

Correlação de longo alcance no fenômeno da depressão alastrante em ratos nutridos e desnutridos

Santos, W.

Laboratório de Biofísica Teórico-Experimental e Computacional, DMFA, UFRPE.
R. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-030 Recife, PE, Brazil
walterbiometria@yahoo.com.br

Nogueira, R.A.

Laboratório de Biofísica Teórico-Experimental e Computacional, DMFA, UFRPE.
R. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-030 Recife, PE, Brazil
ran.pe@terra.com.br

Moraes, R.B.

Laboratório de Biofísica Teórico-Experimental e Computacional, DMFA, UFPE
R. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-030 Recife, PE, Brazil
renatobmoraes@gmail.co

Barbosa, C.T.F.

Deptº de Educação Física, CCS, UFPE.
Av. Prof. Moraes Rego, s/n., Cid. Universitária, 90.670-901, Recife, PE, Brazil
cataobarbosa@yahoo.com.br

Marchioro, M

Deptº de Fisiologia, CCB, UFS
Cidade Universitária, 49.100-000, São Cristóvão, SE, Brazil
march@ufs.br

Guedes, R.C.A.

Deptº de Nutrição, CCB, UFPE
Av. Prof. Moraes Rego, s/n., Cid. Universitária, 90.670-901, Recife, PE, Brazil
rc.guedes@terra.com.br

Resumo: A *Depressão Alastrante (DA)* foi descrita por Aristides Leão [11] como uma onda que suprime a atividade elétrica do córtex em resposta a estímulos corticais. Neste trabalho investigamos a atividade cerebral registrada no eletrocorticograma (ECoG) nos instantes que antecedem a DA, na avalanche (no instante que precede a DA) e após a DA. Dois parâmetros foram usados para caracterizar o registro do ECoG, são eles: (i) a dimensão fractal D do espaço de fase do ECoG e (ii) o coeficiente de Hurst H , que identifica correlação de longo alcance em séries temporais. A análise estatística em cada amostra (nutridos ou desnutridos) mostra que tanto o parâmetro D como o H são significativamente diferentes (nível de 5%) entre a fase de avalanche e as fases antes e após a DA. Diferenças significativas (ao nível de 5%) nos parâmetros D e H não foram observadas quando a fase anterior e posterior a DA foram comparadas. A comparação entre amostras de animais nutridos e desnutridos revelou que o parâmetro D foi significativamente diferente (ao nível de 5%) somente após a DA e o parâmetro H antes da DA. Concluímos que a atividade elétrica cortical do cérebro no fenômeno da DA é um processo caótico e reversível.

Palavras-chave: Eletrocorticograma, depressão alastrante, correlação de longo alcance, espaço de fase e dimensão fractal.

Introdução

O cérebro é o sistema mais complexo conhecido pelos pesquisadores da área de sistemas dinâmicos. A complexa atividade do cérebro é gerada por uma rede de neurônios interligados, através de conexões chamadas de sinapses. A sinalização nesta complexa rede de neurônios ocorre através de impulsos elétricos que se propagam via axônios e são transmitidos de uma célula a outra através das conexões sinápticas.

A depressão alastrante, descoberta por Aristides Leão [11], é um fenômeno no qual ocorre uma queda acentuada na amplitude da atividade elétrica espontânea observada no eletrocorticograma (ECoG), após estímulo artificial.

O pesquisador Aristides Leão [11] descobriu o fenômeno quando pesquisava a epilepsia experimental, nos Estados Unidos. Em um experimento em 1944, Leão colocou uma fileira de eletrodos na superfície cortical do cérebro de um coelho. O primeiro eletrodo estimularia a região,

enquanto os outros registrariam as ondas elétricas. Dessa forma, ele observou que, ao ser estimulada, a região sofria uma depressão intensa e duradoura das oscilações elétricas espontâneas do cérebro, que se propagava lentamente e, ao fim de cerca de 20 minutos, retornava à normalidade.

A DA pode ajudar no diagnóstico de doenças ainda pouco compreendidas como a epilepsia e a enxaqueca. Foi sugerido que alguns íons participam na gênese e propagação da DA, como o potássio [4], cloreto [5], cálcio [16], os amino-ácidos excitatórios [7, 9] e os outros neurotransmissores [2, 6, 7, 8]. No entanto, até hoje não se sabe qual é o mecanismo molecular subjacente ao fenômeno da DA.

