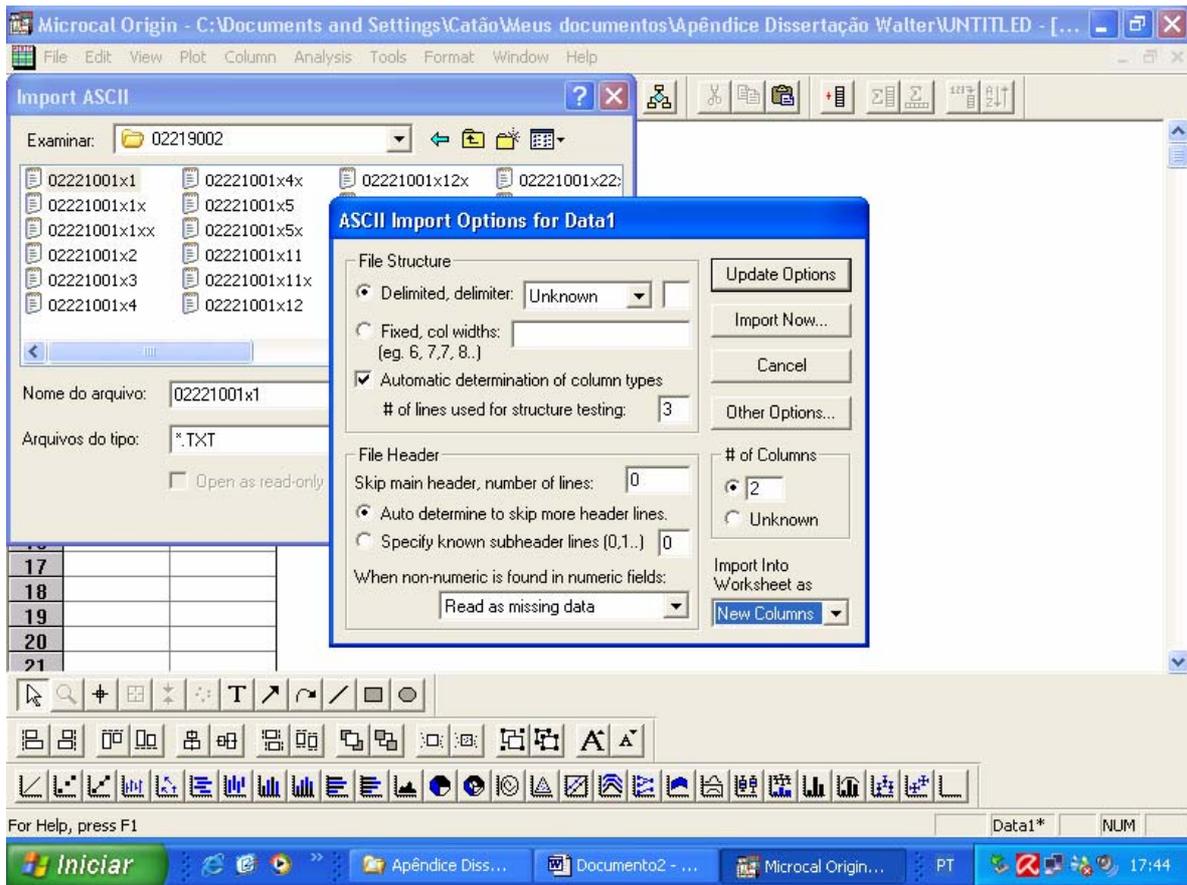
1.2.1- **New worksheet** – para cada arquivo de texto (TXT, ASCII) importado pelo Origin® foi usada uma nova planilha como mostrada abaixo.

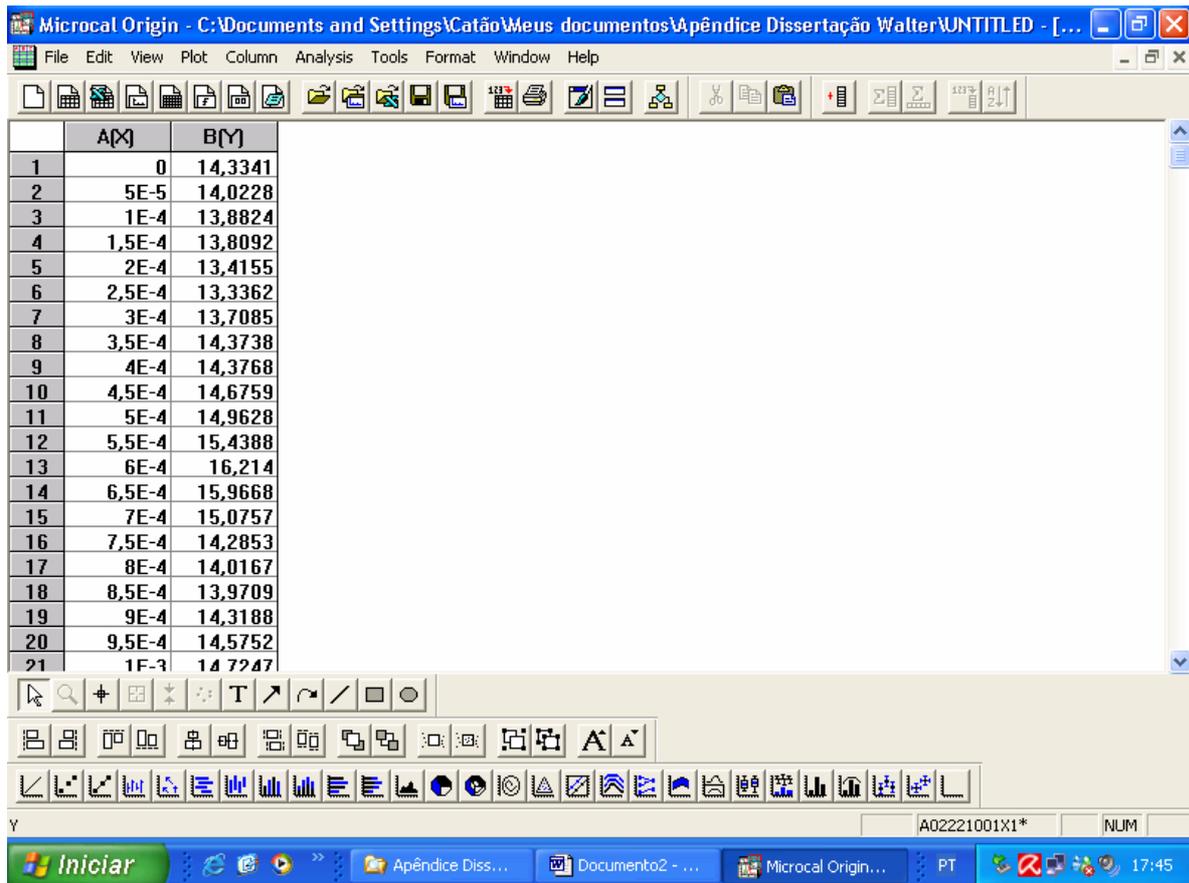


1.2.2 - **Import ASCII** – comando de arquivo utilizado para importação dos arquivos tipo txt.



1.2.3 - **ASCII Import Options for Data 1** – Para a continuidade da importação dos arquivos foi necessário acessar a seguinte seqüência: digitar 2 no número de colunas **# of Columns**, **New Column** e **Import Now**. Logo após abriu-se o arquivo e completou-se a importação dos dados.





1.2.4 - **Add New Columns** – Em geral adicionamos mais colunas à planilha com o arquivo importado para iniciar a composição das duas variáveis do gráfico a ser construído (espaço de fase). Ou seja, a variável Y (Voltagem) no instante “i” (**B[Y]**) versus essa mesma variável Y no instante “i+1” (**C[Y]**).

Microcal Origin - C:\Documents and Settings\Catão\Meus documentos\Apêndice Dissertação Walter\UNTITLED - [...]

