

ROSÂNGELA SILVEIRA DO NASCIMENTO

**ANÁLISE DE CORRELAÇÃO DE LONGO ALCANCE NO
REGISTRO DA ATIVIDADE ELÉTRICA CORTICAL NO FENÔMENO
DA DEPRESSÃO ALASTRANTE EM RATOS**

RECIFE-PE – FEV/2008



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOMETRIA E ESTATÍSTICA APLICADA

**ANÁLISE DE CORRELAÇÃO DE LONGO ALCANCE NO
REGISTRO DA ATIVIDADE ELÉTRICA CORTICAL NO FENÔMENO
DA DEPRESSÃO ALASTRANTE EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biometria e Estatística Aplicada como exigência parcial à obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Desenvolvimento de Métodos Estatísticos e Computacionais

Orientador(a): Prof. Dr. Romildo A. Nogueira

Co-orientador(as): Profa. Dra. Tatijana Stosic
Profa. Dra. Laélia P. B. Campos dos Santos

RECIFE-PE – FEV/2008

FICHA CATALOGRÁFICA

N244a Nascimento, Rosângela Silveira do
Análise de correlação de longo alcance no registro da
atividade elétrica cortical no fenômeno da depressão alas -
trante em ratos / Rosângela Silveira do Nascimento. -- 2008
59 f. : il.

Orientador : Romildo de Albuquerque Nogueira
Dissertação (Mestrado em Biometria e Estatística Apli -
cada) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Depar -
tamento de Estatística e Informática.

Inclui bibliografia.

CDD 574.108 2

1. Correlação de longo alcance
 2. Detrended Fluctuation Analysis – DFA
 3. Teste de Wilcoxon
 4. Depressão alastrante
- I. Nogueira, Romildo de Albuquerque
II. Título

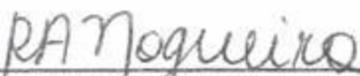
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOMETRIA E ESTATÍSTICA APLICADA

ANÁLISE DE CORRELAÇÃO DE LONGO ALCANCE NO REGISTRO
DA ATIVIDADE ELÉTRICA CORTICAL NO FENÔMENO DA
DEPRESSÃO ALASTRANTE EM RATOS

ROSÂNGELA SILVEIRA DO NASCIMENTO

Dissertação julgada adequada para
obtenção do título de mestre em Biometria
e Estatística Aplicada, defendida e
aprovada por unanimidade em 29/02/2008
pela Comissão Examinadora.

Orientador:



Prof. Dr. Romildo A. Nogueira
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Banca Examinadora:



Profa. Dra. Tatijana Stosic
Universidade Federal Rural de Pernambuco



Prof. Dr. Catão Temístocles de Freitas Barbosa
Universidade Federal de Pernambuco



Prof. Dr. Eufrazio de Sousa Santos
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Ao meu esposo **Amiraldo**,
aos meus filhos **Aluísio Neto, Vinícius e Danilo**

Dedico com Amor

AOS meus pais, irmãos e sobrinhos

Ofereço

Precisa-se de um amigo que diga que vale a pena
viver, não porque a vida é bela,
Mas porque já se tem um amigo

Vinicius de Moraes

Agradecimentos

Ao longo dessa caminhada aqui em Recife, tive a oportunidade de conviver com muitas pessoas, as quais em cada momento e situação deram sentido a minha vida. A estas pessoas, gostaria de agradecer com carinho e compartilhar com alegria mais uma conquista que não é só minha, mas de todos vocês.

A Deus

Força maior, por todas as bênçãos e graças recebidas nos momentos desta jornada.

Às instituições

Universidade Federal de Campina Grande por permitir minha saída em busca desse título;

Programa de Pós-graduação em Biometria pelo título de Mestre;

Ao coordenador Prof. Dr. Eufrázio Santos e todos os professores pelo apoio e ensinamentos;

Capes pelo incentivo financeiro.

A Amiraldo, Aluísio Neto, Vinícius e Danilo

Ao meu companheiro inseparável, Amiraldo, pelo seu apoio de diversas maneiras, com sua parcela de amor, carinho, compreensão, interesse e dedicação que precisei sem os quais esse objetivo não seria alcançado.

Aos meus filhos, que souberam aceitar os meus momentos de ausência. A vocês meu eterno amor!

À minha família

Meus pais (Aluísio e Zezita) exemplo de dignidade, e aos irmãos (Regina-Coeli, Luisinho, Rejane, Rosilene, Adalberto, Rosemary, Ruth e Ângelo) por serem meus amigos, sempre me trouxeram a motivação na qual me apoiei para continuar durante as ocasiões mais difíceis. Aos meus cunhados e sobrinhos, agradeço o carinho.

Aos meus orientadores

Romildo A. Nogueira, por todos os ensinamentos e atenção dedicada.

Tatijana e Laélia pela amizade, incentivo e co-orientação realizada com extrema competência.

Aos amigos

Aos Professores Marisa Sales e Antonio Brandão, que fomentaram em mim o desejo de trilhar este caminho. A vocês, minha admiração.

Paulo Roberto e Maria José pela acolhida carinhosa em sua casa nas horas que mais precisei. Minha gratidão!

Irmã Gloria pelo apoio incondicional e carinho que me dedicou.

Renato Moraes pela sua imensa bondade em me ajudar na intensa tarefa da classificação e análise do banco de dados.

Da Pós-graduação pelo companheirismo, colaboração e aprendizado que desenvolvemos juntos. Em especial ao Luiz Henrique pela grande parcela de contribuição na obtenção dos resultados. A vocês, meu eterno carinho!

Zuleide, por todo carinho de mãe e amiga prestado nessa caminhada e pelos prazerosos cafés.

Lidiane, exemplo de guerreira, por todo o carinho, força e dedicação, por estar sempre por perto me auxiliando e compartilhando, pelas brincadeiras e comidas comunitárias no apartamento e não esquecer que gosto de doce de buriti do Piauí.

Lucineide, pela convivência agradável, por compartilhar suas experiências e seus deliciosos "ABARÁS".

A todos que compõem o DEINFO (professores, secretários, mestrados e amigas Vanessa e Juliana), muito obrigada pelo apoio e amizade dispensados.

Resumo

O presente estudo se propõe a analisar a dinâmica da atividade elétrica cortical durante o fenômeno da depressão alastrante (DA) e nos períodos que antecede e sucede o fenômeno. A DA é caracterizada pela redução da amplitude da atividade elétrica espontânea que ocorre no tecido neural, após a aplicação de um estímulo de natureza elétrica, química, mecânica, luminosa e outros. Visando estudar o comportamento da série temporal da atividade elétrica cortical, registrada no ECoG (eletrocorticograma), durante a DA e nos períodos que precede e sucede o fenômeno, foi aplicado o método do DFA (Detrended Fluctuation Analysis). Este método permite quantificar a existência de correlação de longo alcance (memória) numa série temporal, como é o caso do registro do ECoG. Anteriormente, o método foi aplicado em seqüências de DNA e no estudo de séries temporais não estacionárias, tais como, dinâmica da variabilidade cardíaca, flutuações de eletroencefalograma de humanos, intervalos entre passos sucessivos de humanos, séries econômicas e outros. A aplicação do DFA numa série temporal permite a determinação de um expoente de escalonamento α , que pode contribuir para a compreensão das propriedades dos sistemas dinâmicos não lineares. Este expoente α revela se a série temporal apresenta correlação de longo alcance ou não. Neste trabalho os expoentes α foram calculados nas fases de controle, estímulo, avalanche, DA e após a DA para o ECoG, em dois grupos experimentais, ratos nutridos e ratos desnutridos. Em ambos os grupos experimentais, os valores obtidos para o expoente de escalonamento α denotam que a série temporal do ECoG apresenta correlação persistente (comportamento da série no presente se mantém no futuro) em todas as fases do processo com exceção da avalanche, período no qual ocorre perda de correlação. A presença de correlação de longo alcance numa série temporal biológica é uma resposta sempre observada em organismos saudáveis cuja complexidade do sinal registrado garante a adaptabilidade do organismo a situações de estresse e/ou distúrbios. Enquanto a ausência de correlação, observada na avalanche, indica a perda de propriedades fractais nos sistemas fisiológicos. O uso do método não-paramétrico de Wilcoxon, para comparar os valores médios dos expoentes α obtidos para o grupo de animais nutrido, durante as fases de controle, estimulação, DA, após DA, revelou que essas diferentes fases

diferem significativamente. Os valores médios dos expoentes α obtidos para o grupo de animais desnutrido, durante as fases de controle, estimulação, DA, após DA, também não foram significativamente diferentes, quando comparados pelo método de Wilcoxon. Na comparação dos valores médios de α nas fases de controle, estimulação, DA, após DA entre os dois grupos de animais (nutrido e desnutrido) o teste de Wilcoxon revelou que as médias dos expoentes α em cada fase para os animais nutridos diferem significativamente daquelas obtidas para os animais desnutridos. Na avalanche a hipótese de que o expoente α é igual a 0,5, não foi rejeitada pelo teste de Wilcoxon, ou seja, o teste confirmou a perda de correlação nessa fase. Na comparação entre as médias dos expoentes α nos diferentes intervalos (controle, estimulação, DA, após DA) com o valor do expoente α na avalanche, o teste de Wilcoxon acusou diferença significativa tanto no grupo dos nutridos como no grupo dos desnutridos.

Palavras-chave: Correlação de longo alcance, (*Detrended Fluctuation Analysis* - DFA), depressão alastrante.

Abstract

In the present work we analyze the dynamics of electrical cortical activity during the phenomenon of spreading depression (DA) and during the periods before and after this phenomenon. The characteristic of DA is reduced amplitude of spontaneous electrical activity that occurs in neural tissue after the application of stimulus that can be electrical, chemical, mechanical, luminous etc. In order to study properties of time series of electrical cortical activity recorded by ECoG (electrocortigram) before, during and after DA, we apply Detrended Fluctuation Analysis (DFA). This method is designed to quantify long term correlations (memory) in temporal series such ECoG register. The method was successfully applied in studies of DNA sequences and non-stationary time series as heart rate variability, stride intervals, financial time series etc. The application of DFA results in scaling exponent α that quantifies correlation properties of nonlinear dynamical systems. This experiment indicates if temporal series posses long term correlations. In this work we calculate exponent α for different intervals: control (before the stimulus), after the stimulus, during the avalanche, during DA and after DA for two experimental groups of rats, nourished and malnourished. For both experimental groups the values of exponent α indicates persistent behavior for all intervals except during the avalanche in which correlations degrade. The presence of long term correlations in physiological time series observed in healthy organisms represents complexity that guaranties the organism's adaptability to stress and disease. The absence of correlations during the avalanche indicates the loss of this complexity. Non-parametric Wilcoxon test was used to compare mean values of exponents α for all intervals of analyzed time series. In cases of nourished rats, the mean values of α are significantly different for control, stimulus, avalanche, DA and after-DA intervals. Wilcoxon test was also used to compare mean values of α for corresponding intervals for the two experimental groups. The result is significant difference in mean values of α for control, stimulus avalanche, DA and after DA intervals between two experimental groups. The hypothesis that $\alpha = 0.5$ for avalanche intervals was not rejected by test, confirming the loss of correlations in this phase. Comparison of mean values of α for different intervals (control, stimulus, DA and after DA) with avalanche using the Wilcoxon test results in significant difference between two groups.

Keywords: Long term correlation, spreading depression, (*Detrended Fluctuation Analysis* - DFA).

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Vista medial da metade direita do encéfalo destacando as principais partes do Sistema Nervoso Central **19**
- Figura 2. Estrutura de um axônio e suas partes constituintes (adaptada de URL1) **20**
- Figura 3. Anatomia fisiológica da sinapse **20**
- Figura 4. Anatomia do córtex cerebral mostrando os quatro lobos **22**
- Figura 5. Registro eletroencefalográfico com eletrodos posicionados no couro cabeludo- adaptado de Lent (2001) **24**
- Figura 6. (A) Fractal estocástico (abacaxi) (B) Fractal determinístico (tabuleiro de xadrez-checkerboard) **31**
- Figura 7. Processo fractal na dinâmica cardíaca **33**
- Figura 8. Esquema de registro do eletrocorticograma (ECoG). 1. Amplificador. 2. Sistema de registro e aquisição do ECoG. 3. Microeletrodo extracelular. 4. hemisfério cerebral direito e 5. esquerdo. 6. eletrodo de referência. 7. eletrodo de estimulação. 8. sistema de estimulação **37**
- Figura (9 A). Atividade padrão do ECoG com presença de um potencial evocado na última linha **39**
- Figura (9 B). Registro do momento da avalanche, com um potencial evocado no início da segunda linha **39**
- Figura (9 C). Fenômeno da depressão alastrante com um potencial evocado no início da segunda linha **40**
- Figura (9 D). Registro do pós-DA, com potencial evocado no final da primeira linha **40**
- Figura (10 A-C). Fases do método DFA GOLDBERGER et al., (2002) **44**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Médias dos expoentes α para ratos nutridos	45
Tabela 2. Médias dos expoentes α para ratos desnutridos	47
Tabela 3. Teste de Shapiro-Wilk para normalidade	47
Tabela 4. Diferenças entre médias dos expoentes por fases e o P-valor do teste de Wilcoxon	48
Tabela 5. Diferenças entre as médias dos expoentes α nas fases entre os grupos e o teste de Wilcoxon	49
Tabela 6. Diferença entre as médias dos expoentes α e o valor de α na avalanche e o P-valor do teste de Wilcoxon	49

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1. Sistema Nervoso Central.....	18
2.1.1 O córtex cerebral	21
2.1.2 Nutrição e desnutrição.....	22
2.1.3 Eletroencefalograma (EEG) e Eletrocorticograma (ECoG)	23
2.1.4 Epilepsia	25
2.2. Depressão Alastrante.....	28
2.3. Dinâmica Fractal na Fisiologia.....	30
2.3.1 Fractais	30
2.3.2 Processos fractais	32
2.3.3 Alterações das propriedades fractais em casos patológicos.....	35
4. MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.1. Experimento.....	36
4.2. Obtenção de dados.....	37
4.3. Séries temporais.....	41
4.4. Método de Análises de Flutuações sem Tendências - Detrended Fluctuation Analysis (DFA).....	41
5. RESULTADOS.....	45
5.1. Análise de Correlação do Sinal do ECoG.....	45
5.2. Análise Estatística.....	47
6. DISCUSSÃO	50
7. CONCLUSÕES	52
REFERÊNCIAS.....	53

1. INTRODUÇÃO

Os sistemas biológicos são, em sua maioria, dinâmicos, não lineares e instáveis. Compreender estes sistemas tem sido um desafio para muitas áreas das ciências naturais, uma vez que as características dos parâmetros biológicos sempre mudam com o “tempo”. Por tratar-se de sistemas tipicamente muito irregulares, a análise não estacionária de tais sistemas é uma tarefa altamente complexa.