A DA tem sido estudada registrando-se tanto o EEG (eletroencefalograma) como o eletrocorticograma (ECoG). O eletrocorticograma (ECoG) é um registro elétrico da atividade do cérebro, obtido registrando-se a voltagem através de eletrodos colocados sobre o córtex do animal. Um gráfico cartesiano dessa voltagem obtida em determinado instante, (V_{i+1}) em função da voltagem registrada no instante anterior (V_i) é denominado espaço de fase do ECoG. Gráficos do ECoG em espaço de fase é uma forte ferramenta, que têm sido usados por alguns autores para analisar a atividade cerebral em diferentes condições experimentais. Rapp e colaboradores [15] mostraram que a dimensão fractal do conjunto do espaço de fase da atividade cerebral em repouso é menor que durante a execução de uma tarefa aritmética. Mayer-Kress e Layne [13] mostraram que a dimensão fractal do conjunto de pontos do eletroencefalograma (EEG) no espaço atinge um valor fixo mesmo que a dimensão desse espaço de fase seja aumentada, sugerindo que as flutuações da atividade elétrica cerebral podem ser resultantes de um processo caótico determinístico.

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

O ECoG é um registro da atividade elétrica cortical do cérebro ao longo do tempo, ou seja, trata-se de uma série temporal observada dentro do contexto estatístico. A partir dessa série estatística foram obtidos todos os dados necessários para a determinação do espaço de fase. Dois parâmetros serão usados nesse trabalho, são eles: a dimensão

fractal (D) do espaço de fase e o coeficiente de Hurst (H), que mostra a presença de correlação de longo alcance numa série temporal.

O objetivo principal do nosso trabalho é investigar a dinâmica da atividade cerebral observada no registro do ECoG – antes da DA(A), na avalanche(B) e após a DA(C) - para animais nutridos e desnutridos a partir da análise do espaço de fase e do coeficiente de correlação de longo alcance.

Material e Métodos

1. Métodos experimentais

1.2 Animais

Ratos albinos, machos adultos, nutridos e desnutridos, da linhagem Wistar, provenientes da colônia do Departamento de Nutrição da UFPE, com idade de 90-120 dias de vida, foram submetidos ao registro eletrofisiológico da depressão alastrante cortical (DA). Após anestesia com mistura de uretana+cloralose (1.000:40 mg/kg, ip) os animais receberam uma cânula traqueal e respiraram espontaneamente. Com a cabeça fixada à base de um aparelho estereotáxico, foi aberta a pele e removido o periosteio para exposição do crânio. Foi, então, trepanado um orifício sobre os hemisférios cerebrais, sendo fixado sobre a região do bregma ou sensorio motora (8 mm de diâmetro). O orifício foi utilizado para a estimulação com KCl a 2% no mesmo hemisfério cerebral do microeletrodo de registro de acordo com a Figura 1. 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.

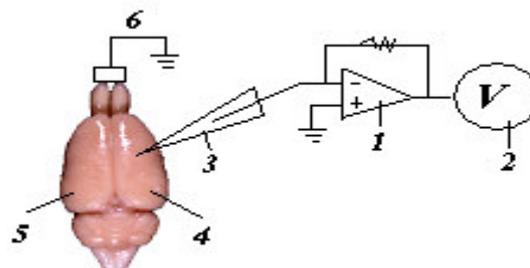


Figura 1. Esquema de registro do eletrocorticograma (ECoG): 1. Amplificador. 2. Sistema de registro e aquisição do ECoG. 3. Microeletrodo extracelular. 4. Hemisfério cerebral direito e 5. Hemisfério esquerdo. 6. Eletrodo de referência.

2. Métodos teóricos

2.1. Caos, espaço de fase e dimensão fractal

Nesta seção será descrita uma ferramenta matemática que permite transformar uma série temporal num objeto geométrico denominado

conjunto do espaço de fase. O espaço de fase pode ser utilizado para distinguir entre sistemas randômicos e determinísticos.

Uma série temporal randômica decorre do comportamento aleatório da variável dependente, enquanto numa série temporal caótica a variável dependente pode ser descrita por uma equação simples, porém que apresenta uma saída tão complexa que se assemelha aquela gerada por um sistema randômico. Os processos caóticos são caracterizados por suas propriedades: 1. ser determinístico, que significa ser regido por uma lei específica; 2. depender de um pequeno número de variáveis independentes; 3. mimetizar comportamento randômico; 4. apresentar sensibilidade às condições iniciais, ou seja, que pequenas variações nas condições iniciais acarretam grandes diferenças no resultado final do processo e 5. por apresentarem grandes mudanças no seu comportamento em resposta a pequenas variações em valores de parâmetros que descrevem o sistema, fenômeno denominado de bifurcação.

