



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

Daniella Tavares Pessoa

**Análise não linear de padrões eletroencefalográficos de ratos normais e em *status epilepticus* submetidos a dieta normal e hiperlipídica**

Dissertação apresentada ao Programa de Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal.

Orientador:

Prof. Dr. Romildo de Albuquerque Nogueira

Co-Orientadora:

Profa. Dra. Raquel Raimunda Goldstein Costa Cruz

**Recife**

**2012**

Daniella Tavares Pessoa

**Análise de padrões encefalográficos de ratos normais e em *status epilepticus* submetidos a dieta normal e hiperlipídica**

Dissertação apresentada ao Programa de Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal.

Orientador:

Prof. Dr. Romildo de Albuquerque Nogueira

Co-Orientadora:

Profa. Dra. Raquel Raimunda Goldstein Costa Cruz

**Recife  
2012**

*Dedico esse trabalho aos meus pais, Nazaré e Alberto, por sempre acreditarem que eu seria capaz de transpor cada nova etapa de minha vida, me ajudando sem medir esforços e vibrando a cada conquista como sendo conquistas próprias.*

## AGRADECIMENTOS

Minha eterna gratidão a minha família pelo apoio e incentivo. Em especial, a minha mãe pela paciência, a meu pai pela descontração nos momentos mais difíceis e a minha irmã pelas opiniões sinceras.

Ao meu avô, Roosevelt, *in memoriam*, pelo exemplo de vida, e porque sempre acreditou em minhas vitórias pedindo sempre a Deus pela minha vida.

Ao meu orientador, Prof. Romildo Nogueira, que merece toda minha gratidão e admiração, pela larga sabedoria, competência e humildade com que conduziu a orientação desse trabalho e de tantos outros.

A minha co-orientadora e amiga, Raquel Goldstein, por todo incentivo e carinho. E por me acolher com conselhos e cuidado maternos, serei eternamente grata.

A todos meus colegas e amigos do LABTEC, especialmente a minha amiga que se tornou uma irmã, Thaís Almeida, pelo companheirismo. A Edbhergue Ventura, pela amizade e auxílio em muitas etapas desse projeto. A Leandro Aguiar, pelo auxílio na análise computacional dos dados. A Thiago Salazar, pelo incentivo. A Bruno Tenorio, sem o qual a conclusão desse projeto teria sido muito mais difícil. Enfim, a Jeine, Renato, Marliete, Alceu, Radamés, Gesilda e Cláudio, porque juntos construímos um ambiente de trabalho agradável e acolhedor.

Aos professores e funcionários da Pós-Graduação em Biociência animal, em especial a Edna Cherias, pela atenção e ajuda.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) e a Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de nível superior (CAPES) pelo apoio financeiro, essencial para realização desse trabalho.

*"Se o cérebro humano fosse tão simples que pudéssemos entendê-lo, seríamos  
tão simples que não o entenderíamos."*

*-Lyall Watson*

## RESUMO

O aumento do consumo de dietas hiperlipídicas vem elevando os índices de obesidade e os níveis de colesterol e triglicérides de grande parte da população, além de estar relacionado ao desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer. Por outro lado muitas pesquisas têm comprovado a importância dos lipídeos na estrutura e atividade do cérebro. A epilepsia é uma patologia relacionada à desordem da atividade cerebral, com alto índice de refratariedade a medicamentos convencionais, nesses casos, o consumo de dietas hiperlipídica vem sendo utilizado como uma terapia alternativa. A investigação de possíveis interferências de dietas hiperlipídicas na ELT pode acrescentar novas perspectivas na compreensão do comportamento e tratamento desta condição patológica. Nesse trabalho foram analisados ratos em *status epilepticus* induzido pela pilocarpina submetidos à dieta hiperlipídica. Esses ratos foram analisados através de parâmetros eletrográficos utilizando os registros de ECoG e determinando as energias do seu espectro de potência nas frequências das ondas delta, teta, alfa e beta; a complexidade de Lempel-Ziv e a dimensão fractal do espaço de fase. O *status epilepticus* induziu alterações no padrão encefalográfico mensuradas pela distribuição de energia das principais ondas cerebrais utilizando o espectro de potência, a complexidade de Lempel-Ziv e a dimensão fractal do espaço de fase. A dieta hiperlipídica, em ratos normais, também alterou os valores da energia das ondas cerebrais no espectro de potência e na complexidade de Lempel-Ziv; entretanto, a dimensão fractal do espaço de fase não revelou diferenças significativas devido ao tratamento com a dieta hiperlipídica. Apesar da dieta hiperlipídica ter reduzido a atividade cerebral antes da administração da pilocarpina, a condição nutricional não influenciou o padrão encefalográfico durante o *status epilepticus*. Em conclusão, a dieta hiperlipídica causou uma desaceleração das ondas cerebrais e diminuição da complexidade da atividade cerebral, efeitos contrários aos do *status epilepticus*. Portanto, os métodos matemáticos utilizados foram eficientes na detecção da hiperatividade cerebral causada pelo *status epilepticus* e redução da atividade cerebral induzida pela dieta hiperlipídica.

**Palavras-chave:** Epilepsia, dieta hiperlipídica, eletrocorticograma, espectro de potência, complexidade de Lempel-Ziv, e dimensão fractal do espaço de fase.

## ABSTRACT

The increased consumption of hyperlipidic diet has been an increase in obesity rates and levels of serum cholesterol and triglycerides in a large part of the population, as well as, has been linked with the development of neurodegenerative diseases, such as Alzheimer's disease. On the other hand, several studies demonstrated the importance of lipids in brain structure and activity. Epilepsy is a pathology related to the brain activity disorder, with high rate of refractoriness to conventional therapeutics, in these cases hyperlipidic diet has been used such an alternative treatment. Therefore, the investigation of possible interference from hyperlipidemic diets in TLE can add new perspectives in understanding the behavior and treatment of this pathology. In the present study we used mathematical computational methods to analyze electrographic patterns of rats in *status epilepticus* induced by pilocarpine fed with hyperlipidic diet. These rats were analyzed through electrographic parameters using ECoG records and determining: energies of power spectrum in the frequency of delta, theta, alpha and beta waves; Lempel-Ziv complexity; and fractal dimension of phase space. *Status epilepticus* induced changes in the encephalographic pattern measured by distribution of main brain waves using power spectrum, Lempel-Ziv complexity and fractal dimension of phase space. Hyperlipidic diet in normal rats also changed the values of brain waves energy in power spectrum and Lempel-Ziv complexity; however, fractal dimension of phase space showed no significant differences due to hyperlipidic diet treatment. Despite the hyperlipidic diet reduced brain activity before pilocarpine administration, the nutritional status did not change the encephalographic pattern during *status epilepticus*. In conclusion, hyperlipidic diet induced slower brain waves and decreased the complexity of brain activity, opposite effects of *status epilepticus*. Therefore, the mathematical methods were effective to detect brain hyperactivity caused by *status epilepticus* and reduced brain activity induced by hyperlipidic diet.

**Keywords:** Epilepsy, hyperlipidic diet, electroencephalogram, electrocorticogram, Lempel-Ziv complexity, Fourier transform and fractal dimension of phase space.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Representação de um neurônio e seus principais componentes .....	<b>16</b>
<b>Figura 2.</b> Traçado eletroencefalográfico das principais ritmos cerebrais .....	<b>21</b>
<b>Figura 3.</b> Representação de um <i>raft</i> lipídico e seus componentes .....	<b>26</b>
<b>Figura 4.</b> EEG e a decomposição de seus principais ritmos .....	<b>32</b>
<b>Figura 5.</b> Mapas da dinâmica das equações de (a) van der Pol, (b) van der Pol forçada e (c) Duffing, e suas respectivas transformadas de Fourier .....	<b>33</b>
<b>Figura 6.</b> ECoG no domínio do tempo .....	<b>34</b>
<b>Figura 7.</b> Espectro de potência do ECoG (domínio da frequência) .....	<b>34</b>
<b>Figura 8.</b> Processo fractal na dinâmica cardíaca. ....	<b>38</b>
<b>Figura 9.</b> Espaço de fase construído através do programa Origin .....	<b>40</b>
<b>Figura 10.</b> Dimensão fractal .....	<b>40</b>

## CAPÍTULO ÚNICO

<b>Figura 1.</b> Trecho dos ECoG's.....	<b>64</b>
<b>Figura 2.</b> Espectro de potência de animais normonutridos antes e durante o <i>status epilepticus</i> .....	<b>65</b>
<b>Figura 3.</b> Espaço de fase do ECoG para a onda delta antes e durante o <i>status epilepticus</i> . ....	<b>67</b>



## LISTA DE TABELA

<b>Tabela 1.</b> Enriquecimento por kg para ração padrão .....	<b>44</b>
<b>Tabela 2.</b> Informação nutricional da gordura suína .....	<b>44</b>
CAPÍTULO ÚNICO	
<b>Tabela 1.</b> Peso inicial e após 30 dias recebendo a dieta hiperlipídica ou padrão (controle) .....	<b>61</b>
<b>Tabela 2.</b> Níveis séricos de colesterol e triglicerídeos após 30 dias recebendo a dieta hiperlipídica ou padrão (controle).....	<b>61</b>
<b>Tabela 3.</b> Valores da energia das diferentes ondas cerebrais nos animais normonutridos antes e durante o <i>status epilepticus</i> .....	<b>63</b>
<b>Tabela 4.</b> Valores de energia das diferentes ondas cerebrais nos animais normonutridos e tratados com dieta hiperlipídica .....	<b>64</b>
<b>Tabela 5.</b> Valores da CLZ nos animais alimentados com a dieta padrão ou hiperlipídica antes e durante o <i>status epilepticus</i> .....	<b>64</b>
<b>Tabela 6.</b> Valores da dimensão fractal das diferentes ondas cerebrais nos animais alimentados com a dieta padrão ou hiperlipídica antes e durante o <i>status epilepticus</i> .....	<b>65</b>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>14</b>
2.1 O SISTEMA NERVOSO CENTRAL .....	14
2.2 O CÓRTEX .....	15
2.3 OS NEURÔNIOS .....	15
2.4 AS SINAPSES .....	18
2.5 ATIVIDADE ELÉTRICA CEREBRAL.....	18
2.6 ELETROENCEFALOGRAMA (EEG) E ELETROCORTICOGRAMA (ECoG) .....	19
2.7 DIFERENTES RITMOS CEREBRAIS .....	20
2.8 A EPILEPSIA .....	21
2.9 EPILEPSIA DO LOBO TEMPORAL .....	22
2.10 MODELO EXPERIMENTAL DA PILOCARPINA .....	23
2.11 ICTOGÊNESE: O INÍCIO DAS MANIFESTAÇÕES EPILEPTIFORMES .....	23
2.12 O COLESTEROL NO CÉREBRO .....	24
2.13 A ALIMENTAÇÃO HIPERLIPÍDICA E A SAÚDE .....	28
2.14 DIETAS TERAPÊUTICAS RICA EM LIPÍDEOS .....	28
2.15 A DINÂMICA DOS PROCESSOS FISIOLÓGICOS .....	29
2.16 ANÁLISE TEÓRICO-COMPUTACIONAL DO ECoG.....	30
<b>2.16.1 Espectro de potência .....</b>	<b>30</b>
2.16.1.1 Teorema de Fourier .....	30
2.16.1.2 <i>Transformada de Fourier</i> .....	32
2.16.2 Complexidade de Lempel-Ziv .....	34
<b>2.16.3 Geometria fractal .....</b>	<b>37</b>
2.16.3.1 <i>Espaço de fase e atrator</i> .....	39
2.16.3.2 <i>Determinação do espaço de fase</i> .....	39
2.16.3.3 <i>Cálculo da dimensão fractal</i> .....	39

<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>42</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	42
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	42
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>43</b>
4.1 METODOLOGIA EXPERIMENTAL .....	43
4.1.1 Grupos experimentais .....	43
4.1.2 Dieta hiperlipídica .....	43
4.1.3 Níveis de colesterol e triglicerídeos .....	45
4.1.4 Registro dos animais e <i>status epilepticus</i> .....	45
4.1.5 Procedimento cirúrgico .....	45
4.1.6 Análise dos registros de ECoG.....	45
4.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	46
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>47</b>

#### CAPÍTULO ÚNICO

<b>Resumo .....</b>	<b>56</b>
<b>1 Introdução .....</b>	<b>58</b>
<b>2 Material e Métodos .....</b>	<b>59</b>
<b>3 Resultados .....</b>	<b>63</b>
<b>4 Discussão .....</b>	<b>68</b>
<b>5 Conclusão .....</b>	<b>71</b>
<b>Referências .....</b>	<b>72</b>

#### APÊNDICE

<b>Artigo- Nonlinear analysis of electroencephalographic patterns in rats fed with standard or hyperlipidic diets in a normal state or during <i>status epilepticus</i> .....</b>	<b>77</b>
---	-----------

#### ANEXO

<b>Comprovante de submissão de artigo .....</b>	<b>105</b>
---	------------



## 1 INTRODUÇÃO

O aumento no consumo de dietas hiperlipídicas vem elevando os índices de obesidade (FEOLI et al., 2003), considerada a “epidemia do século XXI” pela Organização Mundial de Saúde (SVERDLOFF, 2002). Outra consequência dessa dieta é o aumento nos níveis de colesterol e triglicerídeos (FEOLI et al., 2003). Recentemente, o interesse pelo metabolismo dos lipídeos e sua relação com o Sistema Nervoso Central (SNC) vem ganhando destaque após a constatação de sua relação com doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer (REISS e VOLOSHYNA, 2012). Por outro lado, alguns estudos mostram que a escassez de lipídeos é extremamente prejudicial a saúde, pois estes estão envolvidos na estrutura e função do SNC. O colesterol, por exemplo, é fundamental no desenvolvimento e manutenção da plasticidade neuronal (MAUCH, 2001; GORITZ, 2002), no transporte de vesículas sinápticas (KLOPFENSTEIN et al., 2002) e na liberação de neurotransmissores (MAUCH, 2001).

No SNC, os neurônios conduzem o impulso nervoso através de potenciais de ação e sinapses (KANDEL et al., 2000). A sobreposição de potenciais pós-sinápticos de populações de neurônios é responsável pela atividade elétrica cerebral detectável pelo Eletrocorticograma (ECoG). Alterações nos padrões de ECoG permitem identificar algumas condições patológicas, especialmente as epilepsias (DURAND, 2001).

A epilepsia do lobo temporal (ELT) em humanos apresenta um alto índice de refratariedade a medicamentos convencionais, cerca de 35% dos casos (ENGEL, 2001), o que evidencia a importância de estudos relacionados a essa condição patológica. Algumas dietas ricas em lipídeos e pobres em carboidrato vêm sendo utilizadas no tratamento da epilepsia refratária. Considerando que a epilepsia é diretamente relacionada a desordens na atividade elétrica cerebral e que os lipídeos estão intimamente relacionados aos processos neurais; esse trabalho objetivou utilizar métodos matemáticos e computacionais para parametrizar os padrões eletroencefalográficos em ratos normais e em *status epilepticus* submetidos à dieta padrão e hiperlipídicas.