Para descrever e quantificar a dinâmica do comportamento dos sistemas biológicos, a utilização de novas técnicas derivadas da teoria da complexidade, incluindo a dinâmica fractal e análise não linear, mostra-se perfeitamente adequada. A dinâmica fractal de sistemas biológicos tem sido estudada por vários autores, (NOGUEIRA, VARANDA e LIEBOVITCH, 1995; VARANDA et. al., 2000, CAMPOS DE OLIVEIRA et al., 2006, BARBOSA, CAMPOS DE OLIVEIRA e NOGUEIRA, 2007) no estudo da cinética de canais iônicos e (PENG et al., 1993 e 1995; GOLDBERGER, 1996 e 1997) no estudo da dinâmica cardíaca e nos intervalos entre dois passos de humanos. Estes estudos mostram que a quantificação de correlação em sinais biológicos, através do uso de um expoente de escalonamento, pode contribuir para a compreensão das propriedades dos sistemas biológicos dinâmicos e não lineares.

O expoente utilizado nesse trabalho será obtido por meio da análise de flutuações sem tendências (*Detrended Fluctuation Analysis* - DFA), que é um método desenvolvido para quantificação de correlações em séries temporais não estacionárias. Este método foi introduzido por Peng para análise de seqüências gênicas de DNA (PENG et al., 1994a) e foi aplicado em vários fenômenos dinâmicos, incluindo a dinâmica da variabilidade cardíaca (PENG et al., 1995; IVANOV, 1996); flutuações de eletroencefalograma de humanos (ROBINSON,

2003); intervalos entre passos sucessivos de humanos (HAUSDORFF et al., 1996); séries temporais econômicas (LIU et al., 1997; COSTA e VASCONCELOS, 2003) e fenômenos climáticos (PATTANTYÚS-ABRAHÁM, KILÁLY e JÁNOSI, 2004, IVANOVA, 1999).

A vantagem do DFA em relação a métodos convencionais (por exemplo, análise de Hurst) é que o mesmo permite a detecção da auto-similaridade intrínseca de séries temporais não estacionárias e também evita detecções auto-similaridade aparente mais que são na verdade artefatos de tendência incorporada no sinal (CHIANCA, TICONA e PENNA, 2005; HU et al., 2001).

Dentre os sistemas dinâmicos mais conhecidos pela sua complexidade está o sistema cerebral, que a partir de uma rede de neurônios interligados desempenha suas funções. O conjunto destas interligações chama-se sinapse, que permite a transmissão de informação de um neurônio a outro. De acordo com os sinais que recebe, o neurônio pode propagar (sinapse excitatória) ou não (sinapse inibitória), através de seu axônio, sinais elétricos. A atividade cerebral é formada pela superposição de todos os sinais, que reflete e comanda concomitantemente a interação com o meio ambiente, nele incluído o resto do organismo.

Entre os vários fatores externos que provocam alterações no sistema nervoso central, pode-se citar a desnutrição, ocorrida em fases precoces da vida, pode promover alterações de vários parâmetros no cérebro, período em que ele é mais vulnerável às agressões (DOBBING, 1968). Pesquisas têm sido realizadas em ratos submetidos à desnutrição no início da vida e os resultados mostram uma diminuição dos pesos corporal e encefálico nesses animais, que se mantêm mesmo após a recuperação nutricional (ROCHA DE MELO e GUEDES, 1997). Foram também observadas alterações na excitabilidade do sistema nervoso central (BRONZINO, et al., 1986) e periférico (ROCHA DE MELO e GUEDES, 1997). A desnutrição contribui para aumentar as taxas de morbidade e mortalidade infantil em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento.

O estudo da correlação do registro da atividade elétrica cerebral pode fornecer informações significativas sobre o comportamento da dinâmica cortical. A fim de analisar o comportamento eletrofisiológico da atividade cerebral, o presente estudo se propõe a observar a dinâmica fractal em várias etapas do sinal presente no fenômeno da depressão alastrante (DA). Este fenômeno é caracterizado pela redução acentuada na amplitude da atividade elétrica espontânea observada no electrocorticograma (ECoG) e ocorre no tecido neural após a aplicação de um estímulo elétrico, químico, mecânico, luminoso e outros. A DA foi descrita pela primeira vez em 1944 pelo professor Aristides A. P. Leão e a partir daí tem sido extensamente estudada, porém diversos aspectos ainda não foram completamente compreendidos.

Uma análise da dinâmica da série temporal do sinal do ECoG pode revelar algum tipo de variabilidade complexa associada à correlação de longo alcance (fractal) e classes distintas de interações não-lineares. Este tipo de análise pode produzir informações que podem ser úteis na avaliação de diagnósticos e prognósticos (GOLDBERGER, 2002).

O objetivo desta pesquisa foi o de investigar a correlação de longo alcance na atividade elétrica cortical, observada no registro do ECoG, em ratos nutridos e desnutridos durante a DA e nos períodos anterior e posterior ao fenômeno, usando o método do DFA na análise da série temporal do ECoG.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Sistema Nervoso Central

O Sistema Nervoso é responsável por todas as funções de controle do corpo humano. Esse sistema é formado pelo sistema nervoso central, constituído pelo encéfalo e a medula espinhal e pelo sistema nervoso periférico. O sistema nervoso central tem em sua composição sete regiões anatômicas. As principais são: medula espinhal, bulbo, ponte, cerebelo, mesencéfalo, diencéfalo e os hemisférios cerebrais.

Estas partes principais são mostradas na figura 1 e são definidas por Kandel, Schwartz e Jessell (2000) da seguinte forma: A medula espinhal é a parte mais caudal do sistema nervoso central, recebe e processa a informação sensorial oriunda da pele, das articulações e dos músculos dos membros e do tronco. O bulbo fica acima da medula espinhal contém diversos centros responsáveis por funções autonômicas vitais, tais como digestão, respiração e controle de frequência cardíaca. A ponte está situada acima do bulbo e transmite informação sobre o movimento do cérebro para o cerebelo. O cerebelo está posicionado por trás da ponte e é ligado ao tronco cerebral por diversos tratos de fibras, chamados de pedúnculos, o cerebelo 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 o tálamo, processa a maior parte da informação que chega ao córtex cerebral, vinda do resto do sistema nervoso central. A outra, o hipotálamo, regula as funções autonômicas, endócrinas e viscerais.

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 glânglios 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.

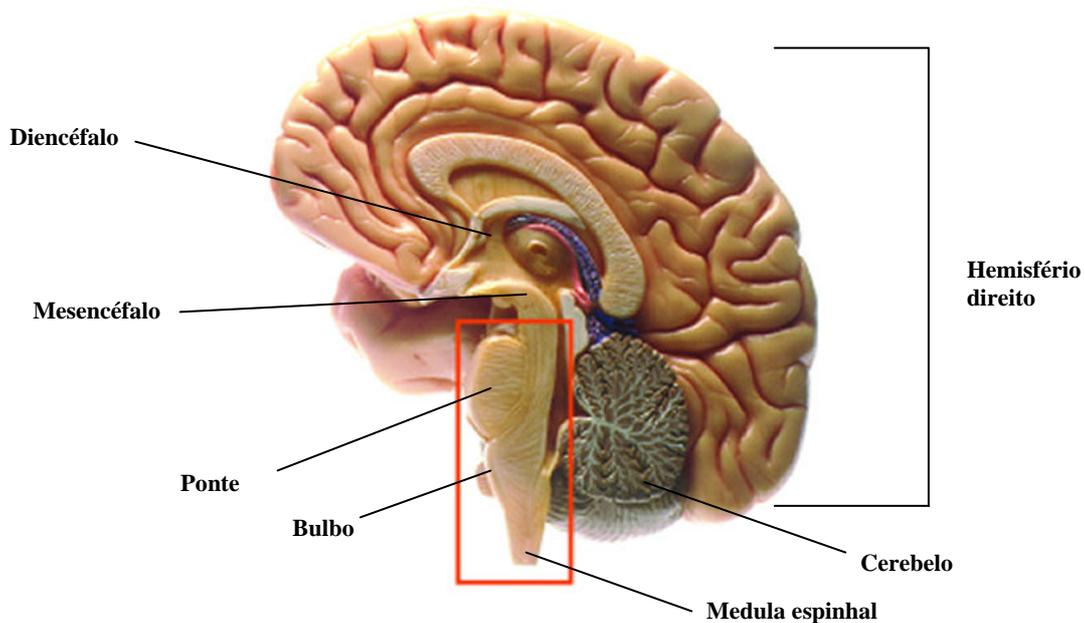


Figura 1. Vista medial da metade direita do encéfalo destacando as principais partes do Sistema Nervoso Central

As células básicas encontradas no tecido nervoso são os neurônios e as células de suporte e isolamento, chamadas de neuroglias ou simplesmente de glias, no sistema nervoso central e no periférico são denominadas células de schwann (figura 2). Os neurônios enviam os sinais pelo sistema nervoso, sendo o seu número em torno de 100 bilhões em todo o sistema. As principais partes do neurônio do sistema nervoso central são o corpo celular, os dendritos, os axônios e suas terminações pré-sinápticas.

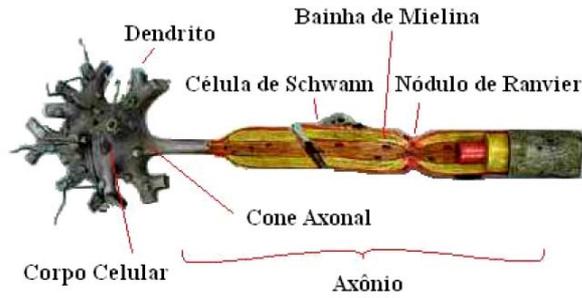


Figura 2. Estrutura de um axônio e suas partes constituintes (adaptada de URL1)

O corpo celular (soma) é o centro metabólico da célula de onde têm origem todas as outras partes do neurônio. Os dendritos se ramificam e servem como a principal estrutura para a recepção de sinais de outras células neuronais. Do corpo celular pode sair vários dendritos, porém dele se origina um único axônio, que é a principal unidade condutora do neurônio. Ao longo do axônio são propagados sinais elétricos chamados de potenciais de ação, que são impulsos elétricos rápidos e transientes do tipo tudo-ou-nada, com amplitude de 100 milivolts (mV) e duração de cerca de 1 ms (KANDEL, SCHWARTZ e JESSELL, 2000).

Num neurônio vários ramos muito finos podem fazer contato com outros neurônios, chamado de sinapse (figura 3). A célula responsável pela transmissão de um sinal é designada pré-sináptica e a célula que recebe o sinal é a pós-sináptica. Estas células são separadas na sinapse por um espaço chamado de fenda sináptica.

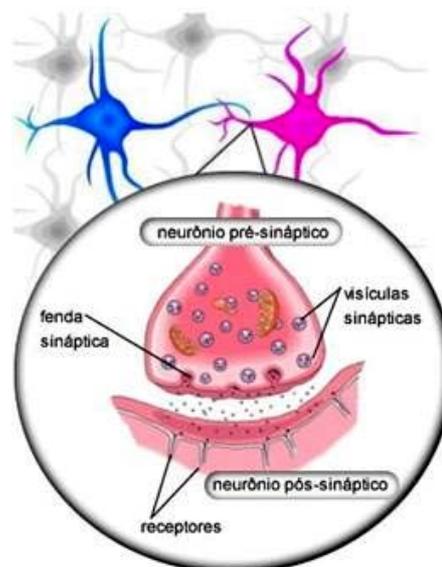


Figura 3. Anatomia fisiológica da sinapse

No sistema nervoso central de humanos ocorrem sinapses químicas e elétricas. Na sinapse química o primeiro neurônio secreta um composto químico, conhecido como neurotransmissor, que age sobre as proteínas receptoras existentes na membrana do neurônio seguinte, com o objetivo de alterar de alguma forma sua sensibilidade. As substâncias transmissoras mais conhecidas são a acetilcolina, a norepinefina, a histamina, o ácido gama-aminobutírico (GABA) e o glutamato.

A sinapse elétrica caracteriza-se pela presença de canais iônicos formado pelos conexons, que são estruturas protéicas que conectam os neurônios e que podem conduzir corrente elétrica entre as células acopladas. Os neurônios nesse tipo de sinapse se conectam entre si através de junções abertas (gap junctions).

As células nervosas são variadas, com capacidade única de se comunicarem precisa e rapidamente e a longas distâncias umas com as outras e com células-alvo tais como os músculos e as células glandulares. O neurônio contém dendritos receptivos a informações elétricas e químicas, um corpo celular, no qual se realizam os processos metabólicos, os axônios e as terminações sinápticas, que propagam informações elétricas e químicas a outros neurônios. A excitabilidade do neurônio deve-se à sua membrana que tem proteínas especializadas, como os canais iônicos e receptores específicos e que podem transportar íons para dentro e para fora da célula.

2.1.1 O córtex cerebral

A delgada casca de substância cinzenta que recobre toda a superfície do cérebro é o córtex cerebral, o qual contém cerca de 50 a 80 bilhões de corpos celulares neuronais. A parte funcional do córtex cerebral é composta principalmente de uma fina camada de neurônios com 2 a 5 mm de espessura. O córtex cerebral apresenta na sua estrutura camadas de diferentes tipos de células, a maior parte delas pertence a um dos três tipos: granulares, fusiforme e piramidais.

