Universidade Federal de Goiás – UFG
Escola de Engenharia Elétrica e de Computação – EEEC
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica e de Computação

AMPLIFICAÇÃO SINÁPTICA E INTERAÇÕES NÃO LINEARES NA ARBORIZAÇÃO DENDRÍTICA DE MODELOS DE MOTONEURÔNIOS

FÁBIO BARBOSA RODRIGUES

Orientador: Prof. Dr. Marcus Fraga Vieira

Goiânia
2010

Universidade Federal de Goiás – UFG
Escola de Engenharia Elétrica e de Computação – EEEC
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica e de Computação

AMPLIFICAÇÃO SINÁPTICA E INTERAÇÕES NÃO LINEARES NA ARBORIZAÇÃO DENDRÍTICA DE MODELOS DE MOTONEURÔNIOS

FÁBIO BARBOSA RODRIGUES

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia Elétrica e de Computação da Universidade Federal de Goiás para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Elétrica e de Computação.

Área de Concentração: Engenharia de Computação

Orientador: Prof. Dr. Marcus Fraga Vieira

Goiânia
Abril / 2010

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada à fonte.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)

GPT/BC/UFG

R696a

Rodrigues, Fábio Barbosa.

Amplificação sináptica e interações não lineares na arborização dendrítica de modelos de motoneurônios [manuscrito] / Fábio Barbosa Rodrigues. - 2010.

xii, 106 f. : figs, tabs.

Orientadora: Prof. Dr. Marcus Fraga Vieira.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Engenharia Elétrica e de Computação, 2010

Bibliografia.

Inclui lista de figuras, abreviaturas, siglas e tabelas.

1. Neurociência 2. Motoneurônios - Modelos 3. Ativação sináptica 4. Não linearidade sináptica 5. Amplificação sináptica I. Título.

CDU: 612.822

FÁBIO BARBOSA RODRIGUES

AMPLIFICAÇÃO SINÁPTICA E INTERAÇÕES NÃO LINEARES NA ARBORIZAÇÃO DENDRÍTICA DE MODELOS DE MOTONEURÔNIOS

Projeto Final apresentado e aprovado em ____ de _____ de _____, pela Banca Examinadora constituída pelos professores:

_____

Prof. Dr. Marcus Fraga Vieira

Presidente da Banca

_____

Prof. Dr. Rodrigo Pinto Lemos

Membro da Banca

_____

Prof. Dr. Hugo Alexandre Dantas do Nascimento

Membro da Banca

Este trabalho tem o apoio da
CAPES e CNPq

O esforço na execução deste trabalho é dedicado para:

Meu Pai – Wilson Rodrigues Machado

Pelos princípios inabaláveis que lhe nortearam a vida.

Minha Mãe – Alaíde Barbosa Rodrigues

Por encorajar os filhos a procurarem interesses intelectuais e por sua magnífica devoção à família.

Agradecimentos

Quero agradecer não somente àqueles que me auxiliaram no desenvolver deste trabalho, mas às pessoas que me fizeram crescer, me ensinaram o que é viver, o que é amar e que fizeram realmente a diferença em minha vida.

Em primeiro lugar, ao autor da vida, **Deus,** que supriu todas as minhas necessidades. A Ele a gratidão eterna pelo seu infinito amor, por me consolar na angústia e pela alegria que deposita em meu coração nos momentos mais difíceis.

Ao meu orientador e amigo Professor Dr. **Marcus Fraga Vieira**, pela convivência frutífera, pelo constante incentivo, pela atenção e orientação, sempre indicando o caminho a ser seguido nos momentos de maior dificuldade, por ser exemplo de garra, integridade, responsabilidade e honestidade, que, aliado à atenção, confirmam que a "simplicidade é apanágio dos grandes", na esperança de retribuir, com a seriedade de meu trabalho, a confiança em mim depositada. Ao professor Marcus meus irrestritos agradecimentos.

Aos Professores Dr. **Marco Antônio Assfalk de Oliveira** e Dr. **Rodrigo Pinto Lemos,** da Escola de Engenharia Elétrica e da Computação – UFG, e ao Professor Dr. **Hugo Alexandre Dantas do Nascimento** do Instituto de Informática – UFG, que gentilmente aceitaram participar e colaborar com este trabalho fazendo parte da banca de qualificação e defesa de dissertação.

Ao amigo **Fernando Gonçalves Abadia,** caminhante inseparável de todo o processo de investigação, que ajudou muito, e enfrentou ao meu lado horas e horas de microcomputador para a redação desta dissertação e desenvolvimento de rotinas, meus sinceros agradecimentos.

Ao Amigo **Leonardo Abdala Elias** que, mesmo de longe, me ajudou mais do que imagina. Meus fraternos agradecimentos

Ao amigo **Ricardo Furtado Rodrigues,** pelo otimismo, força e pelo apoio incondicional, incentivando-me a prosseguir e contagiando-me com seu entusiasmo e afeto.

Ao professor e amigo **Dr. Paulo Roberto Pereira Santiago** (vulgo Preto), meus agradecimentos pelo inestimável apoio, permanente disponibilidade, amizade e pelo apelido (tropeço).

Ao amigo e professor **Dr. Arquimedes Lopes da Silva**, que me incentivou e me orientou em projeto de iniciação científica, onde tudo começou. Meus fraternos agradecimentos.

Aos (às) amigos (as) do LaBioEng que me proporcionaram momentos que jamais esquecerei, pelo companheirismo e apoio, pelas horas de almoço, pelas conversas longas, risadas e desabafos: **Viviane Soares, Leonardo Miranda (vulgo Madureira), Marco Aurélio de Faria Borges, Ivan Avelar, Fernanda Nora, Juliana Carneiro, Marcelo Costa de Paula.** Faço votos que consigam realizar todos os seus projetos de vida, aproveito para dizer que podem contar sempre comigo! Muito obrigado pelos incríveis momentos que vivenciamos juntos.

Aos amigos **Pe. Walmir Garcia do Santos CssR** e **Ir. Eudéia Reis DSR**, meus irrestritos agradecimentos pelos momentos de partilha, orações, pelo apoio incondicional e por todo carinho. Quando penso em vocês a palavra que vem à mente é GENEROSIDADE. Fui abençoado por Deus quando os conheci!

A **todos meus amigos,** que mesmo longe, estiveram presentes e que sem eles essa tarefa não seria possível, meus sinceros agradecimentos pela confiança, apoio, amizade, companheirismo e tudo mais.

A **todos os professores**, funcionários e alunos do Programa de Mestrado em Engenharia Elétrica e de Computação da UFG e da Faculdade de Educação Física (FEF-UFG) que, nos bastidores deste trabalho, de maneira direta ou indireta, contribuíram para a realização desta dissertação, dando-me força. Aproveito para expressar meu sincero agradecimento pelos esforços que fizeram para me ajudar a vencer as dificuldades que foram surgindo. Em especial, a **Eunice Felicíssimo Machado Pires** e **Ieda Cristina Gontijo Arriel,** amigas e secretárias da FEF, obrigado pelas nossas conversas animadas e cômicas. E ao **João** e à **Nice** da secretaria do Programa de Mestrado: vocês me ajudaram muito.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida durante os anos do curso.

E... Especialmente à minha família. Aos meus pais **Wilson** e **Alaíde**, por terem sido contínuo apoio em todos estes anos, ensinando-me, principalmente, a importância da construção e coerência de meus próprios valores. Agradeço, de forma muito carinhosa, a atuação de minha mãe no período de construção deste trabalho. Sua paciência infinita e sua crença absoluta na capacidade de realização a mim atribuída foram, indubitavelmente, os elementos propulsores desta dissertação, e ao meu pai por suas sábias lições de esperança; sempre repetindo palavras essenciais – como, por exemplo, amor, crença, compreensão, alegria – infundiram-me a confiança necessária para realizar os meus sonhos, meus eternos agradecimentos.

Ao meu irmão **Fernando Ricardo**, por ser exemplo de humildade, eu o amo, o admiro e o quero bem, obrigado por ter suportado minha ansiedade em todas as grandes etapas que o mestrado possui, minha tagarelice nos momentos de empolgação. Obrigado, meu irmão, pelo apoio incondicional.

A **toda minha família,** tios (as), primos (as), por me cercarem de amor e atenção, por serem exemplos de união e presença de Deus.

E a minha namorada, **Letícia Alves de Oliveira,** por ter me acolhido em seu coração, pelo carinho, companheirismo, paciência e amor.

Amo todos vocês!

E a todos os demais que, por acaso não mencionei e que contribuíram de alguma forma para deste trabalho, meu muito obrigado!

Por fim, fica o agradecimento a quem utilizar essa dissertação de qualquer forma, pois é isso que faz todo esse trabalho valer à pena.

Muito obrigado!

Fábio Barbosa Rodrigues

"Acredite em você mesmo, pois é só você que pode se auto julgar. Ouse, arrisque e nunca se arrependa. Não desista jamais e saiba valorizar quem te ama, esses sim merecem seu respeito. Quanto ao resto, bom, ninguém nunca precisou de restos para ser feliz."

(PRB)

Sumário

RESUMO I

ABSTRACT II

LISTA DE ABREVIATURAS III

LISTA DE FIGURAS IV

LISTA DE TABELAS XI

1 INTRODUÇÃO 1

2 AS PROPRIEDADES FISIOLÓGICAS DO MOTONEURÔNIO 4

2.1 A AHP (*Afterhyperpolarization*) 5

2.2 Reobase 5

2.3 Relação de entrada e saída do MN: a curva frequência versus corrente (*f/I*) 6

3 METODOLOGIA 8

3.1 Modelo computacional 9

3.2 Validação do modelo computacional 19

4 SIMULAÇÕES 22

4.1 Verificações das diferenças funcionais entre sinapses proximais e distais (Modelo Passivo) 23

4.2 Verificações das diferenças funcionais com modelagem de canais persistentes de cálcio tipo L (Modelo Ativo) 28

4.3 Avaliação da resposta dos dendritos quanto ao grau de não linearidade 48

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 51

5.1 Diferenças funcionais - ganho e fase da corrente efetiva (Modelo Passivo)..... 51

5.2 Diferenças funcionais com modelagem de canais persistentes de cálcio tipo L (Modelo Ativo)..... 58

5.3 Não linearidades da resposta do dendrito 64

6 CONCLUSÃO..... 75

REFERÊNCIAS 78

Resumo

AMPLIFICAÇÃO SINÁPTICA E INTERAÇÕES NÃO LINEARES NA ARBORIZAÇÃO DENDRÍTICA DE MODELOS DE MOTONEURÔNIOS

A partir de modelos de motoneurônios (MN) de geometria e estrutura complexa e capacidade de reproduzir as características de um motoneurônio real, este trabalho tem como objetivos verificar as diferenças funcionais entre sinapses proximais e distais, investigar as interações não lineares de ativações sinápticas e estudar a influência dos canais persistentes de Ca^{2+} tipo L existentes nos dendritos na amplificação sináptica. Para isso, os modelos originais desenvolvidos por Vieira e Kohn (2007), implementados em C^{++}, foram expandidos. Isso possibilitou a realização de testes que verificaram as diferenças funcionais de sinapses que ocorrem em segmentos dendríticos distintos. Foram modelados canais de cálcio tipo L ($Ca_V1.3$) nos dendritos, verificando a influência destes na amplificação das correntes sinápticas e avaliando o grau de não linearidade da arborização dendrítica para diferentes ativações sinápticas.

A verificação das diferenças funcionais entre as sinapses proximais e distais foi realizada, pela injeção de senoides puras em diferentes compartimentos dendríticos do modelo. Os resultados mostraram atenuações mais intensas nas altas frequências e frequência de corte mais baixa em compartimentos dendríticos mais distantes do soma. A influência dos canais persistentes de cálcio foi verificada comparando as diferenças funcionais entre sinapses proximais e distais ao soma com e sem os canais de cálcio persistentes. Os resultados apontam amplificação da ativação sináptica.

As interações não lineares foram avaliadas aplicando potenciais senoidais pós-sinápticos com frequências primas entre si, em dois ou mais dendritos equivalentes simultaneamente e em compartimentos dendríticos diferentes. O espectro de frequência da corrente efetiva foi analisado, comparando a amplitude do pico das harmônicas e das raias espúrias com a amplitude do pico da frequência fundamental de menor amplitude: quanto menores estas diferenças maior o grau de não linearidade entre as ativações sinápticas em segmentos dendríticos distintos. Os resultados sugerem um alto grau de não linearidade entre os dendritos. Notou-se que, nas situações, quando variou-se a condutância sináptica, maior foi o grau de não linearidade em relação aos casos em que variou-se a corrente sináptica, sugerindo influência do potencial de membrana que introduz não linearidades na somação de correntes sinápticas.

Abstract

SYNAPTIC AMPLIFICATION AND NONLINEARITIES INTERATIONS IN THE DENDRITICS TREE OF MOTONEURONS MODELS

From motoneurons models (MN) of complex geometry and structure, able to reproduce the characteristics of a real motoneuron, the aim of this work is to verify the functional differences between proximal and distal synapses, investigating the nonlinearities in passive equivalent dendrites of motoneuron models and to study the influence of persistent calcium channels type L (Cav1.3), present in the dendrites, in the synaptic amplification.

The original models developed by Vieira and Kohn (2007), implemented in C++, were expanded. This allowed to accomplish tests in order to verify the functional differences of synapses that occur near the soma and along of the dendrites. Persistent channels of calcium ($Ca_V1.3$) were modeled in dendrites and the influence of these channels in the amplification of the synaptic currents along the dendrites was verified. Finally, the nonlinearities of responses degree in the dendritic tree for different synaptic activation was evaluated.

In order to verify the functional differences between proximal and distal synapses pure sinusoids were injected in different dendritic compartments of the models. The results showed attenuation at higher frequencies and the cutoff frequency is smaller as we move along the dendrites far from the soma.

The influence of persistent calcium channels was verified comparing the functional differences between proximal and distal synapses along of the soma, with and without them. The initial results showed a notable amplification of synaptic activation. Nonlinear interactions were evaluated using sinusoids synaptic inputs with different frequencies in two or more equivalent dendrites in different compartments. The frequency spectrum of the current between the initial segment and the soma was analyzed by comparing the peak amplitude of harmonics and spurious bands with the peak amplitude of the fundamental frequency of smaller amplitude: the smaller these differences were, greater was degree of nonlinearity between synaptic activation in different dendritic segments. The results showed a high degree of nonlinearity between the dendrites. The cases where the synaptic conductance was varied showed greater degree of nonlinearity in relation to the cases in which the synaptic current was varied.

Lista de Abreviaturas

AHP – *afterhyperpolarization* (hiperpolarização)

FF – motoneurônio relacionado à unidade motora *Fast Fatigued,* rapidamente fadigável

FFT – *Fast Fourier Transform* (Transformada Rápida de Fourier)

FR – motoneurônio relacionado à unidade motora *Fatigued resistant*, mais resistente à fadiga

fo – frequência mínima de disparo repetitivo (imp/s)

I_0 – degrau de corrente mínimo (nA) para se obter uma frequência de disparo repetitivo

I-V – curva corrente *versus* potencial de membrana

Irh – reobase em nA

LVA – *low voltage activation* (ativação em baixa tensão)

MN – motoneurônio

mAHP – *medium afterhyperpolarization* (média hiperpolarização)

Relação f/I – relação entre frequência de disparo e degrau de corrente injetada (imp/s/nA)

S – motoneurônio relacionado à unidade motora *"slow",* com menor velocidade de contração e mais resistente a fadiga

PEPS – potencial excitatório pós-sináptico

PIC – *persisten inward current* (corrente de entrada persistente)

Vm – potencial de membrana em mV

Vrep – potencial de repouso em mV

Lista de Figuras

Figura 1: Potencial de ação (esquerda). Exemplo e descrição de uma AHP do potencial de ação (direita). 5

Figura 2: Disparos repetitivos de longa duração obtidos pela injeção de um degrau de corrente cuja intensidade foi variada abruptamente. Motoneurônios lombossacrais de gatos. (adaptado de Kernell, 1965a) 6

Figura 3: Curva *f/I* de dois motoneurônios distintos, exibindo claramente as duas faixas de linearidade: a faixa primária e a faixa secundária. As curvas foram obtidas em motoneurônios lombossacrais de gatos, pela injeção de degraus de corrente cuja intensidade foi aumentada a cada 1,0 a 1,5 segundo, como mostrado na Figura 2. A frequência foi tomada no 0,5 segundo final de cada intervalo. (adaptado de Kernell, 1965a) 7

Figura 4: Modelo morfológico 3D da arborização dendrítica de motoneurônios α tipo FR de gatos identificada como célula 43/5 por Cullheim et al. (1987). (adaptado de Elbasiouny, Bennett e Mushahwar, 2005) 8

Figura 5: Estrutura geométrica de um dendrito equivalente de MN tipo FF e FR..... 14

Figura 6: Representação geométrica dos modelos ampliados com 5 dendritos e 19 compartimentos que representam os motoneurônios do tipo FF e FR 14

Figura 7: Uma parte do circuito elétrico correspondente. gL= condutância de fuga, gsin= condutância sináptica, γ = condutância de acoplamento entre compartimentos adjacentes, gK, gNa, gCa = condutâncias dos respectivos íons. As baterias representam os potencias de reversão 15

Figura 8: Diagrama esquemático dos blocos que compõem o modelo desenvolvido em C++ 23

Figura 9: Circuito elétrico equivalente de um segmento dendrítico dos novos modelos mostrando os dois protocolos de simulação para estudar as propriedades sinápticas. A – a condutância sináptica varia senoidalmente. B – a corrente sináptica varia senoidalmente. γ representa a condutância de acoplamento entre os compartimentos adjacentes, C é a capacitância do compartimento em questão e a bateria representa o potencial de reversão da sinapse. 28

Figura 10: Segmentos dendríticos com condutância de Ca^{2+}. g_L representa a condutância de fuga do compartimento em questão, γ representa a condutância de acoplamento entre os compartimentos adjacentes, C é a capacitância do compartimento e a bateria representa o potencial de reversão dos íons 31

Figura 11: Reobase versus condutância de entrada para células totalmente e parcialmente biestáveis. (▼) Células totalmente biestáveis; (∇) Células parcialmente biestáveis. Adaptado de Lee e Heckman (1998a)..... 32

Figura 12: – Curva I-V típica de um MN. As linhas tracejadas indicam os saltos de voltagem que tendem a ocorrer devido à região de condutância negativa. Um aumento de corrente na fase ascendente levaria o ponto **a** direto para o ponto **b**, enquanto para um decréscimo de corrente o ponto **c** tenderia a saltar para o ponto **d**. Com isso, para um mesmo valor de corrente nos pontos **a** ou **c**, dois potenciais de membrana seriam possíveis, conferindo à célula um comportamento biestável. Adaptado de Lee e Heckman (1998a) 33

Figura 13: Potencial de membrana do soma. Protocolo utilizado para levantar a curva I-V 34

Figura 14: Exemplo da relação curva I-V 34

Figura 15: Ajuste de curva - Região subliminar. Em vermelho, a estimativa feita por meio da regressão linear e em preto a região subliminar da curva I-V. 35

Figura 16: Corrente efetiva. 35

Figura 17: Comprimento eletrotônico e distância entre os compartimentos – motoneurônio tipo S 36

Figura 18: Legenda das figuras 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28 e 29 37

Figura 19: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de $0,75x10^{-5}$ a $7,0x10^{-5}$. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 0 37

Figura 20: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de $0,75x10^{-5}$ a $7,0x10^{-5}$. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 1 38

Figura 21: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de $0,75x10^{-5}$ a $7,0x10^{-5}$. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 2 38

Figura 22: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de $0,75x10^{-5}$ a $7,0x10^{-5}$. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 3 39

Figura 23: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de $0,75x10^{-5}$ a $7,0x10^{-5}$. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 4 39

Figura 24: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de $0,75x10^{-5}$ a $7,0x10^{-5}$. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 5 40

Figura 25: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de $0,75x10^{-5}$ a $7,0x10^{-5}$. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 6 40

Figura 26: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de 0,75x10^{-5} a 7,0x10^{-5}. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 7 41

Figura 27: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de 0,75x10^{-5} a 7,0x10^{-5}. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 8 41

Figura 28: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de 0,75x10^{-5} a 7,0x10^{-5}. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 9 42

Figura 29: Distribuição dos canais de $Ca_V1.3$ ao longo do dendrito (adaptado de Ebasionuny, Bennett e Mushahwar, 2005) 43

Figura 30: Distribuição de canais persistentes de cálcio tipo L - Caso 8 43

Figura 31: Curva I-V – Motoneurônio parcialmente biestável (Mn tipo FR). À esquerda curva I-V e a direita curva I-V subtraída a corrente de fuga 44

Figura 32: Curva I-V – Motoneurônio totalmente biestável (Mn tipo S). À esquerda curva I-V e à direita curva I-V subtraída a corrente de fuga 44

Figura 33: Curva I-V. A Figura A mostra a fase ascendente e B a fase descendente da curva I-V gerada a partir do grampeamento do soma com corrente triangular. Os triângulos na Figura A indicam a média dos valores para V_{on} e I_{pic} para motoneurônios totalmente e parcialmente biestáveis, e na Figura B indicam a média dos valores para V_{off} e I_{sus}. A linha pontilhada vertical mostra a média do limiar de tensão (V_{th}) para ambos os tipos de células. Adaptado de Lee e Heckman (1998a). 46

Figura 34: Exemplo do protocolo utilizado para avaliar o grau de não linearidade entre diferentes entradas sinápticas. 49

Figura 35: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando condutância sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos: frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo FF 52

Figura 36: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando corrente sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos: frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo FF 53

Figura 37: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando condutância sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos: frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo FR 54

Figura 38: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando corrente sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos: frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo FR 54

Figura 39: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando condutância sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo S 55

Figura 40: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando corrente sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos: frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo S 55

Figura 41: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando condutância sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos:

frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo FR com canais de Ca^{++} tipo L. 59

Figura 42: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando corrente sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos: frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo FR com canais de Ca^{++} tipo L. 59

Figura 43: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando condutância sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos: frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo S com canais de Ca^{++} tipo L. 60

Figura 44: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando corrente sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos: frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo S com canais de Ca^{++} tipo L. 60

Figura 45: Corrente efetiva (gráfico superior) e seu espectro de potência (gráfico inferior): variando condutância, MN FF. ■ – Pico da frequência fundamental de menor amplitude, □ – outras frequências fundamentais, ○ – algumas raias espúrias. 64

Figura 46: Mn tipo FR - Variando a condutância. Corrente efetiva (gráfico superior) e seu espectro de potência (gráfico inferior). À esquerda modelo ativo e à direita modelo passivo. 65

Figura 47: Mn tipo FR - Variando a corrente. Corrente efetiva (gráfico superior) e seu espectro de potência (gráfico inferior). À esquerda modelo ativo e à direita modelo passivo. 66

Figura 48: Mn tipo S - Variando a condutância. Corrente efetiva (gráfico superior) e seu espectro de potência (gráfico inferior). À esquerda modelo ativo e à direita modelo passivo. 66

Figura 49: Mn tipo S - Variando a corrente. Corrente efetiva (em cima) e seu espectro de potência (em baixo). À esquerda modelo ativo e à direita modelo passivo..... 67

Figura 50: MN tipo FR com dendritos passivos 69

Figura 51: MN tipo FR com dendritos ativos 70

Figura 52: MN tipo S com dendritos passivos 70

Figura 53: MN tipo S com dendritos ativos 71

Figura 54: Mn tipo FR - Variando a condutância. Corrente efetiva (gráfico superior) e seu espectro de potência (gráfico inferior). À direita modelo passivo e a esquerda modelo ativo. 72

Figura 55: Mn tipo FR - Variando a corrente. Corrente efetiva (gráfico superior) e seu espectro de potência (gráfico inferior). À direita modelo passivo e a esquerda modelo ativo. 72

Figura 56: MN tipo FR com dendritos passivo 73

Figura 57: MN tipo FR com dendritos ativo 73

Lista de Tabelas

Tabela 1: Dados relativos à AHP 19

Tabela 2: Dados relativos à reobase 20

Tabela 3: Dados relativos à relação *f/I* 20

Tabela 4: Resistividade de membrana adotada nos modelos 10

Tabela 5: Características morfológicas dos dendritos de motoneurônio tipo FF 11

Tabela 6: Características morfológicas dos dendritos de motoneurônio tipo FR..... 12

Tabela 7: Características morfológicas dos dendritos de motoneurônio tipo S 13

Tabela 8: Ajustes dos protocolos - variando corrente e variando condutância 26

Tabela 9: Ajuste dos modelos segundo a curva I-V 45

Tabela 10: Ajustes dos protocolos - variando corrente e variando condutância (Modelo Ativo)..... 47

Tabela 11: Resumo das frequências de corte – Motoneurônios com dendrito passivo – Compartimentos dendríticos: 0, 1, 6, 11 e 17 respectivamente para motoneurônios tipo FF e FR e 0, 1, 5, 12 e 16 para motoneurônios tipo S. 56

Tabela 12: Resumo dos valores de ganho. (Modelo com dendrito passivo)..... 57

Tabela 13: Resumo das frequências de corte – Motoneurônios Ativo - Para os compartimentos dendríticos: 0, 1, 6, 11 e 17 para motoneurônio tipo FR, respectivamente, e 0, 1, 5, 12 e 16 para motoneurônio tipo S. 61

Tabela 14: Resumo dos valores de ganho em relação às frequências de corte (modelo com dendrito ativo)..... 63

Tabela 15: Raias espúrias geradas a partir de interação entre as frequências aplicadas (f_1= 7Hz, f_2=11Hz e f_3=13Hz) 68

1 Introdução

O principal papel do sistema nervoso é controlar as várias atividades corporais. Essas atividades são controladas por basicamente três funções: sensória, integrativa e motora. O foco deste trabalho está na função motora que comanda as contrações de diversos músculos, esqueléticos e lisos.

O neurônio motor (motoneurônio) localiza-se no final das vias eferentes e enervam os músculos esqueléticos (voluntários). Os motoneurônios (MN) são importantes no controle motor, sendo responsáveis pela integração de comandos superiores, medulares e periféricos na contração dos músculos. Os motoneurônios α (alfa) são neurônios do sistema nervoso que fazem contatos sinápticos com as fibras musculares esqueléticas, ou seja, tem como função a ativação das fibras musculares. O recrutamento das fibras acontece de acordo com a resposta aos padrões de disparos dos potenciais de ação, que geram a contração e relaxamento das fibras musculares o que, por sua vez, podem gerar movimentos. Todo movimento seja ele simples ou complexo depende do padrão de disparo dos potenciais de ação de várias populações de motoneurônio aliado às propriedades biomecânicas do sistema muscular esquelético.

Existem alguns modelos matemáticos descritos na literatura (BOOTH; RINZEL; KIEHN, 1997; VIEIRA; KOHN, 2007; JONES; BAWA, 1999) que, a partir de dados experimentais de animais anestesiados, são capazes de reproduzir características de motoneurônios reais, como trem de potencial de ação, adaptação e outros fenômenos biofísicos. Porém, quando o motoneurônio está sujeito à ação de neuromoduladores como a serotonina e a norepinefrina, outras características não observáveis em animais anestesiados tornam-se presentes, como, por exemplo, o fenômeno da biestabilidade, potências platô e amplificações de entradas sinápticas, para os quais estudos recentes têm associado esses fenômenos aos canais de cálcio tipo L nos dendritos (LEE; HECKMAN, 1998a).

Uma importante questão é como centenas de milhares de sinapses interagem na arborização dendrítica do motoneurônio, afetando sua saída (KERNELL, 2006). Alguns aspectos desta interação dependem da estrutura do motoneurônio. A influência de uma única entrada sináptica é, particularmente, dependente do comprimento e direção dos dendritos, enquanto a saída é dependente das distribuições setoriais do axônio (KERNELL, 2006).

Outra questão da neuroanatomia que ainda não está respondida completamente é a forma que estão interconectados os *pools* (populações) de motoneurônios (KERNELL, 2006). Estudos recentes buscam entender os mecanismos básicos do mapeamento do sistema nervoso central. Quando analisamos a organização morfológica de uma população neuronal, podemos também entender muitas propriedades funcionais de várias células envolvidas. Quando se trata de motoneurônios isto pode ser feito com um grau extraordinário, pois é possível usar técnicas para estudar a fisiologia de células isoladas.

O comportamento de uma população de motoneurônio depende tanto das propriedades intrínsecas dos MN individuais quanto do padrão e da intensidade das conexões sinápticas sobre eles (POWERS, 1993). Com exceção das pequenas redes neurais de invertebrados, abordagens experimentais têm sido incapazes de definir a quantidade de detalhes das conexões sinápticas e propriedades celulares com a precisão suficiente para descrever todo o comportamento da arborização dendrítica. Por esta razão, simulações computacionais são desenvolvidas em complemento a estudos experimentais.

Diante da dificuldade de pesquisas experimentais, o desenvolvimento de modelos matemáticos contribui no entendimento de mecanismos fisiológicos, levantando dados para a compreensão da relação entre as características biofísicas e morfológicas de motoneurônios (VIEIRA; KOHN, 2002), colaborando dessa forma com a elucidadação dos fenômenos que envolvem a transferência de informações entre neurônios.

Os dendritos ocupam mais de 95% da área total da membrana de um motoneurônio α e mais da metade dessa área está a mais de 500μm do soma (CULLHEIM et al. 1987), o que justifica maior parte das sinapses ocorrer na arborização dendritíca. Até o ano de 2002, muitos modelos consideravam o dendrito passivo, isto é, sem a presença de canais ativos, com exceção do trabalho de Booth, Rinzel e Kiehn (1997), que num modelo simplificado de motoneurônio de tartaruga utilizou canais de cálcio e potássio nos dendritos. Neste trabalho, foi aperfeiçoado o modelo desenvolvido por Vieira e Kohn (2007), expandindo a arborização dendrítica e acrescentando nesta canais persistentes de Ca^{2+} tipo L, a fim de estudar a amplificação sináptica ao longo do dendrito e verificar as influências destes em relação ao ganho e fase da corrente efetiva (corrente de acoplamento entre o soma e o segmento inicial),

esclarecendo, dessa forma, as diferenças funcionais e comparando essas diferenças entre o modelo passivo e o modelo ativo com canais persistentes de Ca^{2+} tipo L.

O estudo das interações não lineares na arborização dendrítica de modelos de motoneurônios tem o intuito de também esclarecer como entradas sinápticas independentes agem sobre o motoneurônio e afetam a corrente que alcança o soma. Esta corrente é de capital importância, pois é o que define o padrão de disparo de potenciais de ação do motoneurônio. Desta forma, este trabalho busca, por meio de simulações computacionais, explicar fenômenos biofísicos observados experimentalmente, verificando a influência das entradas sinápticas, presentes na arborização dendrítica, sobre a corrente que alcança o soma.