O sistema nervoso é um sistema complexo com comportamento caótico. Os fenômenos caóticos apresentam como principal característica a sensibilidade crítica

às condições iniciais, podendo um estímulo inicial resultar em respostas imprevisíveis (GLEICK, 1987). Na atividade elétrica cerebral, como em qualquer sistema fisiológico, a capacidade de auto-regulação é que define a regra do caos. Essa auto-regulação gera uma auto-similaridade nos padrões eletroencefalográficos detectados pelo ECoG e revelados por técnicas matemáticas. Nesse estudo foram analisados os ECoG's diante do *status epilepticus* e da dieta hiperlipídica para a melhor compreensão de como essas condições interferem na dinâmica da atividade cerebral e em sua propriedade de auto-similaridade.

Os processos caóticos podem ser analisados e caracterizados por alguns métodos matemáticos e computacionais utilizados nesse trabalho, tais como: a transformada de Fourier, que nos sistemas caóticos apresenta bandas largas no espectro de potência (GANDUR, 2001); a complexidade de Lempel-Ziv, método que mensura a complexidade da série temporal (MACHADO, 2003); e a dimensão fractal do espaço de fase. Essas técnicas permitem a observação e quantificação de alterações muito tênues e muitas vezes incapazes de serem observadas diretamente nos registros eletroencefalográficos (MAYER-KRESS e LAYNE, 1987; ROBINSON, 2003). Esses métodos matemáticos mostrando-se sensíveis poderão auxiliar no diagnóstico da epilepsia e parametrização na severidade da crise.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 O SISTEMA NERVOSO CENTRAL

O sistema nervoso é dividido didaticamente em sistema nervoso central (SNC) e em sistema nervoso periférico (SNP). O SNC é composto pelo encéfalo e pela medula espinal, tendo como função a interpretação das informações oriundas de células transdutoras e a elaboração de respostas adequadas, enviando-as aos órgãos responsáveis pelas ações. O SNP é formado por nervos e gânglios que conduzem informações entre os órgãos receptores e o SNC. O encéfalo é formado pelo bulbo, ponte, cerebelo, mesencéfalo, diencéfalo (tálamo e hipotálamo) e hemisférios cerebrais (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999; KANDEL et al., 2000).

A medula espinal ocupa quase todo o centro da coluna vertebral, intermedeia a comunicação entre os demais órgãos do corpo e o encéfalo, além de elaborar respostas simples para certos estímulos. O bulbo, localizado acima da medula espinal, é responsável pela regulação de funções vitais involuntárias como batimentos cardíacos, movimentos respiratórios e digestão. A ponte está acima do bulbo e transmite informações sobre o movimento, do cérebro para o cerebelo, participando também da manutenção da postura corporal adequada, no equilíbrio do corpo e no tônus muscular. O cerebelo está posicionado por trás da ponte e é conectado ao tronco cerebral por diversos tratos de fibras nervosas. O cerebelo coordena os movimentos, orienta a postura corporal e participa da aprendizagem de habilidades motoras. O mesencéfalo é situado atrás da ponte e controla muitas funções sensoriais e motoras (KANDEL et al., 2000).

Apesar do cérebro corresponder apenas à cerca de 2% do peso corporal, para seu funcionamento adequado, utiliza cerca de 15% do sangue bombeado pelo coração (McCALL, 2004), 20% de todo o gás oxigênio inalado e é nele que se encontra cerca de 25% de todo colesterol presente no organismo (DIETSCHY e TURLEY, 2004).

O cérebro consiste em diencéfalo (tálamo, hipotálamo) e o telencéfalo, (núcleos da base e lobos do córtex cerebral). O telencéfalo é a estrutura mais desenvolvida do encéfalo humano, sua superfície, o córtex, é composta de sulcos e depressões que definem os giros cerebrais. Um sulco mais profundo divide quase

totalmente o cérebro longitudinalmente, originando os hemisférios cerebrais. A conexão entre os hemisférios é estabelecida principalmente pelo corpo caloso, este contém mais de 200 milhões de fibras nervosas mielinizadas (COOK, 1986; LUDERS et al., 2010).

## 2.2 O CÓRTEX

A camada mais externa dos hemisférios cerebrais, cuja espessura varia entre 1 a 4 mm em mamíferos, é o córtex, que contém cerca de 50 a 80 milhões de corpos neuronais. O córtex recebe os impulsos elétricos vindos de todas as vias de sensibilidade, interpretando e tornando-os consciente; do córtex também saem os impulsos responsáveis pelos movimentos voluntários, além de estar relacionado com os fenômenos psíquicos (MACHADO, 2000).

Quanto a sua topografia anatômica, o córtex é dividido didaticamente em lobos que são delimitados por sulcos e giros. Os lobos estão envolvidos na maior parte das funções mentais mais complexas como o raciocínio, a linguagem e a consciência.

O lobo frontal, por exemplo, é responsável pelo planejamento das ações futuras e controle dos músculos esqueléticos. Os lobos parietais localizam-se nas laterais superiores da cabeça e são responsáveis pelas sensações provenientes da pele, além de estarem associados à imagem corporal. Nas laterais inferiores da cabeça estão situados os lobos temporais, estes são o centro da audição, relacionando-se também a aspectos do aprendizado, memória e emoção. Os lobos occipitais, localizados na parte posterior da cabeça, são responsáveis pela visão e processamento visual (KANDEL et al., 2000).

## 2.3 OS NEURÔNIOS

O sistema nervoso é o centro de integração entre as diversas partes do organismo. Essa capacidade se dá, em grande parte, por sua alta excitabilidade e capacidade de conduzir e interpretar os impulsos elétricos provenientes de todas as regiões do organismo. Essa capacidade é adquirida graças aos neurônios, células

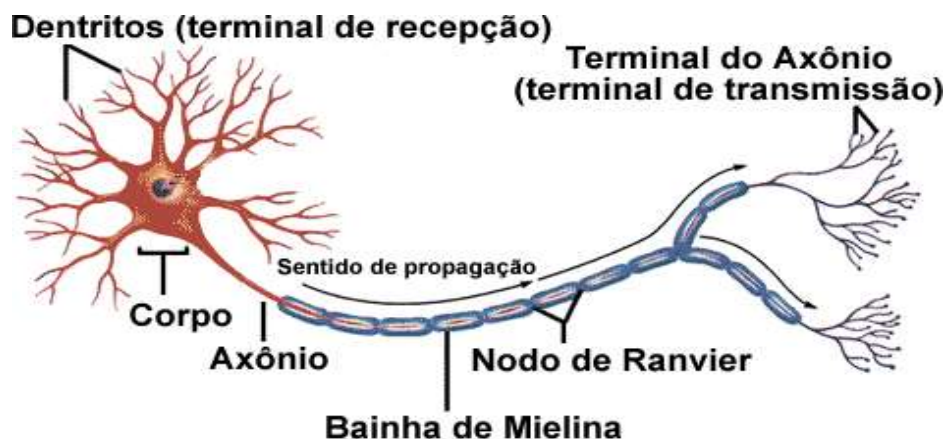


especializadas que apresentam como propriedades fundamentais a excitabilidade e a condutibilidade (LENT, 2004).

A excitabilidade é devido à capacidade do neurônio de responder a estímulos elétricos e a condutibilidade corresponde à capacidade que essa célula apresenta, de uma vez recebido o estímulo, propagar a informação em forma de impulsos elétricos, com grande velocidade, por toda sua extensão (DOWNLING, 1992).

A comunicação neural se dá através de um fluxo de íons, principalmente sódio e potássio, através da membrana de cada neurônio. Esses íons são carregados eletricamente, o que torna possível a detecção de potenciais elétricos internos e externos aos neurônios. Por esse motivo a excitabilidade neuronal está intimamente relacionada à quantidade de íons e a quantidade e disponibilidade de canais de membrana (KANDEL, 2000).

Estruturalmente, o neurônio é constituído pelo soma, ou corpo celular, os dendritos, o axônio e o terminal axônico, como se pode observar na **Figura 1**:



**Figura 1.** Representação de um neurônio e seus principais componentes

No soma encontram-se a maioria das estruturas citoplasmáticas, e dele partem prolongamentos de dois tipos: os dendritos e axônios (SNELL, 2003). Os

dendritos são estruturas altamente ramificadas, responsáveis pelo recebimento de estímulos provenientes de outros neurônios ou de células sensoriais. Todavia, o neurônio pode receber estímulos através de suas demais estruturas com menor frequência. O axônio geralmente é longo e pode ser ramificado, tendo como principal função transmitir o impulso nervoso. O estímulo para deflagrar um impulso nervoso chega através de sinapses aos dendritos. No cone axonal ocorre a soma dos vários potenciais pós-sinápticos inibitórios e excitatórios, originando ou não um potencial de ação no axônio (SNELL, 2003).

Quando está em repouso o neurônio está polarizado, com carga negativa intracelular e positiva extracelular devido aos gradientes de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ . Ao receber um estímulo supralimiar, o potencial transmembrana se altera chegando a inverter a polaridade, essa alteração do potencial vai rapidamente sendo transmitida ao longo do axônio (SNELL, 2003).

Algumas neurofibras são mielinizadas. A mielina, no SNC, é originada pelos oligodendrócitos, enquanto que no SNP, os extratos mielínicos têm origem através das células de Schwann. As células gliais que formam o extrato mielínico se enrolam concentricamente nos axônios para formar a bainha de mielina, essa então é formada basicamente da membrana plasmática das células gliais que possui uma alta concentração de colesterol (KANDEL et al., 2000; SNELL, 2003).

Ao longo de seu comprimento uma neurofibra mielinizada contém interrupções, denominadas nódulo de Ranvier, que correspondem aos pontos de separação das células gliais próximas que formam a bainha de mielina. O impulso nervoso em neurofibras mielinizadas tem caráter saltatório, passando de um nó para outro, conferindo assim maior velocidade na transmissão do impulso quando comparadas a neurofibras não mielinizadas (LENT, 2001).

A comunicação entre neurônios, ou entre neurônios e órgão efector ou receptor, na qual são transmitidos os impulsos nervosos é denominada sinapse.

## 2.4 AS SINAPSES

O neurônio pré-sináptico se comunica com o neurônio pós-sináptico através das sinapses. Entre esses dois neurônios existe a fenda sináptica, onde há a transmissão de informação. Há dois tipos de sinapse: elétrica e química, sendo a última encontrada em maior número no corpo humano.

A distância entre os neurônios da sinapse elétrica é dez vezes menor que a distância entre os neurônios das sinapses químicas e suas células comunicam-se através de junções *gap*, que são poros formados por uma proteína denominada conexina. As conexinas funcionam como dutos para a passagem da corrente iônica (SAEZ et al., 2003), dessa forma essa sinapse é mais rápida e bidirecional.

Na sinapse química, quando o sinal elétrico do neurônio chega ao terminal pré-sináptico, ele é transformado em um sinal químico, através da liberação de neurotransmissores que ficam contidos nas vesículas sinápticas. Esses neurotransmissores são captados por proteínas receptoras específicas localizadas no terminal pós-sináptico, onde o sinal químico é novamente transformado em sinal elétrico (LENT, 2001).

Sabe-se que células gliais, mais precisamente astrócitos, teriam um grande controle sobre o número de sinapses. Alguns estudos sugerem que os astrócitos secretariam apolipoproteína E (ApoE), lipoproteínas carreadoras de colesterol, e os neurônios teriam abundantes ApoE-receptores. Surpreendentemente, neste estudo, neurônios aumentaram o número de sinapses em presença de colesterol e retirando o colesterol ou impedindo sua síntese anulou-se a capacidade dos astrócitos de promover a formação de sinapses (BARRES e SMITH, 2001).

## 2.5 ATIVIDADE ELÉTRICA CEREBRAL

O cérebro é um sistema complexo, formado por uma rede de neurônios com cerca de 100 bilhões de neurônios e cada uma dessas células está conectada a cerca de 10.000 outros neurônios através de sinapses (BERNARDI, 1999). Essas

células trocam a todo tempo informação em forma de impulsos elétricos, gerando uma atividade elétrica cerebral.

A atividade elétrica cerebral é gerada por dois tipos de biopotenciais (BUTTON, 2000): O potencial pós-sináptico, que é uma alteração no potencial de membrana pós-sináptica, gerado pelo resultado final do neurotransmissor, que transforma o sinal químico em elétrico (LENT, 2004); e o potencial de ação, que é gerado pela transmissão de impulsos eletroquímicos através do axônio.

Os potenciais pós-sinápticos são os que mais contribuem para os registros corticais (LOPES, 1987), pois tem duração de vários milissegundos e enquanto durar esses potenciais, esses podem continuar excitando o neurônio, fazendo com que este transmita uma sequência de impulsos elétricos de saída (GUYTON, 2002). Enquanto os potenciais de ação pouco contribuem com o registro da atividade elétrica cortical, uma vez que são assíncronos, de curta duração e se apresentam em direções ortogonais à superfície do escalpo (BUTTON, 2000; LOPES, 2005; CAPERELLI, 2007).

A atividade elétrica registrada no EEG corresponde desta forma, à variação dos potenciais pós-sinápticos de neurônios de uma determinada área, próxima ao eletrodo de captação do sinal eletroencefalográfico, somados espacialmente e temporalmente (COCKERELL e SHORVON, 1997; BUTTON, 2000; LOPES, 2005; CAPERELLI, 2007).

## 2.6 ELETROENCEFALOGRAMA (EEG) E ELETROCORTICOGRAMA (ECoG)

O EEG registra os potenciais de membrana, resultantes das sinapses, em especial o potencial pós-sináptico. Sendo o EEG, desta forma, o resultado do somatório espacial e temporal da atividade de milhares ou milhões de neurônios disparando sincronicamente, capturado em uma determinada região próxima ao eletrodo. Através do EEG pode-se avaliar se a atividade elétrica cerebral encontra-se dentro do padrão de normalidade, ou detectar disfunções geradas por tumores ou focos epilépticos, localizando-os com precisão (SILVIA e COSTA, 1998).

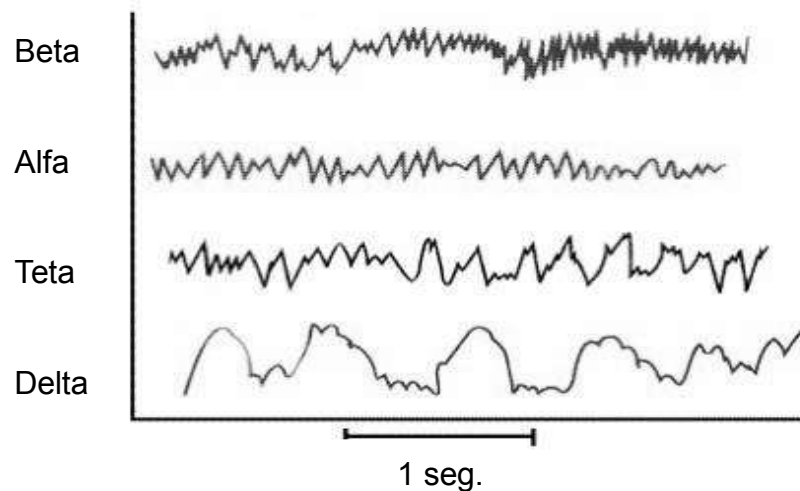
O EEG é realizado através de um aparelho apropriado, o eletroencefalógrafo, que registra a atividade elétrica cerebral. Eletrodos são dispostos no escalpo do paciente e conectados a um amplificador de corrente

elétrica que aumenta a amplitude do sinal elétrico do cérebro milhares de vezes. O amplificador é ligado a um computador, no qual as oscilações da corrente elétrica são digitalizadas, podendo ser analisadas pelo médico ou pesquisador (SANTOS, 2007).