Quanto a sua classificação anatômica, a divisão do córtex cerebral baseia-se em sulcos, giros e lobos. Observam-se no córtex os lobos frontal, temporal, parietal

e occipital; os lobos estão envolvidos na maior parte das nossas funções mentais mais complexas como o raciocínio, a linguagem e a consciência (KANDEL, SCHWARTZ e JESSELL, 2000).

O lobo frontal é responsável pelo controle de nossos movimentos voluntários e por alguns aspectos de nosso comportamento e emoções. O parietal responde por nossa percepção do toque (sensação) e pelo controle de alguns movimentos involuntários e também está envolvido nas aptidões, tais como ler, escrever e se vestir. O lobo temporal controla a nossa fala, a linguagem e a audição, nossas sensações de medo e raiva, e nossas funções intestinais e da bexiga e também faz parte do comportamento. O occipital é responsável pela visão e pela interpretação daquilo que vemos. A figura 4 mostra a disposição dos lobos no córtex cerebral.

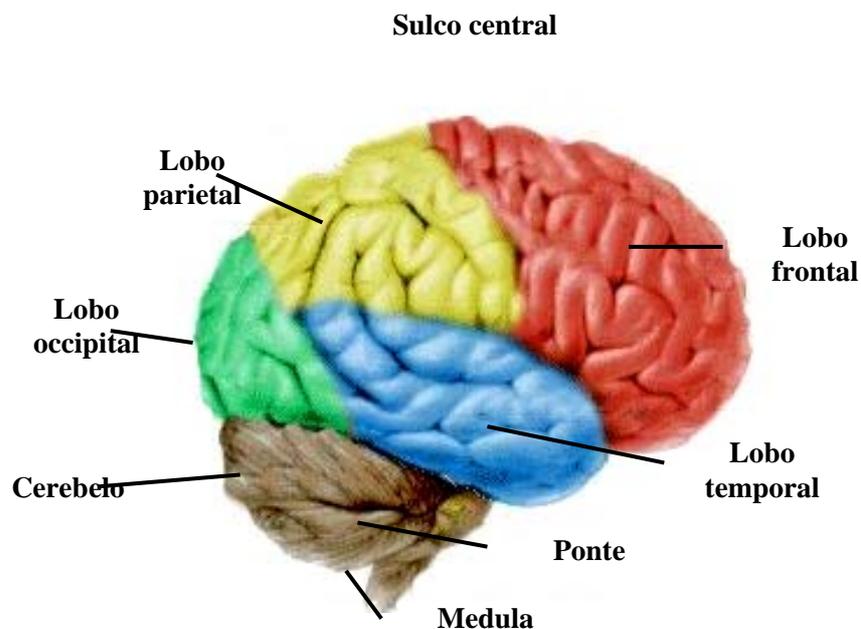


Figura 4. Anatomia do córtex cerebral mostrando os quatro lobos

2.1.2 Nutrição e desnutrição

A nutrição tem papel relevante na estrutura funcional do cérebro, apresentando importantes implicações no sistema nervoso, garantindo a eficiência do funcionamento do cérebro na vida adulta. Existem inúmeros agentes externos que provocam alterações no sistema nervoso central, dentre eles, pode-se citar a desnutrição, quando ocorrida em fase precoce da vida, pode promover alterações

cerebrais. Neste período o animal é mais vulnerável às agressões (DOBBING, 1968), e é por esta razão, que a desnutrição contribui para aumentar as taxas de morbidade e mortalidade infantil em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento.

Várias pesquisas têm sido realizadas em ratos submetidos à desnutrição no início da vida e os resultados mostram uma diminuição dos pesos corporal e encefálico nesses animais, que se mantêm mesmo após a recuperação nutricional (ROCHA DE MELO e GUEDES, 1997). Além disso, são observadas também alterações na excitabilidade do sistema nervoso central (BRONZINO, et al., 1986) e periférico (ROCHA DE MELO e GUEDES, 1997).

Estudos têm sido desenvolvidos no Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio (LAFINNT) do Departamento de Nutrição da UFPE. As evidências experimentais indicam que animais desnutridos são susceptíveis à excitabilidade neural do tipo reatividade aumentada a estímulos aversivos e têm propensão a crises convulsivas obtidas experimentalmente (GUEDES, MELO e TEODÓSIO, 2004). O estudo da excitabilidade cerebral é realizado através de registros elétricos, obtidos a partir do eletrocorticograma (ECoG), e da análise dessa atividade elétrica produzida pelo cérebro. Nesses estudos tem sido observado que a desnutrição torna o animal mais susceptível à propagação da depressão alastrante, a qual será utilizada no presente projeto e suas características serão descritas posteriormente.

2.1.3 Eletroencefalograma (EEG) e Eletrocorticograma (ECoG)

O EEG é uma manifestação bioelétrica dos tecidos nervosos contidos na cavidade craniana. Ele reflete a atividade elétrica dos neurônios no cérebro. Através do EEG é possível se captar as atividades neuronais do córtex cerebral que ecoam sob forma de onda eletroquímica até a superfície do escalpo.

O registro da atividade elétrica cerebral é obtido por meio do aparelho de eletroencefalografia. Na prática o eletroencefalograma é realizado através da colocação de eletrodos em forma de discos, dispostos no couro cabeludo do

paciente, conhecida como captação não-invasiva (figura 5). Os eletrodos são conectados a um poderoso amplificador de corrente elétrica, que aumenta a amplitude do sinal elétrico gerado pelo cérebro milhares de vezes e, através de um dispositivo chamado galvanômetro, as oscilações da corrente elétrica são desenhadas numa tira de papel sob a forma de ondas ou digitalizadas num computador. É possível obter registro simultâneo de até 40 canais (eletrodos) por meio dos eletroencefalógrafos mais modernos.

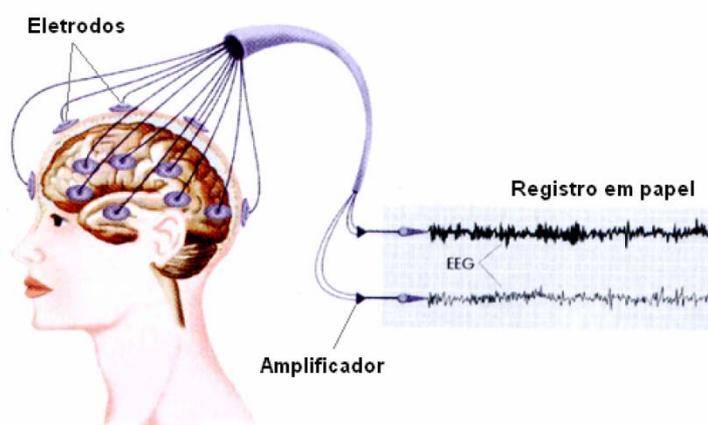


Figura 5. Registro eletroencefalográfico com eletrodos posicionados no couro cabeludo-adaptado de Lent (2001)

O EEG busca localizar com precisão os focos epiléticos ou tumores cerebrais, detectados a partir da atividade elétrica que se apresenta anormal em determinadas regiões do cérebro, onde estão os focos epiléticos. Desta forma o EEG pode ser considerado o melhor exame complementar para clínica, diagnóstico definitivo e terapia da epilepsia (SILVA e COSTA NETO, 1998).

O espectro do sinal EEG pode ser subdividido em diferentes tipos de ondas: alfa, beta, delta, teta, gama, lambda, mi, ondas Fusiformes de sono e complexos K. No entanto, um tipo de onda terá maior ou menor predominância em função da região do escalpo que está sendo analisado, bem como do estado do indivíduo – vigília, sono, coma, relaxamento, ou ainda, estados patológicos como epilepsia, comportamentos psicóticos, demência entre outros.

Quando a medida da atividade elétrica do cérebro é feita dentro do tecido neural, é chamada de registro profundo, se é na superfície do córtex, é chamada de electrocorticograma (ECoG). Através de eletrodos posicionados no córtex de animal

ou de humanos capta-se o sinal elétrico da atividade do cérebro, registrando-se a voltagem ao longo do tempo. Esta técnica é utilizada quando se pretende estudar a atividade elétrica diretamente no córtex, com a colocação de eletrodos através da dura-máter, na superfície do córtex. O ECoG registra os impulsos elétricos da atividade neuronal em um determinado intervalo de tempo.

O EEG e ECoG apresentam o registro da voltagem em função do tempo, denominado de série temporal, caracterizando um sistema não-linear muito estudado pelos pesquisadores de sistemas dinâmicos, a fim de obter respostas a respeito desse sistema complexo, através do uso de ferramentas computacionais e estatísticas adequadas.

O EEG tem sido usado na determinação de focos epiléticos ou tumores cerebrais, cuja atividade elétrica se apresenta anormal nas regiões do cérebro, onde se encontram esses focos epiléticos.

2.1.4 Epilepsia

A epilepsia é caracterizada por atividade elétrica excessiva não controlada de parte ou de todo o sistema nervoso, que pode ter origem hereditária ou decorrer de efeitos secundários de lesões do córtex, tais como as traumáticas, infecciosas ou tóxicas (CUKIERT, 2006). A ocorrência de sinais ou sintomas transitórios decorrentes da atividade neuronal excessiva ou síncrona no cérebro caracteriza crises epiléticas. Epilepsia é um distúrbio cerebral decorrente da predisposição persistente do cérebro em gerar crises epiléticas (YACUBIAN, 2006).

O quadro de status epilepticus é caracterizado como uma crise duradoura denominada de crise contínua, que não apresenta curso autolimitado, ou seja, com início e término definidos nos neurônios cerebrais. As crises epiléticas são classificadas em duas categorias: as parciais ou focais e as generalizadas. As crises parciais ou focais são aquelas em que há envolvimento inicial de apenas uma parte de um hemisfério cerebral, podendo ser dividida em dois tipos chamados simples e complexo. Nas crises focais simples, o nível de consciência da pessoa ou seu

estado de alerta não é afetado durante a crise, o que envolve uma mudança de sensação como um cheiro ou gosto estranhos, ou um medo inexplicável. Nas crises focais complexas, a consciência ou estado de alerta estão afetados; no momento da crise a pessoa pode parecer confusa ou aturdida, com comportamento estranho.

As crises generalizadas são aquelas em que há envolvimento, desde o início de amplas áreas de ambos os hemisférios cerebrais, são divididas em convulsivas (crises tônicas, crises clônicas, mioclônicas, crises tônico-clônicas generalizadas) e não convulsivas (crises de ausência e crises atônicas) (YACUBIAN, 2006).

As crises tônico-clônicas, também chamadas de grande mal, são as crises generalizadas mais comuns, constituídas de um estágio tônico seguido de um estágio clônico. No primeiro, a fase tônica consiste numa breve flexão do tronco e pescoço e sucessivamente dos membros e costuma durar entre 10 e 20 segundos. A fase clônica é caracterizada por um tremor generalizado seguido por violentos espasmos reflexos flexores rítmicos com duração de até 30 segundos. As crises mioclônicas consistem de breves, bruscos e arrítmicos abalos musculares que se assemelham a choques, com duração menor que 1 segundo. Elas são descritas pelos pacientes como “susto” ou “choque” e na maioria das vezes ocorrem pela manhã, ao acordar (DALBEM e COSTA, 2006).

As crises de ausência apresentam breves episódios de perda de consciência, sem aura ou confusão pós-ictal, em geral duram menos de 20 segundos. Nas crises atônicas observa-se perda ou diminuição súbita do tono muscular, envolvendo cabeça, tronco ou membros. Tais crises são decorrentes de perda do tônus postural, podendo causar queda suave, se o indivíduo estiver em pé e seu tempo de duração é de poucos segundos.

O diagnóstico da epilepsia é a princípio um diagnóstico clínico, que se baseia nas informações fornecidas pelo paciente, ou seja, com descrição do que aconteceu com o paciente antes, durante e depois de uma crise. Além dos exames neurológicos de rotina, o eletroencefalograma (EEG) pode reforçar o diagnóstico ajudando na classificação especificamente sobre o tipo de epilepsia ou de síndrome epiléptica. Os Registros feitos com o EEG demonstram que ocorrem descargas

sincrônicas de voltagem elevada em todo o córtex. Essas descargas envolvem os hemisférios cerebrais, demonstrando o envolvimento das crises com muita intensidade nas regiões basais do encéfalo que atuam sobre o córtex (GUYTON, 1993). Alguns dos fatores que podem aumentar a excitabilidade do circuito “epileptogênico” anormal de forma suficiente para precipitar as crises são: fortes estímulos emocionais, alcalose causada por hiperventilação, substâncias químicas, febre e sons intensos ou luz piscante. Além disso, lesões traumáticas em quase todas as partes do cérebro podem causar excitabilidade excessiva de áreas cerebrais (GUYTON, 1993).

A epilepsia é uma das neuropatologias que afetam 1% da população mundial, sendo o tipo lobo temporal (ELT) a forma mais freqüente da manifestação desta doença em indivíduos, correspondendo a 40% . Em indivíduos portadores da ELT muitos estudos têm sido feito devido à alta incidência de refratariedade às drogas antiepilépticas.

Os modelos animais para crises e epilepsias têm ajudado a entender as mudanças comportamentais e psicológicas associadas à epilepsia humana. Entre os vários modelos experimentais que têm sido criados destaca-se aquele que faz uso da pilocarpina com intuito de reproduzir em animais as alterações clínicas, eletrográficas e histológicas encontradas na ELT de humanos. Esta substância causa em animais manifestações epiléticas semelhantes às encontradas na epilepsia do lobo temporal do homem (DOS SANTOS et al., 2000).

O pesquisador Aristides Azevedo Pacheco Leão em 1944, estudando a epilepsia experimental na Escola de Medicina de Harvard nos Estados Unidos (LEÃO, 1944a), observou a ocorrência de uma redução transitória da amplitude da atividade elétrica cortical, um fenômeno que ele denominou de Depressão Alastrante.