Nesse sentido, este trabalho tem como objetivos:

i - Verificar diferenças funcionais entre as sinapses proximais e distais em relação ao soma;

ii - Verificar a influência dos canais persistentes de cálcio tipo L ($Ca_V1.3$) existentes nos dendritos na amplificação sináptica;

iii - Avaliar as interações não lineares entre ativações sinápticas nos dendritos equivalentes.

A principal contribuição deste trabalho é, a partir de uma base teórica e em nível celular, buscar elucidar fenômenos que são difíceis de serem observados experimentalmente, e que de outra forma não seria possível de serem estudados devido às limitações físicas e de instrumentos para realizações de possíveis testes em ambientes extremamente sensíveis e de difícil acesso, como é o caso das medições na arborização dendrítica.

Nos capítulos seguintes, revisaremos um pouco as propriedades fisiológicas dos motoneurônios e seus ajustes revisitando a literatura. Apresentaremos a metodologia utilizada para desenvolver os modelos computacionais, explicaremos como foram realizadas as simulações e, por fim, discutiremos as tarefas realizadas e apresentaremos nossos resultados conclusivos.

2 As Propriedades Fisiológicas do Motoneurônio

Os modelos de motoneurônios utilizados foram desenvolvidos tendo como princípio resguardar as características eletrofisiológicas e geométricas destas células.

As propriedades fisiológicas do motoneurônio estão intimamente ligadas ao tipo da unidade motora a que pertencem (FLESHMAN; SEGEV; BURKE, 1988). Sua nomenclatura está relacionada com a velocidade de contração e com o tipo de metabolismo das respectivas fibras musculares.

São elas:

FF – *fast fatigued* – rapidamente fadigáveis;

FR – *fatigued resistant* – mais resistente à fadiga;

S – *slow* – menor velocidade de contração e um metabolismo lipídico que lhe confere maior resistência à fadiga.

Outras diferenças são notadas na geometria. Motoneurônios do tipo S são geometricamente menores (área média total de membrana, $A_N \approx 480_x10^3\ \mu m^2$) do que os do tipo FR e FF ($A_N \approx 618_x10^3\ \mu m^2$) além de, também, possuírem propriedades elétricas e fisiológicas diferentes como, por exemplo, menor velocidade de condução axonal que os dos tipos FR e FF e menor reobase, ou seja, menor valor de corrente intracelular injetada de longa duração necessária para se disparar um potencial de ação (CULLHEIM et al. 1987).

Evidentemente existem diferenças entre os modelos desenvolvidos para cada um dos tipos de motoneurônios. Este trabalho foi desenvolvido a partir dos modelos propostos por Vieira e Kohn (2007) que utilizaram dados geométricos e eletrotônicos de motoneurônios lombossacrais do gato, reportados na literatura experimental (FLESHMAN; SEGEV; BURKE, 1988; CULLHEIM et al. 1987).

Os modelos foram ajustados para reproduzir características fisiológicas como a AHP (*afterhyperpolarization*) e a curva *f/I* de um motoneurônio real (ZENGEL et al. 1985; BALDISSERA; GUSTAFSSON, 1974a), resistência de entrada e reobase (FLESHMAN; SEGEV; BURKE, 1988), resposta repetitiva do motoneurônio e adaptação do MN real.

2.1 A AHP (*Afterhyperpolarization*)

A AHP (*afterhyperpolarization*) é a fase de pós-hiperpolarização do potencial de ação e pode durar até centenas de milissegundos. A AHP tem duas funções: limita a frequência de disparo do motoneurônio e é responsável pelas fases iniciais do fenômeno de adaptação (KERNELL, 1965b).

Conforme mostra a Figura 1, em motoneurônios a AHP é descrita por vários parâmetros (ZENGEL et al. 1985) a partir de um potencial de ação obtido pela injeção de um pulso retangular de corrente de 50 nA e 0,5 ms de duração no soma:

Duração: tempo em milissegundos, decorrido entre o instante de aplicação do pulso de corrente e o instante no qual o potencial de membrana retorna a seu valor de repouso antes da aplicação do pulso da corrente.

Magnitude: pico máximo da AHP, em mV em relação ao potencial de repouso da membrana antes da aplicação do pulso de corrente.

Tempo de meio decaimento: tempo, em milissegundos, desde o instante do pico máximo da AHP até o instante no qual ela alcança metade de seu valor máximo.

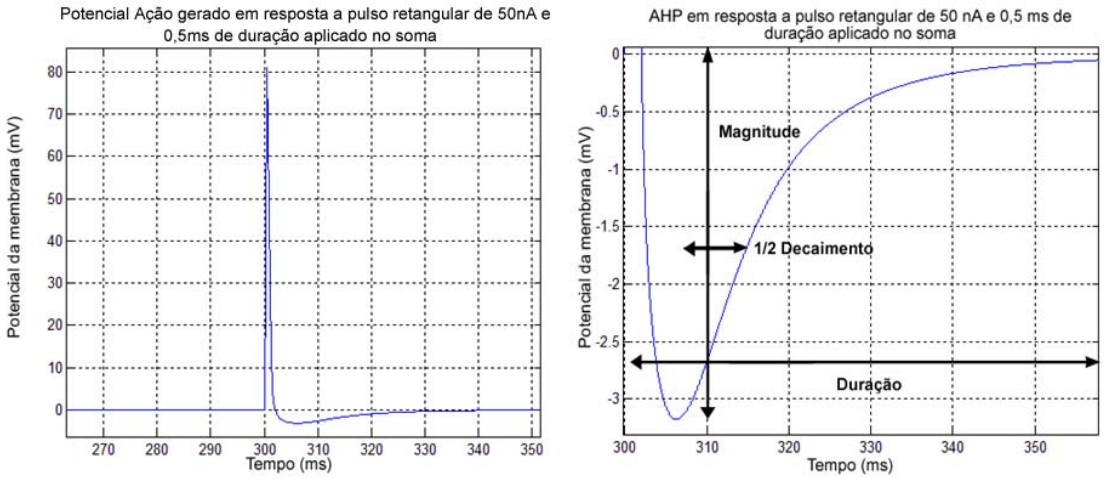

Figura 1: Potencial de ação (esquerda). Exemplo e descrição de uma AHP do potencial de ação (direita).

2.2 Reobase

Reobase é o valor da corrente de longa duração (50 ms) capaz de provocar ao menos um potencial de ação. A reobase varia sistematicamente de acordo

com o tipo de motoneurônio, seguindo esta relação: tipo S menor que o tipo FR que, por sua vez, é menor que o tipo FF (FLESHMAN et al. 1981; ZENGEL et al. 1985).

2.3 Relação de entrada e saída do MN: a curva frequência versus corrente (*f/I*)

O motoneurônio responde à injeção de um degrau de corrente com disparos repetitivos de potenciais de ação, cuja frequência depende da intensidade da corrente (Figura 2). Dentro de certos limites, quanto maior o degrau de corrente injetado maior a frequência de disparos do MN.

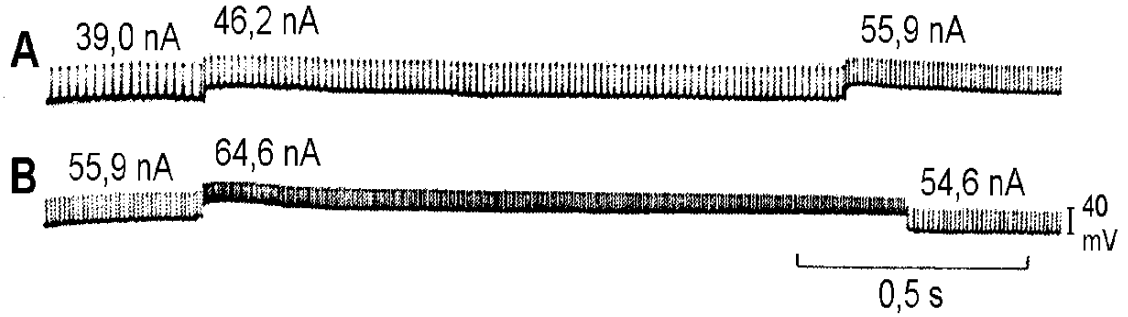

Figura 2: Disparos repetitivos de longa duração obtidos pela injeção de um degrau de corrente cuja intensidade foi variada abruptamente. Motoneurônios lombossacrais de gatos. (adaptado de Kernell, 1965a)

A sensibilidade do motoneurônio à injeção de corrente não é uniforme, varia com tipo de unidade motora: é mais alta em motoneurônios com baixa reobase e AHP de longa duração (tipo S) (BALDISSERA; CAMPADELLI; PICCINELLI, 1984; BALDISSERA; CAMPADELLI; PICCINELLI, 1987).

A curva *f/I* é, de modo geral, linear, podendo, entretanto, apresentar duas faixas distintas de linearidade: a faixa primária e a faixa secundária (Figura 3). A presença desta dupla inclinação é geralmente observada em motoneurônios pequenos (SCHWINDT; CRILL, 1982), do tipo S, mas pode também ser observada em motoneurônios tipo FR e tipo FF. A faixa secundária possui uma inclinação de duas a seis vezes maior que a inclinação da faixa primária isso na mesma população de motoneurônio (BALDISSERA; GUSTFSSON, 1974a; BALDISSERA; GUSTAFSSON, 1974b, KERNELL, 1965a). Além disso, incrementos maiores no

degrau de corrente injetada podem revelar uma terceira faixa, mas que em geral tem uma inclinação menor que a da faixa secundária (SCHWINDT, 1973).

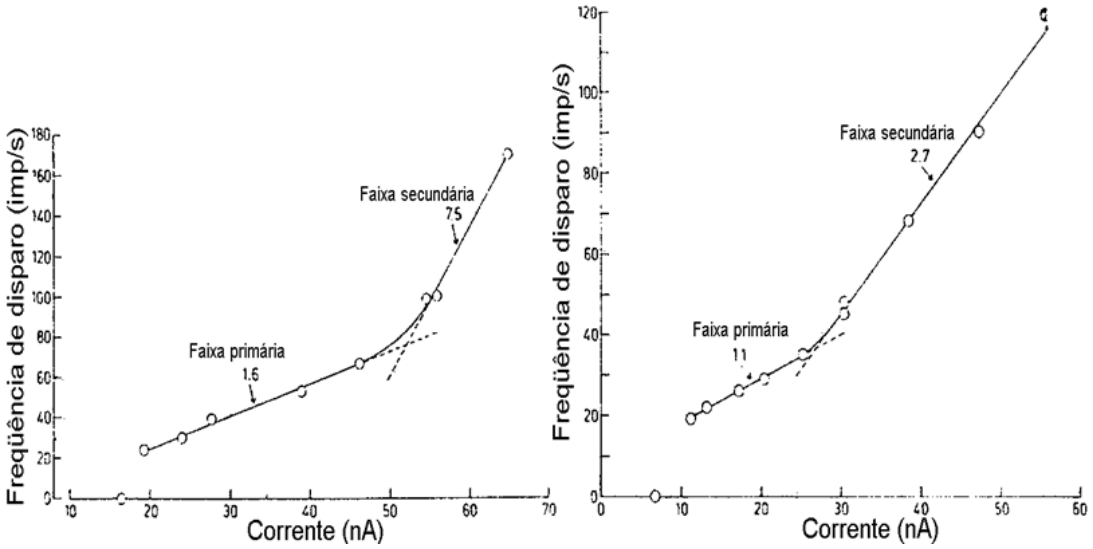

Figura 3: Curva *f/I* de dois motoneurônios distintos, exibindo claramente as duas faixas de linearidade: a faixa primária e a faixa secundária. As curvas foram obtidas em motoneurônios lombossacrais de gatos, pela injeção de degraus de corrente cuja intensidade foi aumentada a cada 1,0 a 1,5 segundo, como mostrado na Figura 2. A frequência foi tomada no 0,5 segundo final de cada intervalo. (adaptado de Kernell, 1965a)

3 Metodologia

A reconstrução geométrica de motoneurônios reais é feita a partir de marcadores bioquímicos. Enzimas como *horseradish peroxidase*, que trafegam no citoesqueleto destas células, corando-as, possibilitando sua reconstrução geométrica a partir de cortes no tecido nervoso. Estes dados são incorporados em detalhes nos modelos computacionais de motoneurônios (FLESHMAN; SEGEV; BURKE, 1988). A Figura 4 mostra um modelo 3D que ilustra a arborização dendritíca da célula 43/5, um motoneurônio α do tipo FR de gatos (CULLHEIM et al. 1987).

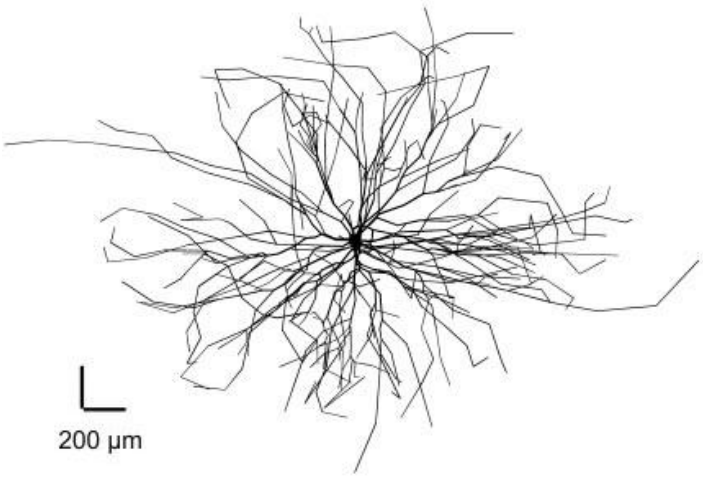

Figura 4: Modelo morfológico 3D da arborização dendrítica de motoneurônios α tipo FR de gatos identificada como célula 43/5 por Cullheim et al. (1987). (adaptado de Elbasiouny, Bennett e Mushahwar, 2005)

A complexa estrutura eletrotônica dos dendritos impede o uso de simples cilindros ou outras figuras geométricas. É necessário modelá-los como cabos equivalentes cujos diâmetros variam ao longo de seu comprimento sendo totalmente baseados nos dados morfológicos da arborização dendritíca.

Os efeitos das entradas sinápticas dendritícas dependem diretamente das características eletrotônicas da arborização dendritíca que, por sua vez, dependem da morfologia das ramificações, tais como: resistividade da membrana (R_m), capacitância da membrana (C_m), resistividade citoplasmática (R_i) e de sua geometria (FLESHMAN; SEGEV; BURKE, 1988).

Os modelos utilizados neste trabalho são uma versão expandida dos modelos desenvolvidos por Vieira e Kohn (2007), com condutâncias ativas modeladas conforme o formalismo de Hodgkin-Huxley (HODGKIN; HUXLEY, 1952), e uma descrição mais detalhada da arborização dendrítica, agora composta por 5 dendritos equivalentes com cerca de 17 a 19 compartimentos cilíndricos, cujo diâmetro diminui com a distância ao soma.

3.1 Modelo computacional

Os modelos expandidos de MNs utilizados neste trabalho (Figura 06) tiveram como prioridade manter as características eletrofisiológicas destas células de forma mais fidedigna possível. Foram desenvolvidos a partir de dados geométricos e eletrotônicos de motoneurônios lombossacrais de gato reportados na literatura experimental (FLESHMAN; SEGEV; BURKE, 1988; CULLHEIM et al, 1987): raio do soma, raio equivalente dos dendritos, resistividade da membrana somática e dendrítica, capacitância da membrana, resistência de entrada, constante de tempo de membrana.

A geometria dos modelos computacionais varia com o tipo de motoneurônio: tipo FF e FR são compostos por 97 compartimentos distribuídos em cinco dendritos com 19 compartimentos cilíndricos cada, soma esférico e segmento inicial cilíndrico, e tipo S composto por 87 compartimentos em cinco dendritos com 17 compartimentos cada, soma esférico e segmento inicial cilíndrico. A diferença na quantidade de compartimentos e a forma como os modelos foram construídos, justificam-se pelas características geométricas de cada tipo de motoneurônio (FLESHMAN; SEGEV; BURKE, 1988), mostrando que o diâmetros dos dendritos de motoneurônios reais diminuem com a distância ao soma.

Embora os motoneurônios possam ter dendritos ativos, as propriedades passivas de cabo são determinadas por três parâmetros listados a seguir cujos valores foram adotados nos modelos utilizados neste trabalho:

Capacitância específica da membrana $\rightarrow$ Cm = 1,0 $\mu F/cm^2$;

Resistividade citoplasmática $\rightarrow$ Ri = 70 Ωcm^2;

Resistividade da membrana → segundo o modelo em degrau proposto por Fleshman, Segev e Burke, (1988), no qual os dendritos possuem uma resistividade de membrana maior que o soma (Tabela 4):

Tabela 1: Resistividade de membrana adotada nos modelos

Tipo	**Soma e Seg. Inicial (Ωcm^2)**	**Dendritos (Ωcm^2)**
S	700	20000
FR	225	11000
FF	77,4	20000

É necessário destacar que os dendritos podem se comportar passivamente em regime subliminar e ativamente em regime supraliminar, dessa forma Ri, Cm e a geometria dendrítica podem afetar as propriedades espaço-temporais dos disparos. Vale lembrar que, em certas células nervosas como, por exemplo, os motoneurônios de vertebrados, as propriedades ativas dos dendritos só aparecem quando neuromoduladores são liberados por vias descendentes, como as vias provenientes do tronco encefálico.

O modelo originalmente proposto por Vieira e Kohn (2007) é composto por um único ramo dendrítico. Nos modelos ora propostos, os dendritos foram expandidos para cinco ramos, aumentando de forma significativa o número de compartimentos, permitindo o estudo de interações sinápticas em ramos distintos. A partir da modelagem original, foram calculados os dados eletrotônicos dos novos dendritos. Estes dados são mostrados nas Tabelas 5, 6 e 7. A constante $\boldsymbol{\lambda}$ (constante de comprimento) é definida pela distância ao longo da qual o potencial de membrana (V_m) decai para 37% do seu valor no local inicial de despolarização (KANDEL; SCHWARTZ; JESSELL, 2000).

Tabela 2: Características morfológicas dos dendritos de motoneurônio tipo FF

Motoneurônio Tipo FF								
Comp.	**Diâmetro (µm)**	**Comprimento (µm)**	**Área lateral cilíndrica (μm^2)**	**Condutância (µS)**	**Capacitância (µF)**	**Condutância de Acoplamento (µS)**	**Lambda**	**Comp. Eletrotônico**
C0	1,57E+01	500	2,46E+04	1,23E-05	2,46E-04	5,50E-04	3,34E+03	1,50E-01
C1	1,57E+01	500	2,46E+04	1,23E-05	2,46E-04	5,50E-04	3,34E+03	1,50E-01
C2	1,57E+01	500	2,46E+04	1,23E-05	2,46E-04	5,50E-04	3,34E+03	1,50E-01
C3	1,57E+01	500	2,46E+04	1,23E-05	2,46E-04	5,50E-04	3,34E+03	1,50E-01
C4	1,57E+01	500	2,46E+04	1,23E-05	2,46E-04	5,17E-04	3,34E+03	1,50E-01
C5	1,48E+01	500	2,32E+04	1,16E-05	2,32E-04	4,42E-04	3,25E+03	1,54E-01
C6	1,34E+01	500	2,11E+04	1,05E-05	2,11E-04	3,60E-04	3,10E+03	1,62E-01
C7	1,20E+01	500	1,89E+04	9,45E-06	1,89E-04	2,67E-04	2,93E+03	1,71E-01
C8	1,01E+01	500	1,58E+04	7,90E-06	1,58E-04	2,72E-04	2,68E+03	1,87E-01
C9	8,68E+00	250	6,81E+03	3,41E-06	6,81E-05	2,74E-04	2,49E+03	1,00E-01
C10	7,16E+00	250	5,62E+03	2,81E-06	5,62E-05	1,91E-04	2,26E+03	1,11E-01
C11	6,04E+00	250	4,74E+03	2,37E-06	4,74E-05	1,31E-04	2,08E+03	1,20E-01
C12	4,92E+00	250	3,86E+03	1,93E-06	3,86E-05	8,71E-05	1,87E+03	1,33E-01
C13	4,02E+00	250	3,16E+03	1,58E-06	3,16E-05	5,96E-05	1,70E+03	1,47E-01
C14	3,35E+00	250	2,63E+03	1,32E-06	2,63E-05	3,78E-05	1,55E+03	1,62E-01
C15	2,46E+00	225	1,74E+03	8,69E-07	1,74E-05	1,89E-05	1,33E+03	1,70E-01
C16	1,57E+00	200	9,83E+02	4,92E-07	9,83E-06	6,24E-06	1,06E+03	1,89E-01
C17	6,71E-01	125	2,63E+02	1,32E-07	2,63E-06	9,85E-07	6,92E+02	1,81E-01
C18	2,24E-01	100	7,02E+01	3,51E-08	7,02E-07		4,00E+02	2,50E-01
TOTAL	--//--	6.650	--//--	--//--	--//--	--//--	4,41E+04	2,98E+00

Tabela 3: Características morfológicas dos dendritos de motoneurônio tipo FR

Motoneurônio Tipo FR								
Comp.	**Diâmetro (µm)**	**Comprimento (µm)**	**Área lateral cilíndrica (μm^2)**	**Condutância (µS)**	**Capacitância (µF)**	**Condutância de Acoplamento (µS)**	**Lambda**	**Comp. Eletrotônico**
C0	1,79E+01	500	2,81E+04	2,55E-05	2,81E-04	7,18E-04	3,57E+03	1,40E-01
C1	1,79E+01	500	2,81E+04	2,55E-05	2,81E-04	7,18E-04	3,57E+03	1,40E-01
C2	1,79E+01	500	2,81E+04	2,55E-05	2,81E-04	7,18E-04	3,57E+03	1,40E-01
C3	1,79E+01	500	2,81E+04	2,55E-05	2,81E-04	7,00E-04	3,57E+03	1,40E-01
C4	1,74E+01	500	2,74E+04	2,49E-05	2,74E-04	6,65E-04	3,53E+03	1,42E-01
C5	1,70E+01	500	2,67E+04	2,43E-05	2,67E-04	5,76E-04	3,48E+03	1,44E-01
C6	1,52E+01	500	2,39E+04	2,17E-05	2,39E-04	4,54E-04	3,30E+03	1,52E-01
C7	1,34E+01	500	2,11E+04	1,92E-05	2,11E-04	3,47E-04	3,10E+03	1,62E-01
C8	1,16E+01	500	1,83E+04	1,66E-05	1,83E-04	3,57E-04	2,88E+03	1,73E-01
C9	9,84E+00	250	7,73E+03	7,02E-06	7,73E-05	3,48E-04	2,65E+03	9,43E-02
C10	8,05E+00	250	6,32E+03	5,75E-06	6,32E-05	2,57E-04	2,40E+03	1,04E-01
C11	7,16E+00	250	5,62E+03	5,11E-06	5,62E-05	1,99E-04	2,26E+03	1,11E-01
C12	6,26E+00	250	4,92E+03	4,47E-06	4,92E-05	1,43E-04	2,11E+03	1,18E-01
C13	5,19E+00	250	4,07E+03	3,70E-06	4,07E-05	9,08E-05	1,92E+03	1,30E-01
C14	4,02E+00	250	3,16E+03	2,87E-06	3,16E-05	5,48E-05	1,70E+03	1,47E-01
C15	3,13E+00	250	2,46E+03	2,24E-06	2,46E-05	2,55E-05	1,50E+03	1,67E-01
C16	1,79E+00	200	1,12E+03	1,02E-06	1,12E-05	1,03E-05	1,13E+03	1,77E-01
C17	8,94E-01	125	3,51E+02	3,19E-07	3,51E-06	3,42E-06	7,99E+02	1,56E-01
C18	4,47E-01	100	1,40E+02	1,28E-07	1,40E-06		5,65E+02	1,77E-01
TOTAL	--//--	6.675	2,66E+05	2,41E-04	2,66E-03	6,39E-03	4,76E+04	2,71E+00

Tabela 4: Características morfológicas dos dendritos de motoneurônio tipo S

Motoneurônio Tipo S								
Comp.	**Diâmetro (µm)**	**Comprimento (µm)**	**Área lateral cilíndrica (μm^2)**	**Condutância (µS)**	**Capacitância (µF)**	**Condutância de Acoplamento (µS)**	**Lambda**	**Comp. Eletrotônico**
C0	1,12E+01	500	1,76E+04	8,78E-06	1,76E-04	2,80E-04	2,83E+03	1,77E-01
C1	1,12E+01	500	1,76E+04	8,78E-06	1,76E-04	2,80E-04	2,83E+03	1,77E-01
C2	1,12E+01	500	1,76E+04	8,78E-06	1,76E-04	2,80E-04	2,83E+03	1,77E-01
C3	1,12E+01	500	1,76E+04	8,78E-06	1,76E-04	2,80E-04	2,83E+03	1,77E-01
C4	1,09E+01	500	1,76E+04	8,78E-06	1,76E-04	2,80E-04	2,83E+03	1,77E-01
C5	9,50E+00	500	1,76E+04	8,78E-06	1,76E-04	2,74E-04	2,83E+03	1,77E-01
C6	8,39E+00	500	1,71E+04	8,57E-06	1,71E-04	2,30E-04	2,79E+03	1,79E-01
C7	7,27E+00	500	1,49E+04	7,46E-06	1,49E-04	1,77E-04	2,61E+03	1,92E-01
C8	5,59E+00	500	1,32E+04	6,59E-06	1,32E-04	1,35E-04	2,45E+03	2,04E-01
C9	4,47E+00	500	1,14E+04	5,71E-06	1,14E-04	8,81E-05	2,28E+03	2,19E-01
C10	3,35E+00	500	8,78E+03	4,39E-06	8,78E-05	5,47E-05	2,00E+03	2,50E-01
C11	2,35E+00	500	7,02E+03	3,51E-06	7,02E-05	4,75E-05	1,79E+03	2,80E-01
C12	1,45E+00	250	2,63E+03	1,32E-06	2,63E-05	3,32E-05	1,55E+03	1,62E-01
C13	8,39E-01	250	1,84E+03	9,22E-07	1,84E-05	1,37E-05	1,30E+03	1,93E-01
C14	2,80E-01	250	1,14E+03	5,71E-07	1,14E-05	7,58E-06	1,02E+03	2,45E-01
C15	1,21E+02	125	3,29E+02	1,65E-07	3,29E-06	1,26E-06	7,74E+02	1,62E-01
C16	1,12E+01	125	1,10E+02	5,49E-08	1,10E-06		4,47E+02	2,80E-01
TOTAL	--//--	7.000	1,84E+05	9,19E-05	1,84E-03	2,47E-03	3,59E+04	3,43E+00

A Figura 5 representa um ramo dendrítico equivalente modelado como uma sucessão de cilindros cujos diâmetros diminuem com a distância ao soma, terminando com um cilindro fechado.

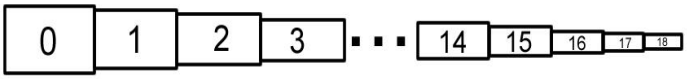

Figura 5: Estrutura geométrica de um dendrito equivalente de MN tipo FF e FR.

A Figura 6 representa os cinco dendritos equivalentes conectados ao soma, ao qual está conectado o segmento inicial (SI), destacando a ampliação geométrica do modelo a partir do trabalho de Vieira e Kohn (2007). Isso aumenta as possibilidades de testes e simulações com entrada sinápticas aplicadas em ramos e compartimentos diferentes.

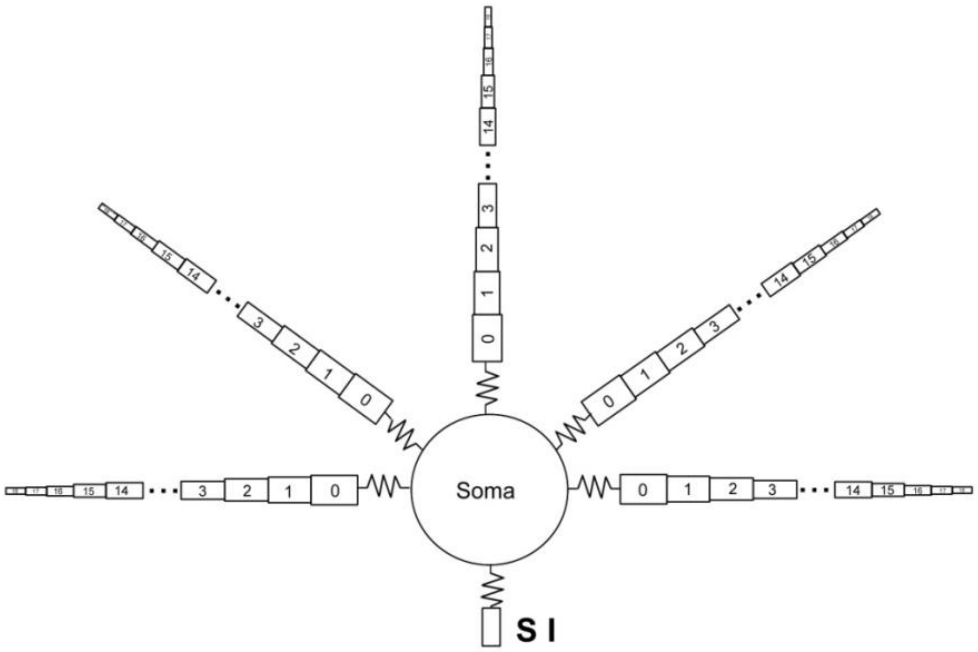

Figura 6: Representação geométrica dos modelos ampliados com 5 dendritos e 19 compartimentos que representam os motoneurônios do tipo FF e FR

A Figura 7 apresenta uma parte do circuito elétrico correspondente.