No Eletrocorticograma (ECoG), a aquisição do sinal elétrico é semelhante ao do EEG, porém enquanto o EEG é um exame não invasivo, no ECoG os eletrodos são dispostos diretamente no córtex cerebral. O ECoG é utilizado quando se deseja analisar a atividade elétrica diretamente do córtex. Tanto o EEG como o ECoG registram a voltagem em função do tempo, originando uma série temporal (SANTOS, 2007).

## 2.7 DIFERENTES RITMOS CEREBRAIS

O registro eletroencefalográfico apresenta uma aparente irregularidade. Entretanto, permite identificar padrões de ritmos distintos que ocorrem de acordo com o funcionamento cerebral. A atividade elétrica se dá através de impulsos elétricos emitidos pelos neurônios. Esses impulsos ocorrem, na maioria das vezes, em frequências específicas (ritmos cerebrais) que variam dependendo do nível de consciência, região cerebral ou estado emocional do indivíduo. Dessa forma, dependendo do nível de consciência, o EEG apresenta diferentes ritmos de ondas, provocando alterações no espectro de frequência. Existem vários ritmos cerebrais, porém os mais comuns e as situações em que prevalecem são: ritmo delta (0,5-4Hz) em sono profundo; teta (4-8Hz) em sonolência ou estados emocionais alterados; alfa (8-14Hz) em vigília com relaxamento mental; e beta (14-30Hz) em atividade física ou mental específica e estados de tensão, além de estar relacionada ao processo de cognição (NIEDERMEYER, 2005; GUYTON, 2002). Um registro de EEG pode conter todas essas frequências, contudo terá predominância de um ritmo. Na figura 2 é possível observar o registro eletroencefalográfico dos principais ritmos cerebrais.



**Figura 2.** Traçado eletroencefalográfico dos principais ritmos cerebrais

## 2.8 A EPILEPSIA

A epilepsia é a enfermidade neurológica mais comum, acometendo cerca de 1% da população mundial, sendo sua maior incidência em países subdesenvolvidos (DIOP et al., 2003). A epilepsia de maior incidência em humanos é a epilepsia do lobo temporal (ELT), com cerca de 40 a 50% dos casos. Esta merece atenção especial por apresentar alto índice de refratariedade a tratamentos medicamentosos, cerca de 35 % (ENGEL, 2001). A epilepsia é caracterizada como uma desordem da atividade elétrica cerebral espontânea e recorrente. Esta condição patológica pode ser desencadeada a qualquer momento da vida, mas as crises são mais frequentes em crianças e idosos (CUKIERT, 2006).

As causas da epilepsia são bastante variadas, podendo ocorrer em função da predisposição genética, chamadas idiopáticas ou primárias; ou por prévias agressões que causam lesões neuronais bem definidas, que provavelmente provocam uma reorganização dos circuitos cerebrais, tornando-se foco de descargas elétricas. Essa última é chamada de secundária ou adquirida. Tais agressões que culminam em uma lesão cerebral podem ser de ordem infecciosa, inflamatória, metabólica, neoplásica, tóxica, traumática ou mesmo por um *status epilepticus* prolongado (ENGEL, 2006).

As manifestações clínicas da epilepsia podem ser físicas, como crises convulsivas ou crises de ausência; ou psíquica, como déficit neurológico permanente e a disfunção intelectual (FISHER et al., 2005).

As crises epiléticas podem ser classificadas como parciais ou generalizadas. As crises parciais apresentam foco epileptogênico, funcional ou anatômico, identificável nos registros eletrográficos, podendo essa modalidade de crise evoluir para uma crise generalizada (COCKERELL e SHORVON, 1997).

As crises parciais ainda se subdividem em simples ou complexas. Nas crises parciais simples não há comprometimento da consciência. As crises parciais complexas apresentam basicamente três componentes: aura, alterações de consciência e automatismos. As crises generalizadas envolvem os dois hemisférios cerebrais, sem que seja possível a identificação de um foco anatômico ou funcional. Nestes casos a consciência é seriamente comprometida, podendo ser manifestada de duas formas: crise de ausência ou tônico-clônica (COCKERELL e SHORVON, 1997).

O diagnóstico de epilepsia é determinado pela manifestação clínica da doença juntamente com a observação da ocorrência de ondas epileptiformes anormais em registros eletrográficos, podendo, em alguns poucos casos, pacientes apresentarem EEG característico da doença sem nunca terem sofrido manifestações clínicas, ou apresentarem convulsões (OLIVEIRA e ROSADO, 2004).

## 2.9 EPILEPSIA DO LOBO TEMPORAL

A ELT é a forma mais comum de crise parcial complexa no indivíduo adulto. As principais estruturas relacionadas à ELT são do sistema límbico, em especial o hipocampo e a amígdala, essas são relacionadas à memória e aprendizagem respectivamente. Portanto, portadores da ELT podem apresentar tais funções seriamente comprometidas.

Na ELT pode haver morte neuronal seguida de gliose, causando atrofia hipocampal. Esta alteração é denominada esclerose mesial temporal. Provavelmente, essa esclerose na ELT é a principal responsável pela elevada

refratariedade a medicamentos (COSTA et al., 1998; GUERREIRO et al., 2000; YACUBIAN, 2004).

## 2.10 MODELO EXPERIMENTAL DA PILOCARPINA

Os modelos animais têm auxiliado no entendimento da epilepsia em humanos. Alguns trabalhos atestam que a lesão cerebral do lobo temporal em ratos, induzida pela pilocarpina, torna o animal epilético crônico, reproduzindo alterações clínicas, eletrográficas, bioquímicas, farmacológicas e histológicas, em condições semelhantes à de humanos portadores de ELT (LEITE et al., 1990; MELLO et al., 1993; CAVALHEIRO, 1995; CAVALHEIRO et al., 1996; MATHERN et al., 1996; PRIEL et al., 1996; ARIDA et al., 1999; LI et al., 2003).

A pilocarpina é um agonista colinérgico muscarínico (TURSKY et al., 1989) que age aumentando a neurotransmissão excitatória colinérgica (PERSINGER et al., 1988), provocando crises límbicas ininterruptas (CLIFFORD et al., 1987).

O modelo da pilocarpina apresenta três fases de acordo com suas manifestações clínicas: a fase aguda, latente e crônica. A fase aguda tem início logo após a administração da pilocarpina e tem duração aproximada de 8 a 12h, nesse período ocorre o *status epilepticus* e o animal apresenta crises convulsivas ininterruptas. A fase de latência é posterior a fase aguda e tem duração aproximada de 4 a 14 dias, nessa fase há ausência de manifestações físicas. A última fase é a crônica, período em que o animal começa a apresentar crises espontâneas e recorrentes, com frequência oscilando de 2 a 3 episódios por semana (PRIEL, 1996).

## 2.11 ICTOGÊNESE: O INÍCIO DAS MANIFESTAÇÕES EPILEPTIFORMES

Na ictogênese há uma elevada despolarização paroxística sincrônica dos neurônios, o que ocasiona uma hiperatividade neuronal. Isso culmina em descargas elétricas que na epilepsia são espontâneas e recorrentes, causando desordem na atividade cerebral. Essa desordem normalmente é percebida no eletroencefalograma EEG. O que provavelmente ocorre na ictogênese é um



desequilíbrio entre os fatores excitatórios e inibitórios cerebrais, como na liberação de GABA (ácido gama-amino butírico) e glutamato (BRADFORD, 1995), esse desequilíbrio pode ser analisado em nível de membrana celular, de neurônios e da rede neuronal.

Alterações no mecanismo de manutenção do potencial de membrana podem desencadear atividade ictal. Os carreadores presentes nos astrócitos e a bomba de sódio e potássio podem elevar o nível de potássio extracelular, o que induz a despolarização neuronal gerando desordem no potencial de membrana. Anomalias nos canais de sódio podem acarretar numa diminuição no limiar de disparo neuronal, sendo outro exemplo de alteração nesse potencial capaz de gerar manifestações epileptiformes (SILVA e CABRAL, 2008).

Alterações plásticas no cérebro podem originar a ictogênese, além de poder auxiliar no processo de epileptogênese. O brotamento colateral de axônios em neurônios excitatórios é um exemplo desse tipo de plasticidade (SILVA e CABRAL, 2008).

## 2.12 O COLESTEROL NO CÉREBRO

O cérebro é o órgão com maior concentração de colesterol no corpo humano (DIETSCHY e TURLEY, 2001), apresentando de 20-25% do total de colesterol do corpo, apesar de corresponder apenas a 5% da massa corporal (MICHIKAW, 2006). O colesterol está presente na bainha de mielina, nos *rafts* lipídicos e associado a lipoproteínas, sendo essencial na estruturação, desenvolvimento e função do SNC. O colesterol exerce influência no âmbito celular como um dos principais componentes da bainha de mielina e na formação e manutenção das sinapses. No âmbito molecular, atua como principal componente e responsável pela formação dos *rafts* lipídicos na membrana plasmática e em associações com lipoproteínas. Desta forma, mesmo uma pequena alteração na estrutura dos esteróis constitutivos no sistema nervoso pode levar a uma mudança nas propriedades biofísicas da membrana celular, com profundos efeitos clínicos (BJÖRKHEM, 2010).

A bainha de mielina é uma especialização da membrana plasmática encontrada abundantemente nas células do sistema nervoso recobrando os axônios

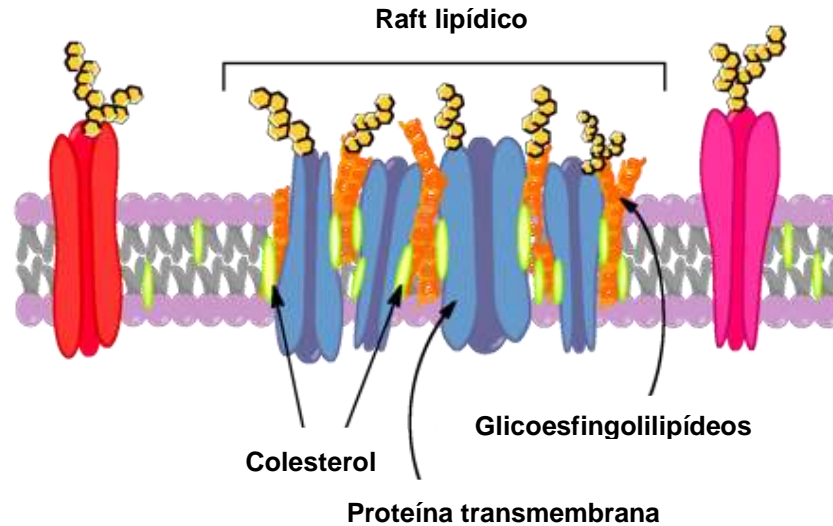
dos neurônios, o que permite o aumento da velocidade de condução dos impulsos nervosos e age como isolante de um condutor elétrico, além de oferecer proteção e nutrição aos neurônios. A bainha de mielina é constituída de substâncias lipídicas, apresentando cerca de 20% de colesterol. Desta forma, acredita-se que ocorrendo alterações nos níveis de colesterol, ocorra a diminuição dessa bainha ocasionando alterações no sistema nervoso, principalmente no que diz respeito à condução de impulsos elétricos. Já se sabe que algumas doenças neurodegenerativas, como a esclerose múltipla, são causadas pela degeneração da mielina (SOSPEDRA e MARTIN, 2005).

A diminuição dos níveis de colesterol no SNC ainda pode ocasionar redução da densidade sináptica, alargamento da sinapse, perda de sinapses excitatórias e inibitórias e de ramificações dendríticas (HERING et al., 2003). Os cientistas do Centro Max Delbruck de Medicina Molecular de Berlim e do Centro de Neuroquímica de Estrasburgo na França após anos de pesquisa investigando qual o fator estimulante das sinapses chegaram à conclusão que a formação das sinapses é quase totalmente dependente do colesterol, sendo este o fator que as estimulam (PFIEGER, 2003).

De acordo com Frank Pfeiger (2003), a indisponibilidade do colesterol no cérebro impede a formação de sinapses, o que pode limitar o desenvolvimento e as funções deste órgão, entre elas a aprendizagem e a memória (PFIEGER, 2003).

O colesterol é um dos principais constituintes da membrana celular, representando cerca de 20% de seu total lipídico. Esse lipídeo é particularmente concentrado nos *rafts* lipídicos, que são microdomínios constituídos pela associação de colesterol e esfingolipídios localizados na camada externa da bicamada lipídica. O colesterol confere a membrana maior rigidez, dessa forma, os *rafts* são regiões que apresentam fluidez diferenciada das demais regiões membranares, funcionando como jangadas lipídicas para aporte de algumas proteínas. Essas plataformas são essenciais na membrana plasmática para o tráfego e função de algumas proteínas e para os complexos de sinalização celular (DOLGANIUC, 2011). Provavelmente, esses microdomínios fornecem localização às proteínas da membrana pra promover sinalização em cascata localizada (DOLGANIUC, 2011). Se as jangadas são desfeitas as proteínas das cascatas sinalizadoras podem desacoplar-se perdendo

sua função. Na figura 3 é possível observar uma representação de um *raft* lipídico e seus componentes.



**Figura 3.** Representação de um *raft* lipídico e seus componentes

Certas proteínas membranares só são ativas quando associadas aos *rafts*. Há evidências que os receptores pós-sinápticos acumulam-se nos *rafts* lipídicos, sendo esses *rafts* abundantemente encontrados nos dendritos de neurônios hipocâmpais em cultura (HERIN et al., 2003). Estudos sugerem que os receptores GABA e glutamato precisam estar ancorados nessas jangadas lipídicas para tornarem-se ativos e exercerem sua função. O desequilíbrio entre a liberação de GABA e glutamato é considerado uma das principais causas do início das crises epiléticas.

O colesterol é vital para a formação e manutenção dos *rafts* lipídicos e a depleção de colesterol prejudica esses *rafts*, causando mudança no seu ambiente físico-químico e na concentração de suas proteínas, o que pode resultar em alterações de diversos processos neurais (BRUSES et al., 2001).

O AY-9944 é um bloqueador da síntese de colesterol muito utilizado e bem estabelecido como modelo experimental da epilepsia de crises de ausência, na qual

há evidências do envolvimento dos receptores gabaérgicos em seu desenvolvimento (WU et al., 2007). O AY-9944 age inibindo a redutase 7-D-dehydrocolesterol, bloqueando a conversão da dehidrocolesterol-7 em colesterol (DVORNIK e HILL, 1968). Sendo o colesterol parte integrante dos *rafts* lipídicos, em quantidade insuficiente, este pode ocasionar alterações nos *rafts* e/ou em sua distribuição protéica interna. Dentre essas proteínas, merece destaque os receptores gabaérgicos. Esse processo resultaria na manifestação das crises de ausência espontâneas e recorrentes.