A depressão alastrante tem sido utilizada como modelo experimental para avaliar o comportamento eletrofisiológico do cérebro em situações experimentais (XIMENES-DA-SILVA e GUEDES, 1991; GUEDES, CABRAL-FILHO, TEODÓSIO, 1992; ROCHA-DE-MELO, CAVALHEIRO, 1997). A depressão alastrante será

abordada neste estudo e a seguir serão apresentadas as suas características mais importantes.

2.2. Depressão Alastrante

A Depressão Alastrante (DA) é um fenômeno que apresenta características como ser transiente e recorrente, associado com a supressão da atividade elétrica espontânea do tecido neuronal por poucos minutos. A deflagração da DA acontece por estímulos de diferentes naturezas: química, elétrica ou mecânica e outros, aplicados no córtex cerebral. A DA aparece primeiro na região estimulada e se propaga de forma concêntrica com velocidade entre 2 e 10 mm/min, atingindo gradualmente as regiões corticais cada vez mais distantes, enquanto a área inicialmente deprimida começa a se recuperar. Em geral a recuperação completa é obtida após 5 a 10 minutos. Este mecanismo de propagação de forma geral se baseia em hipóteses relacionadas com a liberação maciça de substâncias do interior dos neurônios para o meio extracelular. As mais aceitas são: liberação de potássio por Grafstein (1956), de glutamato por Van Harreveld e Fifková (1970), hipótese das gap-junctions por Somjen et al.(1992).

Os primeiros relatos sobre o fenômeno foram feitos pelo doutor Aristides Azevedo Pacheco Leão em 1944, enquanto estudava a epilepsia experimental na Escola de Medicina de Harvard nos Estados Unidos (LEÃO 1944a). Na realização do experimento eletrodos foram colocados em fila na superfície do córtex de um coelho, utilizando um eletrodo referência para provocar um estímulo elétrico na região e os demais para registrar as alterações da atividade elétrica na superfície do córtex. Leão (1944a) observou que, após o estímulo, ocorria uma acentuada diminuição na atividade elétrica espontânea do córtex que se propagava a partir do ponto estimulado para as regiões adjacentes e aproximadamente 15 minutos depois, a atividade elétrica retornava ao normal. A partir destas observações Leão denominou o fenômeno de Depressão Alastrante.

Outras atividades também se desenvolvem durante a propagação da DA cortical. As mais freqüentes são as do tipo ondas lentas, de grande amplitude com

componentes predominantemente negativos. Outro tipo de atividade compreende potenciais rápidos e agudos, normalmente positivos, que se seguem às ondas lentas e que ocorrem em breves descargas ou em sucessões continuadas. Concomitante à depressão da atividade espontânea e às variações de potenciais observadas, registra-se no córtex uma variação lenta de voltagem (VLV) acompanhando a DA. A VLV também se propaga de forma concêntrica a partir do ponto estimulado e se apresenta com ondas de formas bem definidas, com fácil caracterização do início e fim, que indica a existência da DA, o que motiva o uso da VLV para calcular a velocidade com que o fenômeno se propaga pelo tecido nervoso, velocidade essa que varia de 2 a 5 mm/min, apresentando grande amplitude (10 a 20 mV) e evolução lenta, entre 1 a 2 minutos de duração (LEÃO, 1947).

Alterações nos vasos pial é outra característica que ocorre conjuntamente com a depressão da atividade elétrica, causando aumento do fluxo sanguíneo cerebral e dilatação em artérias de todos os tamanhos. Os aumentos em diâmetro são da ordem de 50 a 100 por cento (LEÃO, 1944b). O tecido cortical tem sua resistência aumentada por cerca de um minuto e meio, coincidindo o início desta elevação com a fase negativa da VLV, voltando aos valores normais na fase inicial do potencial positivo (LEÃO e MARTINS FERREIRA, 1953).

O fenômeno da DA tem grande relevância clínica, pois existem indícios de que ele possa está associado com várias patologias como, por exemplo, a isquemia, a epilepsia e com a origem da enxaqueca com aura. 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, 1944a), o que gerou a hipótese de que talvez os mecanismos da DA e da epilepsia tivessem características comuns. Trabalhos que utilizaram o modelo experimental de epilepsia provocada pela pilocarpina (GUEDES e CARVALHEIRO, 1997), e da desnutrição (GUEDES, MONTEIRO e TEODÓSIO, 1996), constataram que a indução de epilepsia provoca alterações no fenômeno da DA no que diz respeito à sua incidência e velocidade de propagação da DA.

A motivação para o uso do modelo da DA deve-se à facilidade que ele apresenta para o estudo de aspectos eletrofisiológicos cerebrais relacionados ao desenvolvimento e à nutrição. Além disso, o conhecimento dos mecanismos da DA pode facilitar a compressão e tratamento de neuropatologias humanas.

2.3. Dinâmica Fractal na Fisiologia

Os sistemas fisiológicos são extremamente complexos. Essa complexidade é o resultado de interações entre unidades estruturais e processos regulatórios que operam nas várias escalas espaciais e temporais, possibilitando a resposta do organismo aos estresses e distúrbios. Quantificação e modelagem desses mecanismos são um dos maiores desafios da ciência moderna. A combinação de não linearidade e não estacionaridade nos sistemas fisiológicos não são explicadas usando modelos clássicos de controle fisiológico. Sistemas saudáveis são auto regulatórios com tendência a diminuir a variabilidade e manter a constância (GOLDBERGER et al., 2002).

Para descrever e quantificar os mecanismos desse comportamento, cientistas começaram usar novas técnicas derivadas da teoria da complexidade incluindo dinâmica fractal e análise não linear. O termo “não linear” se aplica aos sistemas cujos componentes interagem de maneira não aditiva. Isso resulta em grande variedade de dinâmicas incluindo bifurcações, oscilações não lineares (GLASS, 1988), fractais, caos (GOLDBERGER, RYNEY e WEST, 1990; BASSINGTHWAIGHT, LIEBOVITCH e BRUCE, 1994) e ressonâncias estocásticas (WIENSENFELD e MOSS, 1995).

2.3.1 Fractais

O termo fractal aplica se a objetos complexos gerados por processos estocásticos ou mecanismos não lineares determinísticos. Fractais apresentam auto-similaridade (os pedaços de objeto assemelham se ao objeto todo) e tem a dimensão não inteira (fracionária) menor do que a dimensão do espaço euclidiano no qual o fractal se encontra contido. Exemplos dos fractais são: árvores, nuvens,

linhas costeiras, redes arteriais, árvore traqueobronquial, ramificações de músculos cardíacos, neurônios etc. (FEDER, 1988; VICSEK, 1993; BASSINGTHWAIGHT, LIEBOVITCH e BRUCE, 1994). Esses exemplos pertencem à classe dos fractais estocásticos, figura (6A), que possuem a propriedade de auto-similaridade em sentido estatístico, dentro dos limites da escala, onde o limite inferior representa à dimensão de partículas do sistema e o limite superior à dimensão linear do sistema.

Os objetos geométricos (fractais determinísticos) podem ser construídos e possuem propriedade de auto-similaridade em todas as escalas ver figura (6B). O procedimento é um processo iterativo que consiste em substituir as unidades da estrutura (ex. triângulos, quadrados) pela estrutura básica característica para cada tipo de fractal (VICSEK, 1993).

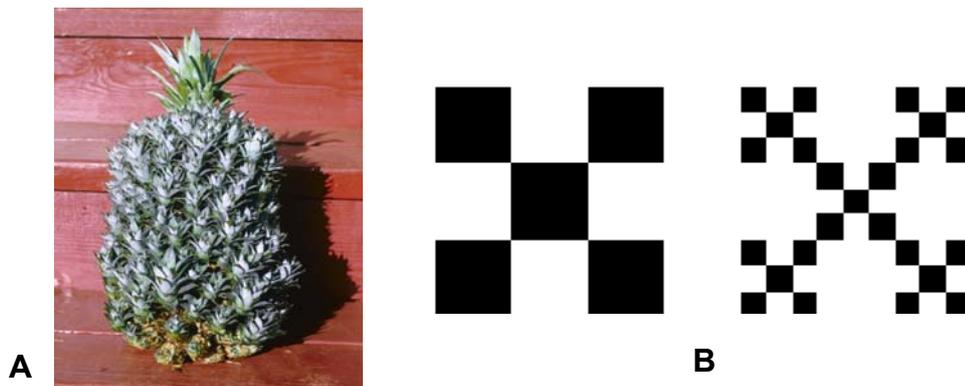


Figura 6. (A) Fractal estocástico (abacaxi) (B) Fractal determinístico (tabuleiro de xadrez-checkerboard)

Em fractais estocásticos a dimensão fractal é definida pela expressão:

$$V(R) \propto R^{d_f} \quad (1)$$

onde $V(R)$ é o volume da região de dimensão linear R e d_f a dimensão fractal, um número não inteiro e menor do que a dimensão euclidiana D do espaço em que o fractal está situado ($d_f < D$). Existem vários métodos para calcular a dimensão fractal, entre eles podemos citar: contagem de caixas (box counting), raio de giração (radius of gyration), função de correlação (correlation function) (VICSEK, 1993).

Nos fractais determinísticos a dimensão fractal pode ser determinada usando o procedimento seguinte: se $N(l)$ é o número de unidades da estrutura (ex. triângulos, quadrados) em escala l , a diminuição da escala b vezes gera um novo número de unidades estruturais,

$$N\left(\frac{l}{b}\right) = N(l)b^{d_f} \quad (2)$$

e a dimensão fractal d_f pode ser calculada usando a expressão:

$$d_f = \frac{\log \frac{N\left(\frac{l}{b}\right)}{N(l)}}{\log b} \quad (3)$$

onde essa expressão é válida para todas as escalas. No caso do tabuleiro de xadrez (figura .4B) a diminuição de escala três vezes resulta com aumento de unidades estruturais (quadrados) cinco vezes e a dimensão fractal calculada pela equação (3)

tem valor $d_f = \frac{\log 5}{\log 3} = 1.465$.

2.3.2 Processos fractais

O conceito fractal pode ser estendido para processos complexos que não possuem uma única escala do tempo. Os processos fractais geram as flutuações irregulares em múltiplas escalas do tempo. Essas flutuações temporais possuem a auto-similaridade estatística da mesma maneira que os objetos fractais possuem a estrutura semelhante nas várias escalas espaciais. Alguns exemplos são: os intervalos entre batimentos cardíacos em humanos (KOBAYASHI e MUSHI, 1982; PENG et al., 1993), intervalo entre dois passos de humanos (HAUSDORFF et al., 1995), flutuações na respiração (SZETO et al., 1992), variação da pressão arterial (MARCH, OSBORN e CONLEY, 1990), contagem das células brancas em sangue (GOLDBERGER, KOLBATER e BHARGAVA, 1984) e cinética de canais iônicos (BASSINGTHWAIGHT, LIEBOVITCH e BRUCE, 1994; NOGUEIRA, VARANDA e LIEBOVITCH, 1995).

A figura 7 representa um processo fractal da frequência cardíaca de indivíduo saudável, número de batimentos por minuto, mostrando a auto-similaridade estatística das flutuações nas escalas diferentes.

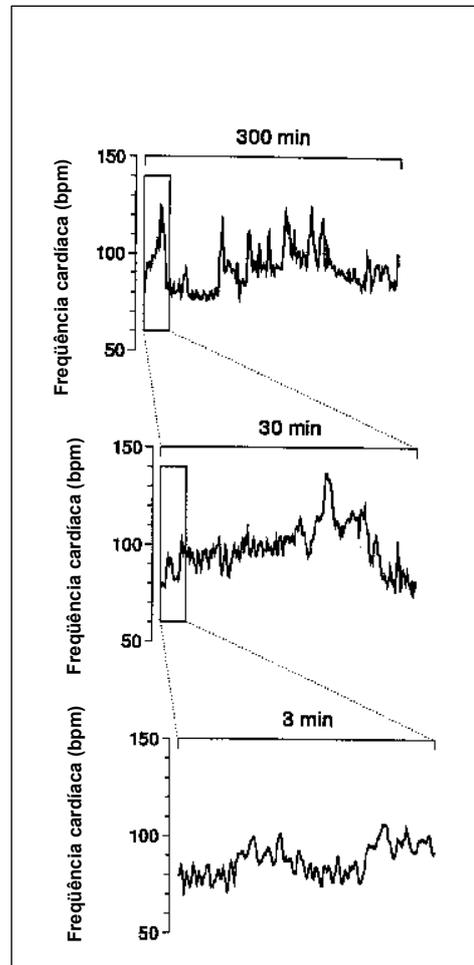


Figura 7. Processo fractal na dinâmica cardíaca
GOLDBERGER et al., (2002)

A detecção e quantificação da auto-similaridade em séries temporais tornam-se mais complexa do que no caso dos fractais geométricos. A série temporal, apesar de representação gráfica em uma superfície bidimensional, envolve dois tipos de variáveis: eixo horizontal representa o tempo e eixo vertical representa a variável que depende do tempo, (exemplo, intervalos entre batimentos cardíacos). No caso de fractal geométrico, incorporado em espaço bidimensional (exemplo, linhas costeiras), os eixos representam variáveis do mesmo tipo.

Para determinar se essa curva bidimensional possui a propriedade de auto-similaridade, extrai-se um pedaço dela, aumenta até o tamanho do objeto original usando o mesmo fator de magnificação para comprimento e largura, e comparam-se as propriedades estatísticas do pedaço aumentado como objeto todo. No caso das séries temporais, precisam-se dois fatores de magnificação (um para cada tipo de variável) para poder comparar o subconjunto da série com a série toda.

Uma série temporal $y(t)$ possui propriedade de auto-similaridade com o parâmetro α se:

$$y(t) = a^\alpha y\left(\frac{t}{a}\right) \quad (4)$$

onde “=” significa a igualdade de propriedades estatísticas. Essa igualdade surge após mudanças de escalas para t e $y(t)$ usando os fatores diferentes: a para t $\left(t \rightarrow \frac{t}{a}\right)$ e a^α para $y(t)$ $\left(y(t) \rightarrow a^\alpha y(t)\right)$. O expoente α chama-se parâmetro de auto-similaridade.

