

Artigo Original

Recebido em 28/07/2004 e aceito em 15/04/2005

**Modelos de motoneurônios
tipos S, FR e FF**

*Models of types S, FR
and FF motoneurons*

Marcus Fraga Vieira

Faculdade de Educação Física,
Universidade Federal de Goiás, Brasil

André Fabio Kohn

Laboratório de Engenharia Biomédica e
Programa de Neurociência
Escola Politécnica, PTC,
Universidade de São Paulo
CEP 05424-970 São Paulo, SP, Brasil
Tel: (11) 3091-5535
Fax: (11) 3091-5718
E-mail: andfkohn@leeb.usp.br

Resumo

Modelos matemáticos dos três principais tipos de motoneurônios, tipos S, FR e FF, foram desenvolvidos baseados em dados de motoneurônios de gatos. Os três tipos de motoneurônios foram modelados independentemente, cada um com um conjunto de parâmetros próprio. Em relação a outros modelos da literatura, houve a inclusão de novos canais iônicos no soma, visando aumentar a representatividade de comportamentos de motoneurônios reais. Incluiu-se modelagem para as correntes de potássio lentas, para as correntes de cálcio e para as correntes de potássio dependentes de cálcio. Com essas adições, a hiperpolarização que segue um disparo de potencial de ação, AHP ("afterhyperpolarization"), passou a apresentar somação e adaptação, que contribuem de forma importante para o comportamento dinâmico dos motoneurônios. A árvore dendrítica foi modelada como uma estrutura passiva, apresentando uma diminuição no diâmetro do modelo do cabo equivalente no sentido distal. Um conjunto de resultados experimentais da literatura serviu de base para a validação dos modelos. Na comparação com esses resultados, notou-se que os modelos propostos apresentam uma reprodução apropriada de fenômenos como i a AHP, ii a dependência linear entre corrente injetada no soma e frequência de disparo, iii a adaptação da frequência de disparo a uma corrente em degrau injetada no soma, iv a resposta a rampas de corrente injetadas no soma, exibindo sensibilidade tanto à velocidade da rampa quanto ao valor do patamar que segue a rampa, v uma relação crescente entre a frequência da corrente senoidal injetada e a frequência de modulação do trem de disparos. Com esses atributos os modelos podem ser usados para estudos do comportamento motoneuronal para diferentes tipos de entradas, por exemplo, para entender codificação neuronal tanto no contexto de um único motoneurônio quanto de uma rede destes.

Palavras Chave: Modelos biofísicos de motoneurônios, Modelos de motoneurônios, Modelos tipo S, FR e FF, Validação de modelos neuronais.

Abstract

Three mathematical models were developed to represent the physiological responses of cat motoneurons of types S, FR and FF. Each model is characterized by its own set of parameters. Ionic channels included in the soma were associated with the slow potassium currents, the calcium currents and the calcium-dependent potassium currents. The resulting afterhyperpolarization (AHP) dynamics in each model exhibited summation and adaptation similar to those found in real motoneurons. The dendritic tree was modeled as a passive structure using a tapering cable model. The new models were subjected to a comprehensive battery of tests that were useful for their final evaluation. The validation results indicated that the proposed models represented well phenomena such as: i the AHP, ii the linear dependence between current injected in the soma and the motoneuron firing rate, iii the firing rate adaptation to a current step injected in the soma, iv sensitivity to both ramp velocity and plateau level for ramp-and-hold injected currents to the soma, v an increasing relation between the frequency of a sinusoidal injected current and the firing rate modulation. The new models should be useful in studies of neuronal coding either at the single cell level or at the neuronal network level.

Keywords: Biophysical models of motoneurons, Motoneuron models, Neuronal model validation, Types S, FR, and FF models.

Extended Abstract

Introduction

The motoneurons (MNs) are the interface between the central nervous system and the muscle fibers. Therefore, their static and dynamic behaviors are relevant in defining the “language” employed by the nervous system to control the muscles. Vertebrate motoneuron models have been developed at least for the last 30 years, for different purposes. When the objective was to study a wide range of phenomena at the neuronal level, a biophysically realistic, rather complex, motoneuron model was developed (Traub, 1977; Traub and Llinas, 1977; Jones and Bawa, 1997; Jones and Bawa, 1999). Less complex models were developed to answer simpler or more focused questions (Baldissera and Gustafsson, 1974c; Baldissera and Gustafsson, 1974a; Baldissera and Gustafsson, 1974b; Powers, 1993; Booth et al., 1997; Capaday, 2002). The objective of the present work was to develop mathematical models of mammalian motoneurons to be used in studies of the fine behavior of single motoneurons under different physiological conditions.

Methods

Development of the S, FR and FF Models - All structural and dynamic data for the model building and validation were obtained from cat experimental literature. The basic structure for the S and FR motoneuron types departed from the respective models developed in (Jones and Bawa, 1997; Jones and Bawa, 1999). The new models contained ionic currents that represented the slow potassium dynamics, the calcium dynamics and the calcium dependent potassium dynamics. To complete the set, a model for type FF motoneurons was also developed. A battery of tests was applied to several of the existing motoneuron models and the results gave several clues as to the types of required improvements. Each dendritic compartment is represented as a cylinder, the soma is represented as an equivalent sphere and the initial segment is represented as a cylinder. From the electrical circuit of the equivalent dendritic cable, it is straightforward to obtain the differential equations relating the membrane potentials at each of the dendritic compartments with respect to those of its immediate neighbors. To mimic real motoneurons (Binder et al., 1996), the mathematical model of the soma represents several voltage-dependent ionic conductances. The general differential equation relating the soma membrane potential to the other variables can be derived from the basic electrical circuit model:

$$C_s \frac{dV_s}{dt} = g_{l,s}(E_{l,s} - V_s) + \sum_i g_i(E_i - V_s) + g_{s,d_o}(V_{d_o} - V_s) + g_{s,i_s}(V_{i_s} - V_s)$$

where V_s is the soma membrane potential, $g_{l,s}$ is the leakage conductance, $E_{l,s}$ is the resting membrane potential, g_i are the ionic conductances (each i indicating a different ion), E_i are the Nernst potentials of each ion, g_{s,d_o} is the coupling conductance between the soma (s) and the first dendritic compartment d_o , V_{d_o} is the membrane potential at dendritic compartment d_o , g_{s,i_s} is the coupling conductance between the initial segment (is) and the soma (s) and V_{i_s} is the membrane potential of the initial segment. A similar equation describes the initial segment, except that it does not have the current input from dendritic compartment d_o and it has fewer types of ionic channels, as will be described later. The specific equations and associated

parameters for the model variables may be found in the main text in equations 2 to 16.

Dendritic Tree: The first compartment of the S (FR) MN equivalent dendrite had a 25 μ m (40 μ m) diameter and a 500 μ m (500 μ m) length. The final compartment had a 0.63 μ m (1 μ m) diameter and a 125 μ m (100 μ m) length. There were 17 (19) compartments with a total length of 7,000 μ m (6,675 μ m) in the S (FR) MN model equivalent dendritic cable, both ending with a sealed end. The passive dendritic parameters were taken from (Fleshman et al., 1988) using the step model: specific membrane resistivity 20,000 Ω cm² (11,000 Ω cm²) in the dendrites and 700 Ω cm² (225 Ω cm²) in the soma and initial segment for the S (FR) MN. For both models, the specific membrane capacitance was 1.0 F/cm² and the specific cytoplasmic resistivity was 70 Ω cm.

To construct the type FF MN dendritic model we used experimental results from neuron 41/2 described in (Cullheim et al., 1987; Fleshman et al., 1988). The equivalent tapering cable resulted with a total length of 6,650 μ m. This length was represented by 19 compartments in a row, the first with 35 μ m in diameter and 500 μ m in length, and the last with 0.5 μ m in diameter and 100 μ m in length. The passive dendritic parameters were taken from (Fleshman et al., 1988) using the step model: specific membrane resistivity 20,000 Ω cm² in the dendrites and 70 Ω cm² in the soma and initial segment. The specific membrane capacitance was 1.0 F/cm² and the specific cytoplasmic resistivity was 70 Ω cm.

Results

The resistance measured from the soma of the S, FR and FF models were 3.22 M Ω , 1.24 M Ω and 0.69 M Ω , respectively. These values reproduce experimental results from cat lumbar motoneurons: the data for the 35/4, 43/5 and 41/2 (Fleshman et al., 1988) were 4.2 M Ω , 1.4 M Ω and 0.7 M Ω . The membrane time constants for the S, FR and FF models resulted 12.8 ms, 6.9 ms and 7.2 ms, respectively. These values are within the ranges measured by Fleshman et al (1988): 13.0 ms, 6.8 ms and 6.9 ms. A comparison of measured model parameters with those found in the experimental literature may be found in Tables 1 to 5. The results of static and dynamic tests are shown in Figures 3-7 and suggest that the models are able to represent the main physiological features of cat motoneurons.

Discussion and Conclusion

This work has presented mathematical models of intermediate complexity for the three main types of mammalian motoneurons. The model validation included comparisons of basic parameter values as well as static and dynamic behaviors with those found in biology (Powers and Binder, 2001). The model complexity is well suited for investigations of many single neuron phenomena such as nonlinear dendritic interactions, action potential backpropagation on the dendritic tree, spike train variability due to synaptic bombardment on the dendritic tree and effects of synaptic input synchrony on the motoneuron spike train statistics (Capaday, 2002; Kohn and Vieira, 2002). The new models should also be suitable for use in simulators of the behavior of motoneuron pools, if they are implemented in reasonably fast machines and use optimized code. Such simulators, to be reasonably realistic at the neuronal level, should employ motoneuron models that include a representation of the main types of ionic channels as well as the spatio-temporal transformation enacted by dendrites. The new models satisfy these requirements.