File Edit View Plot Column Analysis Tools Format Window Help

Set as X  
Set as Y  
Set as Z  
Set as Label  
Disregard Column  
Set As Error Bars  
Error Bar Options...  
Set Column Values...  
**Add New Columns...**  
Move to First  
Move to Last

	A(X)	B
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		
19		
20		
21		

Add a new column(s) to the end of the worksheet

Data1\* NUM

Iniciar Apêndice Diss... Documento2 - ... Microcal Origin... PT 17:42

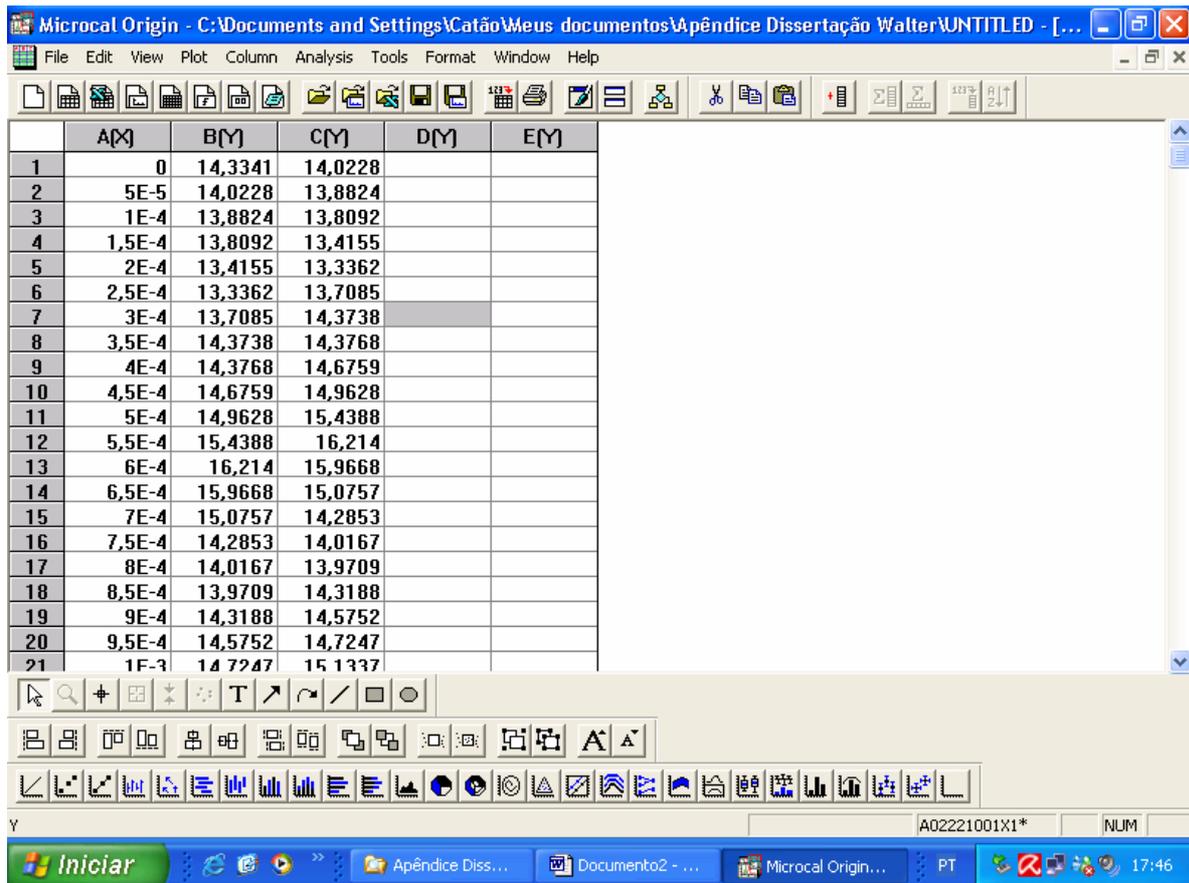
Microcal Origin - C:\Documents and Settings\Catão\Meus documentos\Apêndice Dissertação Walter\UNTITLED - [...]

File Edit View Plot Column Analysis Tools Format Window Help

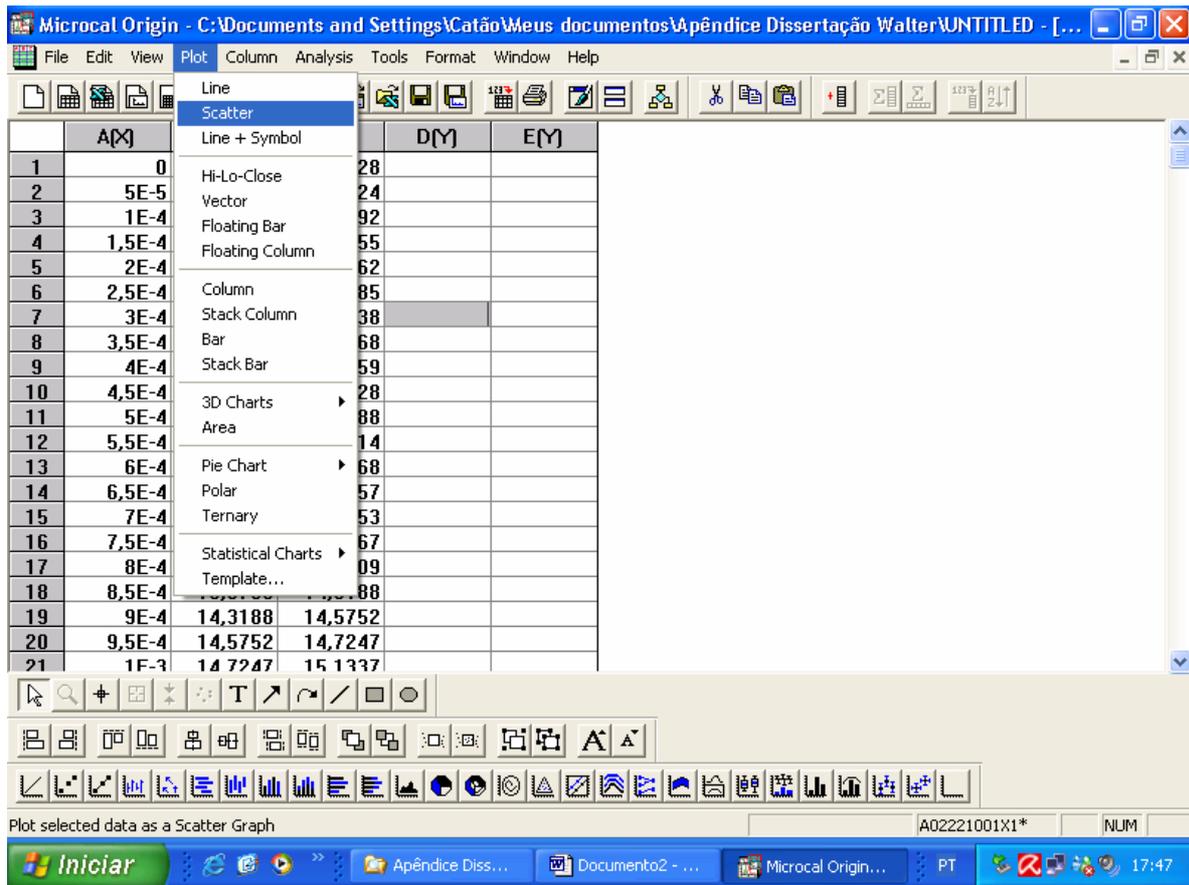
	A(X)	B(Y)	C(Y)	D(Y)	E(Y)
1	0	14,3341			
2	5E-5	14,0228			
3	1E-4	13,8824			
4	1,5E-4	13,8092			
5	2E-4	13,4155			
6	2,5E-4	13,3362			
7	3E-4	13,7085			
8	3,5E-4	14,3738			
9	4E-4	14,3768			
10	4,5E-4	14,6759			
11	5E-4	14,9628			
12	5,5E-4	15,4388			
13	6E-4	16,214			
14	6,5E-4	15,9668			
15	7E-4	15,0757			
16	7,5E-4	14,2853			
17	8E-4	14,0167			
18	8,5E-4	13,9709			
19	9E-4	14,3188			
20	9,5E-4	14,5752			
21	1E-3	14,7247			

Y A02221001X1\* NUM

Iniciar Apêndice Diss... Documento2 - ... Microcal Origin... PT 17:45



1.2.5 - **Plot - Scatter** – Para a construção do espaço de fase foi necessário acessar **Plot** e em seguida acessar **Scatter**. Selecionando as variáveis  $B[Y] = X$  e  $C[Y] = Y$  basta acessar OK e o gráfico fica pronto na cor **white**.