Numa série temporal que possui auto-similaridade com um parâmetro $\alpha > 0$, as flutuações dentro de um intervalo (subconjunto da série) aumentam com o tamanho do intervalo pela lei da potência. As flutuações em intervalos grandes são maiores do que as flutuações em intervalos pequenos, significando uma série temporal não limitada (unbounded). Por outro lado a maioria das séries temporais fisiológicas de interesse (exemplo, séries temporais de batimentos cardíacos e de intervalos entre dois passos) são limitadas (bounded), significando que as amplitudes não aumentam arbitrariamente com aumento do comprimento da série. Isso torna a aplicação da definição (4) difícil, porque pode resultar no mesmo valor do parâmetro de auto-similaridade ($\alpha = 0$) para uma série que possui auto-similaridade e uma série que não possui auto-similaridade.

Com intuito de superar essa dificuldade e detectar propriedade de auto-similaridade, a série original se transforma em uma série integrada (semelhante ao procedimento adotado para transformar deslocamentos de um movimento Browniano para uma trajetória), e que possui as propriedades fractais que podem

ser quantificadas usando o parâmetro de auto-similaridade. Quando se aplica a análise fractal em uma série integrada, o parâmetro α sempre é diferente para uma série auto-similar e uma série sem correlação.

2.3.3 Alterações das propriedades fractais em casos patológicos

Na última década um grande número de artigos foi publicado sobre a dinâmica fractal de processos fisiológicos. Os resultados dessas pesquisas foram resumidos em um modelo geral de patofisiologia (GOLDBERGER et al., 2002), que inclui os seguintes postulados:

1. As saídas de processos fisiológicos em sistemas saudáveis possuem a variabilidade complexa caracterizada pelas correlações de longo alcance (propriedades fractais);
2. Essas correlações degradam-se por causa de envelhecimento e doenças reduzindo a adaptabilidade do sistema.

Essa perda de propriedades fractais resulta em três tipos de estados dinâmicos:

1. Comportamento periódico, como observado em pacientes com tremor de Parkinson (GOLDBERGER, 1997);
2. Ruído Browniano, no caso de flutuações da pressão exercidas pelos pés de indivíduos com distúrbio de equilíbrio sobre uma plataforma munida com sensores de pressão (standing on force table) (COLLINS et al., 1995);
3. Ruído Branco, no caso de intervalos entre dois passos em pacientes com a doença Huntington (HAUSDORFF et al., 1997).

Esses resultados têm importância para um monitoramento de processos fisiológicos. A análise fractal pode ser usada como um método complementar para acessar a estabilidade desses sistemas e alterações que acontecem por causa de envelhecimento e doenças (GOLDBERGER, 1996). Ela pode ajudar em desenvolver e avaliar novos tratamentos que podem preservar e restaurar a complexidade, característica da adaptabilidade fisiológica dos sistemas saudáveis.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta dissertação, serão utilizados dados provenientes de experimentos do projeto de iniciação científica PIBIC/CNPq do aluno Renato B. Moraes sob a orientação do Prof. Catão Temístocles de Freitas Barbosa, que é colaborador do Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio (LAFINNT) do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco e que foram cedidos ao Grupo de Biofísica Teórica e Computacional (GBTEC) da UFRPE, sob a liderança do Prof. Romildo de Albuquerque Nogueira. Os experimentos que forneceram os registros de ECoG usados estão presentes no protocolo do projeto.

4.1. Experimento

Ratos albinos, adultos, da linhagem Wistar, provenientes da colônia do Departamento de Nutrição da UFPE, com idade entre 90-120 dias de vida, foram submetidos aos registros eletrofisiológicos da depressão alastrante cortical (DA) e divididos em dois grupos: nutridos e desnutridos. Os ratos do grupo desnutrido foram submetidos ao processo de desnutrição no início da vida, segundo o modelo de Morgane et al. (1978), no qual se faz o aumento do número de filhotes por mãe, no período de aleitamento. As amostras dos registros digitalizados foram obtidas com a descrição a seguir.

Os ratos foram submetidos ao tratamento cirúrgico para realizar o registro do ECoG. Após anestesia com mistura de uretana+cloralose (1.000:40 mg / kg, ip), com a cabeça fixada à base de um aparelho estereotáxico, foi aberta a pele e removido o perióstio para exposição do crânio. Foi, então, trepanado um orifício sobre os hemisférios cerebrais, sendo um orifício sobre a região do bregma ou sensorio motora (8 mm de diâmetro). O orifício foi utilizado para estimulação com KCl a 2% no mesmo hemisfério cerebral do microeletrodo de registro (figura 8).

Durante o registro, a temperatura retal foi medida continuamente e mantida em torno de $(37,5 \pm 1)^\circ \text{C}$, por meio de aquecedores elétricos, colocados sob o animal. Todos os animais foram submetidos continuamente a um potencial evocado, para que esse servisse como uma referência para a passagem da DA, através do seu desaparecimento, e recuperação da DA, através do seu reaparecimento. Os registros extracelulares foram realizados com microeletrodos de vidro (Boro-silicato, Wold Precison Instruments). Um eletrodo foi colocado na região parietal no córtex sensório-motor (1,5 a 2,5 mm anterior e 1 e 2 mm lateral no bregma) que registra o electrocorticograma (ECoG) do animal. O ECoG é um registro da atividade elétrica cortical (em mV) ao longo do tempo de observação. Um segundo eletrodo foi colocado sobre os ossos nasais e serviu de referência comum. O ECoG foi digitalizado em uma placa conversora analógico-digital (DIGIDATA 1322, Axon Instruments Corp.) em um computador IBM compatível. A DA foi provocada uma única vez por estimulação química usando-se uma pelota de algodão de 1 a 2 mm de diâmetro embebida em solução de KCl (cloreto de sódio) a 2%, mantida aproximadamente 1 minuto sobre um ponto da superfície cortical. Uma vez deflagrada a DA, a sua propagação foi acompanhada na região parietal, registrando-se a depressão da atividade elétrica cortical.

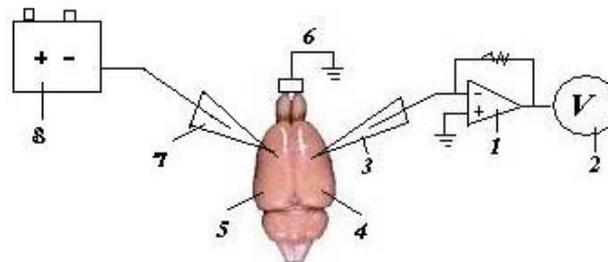


Figura 8. Esquema de registro do electrocorticograma (ECoG). 1. Amplificador. 2. Sistema de registro e aquisição do ECoG. 3. Microeletrodo extracelular. 4. hemisfério cerebral direito e 5. esquerdo. 6. eletrodo de referência. 7. eletrodo de estimulação. 8. sistema de estimulação

4.2. Obtenção de dados

Foram selecionadas séries temporais do ECoG do córtex de nove (9) ratos, sendo destes seis (6) nutridos e três (3) desnutridos. As séries variaram em torno de um milhão de pontos, que foram pré-processados no programa QUB (www.QuB.Bufalo.edu), que possibilitou a obtenção de arquivos menores, caracterizados neste trabalho por amostras

que serão posteriormente analisadas para retirar as tendências do sinal e, fornecer informações sobre a sua memória, avaliadas por software disponível na PhysioNet.

O processo para obtenção dos dados seguiu um determinado critério. Os nove (9) registros experimentais digitalizados (ECoG) foram divididos em intervalos apresentados nas figuras (9A-D), caracterizando os diferentes traçados do registro que são: a) a atividade elétrica espontânea (início do registro, definido aqui por controle); b) a fase após a aplicação do estímulo (KCI); c) a avalanche (etapa que o sinal apresenta um aumento da amplitude que ocorre em forma de “burst”); d) durante o fenômeno da depressão alastrante DA, fase em que há uma redução acentuada do sinal; e) após a DA, intervalo no qual o sinal retorna a atividade espontânea. Foram utilizados potenciais evocados com o objetivo de monitorar a DA, uma vez que a DA suprime a resposta evocada. Após a DA, observa-se que a resposta do potencial evocado retorna com maior intensidade que no controle.

A duração da avalanche varia de 3 a 5 segundos e nos outros intervalos têm duração de 3 a 15 minutos. Para verificar a existência de correlação de longo alcance nos diferentes intervalos do ECoG aplicou-se o método do DFA. Para comparar os valores dos expoentes α nos diferentes intervalos citados acima, o registro do ECoG foi dividido em subintervalos, com tamanho de 5 segundos (que corresponde a duração máxima da avalanche). Este processo foi realizado tanto para o grupo dos ratos nutridos como o dos desnutridos. A quantidade de expoentes obtidos para os nutridos foi: no controle (571), no estímulo (152), durante a DA (362) e após a DA foi de 627 expoentes. Para os desnutridos obteve-se: no controle (239), no estímulo (131), na DA (308) e após a DA (241) expoentes.

As figuras 9A-D apresentam uma série temporal de um ECoG em animais nutridos, nas quais pode-se observar a variação da voltagem no córtex em função do tempo.

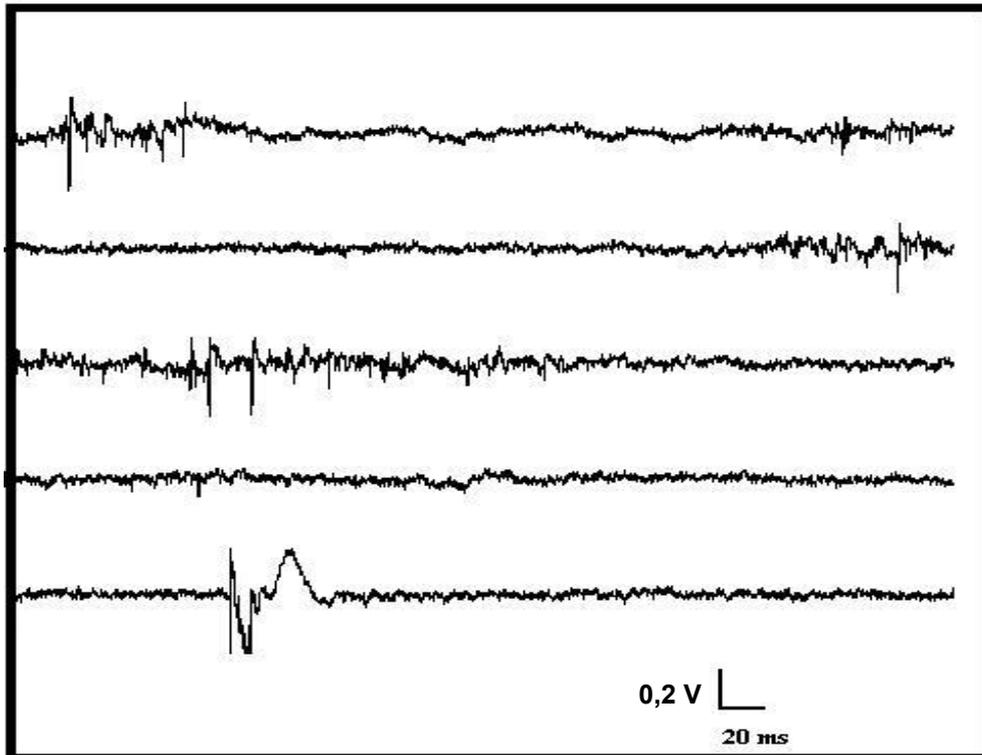


Figura (9 A). Atividade padrão do ECoG com presença de um potencial evocado na última linha

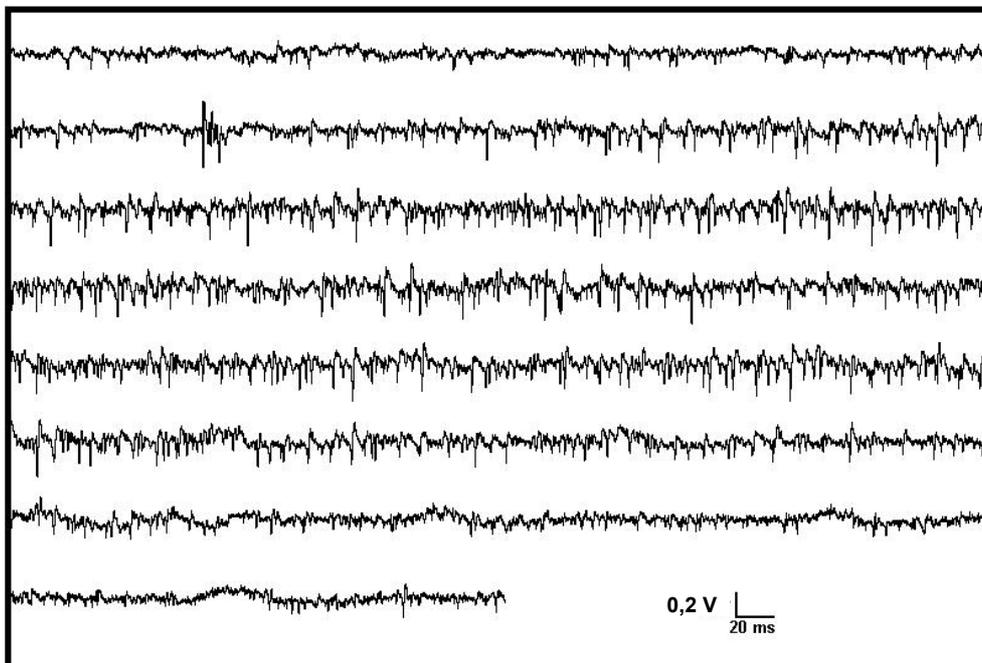


Figura (9 B). Registro do momento da avalanche, com um potencial evocado no início da segunda linha