Introdução

O motoneurônio é o elemento de interface entre o sistema nervoso e as fibras musculares. Conhecer a “linguagem” por meio da qual o motoneurônio transforma os comandos de entrada originados no sistema nervoso central em comandos para os músculos é importante para a ciência que estuda o controle motor, envolvendo o conhecimento das propriedades estáticas e dinâmicas do motoneurônio enquanto célula excitável. Relações e dados obtidos da análise do comportamento de modelos matemáticos fornecem importantes contribuições na elucidação desta “linguagem”. Neste aspecto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver modelos matemáticos que reproduzissem tanto quanto possível a neurofisiologia de cada um dos três tipos de motoneurônio (S, FR e FF) encontrados em gatos. Desta forma, a modelagem apresentada neste trabalho tentou levar em conta tanto características geométricas quanto biofísicas destas células, com um compromisso entre a realidade biológica e o tempo necessário para a simulação dos modelos. Modelos publicados por outros pesquisadores serviram de ponto de partida para os novos modelos aqui propostos.

O modelo de Traub (1977) foi o primeiro a apresentar diferentes geometrias para diferentes tipos de motoneurônios com a finalidade de estudar sua relação com a resistência de entrada e com propriedades de disparos repetitivos. Uma extensão desse modelo (Traub e Llinas, 1977) consistiu na modelagem de condutâncias ativas nos dendritos.

O modelo de Booth *et al.* (1997) contendo vários tipos de condutâncias foi desenvolvido baseado em dados de motoneurônios de tartarugas a fim de investigar o papel de determinadas correntes iônicas e os efeitos da distribuição destas correntes no soma e nos dendritos na geração de complexos padrões de disparos, tais como platôs dependentes de cálcio. Apesar de ter comportamentos interessantes, não é apropriado para modelar motoneurônios de gatos.

Os modelos de Jones e Bawa (1997, 1999) para os motoneurônio tipo S e FR, são modelos compartimentais com segmentos que representam o soma, o segmento inicial e os dendritos, e cujos parâmetros foram obtidos com base em dados de motoneurônios lombo-sacrais de gatos.

Mais recentemente, (Dai *et al.*, 2002) propuseram um modelo multicompartmental de motoneurônios, com nove correntes iônicas ativas no soma, e canais iônicos ativos no segmento inicial, no axônio e nos dendritos. Os autores empregaram dados experimentais de várias espécies (ratos adultos, lampreia, ratos neonatais, por-

cos-da-Índia e gato) e de diversos tipos de neurônios (motoneurônios lombares e do núcleo hipoglossal, neurônios hipocámpais e piramidais) para determinar os parâmetros do modelo. Entretanto, a extensa literatura de fisiologia e biofísica evidencia que diferentes espécies de animais e diferentes tipos de neurônios podem apresentar tipos e dinâmicas de canais iônicos muito diferentes, o que torna bastante duvidosa a utilidade de um modelo baseado em dados de tamanha diversidade de espécies e tipos neuronais.

Em outro trabalho recente, McIntyre e Grill (2002) apresentaram um modelo complexo de motoneurônio, com a maior parte dos dados extraída da literatura relativa a motoneurônios lombo-sacrais do gato. Entretanto, duas características neste modelo merecem atenção: o tempo necessário para as simulações é extremamente longo devido à complexidade do modelo (há 535 compartimentos), e a ausência de uma validação apropriada no que tange seu comportamento dinâmico, isto é, resposta à injeção de correntes que variam no tempo.

Num extremo oposto, há vários modelos na literatura em que o enfoque foi conseguir reproduzir, com um modelo matemático simples, algumas poucas características básicas de motoneurônios reais (Baldissera e Gustafsson, 1974c; Baldissera e Gustafsson, 1974a; Baldissera e Gustafsson, 1974b; Powers, 1993; Booth *et al.*, 1997; Capaday, 2002).

Os novos modelos aqui apresentados tentam balancear o grau de detalhamento biofísico e geométrico com o grau de complexidade dos modelos, visando assim um compromisso entre a representatividade fisiológica e o tempo de simulação computacional. Na etapa de validação, adotamos um conjunto mais abrangente de testes e dados experimentais do que os descritos por outros autores.

Metodologia

Construção dos Modelos de Motoneurônios

Tipo S, FR e FF

Os modelos tipo S e FR propostos derivaram, em parte, dos modelos desenvolvidos por Jones e Bawa (1997, 1999), que não modelaram o motoneurônio tipo FF. Entretanto, os novos modelos propostos para motoneurônios tipo S e F contém canais iônicos completamente diferentes e com descrição biofísicamente mais realista do que os propostos por Jones e Bawa (1997, 1999). Finalmente, para completar a modelagem matemática dos três principais tipos de motoneurônios, propusemos um modelo para o motoneurônio tipo FF.

A fim de levantar informações que servissem de guia no desenvolvimento dos modelos propostos, um conjunto de testes foi adotado e aplicado a vários modelos de motoneurônios existentes (Goroso *et al.*, 2000).

A estrutura geral de cada um dos modelos propostos é mostrada na Figura 1. O soma é representado por uma esfera e o segmento inicial é representado por um cilindro fechado.

Para reproduzir as características do motoneurônio real, o modelo matemático do soma apresenta várias condutâncias iônicas dependentes da voltagem. A equação que fornece o potencial de membrana do soma é obtida da análise do circuito equivalente (Figura 1),

$$\frac{dV_s}{dt} = \frac{1}{C_s} \left[g_{l,s}(E_{l,s} - V_s) + \sum_i g_i(E_i - V_s) + \sum_i g_i(E_i - V_s) + g_{s,d_0}(V_{d_0} - V_s) + g_{s,is}(V_{is} - V_s) \right] \quad (1)$$

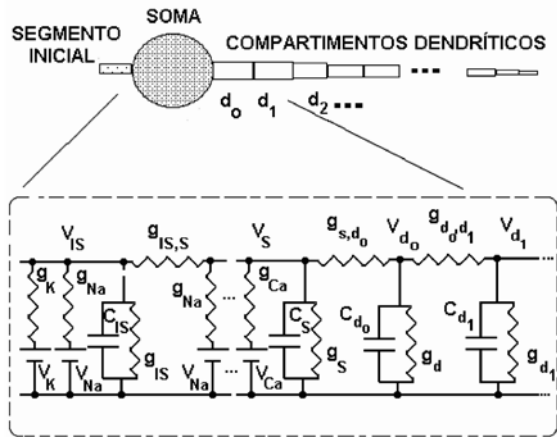


Figura 1. Esquema geral dos modelos de motoneurônios propostos, mostrando representação por cilindros para o segmento inicial e para os vários compartimentos dendríticos e representação por esfera para o soma. O circuito elétrico equivalente para o soma (S) o segmento inicial (IS) e os dois primeiros compartimentos dendríticos são mostrados. O soma e o segmento inicial são modelados pela associação em paralelo de uma capacitância e várias condutâncias dependentes da voltagem (aqui mostramos apenas duas no soma), cada uma delas em série com uma bateria. **Figure 1.** General structure of each motoneuron model. Cylinders are used to represent the initial segment and the dendritic compartments. The soma is represented as a sphere. The electric circuit description for the soma (S), the initial segment (IS) and the initial dendritic compartments are shown below. The soma and initial segment are modeled by a parallel association of a capacitance and several voltage-dependent conductances (only two are shown in the soma), each one in series with a battery.

na qual V_s é o potencial de membrana no soma, $g_{l,s}$ é a condutância de fuga, $E_{l,s}$ é o potencial de membrana de repouso, g_i são as condutâncias iônicas (cada íon indicado por um diferente valor para i), E_i são os potenciais de Nernst de cada íon, g_{s,d_0} é a condutância de acoplamento entre o soma (s) e o compartimento dendrítico d_0 , V_{d_0} é o potencial de membrana do compartimento dendrítico d_0 , $g_{s,is}$ é a condutância de acoplamento entre o segmento inicial (is) e o soma (s) e V_{is} é o potencial de membrana do segmento inicial. Uma equação semelhante fornece o potencial de membrana do segmento inicial, exceto pelo fato de não conter correntes advindas do compartimento dendrítico d_0 e possuir um número menor de canais iônicos.

Dendrito Equivalente - A geometria do dendrito equivalente para os modelos tipo S e FR foi semelhante àquela adotada em Jones e Bawa (1997, 1999), baseada em dados experimentais de (Cullheim *et al.*, 1987; Fleshman *et al.*, 1988). O primeiro compartimento do dendrito equivalente do motoneurônio tipo S (FR) tem 25 μm (40 μm) de diâmetro e 500 μm (500 μm) de comprimento. O compartimento final tem 0,63 μm (1 μm) de diâmetro e 125 μm (100 μm) de comprimento. O dendrito equivalente possui 17 (19) compartimentos com um comprimento eletrotônico total de 7.000 μm (6.675 μm) no modelo tipo S (FR), ambos terminando em uma extremidade selada. Os parâmetros dendríticos passivos foram extraídos de (Fleshman *et al.*, 1988), a partir do modelo em degrau: resistividade específica da membrana 20.000 Ωcm^2 (11.000 Ωcm^2) no dendrito e 700 Ωcm^2 (225 Ωcm^2) no soma e segmento inicial para os modelos tipo S (FR). Em ambos os modelos a capacitância específica da membrana foi de 1,0 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ e a resistividade citoplasmática específica de 70 Ωcm .