Microcal Origin - C:\Documents and Settings\Catão\Meus documentos\Apêndice Dissertação Walter\UNTITLED - [...]

File Edit View Plot Column Analysis Tools Format Window Help

	A(X)	B(Y)	C(Y)	D(Y)	E(Y)
1	0	14,3341	14,0228		
2	5E-5	14,0228	13,8824		
3	1E-4	13,8824	13,8092		
4	1,5E-4	13,8092	13,4155		
5	2E-4	13,4155	13,3362		
6	2,5E-4	13,3362	13,7085		
7	3E-4	13,7085	14,3738		
8	3,5E-4	14,3738	14,3768		
9	4E-4	14,3768	14,6759		
10	4,5E-4	14,6759	14,9628		
11	5E-4	14,9628	15,4388		
12	5,5E-4	15,4388	16,214		
13	6E-4	16,214	15,9668		
14	6,5E-4	15,9668	15,0757		
15	7E-4	15,0757	14,2853		
16	7,5E-4	14,2853	14,0167		
17	8E-4	14,0167	13,9709		
18	8,5E-4	13,9709	14,3188		
19	9E-4	14,3188	14,5752		
20	9,5E-4	14,5752	14,7247		
21	1E-3	14,7247	15,1337		

### Select Columns for Plotting

Worksheet: A02221001X1

Column: B

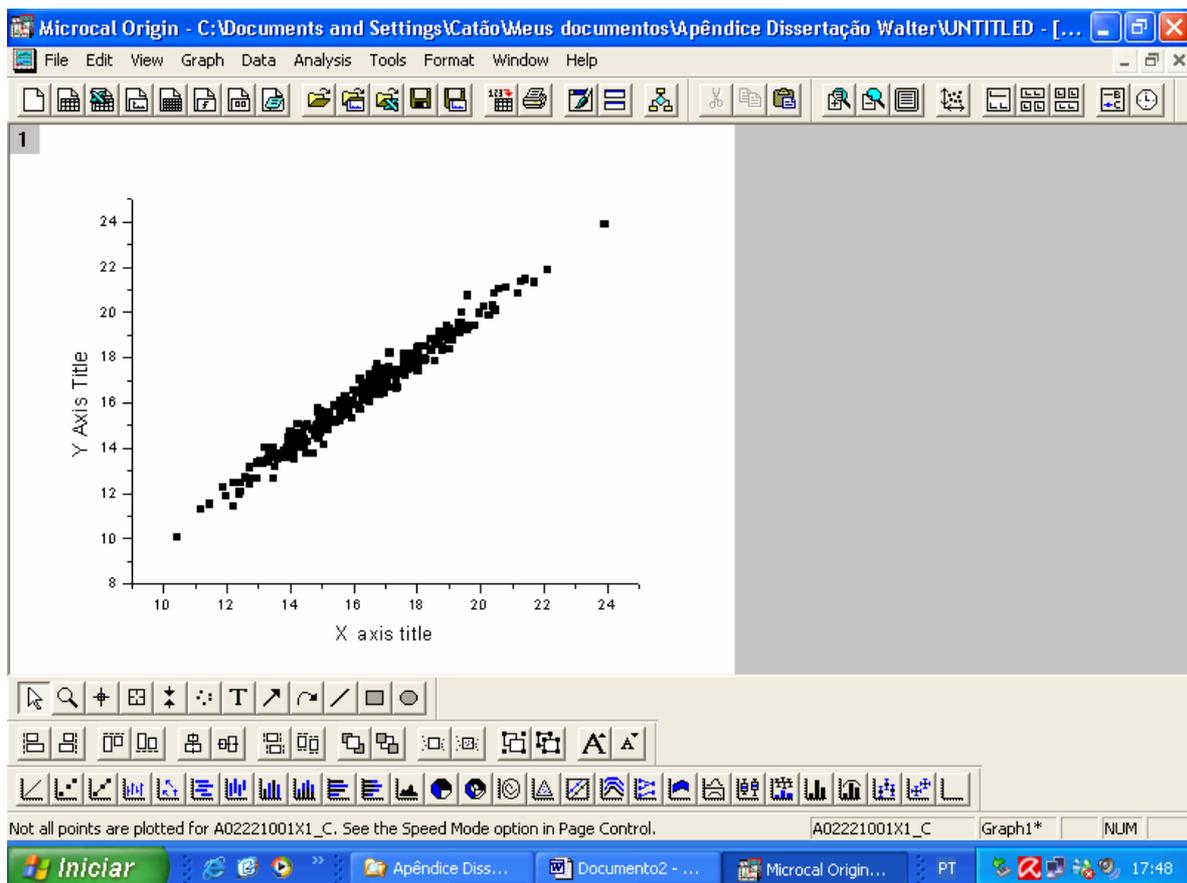
A(X) <-> X  
 B(Y) <-> Y  
 C(Y) <-> Y  
 D(Y) <-> YEr  
 E(Y) <-> xEr  
 <-> L