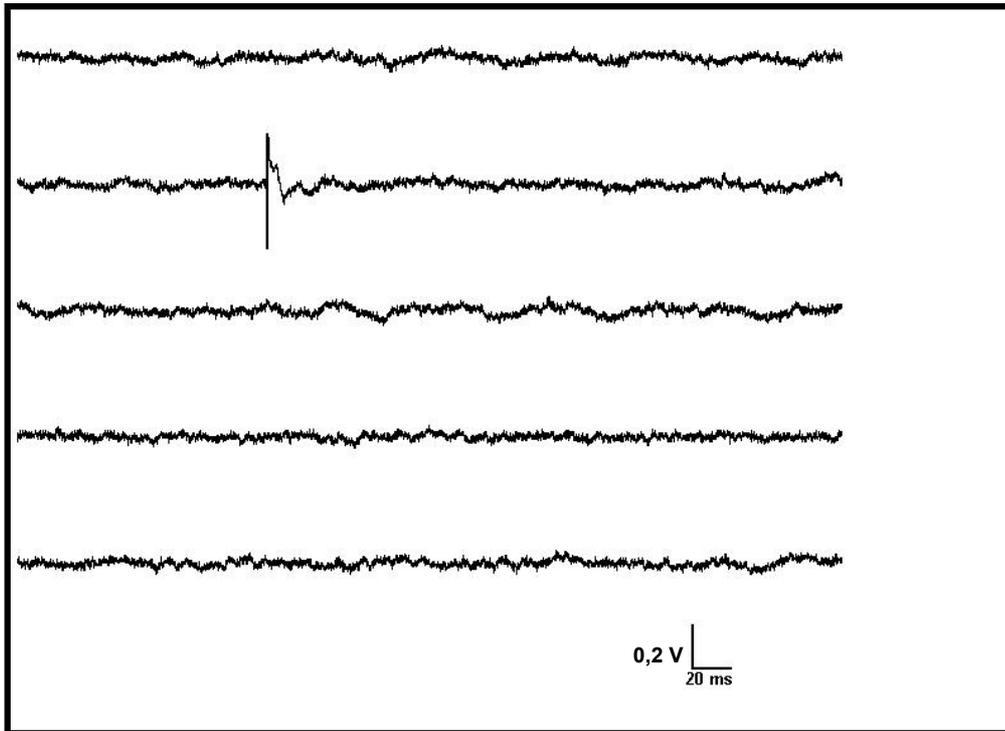


Figura (9 C). Fenômeno da depressão alastrante com um potencial evocado no início da segunda linha

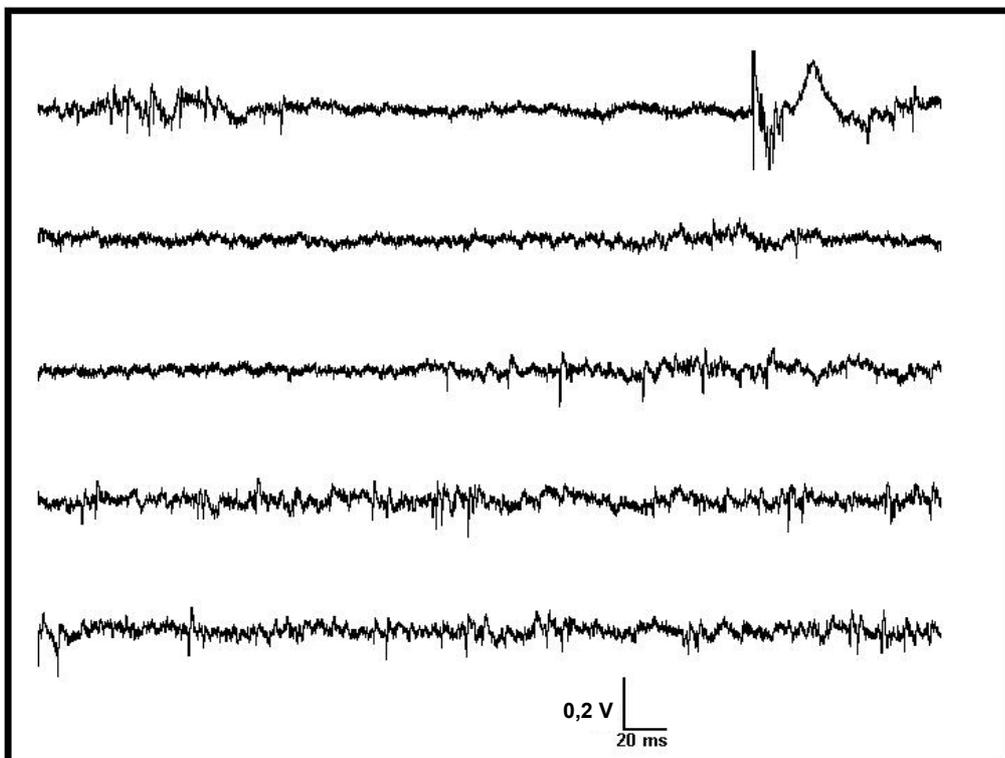


Figura (9 D). Registro do pós-DA, com potencial evocado no final da primeira linha

4.3. Correlação de longo alcance em séries temporais

Vários métodos que têm sido utilizados para estimar parâmetros que possam avaliar a presença de correlação de longo alcance em uma série temporal. Entre eles pode-se citar: a análise de Hurst (MANDELBROT, 1983); a variância agregada (TAQUU, TEVEROVSKY e WILLINGER, 1996); a análise dispersional (BASSINGTHWAIGHT e RAYMOND, 1995); o periodograma (BASSINGTHWAIGHT e RAYMOND, 1995; FLANDRIN, 1998); a função de autocorrelação (GUERRERO e SMITH, 2005) e o método da análise das flutuações sem tendências (Detrended Fluctuation Analysis – DFA) (PENG et al., 1994a). Nesta pesquisa o método do DFA foi escolhido para realizar a análise de correlação de longo alcance no registro da atividade elétrica cortical.

4.4. Método de Análises de Flutuações sem Tendências - *Detrended Fluctuation Analysis (DFA)*

O método de análises de flutuações sem tendências (Detrended Fluctuation Analysis – DFA) é um método desenvolvido para quantificação de correlações em séries temporais não estacionárias. Este método foi introduzido por Peng para análise de seqüências gênicas de DNA (PENG et al., 1994a) e foi aplicado em vários fenômenos dinâmicos, incluindo a dinâmica da variabilidade cardíaca (PENG et al., 1995, IVANOV, 1996); flutuações de eletroencefalograma de humanos (ROBINSON, 2003); intervalos entre passos sucessivos (HAUSDORFF et al., 1996); séries temporais econômicas (LIU et al., 1997; COSTA e VASCONCELOS, 2003); fenômenos climáticos (PATTANTYÚS-ÁBRÁHAM, 2004, IVANOVA e AUSLOOS, 1999), e estudo de flutuações em canais iônicos (SIWY, AUSLOOS e IVANOVA, 2002). A vantagem do DFA em relação a métodos convencionais (por exemplo, análise de Hurst) é que ele permite a detecção da auto-similaridade em séries temporais não estacionárias, e também evita falsas detecções de correlações de longo alcance, que são na verdade artefatos de tendência incorporada no sinal (CHIANCA, TICONA e PENNA, 2005; Hu et al., 2001).

O método do DFA representa uma modificação da Análise da Raiz do Quadrado Médio (root mean square analysis) da caminhada aleatória, e baseia-se

em análise de flutuações dos dados após a retirada das tendências da série temporal integrada. O procedimento é o seguinte: sendo $x(i)$ com $i = 1, 2, \dots, N$, a série temporal original, a série integrada é obtida usando a expressão,

$$y(k) = \sum_{i=1}^k (x(i) - M) \quad (5)$$

onde M é a média dos valores de $x(i)$ com $i = 1, 2, \dots, N$ e k é um número inteiro.

Como já foi discutido, a integração (5) transforma a série original em um processo auto-similar. Em seguida, a série $y(k)$ é dividida em intervalos de comprimento igual a n . Para cada intervalo são feitos ajustes usando-se funções polinomiais que são classificadas como: linear (DFA-1), quadrática (DFA-2), cúbica (DFA-3) e de ordem m (DFA- m), que representa a tendência em cada intervalo (GOLDBERGER et al., 2002). A ordenada do segmento linear (DFA-1), que representa a tendência no intervalo de tamanho n , é denotada $y_n(k)$. Essa tendência é retirada subtraindo-se o valor do ajuste linear $y_n(k)$ do valor correspondente da série integrada $y(k)$. A função que caracteriza o tamanho das flutuações para o tamanho n dos intervalos usados para remover a tendência é dada pela expressão:

$$F(n) = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{k=1}^N [y(k) - y_n(k)]^2} \quad (6)$$

Esse cálculo é repetido para vários tamanhos do intervalo n para poder determinar a relação entre as flutuações ($F(n)$) e o tamanho do intervalo n . Para processos fractais (auto-similares) $F(n)$ aumenta com n pela lei de potência,

$$F(n) \sim n^\alpha \quad (7)$$

O expoente de auto-similaridade α pode ser calculado usando o coeficiente angular da reta obtida por regressão linear de gráfico $\log F(n)$ versus $\log n$. O parâmetro de auto-similaridade α da série integrada é relacionado com a função de correlação da série original da seguinte forma:

- a) Para ruído branco os valores em determinado instante não são correlacionados com valores de instantes anteriores, os valores integrados representam caminhadas aleatórias com $\alpha = 0.5$;
- b) O valor $0.5 < \alpha < 1$ indica as correlações de longo alcance persistentes, significando que os valores grandes/pequenos, têm maior probabilidade para ser seguidas por valores grandes/pequenos;
- c) O caso $\alpha = 1$ representa ruído do tipo $1/f$;
- d) Para $0 < \alpha < 0.5$ as correlações são anti-persistentes, significando que os valores grandes/pequenos têm maior probabilidade para ser seguidos por valores pequenos/grandes;
- e) Para $\alpha > 1$ correlações ainda existem, mas não se comportam pela lei de potência. O caso especial $\alpha = 1.5$ indica ruído browniano que representa integração do ruído branco.

O expoente α pode ser interpretado como o parâmetro que indica a suavidade da série temporal original; um valor maior de α corresponde a uma série mais suave. A figura (10 A-C) é uma ilustração do algoritmo do DFA-1 para a série temporal dos intervalos entre batimentos cardíacos (GOLDBERGER et al., 2002). Em A é mostrado a série dos intervalos entre batimentos cardíacos de um jovem adulto. Em B observa-se na curva sólida preta a série integrada e as retas são as tendências lineares correspondentes aos segmentos $n=100$ (vermelho) e $n=200$ (azul). Neste gráfico pode ser observado que as diferenças entre a série integrada e as tendências lineares são menores para o intervalo $n=100$ do que para $n=200$. O gráfico C representa o $\log F(n)$ versus $\log n$ para vários tamanhos de intervalos n . O ponto vermelho representa $F(100)$ e o ponto azul representa $F(200)$. A dependência linear indica a lei de potencia $F(n) \sim n^\alpha$. O expoente α pode ser calculado usando o coeficiente linear da reta obtida por regressão linear do gráfico $\log F(n)$ versus $\log n$.

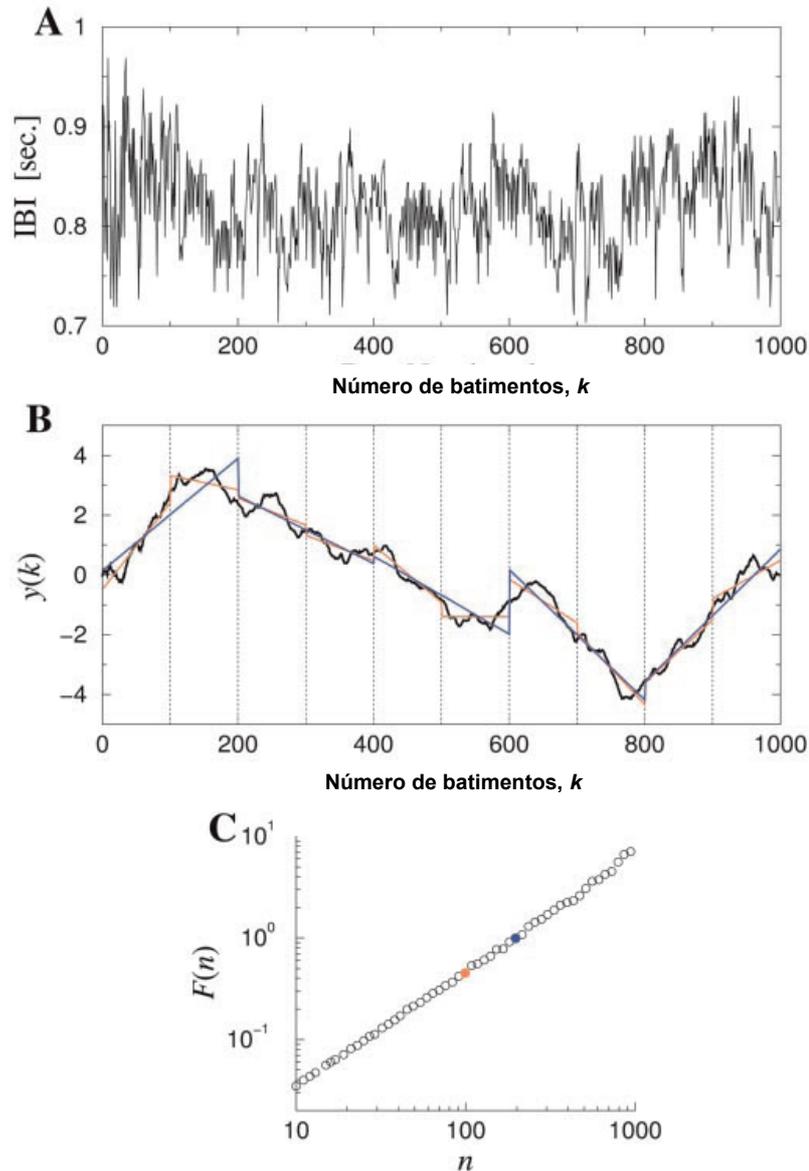


Figura (10 A-C). Fases do método DFA GOLDBERGER et al. (2002)

Na análise do método do DFA utilizou-se um software disponível na PhysioNet (<http://www.physionet.org/>), um fórum on-line que reúne uma grande coleção de registros de sinais biomédicos e softwares para analisar tais sinais. O recurso PhysioNet tem como objetivo estimular pesquisas correntes e novas investigações no estudo de sinais complexos na biomedicina e na fisiologia (GOLDBERGER et al., 2000). Foram utilizados também para os cálculos das médias dos expoentes α , desvios padrão e os cálculos da análise estatística (teste de Wilcoxon e Shapiro-Wilk), a plataforma R (R Development Core Team, 2006). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Áustria. ISBN 3-900051-07-0, URL (<http://www.R-project.org>).