Toda célula somática é capaz de sintetizar colesterol e incorporá-lo. O folheto externo da membrana plasmática troca colesterol constantemente com o plasma, grande parte desse movimento é impulsionado pelo gradiente químico (SHOBAB et al., 2005; LUTJOHANN, 2006). As células do sistema nervoso central não são exceção, sintetizam colesterol e realizam troca dessa molécula entre si e com o líquido cefalorraquidiano, porém o colesterol presente no sistema nervoso central não consegue transpor diretamente a barreira hematoencefálica. Pelo menos duas vias de transporte do colesterol através da barreira hematoencefálica são citadas na literatura. A primeira é pelo catabolismo do colesterol no cérebro pela 24 -colesterol-hidroxilase, a 24S hidroxí-colesterol (LI-HAWKINS et al., 2000). A segunda é na forma de apolipoproteínas (PITAS et al., 1987).

Algumas pesquisas sugerem que a sinaptogênese é controlada pelos astrócitos. Essas células secretam apolipoproteínas E (ApoE's), que podem se ligar a receptores específicos nos neurônios. Dessa forma, as ApoEs se ligam e transportam o colesterol para os neurônios, contribuindo através desse mecanismo para a sinaptogênese. Além disso, trabalhos *in vitro* mostram que a ausência de colesterol no meio de cultura contendo neurônios e astrócitos reduzem a formação de sinapses. Este efeito também é observado quando a síntese de colesterol é bloqueada e na ausência de astrócitos. Nesse mesmo experimento quando o colesterol foi acrescentado no meio com neurônios e astrócitos o número de sinapses aumentou (BARRES, 2001).

Diante do exposto, há uma expectativa de que estando o colesterol intimamente relacionado ao sistema nervoso, esse possa influenciar na atividade elétrica cerebral e interferir na epilepsia.

## 2.13 A ALIMENTAÇÃO HIPERLIPÍDICA E A SAÚDE

A obesidade cresce de forma acelerada, sendo considerada a “epidemia global do século XXI ” pela Organização mundial de Saúde (OMS) (SVERDLOFF, 2002), pois afeta cerca de 320 milhões de pessoas em todo o mundo e 40% dessas pessoas vivem em países desenvolvidos. Entre as principais causas da obesidade se destaca a alimentação rica em gorduras e açúcares, que está cada vez mais substituindo alimentação saudável. A vida moderna exige agilidade e praticidade, o que leva muitas pessoas a consumir alimentos de *fast-foods*, que para apresentarem-se mais atrativos são enriquecidos com açúcares e gorduras, principalmente saturadas. Esse tipo de alimentação já é preferência entre a maioria dos jovens e de alguns adultos. As dietas hiperlipídicas oferecem quantidades de calorias mais elevadas que as recomendadas pelos nutricionistas, aumentando o risco de desenvolver obesidade. Outra consequência da alimentação com excesso de lipídeos é o aumento nos níveis séricos de colesterol e triglicérides (FEOLI, 2003).

As consequências supracitadas já eram de conhecimento da comunidade científica e da população em geral, porém mais recentemente, o excesso de colesterol na alimentação vem sendo relacionado como fator de risco para o desenvolvimento do Mal de Alzheimer, enfermidade relacionada à degeneração do sistema nervoso (KOUDINOV et al., 2001; REISS e VOLOSHYNA, 2012). Estudos anteriores atestaram a relação da doença de Alzheimer com a presença de uma cópia do alelo ApoE e4, mostrando a relação dessa doença com isoformas da ApoE (BICKEBOLLER, 1997, ROSSELLO et al., 2012). Hoje se sabe que essas moléculas são carreadoras de colesterol (BARRES, 2001).

## 2.14 DIETAS TERAPÊUTICAS RICA EM LIPÍDEOS

Dietas ricas em lipídeos e pobres em carboidrato vêm sendo utilizadas como alternativa no tratamento de epilepsia refratária a tratamentos medicamentosos convencionais. Como exemplo dessas dietas pode-se citar a dieta cetogênica (NORORDLI jr et al., 1997; NORDLI, 2002) e a Dieta Atkins (KOSSOFF et al., 2006;

KOSSOFF, 2008). O mecanismo pelo qual as dietas protegem os pacientes das crises convulsivas ainda é desconhecido, mas a hipótese mais difundida é que a ação antiepiléptica seja decorrente da produção de corpos cetônicos e que estes alteram o metabolismo cerebral (STAFSFROM et al., 2000; KOSSOFF, 2004).

A diminuição da glicose sanguínea causada pelo jejum ou dieta hiperlipídica faz com que o organismo ao invés da glicose utilize a fonte de energia advinda do tecido adiposo, liberando ácidos graxos precursores dos corpos cetônicos. Esses corpos cetônicos são capazes de transpor a barreira hematoencefálica agindo no cérebro (NORDLI, 1997). Estudos têm sugerido que o efeito protetor da cetose advém de um aumento dos níveis de GABA nos terminais nervosos (KOSSOFF, 2004).

A dieta cetogênica é a mais estudada e utilizada no controle da epilepsia refratária. Essa dieta apresenta níveis baixos de carboidrato, moderado de proteína e elevado de lipídeos. A proporção mais recomendada é de 4 (gordura/proteínas) : 1 (carboidratos). Porém, podem-se utilizar proporções menores como 3:1, 2:1 (INUZUKA-NAKAHARADA, 2008). A recomendação é que essa dieta seja realizada após jejum (FREEMAN et al., 2007). Entretanto, estudos têm questionado a eficácia do jejum, sugerindo que este seja desnecessário para o sucesso do tratamento com a dieta cetogênica (RIZZUTTI et al., 2007).

Essas dietas terapêuticas aplicadas no tratamento da epilepsia têm como requisito além da maior inclusão de lipídeos, a diminuição drástica de carboidratos. Enquanto que a dieta utilizada nesse estudo se baseou apenas no acréscimo de gordura animal, se aproximando mais da dieta de uma pessoa comum; para que pudessem ser analisadas possíveis consequências do aumento cultural no consumo de dietas hiperlipídicas, em pessoas normais e com epilepsia. A escolha da gordura animal foi devido a sua grande quantidade de colesterol, diferente das gorduras de origem vegetal.

## 2.15 A DINÂMICA DOS PROCESSOS FISIOLÓGICOS

A relação entre estrutura e função nos sistemas fisiológicos e seus mecanismos de auto-regulação são fundamentais para o funcionamento desses sistemas, dessa forma, são extremamente complexos e ocorrem em diversas escalas de espaço e tempo (GOLDBERGER et al., 1990; BASSINGTHWAIGHT et

al., 1994). Esses sistemas, quando saudáveis, são auto-regulatórios, tendo a capacidade de responder a estímulos externos ou distúrbios internos recuperando-se posteriormente (GOLDBERG et al., 2002).

Novas técnicas advindas da teoria da complexidade vêm sendo empregadas com o objetivo de analisar os mecanismos responsáveis por essa capacidade de auto-regulação dos sistemas fisiológicos, dentre elas estão as teorias do Caos e dos Fractais.

A principal propriedade dos fenômenos caóticos é a sensibilidade crítica às condições iniciais, que afirma que pequenas alterações iniciais podem gerar respostas imprevisíveis (GLEICK, 1987). Nos fenômenos caóticos, como a atividade elétrica cerebral, a capacidade de auto-regulação é que define a regra que rege o caos e é essa regra que faz com que a série temporal do EEG, quando transformada em um espaço de fase, gere um atrator. Nesse atrator, os pontos não se distribuem aleatoriamente, mas ficam presos surpreendentemente à orbitas que nunca se tocam (RUELLE e TAKENS, 1971), apresentando padrões auto-similares, ou seja, com propriedade fractais (GANDUR, 2001).

Os processos caóticos podem ser caracterizados por algumas técnicas baseadas na geometria do atrator, como a dimensão fractal do espaço de fase; outras são baseadas na análise direta da série temporal, como a transformada de Fourier. Esta é diferente dos sinais periódicos comuns que apresentam espectro de potência com picos em frequências bem definidas, nos sistemas caóticos o espectro de potência apresenta bandas largas (GANDUR, 2001).

## 2.16 ANÁLISE TEÓRICO-COMPUTACIONAL DO ECoG

### 2.16.1 Espectro de potência

#### 2.16.1.1 Teorema de Fourier

Segundo o teorema de Fourier, todo sinal oscilatório complexo pode ser decomposto em vários outros sinais senoidais com diferentes frequências. É o que acontece com o EEG e ECoG, um sinal complexo que pode ser decomposto em

sub-ritmos e representados no domínio da frequência. Depois de decomposto o sinal, pode-se calcular a potência média de cada faixa de frequência. A utilização desse teorema torna possível a decomposição de um sinal periódico  $f(x)$  nas suas componentes frequenciais com a somatória de termos senos e cossenos harmonicamente relacionados na forma da seguinte expressão (WEISSTEIN, 2004):

$$f(x) = \frac{1}{2}a_0 + \sum_{n=1}^{\infty} (a_n \cos nx + b_n \sin nx)$$

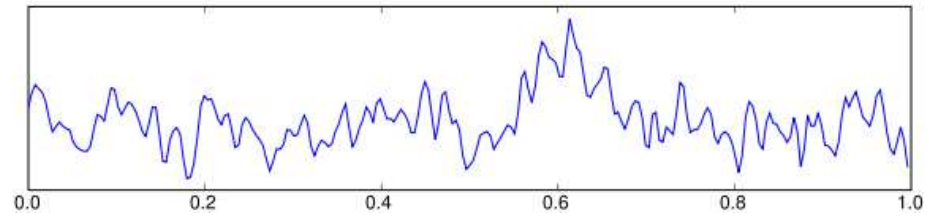
Os coeficientes  $a_k$  e  $b_k$  são calculados analiticamente através das seguintes integrais (BUTKOV, 1988):

$$a_n = \frac{1}{\pi} + \int_{-\pi}^{\pi} f(x) \cos nx \, dx$$

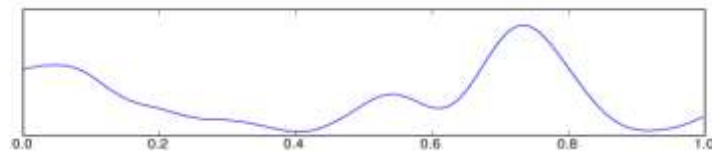
$$b_n = \frac{1}{\pi} + \int_{-\pi}^{\pi} f(x) \sin nx \, dx$$

Podemos observar na Figura 4a, 4b, 4c e 4d a decomposição do EEG nas suas principais componentes frequências referentes aos ritmos cerebrais delta, teta, alfa e beta.

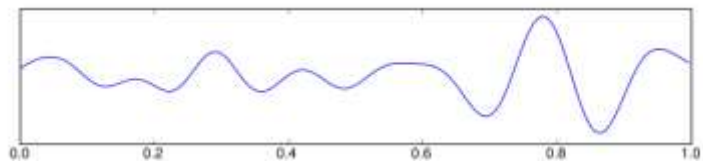




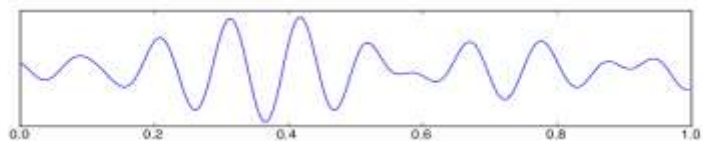
**Figura 4a.** Sinal de EEG, o qual é a soma de eventos oscilatórios, de diferentes frequências.



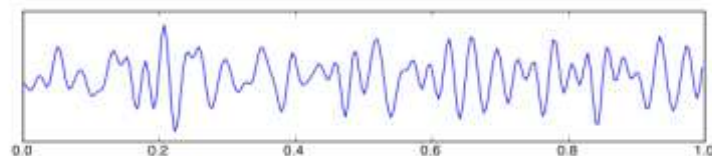
**Figura 4b.** Ritmo delta 0,5-4Hz



**Figura 4c.** Ritmo teta 4-8Hz



**Figura 4d.** Ritmo alfa 8-14Hz



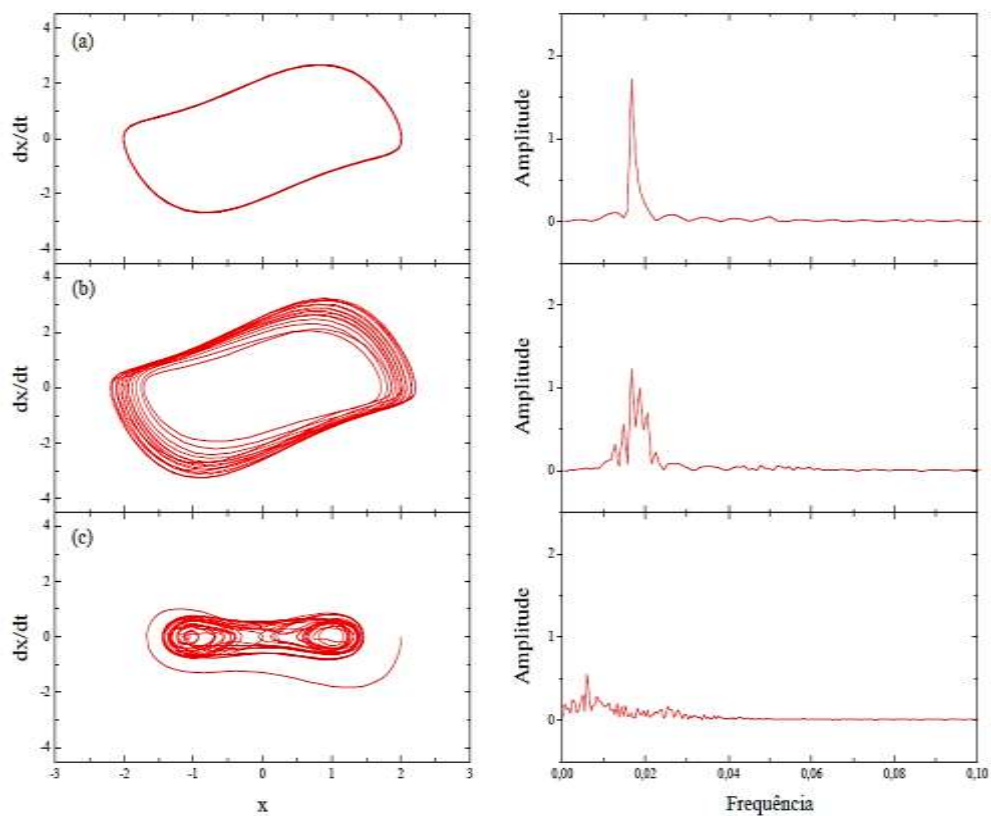
**Figura 4e.** Ritmo beta 14-32 Hz

**Figura 4.** Decomposição de EEG em seus principais ritmos.

#### 2.16.1.2 Transformada de Fourier

A transformada de Fourier é uma análise direta da série temporal capaz de caracterizar e analisar sistemas caóticos. Diferente do espectro de potencia dos

sistemas periódicos que apresentam picos em frequências bem definidas, o espectro de potencia dos sistemas caóticos apresenta bandas largas (GREGORY e GOLLUB, 1990). Na figura 5 é possível diferenciar o espectro de potência de um sistema periódico de um sistema caótico. Nessa figura pode-se observar o mapa da equação de van der Pol (a) indica uma dinâmica periódica, enquanto o mapa da equação de van der Pol forçada (b) mostra uma dinâmica quase periódica. Por sua vez, o mapa da equação de Duffing (c) indica um sistema caótico, cuja dinâmica é definida por ciclos que nunca se repetem e nunca se tocam.