Set X Values  
 From: 1  
 Step: 1

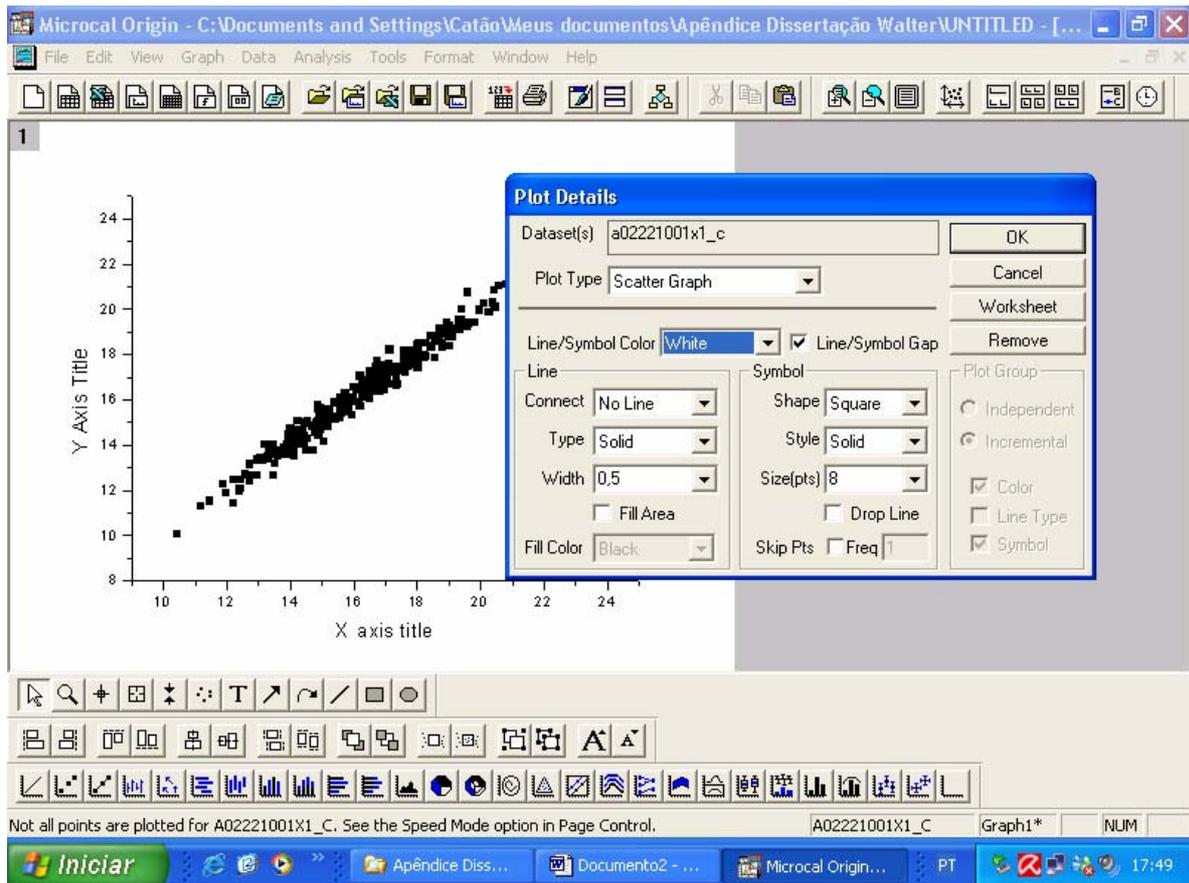
For Help, press F1

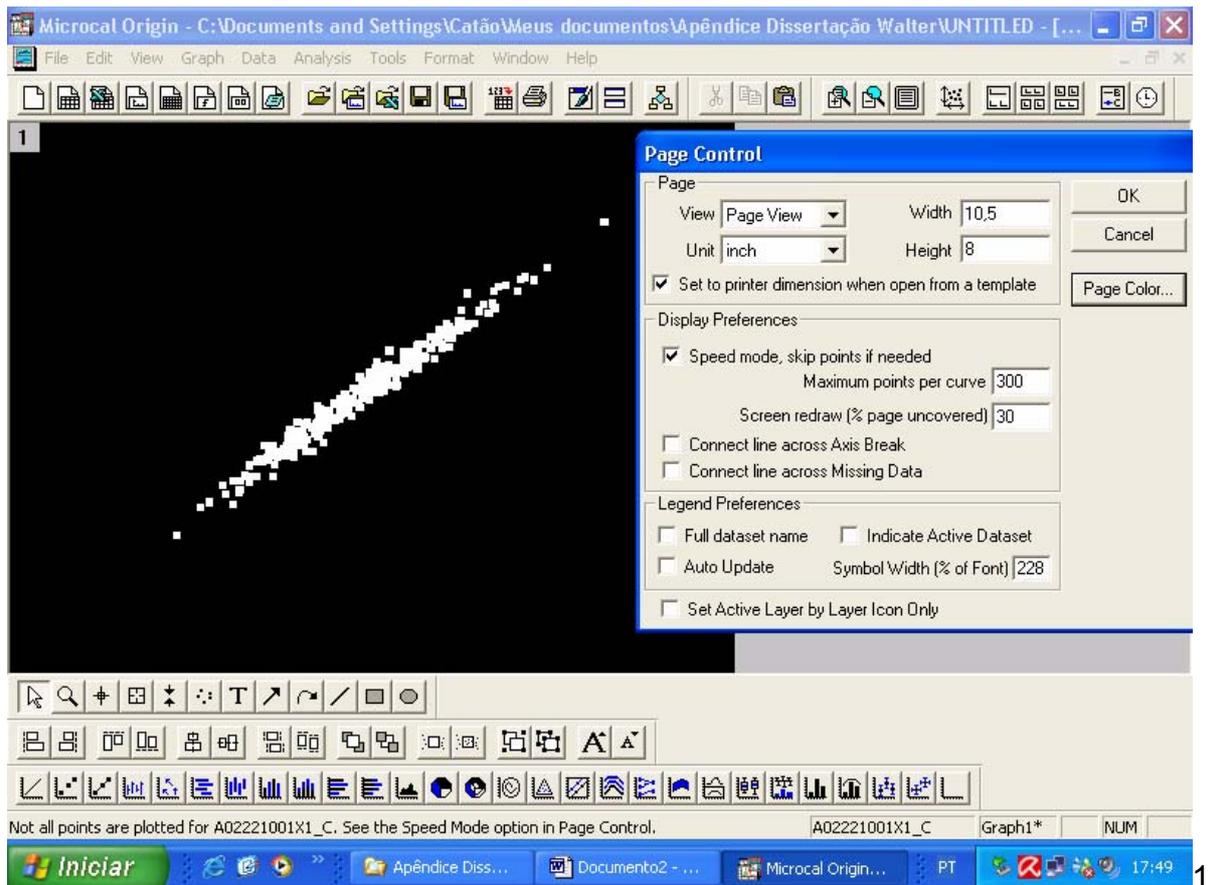
A02221001X1\* NUM

Windows taskbar: Iniciar, Apêndice Diss..., Documento2 - ..., Microcal Origin..., PT, 17:47

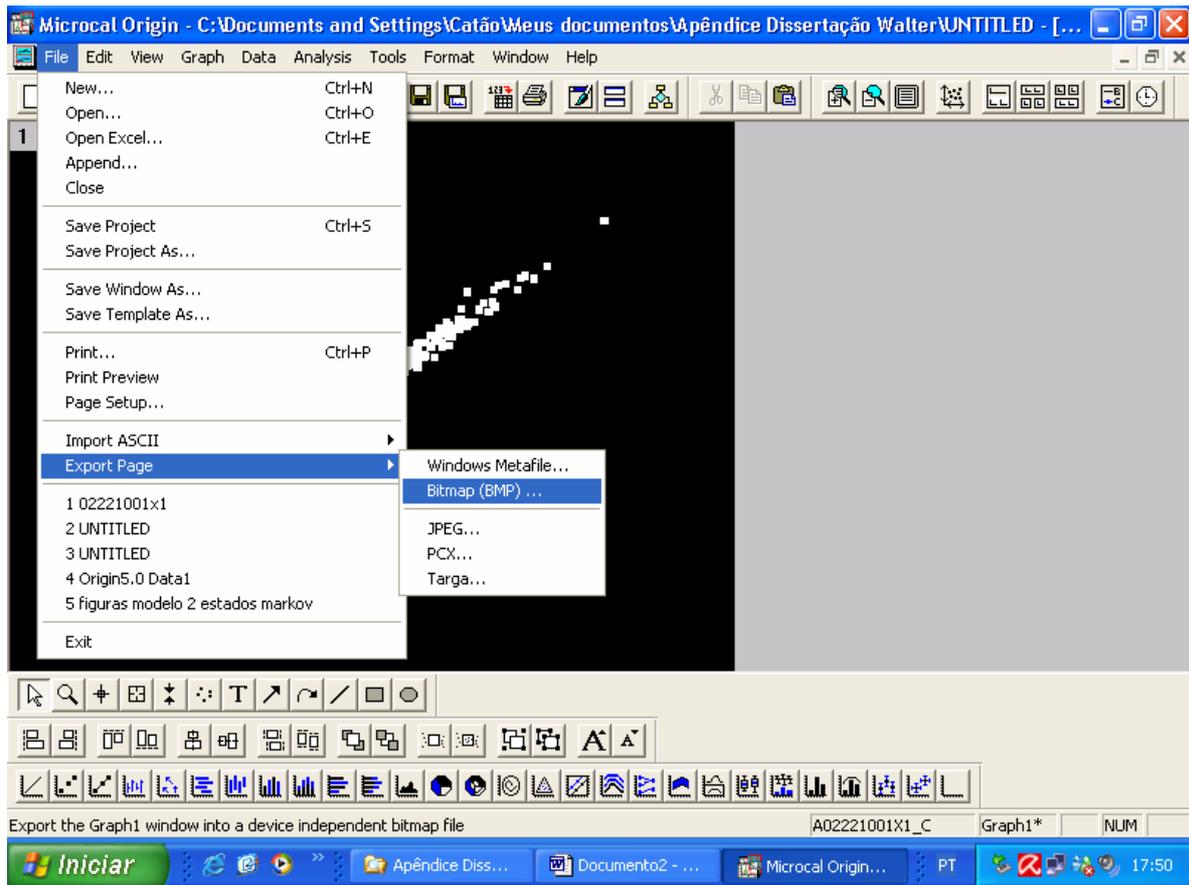


1.2.6 - **Plot - Details** – Para a mudança de cor é preciso acessar *Plot Details* e em seguida procurar em **Line/Symbol Color** a nova cor. Escolhida a nova cor é necessário acessar, em seqüência, **Page Control**, **Page Color** e **Base Color** e, por fim, confirmar em **Base Color Only** e OK.