5. RESULTADOS

5.1. Análise de Correlação do Sinal do ECoG

A tabela 1 mostra os valores médios dos expoentes α obtidos através da análise de flutuação (DFA) do ECoG e seus desvios padrão para os diferentes intervalos da série temporal, obtidos para cada um dos ratos nutridos.

A correlação de longo alcance (memória) é observada em todos os intervalos, com exceção da avalanche. Nestes intervalos os valores de α são maiores que 0,5, significando que a série é persistente. Durante a avalanche as correlações desaparecem com $\alpha=0,5$, caracterizando uma série não correlata do tipo ruído branco.

Tabela 1. Médias dos expoentes α para ratos nutridos

Animais	Controle	Estímulo	Avalanche	DA	Pós DA
N1	0,79 (0,04)	0,69 (0,11)	0,26	0,67 (0,07)	0,74 (0,05)
N2	1,08 (0,09)	1,03 (0,1)	0,71	0,92 (0,08)	1,04 (0,1)
N3	0,99 (0,08)	0,98 (0,04)	0,51	0,92 (0,11)	1,04 (0,04)
N4	0,9 (0,06)	0,87 (0,07)	0,49	0,93 (0,08)	0,87 (0,07)
N5	0,94 (0,03)	0,97 (0,04)	0,74	0,95 (0,06)	0,89 (0,04)
N6	1,16 (0,1)	1,1 (0,09)	0,49	0,61 (0,11)	1,06 (0,2)

*Desvios padrão entre parênteses

O valor médio do expoente α na condição controle nos seis animais foi de 0,97 com um desvio padrão igual 0,122, durante a estimulação com KCl o valor médio para animais nutridos foi igual a 0,879 com desvio padrão de 0,181. Na avalanche

obtem-se um valor médio para α de 0,534 com desvio padrão de 0,174, o que revela a não existência de correlação de longo alcance. Na DA e após a DA são observados valores médios para os expoentes α maiores do que 0,8, indicando a presença de correlação de longo alcance persistente. Na DA o valor de $\alpha=0,834$ com desvio padrão de 0,165 e após a DA foi de 0,948 com desvio padrão de 0,136.

Os valores dos expoentes α foram obtidos em ratos jovens adultos, com exceção de um único experimento, no qual foi usado um rato com idade de nove (9) meses, nomeado na tabela 1 como N1. Percebe-se que neste animal há uma redução da correlação de longo alcance em todas as fases do processo. Este comportamento é esperado devido à perda de complexidade, que ocorre naturalmente com o avançar da idade do animal, fenômeno já observado na frequência cardíaca em humanos por Goldberger et al., (2002).

Quando o rato N1 foi descartado o valor médio do expoente α , aumentou nos cinco animais e em todas as fases do processo anteriores e posteriores a DA. No controle α foi igual $0,98 \pm 0,12$, na fase do estímulo α alcançou valor igual a $1,00 \pm 0,09$ e na avalanche persistiu a perda de correlação em que α teve valor igual a $0,59 \pm 0,13$. Esta correlação aumentada pode também ser observada durante a DA em que α elevou-se para $0,86 \pm 0,16$ e também após DA com $\alpha=0,96$ e seu desvio padrão igual a 0,13.

Os dados da tabela 2 correspondem à análise de flutuação DFA dos ratos desnutridos. Foram obtidas as médias dos expoentes α e os respectivos desvios padrão nos diferentes intervalos para cada um dos ratos desnutridos. Este grupo também apresentou correlação de longo alcance em todos os intervalos, exceto na avalanche. Em todos os intervalos os valores α foram maiores que 0,5, indicando que os sinais são correlacionados de forma persistente. Na avalanche α em torno de 0,5, indicando que nesta fase do processo a correlação no sinal do ECoG é perdida. No entanto, os valores dos expoentes α obtidos neste grupo foram sempre menores, em todos os intervalos, do que os valores desse parâmetro para o grupo dos animais nutridos, indicando perda de complexidade no sinal do ECoG com o estado de desnutrição.

Tabela 2. Médias dos expoentes α para ratos desnutridos

Animais	Controle	Estímulo	Avalanche	DA	Pós DA
D1	0,83 (0,03)	0,8 (0,05)	0,64	0,79 (0,05)	0,81 (0,05)
D2	0,68 (0,03)	0,76 (0,11)	0,59	0,74 (0,05)	0,69 (0,03)
D3	0,54 (0,04)	0,51 (0,03)	0,49	0,57 (0,08)	0,61 (0,02)

*Desvios padrão entre parênteses

Nestes animais desnutridos, os valores médios observados, nos três animais, para o expoente α forma os seguintes: no controle $\alpha=0,75$ com desvio padrão 0,11; na estimulação com KCl $\alpha= 0,76 \pm 0,11$; na avalanche não houve correlação e o valor de α diminuiu para $0,58 \pm 0,08$, na DA α foi igual a 0,74 com desvio de 0,10 e após DA $\alpha=0,75$ com desvio padrão igual a 0,09.

5.2. Análise Estatística

Em uma análise inicial dos dados do registro do ECoG, foi testada a hipótese de normalidade dos dados experimentais. Utilizou-se como ferramenta o teste de Shapiro-Wilk (SHAPIRO e WILK, 1965) aplicado às amostras dos expoentes α nos quatro intervalos: controle, estímulo (KCl), durante a DA e após DA.

Os resultados do teste de normalidade mostram que os expoentes α não seguem distribuição normal em nenhum dos quatro intervalos analisados. Diferenças significativas para condição de normalidade podem ser observadas tanto no grupo dos nutridos como nos de desnutridos (tabela 3).

Tabela 3. Teste de Shapiro-Wilk para normalidade

Animais	Controle	Estímulo	DA	Pós DA
Nutridos	0,97(0)	0,96(0,005)	0,91(0)	0,98(0)
Desnutridos	0,90(0)	0,95(0)	0,88(0)	0,97(0)

* Entre parêntese p-valor

A análise feita acima constatou diferença significativa entre a distribuição dos valores experimentais e a distribuição teórica normal. Diante disto, o teste de

Wilcoxon (WILCOXON, 1945) foi utilizado para comparar as médias dos expoentes α obtidos dentro de cada grupo estudado, para as diferentes fases do processo (controle, estimulação, DA, após DA). O teste de Wilcoxon foi também usado para comparar os valores médios de cada fase do processo entre os dois grupos de animais, nutrido e desnutrido. O nível de significância adotado foi de 5%. A avalanche será tratada isoladamente devido ao fato de um único valor de α ser obtido para cada animal nesta fase do ECoG. Observe que a duração dos subintervalos usados para o cálculo de α em cada fase do registro tem a duração de uma avalanche (5 segundos). Isto nos impede de realizar uma análise de comparação entre as médias de duas amostras, como é feito no teste de Wilcoxon.

O teste de Wilcoxon quando usado para comparar as médias dos expoentes α obtidos dentro de cada grupo estudado (nutrido e desnutrido), nos diversos intervalos (controle, estimulação, DA, após DA) revelou que os valores médios de α diferem significativamente em todas essas fases no grupo dos nutridos, já nos desnutridos não há diferença significativa. Tais resultados, também podem ser observados nos valores das diferenças médias dos expoentes α dentro de cada grupo, conforme tabela 4, abaixo.

Tabela 4. Diferenças entre médias dos expoentes por fases e o P-valor do teste de Wilcoxon

Animais	Controle – Estímulo	Controle – DA	Controle – Pós DA	Estímulo – DA	Estímulo – Pós DA	DA – Pós DA
Nutridos	0,02 (0,02)	0,13 (0)	0,02(0,03)	0,15 (0)	0,04 (0)	-0,11 (0)
Desnutridos	0 (0,25)	0,01 (0)	0 (0,14)	0,02 (0,53)	0 (0,66)	-0,01 (0,28)

Entre parênteses, o p-valor

Na comparação dos valores médios de α em cada fase do processo entre os dois grupos de animais (nutrido e desnutrido) o teste de Wilcoxon revelou que as médias dos expoentes α em cada intervalo para os animais nutridos diferem significativamente daquelas obtidas para os animais desnutridos. Os valores obtidos para as diferenças entre médias dos expoentes α e o p-valor do teste de Wilcoxon nos diversos intervalos estão na tabela abaixo.

Tabela 5. Diferenças entre as médias dos expoentes α nas fases entre os grupos e o teste de Wilcoxon

	Controle Nutridos – Desnutridos	Estímulo Nutridos – Desnutridos	DA Nutridos – Desnutridos	Pós-DA Nutridos – Desnutridos
Valor Médio	0,23	0,25	0,12	0,21
P-Valor	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

Na avalanche o teste de Wilcoxon não rejeita a hipótese de que o expoente α é igual a 0,5, ou seja, o teste comprova a perda de correlação.

Na comparação entre as médias dos expoentes α nos diferentes intervalos (controle, estimulação, DA, após DA) com o expoente α na avalanche, o teste de Wilcoxon acusou diferença significativa tanto no grupo dos nutridos como no grupo dos desnutridos. Este resultado foi observado também nos valores das diferenças entre as médias nos diversos intervalos, com o expoente α na avalanche. O grupo dos animais nutridos apresentou valores maiores (tabela 6).

Tabela 6. Diferença entre as médias dos expoentes α e o valor de α na avalanche e o P-valor do teste de Wilcoxon

Animais	Controle- Aval	Estímulo- Aval	DA-Aval	Pós DA- Aval
Nutridos	0,39 (0)	0,41 (0)	0,27 (0)	0,38 (0)
Desnutridos	0,17 (0)	0,18 (0)	0,16 (0)	0,17 (0)

* P-valor entre parêntese

6. DISCUSSÃO

Neste trabalho foram analisadas correlações de longo alcance na atividade elétrica cortical observada no registro do ECoG, em ratos nutridos e desnutridos, em diferentes fases do registro, denominadas de controle, estímulo, avalanche, DA e pós DA. O método utilizado para parametrizar a correlação existente na série temporal do ECoG foi o DFA que forneceu um parâmetro de auto-similaridade para cada um dos intervalos analisados.

Os expoentes α para os intervalos controle, estímulo, DA e pós DA mostraram valores que denotam a propriedade de persistência, característica de organismos saudáveis cuja complexidade do sinal registrado garante a adaptabilidade do organismo a situações de estresse e/ou distúrbios. Observou-se que mesmo com a diminuição significativa da amplitude dos sinais durante a DA, as correlações temporais se mantêm.

Para o grupo dos nutridos, na avalanche, o valor do expoente α diminuiu para 0,5, característico de sinais não correlatos do tipo ruído branco, que indica a perda de propriedades fractais observadas em sistemas fisiológicos saudáveis (GOLDBERGER et al., 2002). Um comportamento semelhante foi observado no intervalo entre dois passos de pacientes com doença de Huntington (HAUSDORFF et al., 1997) e na dinâmica cardíaca durante a fibrilação arterial (PENG et al., 1994b).

No grupo dos desnutridos, o expoente α teve tendência igual ao grupo dos nutridos; de igual modo, em todos os intervalos, com exceção da avalanche, o sinal é persistente. No entanto, os valores dos expoentes foram menores, significando também uma diminuição da complexidade característica de organismos saudáveis,

isto é, aqueles com maior capacidade de adaptação ao estresse e aos distúrbios (GOLDBERGER et al., 2002). Estes resultados estão de acordo com a teoria da patofisiologias (GOLDBERGER et al., 2002).

As correlações de longo alcance existem em todos os intervalos, exceto na avalanche, tanto para os grupos dos animais nutridos como para os desnutridos, sendo os valores dos expoentes α menores para este segundo grupo, isto é, se degradam levemente.

Em ambos os grupos, a correlação de longo alcance se perde completamente na avalanche, o que se pode comparar com um estado patológico, resultado compatível com o estudo de Santos (2007) sobre a análise de correlação no fenômeno da DA.

Leão (1944a) em seus estudos experimentais verificou que o estágio atualmente denominado avalanche teria possíveis conexões com a epilepsia do tipo tônico-clônica, em que também se observa um aumento da amplitude dos sinais de forma assíncrona. Portanto, um estudo da correlação de longo alcance, usando-se o método do DFA, no sinal elétrico registrado no córtex durante a crise epiléptica, pode ser de grande utilidade na elucidação dessa doença.

Outra constatação na análise desta pesquisa está relacionada à perda das propriedades de correlação de curto e longo alcance (complexidade) com a idade, fator que reduz a adaptabilidade do organismo (GOLDBERGER, PENG e LIPSITZ, 2002). Conforme pode ser observado na tabela 1, a média do expoente α foi drasticamente menor para todos os intervalos estudados no animal N1, cuja idade era de nove (9) meses, superior a dos demais animais pesquisados.