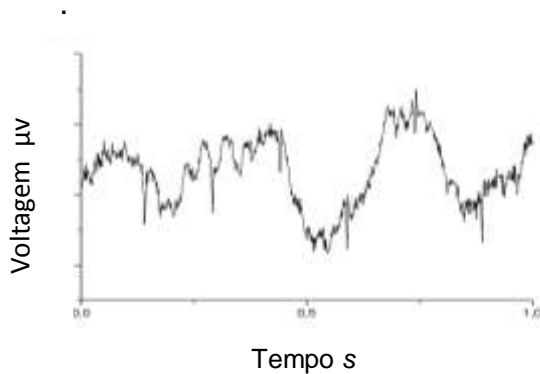


**Figura 5.** Mapas da dinâmica das equações de (a) van der Pol, (b) van der Pol forçada e (c) Duffing, e suas respectivas transformadas de Fourier (GANDUR, 2001).

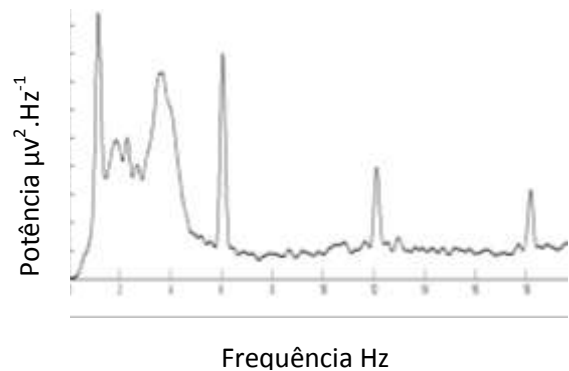
A TF torna possível o conhecimento da contribuição de cada componente de frequência presente na serie temporal. Formalmente, sendo  $F(t)$  uma função de tempo ( $t$ ), a função  $F(f)$  é a transformada direta de Fourier de  $F(t)$  e representa as amplitudes das várias frequências de ondas que constituem o sinal  $F(t)$ . Esta transformada permite passar de uma informação no tempo para o domínio da frequência, como se pode observar nas figuras 6 e 7 para o sinal ECoG. Então,  $F(f)$

representa o grau de participação das componentes frequenciais da função  $F(t)$  no domínio da frequência, conforme se pode observar na equação a seguir:

$$F(f) = \int_{-\infty}^{\infty} F(t)e^{-i2\pi ft} dt$$



**Figura 6.** ECoG no domínio do tempo



**Figura 7.** Espectro de potência do ECoG (domínio da frequência)

Ao aplicar a TF em uma série-temporal, temos o espectro de potência. A análise desse espectro mede a potência média de um sinal em função da frequência. Dessa forma, o objetivo dessa análise é estimar o valor da contribuição de cada ritmo cerebral no sinal ECoG.

### 2.16.2 Complexidade de Lempel-Ziv

A Complexidade de Lempel-Ziv (CLZ) é uma metodologia utilizada para analisar dados, através da compressão da sequência desses dados, via recorrência de padrões (LEMPERL e ZIV, 1976). Dessa forma, torna possível a quantificação dos padrões distintos presentes em uma série.

<sup>1</sup> O registro da atividade cerebral, obtida no EEG, apresenta característica de caoticidade e auto-similaridade (KELLAWA e PETÉRSEN, 1976), o que torna

possível o cálculo da complexidade  $C(n)$  da série temporal utilizando o método de Lempel-Ziv.

Antes de calcular a CLZ do sinal biológico é necessário converter a série temporal em uma sequência binária ( $P$ ). Na qual usualmente se toma a média dos valores da série temporal como limiar, em seguida cada ponto da série é comparado com a média, se o valor do ponto for superior ao da média ele passa a ser representado como 1 e os pontos que apresentarem valores inferiores ao da média passam a ser representados como 0, dessa forma cada ponto recebe a denominação de zero ou um gerando uma sequência binária composta de zeros e uns (WU e XU, 1991; RADHAKRISHNAN e GANGADHA, 1998; ABOY et al., 2006):

$$P = s_{(1)}, s_{(2)}, \dots, s_{(n)}$$

Onde

$$s_{(i)} = \begin{cases} 0, & \text{se } s_{(i)} < \text{méd.} \\ 1, & \text{se } s_{(i)} > \text{méd.} \end{cases}$$

O algoritmo de Lempel-Ziv divide a sequência original ( $P$ ) em subsequências de tamanhos menores.

Algoritmo da CLZ (MACHADO, 2003):

1. Obtêm-se duas subsequências de  $P$ , são elas  $S$  e  $Q$ , com o objetivo de verificar se  $Q$  pode ser reconstruída a partir de cópias de  $S$ .
2. Determina-se uma subsequência  $S$  reconstruídas a partir de  $P$ , que será fixa até que os termos da sequência  $Q$  não possam mais ser simplesmente copiados de  $S$ , nesse momento se insere um novo termo em  $S$ . Cada nova subsequência  $S$  é limitada por um termo inserido:  $S = s_1, s_2, \dots, s_r$ . onde  $s_r$  é o termo inserido e  $Q = s_{r+1}, s_{r+2}, \dots, s_n$ .

3. Após a inserção de um termo, o passo seguinte é definir  $Q=s_{r+1}$  e verificar se o termo em questão pode ser copiado do vocabulário ( $SQ \pi$ ). Esse vocabulário é formado pela concatenação de S e Q, e o  $\pi$  indica que o último termo deve ser removido. Caso o termo  $Q=s_{r+1}$  pertença ao  $v(SQ \pi)$ , o próximo termo a ser testado será  $Q=s_{r1}s_{r2}$  assim sucessivamente até que Q não possa mais ser construído a partir de uma copia de S. Não sendo mais pertencente ao  $v(SQ \pi)$ , nesse momento se insere um novo termo em S e Q voltará a ser  $Q=s_{r1}$ , agora partindo do novo termo inserido.

Quanto maior for o número de termos de Q que possam ser copiados de S, maior será a auto-similaridade da série e menos complexa ela será. E quanto maior for o número de termos inseridos maior será a complexidade da série.

O número de dígitos inseridos é a complexidade  $c(n)$ . A CLZ é definida da seguinte forma (KASPAR e SCHUSTER, 1987; ABOY et al., 2006):

$$CLZ = \lim_{n \rightarrow +\infty} \frac{c(n)}{c(n)'}$$

onde,

$$c(n)' = \frac{n}{\log_2 n}$$

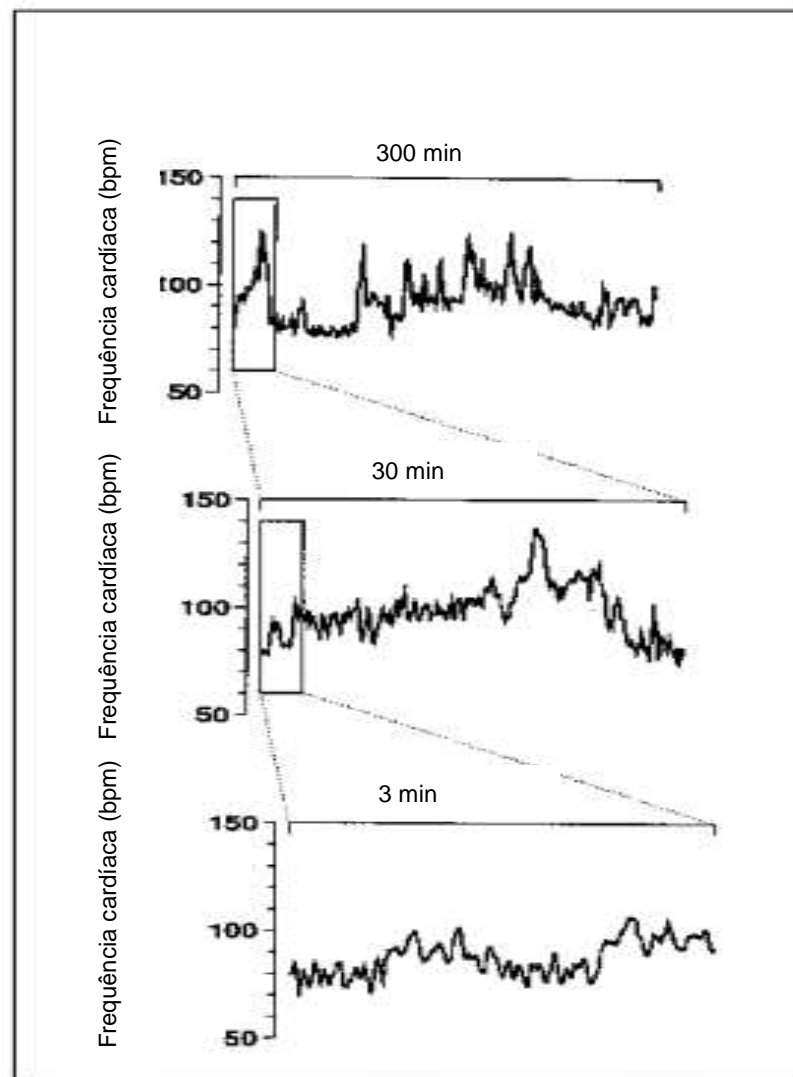
Quando calculada a CLZ obtém-se um número que está entre 0 e 1. Quanto mais próximo de 1 for o resultado maior a CLZ e mais aleatório será o comportamento do sinal, quanto mais próximo o resultado for de 0 menor será a CLZ, indicando que a série tem maior auto-similaridade.

### 2.16.3 Geometria fractal

A geometria euclidiana, com suas dimensões inteiras, não é adequada para aferir a dimensão de objetos auto-similares, como árvores, nuvens, raios ou atratores caóticos. Com a intenção de solucionar esse problema, Mandelbrot desenvolveu a teoria da dimensão fractal.

As propriedades básicas dos objetos e processos fractais são: 1) auto-similaridade, as partes do objeto ou do processo são semelhantes ao objeto ou processo todo; 2) dependência de escala (scaling), a medida da grandeza depende da escala na qual foi realizada a medida; 3) dimensão fractal, a dimensão desses objetos ou processos é em geral fracionária; 4) apresentam propriedades estatísticas anômalas, não apresentando medidas de centralidade e dispersão constantes (BASSINGTHWAIGHTE, 1994).

Os processos fractais possuem auto-similaridade estatística em diferentes escalas temporais da mesma forma que os objetos fractais possuem estrutura semelhante nas várias escalas espaciais. Como exemplos dos processos fractais pode-se citar: atividade elétrica cerebral, batimentos cardíacos em humanos (KOBAYASHI e MUSHA, 1982), flutuações na respiração (SZETO et al., 1992) e cinética de canais iônicos (BASSINGTHWAIGHT et al., 1994; NOGUEIRA et al., 1995). Na figura 8 é possível observar a auto-similaridade em diferentes escalas de tempo da série temporal da dinâmica cardíaca.



**Figura 8.** Processo fractal na dinâmica cardíaca, GOLDBERGER, 2002.

Muitas pesquisas foram realizadas sobre a dinâmica fractal em processos fisiológicos e atestaram que processos fisiológicos em sistemas saudáveis apresentem propriedades fractais, que podem ser perdidas, em parte, diante do envelhecimento e doenças, que reduzem a auto regulação do sistema (GOLDBERG et al., 1996).

A atividade elétrica cerebral também apresenta dinâmica fractal e a análise dessa dinâmica pode ser utilizada como parâmetro de comparação e detecção das respostas dessa atividade cerebral a tratamentos administrados.

#### 2.16.3.1 Espaço de fase e atrator

O atrator é a representação da dinâmica de um sistema no espaço de fases. Este pode indicar se os sistemas são caóticos ou periódicos. Um sistema periódico apresenta atrator com órbita fechada. Enquanto nos sistemas caóticos, as órbitas do atrator nunca se repetem; contudo, as órbitas são atraídas para uma região limitada do espaço de fase. Por apresentar tal comportamento os atratores dos sistemas caóticos são denominados *atratores estranhos* (RUELLE e TAKENS, 1971). Os atratores dos sistemas caóticos apresentam auto-similaridade de escala (ou caráter fractal) e uma dimensão fractal associada (GANDUR, 2001).

#### 2.16.3.2 Determinação do espaço de fase

O espaço de fase é a transformação de um fenômeno temporal em um objeto no espaço. Os espaços de fase são obtidos traçando-se um gráfico da variável “V” no instante “ $t_{i+1}$ ” contra a mesma variável no instante “ $t_i$ ” anterior.

#### 2.16.3.3 Cálculo da dimensão fractal

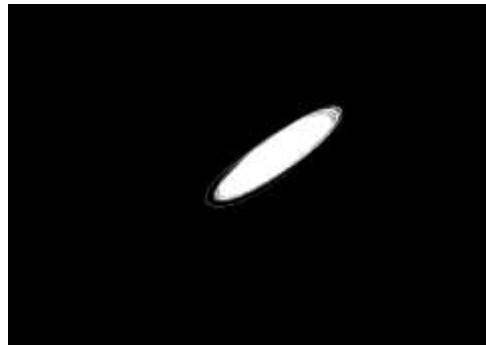
O cálculo da dimensão fractal do espaço de fase de cada registro do ECoG (série temporal) foi determinado pelo método de contagem por caixas.

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

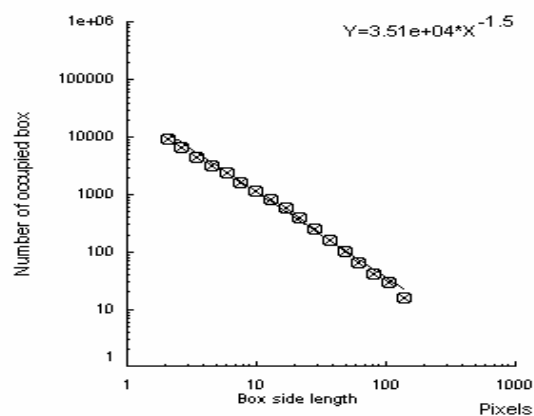


$$D = -\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \left[ \frac{\log N(r+\varepsilon) - \log N(r)}{\log(r+\varepsilon) - \log(r)} \right]$$

A figura 9 está ilustrando o espaço de fase construído no programa Origin<sup>®</sup> 8, e salvo como arquivo de extensão BMP. O fundo da figura é escuro enquanto os pontos são representados em branco. Esse procedimento é realizado visando adequar a figura ao formato exigido pelo programa Benoit<sup>®</sup>.