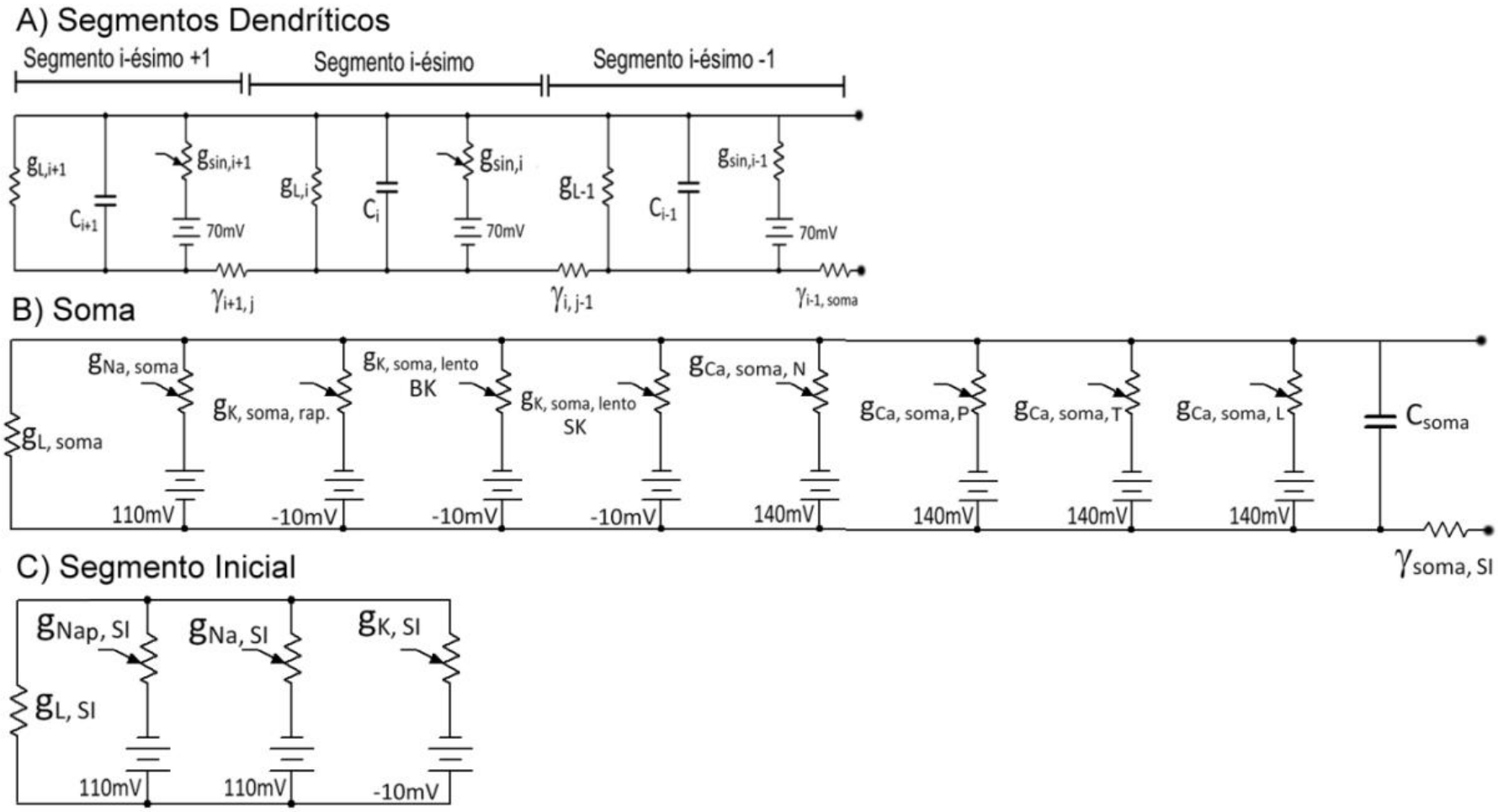

Figura 7: Uma parte do circuito elétrico correspondente. gL= condutância de fuga, gsin= condutância sináptica, γ = condutância de acoplamento entre compartimentos adjacentes, gK, gNa, gCa = condutâncias dos respectivos íons. As baterias representam os potencias de reversão

As condutâncias ativas, assim como no trabalho de Vieira e Kohn (2007), foram modeladas segundo o paradigma de Hodgkin-Huxley (HODGKIN; HUXLEY, 1952) e da forma como foram descritas por Traub (1977), Traub e Llinás (1977), Brodin et al. (1991), Booth, Rinzel e Kiehn, (1997), e Aradi e Holmes (1999).

Doze diferentes condutâncias foram modeladas no soma (acoplamento, fuga, sódio, potássio rápido *(delayed rectifier)*, potássio tipo BK, potássio tipo SK, potássio tipo A, hiperpolarizante, cálcio tipo N, cálcio tipo P, cálcio tipo L e cálcio tipo T), cinco no segmento inicial (fuga, acoplamento, sódio, potássio rápido *(delayed rectifier)*, sódio persistente) e três em cada compartimento dendrítico no modelo passivo (fuga, acoplamento e sináptica) e quatro em cada compartimento dendrítico no modelo ativo (fuga, acoplamento, sináptica e cálcio tipo L).

As condutâncias ativas no segmento inicial foram ajustadas para ter um limiar um pouco mais baixo que as no soma. A condutância para o sódio e a condutância rápida para o potássio são as mesmas para todos os tipos de motoneurônios, porém as condutâncias lentas para o potássio e as condutâncias para o cálcio foram ajustadas de forma diferente para os três tipos de motoneurônio a fim de fornecer as características próprias da AHP de cada um deles, tomando como base o trabalho de Zengel et al. (1985). As densidades para as condutâncias de sódio e rápida de potássio foram aquelas reportadas em trabalhos anteriores (TRAUB, 1977; TRAUB; LLINÁS, 1977).

A equação diferencial descrevendo o potencial de membrana no soma é:

$$C_m \frac{dV_{m[x]}}{dt} = \frac{V_{m[x]} - E_R}{R_{[x]}} + \sum_{ion} g_{ion[x]}\left(V_{m[x]} - E_{ion}\right) + \sum_{j} \frac{V_{m[x]} - E_y}{R_{[xy]}} + I_{inj}, \qquad \textbf{(1)}$$

na qual x se refere ao soma e y aos compartimentos adjacentes a ele; C_m é a capacitância total do soma; E_R o potencial de repouso da membrana; $g_{ion[x]}$, a condutância para um dado íon; E_{ion}, o potencial de equilíbrio de um dado íon; $E_{[y]}$, o potencial de membrana de um segmento adjacente ao soma; $R_{[xy]}$, a resistência axial entre os segmentos e I_{inj}, a corrente injetada. O potencial de membrana dos demais compartimentos foi descrito por equação semelhante, com as condutâncias ativas próprias de cada um deles.

O primeiro termo na equação (1) acima representa a corrente de fuga; o termo seguinte, a soma das correntes iônicas no soma. O terceiro termo representa a contribuição de corrente de segmentos adjacentes e o último termo representa a corrente injetada.

A resistência axial entre segmentos adjacentes, $R_{[xy]}$, foi calculada como a soma da metade da resistência axial de cada segmento adjacente:

$$R_{[xy]} = \frac{R_{[x]}}{2} + \frac{R_{[y]}}{2}, \quad \textbf{(2)}$$

e

$$R_{[x]} = \frac{R_{m[x]}.L_{[x]}}{\pi d_{[x]}^{\ 2}/4} \quad \textbf{(3)}$$

na qual $R_{m[x]}$ é a resistividade citoplasmática do segmento x em Ωcm, $L_{[x]}$ é o comprimento do segmento x em cm e $d_{[x]}$ é o diâmetro do segmento x em cm. A condutância de acoplamento, γ, entre estes segmentos foi então tomada como o inverso da resistência axial.

A equação para as correntes iônicas é descrita por:

$$I_{ion} = g_{Na}(V_m - E_{Na}) + (g_{Kf} + g_{BKs} + g_{SKs} + g_A + g_h)(V_m - E_K) + (g_{CaN} + g_{CaL} + g_{CaP} + g_{CaT})(V_m - E_{Ca}), \quad \textbf{(4)}$$

na qual $\overline{g}_{ion}$ são as condutâncias máximas para a corrente de sódio (Na), rápida de potássio (K_f), lenta de potássio tipo BK (BK_s), lenta de potássio tipo SK (SK_s), potássio A (A), hiperpolarizante (h), cálcio tipo N (CaN), cálcio tipo L (CaL), cálcio tipo P (CaP) e cálcio tipo T (CaT). A ativação e inativação das respectivas correntes são descritas por variáveis que dependem do tempo e do potencial de membrana. A dependência destas variáveis em relação ao tempo e ao potencial de membrana é descrita por:

$$\frac{d\,\mathrm{var}}{dt} = \alpha_{\mathrm{var}}(1 - \mathrm{var}) - \beta_{\mathrm{var}}\,\mathrm{var}, \quad \textbf{(5)}$$

na qual $\tau_{\mathrm{var}} = \frac{1}{\alpha_{\mathrm{var}} + \beta_{\mathrm{var}}}$ e $\mathrm{var}_{\infty} = \frac{\alpha_{\mathrm{var}}}{\alpha_{\mathrm{var}} + \beta_{\mathrm{var}}}$

A dinâmica do cálcio no soma foi calculada conforme Sala e Hernández-Cruz (1990), sendo incorporados o influxo e a extrusão do cálcio bem como dois sistemas de *buffers* com diferentes capacidades, mobilidades e cinética.

De forma semelhante ao descrito em Sala e Hernández-Cruz (1990), consideramos o soma como uma esfera e subdividida em *shells* (camadas) com distância fixa de 0,5µm entre si. A equação geral que calcula a difusão pode ser escrita como:

$$\frac{\delta(r[S])}{\delta t} = Ds \cdot (\delta^2 r[S])/\delta r^2 \quad \textbf{(6)}$$

onde S é a concentração de cálcio, Ds é o coeficiente difusão do cálcio e r é a distância ao centro da esfera.

Já os sistemas de *buffers* foram calculados tendo como prioridade o esquema cinético para cada tipo de *buffer:*

$$[C] + [B] \underset{k_-}{\overset{k_+}{\Leftrightarrow}} [C - B] \quad \textbf{(7)}$$

onde [C] é a concentração de cálcio livre, [B] é a concentração de moléculas de tamponamento (buffer), [C - B] é a concentração de moléculas de tamponamento ligadas a cálcio, k_+ e k_- são taxas de associação e dissociação, respectivamente.

Os dois buffers modelados podem ser descrito conforme as equações 8, 9 e 10

$$\Delta[C]^B_{(t+\Delta t)} = \{k_- \cdot [C - B]_{(t)} - k_+ \cdot [C]_{(t)} \cdot [B]_{(t)}\} \cdot \Delta t \quad \textbf{(8)}$$

$$\Delta[B]^B_{(t+\Delta t)} = \Delta C^B_{(t+\Delta t)} \quad \textbf{(9)}$$

$$\Delta[C - B]^B_{(t+\Delta t)} = \Delta[C]^B_{(t+\Delta t)} \quad \textbf{(10)}$$

O influxo do cálcio no soma é dado por:

$$\Delta[C](t) = -I_{Ca} \cdot \Delta t/(2FV) \quad \textbf{(11)}$$

Onde I_{ca} é a soma das correntes de cálcio tipo N e tipo P, F é a Constant de *Faraday* e V é o volume do compartimento.

A extrusão do cálcio do soma é dada por :

$$\Delta[C]^P_{(t+\Delta t)} = -\{v_{max} \cdot A \cdot \Delta t \cdot [C]_t\}/\{V \cdot ([C]_t + K_m)\} \quad \textbf{(12)}$$

onde v_{max} é a velocidade máxima de transporte, A é a área da célula, V é o volume do *shell e* K_m é a concentração meia saturação do cálcio.

3.2 Validação do modelo computacional

No intuito de validar o modelo proposto neste trabalho, os modelos de motoneurônio (Tipo S, FR e FF) foram submetidos a alguns testes e ajustados a fim de representar os valores reportados na literatura experimental. Os resultados apresentados a seguir correspondem ao modelo ampliado que foi utilizado para alcançar os objetivos propostos neste trabalho.

A Tabela 1 apresenta os resultados referente a AHP. A Tabela apresenta um comparativo com resultado da literatura reportados por Zengel et al. (1985), os valores dos novos modelos propostos por Vieira e Kohn (2007) e os ajustes do modelo ampliado proposto neste trabalho. Para que a comparação fosse a mais fiel possível foi utilizado um protocolo experimental semelhante ao utilizado por Zengel et al. (1985), com um pulso de corrente retangular de 50nA e 0,5 ms de duração aplicado no soma de cada modelo.

Tabela 5: Dados relativos à AHP

	Tipo S			**Tipo FR**			**Tipo FF**		
	Mag. (mV)	**Duração (ms)**	**½ Decaimento (ms)**	**Mag. (mV)**	**Duração (ms)**	**½ Decaimento (ms)**	**Mag. (mV)**	**Duração (ms)**	**½ Decaimento (ms)**
Zengel et al. 1985	4,9±0,6	161±14	44±2	4,3±0,4	78±4	22±1	3,0±0,2	65±2	18±0
Vieira, Kohn 2007	6,18	164,50	33,57	4,28	78,77	18,02	2,80	65,69	13,98
Modelos Ampliados	5,12	162,28	33,38	4,047	79,39	24,910	3,177	66,48	9,07

Já para levantar os valores referente a reobase, foi verificado o menor valor de corrente capaz de disparar ao menos um potencial de ação com aplicação de um pulso de duração de 50 ms.

A Tabela 2 apresenta os valores da reobase encontrados na literatura (ZENGEL et al. 1985), do modelo de Vieira e Kohn (2007) e dos modelos ampliados.

Tabela 6: Dados relativos à reobase

	Tipo S (nA)	**Tipo FR (nA)**	**Tipo FF (nA)**
Zengel et al. 1985	5,0 ± 0,3	12,0 ± 0,4	21,3 ± 0,5
Fleshman et al. 1981	5,1 ± 0,5	12,8 ± 0,6	19,7 ± 0,8
Vieira, Kohn 2007	3,024	8,20	19,09
Modelos Ampliados	3,01	8,30	18,92

A curva *f/I* foi levantada pela injeção de degraus de corrente de diferentes intensidades com duração de 2,0 segundos. A frequência de disparo foi obtida pelo inverso da média dos intervalos entre os potenciais de ação no período compreendido entre 800 e 1800 ms. A tabela 3 mostra os resultados alcançados e os reportados na literatura por BALDISSERA; CAMPADELLI; PICCINELLI, 1984.

Tabela 7: Dados relativos à relação *f/I*

	Tipo S (imp/s/nA)	**Tipo FR (imp/s/nA)**	**Tipo FF (imp/s/nA)**
BALDISSERA; CAMPADELLI; PICCINELLI, 1984	--//--	0,5 a 1,7	0,5 a 1,7
VIEIRA; KOHN, 2007	0,91	1,05	1,42
Modelo Ampliado	1,02	1,17	1,34

Diversos são os fatores que influenciam a resposta repetitiva do motoneurônio. Entre eles, a AHP é um dos principais determinantes das características dessa resposta repetitiva. A frequência mínima de disparo do motoneurônio (f_0) é aproximadamente igual ao inverso da duração da AHP (KERNELL, 1965b). Sendo assim, motoneurônios tipo S, que possuem AHP de longa duração, disparam a frequências mínimas menores que motoneurônios tipo FR e tipo FF. Além disso, as frequências de disparos no final da faixa primária e faixa secundária também estão correlacionadas com o inverso da duração da AHP (KERNELL, 1965b) e a inclinação da curva *f/I* é inversamente proporcional à magnitude da AHP (VIANA; BAYLISS; BERGER, 1993). Outros fatores que influenciariam a resposta repetitiva do motoneurônio seriam a presença de correntes persistentes e variações no limiar de

disparo resultantes de propriedades de acomodação dos canais de sódio, provavelmente, do segmento inicial (POWERS, 1993; SCHWINDT, 1982).

4 Simulações

Os modelos foram escritos em linguagem C++ utilizando o *software* Visual Studio 9.0[1], e as simulações foram implementadas em ambiente Windows[2], em um computador desktop, Core2Quad, 2.4 GHz e 4 GB de memória.

Partindo dos modelos desenvolvidos por Vieira e Kohn (2007), expandimos o número de dendritos, aperfeiçoamos o cálculo da concentração de cálcio e as correntes de potássio dependentes de cálcio, acrescentamos os canais de cálcio persistentes e sinapses excitatórias e inibitórias nos compartimentos dendríticos. As equações, num total de 751 equações, foram integradas numericamente utilizando o algoritmo de Runge-Kutta de quarta ordem com passo fixo de 0,01 ms.

A Figura 8 apresenta o diagrama esquemático que ilustra a estrutura do programa desenvolvido em C++. Entretanto, algumas alterações no programa principal são necessárias para a simulação de protocolos experimentais, alterações essas que foram feitas conforme a necessidade para a simulação destes protocolos.

[1] Microsoft Visual Studio 2008 – Copyright © 2007- Microsoft Corporation

[2] Microsoft Windows XP – Copyright © 1981-2007 Microsoft Corporation

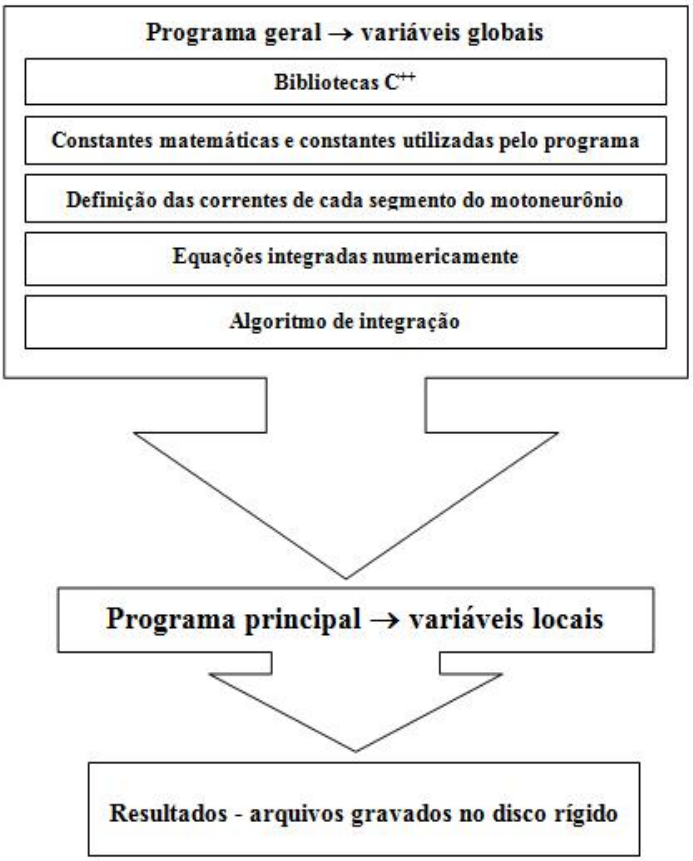

Figura 8: Diagrama esquemático dos blocos que compõem o modelo desenvolvido em C++

O *software* Visual Studio gera, a partir do código fonte, um programa executável que pode ser chamado diretamente por meio de um arquivo em lote com extensão .bat, no qual temos a opção de variar a amplitude das correntes injetadas, a duração dos pulsos, os locais de aplicação destes ou outros estímulos dependendo do protocolo experimental simulado. Quando este programa é executado, produz-se outro arquivo com formato .txt no qual são armazenados os dados de interesse, como potencial da membrana, corrente que alcança o soma e outros, que são posteriormente processados por meio de rotinas desenvolvidas em Matlab.

4.1 Verificações das diferenças funcionais entre sinapses proximais e distais (Modelo Passivo)

Motoneurônios α (alfa) fazem transdução de correntes sinápticas em séries de impulsos nervosos discretos. Alguns aspectos básicos da transdução têm sido descobertos por injeção de correntes intracelulares despolarizantes (BALDISSERA; CAMPADELLI; PICCINELLI, 1984). Estudos têm mostrado que esta transdução tem

sido útil para explicar diversas diferenças funcionais que ocorrem nos motoneurônios. Em resposta a uma determinada corrente em degrau MNs geram disparos, cuja frequência é proporcional à intensidade da corrente. Além disso, é possível variar a forma da corrente (corrente em rampa, corrente senoidal), a velocidade com que a corrente é injetada, o instante de aplicação e a frequência instantânea. A partir dessas possibilidades, procuraremos compreender as diferenças que ocorrem entre as entradas sinápticas próximas do soma e as mais distantes.

Entradas sinápticas geram potencias excitatórios pós-sinápticos (PEPS) que são somados a fim de produzir uma resposta. Depois de gerado o PEPS, mesmo que em locais diferentes, eles não se somam linearmente e sofrem um decaimento devido às propriedades de cabo do dendrito que provocam a diminuição da corrente sináptica por causa dos canais de fuga (vazamento), e as variações do potencial de membrana. Caso a somatória das correntes do PEPS consiga alcançar o soma e seja suficiente para alcançar o limiar da célula, provoca o potencial de ação. O potencial de ação se propaga para o axônio, a partir do qual alcança outras partes do sistema nervoso.

Para a verificação das diferenças funcionais entre as sinapses proximais e distais foram aplicadas entradas sinápticas senoidais puras subliminares de 0,05 a 500Hz (0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 1; 5; 10; 15; 20; 30; 40; 50; 75; 100; 150; 200; 300 e 500Hz). Dois protocolos diferentes foram utilizados, um no qual se variou a corrente sináptica e outro no qual se variou condutância sináptica, a fim de verificar a influência do potencial de membrana. As entradas sinápticas foram injetadas nos compartimentos 0, 1, 6, 11 e 17 nos MNs tipo FF e FR, e nos compartimentos 0, 5, 12 e 17 no MN tipo S. Esses compartimentos foram escolhidos aleatoriamente.

Para que os dados obtidos fornecessem uma base de análise confiável por meio da *FFT*, estes foram levantados com pelo menos 20 ciclos, o que, para frequências mais baixas, gerou um tempo simulado de processamento superior a 120 ms.

Para que fosse possível o uso dos dois protocolos, variando a corrente e variando a condutância sináptica, as entradas sinápticas foram igualadas pico a pico para possibilitar as comparações das diferenças funcionais entre os protocolos. Dessa forma, foi necessário escolher uma determinada condutância fixa para o protocolo em que se variou a condutância, aplicá-la nos compartimentos dendríticos selecionados e analisar a amplitude da corrente sináptica nestes. Em seguida foi ajustada a corrente

sináptica no protocolo que se variou a corrente para que o valor do pico fosse igual ao valor do protocolo em que se variou a condutância.

A Tabela 8 mostra os valores ajustados e destaca os compartimentos usados em ambos os protocolos. É importante lembrar que o modelo tipo S é composto por cinco ramos dendríticos com 17 compartimentos cada, ao passo que os modelos tipo FF e FR possuem ramos dendríticos com 19 compartimentos cada. A diferença na quantidade de compartimentos e a forma como os modelos foram construídos, justificam-se pelas características geométricas de cada tipo de motoneurônio (FLESHMAN; SEGEV; BURKE, 1988).

Tabela 8: Ajustes dos protocolos - variando corrente e variando condutância

Compartimento dendrítico	Frequência	Motoneurônio Tipo FF		Motoneurônio Tipo FR		Motoneurônio Tipo S	
		Condutância (mS) sináptica	Corrente (µA) sináptica	Condutância (mS) sináptica	Corrente (µA) sináptica	Condutância (mS) sináptica	Corrente (µA) sináptica
0	10Hz	$5.0e^{-5}$	$30.76e^{-4}$	$3.0e^{-5}$	$1.84e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$6.71e^{-4}$
1	10Hz	$5.0e^{-5}$	$27.61e^{-4}$	$3.0e^{-5}$	$1.80e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$6.43e^{-4}$
2	10Hz	$5.0e^{-5}$	$25.48e^{-4}$	$3.0e^{-5}$	$1.76e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$6.25e^{-4}$
3	10Hz	$5.0e^{-5}$	$23.89e^{-4}$	$3.0e^{-5}$	$1.73e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$6.12e^{-4}$
4	10Hz	$5.0e^{-5}$	$22.59e^{-4}$	$3,0e^{-5}$	$1.71e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$6.02e^{-4}$
5	10Hz	$5.0e^{-5}$	$21.33e^{-4}$	$3.0e^{-5}$	$1.67e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$5.93e^{-4}$
6	10Hz	$5.0e^{-5}$	$19.95e^{-4}$	$3.0e^{-5}$	$1.63e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$5.82e^{-4}$
7	10Hz	$5.0e^{-5}$	$18.39e^{-4}$	$3.0e^{-5}$	$1.56e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$5.68e^{-4}$
8	10Hz	$5.0e^{-5}$	$16.48e^{-4}$	$3.0e^{-5}$	$1.48e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$5.48e^{-4}$
9	10Hz	$5.0e^{-5}$	$14.77e^{-4}$	$3.0e^{-5}$	$1.39e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$5.20e^{-4}$
10	10Hz	$5.0e^{-5}$	$13.38e^{-4}$	$3.0e^{-5}$	$1.30\ e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$4.77e^{-4}$
11	10Hz	$5.0e^{-5}$	$11.69e^{-4}$	$3.0e^{-5}$	$1.20e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$4.14e^{-4}$
12	10Hz	$5.0e^{-5}$	$9.84e^{-4}$	$3.0e^{-5}$	$1.08e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$3.50e^{-4}$
13	10Hz	$5.0e^{-5}$	$7.91e^{-4}$	$3.0e^{-5}$	$9.48e^{-4}$	$1.0e^{-5}$	$2.83e^{-4}$
14	10Hz	$5.0e^{-5}$	$6.10e^{-4}$	$3.0e^{-5}$	$7.84e^{-4}$	$1.0e^{-5}$	$1.89e^{-4}$
15	10Hz	$5.0e^{-5}$	$4.41e^{-4}$	$3.0e^{-5}$	$5.99e^{-4}$	$1.0e^{-5}$	$1.14e^{-4}$
16	10Hz	$5.0e^{-5}$	$2.78e^{-4}$	$3.0e^{-5}$	$3.83e^{-4}$	$1.0e^{-5}$	$3.34e^{-5}$
17	10Hz	$5.0e^{-5}$	$1.27e^{-4}$	$3.0e^{-5}$	$1.96e^{-4}$	--//--	--//--
18	10Hz	$5.0e^{-6}$	$2.63e^{-4}$	$3.0e^{-5}$	$0.78e^{-4}$	--//--	--//--

Observamos, na Tabela 8, que os valores da corrente sináptica são decrescentes à medida que afastamos do soma. Isso ocorre devido à diminuição da área da superfície dos compartimentos com a distância ao soma e consequentemente diminuindo, também, a corrente de fuga.

Na sequência, discutimos os protocolos utilizados.

A equação (13) abaixo descreve a entrada sináptica:

$$I_{\text{sin}}(t) = g_{\text{sin}}(t) * (V_m - E_{\text{sin}}).$$

(13)

Ela descreve a corrente sináptica $I_{sin}(t)$ que pode ser produzida em cada segmento dendrítico dos modelos, na qual g_{sin} é a condutância sináptica, V_m é o potencial da membrana e E_{sin} é o potencial de reversão da corrente sináptica.

A condutância sináptica é descrita conforme a equação (14), que descreve uma função alfa:

$$g_{sin} = g_{\max} t^{\alpha} e^{-\alpha t/\tau}. \quad \textbf{(14)}$$

onde g_{max} é a condutância sináptica máxima, τ é a constante de tempo na qual o pico da função é alcançado no instante τe^{α}.

O que se fará neste trabalho é substituir a condutância g_{sin} descrita acima por uma senóide pura do tipo:

$$g_{sin}(t) = A\cos(\omega_0 t), \quad \textbf{(15)}$$

na qual A é a amplitude da senóide e $\omega_0 = 2\pi f$ é a frequência angular da senóide. Com este procedimento, produz-se uma entrada sináptica com variação senoidal na condutância sináptica (Figura 9 – A - aqui a corrente será aproximadamente senoidal porque ainda mantém uma dependência do potencial de membrana).

Comparamos também os resultados obtidos com a modelagem acima, na qual se produziu uma variação na condutância sináptica, com uma modelagem em que será produzida uma variação na corrente (Figura 9 – B). Para isto, eliminamos sua dependência com o potencial de membrana (V_m) do respectivo segmento dendrítico:

$$I_{sin}(t) = g_{sin}(t) * (-E_{sin}). \quad \textbf{(16)}$$

A condutância será descrita como na equação (15).

O ganho e a fase da corrente de acoplamento entre o soma e o segmento inicial (corrente efetiva) foram obtidos via *FFT (Fast Fourier Transform)* por meio de rotina desenvolvida no Matlab[3], como explicado anteriormente. Em seguida, a frequência de corte foi calculada pelos critérios de -1dB, -3 dB e -20dB.

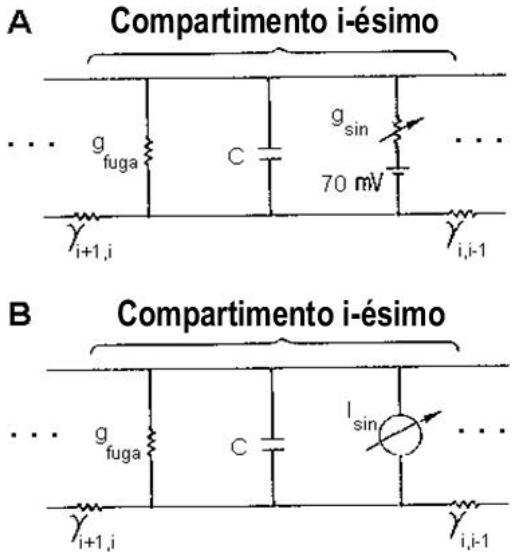

Figura 9: Circuito elétrico equivalente de um segmento dendrítico dos novos modelos mostrando os dois protocolos de simulação para estudar as propriedades sinápticas. A – a condutância sináptica varia senoidalmente. B – a corrente sináptica varia senoidalmente. γ representa a condutância de acoplamento entre os compartimentos adjacentes, C é a capacitância do compartimento em questão e a bateria representa o potencial de reversão da sinapse.

4.2 Verificações das diferenças funcionais com modelagem de canais persistentes de cálcio tipo L (Modelo Ativo)

Estudos recentes têm mostrado que, em motoneurônios, as ativações de condutâncias dendríticas ativas nos dendritos podem amplificar entradas sinápticas e produzir potenciais de platô. A existência de potenciais platô pode ser responsável por inúmeras situações úteis e funcionais no controle do movimento. Os potenciais platôs em motoneurônios reduzem a necessidade de uma atividade contínua de excitação

[3] Matlab 2008 Version 7.6 (R2008a) Copyright© 1984-2008 The Mathworks

sináptica durante a manutenção de contrações musculares (KIEN, 1991). Tal mecanismo poderia ser útil em músculos posturais, nos quais parte de uma atividade sináptica contínua seria substituída por propriedades da membrana para disparos autossustentados de potenciais de ação.

Estudos imunohistoquímicos e computacionais tem atribuído aos canais persistentes de Ca tipo L uma contribuição na amplificação de entradas sinápticas e sugerido que esses canais podem estar agrupados em regiões específicas (*clusters* ou *hot spots*) nos dendritos (CARLIN et al. 2009).

Jones et al. (2000) apontam três evidências da existência de canais de cálcio tipo L (*low voltage activation – LVA - calcium channels*) nos dendritos de motoneurônios:

- Classificação por imunohistoquímicos de subunidades alpha-1D de canais de cálcio na membrana dendrítica.
- Evidências eletrofisiológicas de correntes em regiões dentro do espaço de grampeamento da membrana.
- Modelos de motoneurônios compartimentais confirmam especulações baseadas na eletrofisiologia.