Para modelar o dendrito equivalente do motoneurônio tipo FF usamos os resultados experimentais relativos à célula 41/2 descritos em (Cullheim *et al.*, 1987; Fleshman *et al.*, 1988). O cabo equivalente resultou em um comprimento total de 6.650 μm , representado por 19 compartimentos adjacentes, o primeiro com 35 μm de diâmetro e 500 μm de comprimento, e o último selado com 0,5 μm de diâmetro e 100 μm de comprimento. Os parâmetros dendríticos passivos foram extraídos de (Fleshman *et al.*, 1988), a partir do modelo em degrau: resistividade específica da membrana 20.000 Ωcm^2 nos dendritos e 70 Ωcm^2 no soma e segmento inicial. A capacitância específica da membrana foi de 1,0 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ e a resistividade específica citoplasmática de 70 Ωcm .

Segmento Inicial - O segmento inicial foi modelado como um cilindro selado com diâmetro de 10 μm e comprimento de 100 μm para os três modelos

de motoneurônios. A condutância equivalente de membrana foi diferente para cada um dos modelos S, FR e FF: $4,6 \times 10^{-5}$ mS, $1,43 \times 10^{-4}$ mS e $4,16 \times 10^{-4}$ mS, respectivamente. Como a superfície foi a mesma nos três modelos, a capacitância equivalente de membrana foi $3,22 \times 10^{-5}$ μ F em todos os três. Os canais iônicos voltagem dependentes foram modelados como em (Traub, 1977; Jones e Bawa, 1997; Jones e Bawa, 1999): consistiram dos canais rápidos de Na^+ e K^+ , semelhantes nos três modelos, com parâmetros que permitiram que o segmento inicial tivesse um limiar de disparo mais baixo do que o soma.

Soma - O soma de cada modelo foi modelado como uma esfera com um diâmetro de 50,9 μ m no modelo do motoneurônio tipo S, 48,8 μ m no do tipo FR, e 49,2 μ m no do tipo FF. A condutância de fuga de membrana foi $1,08 \times 10^{-4}$ mS, $2,73 \times 10^{-4}$ mS e $8,49 \times 10^{-4}$ mS, enquanto a capacitância de membrana foi $7,57 \times 10^{-5}$ μ F, $6,15 \times 10^{-5}$ μ F e $6,56 \times 10^{-5}$ μ F, respectivamente. Para os modelos tipo S e FR, partimos dos modelos de (Jones e Bawa, 1997; Jones e Bawa, 1999), e, por isso, nossa tarefa inicial foi reproduzir seus resultados. Os canais rápidos de Na^+ e K^+ foram modelados com em (Jones e Bawa, 1997; Jones e Bawa, 1999), que foram adaptados dos modelos de Traub (1977) e Traub e Llinás (1977). Como ambos os modelos tipo S e FR de (Jones e Bawa, 1997) não podiam reproduzir dados experimentais acerca das propriedades dinâmicas dos motoneurônios (e.g., padrões de disparo para correntes injetadas em rampa e senoidais), partimos para uma modelagem da corrente lenta de K^+ mais próxima de seu comportamento biofísico real. Desta forma, as correntes lentas de K^+ foram trocadas por duas outras correntes lentas de K^+ que dependiam explicitamente da concentração intracelular de Ca^{++} : a primeira delas uma corrente do tipo SK e a segunda do tipo BK (McLarnon, 1995). Dois tipos de corrente de Ca^{++} , tipo N e tipo L, contribuíram para as variações na concentração intracelular de Ca^{++} .

Jones e Bawa (1997) não modelaram o motoneurônio tipo FF, mas Traub (1977) o fez. Infelizmente seu modelo não apresenta um comportamento adequado em testes dinâmicos, tais como a injeção de correntes em rampa e senoidais (Goroso *et al.*, 2000). Portanto, também para o modelo de motoneurônio tipo FF proposto, as principais considerações de modelos pré-existentes tiveram de ser reformuladas a fim de se obter uma melhor representação do comportamento real do motoneurônio.

Correntes de Cálcio - A corrente de cálcio tipo N foi modelada como em Booth *et al.* (1997), possuindo uma amplitude pequena de forma a não afetar o decurso do potencial de ação:

$$I_{\text{CaN}} = g_{\text{max}} m_{\text{N}}^2 h_{\text{N}} (V_m - E_{\text{Ca}}) \quad (2)$$

com $g_{\text{max}} = 2,00$ mS/cm² para o motoneurônio tipo S, $g_{\text{max}} = 2,13$ mS/cm² para o tipo FR, $g_{\text{max}} = 2,00$ mS/cm² para o tipo FF e $E_{\text{Ca}} = 140$ mV. O potencial de membrana e o potencial de equilíbrio iônico representam variações em relação ao potencial de equilíbrio. As variáveis de estado de ativação e inativação m_{N} e h_{N} foram descritas por uma equação diferencial ordinária de primeira ordem $dw/dt = (w_{\infty} - w)/\tau$, com as seguintes funções de estado (em regime estacionário) e constantes de tempo, iguais para os três tipos de motoneurônios:

$$m_{\text{N}}: \quad m_{\text{N}\infty} = \frac{1}{1 + e^{((V_m - 40)/-5)}} \quad (3)$$

$$\tau_{m_{\text{N}}} = 4 \text{ ms} \quad (4)$$

$$h_{\text{N}}: \quad h_{\text{N}\infty} = \frac{1}{1 + e^{((V_m - 25)/10)}} \quad (5)$$

$$\tau_{h_{\text{N}}} = 40 \text{ ms} \quad (6)$$

A corrente de cálcio tipo L foi modelada de forma semelhante àquela em (Booth *et al.*, 1997), porém com a variável de ativação ao quadrado, como em (Aradi e Holmes, 1999), e com uma constante de tempo maior (mas ainda dentro de limites fisiológicos). Estas alterações foram necessárias para uma melhor reprodução dos resultados experimentais do curso temporal da hiperpolarização pós-disparo, AHP (*AfterHyperPolarization*), e da adaptação na frequência de disparo encontrados na literatura. A corrente foi descrita por:

$$I_{\text{CaL}} = g_{\text{max}} m_{\text{L}}^2 (V_m - E_{\text{Ca}}) \quad (7)$$

com $g_{\text{max}} = 2,60$ mS/cm² para o motoneurônio tipo S, $g_{\text{max}} = 2,67$ mS/cm² para o tipo FR, $g_{\text{max}} = 2,50$ mS/cm² para o tipo FF, e $E_{\text{Ca}} = 140$ mV. A variável de estado de ativação m_{L} foi descrita pelo mesmo tipo de equação diferencial de primeira ordem mostrada acima para a corrente tipo N. A função em regime estacionário e a constante de tempo, iguais para os três tipos de motoneurônios foram:

$$m_{\text{Linf}} = \frac{1}{1 + e^{((V_m - 25)/-5)}} \quad (8)$$

$$\tau_{m_{\text{L}}} = 40 \text{ ms} \quad (9)$$

Concentração de Cálcio no Citoplasma - Várias possibilidades de modelar a relação entre a concentração e a corrente de cálcio foram testadas por meio de exaustivas simulações. Os melhores resultados foram obtidos pela simulação do formalismo descrito por Traub (1977), mas com uma alteração no valor de β_q :

$$\frac{d[Ca^{++}]}{dt}(\text{mmol} / 1 / \text{ms}) = \frac{c}{A\delta} I_{Ca} (10^3 \text{ coulomb} / 1 / \text{ms}) - \beta_q [Ca^{++}] (\text{mmol} / 1 / \text{ms}) \quad (10)$$

com $c = 400 \text{ mmol}/10^3\text{C}$, $\delta = 2 \times 10^{-4} \text{ }\mu\text{m}$, e $\beta_q = 0,10 \text{ ms}^{-1}$ ($\beta_q = 0,09 \text{ ms}^{-1}$ para o motoneurônio tipo S). Para cada tipo de motoneurônio, sua respectiva área do soma A foi utilizada na equação acima.

Corrente Lenta de Potássio Cálcio-Dependente do tipo SK - Condutâncias lentas de potássio cálcio-dependente são discutidas em (McLarnon, 1995) e esta corrente foi modelada por:

$$I_{SKs(\text{soma})} = g_{\max} ([Ca^{++}])^2 (V_m - E_K) \quad (11)$$

com $E_K = -10 \text{ mV}$ e $g_{\max} = 3,00 \text{ mS}/\text{cm}^2$, $K_d = 0,15$ para o motoneurônio tipo S, $g_{\max} = 23,40 \text{ mS}/\text{cm}^2$, $K_d = 0,50$ para o tipo FR e $g_{\max} = 22,00 \text{ mS}/\text{cm}^2$, $K_d = 0,80$ for para o tipo FF. Esta corrente é muito sensível a altas concentrações de cálcio, sua saturação dependendo somente da saturação de cálcio no citoplasma.