1. 2.7 - **Export page** – usa-se esta função para a exportação do gráfico como uma imagem do tipo BMP (bitmap file), que será usado posteriormente pelo Benoit<sup>®</sup> para determinar a dimensão fractal.



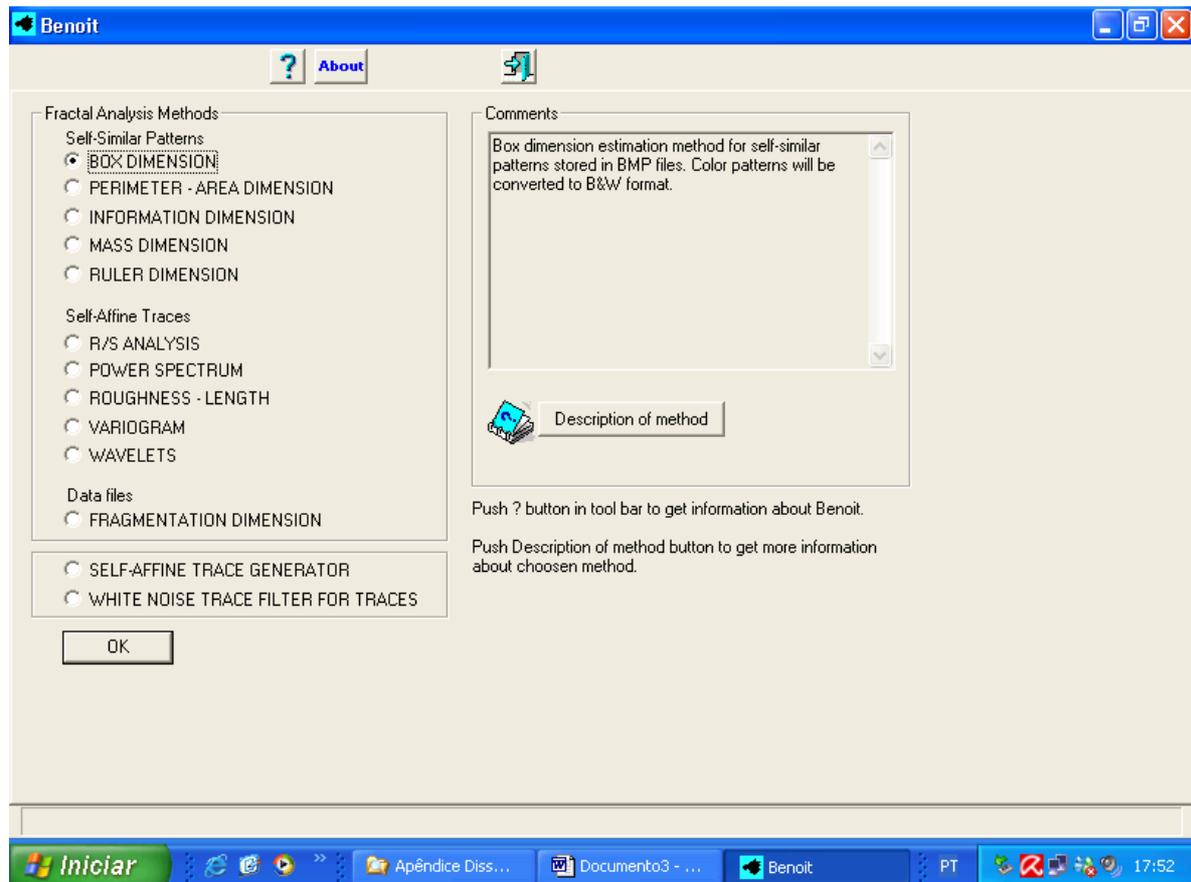
### 1.3 – BENOIT®

Este programa viabilizou a determinação das dimensões fractais do espaço de fase e a análise de Hurst dos arquivos originados no QUB e Origin® .

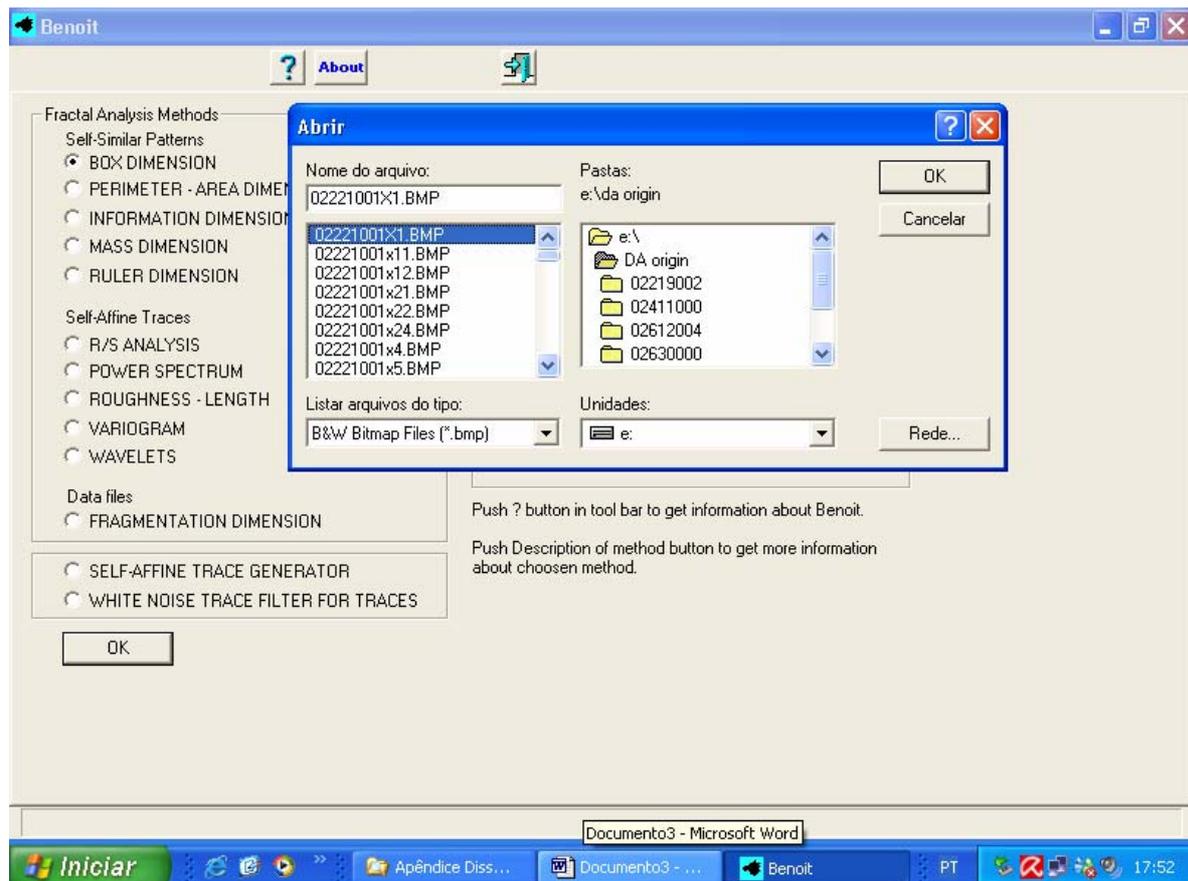
Em outras palavras, este programa foi aplicado no cálculo da dimensão fractal (D) do espaço de fase e na medida do coeficiente de Hurst (H) no sinal do ECoG.