7. CONCLUSÕES

1. A atividade elétrica cortical, registrada no ECoG, apresenta correlação de longo alcance (memória) persistente no controle, na estimulação, na DA e após a DA, tanto nos animais nutridos como nos desnutridos. Na avalanche (período que precede a DA) o sinal torna-se sem memória.
2. O uso do método não-paramétrico de Wilcoxon, para comparar os valores médios dos expoentes α obtidos para o grupo de animais nutrido, durante as fases de controle, estimulação, DA, após DA, revelou que essas diferentes fases diferem significativamente.
3. Os valores médios dos expoentes α obtidos para o grupo de animais desnutrido, durante as fases de controle, estimulação, DA, após DA, não foram significativamente diferentes, quando comparados pelo método de Wilcoxon.
4. Na comparação dos valores médios de α nas fases de controle, estimulação, DA, após DA entre os dois grupos de animais (nutrido e desnutrido) o teste de Wilcoxon revelou que as médias dos expoentes α em cada fase para os animais nutridos diferem significativamente daquelas obtidas para os animais desnutridos.
5. Na avalanche, a hipótese de que o expoente α é igual a 0,5, não foi rejeitada pelo teste de Wilcoxon, revelando uma perda de correlação nessa fase. Na comparação entre as médias dos expoentes α nos diferentes intervalos (controle, estimulação, DA, após DA) com o valor do expoente α na avalanche, o teste de Wilcoxon acusou diferença significativa tanto no grupo dos nutridos como no grupo dos desnutridos.
6. As correlações temporais se mantêm mesmo com a diminuição significativa da amplitude dos sinais durante a DA.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, C. T. F.; CAMPOS DE OLIVEIRA, R. A.; NOGUEIRA, R. A. Calcium does not change memory in single calcium-activated potassium channel kinetics. **Journal of Intelligent & Fuzzy Systems**, v. 18, p. 477-484, 2007.

BASSINTHWAITGHT J. B., LIEBOVITCH L. S., BRUCE J. W. **Fractal physiology**. New York: Oxford American Physiological Society, 1994.

BASSINTHWAITGHT J. B., RAYMONDG.M. Evaluation of the dispersional analysis method for fractal time series. **Annals of Biomedical Engineering**. v. 23, p. 491-505, 1995.

BRONZINO et al. Effect of protein malnutrition on hippocampal kindling: eletrographic and behavioral measures. **Brain Research**. Netherlands, v. 384, p. 348-354, 1986.

CAMPOS DE OLIVEIRA, R. A. et al. Long-term correlation in single calcium-activated potassium channel kinetics. **Physica A** - Statistical and Theoretical Physics, Holanda, v. 364, p. 13-22, 2006.

CHAN, T. A review of analytical techniques for gait data. Part 1; fuzzy, statistical and fractal methods. **Gait and Posture**, Netherlands, v. 13, p. 49-66, 2001.

CHIANCA, C. V.; TICONA, A.; PENNA, T. J. P. Fourier-detrended fluctuation analysis, **Physica A**. Netherlands, v. 357, p. 447-454, 2005.

CIZEAU, P. et al. Volatility distribution in the S&P500 Stock Index, **Physica A**. Netherlands, v. 245, p. 441-445, 1997.

COLLINS, J. J. et al. *Age related changes in open-loop and closed-loop postural control mechanisms*, **Experimental Brain Research**. Germany, v.104, p.480-482, 1995.

COSTA, R. L.; VASCONCELOS, G. L. Long-range correlations and nonstationarity in Brazilian stock market. **Physica A**. Netherlands, v.329, p. 231-249, 2003.

CUKIERT, A. Fisiopatologias das epilepsias. In: _____. **Epilepsias generalizadas**. São Paulo: Segmento Farma, 2006, cap. 1, p.15.

DALBEM, C.; COSTA, J. C. Diagnóstico diferencial das epilepsias generalizadas. In: CUKIERT, A. – **Epilepsias generalizadas**. São Paulo: Segmento Farma, 2006. cap.3, p. 51.

DOBBING, J. Vulnerable periods in developing brain. In: Davison, N.; Dobbing, J. (Ed.). **Applied Neurochemistry**, Oxford: Blackwell, 1968, p. 287-316.

DOS SANTOS et al., Epieptogenesis in immature rats following recurrent status epilepticus. Short review. **Brain Research Reviews**. Netherlands, v. 32, p. 269-279, 2000.

FEDER, J. **Fractals**. New York : Plenum Press, 1998. 283p.

FLANDRIN P. On the spectrum of fractional Brownian motions. **IEEE transaction on information theory**. v. 35, n. 1 p. 197-199, 1998.

GLASS L.; MACKAY M.C. From Clock to Chaos: the rhythmus of Life, **Princeton University Press**, 1988.

GOLDBERGER A. L.; KOBALTER K.; BHARGAVA V. 1/f like scaling in normal neutrophil dynamics: implications for hematological monitoring, **IEEE transactions on bio-medical engineering**, United States, v. 33, p.874-876, 1984.

GOLDBERGER A. L.; RYNEY D. R.; WEST B.J. Chaos and Fractals in human physiology, **The American Behavioral Scientist**, United States, v.262, p.142-149, 1990.

GOLDBERGER, A .L. Non-linear dynamics for clinicians: Chaos theory, fractals, and complexity at the bedside. **Lancet**, England, v.347, p.1312-1314, 1996.

GOLDBERGER, A. L. Fractal variability versus pathologic periodicity: complexity loss and stereotypy in disease. **Perspectives Biology Medicine**, United States, v. 40, p. 543-561, 1997.

GOLDBERGER, A. L. et al. PhysioBank, PhysioToolkit, and PhysioNet Components of a New Research Resource for Complex Physiologic Signals. **Circulation**, United States, 101(23): e215-e220, 2000.

GOLDBERGER A. L.; et al. Fractal dynamics in physiology: Alterations with disease and aging, **PNAS- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, United States, v.99, p. 2466-2472, 2002.

GOLDBERGER, A. L.; PENG, C. K.; LIPSITZ, A. L. What is physiologic complexity and how does it change with aging and disease? **Neurobiology of Aging**, United States, v.23, p. 23-26, 2002.

GRAFSTEIN B. Mechanism of spreading cortical depression. **Journal of Neurophysiology**, United States, v. 9, p. 154-171, 1956.

GUEDES R. C. A.; CABRAL-FILHO, J. E.; TEODÓSIO, N. R. Gabaergic mechanisms involved in cortical spreading depression in normal and early malnourished rats, In: Do CARMO, R. J. (Ed.), Spreading depression. **Experimental Brain Research Series**, Springer, Berlin, v.23 p. 17-26, 1992.

GUEDES, R. C. A.; MONTEIRO, J. S.; TEODÓSIO, N. R. Malnutrition and brain function: experimental studies using the phenomenon of cortical spreading depression. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 56 (supl.1), p. 293-301, 1996

GUEDES, R. C. A.; CARVALHEIRO, E. A. Blockade o spreading depression in chronic epileptics rats: reversion by diazepam. **Epilepsy Research**, Netherlands, v. 27, p. 33-40, 1997.

GUEDES, R. C. A.; MELO A. P. R de; TEODÓSIO, N. R. Nutrição adequada: a base do funcionamento cerebral. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 56, n.1, p. 32-35, 2004.

GUERRERO A., SMITH L. A. A maximum likelihood estimator for long-range persistence. **Physica. A**, v. 335, p. 619-632, 2005.

GUYTON, A. C. **Neurociência básica**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1993, p. 334.

HARREVELD, A. V.; FIFKOVÀ, E. Glutamate release from the retina during spreading depression. **Journal of Neurobiology**, United States, v. 2, p. 13-29, 1970.

HAUSDORFF, J. M. et al. Is walking a random walk? Evidence for long-range correlations in the stride interval of human gait. **Journal of Applied Physiology**, United States, v. 78, p.349-358, 1995.

HAUSDORFF, J. M. et al. Fractal dynamics of human gait: stability of long-range correlations in stride interval fluctuations. **Journal of Applied Physiology**, United States, v. 80, p. 1448, 1996.

HAUSDORFF, J. M. et al. Altered fractal dynamics of gait reduced stride interval correlations with aging and Huntington's disease, **Journal of Applied Physiology**, United States, v. 82, p. 262-269, 1997.

HU, K. et al. Effect of trends on detrended fluctuation analysis. **Physical Review E**, United States, v. 64, p. 011114, 2001.

IVANOV, P. Ch. Scaling behaviors of Heartbeat Intervals obtained by Wavelet-Based Time-Series Analysis. **Nature**, England, v.383, p.323-327, 1996.

IVANOVA, K.; AUSLOOS, M. Application of the detrended fluctuation analysis (DFA) method for describing cloud breaking. **Physica A**, Netherlands, v. 274, p. 349-354, 1999.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSELL, T. M. **Fundamentos da neurociência e do comportamento**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2000, p. 62-71, 201-217.

KOBAYASHI M.; MUSA T., 1/f fluctuation of heartbeat period. **IEEE transactions on bio-medical engineering**, United States, v. 29, p. 456-457, 1982.

LEÃO, A. A. P. Spreading Depression of activity in the cerebral cortex. **Journal of Neurophysiology**, United States, v. 7, p. 391-396, 1944a.

LEÃO, A. A. P. Pial circulation and spreading depression of activity in the cerebral cortex. **Journal of Neurophysiology**, United States, v. 7, p. 391-396, 1944b.

LEÃO, A. A. P. Further observations on the spreading depression of activity in cerebral cortex. **Journal of Neurophysiology**, United States, v. 10, p. 409-414, 1947.

LEÃO, A. A. P.; MARTINS-FERREIRA, H. Alterações da impedância elétrica no decurso da depressão alastrante da atividade do córtex cerebral. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 25, n. 3, p. 259-266, 1953.

LENT, R. **Cem bilhões de neurônio: conceitos fundamentais de neurociências**. São Paulo: Editora Atheneu, 2001.

LIU Y. et al. Quantification of correlations in economic time series, **Physica A**. Netherlands, v.245, p.437-440, 1997.

MANDELBROT B. **The Fractal Geometry of Nature**, New York, 1993.

MARCH D. J.; OSBORN J. L.; CONLEY A. W. 1/f fluctuations in arterial pressure and regulation of renal blood flow in dogs. **The American Journal of Physiology**, United States, v. 258, p. 1394-1400, 1990.

MORGANE P.J. et al. The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. **Neuroscience and Behavioral Reviews**, v.2 p.137-230, 1978.

NOGUEIRA, R. A.; VARANDA, W. A.; LIEBOVITCH, L. S. Hurst analysis in the study of ion channel kinetics. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Brasil, v. 28, n. 4, p. 491-496, 1995.

PATTANTYÚS-ÁBRAHÁM, M.; KIRÁLY; JÁNOSI, I. M. Nonuniversal atmospheric persistence: Different scaling of daily minimum and maximum temperatures. **Physical Review E**, United States, v. 69, p. 021110, 2004.

PENG, C. K. et al. Long-range anticorrelations and non-gaussian behavior of the heartbeat. **Physical Review Letter**, United States, v.70, p.1343-1346, 1993.

PENG, C-K. et al. Mosaic organization of DNA nucleotides. **Physical Review E**, United States, v. 49, n. 2, p. 1685, 1994a.

PENG, C-K et al. Fractal landscapes in physiology and medicine: long-range correlations in DNA sequences and heart rate intervals. In: **Fractals in Biology and Medicine**. Basel: Birkhäuser, 1994b, p. 55-65.

PENG, C-K. et. al., Quantification of scaling exponents and crossover heartbeat time series. **Chaos**, United States, v. 5, p. 82-87, 1995.

ROBINSON, P.A. Interpretation of scaling properties of electroencephalographic fluctuations via spectral analysis and underlying physiology. **Physical Review E**, United States, v. 67, p. 032902, 2003.

ROCHA DE MELO, A. P.; GUEDES, R. C. A. Spreading depression is facilitated in adult rats previously submitted to short episodes of malnutrition during the lactation period. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Brasil, v. 30, p. 663-669, 1997.

SANTOS, W. **Análise estatística do eletrocorticograma durante o fenômeno da depressão alastrante em córtex cerebral de ratos nutridos e desnutridos**. Dissertação (Mestrado em Biometria e Estatística Aplicada) Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3/4, p. 591-611, 1965.

SILVA, G.E.G. e; COSTA NETO, T. T. da. O EEG nas epilepsias. **Jornal da Liga Brasileira de Epilepsia**, v. 1, n. 3, p. 6-9, 1998.

SIWY, Z.; AUSLOOS, M.; IVANOVA, K. Correlation studies of open and closed state fluctuations in an ion channel: Analysis of ion current through a large-conductance locust potassium channel. **Physical Review E**, United States, v. 65, p. 031907, 2002.

SOMJEN, G. G. et al. Mechanisms of spreading depression: a review of recent findings and a hypothesis. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, Canada, v. 70, p. S248-S254, 1992.

SZETO, H. et al. Fractal properties of fetal breathing dynamics. **The American Journal of Physiology**, United States, v. 263, p. 141-147, 1992.

TAQQU M. S. TEVEROVSKY, WILLINGER W. Estimators for long-range dependence: An empirical study. **Fractal**, 1996.

URL 1 : Página oficial do college San Diego Mesa – USA. Imagens – Neurônios Disponível em <www.sdmesa.sdccd.net/~bbrothers/IMAGEM/neuron/neuron.jpg>. Acessado em: Dezembro/2007.

VARANDA, W. A.; FIGUEIROA, J. N.; LIEBOVITCH, L. S.; NOGUEIRA, R. A. Hurst analysis to the study of single calcium-activated potassium channel kinetics. **Journal of Theoretical Biology**. United States, v. 206, p. 343-353, 2000.

VICSEK, T. **Fractal growth phenomena**. 2^a ed. Singapore: World scientific, 1993. 488p.

XIMENES-da-SILVA, GUEDES, R.C.A. Differential effect of change in blood glucose level on the velocity of propagation of cortical spreading depression in normal and

malnourished rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Brasil v.24, p.1277-1281, 1991.

WIESENFELD, K.; MOSS, F. Stochastic resonance and the benefits of noise: from ice age to crayfish and SQUIDS. **Nature**, England, v. 373, p.33-36, 1995.

WILCOXON, F. Individual comparisons by ranking methods. **Biometrics Bull**, v.1, p.80-83, 1945.

YACUBIAN, E. M. T. Crises generalizadas dentro do contexto da proposta de classificação das crises e síndromes epiléticas. In: CUKIERT, A. – **Epilepsias generalizadas**. São Paulo: Segmento Farma, 2006, cap. 2, p. 41.