O espaço de fase de uma série temporal é obtido traçando-se um gráfico no qual as coordenadas de cada ponto são os valores da variável em estudo nos instantes i (abscissa V_i) e $i+1$ (ordenada V_{i+1}). Nos sistemas randômicos o conjunto de pontos preenche todo o espaço de fase, enquanto nos sistemas caóticos o conjunto de pontos migra para uma região denominada de atrator. A dimensão fractal desse atrator é um importante parâmetro para descrever o comportamento dos sistemas caóticos.

Os fractais são conjuntos cujas formas são irregulares ou fragmentadas e que têm essencialmente a mesma estrutura em diferentes escalas. As principais propriedades que caracterizam os conjuntos fractais são as seguintes: 1) a auto-similaridade, que significa serem as partes de um objeto ou processo semelhante ao todo; 2) dependência de escala, que se refere ao fato da medida de uma grandeza depender da escala na qual ela é medida e 3) dimensão fractal, que é uma descrição quantitativa das propriedades autossimilaridade e dependência de escala e são, em geral, números não-inteiros [14]. Existem alguns métodos para se determinar a dimensão fractal. Neste trabalho será usada a dimensão de box-counting. Neste método cobre-se o objeto fractal com $N(r)$ caixas que contenham pelo menos um ponto do objeto fractal. Repete-se o procedimento com caixas de diferentes tamanhos e traça-se um gráfico do log-log de $N(r)$ em função de r (lados das caixas). A inclinação desse gráfico com o sinal invertido é a dimensão de box-counting, que pode ser definida, formalmente, através da seguinte expressão:

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

A dimensão de box-counting será usada nesse trabalho para parametrizar o comportamento da série temporal do ECoG no espaço de fase.

2.2. Análise do registro do ECoG

O sinal do ECoG, registrado num formato digital, foi analisado usando o programa QuB para obtenção da seqüência temporal da variação da voltagem. Esta seqüência permitiu a construção do espaço de fase, usando-se a planilha do Origin 5.0.

2.3. Análise da correlação de longo alcance do ECoG

A existência de correlação de longo alcance nos dados experimentais foi detectada usando-se a análise R/S de Hurst.

2.3.1. A Análise R/S de Hurst

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

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

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

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

O valor médio da razão R/S para cada iteração foi mostrado por Hurst obedecendo à seguinte relação empírica: $(R/S)_{\text{médio}} = (T/2)^H$, onde T assume valores iguais a $\tau, \tau/2, \tau/4$, etc. O expoente H da relação empírica, denominado coeficiente de Hurst, permite determinar a existência ou não de memória (correlação de longo alcance) numa série temporal, no nosso caso, a seqüência da amplitude (máximo e mínimo) dos sinais do ECoG. Quando uma série temporal totalmente aleatória é analisada por este método, o coeficiente H obtido para esta série é igual a $0,5$. Quando $H \neq 0,5$ diz-se que a função tem memória. Quando $H > 0,5$ a memória é dita positiva, ou persistente, onde um aumento no presente é mais provável de ser seguido por um aumento no futuro.

Se $H < 0,5$ a memória é dita negativa, ou antipersistente, onde um aumento no presente é mais provável de ser seguido por um decréscimo no futuro.

Uma análise para 837 fenômenos naturais, para os quais os valores foram obtidos ao longo do tempo, conduziu ao valor médio de H de 0,73, com um desvio padrão de mais ou menos 0,09 [1, 3,10,12].

Na análise da correlação de longo alcance foi usado o programa Benoit® para determinar o coeficiente H de Hurst.

Resultados

A Figura 2 representa os ECoG's do córtex cerebral de rato nutrido, antes (A), avalanche (B) e após a DA (C) e seus respectivos espaços de fases. Observamos que na avalanche a atividade elétrica do ECoG aumenta em relação aos instantes anteriores e posteriores a DA.