Diversos estudos e muitos experimentos em vários tipos de animais com diferentes preparações podem ser encontrados na literatura. Trabalhos desenvolvidos com motoneurônio de gatos, motoneurônios de tartarugas (HOUNSGAARD; KIEHN, 1989), porcos da índia (HSIAO *et at.*, 1998), camundongos (REKLING; FELDMAN, 1997) e caranguejos (ZHANG; WOOTTON; HARRISWARRICK, 1995) tem indicado, apesar das diferenças entre as espécies, os canais de cálcio como responsáveis, pelo menos em parte, pela geração da corrente de entrada persistente nos motoneurônios. Os primeiros a reportarem corrente persistente em motoneurônios de espinhas de gato foram Schwindt e Crill (1980), cujo trabalho sugere que essa corrente é gerada principalmente por canais persistentes de Ca^{2+} do tipo L.

Biestabilidade é um fenômeno do comportamento de motoneurônios que causa maior excitabilidade e pode ser observado através da ativação do motoneurônio por uma entrada sináptica excitatória. Uma vez que esta corrente excitatória é interrompida, observa-se que o motoneurônio continua disparando potenciais de ação de forma autossustentada devido à presença da PIC que decai de forma bastante lenta. Esses disparos autossustentados só são interrompidos quando uma entrada sináptica

inibitória hiperpolariza suficientemente a membrana do MN, desativando as condutâncias iônicas voltagem-dependentes (HOUNSGAARD et al., 1988, KIEHN; EKEN, 1998).

Embora não seja comum encontrar motoneurônios naturalmente biestabilidade (menos de 10% dos motoneurônios) (HECKMAN; LEE, 2001), existem facilitadores naturais do sistema nervoso que contribuem para que os motoneurônios se tornem biestáveis. Esses facilitadores são neuromoduladores, mais especificamente, as monoaminas, serotonina e norepinefrina, que são liberadas, sobretudo, pelo tronco encefálico e conduzidas por axônios até os motoneurônios. Os neuromoduladores podem modificar o comportamento elétrico dos motoneurônios e, de forma geral, tendem a aumentar a excitabilidade deles (REKLING et al. 2000).

Quando se realizam experiências com animais anestesiados, a liberação de serotonina, por exemplo, é bloqueada, fazendo com que não haja ou que dificilmente aconteça o comportamento biestável. Por isso, nas experiências realizadas *in vivo* para se investigar a biestabilidade, são utilizados animais descerebrados e muitas vezes se aplicam doses extras de serotonina (5-HT), ou outras substâncias que facilitam a obtenção do comportamento biestável.

Segundo Heckman et al. (2008), a corrente de entrada persistente (PIC - *Persistent Inward Current*) é gerada por condutâncias voltagem-dependentes de Na^{+} e Ca^{++} do tipo L. Sua ativação promove despolarização sustentada do potencial de membrana (HECKMAN, LEE, 2001). Além dos fenômenos de biestabilidade e potencial platô, outros fenômenos relativos à presença da PIC nos motoneurônios têm sido observados, como é o caso da amplificação da corrente sináptica. Uma possível hipótese é que as propriedades ativas dos dendritos, com os canais persistentes de Ca tipo L, sejam responsáveis pela amplificação sináptica, podendo contribuir ou até mesmo igualar a eficácia das sinapses ao longo da arborização dendrítica, ou seja, uma possível solução frente às propriedades de cabo do dendrito, nas quais sinapses muito distantes do soma pouco efeito teriam na geração do potencial de ação.

A fim de verificar a contribuição dos canais persistentes de cálcio do tipo L, modelamos e depois parametrizamos as condutâncias dos canais de cálcio nos dendritos para verificar as diferenças funcionais em relação ao modelo passivo. A distribuição dos canais ativos, somada às propriedades elétricas passivas ou estrutura eletrotônica, afeta a função integrativa dos dendritos. Quando ativadas, as correntes

através destes canais podem alterar a amplitude e o curso temporal das entradas sinápticas e, sob certas condições, até mesmo gerar potenciais regenerativos do tipo tudo ou nada.

Os canais ativos de corrente de entrada persistente foram modelados nos dendritos conforme a literatura (BOOTH; RINZEL; KIEHN, 1997; ELBASIOUNY; BENNETT; MUSHAHWAR, 2005). A condutância da PIC é descrita conforme a equação (17). A equação (18) descreve a curva infinita de ativação da condutância de Ca.

$$I_{Cal} = \bar{g}_{Cal} \cdot l \cdot (V_m - E_{Ca}) \quad \textbf{(17)}$$

$$E_{Ca} = 60mv$$

$$\tau_l = 60ms$$

$$l_\infty = 1/\{e^{[(V_m+27)/-6]} + 1\} \quad \textbf{(18)}$$

$$\frac{dl}{dt} = \frac{l - l_\infty}{\tau_l} \quad \textbf{(19)}$$

A Figura 10 mostra parte do circuito elétrico que representa o dendrito com a condutância ativa de Ca^{2+}.

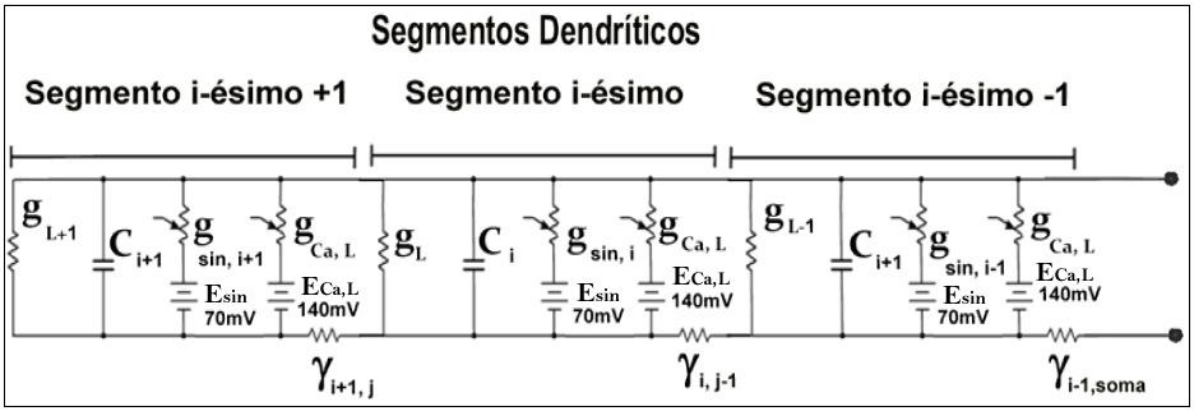

Figura 10: Segmentos dendríticos com condutância de Ca^{2+}. g_L representa a condutância de fuga do compartimento em questão, γ representa a condutância de acoplamento entre os compartimentos adjacentes, C é a capacitância do compartimento e a bateria representa o potencial de reversão dos íons .

Nem todos os motoneurônios têm capacidade igual para o comportamento biestável (HOUNSGAARD; MINTZ, 1988; LEE; HECKMAN, 1996).

Lee e Heckman (1998a), ao estudar a biestabilidade em motoneurônios *in vitro*, classificaram os MN como totalmente biestáveis ou parcialmente biestáveis, por meio de vários parâmetros como a curva condutância de entrada versus a reobase, conforme mostra a Figura 11, a curva IV e a curva FI.

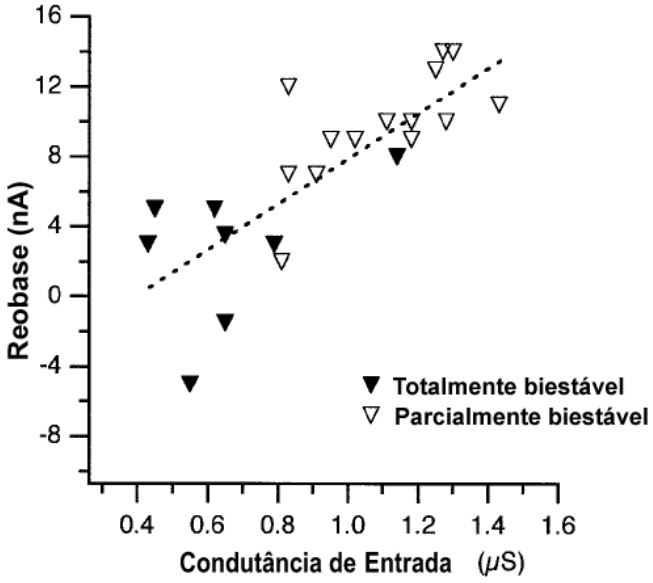

Figura 11: Reobase versus condutância de entrada para células totalmente e parcialmente biestáveis. (▼) Células totalmente biestáveis; (∇) Células parcialmente biestáveis. Adaptado de Lee e Heckman (1998a)

Nosso modelo ampliado apresenta a condutância de entrada de 0,24µS para o MN tipo S e de 0,53µS para o tipo FR. Dessa forma, parametrizaremos o tipo S como sendo totalmente biestável e o tipo FR parcialmente biestável.

Devido à excitabilidade, a bi-estabilidade e os potenciais de platô são observados geralmente em MN do tipo S, e, alguns casos, MN do tipo FR. Portanto, neste trabalho fazemos a parametrização desses modelos. Como nosso interesse é verificar a contribuição das correntes dendríticas ativas na amplificação sináptica buscamos inicialmente a parametrização apenas por meio da análise da curva I-V (corrente *versus* potencial da membrana).

A ativação da corrente de entrada persistente (PIC) é evidenciada na região de condutância negativa na relação I-V, que apresenta um formato característico em N. Segundo Lee e Heckman (1998a), existem diferenças entre os disparos de células totalmente e parcialmente biestáveis e essas características ocorrem principalmente devido às diferenças observadas nas curvas I-V e, consequentemente, na PIC. Uma representação típica da relação I-V é apresentada na Figura 12.

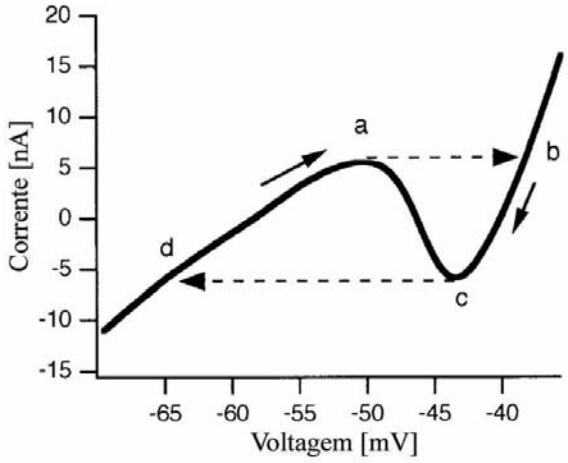

Figura 12: – Curva I-V típica de um MN. As linhas tracejadas indicam os saltos de voltagem que tendem a ocorrer devido à região de condutância negativa. Um aumento de corrente na fase ascendente levaria o ponto **a** direto para o ponto **b**, enquanto para um decréscimo de corrente o ponto **c** tenderia a saltar para o ponto **d**. Com isso, para um mesmo valor de corrente nos pontos **a** ou **c**, dois potenciais de membrana seriam possíveis, conferindo à célula um comportamento biestável. Adaptado de Lee e Heckman (1998a)

A parametrização consistiu em modelar a condutância de Ca^{2+} do tipo L, que foi inserida nos compartimentos dendríticos, de acordo com a literatura (LEE; HECKMAN, 1998a), levantar a curva I-V com diferentes valores de condutância máxima de cálcio e verificar qual curva I-V produzida que melhor se aproxima dos valores descrito na literatura (LEE; HECKMAN, 1998a).

Para levantar a curva I-V utilizou-se o protocolo proposto por Lee e Heckman (1999), no qual o potencial da membrana no soma foi variado desde o repouso até 40mV em dez segundos, ou seja, com uma taxa de subida de 4mV/s, em seguida, na mesma simulação, retornou-se o potencial de membrana de 40mV até o repouso novamente em dez segundos. Registramos, ao longo deste protocolo, a corrente que alcança. Depois, em uma região subliminar, fizemos um ajuste de reta para obter uma estimativa da corrente de fuga, que foi subtraída da corrente total. Desta forma, calculamos a corrente persistente oriunda dos canais de cálcio.

A Figura 13 mostra o grampeamento do soma de acordo com protocolo proposto e utilizado. Essa variação lenta do potencial de membrana permite supor que o modelo está operando como se estivesse em regime permanente.

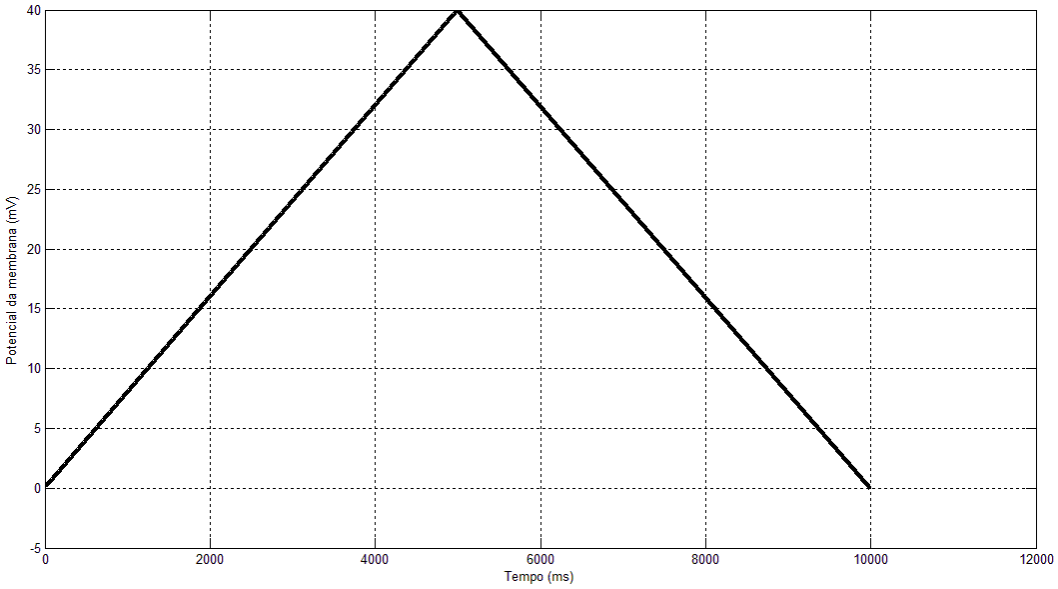

Figura 13: Potencial de membrana do soma. Protocolo utilizado para levantar a curva I-V

A Figura 14 é um exemplo de uma curva I-V com destaques nos pontos que a parametrizam: V_{on} é o ponto em que a corrente de entrada persistente é ligada, V_{off} em que a corrente de entrada persistente é desligada e a região subliminar que é usada para calcular a corrente de fuga.

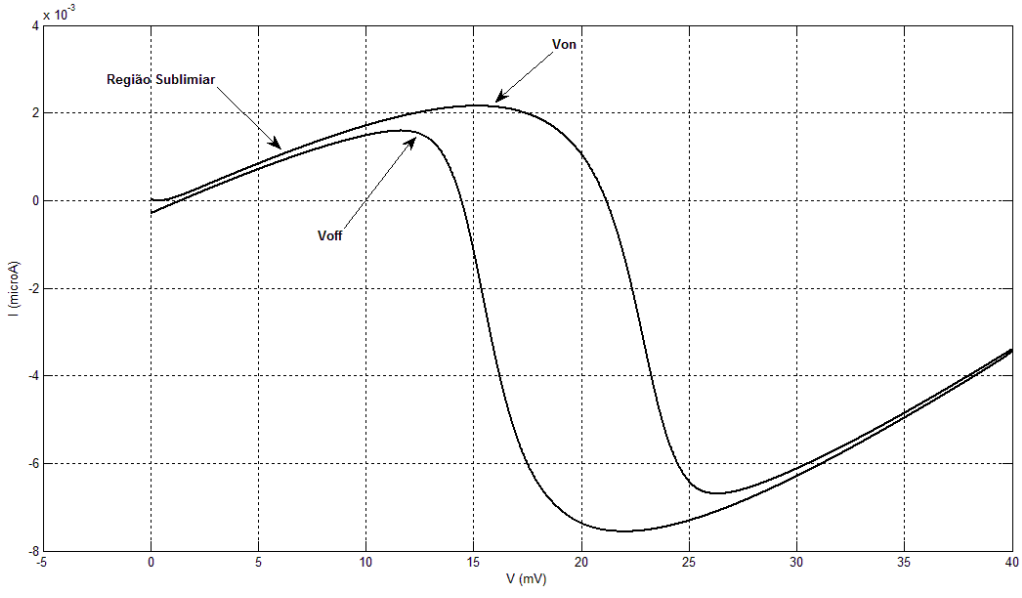

Figura 14: Exemplo da relação curva I-V

A Figura 15 mostra a estimativa feita por meio de uma regressão linear da região subliminar da curva I-V para calcular a corrente de fuga.

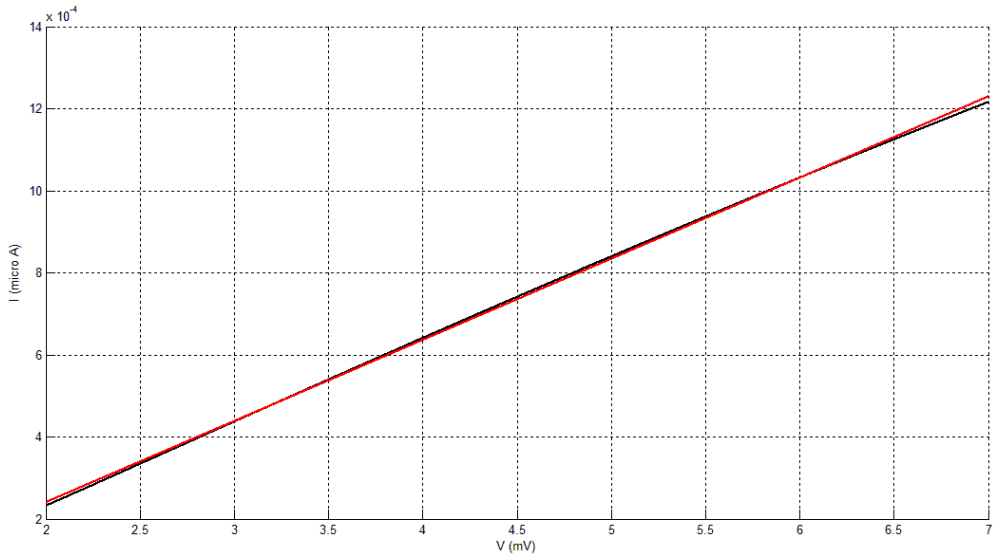

Figura 15: Ajuste de curva - Região subliminar. Em vermelho, a estimativa feita por meio da regressão linear e em preto a região subliminar da curva I-V.

A Figura 16 mostra a corrente efetiva após a subtração da corrente de fuga, destaca também dois pontos que são usados como parâmetros: o I_{pic} que é magnitude valor da corrente persistente de entrada e o I_{sus} que é valor da corrente sustentada.

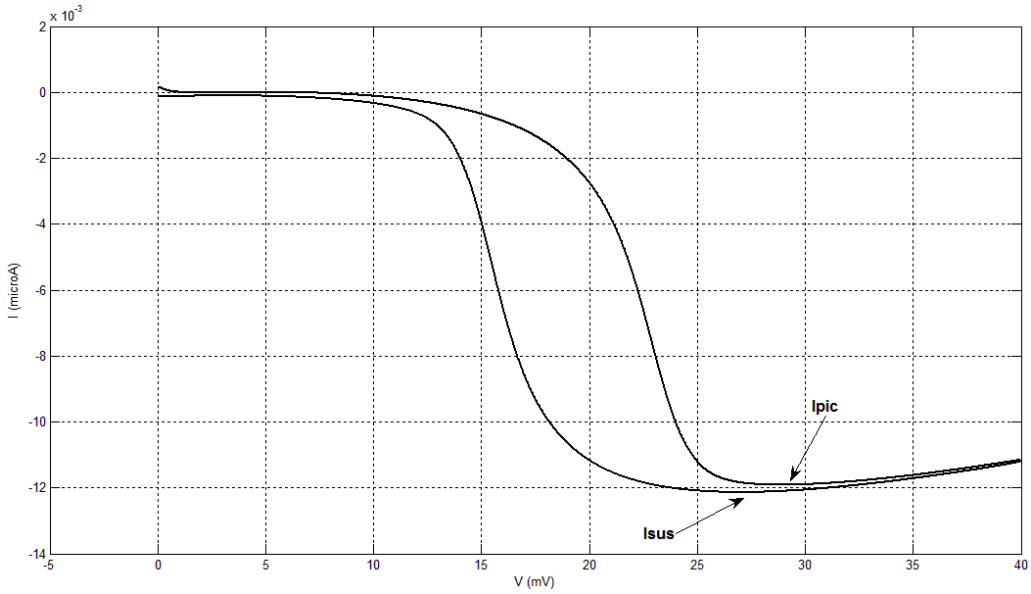

Figura 16: Corrente efetiva.

Para calcular a densidade de canais de cálcio persistentes, utilizamos dados da literatura que fornecem esta densidade em relação ao comprimento eletrotônico do dendrito (ELBASIOUNY; BENNETT; MUSHAHWAR, 2005). O comprimento eletrotônico total do dendrito é dado pela equação (20).

$$L_{elet} = \frac{\ell}{\lambda} \quad \textbf{(20)}$$

Onde ℓ é o comprimento e $\boldsymbol{\lambda}$ é a constante do comprimento eletrotônico. A Figura 17 representa um ramo dendrítico do nosso modelo (motoneurônio tipo S) com o comprimento de cada compartimento e o comprimento eletrotônico ao longo do dendrito.

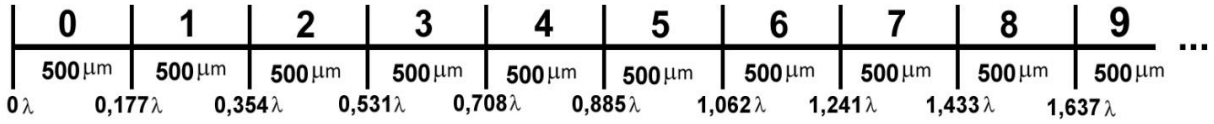

Figura 17: Comprimento eletrotônico e distância entre os compartimentos – motoneurônio tipo S

Elbasiouny, Bennett e Mushahwar (2005), a partir de simulações computacionais em modelos compartimentais (em motoneurônios do tipo FR), com características computacionais desenvolvidos no pacote NEURON, sugerem uma melhor distribuição espacial dos canais persistentes de Ca^{++} do tipo L. Segundo eles, a melhor distribuição espacial estaria localizada em um faixa intermediária no dendrito, cerca de 300-850µm (0,62 ± 0,21λ) do soma em motoneurônios. Em nosso modelo, isso representaria a localização entre os compartimentos 2 ao 4 (0.62 ± 0,26λ) para o MN tipo S e, entre os compartimentos 3 ao 5 (0,625 ± 0,215λ), para o MN tipo FR.

O modelo expandido nos permitia fazer 16! combinações se fossemos testar todas combinações possíveis, sem considerar as possibilidades para variação do valor da condutância. Outra possibilidade seria testar apenas variações de um compartimento. Dessa forma, esse número reduziria para 4.368 combinações, sem considerar as possibilidades para variação do valor da condutância. Devido ao grande volume de processamento, optamos por analisar dez casos nos quais variamos a condutância entre 0.75×10^{-5} mS a 7.00×10^{-5}mS.

As análises dos dez casos estudados são representadas nas Figuras 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 e 28. As variações das cores nas Figuras indicam a mudança no valor da condutância da corrente sináptica, conforme a legenda na Figura 18.

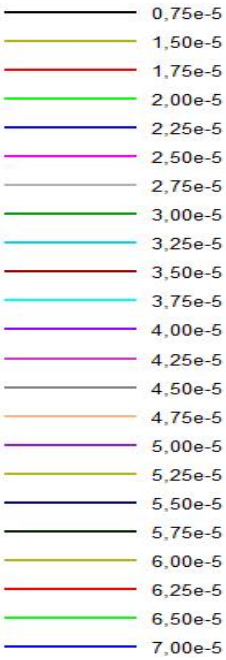

Figura 18: Legenda das figuras 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28 e 29

Caso 0 - Condutância apenas no compartimento zero (Tipo S: 0,09 ± 0,09λ e Tipo FR: 0,07± 0,7λ).

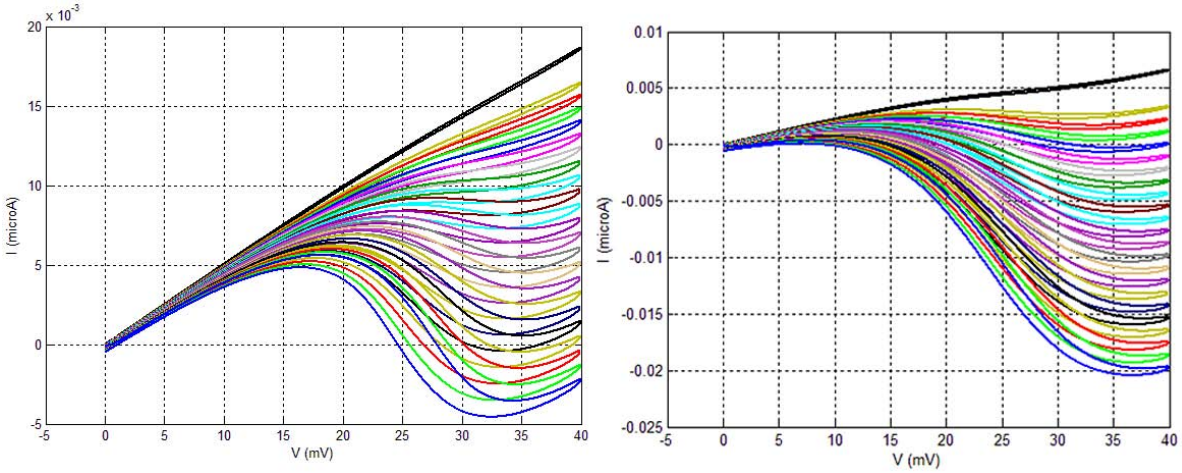

Figura 19: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de 0,75x10^{-5} a 7,0x10^{-5}. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 0

Caso 1 - Condutância apenas no compartimento um (Tipo S: 0,27 ± 0,09λ e Tipo FR: 0,21 ± 0,07λ).

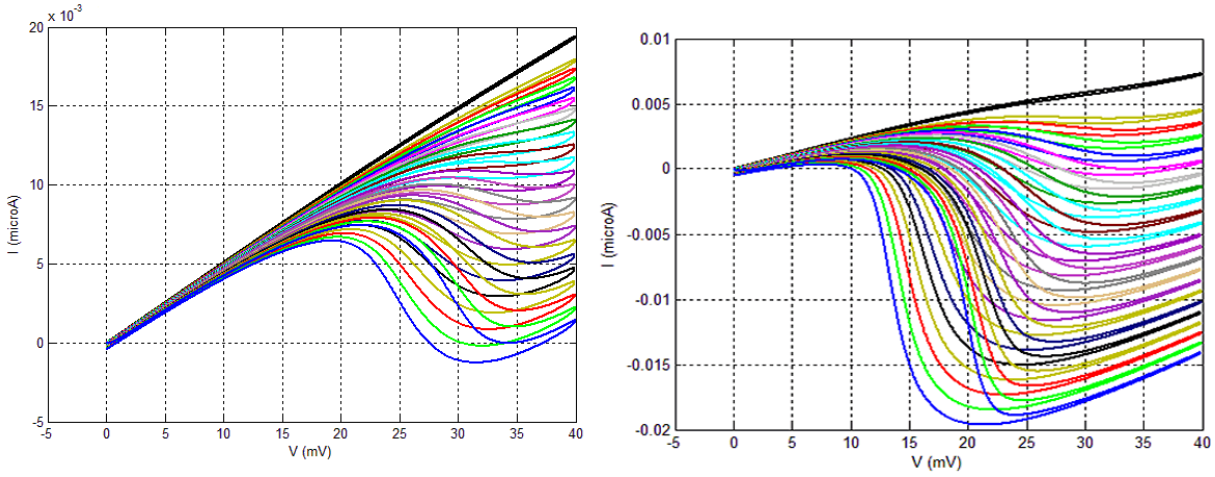

Figura 20: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de $0{,}75x10^{-5}$ a $7{,}0x10^{-5}$. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 1

Caso 2 - Condutância apenas no compartimento dois (Tipo S: 0,44 ± 0,09 λ e Tipo FR: 0,35 ± 0,07λ).

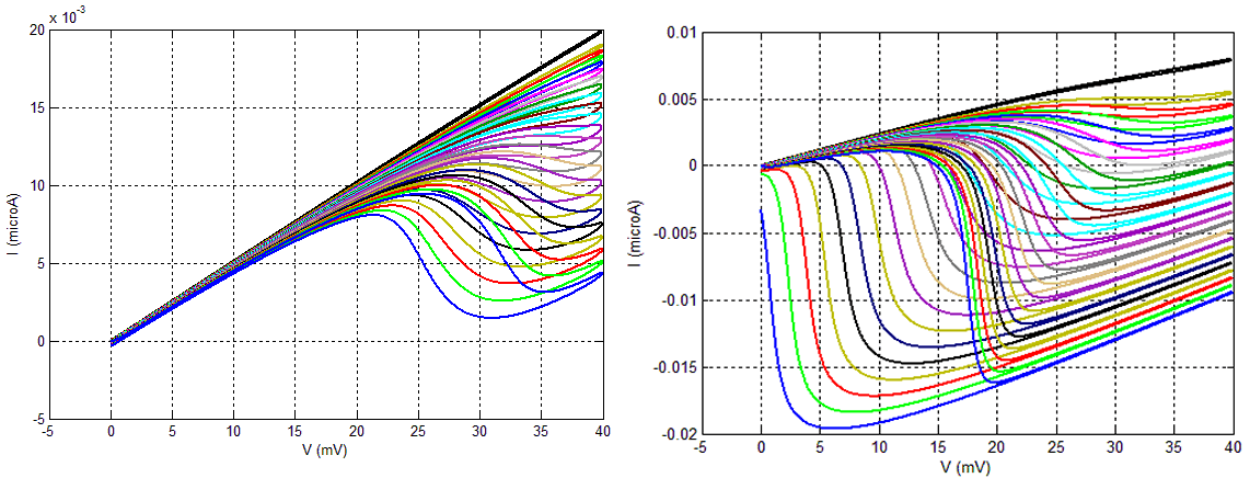

Figura 21: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de $0{,}75x10^{-5}$ a $7{,}0x10^{-5}$. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 2

Caso 3 - Condutância apenas no compartimento três (Tipo S: 0,62 ± 0,09 λ e Tipo FR: 0,49 ± 0,07λ).