A determinação dos parâmetros D e H foi realizada através das seguintes etapas:

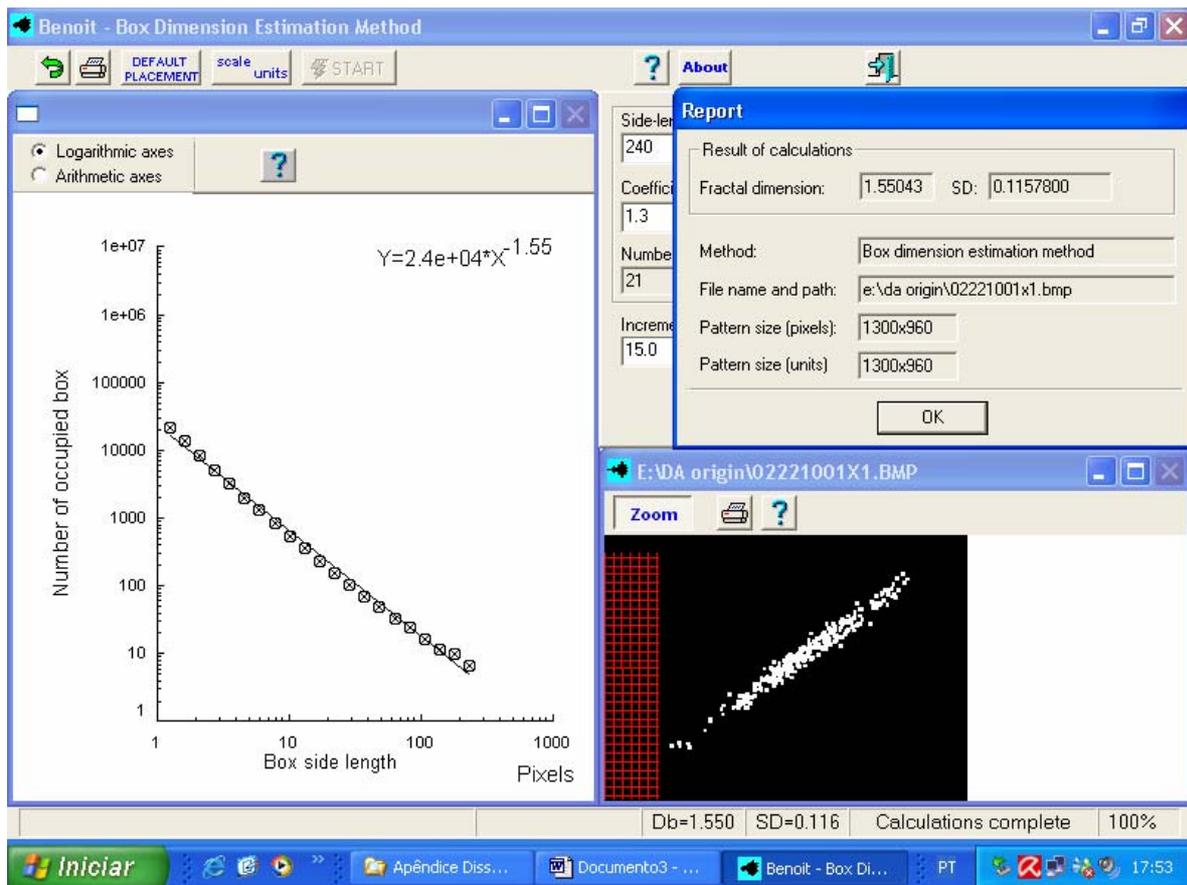
1.3.1 - **Fractal Analysis Methods** – Com a abertura do programa se identificam, na sua estrutura funcional, as opções para o cálculo da dimensão fractal de *box* e do coeficiente de Hurst.



1.3.2 - **Box - counting** – Aqui se define o tipo parâmetro que vai ser calculado. A escolha dos arquivos tem uma seqüência metodológica a ser cumprida de acordo com o armazenamento dos dados, identificando o tipo de arquivo (BMP ou TXT). No nosso caso o arquivo é do tipo BMP.