**Figura 9** – Espaço de fase construído através do programa Origin.



**Figura 10** – Dimensão fractal.

A dimensão fractal (dimensão de contagem por caixas) de cada amostra foi determinada usando o programa Benoit<sup>®</sup>. Uma saída desse programa é mostrada na

figura 10 onde pode ser observado o gráfico duplo-logaritmo do número de caixas (ordenada) utilizadas para cobrir o objeto fractal versus o tamanho das caixas (abscissa) e a função que melhor se ajusta aos pontos experimentais. O expoente da equação com o sinal invertido é a dimensão fractal.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Utilizar métodos matemáticos e computacionais para analisar padrões eletroencefalográficos em ratos normais e em *status epilepticus* submetidos à dieta padrão e hiperlipídica.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1- Analisar a atividade elétrica cortical normal e em *status epilepticus* em ratos alimentados com dietas padrão e hiperlipídica;

2- Analisar os padrões eletroencefalográficos nas várias condições experimentais utilizando os métodos matemáticos: do espectro de potência dos ritmos cerebrais, da complexidade de Lempel-Ziv e da dimensão fractal do espaço de fase.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

#### 4.1.1 Grupos experimentais

Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, var. *albinus*) provenientes do biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Os animais foram mantidos em ambiente adequado com temperatura ( $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e umidade (50%) controlada, em ciclo claro-escuro de 12 horas, com água e alimentação *ad libitum*. Os animais foram divididos em dois grupos: Grupo 1, animais alimentados com dieta hiperlipídica dos 30 aos 60 dias pós-natal e submetidos ao *status epilepticus* durante o registro (n=12); Grupo 2, animais que receberam dieta padrão balanceada (Purina Labina) até o momento do registro e indução do *status epilepticus* (n=11). Ambos os grupos experimentais tiveram sua atividade cerebral registrada antes e após a indução do *status epilepticus*.

#### 4.1.2 Dieta hiperlipídica

A dieta hiperlipídica foi produzida acrescentando-se gordura suína fundida na proporção de 25% gordura animal para 75 % de ração padrão (Labina-Purina do Brasil), a ração experimental foi conservada refrigerada em recipiente hermeticamente fechado. A tabela 1 apresenta as informações nutricionais da dieta padrão (Labina-Purina) de acordo com o fabricante e a A tabela 2 apresenta as informações nutricionais gordura suína de acordo com o fabricante (Sadia<sup>®</sup>-BRA).

**Tabela 1.** Enriquecimento por kg para ração padrão.

Vitamina A .....	20000 UI
Vitamina D3 .....	6000 UI
Vitamina E .....	30 UI
Vitamina K .....	6 mg
Vitamina B12 .....	10 mcg
Vitamina B2 .....	8 mg
Pantotenato de Cálcio .....	24 mg
Niacina .....	95 mg
Tiamina .....	4 mg
Colina .....	2000 mg
Piridoxina .....	6 mg
Biotina .....	0,1 mg
Ácido Fólico .....	0,5 mg
Manganês .....	50 mg
Iodo .....	2 mg
Ferro .....	65 mg
Zinco .....	35 mg
Cobre .....	26 mg
Antioxidante .....	100 mg
Níveis de garantia	
Umidade (max.) .....	13,00%
Proteína (mín.) .....	23,00%
Extrato Etéreo (mín.) .....	2,50%
Matéria fibrosa (max.) .....	9,00%
Matéria mineral (max.) .....	8,00%
Cálcio (max.) .....	1,80%

\* Segundo Purina do Brasil.

**Tabela 2.** Informação nutricional correspondente a 10g de gordura suína.

Valor calórico .....	90 Kcal
Carboidratos .....	0g
Proteínas .....	0g
Gorduras totais .....	10g
Gorduras saturadas .....	3,9g
Gorduras trans .....	0g
Colesterol .....	7,2mg
Fibra alimentar .....	0g
Sódio .....	0g

#### **4.1.3 Níveis de colesterol e triglicerídeos**

A mensuração dos níveis séricos de colesterol e triglicerídeos foi realizada com o auxílio do aparelho Accutrend® Plus – Roche.

#### **4.1.4 Registro dos animais e *status epilepticus***

Aos 60 dias de idade os animais foram anestesiados e submetidos ao ECoG. Os animais foram registrados durante um período de 1 hora. Após os primeiro 30 minutos (controle) de registro foi administrada Pilocarpina (Sigma-Aldrich) 350mg/kg (Priel et al., 1996) intraperitonealmente e o registro teve continuidade por mais 30 minutos.

#### **4.1.5 Procedimento cirúrgico**

Os animais foram anestesiados com xilazina 10mg/kg e quetamina 75mg/kg intraperitonealmente. A temperatura retal foi controlada em torno de  $37,5^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  com aquecedor elétrico posicionado sob o animal. Com a cabeça fixada à base de um estereotáxico, a pele sofreu uma incisão e parte do periósteo foi removido, em seguida, um orifício circular com aproximadamente 3 ou 4mm de diâmetro foi trepanado sobre o hemisfério esquerdo na região parietal, expondo parte do córtex. Neste orifício foi posicionado um eletrodo do tipo Ag-AgCl e outro eletrodo de mesmo tipo foi posicionado no osso nasal (referência) para o registro do ECoG. O aparelho utilizado na realização do ECoG foi o EMG 410, EMG sistem do Brasil – BRA, conectado a um computador IBM compatível. Ao fim do registro eletrográfico os animais foram eutanasiados com aprofundamento anestésico.

#### **4.1.6 Análise dos registros de ECoG**

Os registros do ECoG foram segmentados em janelas de 2 min. Esses segmentos foram importados para o programa Matlab 7.8 (Mathworks, Natick, MA, USA) para análise da Complexidade de Lempel-Ziv (CLZ) e do espectro de potência

dos ritmos cerebrais do ECoG. Para o cálculo da dimensão fractal, os espaços de fase dos diferentes ritmos foram gerados no programa Origin 8 (OriginLab, Northampton, MA, USA) após gerados, esses tiveram sua dimensão fractal quantificada no programa Benoit 1.3 (Trusoft, St. Petersburg, FL, USA) através do método de contagem de caixas.

## **4.2 Análise Estatística**

O delineamento estatístico foi realizado utilizando testes não-paramétricos. O teste de Wilcoxon foi utilizado para dados dependentes (pareados) e o teste de Mann-Whitney foi utilizado para as amostras independentes (não pareadas). Os resultados foram expressos através de mediana e a diferença entre o terceiro e o primeiro quartil (intervalo quartílico), como desvio. O nível de significância adotado foi de 0,05.

## REFERÊNCIAS

ABOY, M; HORNERO, R. ABÁSULO, D.; ÁLVAREZ, D. Interpretation of the Lempel-Ziv Complexity Measure in the Context of Biomedical Signal Analysis. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v. 53, n. 11, 2006.

ARIDA, R. M.; SCORZA, F. A.; PERES, C. A.; CAVALHEIRO, E. A. The course of untreated seizures in the pilocarpine model of epilepsy. **Epilepsy Research**, v. 34. p. 99-107, 1999.

BARRES, B. A.; SMITH, J. Cholesterol – Making or breaking the synapse. **Science**, v. 294. p. 1297-1298, 2001.

BASSINGTHWAIGHTE, J. B.; LIEBOVITCH, L. S.; BRUCE, J. W. Fractal Physiology. New York Oxford: **American Physiological Society**, 1994.

BERNARDI, A. **Filtros de Kalman no Levantamento de Característica do Sinal de EEG**. Dissertação (Mestrado em engenharia) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, Escola Federal de Engenharia de Itajubá, Itajubá, 1999.

BICKEBOLLER, H.; CAMPION, D.; BRICE, A. et al. Apolipoprotein E and Alzheimer disease:genotype-specific risks by age and sex. **American Journal of Human Genetics**, v. 60. p. 439-446, 1997.

BJORKHEM, I.; LEONI, V.; MEANEY, S. Genetic connections between neurological disorders and cholesterol metabolism, **Jornal of Research Ireland**, 2010.

BRADFORD, H. F. Glutamate, GABA and epilepsy. **Progress in Neurobiology**, dezembro; v. 47 (6); p. 477-511, 1995.

BROWN, D. A.; LONDON, E. Structure and origin of ordered lipid domains in biological membranes. **Journal of Membrane Biology**, v.164. p. 103-114,1998.

BRUSES, J. L.; CHAUVET, N.; RUTISHAUSER, U. Membrane lipid rafts are necessary for the maintenance of the 7 nicotinic acetylcholine receptor in somatic spines of ciliary neurons. **Journal of Neuroscience**, v. 21. p. 504-512, 2001.

BUTKOV, E. **Física-Matemática**. Rio de Janeiro: LTC editora, p.156, 1988.

BUTTON, V. L. S. N. Eletroencefalógrafos e monitores de EEG. In: **IA748 Instrumentação Biomédica**. Campinas: DEB/FEEC – Unicamp, 2000.

CAPARELLI, T. B. **Projeto e desenvolvimento de um sistema multicanal de biotelemetria para detecção desinais de ECG, EEG e EMG**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica), Universidade federal de Uberlândia, Uberlândia, 2007.

CAVALHEIRO, E. A. The pilocarpine model of epilepsy. **Italian Journal of Neurological Sciences**., v. 16, n. 1-2, p.33-37, 1995.



CAVALHEIRO, E. A.; SANTOS, N. F.; PRIEL, M. R. The Pilocarpine Model of epilepsy in Mice. **Epilepsia**, v. 37, p. 1015-1019, 1996.

CLIFFORD, D. B.; OLNEY, J. W.; MATIONIS, A.; COLLINS, R. C.; ZORUMSKI, C. F. The functional anatomy and pathology of lithium-pilocarpine and high- dose pilocarpine seizures. **Neuroscience**, v. 23, n.3, p. 953-968, 1987.

COCKERELL, O. C.; SHORVON, S. D. **Epilepsia: Conceitos Atuais**, São Paulo: Lemos editorial, 1997.

COOK, N. D. The brain code: Mechanisms of information transfer and the role of the corpus callosum. New York, New York: Methuen & Co, 1986.

COSTA, J. C.; PALMINI, A.; YACUBIAN, E. M. T.; CAVALHEIRO, E. A. Ed, **Fundamentos neurobiológicos das epilepsias**. São Paulo: Lemos Editorial, 1998.

CUKIERT, A. **Epilepsias generalizadas**. Ed. Segmento Farma, 2006.

DARWISH, D. S.; WANG, D.; KONAT, G. W. ; SCHREURS, B. G. Dietary cholesterol impairs memory and memory increases brain cholesterol and sulfatide levels. **Behavioral neuroscience**, v.124, n.1, p.115-23, 2010.

DIETSCHY, J. M.; TURLEY, S. D. Cholesterol metabolism in the brain. **Current opinion in lipidology**, v. 12. p. 105–112, 2001.

DIOP, A. G.; BOER, H. M.; MANDLHATE, C.; PRILIPKO L.; MEINARDI, H. The global campaign against epilepsy in Africa. **ActaTropica**, v. 87, p. 149-159, 2003.

DIVORNIK, D.; HILL, P. Effects of long term administration of AY-9944, an inhibitor of 7-dehydrocholesterol delta 7-reductase on serum and tissue lipids in the rat. **Journal of Lipid Research**, v. 9, p. 587-595, 1968.

DOLGANIUC A. Role of lipid rafts in liver health and disease. **World J Gastroenterol**. v.17, n.20, p.2520-35, 2011.

DOWNLING, J. E. **Neurons and Networks**: an introduction to neuroscience, Harvard University Press, 1992.

DURAND, D. M.; BIKSON, M. SUPPRESSION and control of Epileptiform Activity by Electrical Stimulation: A Review. **Proceedings of the IEEE**, n. 89, v. 7, p. 1065-1082, 2001.

ENGEL, Jr. J. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy. **Epilepsia**, v. 42, p. 796-903, 2001.

ENGEL, J. Jr. ILAE classification of epilepsy syndromes. **Epilepsy Research** 70 Suppl 1:S5-10, 2006.

FEOLI, A.M., ROEHRIG, C., ROTTA, L. N., KRUGER, A. H., SOUZA, K. B., KESSLER, A. M., et al. Serum and liver lipids in rats and chicks fed with diets containing different oils. **Nutrition**, n. 19, v.9. p. 789-93, 2003.

FISHER, R. S., VAN EMDE BOAS, W., BLUME, W., ELGER, C., GENTON, P., LEE, P. et al. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). **Epilepsia**. v. 46(4), p. 470-2, 2005.

FREEMAN, J. M.; KOSSOFF E. H.; FREEMAN, J. B.; KELLY, M. T. The ketogenic diet a treatment for children and others with epilepsy 4<sup>a</sup> ed. Demos, 2007.

GANDUR, M.C. **Comportamento Dinâmico Complexo em Despelamento de Fitas Adesivas**. Universidade Estadual de Campinas, 2001.

GLEICK, J. **Chaos: Making a new science**, New York: Viking, 1987.

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

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

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

GORITZ, C.; MAUCH, D. H.; NAGLER, K.; PFRIEGER F. W. Role of glia-derived cholesterol in synaptogenesis: new revelations in the synapse–glia affair. **Journal of Physiology**, Paris, v.96, p.257–263, 2002.

GREGORY, L.; BAKER, J. P. GOLLUB. Chaotic dynamics: An introduction. Cambridge University Press, Cambridge, New York, 1990.

GUERREIRO, C. A. M.; GUERREIRO, M. M.; CENDES, F.; LOPES-CENDES. **Epilepsia**, 1<sup>a</sup> Ed, São Paulo: Lemos Editorial, 2000.

GUYTON, ARTHUR C. **Tratado de Fisiologia Médica**. 10<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2002.

HERING, H.; LIN, C. C.; SHENG, M. Lipid rafts in the maintenance of synapses, dendritic spines, and surface AMPA receptor stability. **Journal of Neuroscience**, v.23, p.3262–3271, 2003.

INUZUKA-NAKAHARADA, L. M. Dieta Cetogênica e Dieta de Atkins Modificada no Tratamento da Epilepsia Refratária em Crianças e Adultos. **Journal of epilepsy and clinical neurophysiology**, v.14, n.2, p.65-69, 2008.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, v.9, p129-158, 1999.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSELL, T. M. Fundamentos da neurociências e do comportamento. Rio de Janeiro: **Ed. Guanabara Koogan**, 2000.

KASPAR, F.; SCHUSTER, H.G. Easily calculable measure for the complexity of spatiotemporal patterns. **Physical Review**, v.36, p.842–848, 1987.

KELLAWAY, P.; PETERSÉN, I. Quantitative analytic studies in epilepsy. New York, **Raven Press**, 1976.

KLOPFENSTEIN, D. R.; TOMISHIGE, M.; STUURMAN, N.; VALE, R. D. Role of phosphatidylinositol(4,5) bisphosphate organization in membrane transport by the Unc104 kinesin motor. **Cell**, v.109, p.347–358, 2002.