Corrente Lenta de Potássio Cálcio-dependente do tipo BK - Esta corrente foi modelada com uma voltagem-dependência estruturalmente semelhante à corrente lenta de potássio descrita por Traub (1977) e Jones e Bawa (1997), mas com a adição de uma dependência do cálcio explícita, que foi adaptada de (Aradi e Holmes, 1999):

$$I_{BKs(\text{soma})} = g_{\max} q^2 r (V_m - E_K) \quad (12)$$

Para os motoneurônios tipo S, FR e FF, os valores de g_{\max} foram $9,00 \text{ mS}/\text{cm}^2$, $35,00 \text{ mS}/\text{cm}^2$ e $32,00 \text{ mS}/\text{cm}^2$, e $E_K = -10 \text{ mV}$. A variável de ativação foi descrita por $dq/dt = \alpha_q (1 - q) - \beta_q q$, na qual

$$\alpha_q = \frac{3,5}{e^{((V_m - 45)/-4)} + 1} \quad (13)$$

para os três tipos de motoneurônios,

$$\beta_q = \frac{\beta_{\text{num}}}{e^{((V_m + 50)/-0,001)} + 1} \quad (14)$$

com $\beta_{\text{num}} = 0,018$, $\beta_{\text{num}} = 0,042$ e $\beta_{\text{num}} = 0,048$ para os motoneurônios tipo S, FR e FF, respectivamente, e

$$r = \frac{[Ca^{++}]}{[Ca^{++}] + \theta} \quad (15)$$

com $\theta = 0,4$ para os motoneurônios tipo S e FR, e $\theta = 0,2$ para o tipo FF.

A sensibilidade desta corrente à voltagem foi aumentada (McLarnon, 1995) em relação a seu valor original em Jones e Bawa (1997). A cálcio dependência desta corrente é descrita por uma curva bastante inclinada, conforme descrição experimental (McLarnon, 1995). Desta forma, como a variável de ativação r fa-

cilmente alcança valores próximos a 1 para pequenas concentrações de cálcio, a voltagem-dependência deste canal normalmente prevalece.

Sinapses - A ativação de sinapses excitatórias geraram correntes sinápticas modeladas por

$$I_{\text{syn}}(t) = g_{\text{syn}}(t) * (V_m - E_{\text{syn}}) \quad (16)$$

onde $E_{\text{syn}} = 70 \text{ mV}$ e $g_{\text{syn}} = g_{\text{max}} t e^{-t/\tau}$, com $\tau = 0,2 \text{ ms}$. Por conveniência computacional, em aplicações com trens de disparos pré-sinápticos ativando as sinapses dendríticas a condutância sináptica em cada compartimento dendrítico foi simulada como a resposta ao impulso de um sistema linear de segunda ordem. O valor de g_{max} em um dado compartimento dendrítico foi dado pelo valor máximo de condutância de um único contato sináptico vezes o número de contatos sinápticos naquele compartimento dendrítico. Em algumas simulações desejávamos estudar o efeito de uma variação senoidal em g_{syn} na corrente que chega ao soma advinda da arborização dendrítica e, por isso mesmo, em tais casos impusemos diretamente $g_{\text{syn}}(t) = A \cos(\omega_0 t)$.

Ajuste do Modelo - O critério básico para o ajuste do modelo foi a minimização simultânea dos erros entre os dados de motoneurônios reais e resultados de simulações relativos à AHP e à relação entre a frequência de disparo do motoneurônio em estado estacionário e a corrente constante injetada (curva f/I). Um critério secundário foi o ajuste da adaptação da frequência de disparo.

Experimentos com motoneurônios de gato têm mostrado que a curva f/I é aproximadamente linear, podendo haver em motoneurônios tipo S uma segunda faixa linear que segue a primeira, com uma inclinação maior. Essa faixa secundária pode ser causada pela ativação de uma corrente persistente devido ao aumento do limiar de disparo de potenciais de ação quando a frequência de disparo é alta (Binder *et al.*, 1996). Do ponto de vista fisiológico a faixa secundária representa o motoneurônio tipo S disparando a taxas acima de várias dezenas de impulsos/s, o que não ocorre em comportamentos naturais (Kukulka e Clamann, 1981; De Luca *et al.*, 1996). Note que essa limitação na frequência de disparo a algumas dezenas de Hz observada experimentalmente não se aplica necessariamente para motoneurônios dos tipos FR e FF, mas estes não apresentam curva f/I com faixa secundária. Portanto, no presente trabalho não se modelam os mecanismos por detrás da corrente persistente, e portanto, a faixa secundária na curva f/I de motoneurônios tipo S não será de interesse.

A amplitude da AHP pôde ser ajustada variando a densidade dos canais lentos de potássio no soma, mas também alterando a densidade de canais de cálcio no soma, ou ambos. Desta forma, quatro parâmetros podiam ser alterados a fim de se obter a amplitude desejada para a AHP: as condutâncias máximas para as correntes lentas de potássio tipo SK e BK, para o valor de pico da AHP, e para as correntes de cálcio tipo N e L, para a adaptação e concentração de cálcio. Por outro lado, a duração da AHP e o tempo de meio decaimento podiam ser ajustados alterando a constante K_d da corrente lenta de potássio tipo SK e pela variável β_q da corrente lenta de potássio tipo BK. Assim que uma AHP adequada era obtida, a inclinação da curva f/I era estimada usando o método dos mínimos quadrados. Frequentemente um bom resultado com a AHP não correspondia a uma boa inclinação da curva f/I porque as correntes ativas não têm o mesmo comportamento a longas despolarizações (usadas para obter a curva f/I) como a estímulos de curta duração (usados para ajustar a AHP). Muitos outros parâmetros dos modelos foram mantidos fixos porque não influenciavam a AHP, a curva f/I ou a adaptação na frequência de disparo, ou porque dependiam somente da geometria do motoneurônio e das capacitâncias e resistividades específicas.

Conjunto de Testes para a Validação dos Modelos de Motoneurônios

Tanto testes estáticos quanto dinâmicos foram incluídos no conjunto de testes de validação. Os testes estáticos dizem respeito ao neurônio em repouso ou disparando seja um único potencial de ação (em resposta a um único pulso de corrente) ou um trem de potenciais de ação (registrado em regime permanente em resposta a uma corrente constante injetada no soma). Os testes dinâmicos envolvem casos nos quais a amplitude da corrente injetada varia com o tempo: degraus, rampa ou senóides. A primeira seria uma aproximação à corrente somática resultante de origem sináptica devido a comandos descendentes para o controle de movimentos balísticos. A segunda mimetiza a corrente somática equivalente para uma ativação crescente e gradual do músculo, e a terceira mimetiza o que aconteceria durante movimentos rítmicos, tais como caminhar ou correr. Procuramos seguir protocolos similares àqueles utilizados experimentalmente por pesquisadores da fisiologia do motoneurônio. A seguir, descreveremos cada um destes testes.

Teste para Resistência de Entrada - Pulsos de corrente hiperpolarizantes (50 s) de três amplitudes

diferentes (1,0, 2,0 e 3,0 A) foram aplicados ao soma e o potencial de membrana resultante foi registrado ao final do pulso de corrente. A resistência de entrada foi estimada pela inclinação da reta ajustada aos três valores (i , v). Valores experimentais para comparação foram extraídos de Fleshman *et al.* (1988).

Teste para a Constante de Tempo da Membrana Somática - Curtos pulsos de corrente hiperpolarizantes (0,2 s) foram injetados no soma e o curso temporal do potencial de membrana foi registrado em um gráfico semilogarítmico para produzir uma estimativa da constante de tempo, calculada no local onde o gráfico era uma linha reta. Valores experimentais para comparação foram extraídos de Fleshman *et al.* (1988).

Teste para Parâmetros da AHP - Um potencial de ação foi disparado por um curto pulso de corrente (0,5 ms) e o pico da AHP, o tempo de meio decaimento e o tempo até o pico foram avaliados. Valores experimentais para comparação foram extraídos de Zengel *et al.* (1985).

Teste de Injeção de uma Corrente Constante - A partir destes testes, a reobase, a frequência mínima de disparo e a curva f/I puderam ser avaliadas. A reobase foi estimada como a menor corrente injetada por 50 ms que pudesse disparar pelo menos um potencial de ação. O valor da corrente constante foi aumentado até que um padrão repetitivo de disparo fosse obtido. Este procedimento forneceu a frequência mínima de disparo. A curva f/I foi obtida traçando a frequência média de disparo, medida após a taxa de disparo ter alcançado um valor em regime estacionário, como uma função da amplitude da corrente aplicada. Dados experimentais para referência foram extraídos de Kernell (1965a,b), Fleshman *et al.* (1981), Baldissera *et al.* (1984) e Zengel *et al.* (1985).

Teste de Corrente Injetada em Degrau - A frequência de disparo normalmente decai a um valor em regime permanente pela injeção de uma corrente em degrau. A adaptação da frequência de disparo foi avaliada por gráficos da frequência instantânea (tomada como o inverso de cada intervalo entre disparos) em função do tempo. Valores experimentais para validação do modelo foram extraídos de Schwindt e Crill (1984). Os testes dinâmicos, em que se aplicou corrente em degrau, rampa ou senóide, tiveram o início de aplicação do estímulo (degrau, rampa, senóide) após 300 ms do início da simulação, para houvesse tempo para eventual decaimento do estado inicial do sistema para o estado de equilíbrio do mesmo.

Teste de Corrente injetada em Rampa - A frequência instantânea de disparo foi traçada em função do

tempo para diferentes inclinações da rampa de corrente. As correntes injetadas foram do tipo rampa-platô, de forma que a frequência instantânea de disparo foi registrada tanto durante a rampa quanto durante o platô. Resultados experimentais para comparação foram extraídos de Baldissera *et al.* (1982) e Baldissera *et al.* (1987), com a limitação dos autores terem investigado apenas motoneurônios tipo F, sem subdividi-los nas subclasses FR e FF. Figuras destes artigos não foram reproduzidas aqui por terem uma resolução menor do que o desejável, servindo, entretanto, para avaliação do perfil das respostas e estimação aproximada de valores importantes, como o pico de frequência máxima.