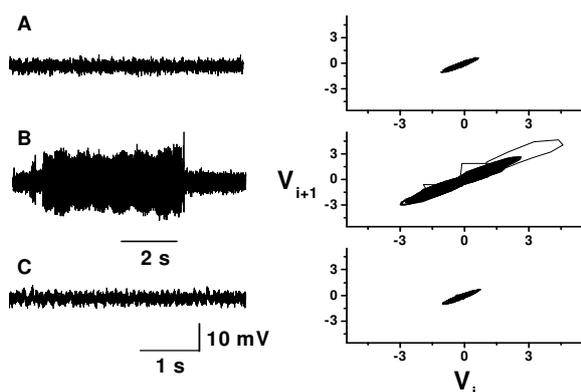


Figura 2 – Registros de voltagem ou ECoG: A, antes; B, na avalanche, C, após a DA e seus correspondentes espaços de fase, dos experimentos realizados em ratos nutridos.

A Figura 3 representa os ECoG's do córtex cerebral de rato desnutrido, antes (A), na avalanche (B) e após a DA (C) e seus respectivos espaços de fases. Pode-se observar que o ECoG na avalanche também difere dos ECoG's antes e depois da DA. O ECoG na avalanche apresenta um perfil distinto daquele encontrado nos animais nutridos. Aqui se observa uma rápida depressão dentro da avalanche da atividade cerebral.

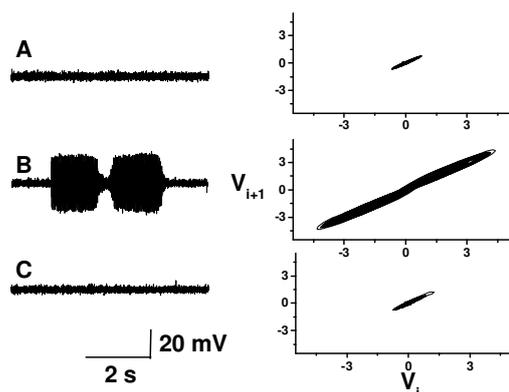


Figura 3 – Registros do ECoG : A, antes; B, na avalanche e C, após a DA e os respectivos espaços de fase para os animais desnutridos.

As tabelas 1 e 2 mostram que na condição de avalanche a dimensão fractal do espaço de fase e o coeficiente de Hurst, parâmetro que reflete a memória do ECoG, sofrem alterações significativas.

Tabela 1- Dimensão fractal (D) e coeficiente de correlação (H) dos ECoGs para animais nutridos.

| | Análise do ECoG | | |
|----------|-----------------|---------------|---------------|
| | Antes da DA (A) | Avalanche (B) | Após a DA (C) |
| D | 1,2700 | 1,3433 | 1,2851 |
| \pm SD | $\pm 0,0989$ | $\pm 0,0652$ | $\pm 0,0995$ |
| H | 0,3248 | 0,5156 | 0,3464 |
| \pm SD | $\pm 0,0652$ | $\pm 0,1294$ | $\pm 0,0952$ |
| n | 41 | 30 | 39 |

A análise dos parâmetros D e H foi realizada através do teste não paramétrico Kruskal-Wallis e o post-hoc de Dunn. Com níveis de significância de 5% o parâmetro D revelou diferença significativa para o ECoG dos animais nutridos, quando esses valores de D foram comparados entre antes da DA (A) e na avalanche (B) e entre avalanche (B) e após a DA (C). Para o parâmetro H , com o mesmo nível de significância de 5%, observou-se diferença significativa entre os valores de A e B e entre os valores de B e C.

Tabela 2- Dimensão fractal (D) e coeficiente de correlação (H) dos ECoGs para animais desnutridos.

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

A análise dos parâmetros D e H foi realizada comparando-se o ECoG antes da DA (A) e na avalanche (B) e na avalanche (B) e após a DA (C) para animais desnutridos, com 5% de níveis de significância e os resultados revelaram diferença significativa tanto para D como para H.

As dimensões fractais (D) e os coeficientes de Hurst (H) dos dois grupos (nutridos e desnutridos) foram também comparados entre si, através do teste não paramétrico Kruskal-Wallis e o post-hoc de Dunn. Com níveis de significância inferiores a 5%, o parâmetro D apresentou diferença significativa após a DA, enquanto o parâmetro H diferiu significativamente antes da DA. Esses resultados mostram que a atividade neuronal registrada no ECoG difere substancialmente entre ratos nutridos e desnutridos.

Discussão

A análise Hurst dos registros do ECoG revela a existência de correlação de longo alcance ou memória nessa série temporal. Nas tabelas 1 e 2 observa-se que os coeficientes de Hurst nas fases anteriores e posteriores a DA indicam a presença de memórias anti-persistentes. Na avalanche a memória nos animais desnutridos foi persistente, enquanto nos animais nutridos praticamente não se observa memória.