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

KOSSOFF, E. H. More fat and fewer seizures: dietary therapies for epilepsy. **The Lancet Neurology**, v.2, p.415-20, 2004.

KOSSOFF, E. H.; MCGROGAN J. R.; BLUML, R. M.; PILLAS, D. J.; RUBENSTEIN, J. E.; VINING, E. P. A modified Atkins diet is effective for the treatment of intractable pediatric epilepsy. **Epilepsia**, v.47, p.421–424, 2006.

KOSSOFF, E. H.; ROWLEY, H.; SINHA, S. R.; VINING, E. P. G.; A prospective study of the modified Atkins diet for intractable epilepsy in adults. **Epilepsia**, v.49, p.316–319, 2008.

KOUDINOV, A. R.; BEREZOV, T. T.; KOUDINOVA, N. V. The levels of soluble amyloid beta in different HDL subfractions distinguish Alzheimer's and normal aging CSF: implication for brain cholesterol pathology? **Neuroscience Letters**, v.314, p.115-18, 2001.

LEITE, J. P.; BORTOLOTTI, Z. A.; CAVALHEIRO, E. A. Spontaneous recurrent seizures in rats: An experimental model of partial *epilepsy*. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v.14, n.4, p.511-517, 1990.

LEMPEL, A.; ZIV, J. On the complexity of finite sequences. **IEEE Transactions on Information Theory**, New York, v.22, n.1, p.75-81, 1976.

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

LENT, R. **Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociências**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2004.

LI, G. L.; XIAO, B.; XIE, G. J. Temporal lobe epilepsy model induced by pilocarpine in rats. **Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao**, v.28, n.1. p.29-32, 2003.

LI-HAWKINS, J.; LUND, E. G.; TURLEY, S. D.; RUSSELL, D. W. Disruption of the oxysterol 7 $\alpha$ -hydroxylase gene in mice. **Journal of Biological Chemistry**, v.275, p.16536-16542, 2000.

LOPES, F. H. S. Eletroencephalography: basic principles, clinical applications as related fields. **Baltimore: Urban & Schwarzenberg**, p.871-897, 1987.

LOPES, C. D. **Análise de sinais de EEG utilizando a transformada wavelet discreta e as redes neurais artificiais**. 2005. Dissertação (Mestrado em engenharia elétrica), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2005.

LUDERS, E.; THOMPSON, P. M.; TOGA, A. W. The development of the corpus callosum in the healthy human brain. **Journal of Neuroscience**, v.30, n.33, p.10985-10990, 2010.

LUTJOHANN, D. Cholesterol metabolism in the brain: importance of 24S-hydroxylation. **Acta Neurol Scand Suppl**, v.185, p.33–42, 2006.

MACHADO, B. S. **Determinismo e Estocasticidade em Séries Temporais Empíricas**. Dissertação. Instituto de Física Teórica, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2003.

MACHADO, A. B. M. **Neuroanatomia Funcional**. 2a Edição. , São Paulo : Atheneu, 2000.

McCall, A. L. Cerebral glucose metabolism in diabetes mellitus. **European Journal of Pharmacology**, v.490, p.147-158, 2004.

MAYER-KRESS. G.; LAYNE, S. P. Dimensionality of the human electroencephalogram. **Annals of the New York Academy of Sciences** v.504,p.62-87,1987.

MATHERN, G. W.; BABB, T. L.; LEITE, J. P.; PRETORIUS, J. K., YEOMAN, K. M.; KUHLMAN, P. A. The pathogenic and progressive features of chronic human hippocampal epilepsy. **Epilepsy Research**, v.26, p.151-161, 1996.

MAUCH, D. H.; NAGLER K; SCHUMACHER, S.; GÖRITZ, C.; MÜLLER, E. C.; OTTO, A.; PFRIEGER, F. W. CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. **Science**, v.294, p.1354–1357, 2001.

MELLO, L. E.; CAVALHEIRO, E. A.; TAN, A. M.; KUPFER, W. R.; PRETORIUS, J. K.; BABB, T. L.; FINCH, D. M. Circuit mechanisms of seizures in the pilocarpine model of chronic epilepsy: cell loss and mossy fiber sprouting. **Epilepsia**, v.34, n.6, p.985-995, 1993.

MICHIKAWA, M. Role of cholesterol in amyloid cascade: cholesterol-dependent modulation of tau phosphorylation and mitochondrial function. **Acta Neurol Scand Suppl.**, v.185, p.21–26, 2006.

NIEDERMEYER, E. **The normal EEG of the waking adult, in Electroencephalography : basic principles, clinical applications, and related fields.** Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins, p.167-192, 2005.

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

NORDLI, D. The ketogenic diet: uses and abuses. **Neurology**. 58.(suppl7): S21-S24, 2002.

NORDLI JR D. R., De V. The ketogenic diet revisited: back to the future. **Epilepsia**, v.38, p.743-9, 1997.

OLIVEIRA, S. N.; ROSADO, P. Electroencefalograma interictal: Sensibilidade e Especificidade no Diagnóstico de Epilepsia, **Acta medica portuguesa**, v.17, p.465-470, 2004.

PERSINGER, M. A.; MAKAREC, K.; BRADLEY, J. C. Characteristics of limbic seizures evoked by peripheral injections of lithium and pilocarpine. **Physiology & Behavior**, v.44, n.1,p.27-37, 1988.

PFRIEGER, F. W. Outsourcing in the brain: Do neurons depend on cholesterol delivery by astrocytes? **Bioessays**. v.25, p.72-8, 2003.

PRIEL, M. R.; SANTOS, N. F.; CAVALHEIRO, E. A. Developmental aspects of the pilocarpine model of epilepsy. **Epilepsy Research**, v.26, p.115-121, 1996.

PITAS, R. E.; BOYLES, J. K.; LEE, S. H.; FOSS, D. ; MAHLEY, R. W. Astrocytes synthesize apolipoprotein E and metabolize apolipoprotein E- containing lipoproteins. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.917, p.148-161, 1987.

RADHAKRISHNAN, N.; GANGADHAR, B. Estimating regularity in epileptic seizure time-series data. **IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine**. v.17, n.3, 89–94, 1998.

REISS, A. B.; VOLOSHYNA, I. Regulation of cerebral cholesterol metabolism in Alzheimer disease. **Journal of Investigative Medicine**, v.60, n.3, p.576-82, 2012.

RIZZUTTI, S., RAMOS, A. M., MUSZKAT, M., GABBAI, A. A. Is hospitalization really necessary during the introduction of the ketogenic diet? **Journal of Child Neurology**, v.22, p.33-7, 2007.

ROBINSON, P. A. Interpretation of scaling properties of electroencephalographic fluctuations via spectral analysis and underlying physiology. **Physical Review E**, v.67, n3, p. 032902, 2003.

ROSSELLO, X. S.; IGBAVBOA, U.; WEISMAN, G. A.; SUN, G. Y.; WOOD, W. G. AP-2 $\beta$  regulates amyloid beta-protein stimulation of apolipoprotein E transcription in astrocytes. **Brain Research.**, v.1444, p.87-95. 2012.

RUELLE, D.; TAKENS, F. **Nature of turbulence.** *Communications in Mathematical Physics*, v.23, n.4, 343-344, 1971.

SAEZ, J. C.; BERTHOUD, V. M.; MARTINEZ, A. D; BEYER, E. C. Plasma membrane channels formed by connexins: their regulation and functions. **Physiological Reviews**, v.834, p.1359-1400, 2003.

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

SHOBAB, L. A.; HSIUNG G. Y.; FELDMAN, H. H. Cholesterol in Alzheimer's disease. **The Lancet Neurology.** v.4, p.841–852, 2005.

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

SILVA, A.V; CABRAL, F. R. Ictogênese, Epileptogênese e Mecanismo de Ação das Drogas na Profilaxia e Tratamento da Epilepsia. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**, v.14, p.39-45, 2008.

SIMONS, K.; IKONEN, E. Functional rafts in cell membranes. **Nature**, v.387, p.569-572, 1997.

SIMONS, K.; TOOMRE D. Lipid rafts and signal transduction. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v.1, p.31-39, 2000.

SNELL, R. S. **Neuroanatomia Clínica.** Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, Koogan, 2003.

SOSPEDRA, M.; MARTIN, R. Immunology of Multiple Sclerosis. **Annual Review of Immunology**, v.23, p.683-747, 2005.

SVERDLOFF, Hugo R. Obesidade: uma epidemia do século XXI. IMIP (**Série Publicações Científicas do Instituto Materno Infantil Pernambuco**), Recife, n. 31, jun. 2002. Disponível em: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/>

SZETO, H. H.; CHENG, P. Y.; DECENA, J. A.; CHENG, Y.; WU, D. L.; DWYER, G. Fractal properties of fetal breathing dynamics. **The American Journal of Physiology**, v.263, p.141-147, 1992.

TURSKI, L.; IKONOMIDOU, C.; TURSKI, W. A.; BORTOLLOTO, Z. A.; CAVALHEIRO, E. A. Review: cholinergic mechanisms and epileptogenesis. The

seizures induced by pilocarpine: a novel experimental model of intractable epilepsy. **Synapse**, v.3, n.2, p.154-171, 1989.

WEISSTEIN, E. W. Fourier Transform. MathWorld, **A Wolfram Web Resource** . 2004.

WU, X.; XU, J. Complexity and brain function, **Acta Biophysica Sinica**, v.7, p.103–106, 1991.

WU, M. Y.; WANG, W.; SAMPEDRO, A. Neurovesicular inhibitory neurotransmission via reserval of the gaba tranporter gat-1. **Neuron**, v.56, n.5, p.851-865, 2007.

YACUBIAN, E.M.T. **Tratamento medicamentoso das epilepsias**. São Paulo: Lemos Editorial, 2004.

## CAPÍTULO ÚNICO

Artigo submetido a revista *Epilepsia*

### **Análise não-linear de padrões eletroencefalográficos de ratos normais e em *status epilepticus* submetidos a dieta normal e hiperlipídica**

Daniella Tavares Pessoa<sup>1</sup>, Raquel Raimunda Goldstein Costa Cruz<sup>2</sup>, Birajara Soares Machado<sup>3</sup>, Bruno Mendes Tenorio<sup>1</sup>, Romildo de Albuquerque Nogueira<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife – PE, Brasil

<sup>2</sup> Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de Pernambuco / Centro Acadêmico de Vitória, Vitória de Santo Antão – PE, Brasil

<sup>3</sup> Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein, Instituto do Cérebro. São Paulo - SP , Brasil

\* Autor para correspondência: R. A. Nogueira: Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Dois Irmãos, 52171-900, Recife – PE, Brasil, Email: ran.pe@terra.com.br



## Resumo

**Objetivo:** Nas últimas décadas, o consumo de dietas ricas em lipídeos tem crescido vertiginosamente. Estudos têm relacionado este consumo ao desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer. Por outro lado, as dietas hiperlipídicas têm sido utilizadas como terapia alternativa para epilepsia refratária. Diante do exposto, o presente estudo propõe a utilização de métodos de análise não linear como ferramenta para avaliar e parametrizar possíveis alterações no eletrocorticogramas (ECoG) geradas pelo *status epilepticus* e pela dieta hiperlipídica.

**Métodos:** Foram realizados ECoG's em ratos wistar alimentados com dieta normal e hiperlipídicas. Cada ECoG foi registrado por 30 min (controle), após este período, o *status epilepticus* foi induzido pela administração de pilocarpina e o registro prosseguiu por mais 30 min. Os ECoG's foram analisados pelos seguintes métodos: espectro de potência, Complexidade Lempel-Ziv (CLZ) e dimensão fractal do espaço de fase.

**Principais resultados:** 1. Os métodos matemáticos utilizados foram sensíveis para detectar alterações no comportamento não linear dos padrões eletroencefalográficos, causadas pela dieta hiperlipídica e pelo *status epilepticus*. 2. O *status epilepticus* causou na atividade elétrica cerebral: a aceleração dos ritmos cerebrais, devido a diminuição na potência do ritmo delta (mais lento) e aumentou de teta, alfa e beta (ritmos mais rápido); maior complexidade, revelada pela CLZ, e a redução da fractalidade. 3. A dieta hiperlipídica apresentou efeito oposto ao *status epilepticus*, causando uma desaceleração dos ritmos cerebrais, devido à diminuição dos ritmos teta, alfa e beta, e a redução da complexidade da atividade elétrica cerebral.

**Significância:** 1. Os métodos matemáticos utilizados neste estudo podem ser uma ferramenta viável para auxiliar o diagnóstico de epilepsia. 2. Os métodos de análise não linear mostraram a hiperatividade elétrica cerebral durante o *status epilepticus* e a perda parcial de comportamento caótico, o que está em conformidade com a redução da capacidade da auto-regulação do organismo em condições patológicas. 3. A dieta hiperlipídica causou uma atenuação da atividade elétrica cerebral, sugerindo que indivíduos saudáveis, que habitualmente se alimentam de uma dieta rica em gordura, especialmente saturada, podem sofrer disfunções em atividades

que exijam níveis mais elevados de consciência, como declínio cognitivo ou déficit de atenção. Em contrapartida, o efeito antagonista entre a dieta hiperlipídica e o *status epilepticus* sugere que esta dieta pode oferecer proteção contra epilepsia.

Palavras-chave: epilepsia, dieta hiperlipídica, eletrocorticograma, Complexidade Lempel-Ziv, espectro de potência, a dimensão fractal do espaço de fase.

## 1 Introdução

O aumento no consumo de dietas hiperlipídicas vem elevando os índices de obesidade e os níveis séricos de colesterol e triglicerídeos (FEOLI et al., 2003). O interesse pelo metabolismo dos lipídeos e sua relação com o sistema nervoso central (SNC) vem ganhando destaque; alguns autores relatam uma correlação entre os lipídeos, principalmente o colesterol, e as doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer (KOUDINOV, 2001; REISS e VOLOSHYNA, 2012). Em contrapartida, o colesterol é essencial para o desenvolvimento e função do SNC, sendo fundamental para a plasticidade neuronal, liberação de neurotransmissores (MAUCH et al., 2001) e transporte de vesículas sinápticas (KLOPFENSTEIN et al., 2002).

O cérebro é um sistema complexo cuja função depende de uma rede neuronal. A sobreposição dos potenciais de ação em uma população de neurônios é responsável pela atividade elétrica cerebral detectável pelo eletroencefalograma (EEG) ou eletrocorticograma (ECoG). O registro eletroencefalográfico é aparentemente aleatório, entretanto, permite identificar ritmos distintos, ondas cerebrais, que variam de acordo com o estado emocional e de consciência do indivíduo. Os ritmos cerebrais mais comuns e as situações em que prevalecem são: ritmo delta (0,5-4Hz) em sono profundo; teta (4-8Hz) em sonolência ou estados emocionais alterados; alfa (8-14Hz) em vigília com relaxamento mental; e beta (14-30Hz) em atividade física ou mental específica e estados de tensão, além de estar relacionada ao processo de cognição (NIEDERMEYER, 2005).