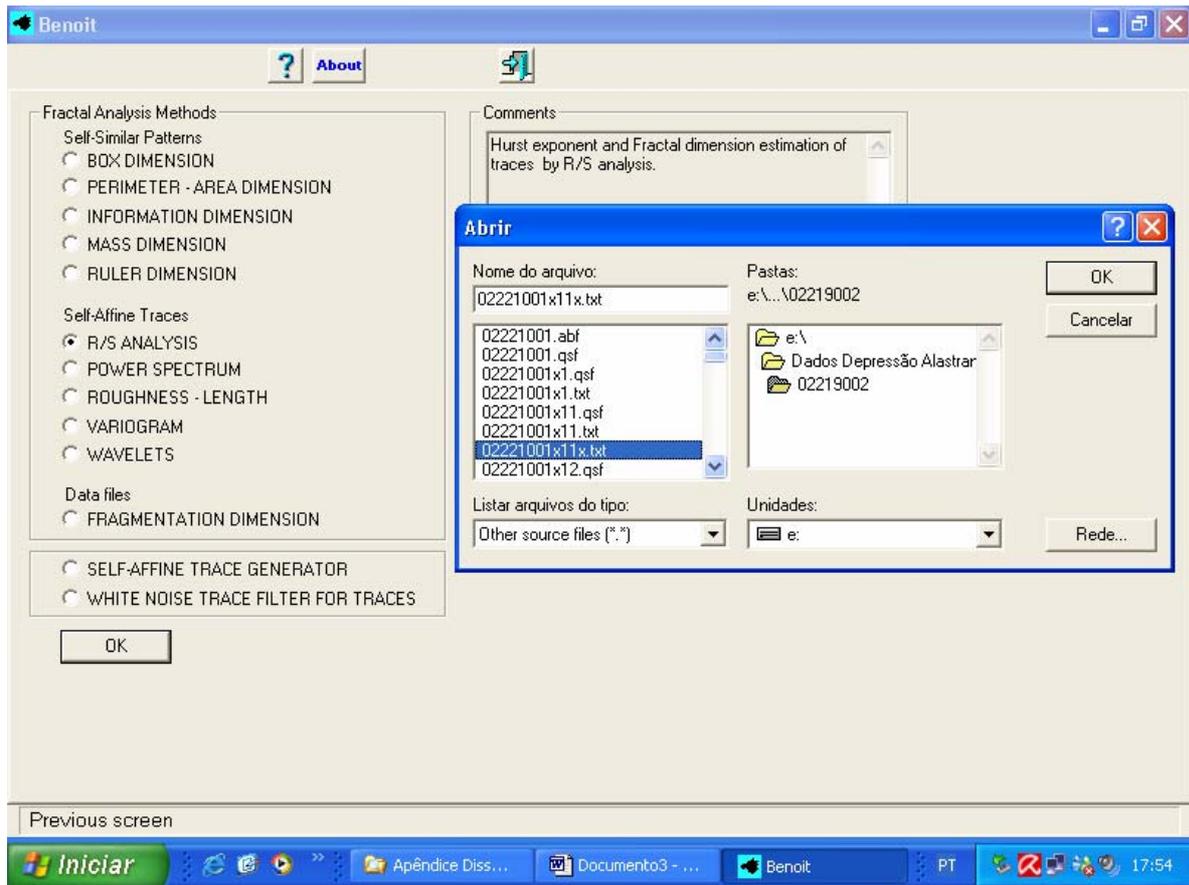


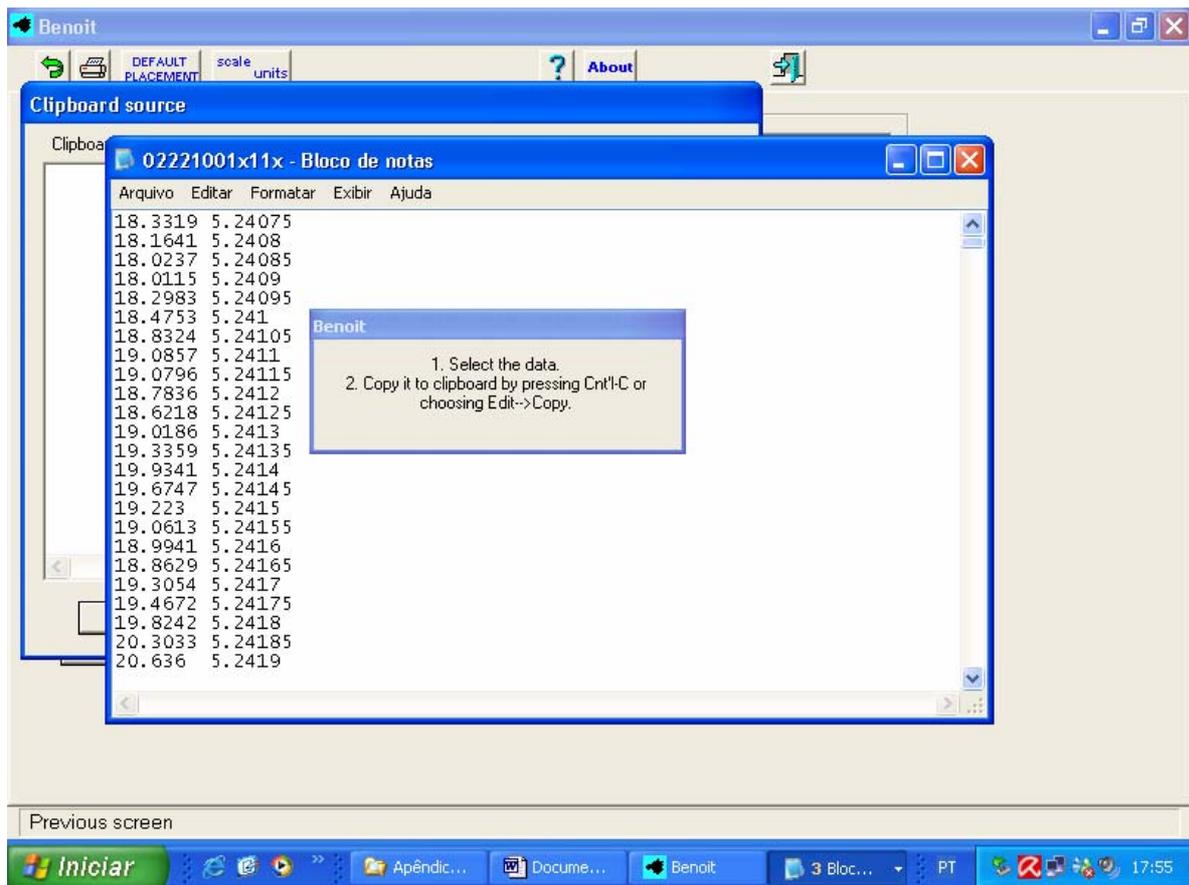
1.3.3 - **Box Dimension Estimation Method** – Nesta etapa do processo foram obtidos os resultados da dimensão fractal (D) do espaço de fase. Dentro dessa mesma estrutura foram obtidos também dois gráficos: um do espaço de fase e o outro da dimensão de *box*. Este último em escala logarítmica (duplo log.).

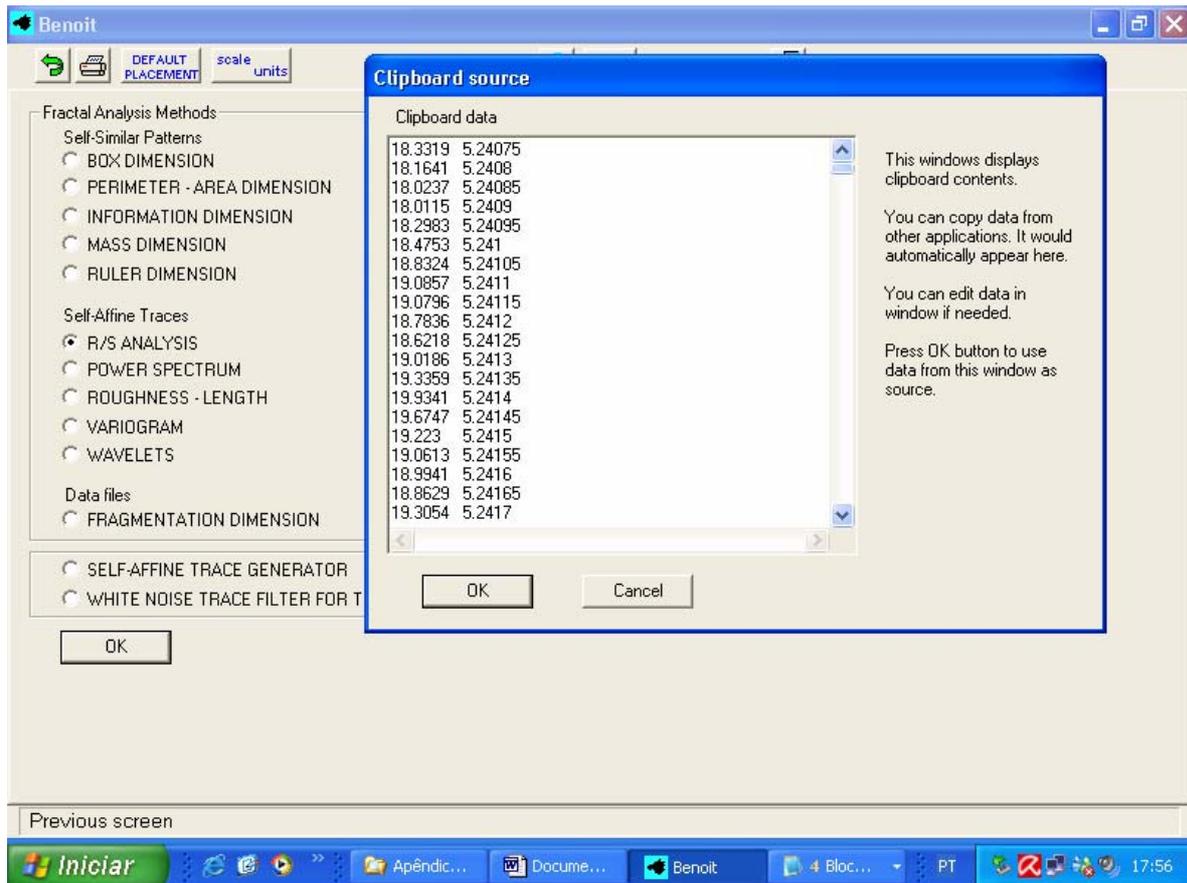


No cálculo do coeficiente de **Hurst** (H) os comandos usados foram:

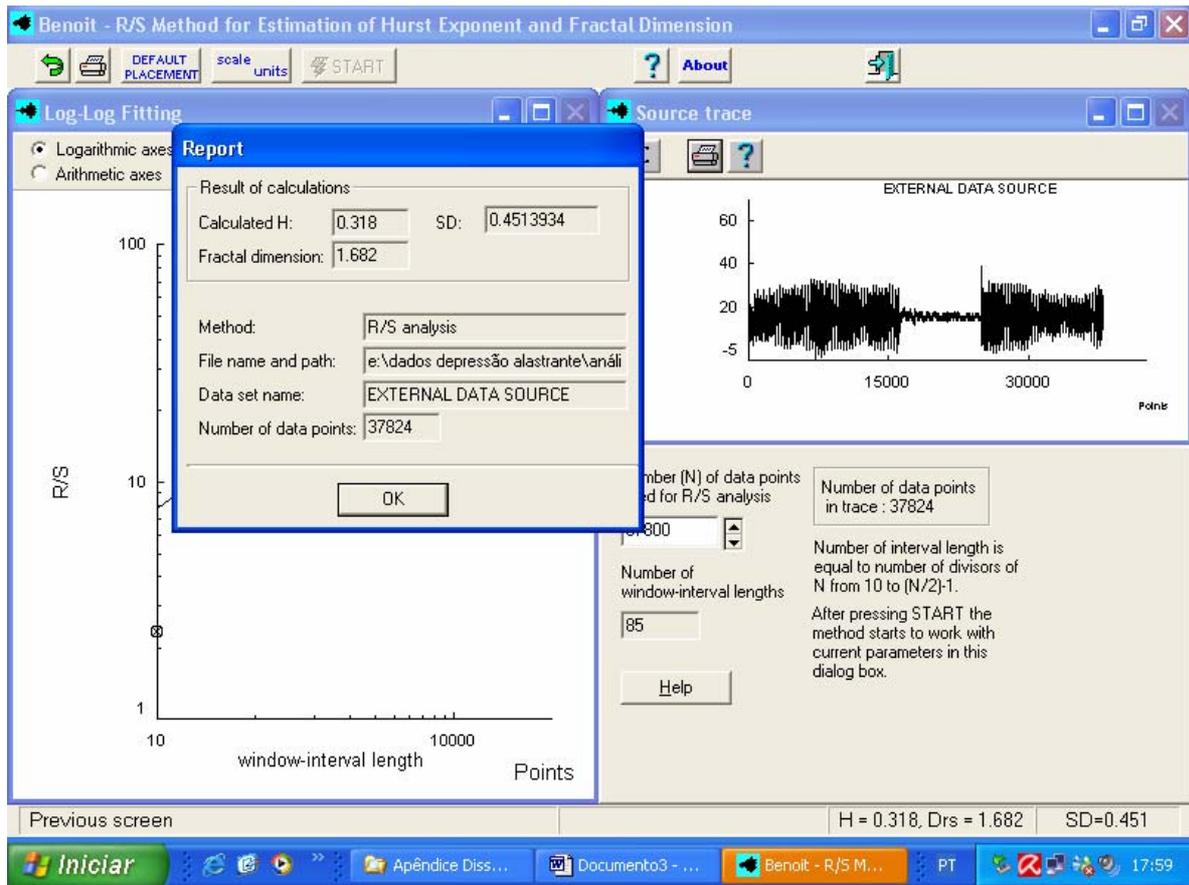
1.3.4 - **R/S Analysis** – A seleção dos arquivos para a determinação do coeficiente de Hurst (H) segue a mesma estrutura funcional descrita em 1.3.2, modificando apenas o tipo de arquivo, ou seja, arquivo do tipo TXT.







1.3.5 - *R/S Method for Estimation of Hurst Exponent and Fractal Dimension* – Finalmente, nesta etapa, todos os valores do coeficiente de Hurst (H) foram calculados, acompanhados dos seus respectivos gráficos. Os gráficos dos ECoG's foram também reproduzidos nesta mesma etapa.



## Apêndice 2

### 2.1 – Amostras e resultados preliminares

A finalidade deste apêndice é justificar o fato de não ser disponibilizado neste trabalho todos registros do ECoG utilizados no projeto, tendo em vista a expressiva quantidade de amostras. Porém, colocando alguns exemplos de amostras nos momentos antes da DA, na avalanche, e após a DA.

Foram utilizados nos experimentos do projeto um total de 22 (vinte e dois) ratos albinos, machos, adultos da linhagem Wistar, sendo 12 (doze) nutridos e 10 (dez) desnutridos. Desse total de animais submetidos ao processo experimental foram selecionadas 201 amostras (registros da atividade elétrica cortical dos ratos), com 110 (cento e dez) amostras de ratos nutridos e 91 (noventa e um) registros de animais desnutridos.

Neste apêndice estão relacionadas, de forma ilustrativa, apenas duas tabelas: uma identificando 11 (onze) amostras de animais nutridos e outra mostrando 9 (nove) amostras de ratos desnutridos, a fim de que se possa ter uma visão da magnitude do processo amostral, sem sobrecarregar a estrutura geral desta dissertação. Nas tabelas, colocadas abaixo, estão relacionados alguns resultados dos principais parâmetros definidos inicialmente neste trabalho: dimensão fractal (D) e coeficiente de Hurst (H). Além disso, fazem parte integrante das tabelas o desvio padrão, o tamanho da amostra e a codificação usada para cada amostra. Esses resultados, considerados preliminares, foram obtidos a partir da aplicação dos programas já definidos na metodologia cuja operacionalização encontra-se no apêndice 1.

**Tabela 9** – Amostras do arquivo codificado com o nº 02313000x, de um animal nutrido, com os seus respectivos parâmetros: **D±SD** e **H±SD** e de acordo com as especificações: antes da DA (**A**), na avalanche (**B**) e após a DA (**C**).

<b>Especificação</b>	<b>Amostras</b>	<b>Dimensão Fractal (D±SD)</b>	<b>Coefficiente de Hurst (H±SD)</b>	<b>Tamanho da Amostra(N) (nº de pontos)</b>
<b>Antes da DA (A)</b>	02313000x02	<b>1,169±0,573</b>	<b>0,260±0,151</b>	65.410
	02313000x04	<b>1,179±0,393</b>	<b>0,374±0,368</b>	65.410
	02313000x05	<b>1,167±0,476</b>	<b>0,256±0,090</b>	65.410
	02313000x08	<b>1,182±0,715</b>	<b>0,230±0,246</b>	65.410
	02313000x09	<b>1,191±0,542</b>	<b>0,344±0,037</b>	65.410
<b>Na Avalanche (B)</b>	02313000x11	<b>1,402±0,122</b>	<b>0,513±0,725</b>	65.410
	02313000x12	<b>1,258±0,240</b>	<b>0,499±0,298</b>	65.410
<b>Após a DA (C)</b>	02313000x22	<b>1,168±0,401</b>	<b>0,313±0,227</b>	65.410
	02313000x24	<b>1,145±0,442</b>	<b>0,379±0,240</b>	65.410
	02313000x25	<b>1,196±0,388</b>	<b>0,273±0,139</b>	65.410
	02313000x26	<b>1,169±0,488</b>	<b>0,240±0,109</b>	65.410

**Tabela 10** – Amostras do arquivo codificado com o nº 02610002x, de um animal desnutrido, com os seus respectivos parâmetros:  $D \pm SD$  e  $H \pm SD$ , e de acordo com as especificações: antes da DA (A), na avalanche (B) e após a DA (C).

<b>Especificação</b>	<b>Amostras</b>	<b>Dimensão Fractal (<math>D \pm SD</math>)</b>	<b>Coefficiente de Hurst (<math>H \pm SD</math>)</b>	<b>Tamanho da Amostra (N) (nº de pontos)</b>
<b>Antes da DA (A)</b>	02610002x01	<b>0,980</b> $\pm$ 0,797	<b>0,318</b> $\pm$ 0,185	41.580
	02610002x02	<b>0,990</b> $\pm$ 0,622	<b>0,335</b> $\pm$ 0,153	47.880
	02610002x03	<b>1,032</b> $\pm$ 0,799	<b>0,266</b> $\pm$ 0,392	55.440
<b>Na Avalanche (B)</b>	02610002x11	<b>1,225</b> $\pm$ 0,504	<b>0,352</b> $\pm$ 1,000	47.880
	02610002x12	<b>1,189</b> $\pm$ 0,590	<b>0,358</b> $\pm$ 0,879	47.880
	02610002x13	<b>1,172</b> $\pm$ 0,468	<b>0,342</b> $\pm$ 1,100	55.440
<b>Após a DA (C)</b>	02610002x21	<b>0,999</b> $\pm$ 0,947	<b>0,258</b> $\pm$ 0,615	60.480
	02610002x22	<b>0,914</b> $\pm$ 0,962	<b>0,265</b> $\pm$ 0,526	60.480
	02610002x23	<b>0,873</b> $\pm$ 1,050	<b>0,240</b> $\pm$ 0,387	60.480