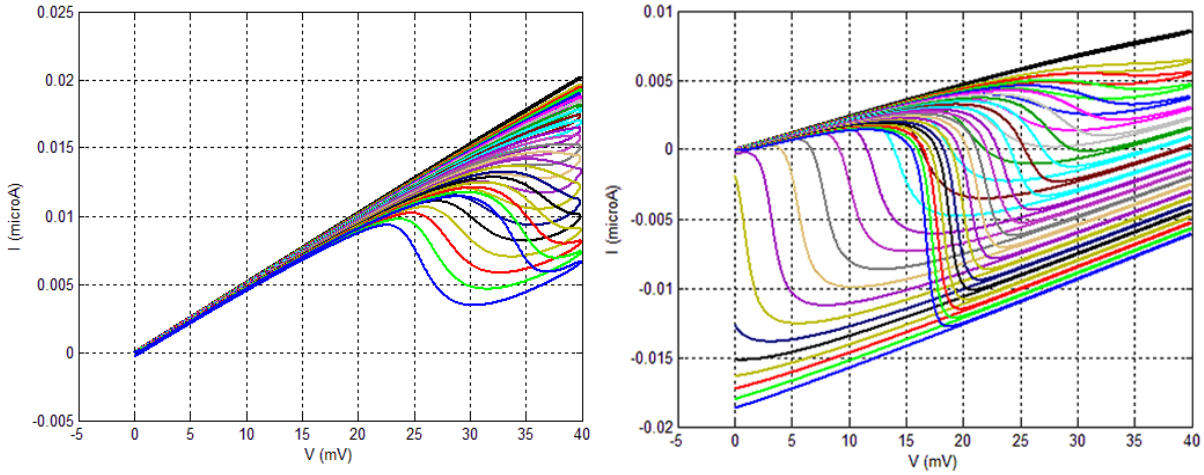

Figura 22: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de $0{,}75x10^{-5}$ a $7{,}0x10^{-5}$. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 3

Caso 4 - Condutância nos compartimentos um, dois e três – distribuição uniforme (Tipo S: 0,445 ± 0,265 λ e Tipo FR: 0,35 ± 0,21λ), ou seja, possuem a mesma densidade de canais por compartimento.

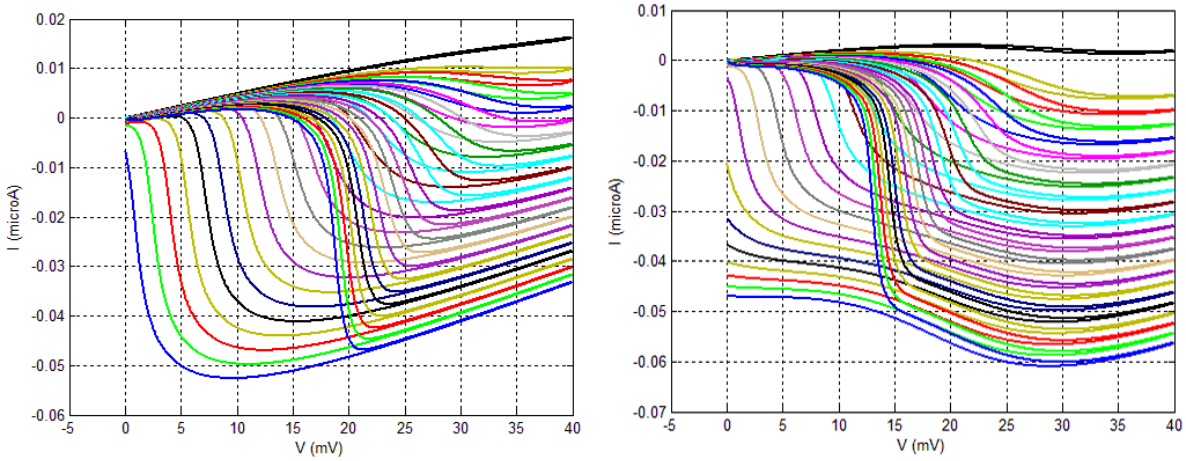

Figura 23: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de $0{,}75x10^{-5}$ a $7{,}0x10^{-5}$. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 4

Caso 5 - Condutância apenas nos compartimentos três, quatro e cinco – distribuição uniforme (Tipo S: 0,8 ± 0,27 λ e Tipo FR: 0,625 ± 0,215λ).

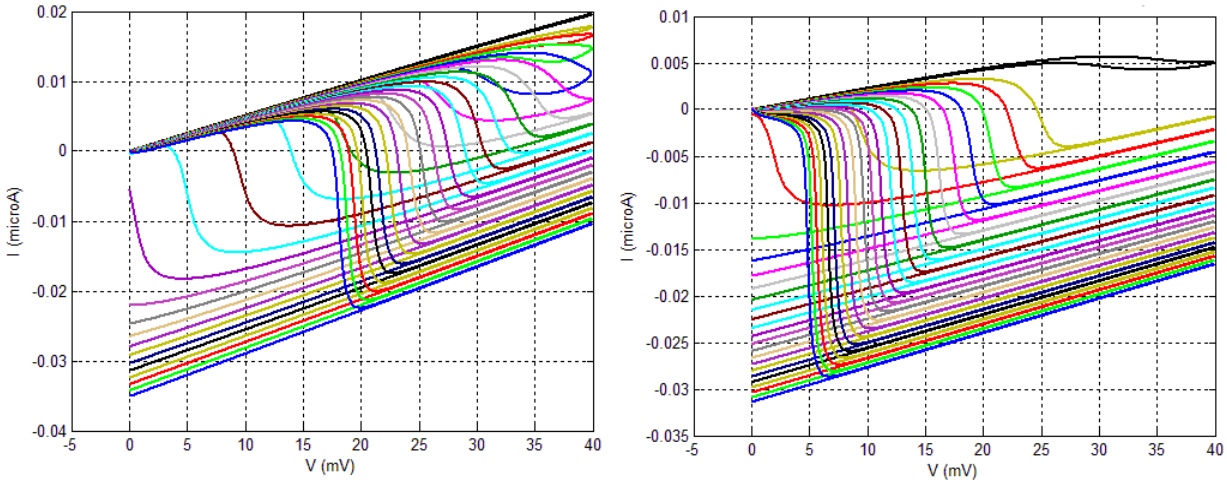

Figura 24: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de 0,75x10^{-5} a 7,0x10^{-5}. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 5

Caso 6 - Condutância apenas nos compartimentos dois, três, quatro – distribuição uniforme (Tipo S: 0,62 ± 0,27 λ e Tipo FR: 0,49 ± 0,21λ).

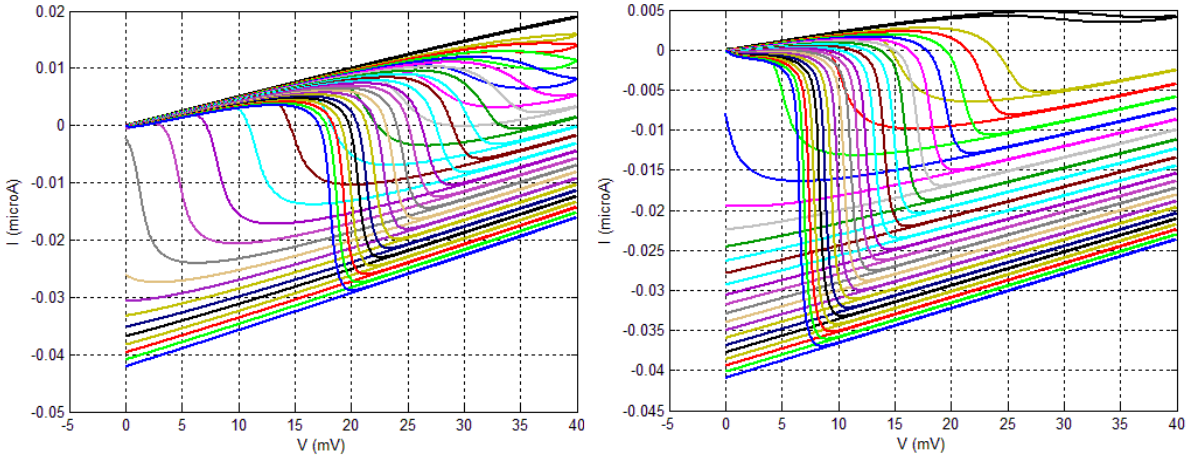

Figura 25: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de 0,75x10^{-5} a 7,0x10^{-5}. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 6

Caso 7 - Condutância apenas nos compartimentos zero, um, dois, três, quatro, cinco, seis, sete e oito – distribuição uniforme (Tipo S: 0,81 ± 0,81 λ e Tipo FR: 0,665 ± 0,665λ).

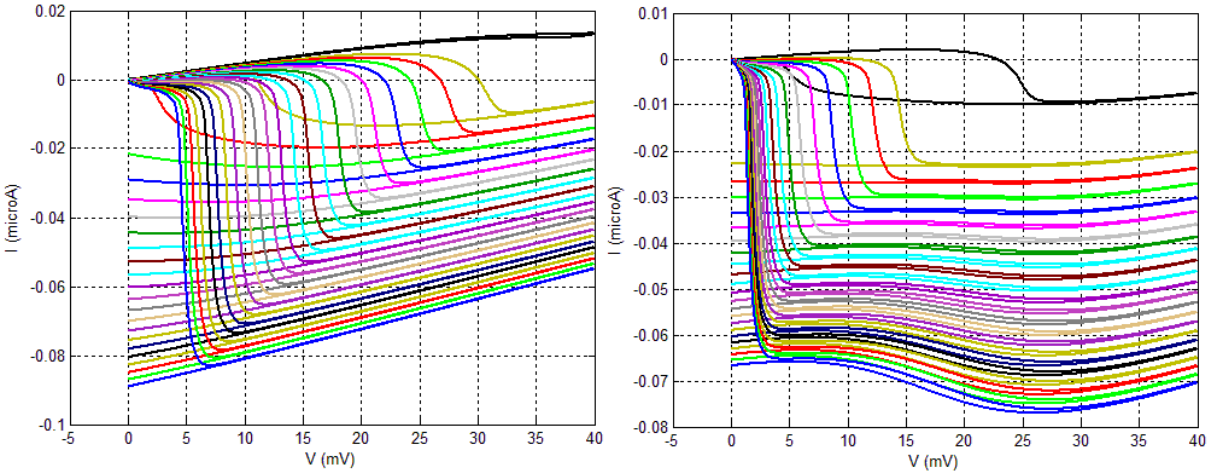

Figura 26: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de $0{,}75x10^{-5}$ a $7{,}0x10^{-5}$. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 7

Caso 8 - Condutância apenas nos compartimentos zero, um, dois, três, quatro, cinco, seis, sete e oito – distribuição uniforme (com a mesma densidade de canais) até o compartimento três e decrescente até o compartimento oito (Tipo S: 0,81 ± 0,81 λ e Tipo FR: 0,665 ± 0,665λ).

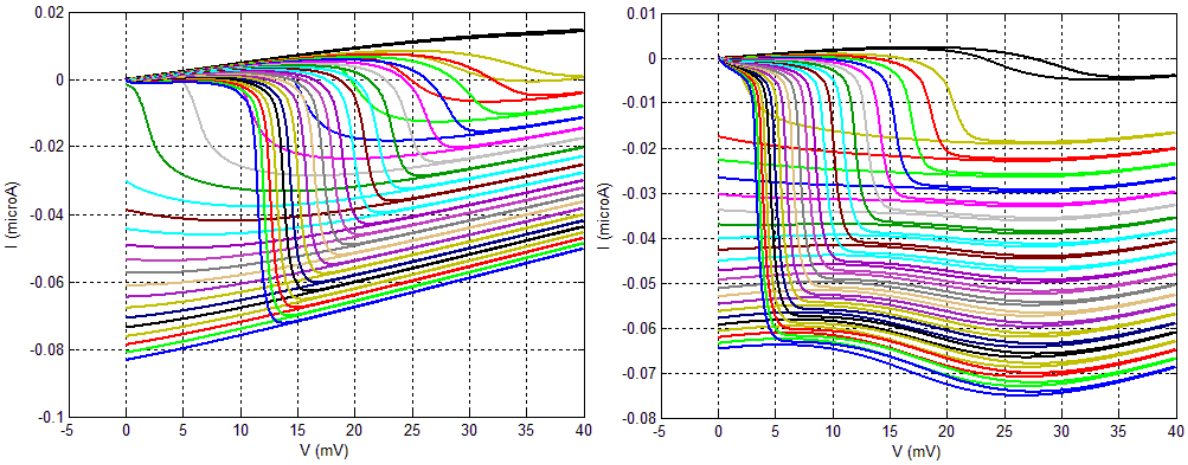

Figura 27: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de $0{,}75x10^{-5}$ a $7{,}0x10^{-5}$. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 8

Caso 9 - Condutância apenas nos compartimentos zero e dois (Tipo S: 0,09 ± 0,09 λ e 0,44 ± 0,09 λ e Tipo FR: 0,07± 0,7λ e 0,35 ± 0,07λ).

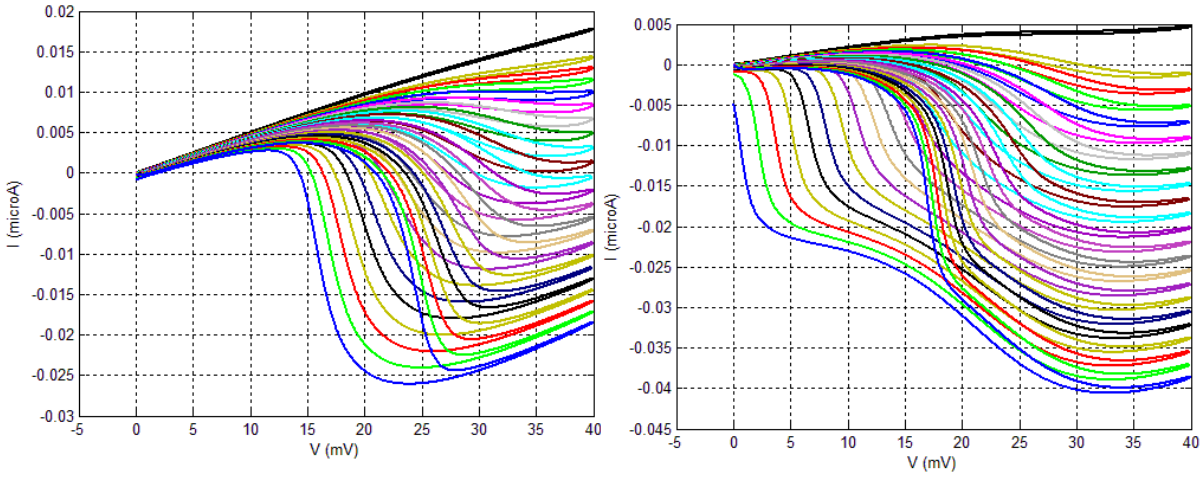

Figura 28: Gráfico das curva I-V variando a condutância da corrente de Ca de $0{,}75x10^{-5}$ a $7{,}0x10^{-5}$. Esq.: motoneurônio do tipo FR. Dir.: motoneurônio do tipo S – CASO 9

É importante destacar que o estudo realizado no caso 6, para MN tipo S, e no caso 5, para MN do tipo FR, são aproximações da distribuição apontada por Elbasiouny, Bennett e Mushahwar (2005), em seu modelo, e que o estudo do caso 8 foi modelado conforme a melhor distribuição proposta por Elbasiouny, Bennett e Mushahwar (2005) cujos resultados sugerem que os canais de Ca tipo L estão localizados de forma não uniforme na arborização dendrítica, preferencialmente na região a 0,6λ.

A Figura 29 mostra a distribuição feita por Elbasiouny, Bennett e Mushahwar (2005) e a Figura 30 ilustra a aproximação que utilizamos neste trabalho.

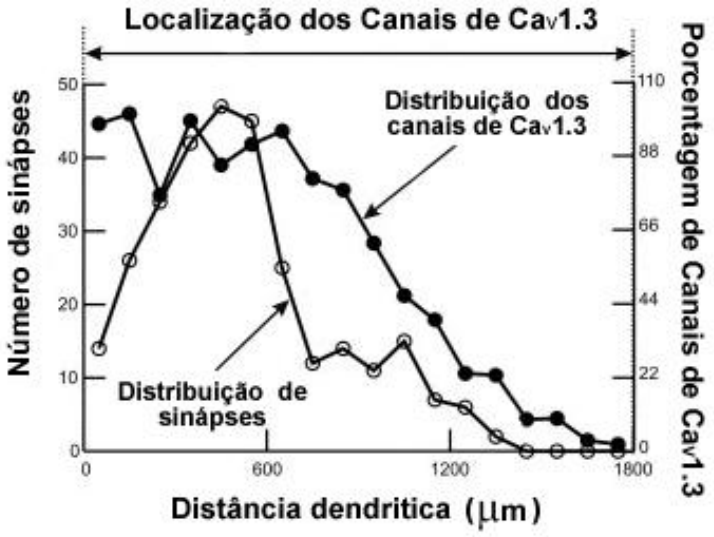

Figura 29: Distribuição dos canais de $Ca_V1.3$ ao longo do dendrito (adaptado de Ebasionuny, Bennett e Mushahwar, 2005)

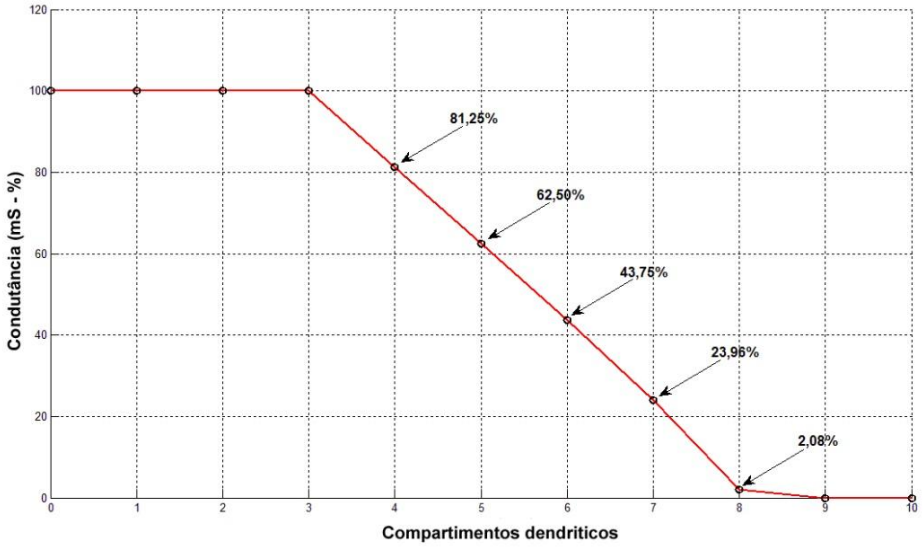

Figura 30: Distribuição de canais persistentes de cálcio tipo L - Caso 8

Depois de analisar todos os casos cuidadosamente, encontramos algumas situações nas quais os valores usados de condutância ativa aproximam o comportamento do modelo registrado na literatura (LEE; HECKMAN, 1998a). Para o motoneurônio tipo FR, o melhor ajuste para a condutância foi de $4{,}50x10^{-5}$ mS nos compartimentos zero e dois com distribuição uniforme, e, para o motoneurônio tipo S, o melhor ajuste para a condutância foi de $6{,}50x10^{-5}$ mS apenas no compartimento dois.

A Figura 31 mostra o melhor ajuste para o motoneurônio tipo FR, classificado como parcialmente biestável. À esquerda está à curva I-V e à direita, a curva I-V subtraída a corrente de fuga.

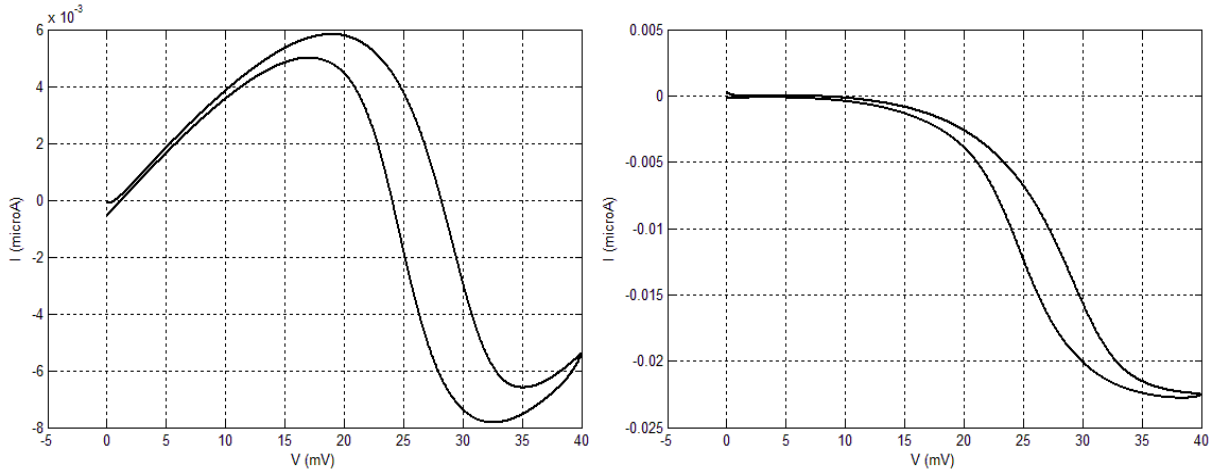

Figura 31: Curva I-V – Motoneurônio parcialmente biestável (Mn tipo FR). À esquerda curva I-V e a direita curva I-V subtraída a corrente de fuga

A Figura 32 mostra o melhor ajuste para o motoneurônio tipo S, classificado como totalmente biestável. Na esquerda a curva I-V e na direita a curva I-V subtraída a corrente de fuga.

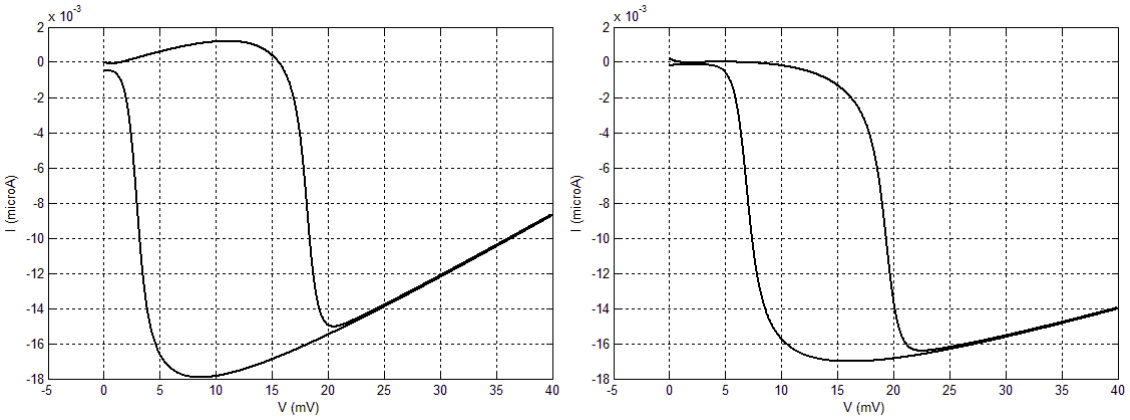

Figura 32: Curva I-V – Motoneurônio totalmente biestável (Mn tipo S). À esquerda curva I-V e à direita curva I-V subtraída a corrente de fuga

A Tabela 9 mostra os melhores resultados encontrados em nosso modelo e os resultados experimentais publicados por Lee e Heckman (1999).

Tabela 9: Ajuste dos modelos segundo a curva I-V

Valores medidos	Lee e Heckman (1998a)		Nosso modelo ampliado	
	Parcialmente Biestável	Totalmente Biestável	Parcialmente Biestável MN tipo FR	Totalmente Biestável MN tipo S
V_{th} (mV)	22,6 ± 4,5	20,6 ± 5,4	12,59	11,53
V_{on} (mV)	26,2 ± 3,7	19,3 ± 4,5	18,97	11,04
V_{off} (mV)	22,7 ± 5,7	10,0 ± 5,3	17,00	0,32
ΔV (V_{on}, V_{off}) (mV)	3,5 ±2,9	9,1 ± 2,2	1,97	10,72
ΔV (V_{th}, V_{off}) (mV)	1,2 ± 4,4	10,6 ± 4,1	4,41	11,21
ΔV (V_{th}, V_{on}) (mV)	4,0 ± 3,5	1,2 ± 3,7	6,38	0,49

A corrente persistente de entrada provoca, na relação I-V, inflexões devido à presença dos canais ativos na região dendrítica, no caso os canais de Ca^{2+} tipo L. Nosso estudo apresenta, na Tabela 9, alguns valores que são ligeiramente diferentes dos valores de dados experimentais reportados por Lee e Heckman (1998a), a principal diferença são os valores: V_{on}, V_{off} e V_{th}. Estas diferenças podem ser explicadas pelo fato de que V_{th} do nosso modelo ser inferior ao valor médio reportado pela literatura, porém isso não invalida o modelo, uma vez que os fenômenos básicos relacionados à presença de condutâncias ativas dendríticas são bem representadas, como a diferença entre os valores de V_{th} e V_{on} e a diferença entre o V_{th} e V_{off}.

A Figura 32 mostra as características da curva I-V a partir do trabalho de Lee e Heckman (1998a). Podemos observar que os limiares de V_{on} acontecem em média depois do V_{th} para células parcialmente biestáveis e antes do V_{th} para células totalmente biestáveis.

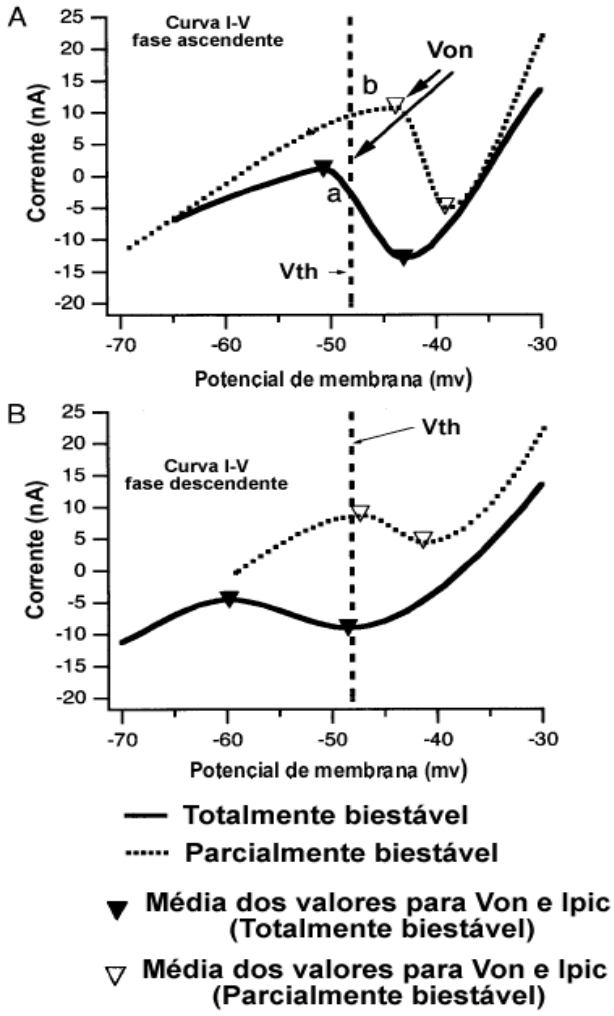

Figura 33: Curva I-V. A Figura A mostra a fase ascendente e B a fase descendente da curva I-V gerada a partir do grampeamento do soma com corrente triangular. Os triângulos na Figura A indicam a média dos valores para V_{on} e I_{pic} para motoneurônios totalmente e parcialmente biestáveis, e na Figura B indicam a média dos valores para V_{off} e I_{sus}. A linha pontilhada vertical mostra a média do limiar de tensão (V_{th}) para ambos os tipos de células. Adaptado de Lee e Heckman (1998a).

Da mesma forma como foi feito no modelo passivo para avaliação da resposta em frequência do dendrito, no modelo ativo procurou-se igualar os valores de amplitudes pico a pico de ambos os protocolos, variando corrente e variando condutância, para ser possível a verificação das diferenças funcionais entre sinapses localizadas em diferentes porções do dendrito. A Tabela 10 mostra os valores ajustados e destaca os compartimentos dendríticos usados.

Tabela 10: Ajustes dos prot ocolos - variando corrente e variando condutância (Modelo Ativo)

Compartimento dendrítico	Frequência	Motoneurônio Tipo FR		Motoneurônio Tipo S	
		Condutância (mS) sináptica	Corrente (µA) sináptica	Condutância (mS) sináptica	Corrente (µA) sináptica
0	10Hz	$3.0e^{-5}$	$1.82e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$6.61e^{-4}$
1	10Hz	$3.0e^{-5}$	$1.78e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$6.32e^{-4}$
2	10Hz	$3.0e^{-5}$	$1.74e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$6.09e^{-4}$
3	10Hz	$3.0e^{-5}$	$1.72e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$6.01e^{-4}$
4	10Hz	$3,0e^{-5}$	$1.69e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$5.92e^{-4}$
5	10Hz	$3.0e^{-5}$	$1.66e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$5.85e^{-4}$
6	10Hz	$3.0e^{-5}$	$1.62e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$5.75e^{-4}$
7	10Hz	$3.0e^{-5}$	$1.56e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$5.62e^{-4}$
8	10Hz	$3.0e^{-5}$	$1.47e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$5.43e^{-4}$
9	10Hz	$3.0e^{-5}$	$1.38e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$5.16e^{-4}$
10	10Hz	$3.0e^{-5}$	$1.30\ e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$4.73e^{-4}$
11	10Hz	$3.0e^{-5}$	$1.19e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$4.12e^{-4}$
12	10Hz	$3.0e^{-5}$	$1.08e^{-3}$	$1.0e^{-5}$	$3.48e^{-4}$
13	10Hz	$3.0e^{-5}$	$9.46e^{-4}$	$1.0e^{-5}$	$2.81e^{-4}$
14	10Hz	$3.0e^{-5}$	$7.82e^{-4}$	$1.0e^{-5}$	$1.88e^{-4}$
15	10Hz	$3.0e^{-5}$	$5.98e^{-4}$	$1.0e^{-5}$	$1.13e^{-4}$
16	10Hz	$3.0e^{-5}$	$3.83e^{-4}$	$1.0e^{-5}$	$3.33e^{-5}$
17	10Hz	$3.0e^{-5}$	$1.95e^{-4}$	- -	- -
18	10Hz	$3.0e^{-5}$	$0.77e^{-4}$	- -	- -

4.3 Avaliação da resposta dos dendritos quanto ao grau de não linearidade

A arborização dendrítica dos neurônios recebe milhares de sinapses que têm efeitos excitatórios ou inibitórios, rápidos ou lentos, elétricos ou bioquímicos. É uma unidade integrativa, estruturalmente e funcionalmente complexa. Os padrões de ativação das entradas sinápticas determinam se o neurônio disparará um potencial de ação e como ele responderá a outras ativações sinápticas no futuro. Nossa hipótese é a possível interferência de ação de uma sinapse sobre outra sinapse que ocorre em outro ramo da arborização dendrítica.