Teste de Corrente Senoidal Injetada - Como os dados experimentais de referência foram extraídos de Baldissera *et al.* (1984) e Baldissera *et al.* (1998), utilizamos a mesma metodologia, devendo-se ressaltar que os autores só investigaram motoneurônios tipo F. As correntes injetadas foram correntes senoidais superpostas a um degrau de corrente, esta última impondo uma frequência de disparo basal. A variação senoidal da corrente resultou em uma variação quase senoidal na frequência de disparo do motoneurônio, com um ganho e uma fase que dependem da frequência da corrente senoidal injetada. O ganho foi estimado usando correntes injetadas com amplitudes um pouco diferentes e medindo a amplitude da modulação em frequência resultante. Para um dado par frequência e amplitude da corrente injetada, a frequência instantânea foi avaliada a partir do trem de potenciais de ação resultante para vários ciclos da corrente de entrada e usada para construir um histograma de ciclo. Os picos na frequência instantânea, medidos a partir do histograma de ciclo, foram traçados em função da amplitude da corrente senoidal injetada. A inclinação desta curva (disparos/(s.nA)) foi tomada como sendo o ganho naquela frequência enquanto que a fase foi avaliada a partir de uma FFT.

Implementação

Os três modelos propostos foram implementados computacionalmente em linguagem C++ e simulados em ambiente Windows®, assegurando um tempo de simulação relativamente curto, quando comparado ao de pacotes de simuladores neuronais genéricos, e um programa que pudesse ser embutido em qualquer simulador de uma rede de motoneurônios e interneurônios medulares desenvolvido em C++.

Resultados

Resistência de Entrada do Soma

Os resultados obtidos, comparados a dados da literatura e de outros modelos, são mostrados na Tabela 1, notando-se que os valores medidos de resistência de entrada nos modelos propostos estão contidos na gama de variação apresentada por Gustaffson e Pinter (1984), além de estarem próximos dos valores medidos experimentalmente por Fleshman *et al.* (1988).

Constante de Tempo de Membrana do Soma

Os resultados medidos de constante de tempo de membrana do soma, comparados a dados da literatura e de outros modelos, são mostrados na Tabela 2.

Os valores de constante de tempo de membrana da Tabela 2, obtidos por Fleshman *et al.* (1988), são valores médios de faixas de variação bastante amplas e que possuem razoável sobreposição entre os três tipos (Gustafsson e Pinter, 1984; Zengel *et al.*, 1985). Os valores que foram medidos nos modelos matemáticos propostos estão próximos desses valores médios.

Parâmetros da AHP

Os valores medidos nos modelos propostos relativos à AHP são apresentados na Tabela 3, e comparados a dados da literatura e de outros modelos.

Tabela 1. Resistência de Entrada. **Table 1.** Input resistance

	Tipo S (M Ω)	Tipo FR (M Ω)	Tipo FF (M Ω)
Fleshman et al., 1988	4,2	1,4	0,7
Gustaffson e Pinter, 1984	1,7-4,0	1,2-1,7	0,6-1,2
Modelos Propostos	3,22	1,24	0,69
Modelo de Jones e Bawa (1997)	3,9	2,0	--/--
Modelo de Traub (1997)	2,0	1,5	1,0

Tabela 2. Constante de Tempo de Membrana". **Table 2.** Membrane time constant

	Tipo S (ms)	Tipo FR (ms)	Tipo FF (ms)
Fleshman et al., 1988	13,0	6,8	6,9
Modelos Propostos	12,8	6,9	7,2
Modelos de Jones e Bawa (1997)	16,4	8,8	--/--
Modelo de Traub (1977)	--/--	--/--	2,78

A primeira linha na Tabela 3 apresenta a média e o desvio padrão dos valores experimentais, e logo abaixo, em colchetes, o espalhamento encontrado nos valores (Zengel *et al.*, 1985). A maioria dos resultados fornecidos pelos modelos está próxima dos valores médios experimentais, devendo-se notar que histogramas fornecidos em (Zengel *et al.*, 1985) indicam um espalhamento considerável dos parâmetros. As curvas da AHP obtidas da simulação dos modelos são mostradas na Figura 2 e apresentam um perfil semelhante ao obtido em experimentos com motoneurônios reais.

Respostas à Injeção de uma Corrente Constante

Os valores de reobase obtidos, comparados com dados da literatura e de outros modelos, são mostrados na Tabela 4; na parte superior os valores médios com o desvio padrão, e abaixo, entre colchetes, a gama de valores encontrada.

Os modelos propostos exibem reobase com valores dentro da faixa encontrada para motoneurônios do músculo gastrocnêmio de gatos (Fleshman *et al.*, 1981; Gustafsson e Pinter, 1984; Zengel *et al.*, 1985). A injeção de uma corrente constante de intensidade acima do valor da reobase assegura uma descarga constante, com frequências mínimas de disparo de 7,6 disparos/s, 13,5 disparos/s e 15,5 disparos/s, para os modelos tipo S, FR e FF respectivamente, dados compatíveis com achados de motoneurônios lombo-sacrais de gatos (Kernell, 1965b; Kernell, 1979). As relações f/I para os modelos tipo S, FR e FF exibiram inclinações de 1,11 imp/s/nA, 1,05 imp/s/nA e 1,45 imp/s/nA,

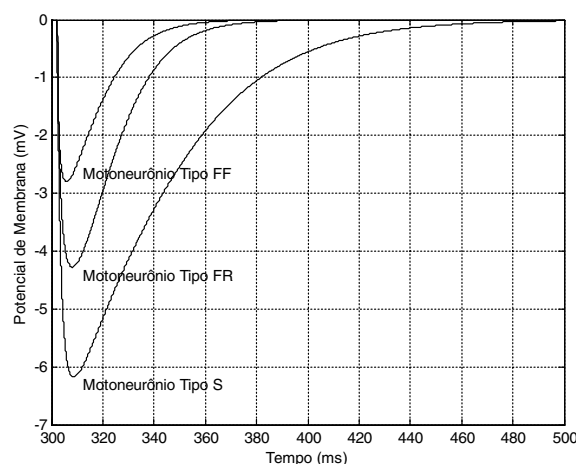


Figura 2. Curso temporal da Afterhyperpolarization (AHP) para os três modelos de motoneurônios, após a injeção de um pulso de corrente no soma de 20 nA e duração de 0,5 ms. O potencial de repouso de membrana foi colocado a 0 mV. O potencial de ação só foi disparado por volta dos 300 ms para que o modelo pudesse convergir para o ponto de equilíbrio no intervalo de 0 a 300 ms a partir das condições iniciais. **Figure 2.** Time course of the AHP (afterhyperpolarization) for the three motoneuron models, after the injection of a 20 nA/0.5 ms current pulse in the soma. The resting membrane potential was set at 0 mV. The action potential occurred around 300 ms after the start of the simulation. Such latency was used to assure that the model converged to the equilibrium state starting from the given initial conditions.

Tabela 3. Dados relativos à AHP. **Table 3.** Data related to AHP

	Tipo S			Tipo FR			Tipo FF		
	Mag. (mV)	Duração (ms)	Decaimento (ms)	Mag. (mV)	Duração (ms)	Decaimento (ms)	Mag. (mV)	Duração (ms)	Decaimento (ms)
Zengel et al., 1985	4,9±0,6 [1-9,5]	161±14 [75-280]	44±2 [19-60]	4,3±0,4 [1-8,5]	78±4 [45-140]	22±1 [13-29]	3,0±0,2 [1-7,5]	65±2 [30-130]	18±0 [19-29]
Modelos Propostos	6,18	164,50	33,57	4,28	78,77	18,02	2,80	65,69	13,98
Modelos de Jones e Bawa (1997)	4,8	160,0	48,04	4,1	90,0	23,0	--/--	--/--	--/--
Modelo de Traub (1977)	--/--	--/--	--/--	--/--	--/--	--/--	3,5	80,71	--/--

Tabela 4. Reobase. **Table 4.** Rheobase

	Tipo S	Tipo FR	Tipo FF
Zengel et al., 1985	5,0 ± 0,3 [2 - 8]	12,0 ± 0,4 [8 - 18]	21,3 ± 0,5 [10 - 38]
Fleshman et al., 1981	5,1 ± 0,5 [2 - 9]	12,8 ± 0,6 [8 - 20]	19,7 ± 0,8 [5 - 27]
Modelos Propostos	3,02	8,20	19,09
Modelo de Jones e Bawa (1997)	2,53	4,1	--/--

Tabela 5. Inclinações da relação f/I . **Table 5.** Inclination of the f/I relation

	Tipo S (imp/s/nA)	Tipo FR (imp/s/nA)	Tipo FF (imp/s/nA)
Baldissera et al. (1984)	--/--	0,5 a 1,7	0,5 a 1,7
Modelos Propostos	1,11	1,05	1,45
Modelos de Jones e Bawa (1997)	4,4	5,4	--/--
Modelo de Traub (1977)	--/--	--/--	2,21

(Tabela 5) que são compatíveis com dados de motoneurônios de gatos existentes na literatura para a faixa primária (Kernell, 1965a; Schwindt e Calvin, 1972; Kernell, 1979; Baldissera *et al.*, 1984). A curva f/I do modelo para motoneurônio tipo FF pode ser vista na Figura 3a (círculos), que corresponde bem à curva f/I obtida de um motoneurônio de gato (Baldissera *et al.*, 1982).