Em todos os registros as dimensões fractais do espaço de fase do ECoG foram maiores para animais nutridos que nos animais desnutridos, em todas as fases do registro da atividade cerebral. Pode-se observar um aumento no coeficiente de Hurst (H) nos

animais desnutridos, que está indicando nessa condição experimental um aumento de correlação na atividade elétrica cortical durante o fenômeno da DA.

Conclusões

1. A atividade elétrica do córtex cerebral dos ratos submetidos à depressão alastrante, é um processo dinâmico caótico, reversível e tem memória.

2. Dentro de cada grupo (nutrido e desnutrido) as dimensões fractais D e coeficientes de Hurst do ECoG, diferiram significativamente entre o período da avalanche e os períodos antes e após a DA. Porém esses parâmetros nos períodos antes e após a DA não diferem significativamente entre si.

3. Os valores da dimensão fractal do espaço de fase e do coeficiente de Hurst H do ECoG, entre os grupos nutridos e desnutridos apresentaram diferença significativa para D após a DA e para H antes da DA.

Referências

- [1] J. B. Bassingthwaite, Evaluating rescaled range analysis for time series. *Ann. Biomed. Eng.* 22, 1994 (in press).
- [2] J.E. Cabral-Filho., E.M. Trindade-Filho, R.C.A. Guedes, Effect of difenfluramine on cortical spreading depression in rats, *Braz. J. Med. Biol. Res.* 28 () 347– 350, 1995.
- [3] J. Feder, “Fractals”. New York; Plenum Press, 1998.
- [4] B. Grafstein, Mechanism of spreading cortical depression, *J. Neurophysiol.* 9: 154– 171, 1956.
- [5] R.C.A. Guedes, R.J. do Carmo, Influence of ionic disturbances produced by gastric washing on cortical spreading depression, *Exp. Brain Res.* 39: 341–349, 1980.
- [6] R.C.A. Guedes, F.A.M. de Azeredo, T. P. Hicks, R.J. Clarke, T. Tashiro, Opioid mechanisms involved in the slow potential change and neuronal refractoriness during cortical spreading depression, *Exp. Brain Res.* 69:113– 118, 1987.
- [7] R.C.A. Guedes, A.F.D. Andrade, E.A. Cavalheiro, “Excitatory amino acids and cortical spreading depression”, in: E.A. Cavalheiro, J. Lehman, L. Turski (Eds.), *Frontiers in Excitatory Amino Acid Research*, Alan R. Liss, New York, pp. 667– 670, 1988.
- [8] R.C.A. Guedes, J.E. Cabral-Filho, N.R. Teodosio, GABAergic mechanisms involved in cortical spreading depression in normal and early

- malnourished rats, in: R.J. do Carmo (Ed.), Spreading Depression, Exp. Brain Res. Ser., vol. 23, Springer, Berlin, pp. 17– 26,1992.
- [9] A.V.Harreveld, E., Fifkova`, Glutamate release from the retina during spreading depression, J.Neurobiol. 2 () 13– 29, 1970.
- [10] H. E. Hurst, R. P. Black, and Y. M. Simaiki, Long-Term Storage: An Experimental Study. Lomdon: Constable, 1965.
- [11] A. P.Leão, Spreading depression of activity in the cerebral cortex, J. Neurophysiol. 1:359-390, 1944.
- [12] B. Mandelbrot,. and J. R. Wallis.Robustness of the rescaled range R/S in the Measurement of noncyclic long run statistical dependence Water Resour. Res. 5:967-988, 1969.
- [13] G.Mayer-Kress, and S. .Layne.”Dimensionality of the human electroencephalogram. Ann. N. Y.Acad. Sci. 504:62-87, 1987.
- [14] F. C. Moon, “Chaotic and fractal dynamics “: an introduction for applied scientists an engineers. Jhon Wiley & Sons, N. Y., 1992.
- [15] P. E. Rapp, A. M. Albano and A. I. Mees “Calculation of correlation dimensions from experimental data: Progress and problems”. In:Dynamic patterns in complex systems, edited by J. S. A. Kelso, A. J. Mandell and M. F. Schlessinger. Singapore: World Scientific Publishers, 1988.
- [16] B. K. Siesjo and F. Bengtsson, Calcium fluxes, calcium antagonists and calcium-related pathology in brain ischemia, hypoglycaemia and spreading depression: a unifying hypothesis, J. Cereb. Blood Flow Metab. 9: 127- 140, 1989.