Trabalhos que analisaram a não linearidade associada a entradas sinápticas abordaram o problema em termos de efeito transitório da condutância no potencial de membrana (RALL, 1964, 1967), em geral verificando se a somação de potenciais pós-sinápticos produz resultados lineares ou não. Neste trabalho, adotamos uma análise que é talvez mais próxima do comportamento no qual a população de sinais de entrada ativando um motoneurônio é mais importante que um único sinal de entrada causando um potencial pós-sináptico no soma. (VIEIRA; KOHN, 2004).

Por exemplo, analisando a corrente que alcança o soma durante movimentos rítmicos é perceptível uma forma de onda periódica produzida pelas ativações periódicas de múltiplas sinapses. Se essa ativação varia, teremos uma forma de onda periódica de frequência f_1 na condutância da membrana dendrítica local que, no nosso caso, foi aproximada por uma senoide. Se um outro sistema aferente ao MN alvo implica um surto rítmico em um compartimento diferente ou em um dendrito diferente e em uma frequência diferente f_2, os efeitos combinados no soma poderiam ser independentes no caso linear significando que as duas frequências apareceriam superpostas no potencial de membrana do soma (VIEIRA; KOHN, 2004). No caso de não linearidade, novas frequências apareceriam no potencial de membrana do soma, por exemplo, uma componentes f_1-f_2, que poderiam levar a comportamentos peculiares e diferentes do MN e do músculo que ele inerva.

A saída da maioria dos neurônios é expressa como frequências de disparo de potenciais de ação e dependem do valor da corrente que alcança o soma. Por outro lado, o valor da corrente que alcança o soma depende da somação das correntes de eventos sinápticos individuais (GRANDE; BUI; ROSE, 2007) e diversos fatores

influenciam nesta somação: se o dendrito é passivo ou ativo, se as sinapses ocorrem próximas entre si ou distantes, e outros. Portanto, independentemente das propriedades passivas ou ativas da membrana do dendrito, a corrente que alcança o soma é altamente dependente das distribuições de sinapses e da forma que são somadas. Nossa hipótese é de que há ações não lineares no mapeamento das entradas na saída, isto é, a ação de uma sinapse sendo alterada pela existência de outra.

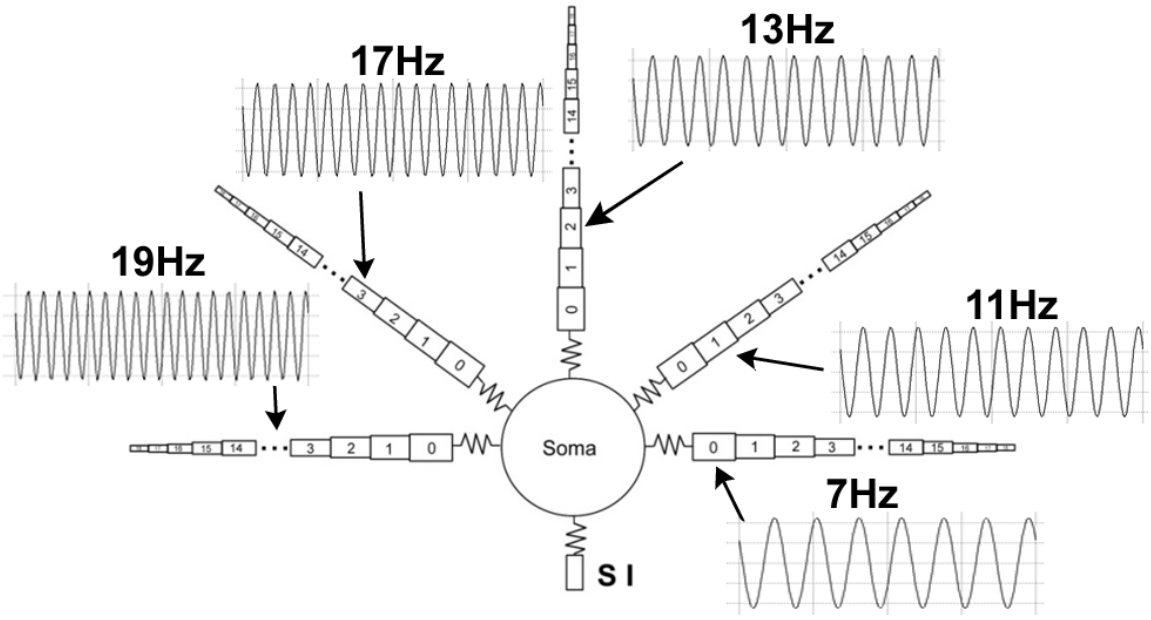

Figura 34: Exemplo do protocolo utilizado para avaliar o grau de não linearidade entre diferentes entradas sinápticas.

A Figura 34 exemplifica o protocolo utilizado na avaliação do grau de não linearidade entre diferentes entradas sinápticas. As interações não lineares foram avaliadas aplicando os potenciais senoidais pós-sinápticos com frequências primas entre si, com a intenção de evitar que uma fosse harmônica à outra (7Hz, 11Hz, 13Hz 17Hz e 19Hz - escolhidas aleatoriamente), em dois ou mais dendritos equivalentes simultaneamente e em compartimentos dendríticos diferentes, em duas situações distintas: uma na qual se variou a condutância sináptica e outra na qual se variou a corrente sináptica e em ambos modelos, modelo com dendrito passivo e no modelo com dendrito ativo (canais de PIC de Ca^{2+} tipo L).

Para que fosse possível comparar a corrente efetiva nestas duas situações, assim como explicado anteriormente (seção 4.1), ajustamos os valores de pico a pico

nas duas situações, conforme a Tabela 8, para o modelo passivo, e a Tabela 10 para o modelo ativo.

Inúmeras possibilidades foram testadas neste trabalho. Verificamos o grau de não linearidade de diferentes formas: variamos a quantidade de dendritos utilizados simultaneamente, a distância entre os compartimentos ao soma e a distância entre estes compartimentos em um mesmo ramo dendrítico.

Apresentaremos o teste realizado no modelo de motoneurônio tipo FF, no qual utilizamos três dendritos simultaneamente. Aplicamos, no quinto compartimento (2.500µm de distância do soma) de cada dendrito, potenciais pós-sináptico nas frequências de: 7Hz, 11Hz, 13Hz.

Dentre as formas existentes para avaliar a não linearidade, optou-se por quantificar as distorções associadas aos componentes espúrios principais detectados na corrente efetiva. O espectro de frequência da corrente efetiva foi analisado comparando a amplitude do pico das harmônicas e das raias espúrias com a amplitude do pico da frequência fundamental de menor amplitude: quanto menores estas diferenças maior o grau de não linearidade entre as ativações sinápticas em segmentos dendríticos distintos.

.

5 Resultados e Discussão

5.1 Diferenças funcionais - ganho e fase da corrente efetiva (Modelo Passivo)

A teoria do cabo (JOHNSTON; WU, 1995; KOCH; SEGEV, 1999), desenvolvida por Rall ao longo de vários anos, é amplamente utilizada para se estudar os dendritos, pois, tradicionalmente, os dendritos são vistos como estruturas passivas cuja principal função é conduzir os potenciais pós-sinápticos para o soma. A teoria consiste em tratar os dendritos como cabos condutores revestidos por uma membrana passiva, modelada por condutâncias ôhmicas em paralelo com uma capacitância (Figura 7A).

A Figura 35 mostra a fase e o ganho, respectivamente, da corrente efetiva variando a condutância sináptica ao longo do dendrito equivalente. As frequências de corte em -1dB foram: fc_0= 200Hz, fc_1= 100Hz, fc_6= 50Hz, fc_{11}= 40Hz e fc_{17}= 15Hz (Figura 35 - direita- quadrados sem preenchimento) para os compartimentos dendríticos 0, 1, 6, 11 e 17, respectivamente, já em -3dB foram fc_1= 500Hz, fc_6= 100Hz, fc_{11}= 75Hz e fc_{17}= 30Hz (Figura 35 - direita- círculos preenchidos) para os compartimentos dendríticos 1, 6, 11 e 17, respectivamente, e a frequência de corte em -20dB ocorreram em fc_{11}= 500Hz e fc_{17}= 300Hz para compartimentos 11 e 17, respectivamente, (Figura 35 – direita - losangos) (motoneurônio tipo FF).

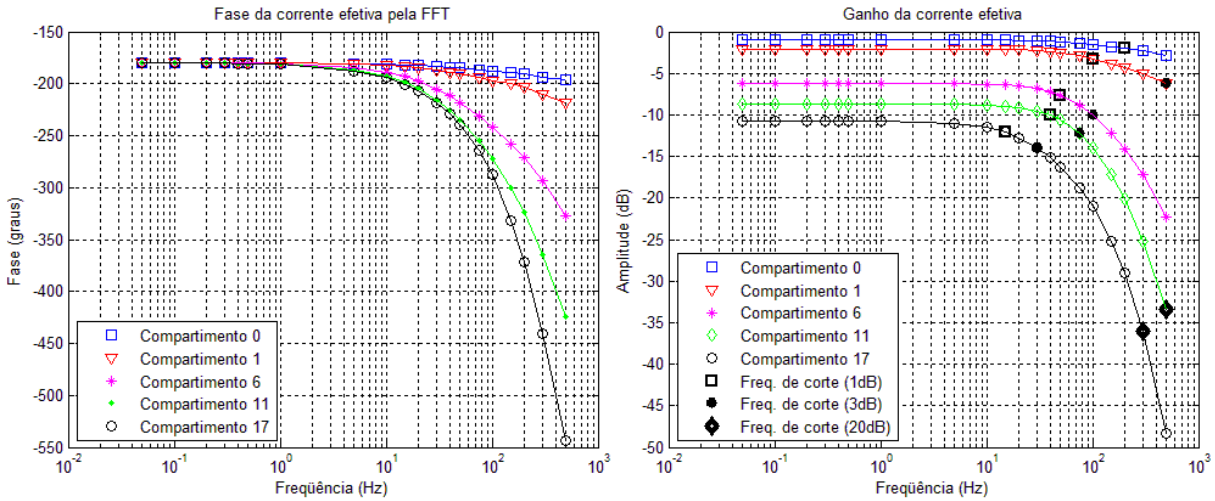

Figura 35: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando condutância sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos: frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo FF

A Figura 36 mostra a fase e o ganho, respectivamente, da corrente efetiva variando a corrente sináptica ao longo do dendrito equivalente. As frequências de corte em -1dB foram: fc_0= 200Hz, fc_1= 100Hz, fc_6= 50Hz, fc_{11}= 40Hz e fc_{17}= 40Hz (Figura 36 - direita- quadrados sem preenchimento) para os compartimentos dendríticos 0, 1, 6, 11 e 17, respectivamente. Já em -3dB foram muito semelhantes ao ensaio anterior, exceto no compartimento 17 que foi a mesma do compartimento 11: fc_1= 500Hz, fc_6= 100Hz, fc_{11}= 75Hz e fc_{17}= 75Hz (Figura 36 - direita- círculos preenchidos) para os compartimentos dendríticos 1, 6, 11 e 17, respectivamente. E a frequência de corte em -20dB ocorreu em fc_{11}=500Hz e fc_{17}= 300Hz para compartimentos 11 e 17, respectivamente (Figura 36 – direita - losangos) (motoneurônio tipo FF).

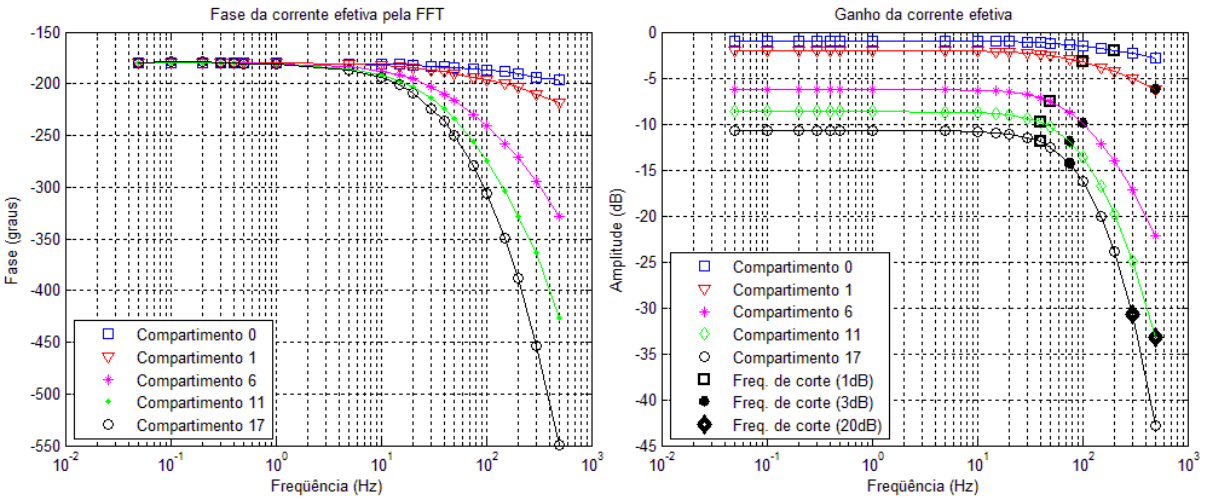

Figura 36: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando corrente sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos: frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo FF

Como esperado, em decorrência da teoria do cabo, quando diversas entradas sinápticas são ativadas, o dendrito age como um filtro passa-baixas. Observou-se que atenuações nas altas frequências são maiores e a frequência de corte é menor à medida que se desloca ao longo do dendrito distanciando-se do soma. Isto ocorre devido às propriedades de cabo do dendrito e à característica RC do circuito elétrico correspondente (Figura 7 e Figuras 35 e 36 à direita).

De forma semelhante, a defasagem de fase é maior para ativação sináptica a altas frequências e também é maior à medida que nos deslocamos ao longo do dendrito equivalente distanciando-se do soma. Porém, o atraso de fase é diferente apenas para frequências acima de 3Hz e 5Hz, variando condutância e corrente sináptica, respectivamente. Isto não ocorreu com o ganho, que foi diferente nos compartimentos dendríticos investigados em todas as frequências, sendo ligeiramente maior quando variamos a corrente sináptica.

As Figuras 37 e 38 mostram os resultados encontrados para os motoneurônio tipo FR, nos dois protocolos (variando a condutância e variando a corrente): à esquerda, a fase da corrente e à direita, o ganho da corrente efetiva.

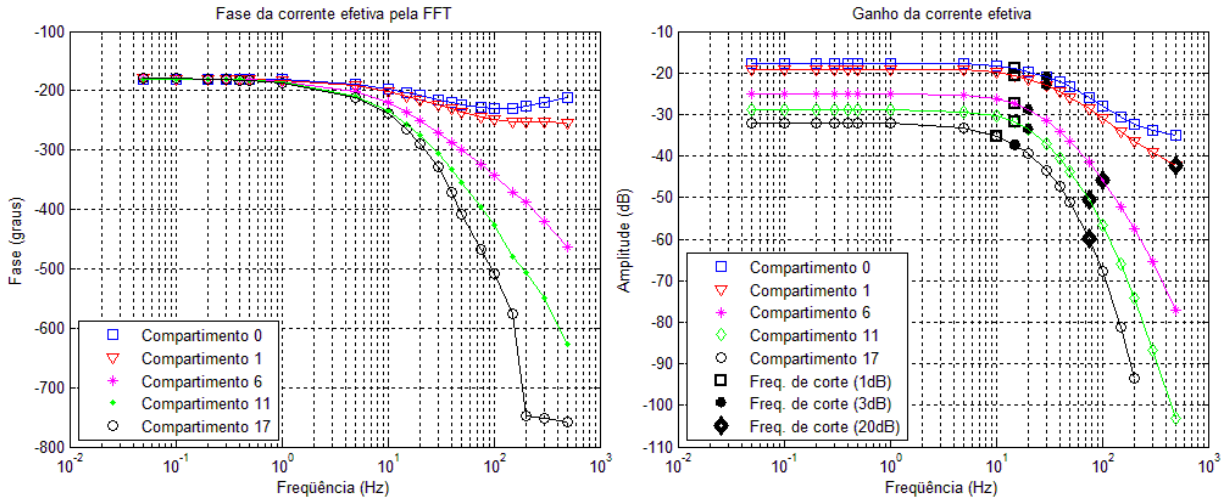

Figura 37: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando condutância sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos: frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo FR

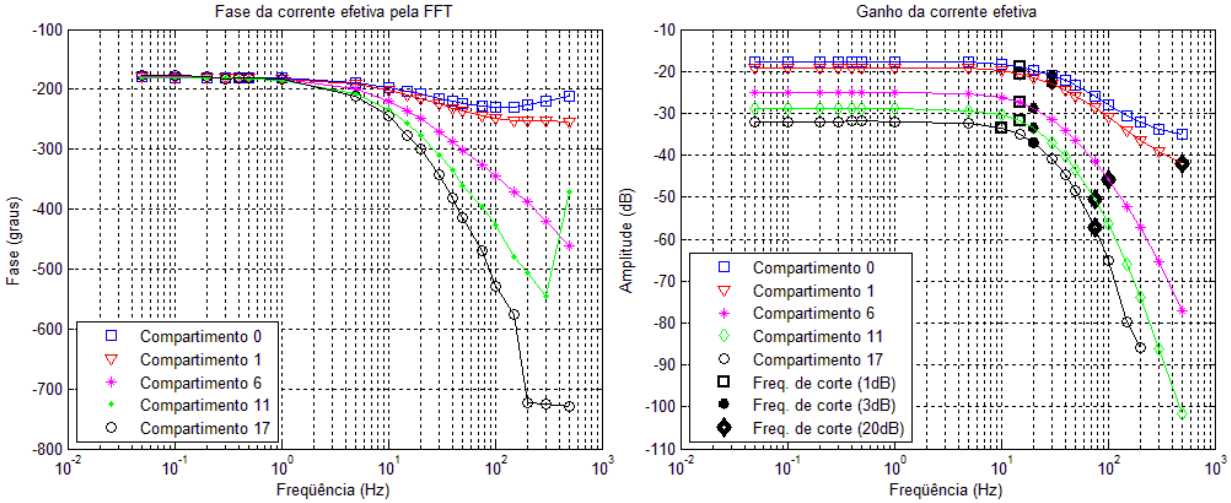

Figura 38: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando corrente sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos: frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo FR

As Figuras 39 e 40 demonstram os resultados encontrados para os motoneurônio tipo S, nos dois protocolos (variando a condutância e variando a corrente), à esquerda, a fase da corrente e á direita, o ganho da corrente efetiva.

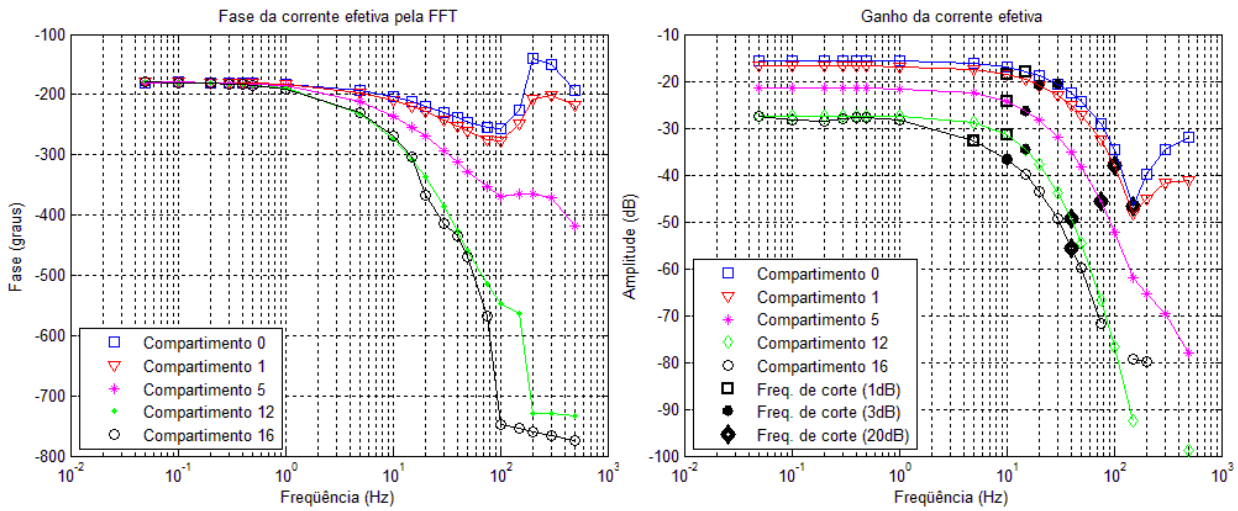

Figura 39: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando condutância sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo S

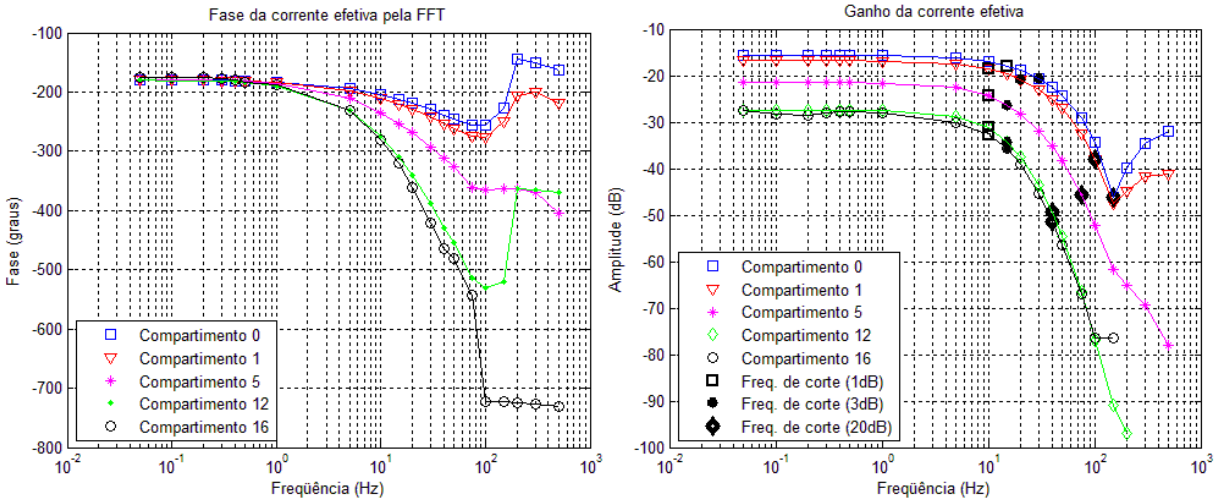

Figura 40: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando corrente sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos: frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo S

A Tabela 11 apresenta as frequências de corte em -1dB, -3dB e -20dB, para os três tipos de motoneurônios. Nota-se que, em quase todas as situações, houve diferenças entre os protocolos usados (variando condutância e variando corrente), com exceção da frequência de corte em -20dB que foram iguais em ambos protocolos para cada tipo de motoneurônio.

Tabela 11: Resumo das frequências de corte – Motoneurônios com dendrito passivo – Compartimentos dendríticos: 0, 1, 6, 11 e 17 respectivamente para motoneurônios tipo FF e FR e 0, 1, 5, 12 e 16 para motoneurônios tipo S.

Motoneurônios	Corte em -1dB	Corte em -3dB	Corte em -20dB
Tipo FF (variando a corrente)	fc_0=200Hz fc_1=100Hz fc_6=50Hz fc_{11}=40Hz fc_{17}=40Hz	fc_0=500Hz fc_1=100Hz fc_6=75Hz fc_{11}=75Hz	fc_0=500Hz fc_1=300Hz
Tipo FF (variando a condutância)	fc_0=200Hz fc_1=100Hz fc_6=50Hz fc_{11}=40Hz fc_{17}=15Hz	fc_0=500Hz fc_1=100Hz fc_6=75Hz fc_{11}=30Hz	fc_0=500Hz fc_1=300Hz
Tipo FR (variando a corrente)	fc_0=15Hz fc_1=15Hz fc_6=15Hz fc_{11}=15Hz fc_{17}=10Hz	fc_0=30Hz fc_1=30Hz fc_6=20Hz fc_{11}=20Hz fc_{17}=20Hz	fc_0=500Hz fc_1=100Hz fc_6=75Hz fc_{11}=75Hz
Tipo FR (variando a condutância)	fc_0=15Hz fc_1=15Hz fc_6=15Hz fc_{11}=15Hz fc_{17}=10Hz	fc_0=30Hz fc_1=30Hz fc_6=20Hz fc_{11}=20Hz fc_{17}=15Hz	fc_0=500Hz fc_1=100Hz fc_6=75Hz fc_{11}=75Hz
Tipo S (variando a corrente)	fc_0=15Hz fc_1=10Hz fc_5=10Hz fc_{12}=10Hz fc_{16}=10Hz	fc_0=30Hz fc_1=20Hz fc_5=15Hz fc_{12}=15Hz fc_{16}=15Hz	fc_0=150Hz fc_1=100Hz fc_5=75Hz fc_{12}=40Hz fc_{16}=40Hz
Tipo S (variando a condutância)	fc_0=15Hz fc_1=10Hz fc_5=10Hz fc_{12}=10Hz fc_{16}=5Hz	fc_0=30Hz fc_1=20Hz fc_5=15Hz fc_{12}=15Hz fc_{16}=10Hz	fc_0=150Hz fc_1=100Hz fc_5=75Hz fc_{12}=40Hz fc_{16}=40Hz

A Tabela 12 mostra um resumo dos valores do ganho encontrados nas frequências de corte -1dB, -3dB e -20dB para os três tipos de motoneurônios.

Observa-se que, para o motoneurônio tipo FF, de 11 situações nas quais comparamos os valores do ganho de dois protocolos (variando a corrente e variando a condutância), duas foram iguais para ambos os protocolos, oito tiveram maior ganho variando a corrente e uma teve maior ganho variando a condutância. Já para o motoneurônio tipo FR, de 14 situações, nove foram equivalentes para ambos os protocolos e cinco tiveram maior ganho variando corrente. Por fim, para o motoneurônio tipo S, de 15 situações, seis foram equivalentes para ambos os protocolos,

oito situações tiveram maior ganho variando corrente e, em uma situação o protocolo variando condutância teve maior ganho.

Tabela 12: Resumo dos valores de ganho. (Modelo com dendrito passivo)

Motoneurônios	**Compart. 0**	**Compart. 1**	**Compart. 6**	**Compart. 11**	**Compart 17**
Tipo FF Frequência de corte a -1dB (var. a condutância)	-2,00dB	-3,26dB	-7,62dB	-10,03dB	-12,11dB
Tipo FF Frequência de corte a -1dB (var. a corrente)	-2,00dB	-3,25dB	-7,58dB	-9,81dB	-11,96dB
Tipo FF Frequência de corte a -3dB (var. a condutância)	-6,26dB	-10,01dB	-12,22dB	-13,98dB	- -
Tipo FF Frequência de corte a -3dB (var. a corrente)	-6,26dB	-9,96dB	-11,91dB	-14,29dB	- -
Tipo FF Frequência de corte a -20dB (var. a condutância)	-33,43dB	-36,03dB	- -	- -	- -
Tipo FF Ganho -20dB (var. a corrente)	-33,23dB	-30,78dB	- -	- -	- -
Motoneurônios	**Compart. 0**	**Compart. 1**	**Compart. 6**	**Compart. 11**	**Compart 17**
Tipo FR Frequência de corte a -1dB (var. a condutância)	-18,97dB	-20,63dB	-27,51dB	-31,80dB	-33,56dB
Tipo FR Frequência de corte a -1dB (var. a corrente)	-18,97dB	-20,63dB	-27,51dB	-31,80dB	-33,56dB
Tipo FR Frequência de corte a -3dB (var. a condutância)	-21,02dB	-23,04dB	-28,87dB	-33,56dB	-37,39dB
Tipo FR Frequência de corte a -3dB (var. a corrente)	-21,02dB	-23,04dB	-28,87dB	-33,47dB	-36,95dB

Tipo FR Frequência de corte a -20dB (var. a condutância)	-42,16dB	-45,68dB	-50,75dB	-60,00dB	- -
Tipo FR Frequência de corte a -20dB (var. a corrente)	-42,16dB	-45,68dB	-50,46dB	-57,08dB	- -
Motoneurônios	**Compart. 0**	**Compart. 1**	**Compart. 5**	**Compart. 12**	**Compart 16**
Tipo S Frequência de corte a -1dB (var. a condutância)	-17,97dB	-18,53dB	-24,31dB	-31,47dB	-32,69dB
Tipo S Frequência de corte a -1dB (var. a corrente)	-17,97dB	-18,53dB	-24,31dB	-31,31dB	-32,84dB
Tipo S Frequência de corte a -3dB (var. a condutância)	-20,64dB	-20,84dB	-26,38dB	-34,56dB	-36,71dB
Tipo S Frequência de corte a -3dB (var. a corrente)	-20,63dB	-20,84dB	-26,36dB	-34,38dB	-34,38dB
Tipo S Frequência de corte a -20dB (var. a condutância)	-46,74dB	-37,99dB	-45,68dB	-49,37dB	-55,92dB
Tipo S Frequência de corte a -20dB (var. a corrente)	-46,20dB	-37,92dB	-45,68dB	-49,12dB	-51,37dB

5.2 Diferenças funcionais com modelagem de canais persistentes de cálcio tipo L (Modelo Ativo)

Conforme esperado, a teoria do cabo continua atuando como um filtro passa-baixas mesmo com os dendritos ativos. As Figuras 41 e 42 ilustram os resultados dos protocolos utilizados (variando condutância e variando corrente). A fase e o ganho da corrente efetiva estão representados, as frequências de corte em -1dB, -3dB e -20dB e seus respectivos valores de ganhos estão nas Tabelas 13 e 14.