Respostas a Corrente Injetada em Degrau

O teste anterior foi associado a uma resposta em regime estacionário. A resposta transitória a tal corrente – a adaptação na frequência de disparo – fornece uma visão parcial da dinâmica de cada modelo. A Figura 4 mostra o curso temporal da adaptação na frequência de disparo para os modelos tipo S, FR e FF, indicando a frequência instantânea (como o inverso dos intervalos entre disparos) em função do tempo. A adaptação na frequência de disparo é similar à encontrada em motoneurônios reais (Schwindt e Crill, 1984). Uma visão alternativa do processo de adaptação é o gráfico de $1/(1^\circ$ intervalo

entre disparos) e $1/(\text{intervalo entre disparos em regime estacionário})$ em função da intensidade da corrente injetada. As curvas f/I em regime estacionário dos modelos e de dados reais correspondem bem, conforme já comentado anteriormente. Para o inverso do primeiro intervalo entre disparos ($1/T_0$), os gráficos dos modelos e de dados reais são similares (Figura 3a – asteriscos e Figura 3b – cruzes) até cerca de 40 nA de corrente injetada (Baldissera *et al.*, 1982). Após 40 nA (ou frequência instantânea $1/T_0$ acima de aproximadamente 150/s), há uma discrepância entre as curvas, uma vez que para o motoneurônio de gato houve uma segunda faixa, ocorrendo para correntes injetadas maiores e com inclinação maior do que a da primeira faixa.

Respostas a Corrente Injetada em Rampa

As correntes em rampa-platô injetadas no soma de cada um dos três modelos de motoneurônios servem para aferir a sensibilidade da frequência de disparo à amplitude e à derivada da corrente injetada no soma. A Figura 5 mostra alguns resultados para o modelo tipo

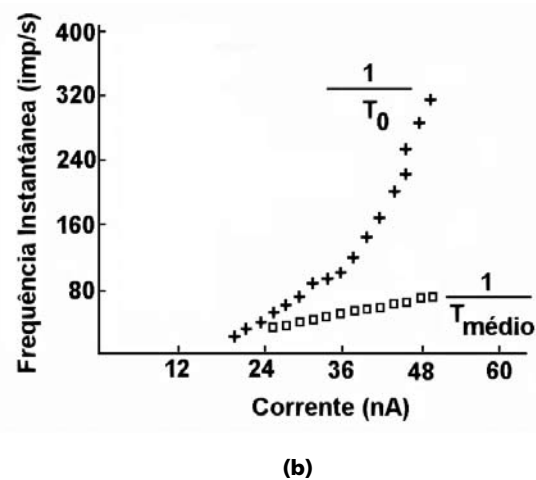
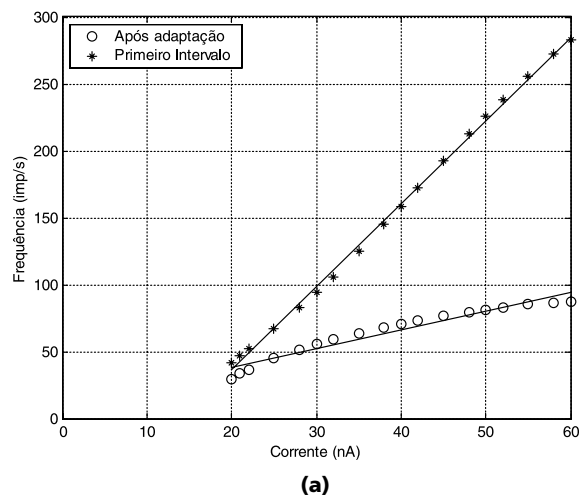


Figura 3. (a) Gráfico da curva f/I do modelo tipo FF. Círculos: curva da frequência média de disparo em regime estacionário. Asteriscos: inverso do primeiro intervalo entre disparos. As retas foram obtidas pelo método dos mínimos quadrados. (b) Valores das relações f/I de gato para primeiro intervalo entre disparos (T_0) e em regime estacionário (intervalo médio $T_{\text{médio}}$) (adaptado de Baldissera *et al.* (1982)). **Figure 3.** (a) The f/I curve for the FF model. Circles: mean rate in steady state. Stars: inverse of first interspike interval. The lines were fitted by least squares. (b) Cat data relating the f/I relations for the first interspike interval (T_0) and in steady state (adapted from Baldissera *et al.*, 1982).

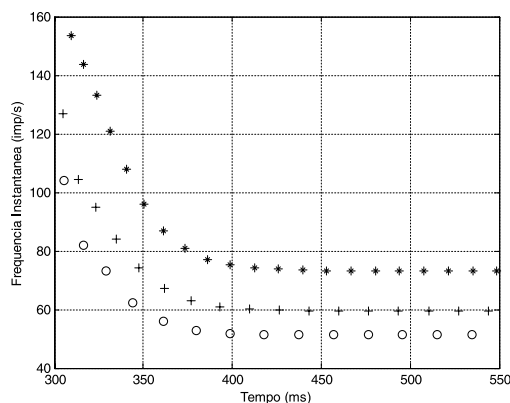


Figura 4. Freqüência instantânea de disparo para os modelos tipo S (círculos), FR (cruzes) e FF (asteriscos) em resposta a injeção de uma corrente em degrau de 30 nA no soma. O degrau de corrente só foi injetado no instante 300 ms para que o modelo pudesse convergir, a partir das condições iniciais adotadas, para o ponto de equilíbrio no intervalo de 0 a 300 ms. **Figure 4.** Instantaneous frequency for the three models in response to 30 nA current injected in the soma: type S (circles), type FR (crosses) and type FF (stars).

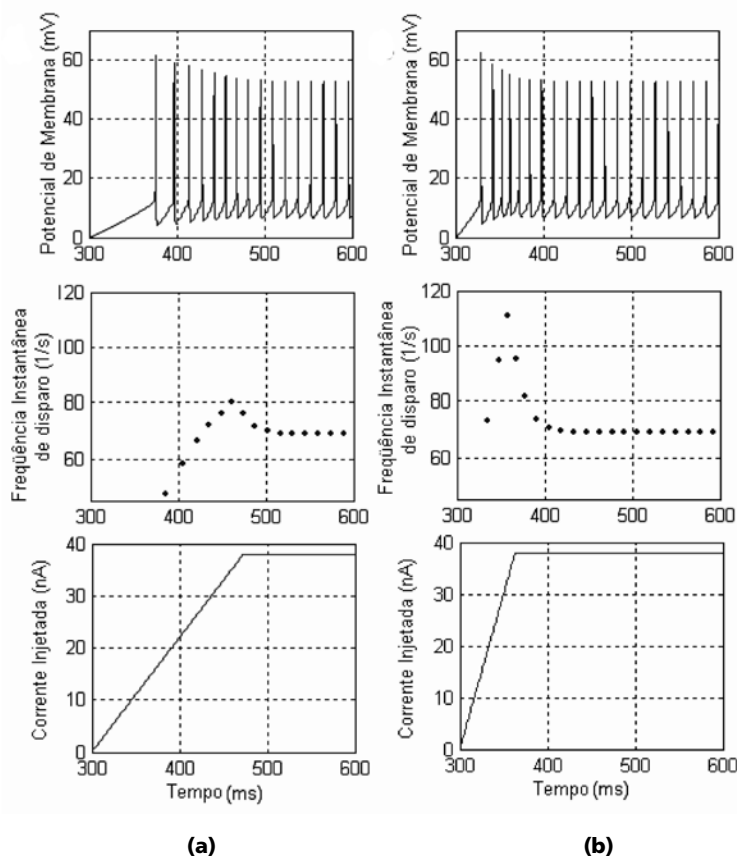


Figura 5. Gráficos dos trens de disparos, freqüência instantânea de disparo e corrente injetada no soma do modelo de motoneurônio tipo FF, para dois casos: (A) inclinação da rampa de corrente de 0,22 nA/ms, (B) inclinação da rampa de corrente de 0,60 nA/ms. Em ambos os casos, a corrente tem um platô de 38 nA. A rampa foi aplicada após 300 ms do início da simulação para que o modelo pudesse estar em estado estacionário. **Figure 5.** Graphs showing the action potential discharges, the instantaneous firing rate and the soma injected current for the FF motoneuron model. (A) ramp at 0.22 nA/ms, (B) ramp at 0.60 nA/ms. In both cases the plateau value was 38 nA.

FF, para correntes de entrada tipo rampa-platô, com um platô de 38 nA. A frequência de disparo em regime estacionário em todos os casos é de aproximadamente 70 disparos/s, mas as frequências instantâneas transitórias exibem uma clara sensibilidade à inclinação da rampa da corrente injetada, isto é, o modelo de motoneurônio é capaz de codificar tanto a magnitude da corrente quanto a rapidez de variação desta magnitude. Por exemplo, quando a inclinação aumenta de 0,22 nA/ms para 0,60 nA/ms, o pico da frequência instantânea de disparo aumenta de cerca de 80 disparos/s para cerca de 110 disparos/s. Estes achados estão qualitativamente de acordo com dados experimentais (Baldissera *et al.*, 1982; Baldissera *et al.*, 1987), havendo algumas possíveis discrepâncias quantitativas, como por exemplo, no modelo houve um pico de frequência instantânea em torno de 10 disparos/s para uma rampa de 0,22 nA/ms quando uma estimativa que fizemos a partir da Figura 1F de Baldissera *et al.* (1982) resultou em aproximadamente 20 disparos/s (embora os autores não especificam o tipo do motoneurônio – FR ou FF – ou seus principais parâmetros). Infelizmente não há dados na literatura reportando as respostas de motoneurônios tipo S a correntes rampa-platô.

Respostas a Corrente Senoidal Injetada

Os dados experimentais disponíveis acerca da resposta em frequência de motoneurônios são relativos somente aos de tipo F (Baldissera *et al.*, 1984; Baldissera *et al.*, 1998) e por isso enfatizamos os testes com o modelos tipo FR/FF.