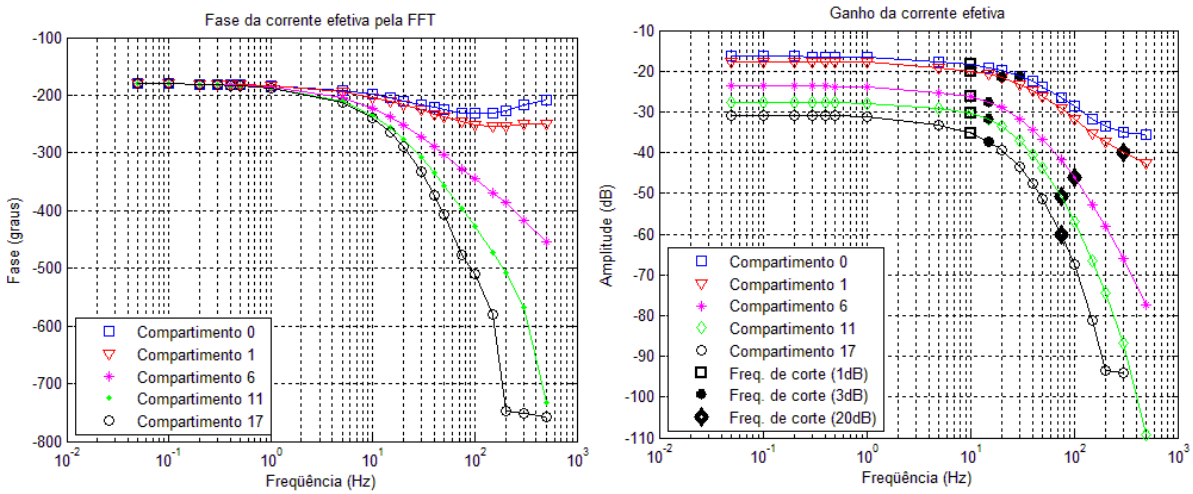

Figura 41: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando condutância sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos: frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo FR com canais de Ca^{++} tipo L.

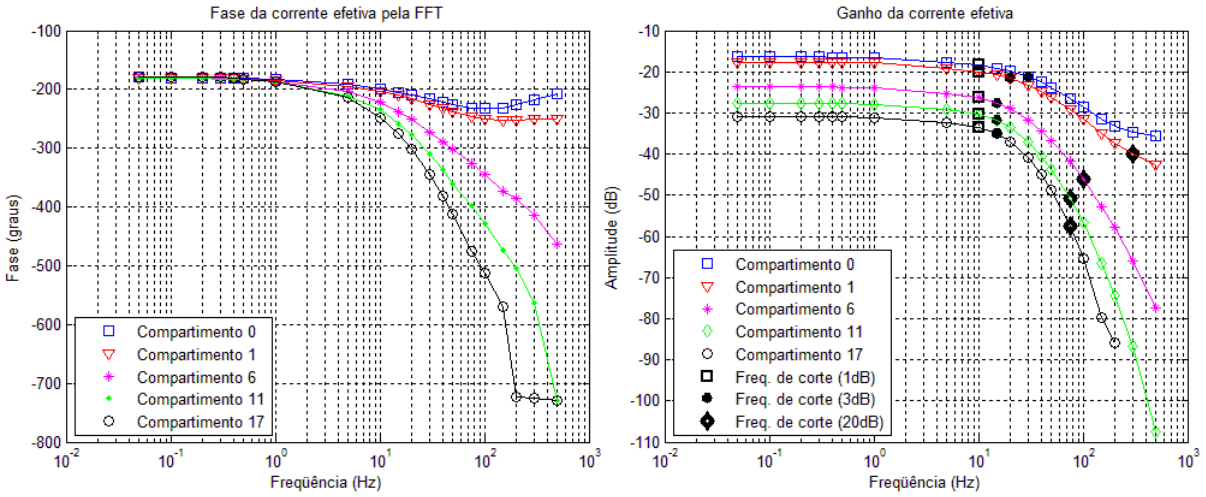

Figura 42: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando corrente sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos: frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo FR com canais de Ca^{++} tipo L.

As Figuras 43 e 44 mostram os resultados encontrados para os motoneurônio tipo S, nos dois protocolos (variando a condutância e variando a corrente): à esquerda, a fase e, à direita, o ganho da corrente efetiva

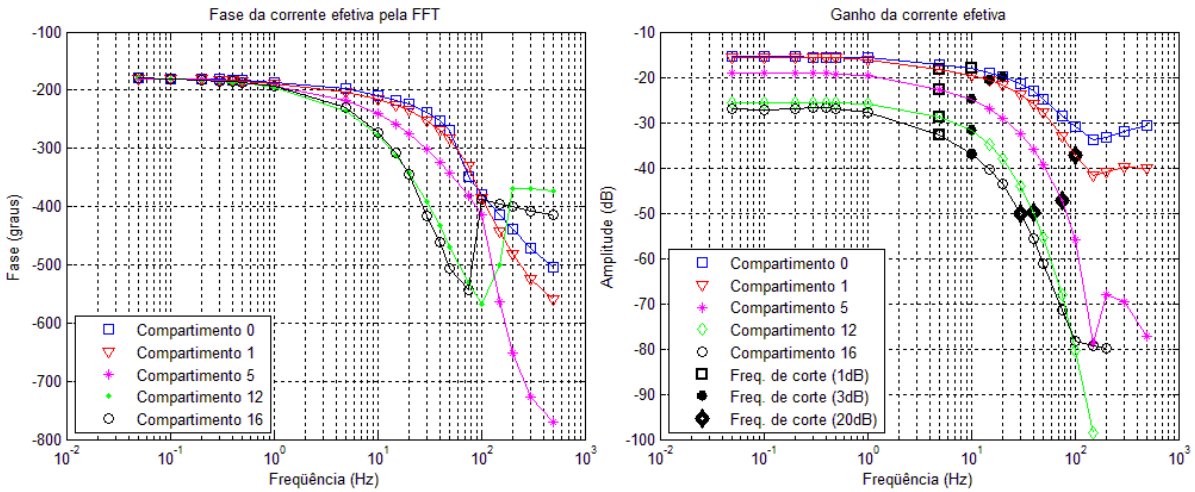

Figura 43: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando condutância sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos: frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo S com canais de Ca^{++} tipo L.

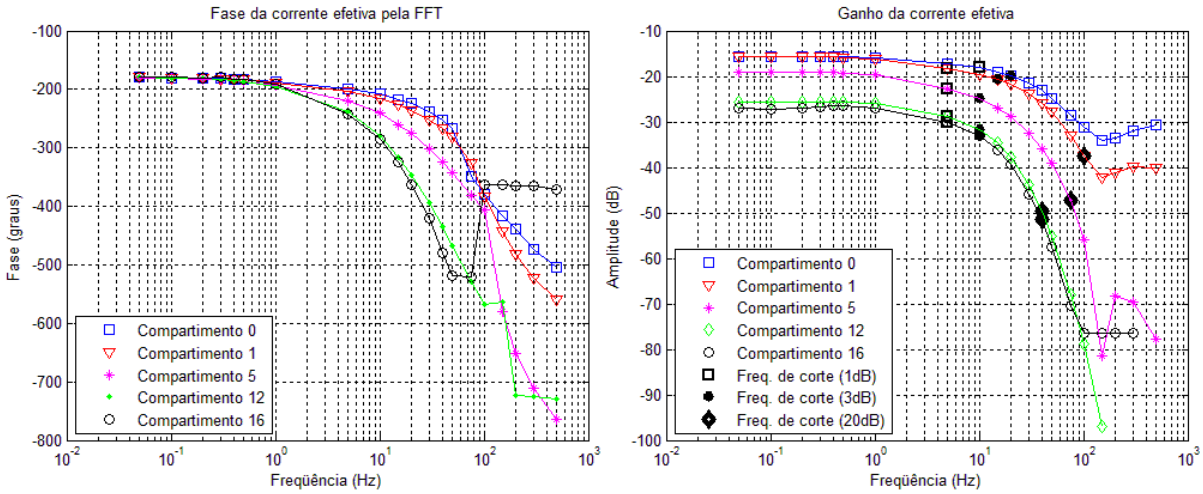

Figura 44: Fase da corrente efetiva (à esquerda) e Ganho da corrente efetiva (à direita) – **variando corrente sináptica** – quadrados sem preenchimento: frequência de corte em -1dB; círculos preenchidos: frequência de corte em -3dB; e losangos: frequência de corte em -20dB (direita) - Motoneurônio tipo S com canais de Ca^{++} tipo L.

A Tabela 13 contém os valores das frequência de corte em -1dB, -3dB e -20dB para os modelos ativos dos motoneurônios tipo FR e tipo S. É importante destacar que os modelos ativos utilizados são os mesmos parametrizados na seção 4.2, ou seja possuem condutância de Ca^{2+} tipo L nos dendritos.

Notou-se, na Tabela 13, que os valores da frequência de corte do modelo ativo quando comparada com os valores da frequência de corte do modelo passivo (Tabela 11) estão, em sua maioria, menores, o que significa que, no modelo com dendritos ativos, as correntes de entrada persistente de Ca^{2+} tipo L contribuiriam para que o modelo ficasse mais seletivo, além de amplificar o ganho da corrente conforme mostra a Tabela 14.

Tabela 13: Resumo das frequências de corte – Motoneurônios Ativo - Para os compartimentos dendríticos: 0, 1, 6, 11 e 17 para motoneurônio tipo FR, respectivamente, e 0, 1, 5, 12 e 16 para motoneurônio tipo S.

Motoneurônios	**Frequência de Corte em -1dB**	**Frequência de Corte em -3dB**	**Frequência de Corte em -20dB**
Tipo FR (variando a corrente)	fc_0=10Hz fc_1=10Hz fc_6=10Hz fc_{11}=10Hz fc_{17}=10Hz	fc_0=30Hz fc_1=20Hz fc_6=15Hz fc_{11}=15Hz fc_{17}=15Hz	fc_0=300Hz fc_1=100Hz fc_6=75Hz fc_{11}=75Hz
Tipo FR (variando a condutância)	fc_0=10Hz fc_1=10Hz fc_6=10Hz fc_{11}=10Hz fc_{17}=10Hz	fc_0=30Hz fc_1=20Hz fc_6=15Hz fc_{11}=15Hz fc_{17}=15Hz	fc_0=300Hz fc_1=100Hz fc_6=75Hz fc_{11}=75Hz
Tipo S (variando a corrente)	fc_0=10Hz fc_1=5Hz fc_5=5Hz fc_{12}=5Hz fc_{16}=5Hz	fc_0=20Hz fc_1=15Hz fc_5=10Hz fc_{12}=10Hz fc_{16}=10Hz	fc_0=100Hz fc_1=75Hz fc_5=40Hz fc_{12}=40Hz
Tipo S (variando a condutância)	fc_0=10Hz fc_1=5Hz fc_5=5Hz fc_{12}=5Hz fc_{16}=5Hz	fc_0=20Hz fc_1=15Hz fc_5=10Hz fc_{12}=10Hz fc_{16}=10Hz	fc_0=100Hz fc_1=75Hz fc_5=40Hz fc_{12}=30Hz

A Tabela 14 mostra um resumo dos valores do ganho encontrados nas frequências de corte -1dB, -3dB e -20dB para os dois tipos de motoneurônios (FR e S).

Observa-se que, para o motoneurônio tipo FR, de 14 situações nas quais comparamos os valores do ganho dos dois protocolos (variando a corrente e variando a condutância), quatro foram iguais para ambos os protocolos, oito tiveram maior ganho variando a condutância e duas tiveram maior ganho variando a corrente. Já para o motoneurônio tipo S, de 14 situações, três foram equivalentes para ambos os protocolos,

nove tiveram maior ganho variando condutância e duas tiveram maior ganho variando a corrente.

Para verificar a existência de amplificação sináptica, comparamos os valores dos ganhos nas frequências de corte de ambos os modelos, passivo e ativo (Tabelas 12 e 14).

A análise das Tabelas indica que, para o motoneurônio tipo FR, de 28 valores de ganho, 22 mostraram amplificação, quatro sofreram atenuações e dois permaneceram sem alterações. Já para o motoneurônio tipo S, de 28 valores de ganho, 17 mostraram amplificação e 11 sofreram atenuações.

Tabela 14: Resumo dos valores de ganho em relação às frequências de corte (modelo com dendrito ativo)

Motoneurônios	**Compart. 0**	**Compart. 1**	**Compart. 6**	**Compart. 11**	**Compart 17**
Tipo FR Ganho -1dB (var. a condutância)	-18,46dB	-19,98dB	-26,32dB	-30,34dB	-33,56dB
Tipo FR Ganho -1dB (var. a corrente)	-18,46dB	-19,98dB	-24,70dB	-30,40dB	-31,94dB
Tipo FR Ganho -3dB (var. a condutância)	-21,24dB	-21,62dB	-27,57dB	-31,83dB	-35,13dB
Tipo FR Ganho -3dB (var. a corrente)	-21,25dB	-21,62dB	-27,59dB	-31,93dB	-35,39dB
Tipo FR Ganho -20dB (var. a condutância)	-39,91dB	-46,02dB	-50,75dB	-57,72dB	- -
Tipo FR Ganho -20dB (var. a corrente)	-40,09dB	-46,20dB	-50,75dB	-60,00dB	- -
Motoneurônios	**Compart. 0**	**Compart. 1**	**Compart. 5**	**Compart. 12**	**Compart 16**
Tipo S Ganho -1dB (var. a condutância)	-18,14dB	-18,27dB	-22,70dB	-28,75dB	-30,12dB
Tipo S Ganho -1dB (var. a corrente)	-18,15dB	-18,27dB	-22,70dB	-28,87dB	-32,88dB
Tipo S Ganho -3dB (var. a condutância)	-19,82dB	-20,74dB	-24,89dB	-31,60dB	-33,073dB
Tipo S Ganho -3dB (var. a corrente)	-19,85dB	-20,75dB	-24,91dB	-31,77dB	-37,02dB
Tipo S Ganho -20dB (var. a condutância)	-37,52dB	-47,33dB	-49,63dB	-51,37dB	- -
Tipo S Ganho -20dB (var. a corrente)	-37,27dB	-47,33dB	-49,90dB	-50,17dB	- -

5.3 Não linearidades da resposta do dendrito

Para avaliar o grau de não linearidade da resposta do dendrito, analisou-se o espectro de frequência da corrente efetiva após a aplicação de entradas sinápticas senoidais com frequências primas entre si.

A Figura 45 mostra um exemplo típico do espectro de frequência da corrente efetiva variando a condutância sináptica nos compartimentos mais próximos do soma dos cinco dendritos: no gráfico superior vê-se a corrente efetiva e, no gráfico inferior, o seu espectro de potência.

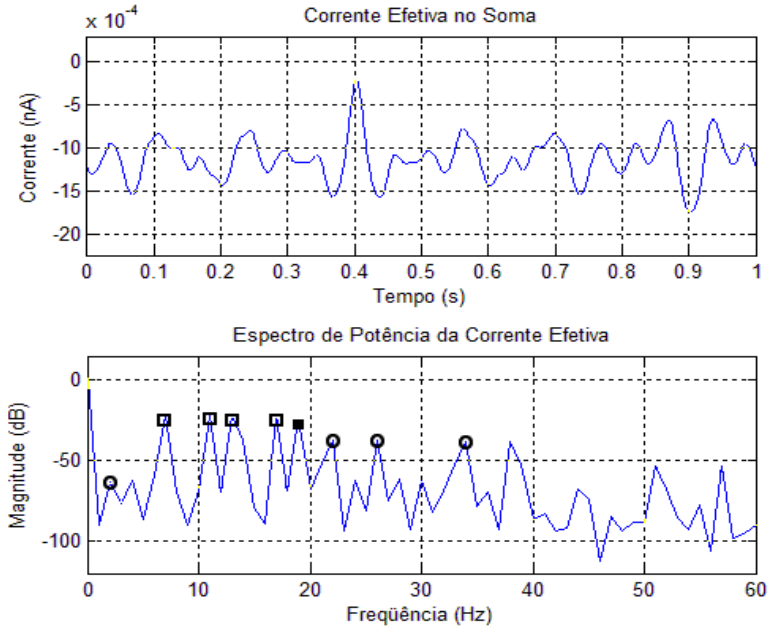

Figura 45: Corrente efetiva (gráfico superior) e seu espectro de potência (gráfico inferior): variando condutância, MN FF. ■ – Pico da frequência fundamental de menor amplitude, □ – outras frequências fundamentais, ○ – algumas raias espúrias.

O quadrado cheio na Figura 45 apresenta o pico da frequência fundamental de menor amplitude (19Hz), os quadrados vazios mostram as outras frequências fundamentais (7Hz ,11Hz, 13Hz e 17Hz). Os círculos em alguns picos indicam algumas raias espúrias ou harmônicos, que, nesse caso, aparecem nas frequências de 2Hz (13Hz-11Hz ou 19Hz-17Hz), 22Hz (2x11Hz), 26Hz (2x13Hz) e 34Hz (2x17Hz), respectivamente.

Na análise, comparou-se a amplitude do pico dos harmônicos e das raias espúrias com a amplitude do pico da frequência fundamental de menor amplitude.

Quanto menores estas diferenças em valor absoluto, maior o grau de não linearidade na interação entre ativação sináptica em segmentos dendríticos distintos (VIEIRA; KOHN, 2007).

As Figuras 46, 47, 48 e 49 mostram a corrente efetiva e o seu espectro de frequência nos dois modelos (ativo à esquerda e passivo à direita). Analisaram-se os motoneurônios tipo FR e S nas situações em que se variou a condutância sináptica e a corrente sináptica. Esses gráficos mostram o grau de não linearidade pela ativação sináptica em três ramos dendríticos, todos no quinto compartimento.

Entretanto, foram avaliadas diversas formas de ativação sinápticas, variando a amplitude, a distância entre os sítios de ativação e o número de dendritos ativados simultaneamente.

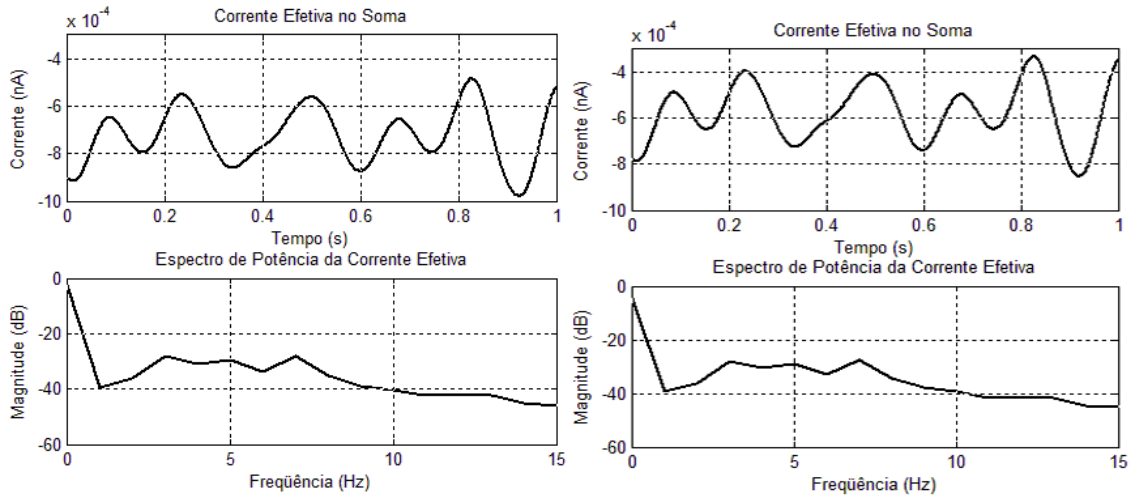

Figura 46: Mn tipo FR - Variando a condutância. Corrente efetiva (gráfico superior) e seu espectro de potência (gráfico inferior). À esquerda modelo ativo e à direita modelo passivo.

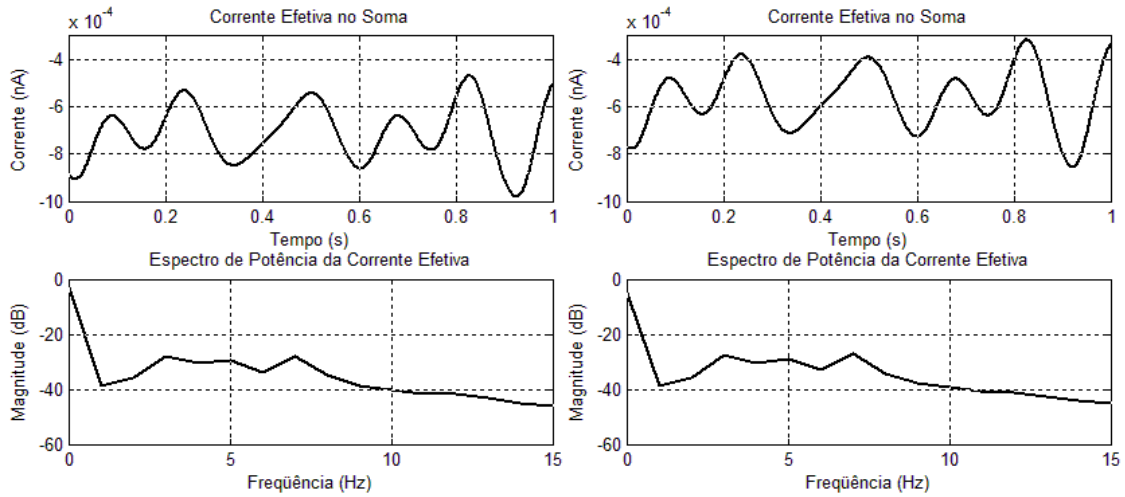

Figura 47: Mn tipo FR - Variando a corrente. Corrente efetiva (gráfico superior) e seu espectro de potência (gráfico inferior). À esquerda modelo ativo e à direita modelo passivo.

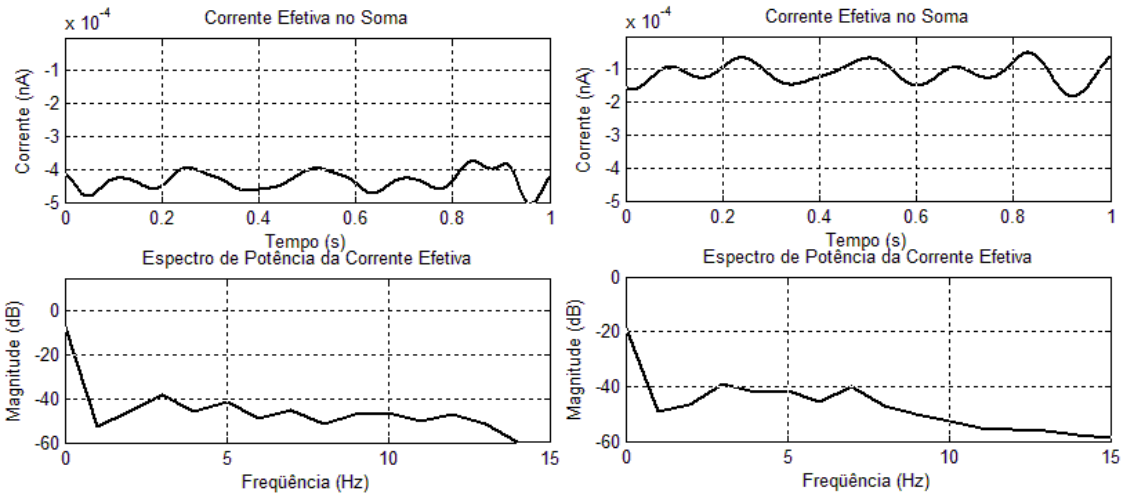

Figura 48: Mn tipo S - Variando a condutância. Corrente efetiva (gráfico superior) e seu espectro de potência (gráfico inferior). À esquerda modelo ativo e à direita modelo passivo.

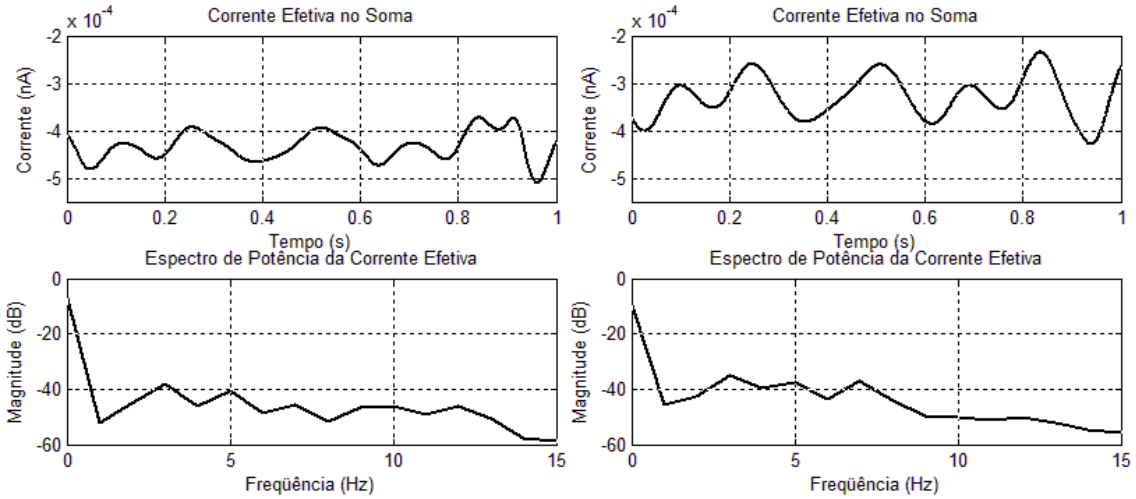

Figura 49: Mn tipo S - Variando a corrente. Corrente efetiva (em cima) e seu espectro de potência (em baixo). À esquerda modelo ativo e à direita modelo passivo.

A Tabela 15 apresenta as raias espúrias que apareceram quando aplicamos três potenciais sinápticos em três frequências primas entre si (f_1= 7Hz, f_2=11Hz e f_3=13Hz). O caso relatado na Tabela 15 é referente à avaliação do grau de não linearidade (Figuras 46, 47, 48 e 49) no quinto compartimento dos dois tipos de MN (FR e S). Observou-se que, nestas avaliações, a frequência fundamental de menor pico foi a de 13Hz para a maioria das avaliações, com exceção para o caso em que variamos a condutância do quinto compartimento do motoneurônio tipo FR com dendritos ativos. Neste caso, a frequência fundamental de menor pico foi a de 11Hz.

Tabela 15: Raias espúrias geradas a partir de interação entre as frequências aplicadas (f_1= 7Hz, f_2=11Hz e f_3=13Hz)

	Frequência (Hz)																						
MN tipo FR Variando condutância e corrente (modelo ativo)	**2**	**3**	**5**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**	**18**	**19**	**20**	**21**	**22**	**23**	**24**	**25**	**26**
	f_3-f_2	2 f_1- f_2	f_1+f_2-f_3	Freq. Fund.	3f_1-f_3	f_1+f_3-f_2	3f_1-f_2	Freq. Fund.	2f_1+f_2-f_3	Freq. Fund.	2 f_1	2f_3-f_2	f_1+2f_2-f_3	f_3+f_2-f_1	f_1+f_2	2f_3-f_1	f_1+f_3	3f_1	2f_2	3f_1-f_2+f_3	f_2+f_3	3f_1+f_2	2f_3
MN tipo S Variando condutância e corrente (modelo ativo)	**2**	**3**	**5**	**7**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**	**19**	**21**	**22**	**23**	**24**	**25**	**26**			
	f_3-f_2	2 f_1- f_2	f_1+f_2-f_3	Freq. Fund.	f_1+f_3-f_2	3f_1-f_2	Freq. Fund.	2f_1+f_2-f_3	Freq. Fund.	2 f_1	2f_3-f_2	f_1+2f_2-f_3	f_3+f_2-f_1	2f_3-f_1	3f_1	2f_2	3f_1-f_2+f_3	f_2+f_3	3f_1+f_2	2f_3			
MN tipo FR Variando condutância e corrente (modelo passivo)	**2**	**3**	**5**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**	**18**	**19**	**20**	**21**	**22**	**23**	**24**	**25**	**26**
	f_3-f_2	2 f_1- f_2	f_1+f_2-f_3	Freq. Fund.	3f_1-f_3	f_1+f_3-f_2	3f_1-f_2	Freq. Fund.	2f_1+f_2-f_3	Freq. Fund.	2 f_1	2f_3-f_2	f_1+2f_2-f_3	f_3+f_2-f_1	f_1+f_2	2f_3-f_1	f_1+f_3	3f_1	2f_2	3f_1-f_2+f_3	f_2+f_3	3f_1+f_2	2f_3
MN tipo S Variando condutância e corrente (modelo passivo)	**2**	**3**	**5**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**	**18**	**19**	**20**	**21**	**22**	**23**	**24**	**25**	**26**
	f_3-f_2	2 f_1- f_2	f_1+f_2-f_3	Freq. Fund.	3f_1-f_3	f_1+f_3-f_2	3f_1-f_2	Freq. Fund.	2f_1+f_2-f_3	Freq. Fund.	2 f_1	2f_3-f_2	f_1+2f_2-f_3	f_3+f_2-f_1	f_1+f_2	2f_3-f_1	f_1+f_3	3f_1	2f_2	3f_1-f_2+f_3	f_2+f_3	3f_1+f_2	2f_3

A Tabela 15 mostra as raias espúrias e os harmônicos que apareceram até o dobro da maior frequência fundamental (13Hz). Percebe-se que as raias espúrias que aparecem para os modelos são as mesmas independentemente se variamos a condutância ou a corrente sináptica; o que muda é a diferença entre o pico da menor frequência fundamental e as raias espúrias que aparecem.

Após verificar a frequência fundamental com menor amplitude foi calculada a diferença entre as raias espúrias e as frequências fundamentais. As Figuras 50 e 51 mostram estas diferenças normalizadas pelas amplitudes das frequências fundamentais com menor amplitude em ambos os protocolos (variando a condutância e variando a corrente) e em ambos os modelos (com dendritos com canais passivos e com os dendritos com canais ativos, respectivamente). É possível perceber nas Figuras (50, 51, 52 e 53), que as mesmas raias espúrias apareceram para ambos os protocolos.

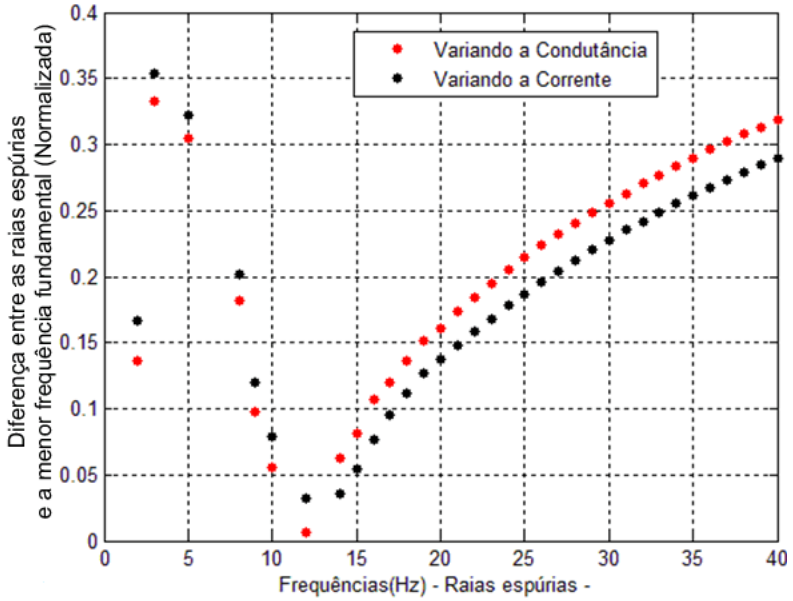

Figura 50: MN tipo FR com dendritos passivos

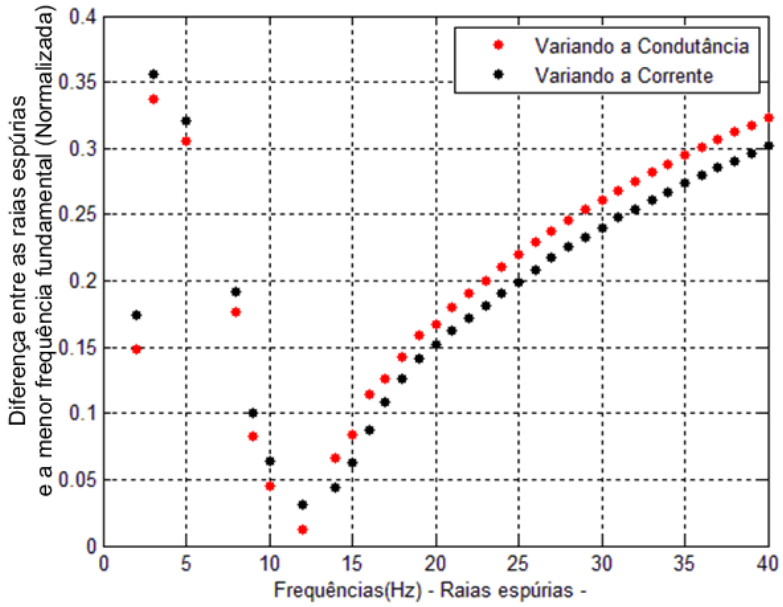

Figura 51: MN tipo FR com dendritos ativos

As Figuras 52 e 53 ilustram as diferenças calculadas entre a frequência fundamental de menor pico e as raias espúrias para o motoneurônio tipo S para ambos os modelos (com dendritos passivos e com dendritos com canais ativos, respectivamente) e protocolos (variando a condutância e variando a corrente).

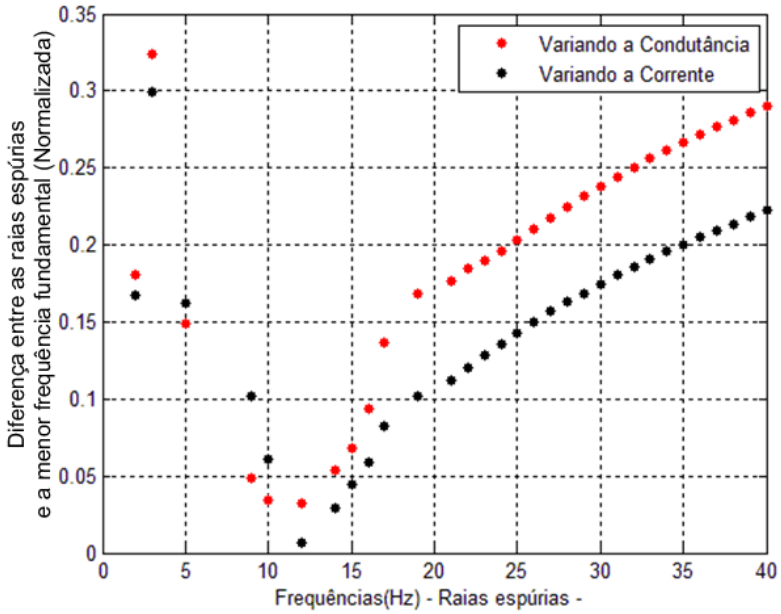

Figura 52: MN tipo S com dendritos passivos

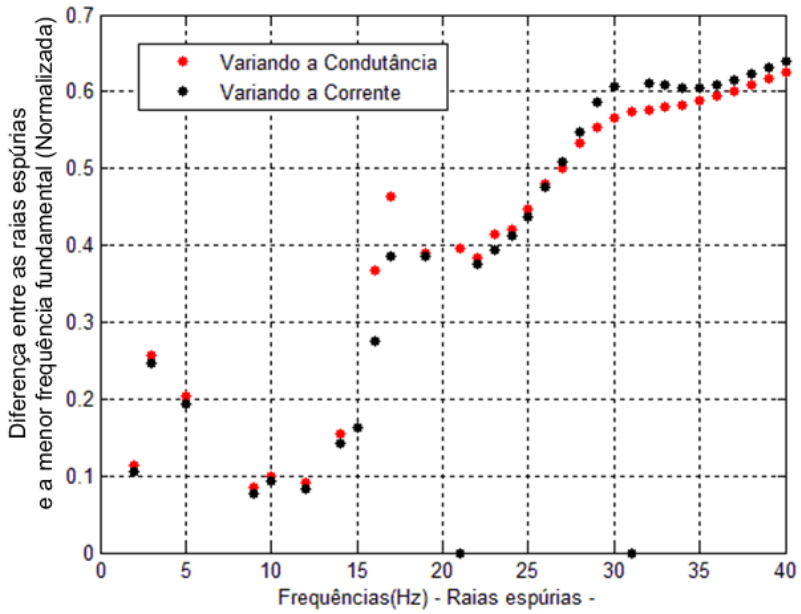

Figura 53: MN tipo S com dendritos ativos

Os resultados apresentam um alto grau de não linearidade entre os dendritos. Notou-se que, nas situações acima apresentadas (Figuras 50, 51, 52 e 53), quando variou-se a corrente sináptica, maior foi o grau de não linearidade em relação aos casos em que variou-se a condutância sináptica. Esse resultado nos chamou a atenção inicialmente, pois era esperado que ocorresse o inverso justamente por causa da dependência do potencial de membrana do compartimento dendrítico.

Isso nos levou a outros testes nos quais verificamos o comportamento dos modelos em situações em que injetamos a entrada sináptica em apenas um único dendrito. Neste caso, a dependência do potencial ficou muito evidente pela proximidade dos compartimentos dendríticos nos quais se injetou a entrada sináptica, pois a não linearidade foi maior no caso em que se variou a condutância sináptica.

As Figuras 54 e 55 mostram a corrente efetiva e o espectro de frequência do modelo de motoneurônio FR com dendrito ativo e dendrito passivo nos dois protocolos (variando a condutância e variando a corrente).

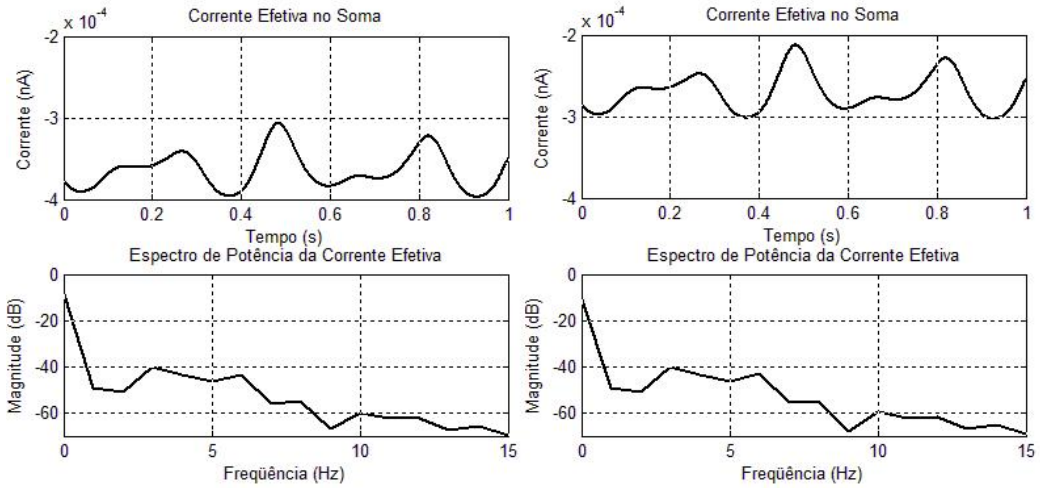

Figura 54: Mn tipo FR - Variando a condutância. Corrente efetiva (gráfico superior) e seu espectro de potência (gráfico inferior). À direita modelo passivo e a esquerda modelo ativo.

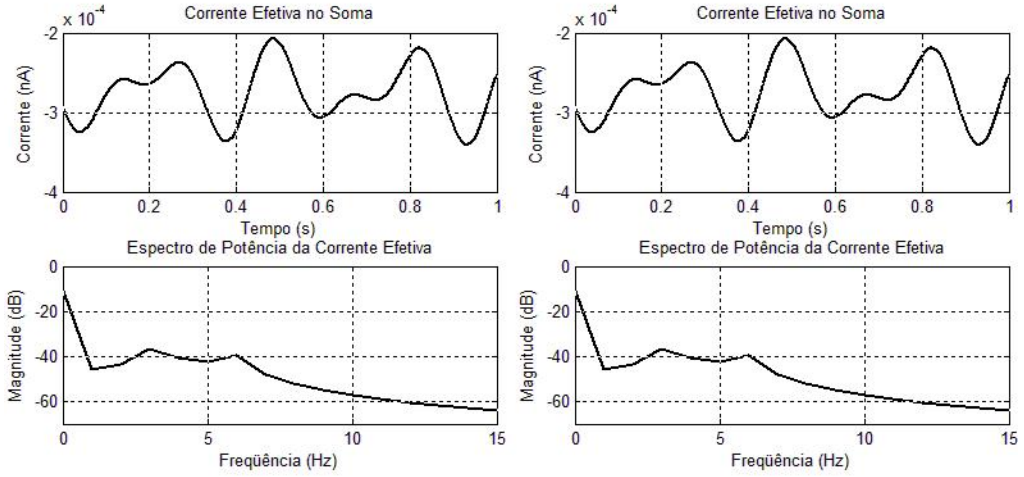

Figura 55: Mn tipo FR - Variando a corrente. Corrente efetiva (gráfico superior) e seu espectro de potência (gráfico inferior). À direita modelo passivo e a esquerda modelo ativo.

Ao analisarmos a diferença entre as raias espúrias deste caso e em outros casos onde foi aplicando potencial pós-senoidal em apenas um único ramo dendrítico notamos que, quando se variou a condutância sináptica, maior foi o grau de não linearidade em relação aos casos em que se variou a corrente sináptica. Isso ocorre devido a uma maior influencia da dependência do potencial de membrana do compartimento dendrítico. As figuras 56, 57 mostram a diferença normalizada entre as raias espúrias e a menor frequência fundamental. Observa-se o efeito para o motoneurônio tipo FR, no qual foi aplicado potencial pós-sináptico em apenas um único

ramo dendrítico nos compartimentos 12 e 13. Apesar de não mostrados aqui, estes resultados se aplicam aos outros modelos.

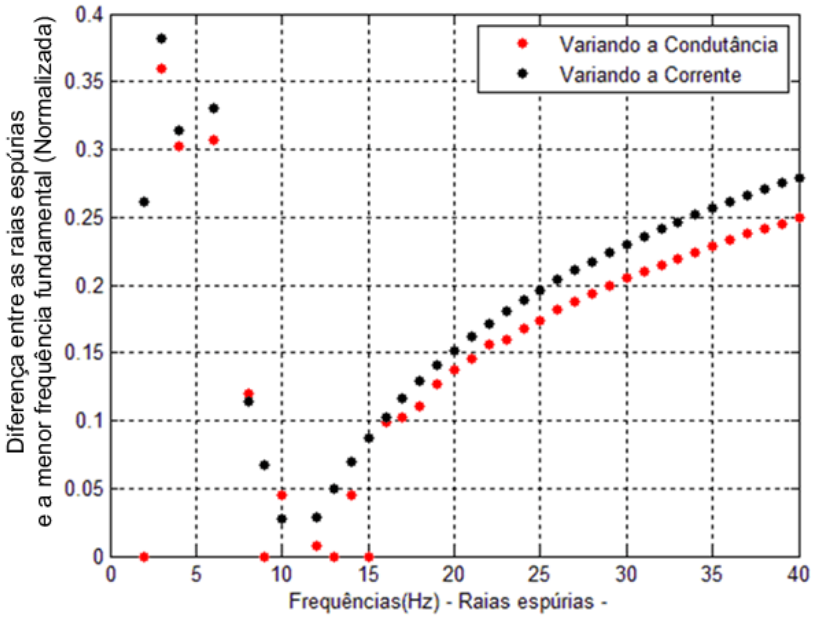

Figura 56: MN tipo FR com dendritos passivo

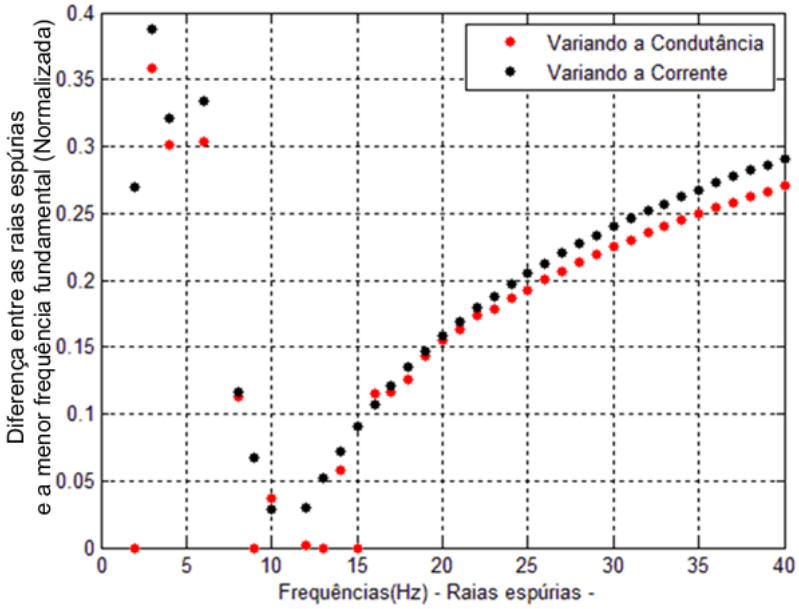

Figura 57: MN tipo FR com dendritos ativo

Dessa forma, percebemos que, devido à geometria do modelo em questão, as interações não lineares sofreram efeitos diferentes quando aplicadas entradas sinápticas em mais de um dendrito. Neste caso, as propriedades de cabo do dendrito parecem ser responsáveis em introduzir não linearidades na corrente efetiva.

A situação de maior não linearidade variando a condutância somente ocorrerá para sinapses em um mesmo ramo dendrítico e, quanto mais próximos os compartimentos estimulados, maior esta não linearidade. Estando em um mesmo ramo dendrítico, uma entrada sináptica em um dado compartimento vai afetar o potencial de membrana de um compartimento vizinho. Para entradas sinápticas em ramos dendríticos distintos, isto não ocorre porque a entrada sináptica em um ramo não vai afetar o potencial de membrana no outro ramo.

Nestes casos, a diferença de potencial entre o potencial de equilíbrio e o potencial de membrana em um determinado instante parece ser responsável pelas não linearidades na corrente efetiva, efeito que pode ser observado pela maior não linearidade nos casos nos quais variamos a condutância sináptica.

6 Conclusão

Diferentes modelos de motoneurônios foram construídos no decorrer das últimas décadas. Observamos que diferentes autores conseguiram, de forma variada, representar os mesmos fenômenos (POWERS, 1993; BOOTH; RINZEL; KIEHN, 1997; DAI, 2002), contudo, cada modelo apresenta suas limitações e suas contribuições.

Todos os objetivos propostos neste trabalho foram alcançados com êxito. Ampliamos o modelo original desenvolvido por Vieira e Kohn (2007), realizamos os estudos a fim de verificar as diferenças funcionais entre os compartimentos proximais e distais, implementamos canais persistentes de entrada de Ca^{2+}, parametrizamos os modelos de MN tipo FR e tipo S e, por fim, avaliamos as interações não lineares na arborização dendrítica em ambos os modelos (dendritos com canais passivos e dendritos com canais ativos).

Foram evidenciados, no decorrer do trabalho, os resultados encontrados em cada caso avaliado. Em conclusão, pautaremos nossos objetivos iniciais.

Verificando as diferenças funcionais entre as sinapses proximais e distais, em relação ao soma, conclui-se que a atenuação varia dependendo do tipo de MN seguindo a relação tipo S maior que o tipo FR, que por sua vez, é maior que o tipo FF, sendo maior para sinapses em segmentos dendríticos mais distais. Os resultados sugerem que, em modelos passivos, sinapses ativas a altas frequências devem estar localizadas mais próximas do soma. Observamos que um potencial excitatório pós-sináptico, ao se propagar para o soma, sofre um decréscimo na amplitude devido à corrente de fuga pela membrana e ao efeito de filtragem passa-baixas.

Para a verificação da influência dos canais persistentes de cálcio tipo L, existentes nos dendritos em relação à amplificação sináptica, os parâmetros da condutância de Ca^{2+} foram ajustados de modo que os modelos representassem as características da curva I-V experimental, tendo em vista o intuito de verificar a amplificação sináptica e avaliar as interações não lineares na arborização dendrítica.

Para um estudo mais detalhado, seria necessário também parametrizar a curva *f/I* para que os modelos fossem capazes de reproduzir características que diferenciam melhor para células parcialmente e totalmente biestável (LEE; HECKMAN, 1998b). Entretanto, é importante destacar que os valores da corrente persistente de entrada estão dentro da faixa reportada na literatura experimental (LEE;

HECKMAN, 1998a; 1999), garantindo a qualidade das simulações em relação a dados experimentais. Sabemos ainda que existem outras condutâncias que contribuem para a PIC. No entanto, trabalhos teóricos têm usado apenas condutância de Ca^{2+} sendo suficiente para reproduzir as características biestáveis do motoneurônio (ELBASIOUNY; BENNETT; MUSHAHWAR, 2005).

Desta forma, evidenciamos que os modelos de motoneurônio com corrente de entradas persistente nos dendritos foram capazes de apresentar o fenômeno de amplificação sináptica na corrente efetiva calculada entre o soma e o segmento inicial. Esse fenômeno é importante visto que há a possibilidade de uma pequena entrada sináptica ocorrer em algum segmento dendrito e ser amplificada pela PIC dendrítica e, assim, conseguir alcançar o soma, com efeitos semelhantes a entradas sinápticas mais próximas do soma.

Em relação à avaliação das interações não lineares entre ativações sinápticas nos dendritos equivalentes, as simulações sugerem que as integrações dos potenciais pós-sinápticos ocorrem de forma não linear, ou seja, uma vez originados em lugares que são eletrotonicamente distantes entre si esses potenciais apresentam um alto grau de não linearidade.

Os resultados indicam uma dependência do potencial de membrana, tendo em vista que, a variação na condutância sináptica apresentou maior grau de não linearidade em relação aos casos em que se variou a corrente sináptica nos casos nos quais as entradas sinápticas ocorreram em um mesmo ramo dendrítico.

Entretanto, em casos nos quais as entradas sinápticas ocorreram em dendritos diferentes os resultados em sua maioria foram opostos ao citado a cima, ou seja, apresentaram maior grau de não linearidade nos casos onde variou-se a corrente sináptica em relação aos casos onde variou-se a condutância sináptica, sugerindo uma dependência das propriedades de cabo do dendrito.

Os modelos propostos ainda apresentam algumas limitações, sem perder de vista suas contribuições. A maior limitação dos modelos atuais é sua complexidade, o que dificulta sua utilização em uma grande rede neuronal, pelo alto custo em processamento devido ao grande número de equações diferenciais.

Entretanto, a modelagem de um *pool* de motoneurônios, apesar de um grande desafio, é importante, pois tornaria possível a realização de diferentes estudos para avaliar o comportamento do disparo simultâneo de diversos motoneurônios.

Trabalhamos na transcrição dos modelos, atualmente em C++ para a linguagem Java™. O trabalho que está em desenvolvimento visa aumentar a flexibilidade na construção de um único motoneurônio ou uma rede neuronal, facilitar a inclusão de novos canais nos dendritos e no soma, além de aperfeiçoar a dinâmica do cálcio no citoplasma que influencia bastante o disparo repetitivo do modelo.

Será possível, de forma mais simples, alterar a quantidade de dendritos, compartimentos, tipo de motoneurônio, canais ativos e passivos, entradas excitatórias e inibitórias, e quantidade de motoneurônios interligados, conforme a simulação desejada.

Destacamos a utilização dos modelos em futuros estudos com novos canais ativos nos dendritos, como os canais de sódio persistentes, que possivelmente contribuem na geração da PIC (HECKMAN, et al. 2008), verificando a influência das correntes de entrada persistente sobre entradas sinápticas excitatórias e inibitórias que já estão implementadas nos modelos atuais e não foram ainda estudadas, e estudando o fenômeno de variabilidade no intervalo entre disparos, bem como o fenômeno de biestabilidade via entradas sinápticas, entre outras possibilidades.

Referências

ARADI, I.; HOLMES, W. R. Role of multiple calcium and calcium-dependent conductances in regulation of hippocampal dentate granule cell excitability. *Journal of Computational Neuroscience*, v.6, p. 215-235, 1999.

BALDISSERA, F.; CAMPADELLI, P.; PICCINELLI, L. The dynamic response of cat gastrocnemius motor units investigated by ramp-current injection into their motoneurones. *Journal of Physiology*, v. 387, p. 317-330, 1987.

_____. The dynamic response of cat α-motoneurones investigated by intracellular injection of sinusoidal currents. *Experimental Brain Research*, v.54, p.275-282, 1984.

BALDISSERA, F.; GUSTAFSSON, B. Afterhyperpolarization time course in lumbar motoneurones of the cat. *Acta Physiologica Scandinavia*, v. 91, p. 512-527, 1974a.

_____. Firing behavior of a neuron model based on the afterhyperpolarization conductance time-course. First interval firing. *Acta Physiologica Scandinavia*, v. 91, p. 528-544, 1974b.

BRODIN, L. et al. Computer simulations of N-Methyl-D-Aspartate receptor-induced membrane properties in a neuron model. *Journal of Neurophysiology*, v. 66, n. 2, p. 473-484, 1991.

BOOTH, V.; RINZEL, J.,KIEHN, O. Compartmental model of vertebrate motoneurons for Ca2+- dependent spiking and plateau potentials under pharmacological treatment. *Journal of Neurophysiology*, v.78, n. 6, p. 3371-3385, 1997.

CARLIN, K. P. et al. Staircase currents in motoneurons: insight into the spatial arrangement of calcium channels in the dendritic tree. *Journal of Neuroscience*, v. 29, n.16, p. 5343-5353, 2009.

CULLHEIM, S. et al. Membrane area and dendritic structure in type-identified triceps surae alpha motoneurons. *Journal of Comparative Neurology*, v. 255, p. 68-81, 1987.

DAI, Y. et al. A modeling study of locomotion-induced hyperpolarization of voltage threshold in cat lumbar motoneurones. *Journal of Physiology-London*, v. 544, n. 2, p. 521-536, 2002.

ELBASIOUNY, S. M.; BENNETT, D.J.; MUSHAHWAR, V. K. Simulation of dendritic $Ca_v1.3$ channel in cat lumbar motoneurons spatial distribution. *Journal of Neurophysiology*, v. 94, p. 3961-3974, 2005.

FLESHMAN, J.W. et al. Rheobase, input resistance, and motor-unit type in medial gastrocnemius motoneurons in the cat. *Journal of Neurophysiology*, v. 46, p. 1326-1338, 1981.

FLESHMAN, J. W.; SEGEV, I.; BURKE, R. E. Electronic architecture of type-identified α-motoneurons in the cat spinal cord. *Journal of Neurophysiology*, v. 60, n. 1, p. 60-85, 1988.

GRANDE, G.; BUI, T. V.; ROSE, P. K. Effect of localized innervations of the dendritic trees of feline motoneurons on the amplification of synaptic input: a computational study. *Journal of Physiology*, v. 583, p. 611-630, 2007.

HECKMAN, C. J. et al. Persistent inward currents in spinal motoneurons and their influence on human motoneuron firing patterns. *Neuroscientist*, v. 14, n. 3, p. 264-275, 2008.

HECKMAN, C. J.; LEE, R. H. Motor neurobiology of the spinal cord. Cap. 4, 2001, HILLE, B. *Ionic Channels of Excitable Membranes*. 1991

HODGKIN, A. L.; HUXLEY, A. F. A quantative description of membrane current and ists application to conduction and excitation in nerve. *Journal of Physiology*, v. 116, p. 500-544, 1952.

HOUNSGAARD, J.; MINTZ, I. Calcium conductance and firing properties of spinal motoneurones in the turtle. *Journal of Physiology-London* ,v. 398, p. 591-603, 1988.

HOUNSGAARD, J.; KIEHN, O. Serotonin-induced bistability of turtle motoneurones caused by a nifedipine-sensitive calcium plateau potential. *Journal of Physiology-London*, v. 414, p. 265-282, 1989.

HSIAO, C. F.; et al. Ionic basis for serotonin-induced bistable membrane properties in guinea pig trigeminal motoneurons. *Journal of Neurophysiology*, v. 79, n. 6 p. 2847-2856, 1998.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H., JESSELL, T. M. Principles of neural science, *McGraw-Hill Companies*, United States, p. 106-227, 2000.

KERNELL, D., The motoneurone and its muscle fibres, *Oxford University Press*, United States, p. 79-132. 2006

_____. High-frequency repetitive firing of cat lumbosacral motoneurones stimulated by long-lasting injected currentes. *Acta Physiologica Scandinavia*, v. 65, p. 74-86, 1965a.

_____. Limits of firing frequency in cat lumbosacral motoneurones possessing different time course of afterhyperpolarization. *Acta Physiologica Scandinavica*, v. 65, n. 1-2 87-&, 1965c.

KIEHN, O. Plateau potentials and active integration in the final common pathway for motor behavior. *Trends in Neurosciences*, v. 14, n. 2, p. 68-73, 1991.

KIEHN, O.; EKEN, T. Functional role of plateau potentials in vertebrate motor neurons. *Current Opinion in Neurobiology*, v. 8, n. 6, p. 746-752, 1998.

KOCH, C.; SEGEV, I. Cable theory for dendritic neurons. In: Bradford *Methods in neuronal modeling*. Massachusetts: Rall, W. e Snir, H.A., 1999. p.27-92.

LEE, R. H.; HECKMAN, C. J. Influence of voltage-sensitive dendritic conductances on bistable firing and effective synaptic current in cat spinal motoneurons in vivo. *Journal of Neurophysiology*, v. 76, n. 3 p. 2107-2110, 1996.

_____. Bistability in spinal motoneurons in vivo: systematic variations in persistent inward currents. *Journal of Neurophysiology*, v. 80, n. 2, p. 583-593, 1998a.

_____. Bistability in spinal motoneurons in vivo: systematic variations in rhythmic firing patterns. *Journal of Neurophysiology*, v. 80, n. 2, p. 572-582, 1998b.

_____. Paradoxical effect of QX-314 on persistent inward currents and bistable behavior in spinal motoneurons in vivo. *Journal of Neurophysiology*, v. 82, n. 5, p. 2518-2527, 1999.

MCLARNON, J.G. Potassium currentes in motoneurones. *Progress in Neurobiology*, v. 47, p. 513-531, 1995.

JOHNSTON, D.;WU, S. M. Functional properties of dendrites. In: Bradford *Foundations of cellular neurophysiology*. Massachusetts, p. 55-120, 1995.

JONES, K. E.; BAWA, P. A comparison of human motoneuron data to simulated data using cat motoneuron models, *Journal Physiology*, Paris, v. 93, p. 43-59, 1999.

JONES, K. E. et al. Simulation techniques for localizing and indentifying the kinetics of calcium channels in dendritic neurones, *Neurocomputing*, v. 32-33, p. 173-180, 2000.

POWES, R. K. A variable-threshold motoneuron model that incorporates time and voltage-dependent potassium and calcium conductances. *Journal of Neurophysiology*, v. 70, p. 246-262, 1993.

RALL, W. Theorical significance of dendritic trees for neuronal input-output relations. Reiss RF (ed) *Neural Theory and modeling.* Palo Alto, Stanford University Press, 1964.

_____ Distinguishing theoretical synaptic potentials computed for different soma-dendritic distributions of synaptic input. *Journal Neurophysiology*, v. 30, p. 1138-68,1967.

REKLING, J. C.; FELDMAN, J. L. Calcium-dependent plateau potentials in rostral ambiguus neurons in the newborn mouse brain stem in vitro. *Journal of Neurophysiology*, v. 78, n. 5, p. 2483-2492, 1997.

REKLING, J. C. et al. Synaptic control of motoneuronal excitability. *Physiological Reviews*, v. 2, n. 80, p.767-852, 2000.

SALA, F.; HERNÁNDEZ-CRUZ, A. Calcium diffusion modeling in a spherical neuron relevance of buffering properties. *Journal of Biophysical*, v. 57, n. 6 p.313-324, 1990.

SCHWINDT, P. C.; CRILL, W. E. Properties of a persistent Inward current in normal and tea- injected moto-neurons. *Journal of Neurophysiology*, v. 43, n. 6 p.1700-1724, 1980.

SCHWINDT, P. C.et al. Factors influencing moto-neuron rhythmic firing - results from a voltage-clamp study. *Journal of Neurophysiology*, v. 48, n. 4, p. 875-890, 1982.

_____. Membrane-potential trajectories underlying motoneuron rhythmic firing at high rates. *Journal of Neurophysiology*, v.36, p.434-439, 1973.

TRAUB, R.D. Motorneurons of different geometry and the size principle. *Biological Cybernetics*, v. 25, p. 163-176, 1977.

TRAUB, R. D.; LLINÁS, R. The spatial distribution of ionic conductances in normal and axotomized motorneurons. *Neuroscience*, v. 2, p. 829-849, 1977.

VIANA, F.; BAYLISS, A.; BERGER, A. J. Multiple potassium conductances and their role in action potential repolarization and repetitive firing behaviour of neonatal rat hypoglossal motoneurones. *Journal of Neurophysiology*, v. 69, p. 2150-2163, 1993.

VIEIRA, M. F.; KOHN, A. F., Compartmental models of mammalian motoneurons of types S, FR and FF and their computer simulation, *Computers in Biology and Medicine*, v.37, p.842-860, 2007.

_____. Interações não lineares entre sítio dendríticos em modelos de motoneurônios com dendrito passivo, *III Congresso Latino Americano de Engenharia Biomédica*, v. 5(1): p. 1443-1446, 2004.

ZENGEL, J. E. et al. Membrane electrical properties and prediction of motor-unit type of medial gastrocnemius motoneurons in the cat, *Journal of Neurophysiology*, U.S.A, v. 53, n. 5, 1985.

ZHANG, B.; WOOTTON, J. F.; HARRISWARRICK, R. M. Calcium-dependent plateau potentials in a crab stomatogastric ganglion motor-neuron .2. Calcium-activated slow inward current. *Journal of Neurophysiology*, v. 74, n. 5, p. 1938-1946, 1995.