Uma corrente senoidal a baixa frequência (por exemplo, abaixo de 10 Hz) causou uma clara modulação da frequência instantânea de disparo dos modelos, um exemplo sendo mostrado na Figura 6 para o modelo tipo FF. As curvas de ganho e fase para os modelos tipo FR e FF quando mostradas ao lado de curvas experimentais obtidas a partir de 10 motoneurônios (Tabela 1 de Baldissera *et al.*, 1984) estavam dentro da faixa de variação experimental. Na Figura 7 mostramos as curvas de ganho e fase para o modelo tipo FR proposto (asteriscos), comparadas às curvas do modelo tipo FR de Jones e Bawa (1997, 1999) (círculos) e a uma regressão linear de Baldissera *et al.* (1984) para sua célula número 8 (quadrados, baseado em sua Tabela 1), que possui uma inclinação da curva f/I similar à do modelo tipo FR proposto (1,05 imp/s/nA). Existe uma coincidência razoável entre as curvas de ganho até cerca de 12 Hz. A discrepância para frequências mais altas possivelmente é devida, pelo menos em parte, às dificuldades em aproximar uma curva senoidal à mo-

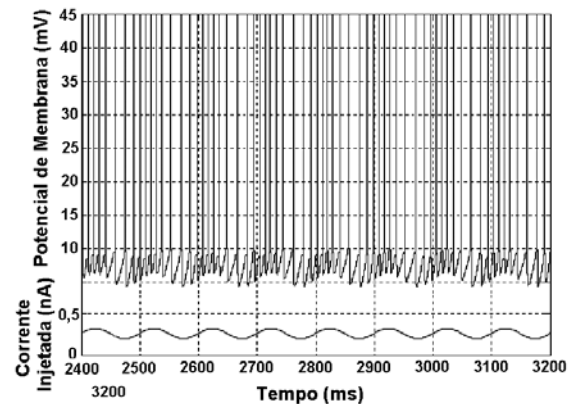


Figura 6. Trecho de potencial de membrana do modelo tipo FF mostrando o trem de disparos em resposta a injeção de uma corrente senoidal de 10 Hz no soma. O disparo basal do modelo foi de 52 disparos/s em resposta a injeção de um degrau de corrente (~28 nA), sobre o qual a corrente senoidal foi sobreposta (~0,28 nA de amplitude).

Figure 6. Membrane potential for the type FF motoneuron. The action potentials are shown in response to a 10 Hz sinusoidal current injected into the soma. The steady state rate was 52/s for a 28 nA step current. The superimposed sinusoid had a 0.28 nA amplitude.

dulação da frequência instantânea. A curva de fase dos modelos segue aproximadamente a curva experimental média com alguma diferença em frequências acima de 5 Hz. Entretanto, em ambas as curvas, observamos que o modelo proposto apresenta uma melhora substancial em relação ao modelo de Jones e Bawa (1997, 1999).

Discussão

Este trabalho propôs novos modelos matemáticos de complexidade intermediária para os três tipos principais de motoneurônios de mamíferos. A validação dos novos modelos propostos incluiu comparações com o que é encontrado na literatura experimental, desde simples valores de parâmetros até comportamentos estáticos e dinâmicos. O nível de complexidade dos modelos é bastante apropriado para investigações de muitos fenômenos associados ao nível neuronal, tais como: interações dendríticas não lineares (Vieira e Kohn, 2004a), propagação antidrômica de potenciais de ação na arborização dendrítica (Stuart *et al.*, 1997), variabilidade de trens de disparos devido a bombardeamentos sinápticos na arborização dendrítica (Kohn, 1989) e possíveis mecanismos que modulam a sincronização entre os disparos de dois motoneurônios (Schmied *et al.*, 2000). Os modelos desenvolvidos têm uma base biofísica, e por decorrência não têm

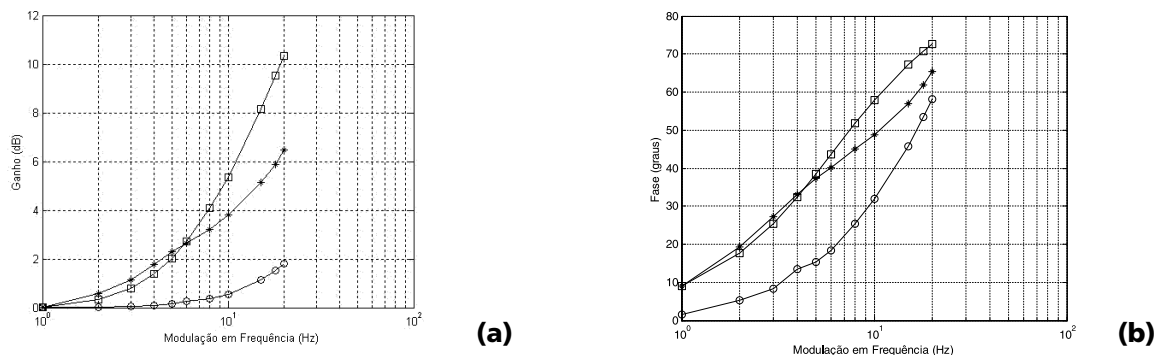


Figura 7. Resposta em frequência do modelo tipo FR proposto (asteriscos) comparada à do modelo tipo FR de Jones e Bawa (1997, 1999) (círculos) e a dados experimentais de Baldissera et al. (1984) (quadrados), ambos submetidos à injeção de uma corrente senoidal no soma com uma frequência basal de disparos de 52 imp/s. **(a)** curvas de ganho; **(b)** curvas de avanço de fase.

Figure 7. Frequency response of type FR model (stars) compared with that of the type FR model of Jones and Bawa (1997, 1999) and with the experimental data (squares) from Baldissera et al. (1984). In all cases a sinusoidal signal was injected into the soma that had a basal firing rate of 52/s. **(a)** the gain curves; and **(b)** the phase curves.

um limiar de disparo explícito (Powers, 1993), o que evita particularizações desnecessárias e as decorrentes limitações na aplicabilidade dos modelos.

O uso de um conjunto de testes de validação, mais completo e rigoroso do que aquele normalmente descrito na literatura relativa à modelagem de motoneurônios, foi muito útil no primeiro estágio desta pesquisa, no qual vários modelos existentes foram avaliados. Estes últimos forneceram importantes pistas para o desenvolvimento dos modelos de motoneurônios deste trabalho. Por outro lado, muitos dos testes de validação empregados tiveram uma relevância funcional clara quando o motoneurônio foi analisado como um gerador de comandos musculares. Além disso, alguns testes consistiram de relações de acoplamento entre correntes de entrada e padrões de disparo de saída que estão intimamente relacionadas a comportamentos da unidade motora (Kohn e Vieira, 2002).

Sempre que possível, os modelos propostos possuíam parâmetros com valores baseados em medições biofísicas reportadas na literatura em motoneurônios de gatos. Este cuidado não pode, por si só, garantir que o modelo terá comportamentos similares àqueles encontrados em motoneurônios reais. Por exemplo, a frequência mínima de disparo para os modelos tipo S, FR e FF na relação f/I deveria aumentar do modelo tipo S para o tipo FF, mas isto não depende somente de um parâmetro biofísico. Pelo contrário, depende de muitas características geométricas e dinâmicas dos modelos, o que tornou a tarefa de modelagem matemática bastante árdua.

Características obtidas dos modelos matemáticos propostos que resultaram comparáveis às descritas na

literatura (Kernell, 1965b; Fleshman *et al.*, 1981; Gustafsson e Pinter, 1984; Zengel *et al.*, 1985; Fleshman *et al.*, 1988) incluem:

- Resistência de entrada em ordem decrescente do modelo tipo S para o tipo FF (Tabela 1).
- Constante de tempo de membrana do soma para o modelo tipo S maior do que para os tipos FR e FF (Tabela 2).
- Reobase em ordem crescente do modelo tipo S para o tipo FF (Tabela 4).
- Frequência mínima de disparo para correntes de entrada constantes em ordem crescente do modelo tipo S para o tipo FF.
- Amplitude do pico e duração da AHP em ordem decrescente do modelo tipo S para o tipo FF (Tabela 3).

Estes resultados mostram que os modelos propostos exibem uma boa similaridade com dados experimentais e um avanço em relação a outros modelos reportados na literatura.

Além disso, observamos que os modelos propostos exibem resposta à injeção de corrente em degrau e em rampa compatíveis com os dados experimentais, principalmente a frequências instantâneas até cerca de 150/s (Baldissera *et al.*, 1982; Baldissera *et al.*, 1984; Schwindt e Crill, 1984; Baldissera *et al.*, 1987). Os modelos respondem tanto à intensidade da corrente quanto à velocidade de injeção da mesma. Isto fica evidente ao analisarmos a Figura 5. Para um mesmo valor de corrente, com rampas de corrente de maior inclinação, a frequência instantânea de disparo é maior do que com rampas de corrente de menor inclinação.

Na neurociência, pode-se por vezes notar compensações que ocorrem em estruturas associadas entre si,

quer no nível neuronal quanto no de subsistemas neurais mais amplos. Por exemplo, o mapeamento sináptico dendrito-soma tem características passa-baixas, uma vez que o dendrito equivalente é passivo formando em um circuito RC puro, com frequências de corte aumentando do modelo tipo S para os de tipo F (Vieira e Kohn, 2004b), e diminuindo quando as entradas sinápticas estão localizadas mais distalmente. Entretanto, essa perda em altas frequências é parcialmente compensada pela resposta em frequência tipo passa-altas do motoneurônio (Figura 7, curva de ganho).

Os motoneurônios podem ter suas propriedades alteradas por diferentes neuromoduladores, (Powers e Binder, 2001). Os modelos aqui desenvolvidos para os motoneurônios tipo S, FR e FF são adequados para os casos em que não haja nenhuma ou pouca ativação de vias descendentes neuromoduladoras que fazem sinapses com os motoneurônios. A adição de canais iônicos dependentes da voltagem nos dendritos dos modelos sendo propostos seria um primeiro passo para o seu aprimoramento, fazendo-os reproduzir uma gama adicional de comportamentos que ocorrem sob a influência de neuromoduladores.

Conclusão

Em face dos resultados da validação dos modelos propostos e da representatividade da biofísica de canais iônicos, os modelos propostos podem ser usados como uma ferramenta no estudo da dinâmica motoneuronal em resposta a diferentes tipos de entradas ou diferentes condições iônicas, visando responder perguntas tanto sobre o comportamento de canais iônicos quanto para entender a codificação neuronal realizada pelo motoneurônio no mapeamento de entradas sinápticas para o trem de potenciais de ação que ele gera.

Agradecimentos

À Fapesp pelo financiamento parcial dessa pesquisa, à Capes pela bolsa de estudos para o primeiro autor e a Lucas S. Mahl por sua inestimável colaboração na averiguação dos parâmetros e comportamento de cada um dos três modelos.

Referências

Aradi, I., Holmes, W.R. (1999), "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.

Baldissera, F., Campadelli, P., Piccinelli, L. (1982), "Neural encoding of input transients investigated by intracellular injection of ramp currents in cat alpha- motoneurons", *Journal of Physiology*, v. 328, p. 73-86.

Baldissera, F., Campadelli, P., Piccinelli, L. (1984), "The dynamic response of cat alpha-motoneurons investigated by intracellular injection of sinusoidal currents", *Experimental Brain Research*, v. 54, p. 275-282.

Baldissera, F., Campadelli, P., Piccinelli, L. (1987), "The dynamic response of cat gastrocnemius motor units investigated by ramp-current injection into their motoneurons", *Journal of Physiology*, v. 387, p. 317-330.

Baldissera, F., Cavallari, P., Cerri, G. (1998), "Motoneuronal pre-compensation for the low-pass filter characteristics of muscle. A quantitative appraisal in cat muscle units", *Journal of Physiology*, v. 511, p. 611-627.

Baldissera, F., Gustafsson, B. (1974a), "Afterhyperpolarization conductance time course in lumbar motoneurons of the cat", *Acta Physiologica Scandinavica*, v. 91, p. 512-527.

Baldissera, F., Gustafsson, B. (1974b), "Firing behaviour of a neurone model based on the afterhyperpolarization conductance time course and algebraical summation. Adaptation and steady state firing", *Acta Physiologica Scandinavica*, v. 92, p. 27-47.

Baldissera, F., Gustafsson, B. (1974c), "Firing behaviour of a neurone model based on the afterhyperpolarization conductance time course. First interval firing", *Acta Physiologica Scandinavica*, v. 91, p. 528-544.

Binder, M.D., Heckman, C.J., Powers, R.K. (1996), "The physiological control of motoneuron activity", In: *Handbook of Physiology. Section 12: Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems*, Eds.: L.B. Rowell, J.T. Swhepherd, New York: Oxford University Press, p. 3-53.

Booth, V., Rinzel, J., Kiehn, O. (1997), "Compartmental model of vertebrate motoneurons for Ca²⁺-dependent spiking and plateau potentials under pharmacological treatment", *Journal of Neurophysiology*, v. 78, p. 3371-3385.

Capaday, C. (2002), "A re-examination of the possibility of controlling the firing rate gain of neurons by balancing excitatory and inhibitory conductances", *Experimental Brain Research*, v. 143, p. 67-77.

Cullheim, S., Fleshman, J.W., Glenn, L.L., Burke, R.E. (1987), "Membrane area and dendritic structure in type-identified triceps surae alpha motoneurons", *Journal of Comparative Neurology*, v. 255, p. 68-81.

Dai, Y., Jones, K.E., Fedirchuk, B., McCrea, D.A., Jordan, L.M. (2002), "A modeling study of locomotion-induced hyperpolarization of voltage threshold in cat lumbar motoneurons", *Journal of Physiology*, v. 544.2, p. 521-536.

De Luca, C.J., Foley, P.J., Erim, Z. (1996), "Motor unit properties in constant-force isometric contractions", *Journal of Neurophysiology*, v. 76, p. 1503-1516.

Fleshman, J.W., Munson, J.B., Sypert, G.M., Friedman, W.A. (1981), "Rheobase, input resistance, and motor-unit type in medial gastrocnemius motoneurons in the cat", *Journal of Neurophysiology*, v. 46, p. 1326-1338.

Fleshman, J.W., Segev, I., Burke, R.E. (1988), "Electrotonic architecture of type-identified alpha-motoneurons in the cat spinal cord", *Journal of Neurophysiology*, v. 60, p. 60-85.

Goroso, D.G., Cisi, R.R.L., Kohn, A.F. (2000), "The amplitude and phase responses of the firing rates of some motoneuron models", *BioSystems*, v. 58, p. 33-39.

Gustafsson, B., Pinter, M.J. (1984), "An investigation of threshold properties among cat spinal alpha-motoneu-

- rons", *Journal of Physiology*, v. 357, p. 453-483.
- Jones, K.E., Bawa, P. (1997), "Computer simulation of the responses of human motoneurons to composite Ia EPSPs: effects of background firing rate", *Journal of Neurophysiology*, v. 77, p. 405-420.
- Jones, K.E., Bawa, P. (1999), "A comparison of human motoneuron data to simulated data using cat motoneuron models", *Journal of Physiology-Paris*, v. 93, p. 43-59.
- Kernell, D. (1965a), "The adaptation and the relation between discharge frequency and current strength of cat lumbosacral motoneurons stimulated by long-lasting injected currents", *Acta Physiologica Scandinavica*, v. 65, p. 65-73.
- Kernell, D. (1965b), "The limits of firing frequency in cat lumbosacral motoneurons possessing different time course of afterhyperpolarization", *Acta Physiologica Scandinavica*, v. 65, p. 87-100.
- Kernell, D. (1979), "Rhythmic properties of motoneurons innervating muscle fibres of different speed in m. gastrocnemius medialis of the cat", *Brain Research*, v. 160, p. 159-162.
- Kohn, A.F. (1989), "Dendritic transformations on random synaptic inputs as measured from a neuron's spike train - Modeling and simulation", *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, v. 36, p. 44-54.
- Kohn, A.F., Vieira, M.F. (2002), "Optimality in the encoding/decoding relations of motoneurons and muscle units", *BioSystems*, v. 67, p. 113-119.
- Kukulka, C.G., Clamann, P. (1981), "Comparison of the recruitment and discharge properties of motor units in human brachial biceps and adductor pollicis during isometric contractions", *Brain Research*, v. 219, p. 45-55.
- McIntyre, C.C., Grill, W.M. (2002), "Extracellular stimulation of central neurons: influence of stimulus waveform and frequency on neuronal output", *Journal of Neurophysiology*, v. 88, p. 1592-1604.
- McLarnon, J.G. (1995), "Potassium currents in motoneurons", *Progress in Neurobiology*, v. 47, p. 513-531.
- Powers, R.K. (1993), "A variable-threshold motoneuron model that incorporates time and voltage-dependent potassium and calcium conductances", *Journal of Neurophysiology*, v. 70, p. 246-262.
- Powers, R.K., Binder, M.D. (2001), "Input-output functions of mammalian motoneurons", *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, v. 143, p. 137-263.
- Schmied, A., Pagni, S., Sturm, H., Vedel, J.P. (2000), "Selective enhancement of motoneurone short-term synchrony during an attention-demanding task", *Experimental Brain Research*, v. 133, p. 377-390.
- Schwandt, P.C., Calvin, W.H. (1972), "Membrane-potential trajectories between spikes underlying motoneuron firing rates", *Journal of Neurophysiology*, v. 35, p. 311-325.
- Schwandt, P.C., Crill, W.E. (1984), "Membrane properties of cat spinal motoneurons", In: *Handbook of the Spinal Cord*, Eds.: R. A. Davidoff, New York: Marcel Dekker, p. 199-242.
- Stuart, G., Spruston, N., Sakmann, B., Hausser, M. (1997), "Action potential initiation and backpropagation in neurons of the mammalian CNS", *Trends in Neuroscience*, v. 20, p. 125-131.
- Traub, R.D. (1977), "Motorneurons of different geometry and the size principle", *Biological Cybernetics*, v. 25, p. 163-176.
- Traub, R.D., Llinas, R. (1977), "Spatial-Distribution of Ionic Conductances in Normal and Axotomized Motor-Neurons", *Neuroscience*, v. 2, p. 829-849.
- Vieira, M.F., Kohn, A.F. (2004a), "Interações não lineares entre sítios dendríticos em modelos de motoneurônios com dendrito passivo", In: *III Congresso Latino-Americano de Engenharia Biomédica*, João Pessoa, p. 1443-1446.
- Vieira, M.F., Kohn, A.F. (2004b), "Resposta em frequência da corrente somática em modelos de motoneurônios com dendrito passivo", In: *III Congresso Latino-Americano de Engenharia Biomédica*, João Pessoa, p. 1447-1449.
- Zengel, J.E., Reid, S.A., Sypert, G.W., Munson, J.B. (1985), "Membrane Electrical-Properties and Prediction of Motor-Unit Type of Medial Gastrocnemius Motoneurons in the Cat", *Journal of Neurophysiology*, v. 53, p. 1323-1344.