Apesar de ser aparentemente aleatório o ECoG apresenta propriedades caóticas. Os fenômenos caóticos apresentam como principal característica a sensibilidade crítica às condições iniciais, ou seja, um estímulo inicial pode resultar em respostas imprevisíveis (GLEICK, 1987). Na atividade elétrica cerebral, como em qualquer sistema fisiológico, a capacidade de auto-regulação é que define a regra do caos.

Desordens na atividade elétrica cerebral podem indicar condições patológicas, como a epilepsia; na qual ocorrem disparos anormais em uma população de neurônios, gerados pelo desequilíbrio entre seus mecanismos de excitação e inibição (DURAND e BIKSON, 2001). A Epilepsia acomete cerca de 1%

da população mundial e aproximadamente um terço dos pacientes apresentam epilepsia refratária a tratamentos com drogas convencionais (KWAN e BRODIE, 2000). Nesses casos têm sido aplicado tratamentos a base de dietas ricas em lipídeos, como a dieta cetogênica (NORDLI, 2002) e a dieta de Atkins (KOSSOFF et al., 2008). Com o objetivo de investigar a influência de dietas hiperlipídicas nos padrões encefalográficos em ratos normais e em *status epilepticus*, o presente trabalho propõe a utilização de métodos matemáticos para estudar os padrões eletroencefalográficos gerados pelo *status epilepticus* e pela dieta hiperlipídica.

Os métodos matemáticos utilizados neste estudo para analisar os ECoG's podem caracterizar os processos caóticos, são eles: a transformada de Fourier, que nos sistemas caóticos apresenta bandas largas nos espectro de potência (GANDUR, 2001); a complexidade de Lempel-Ziv, método que mensura a complexidade de uma série temporal e a dimensão fractal do espaço de fase. Essas técnicas permitem a observação e quantificação de alterações muito tênues e incapazes de serem observadas diretamente nos registros eletroencefalográficos (MAYER-KRESS e LAYNE, 1987; ROBINSON, 2003).

## 2 Métodos

### *Desenho experimental*

Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, var. *albinus*) provenientes do biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Os animais foram mantidos em ambiente adequado com temperatura ( $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e humidade (50%) controlada, em ciclo claro-escuro de 12 horas, com água e alimentação *ad libitum*.

Os animais foram divididos em dois grupos: Grupo 1, animais que receberam dieta padrão balanceada (Labina, 23% de proteína) até o momento do registro e indução do *status epilepticus* (n=11). Grupo 2, animais alimentados com dieta hiperlipídica dos 30 aos 60 dias pós-natal e submetidos ao *status epilepticus* durante o registro (n=12). Ambos os grupos experimentais tiveram sua atividade cerebral registrada antes (controle) e durante o *status epilepticus*. A dieta hiperlipídica foi produzida na proporção de 25% de gordura suína para 75% de ração padrão.

### *Status epilepticus e o ECoG*

Aos 60 dias de vida os animais foram anestesiados (xilazina 10mg/kg e quetamina 75mg/kg) e trepanados no hemisfério esquerdo do osso parietal. Posteriormente, um eletrodo do tipo Ag - AgCl foi posicionados no córtex cerebral e outro eletrodo de mesmo tipo foi posicionado no osso nasal (referência) para a realização do ECoG.

O ECoG foi realizado durante 30 minutos (controle) e posteriormente foi induzido o *status epilepticus*, registrando-se mais 30 minutos da atividade cerebral. O *status epilepticus* foi induzido através da administração intraperitoneal de 350mg/kg de Cloridrato de Pilocarpina (PRIEL et al., 1996).

### *Análise do ECoG*

Os registros de ECoG foram segmentados em janelas de 2 minutos com o mínimo de ruído. O cálculo da complexidade de Lempel-Ziv (CLZ) e o espectro de potência dos ritmos cerebrais foram realizados através de algoritmos implementados no programa Matlab 7.8 (Mathworks, Natick, MA, USA). Os espaços de fase dos ritmos foram gerados no programa Origin 8 (OriginLab, Northampton, MA, USA) e a dimensão fractal foi calculada no programa Benoit 1.3 (Trusoft, St. Petersburg, FL, USA) através do método de contagem de caixas.

### *Transformada de Fourier e espectro de potência do ECoG*

A Transformada de Fourier (TF) torna possível o conhecimento da contribuição de cada componente de frequência presente numa serie temporal. A TF é calculada a partir da decomposição do sinal complexo oscilatório em suas frequências componentes. A função  $F(f)$  é a transformada de Fourier da função temporal  $F(t)$ , que representa as amplitudes das várias frequências de ondas (ritmos) que constituem o sinal  $F(t)$ ; passando uma informação no tempo para o domínio da frequência. Então,  $F(f)$  representa o grau de participação das componentes

frequenciais da função  $F(t)$ , conforme se pode observar na equação a seguir (WEISSTEIN, 2004):

$$F(f) = \int_{-\infty}^{\infty} F(t)e^{-i2\pi ft} dt$$

Ao aplicar a TF em uma série-temporal se obtém o espectro de potência. A potência média de cada ritmo cerebral permite estimar o valor da contribuição de cada um desses ritmos no sinal ECoG.

### *Complexidade de Lempel-Ziv (CLZ)*

A CLZ é uma metodologia utilizada para analisar dados através da compressão da sua sequência via recorrência de padrões (LEMPEL e ZIV, 1976); possibilitando a quantificação dos padrões distintos de uma série. O registro da atividade cerebral obtida no ECoG apresenta característica de caoticidade e auto-similaridade (KELLAWAY e PETERSÉN, 1976), tornando possível o cálculo da complexidade da série temporal utilizando o método de Lempel-Ziv.

Antes de calcular a CLZ é necessário transformar a série temporal em uma sequência binária. Nos sistemas biológicos a sequência binária mais adequada é composta por 0 e 1. A sequência binária é gerada a partir da comparação de cada ponto da série temporal com a média ( $m$ ) de todos os pontos da série. Se o valor do ponto for superior ao da média ele passa a ser representado por 1, se esse valor for inferior ao da média ele passa a ser representado por 0. Dessa forma se obtém uma sequência ( $P$ ) composta por 1's e 0's (WU e XU, 1991; ABOY et al., 2006):

$$P = s_{(1)}, s_{(2)}, \dots, s_{(n)}$$

Onde

$$s_{(i)} = \begin{cases} 0, & \text{se } s_{(i)} < \text{méd.} \\ 1, & \text{se } s_{(i)} > \text{méd.} \end{cases}$$

O algoritmo de Lempel-Ziv é implementado da seguinte maneira (ABOY et al., 2006):

1. A sequência original (P) é dividida em subsequências de tamanhos menores, são elas S e Q, obtidas com o objetivo de verificar se Q pode ser reconstruída a partir de cópias de S.

2. Determina-se uma subsequência S reconstruída a partir de P, que será fixa até que os termos da sequência Q não possam mais ser simplesmente copiados de S. Neste momento se insere um novo termo em S, cada nova subsequência S é limitada por um termo inserido:  $S=s_1, s_2, \dots, s_r$ , onde  $s_r$  é o termo inserido e  $Q = s_{r+1}, s_{r+2}, \dots, s_n$ .

3. Após a inserção de um termo, o próximo passo é definir  $Q=s_{r+1}$  e verificar se o esse termo pode ser copiado do vocabulário (SQ  $\pi$ ). Este vocabulário é formado pela concatenação de S e Q, o  $\pi$  indica que o último termo deve ser removido. Caso o termo  $Q=s_{r+1}$  pertença ao  $v(SQ \pi)$ , o próximo termo a ser testado será  $Q=s_{r+1}s_{r+2}$  e assim sucessivamente até que Q não possa mais ser construído a partir de uma copia de S. Portanto, Q não pertence mais ao  $v(SQ\pi)$ , nesse momento se insere um novo termo em S e Q voltará a ser  $Q=s_{r+1}$ , partindo do novo termo inserido.

Quanto maior for o número de termos de Q que podem ser copiados de S, maior será a auto-similaridade da série e menor a sua complexidade. Além disto, quanto maior for o número de termos inseridos maior será a complexidade da série. O número de dígitos inseridos é a complexidade  $c(n)$ . A CLZ é definida pela seguinte fórmula (ABOY et al., 2006):

$$CLZ = \frac{\frac{c(n)}{n}}{\log_2 n}$$

O cálculo da CLZ resulta em um valor entre 0 e 1. Quanto mais próximo de 1 for o resultado, maior a complexidade e o comportamento do sinal será mais aleatório; quanto mais próximo de 0 for o resultado menor será a complexidade, indicando que a série tem maior auto-similaridade (ABOY et al., 2006).

### *Espaço de fase e dimensão fractal*

O espaço de fase foi obtido através de um gráfico cartesiano no qual a variável Y é o valor da voltagem “V” no instante “t<sub>i+1</sub>” e a variável X é o valor do sinal V no instante “t<sub>i</sub>” anterior.

O cálculo da dimensão fractal foi realizado pelo método de contagem por caixas, obtido através da sobreposição do objeto fractal com N(r) caixas que contenham pelo menos um ponto do objeto. O procedimento foi repetido com caixas de diferentes tamanhos. Posteriormente, traçou-se um gráfico duplo log de N(r) em função de r (lado das caixas); a inclinação desse gráfico com o sinal invertido é a dimensão de contagem por caixas, que pode ser definida formalmente através da seguinte expressão:

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

### *Análise Estatística*

O delineamento estatístico foi realizado utilizando testes não-paramétricos. O teste de Wilcoxon foi utilizado para dados dependentes (pareados) e o teste de Mann-Whitney foi utilizado para as amostras independentes (não pareadas). Os resultados foram expressos através de mediana e a diferença entre o terceiro e o primeiro quartil (intervalo quartílico), como desvio. O nível de significância adotado foi de 0,05.

## **3 Resultados**

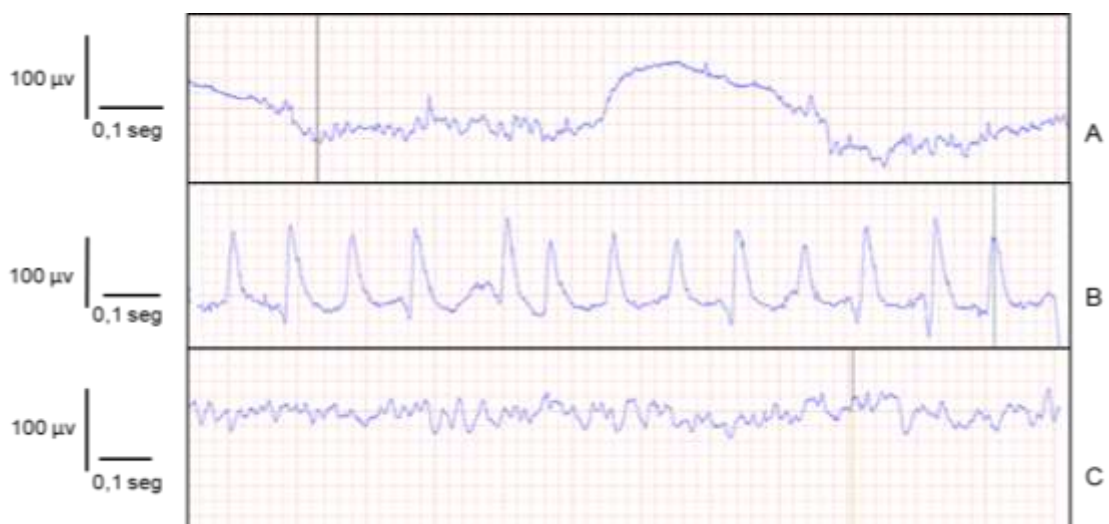
O ganho de peso e os níveis séricos de triglicerídeos e colesterol não se alteraram significativamente nos animais alimentados com a dieta hiperlipídica em relação à dieta padrão (tabelas 1).



**Tabela 1. Ganho de peso (g) e níveis séricos de colesterol e triglicerídeos (mg/dl) em ratos alimentados com dieta padrão hiperlipídica durante 30 dias.**

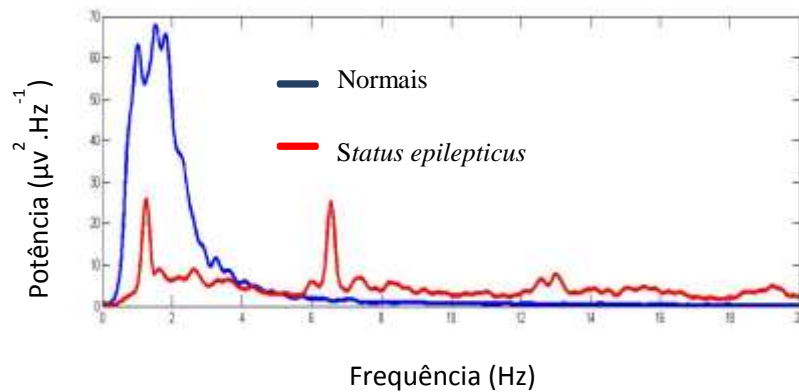
Dieta	Ganho de peso	Colesterol	Triglicerídeos
Padrão	124,00 ± 62,00	152,00 ± 7,0	130,00 ± 38,00
Hiperlipídica	126,00 ± 76,00	153,00 ± 7,0	153,00 ± 68,50

A figura 1 mostra trechos dos registros eletroencefalográficos. A figura 1A mostra o trecho de um ECoG antes do *status epilepticus*, ou seja, em condições normais. As figuras 1B e 1C representam trechos dos registros de animais durante o *status epilepticus*. Na figura 1B os padrões epileptiformes são facilmente reconhecidos, enquanto na figura 1C os padrões epileptiformes não são facilmente perceptíveis à análise visual. Porém, os métodos matemáticos utilizados nesse estudo foram capazes de detectar o *status epilepticus* tanto no ECoG representado na figura 1B como na 1C. Da mesma forma, alterações nos padrões eletroencefalográficos provocados pela dieta hiperlipídica não foram perceptíveis à análise visual, mas foram detectadas pelos métodos matemáticos aplicados à sua análise.



**Figura 1.** Registro do ECoG de rato controle antes do *status epilepticus* (1A) e durante o *status epilepticus* (1B e 1C). Notar na figura 1C que os padrões epileptiformes não são facilmente perceptíveis à análise visual, entretanto, os métodos matemáticos detectaram alterações significativas neste registro.

Os espectros de potência dos ECoG's nos animais normais apresentaram maior potência nos ritmos mais lentos em relação ao *status epilepticus* (Figura 2). A figura 2 também demonstra que durante o *status epilepticus* ocorre uma drástica diminuição na potência dos ritmos mais lentos e aumento na potência dos ritmos mais rápidos.



**Figura 2.** Espectro de potência de animais normonutridos antes e durante o *status epilepticus*.

Os valores das potências dos diferentes ritmos cerebrais antes e durante o *status epilepticus* obtidas através do espectro de potência podem ser observados na tabela 2. Notar que o *status epilepticus* é caracterizado por uma hiperexcitação cerebral, resultando na diminuição drástica do ritmo delta e aumento dos ritmos teta, alfa e beta. Estes resultados também comprovam a eficácia do espectro de potência na detecção de alterações na atividade elétrica cerebral.

O espectro de potência também demonstrou que a dieta hiperlipídica pode alterar a atividade elétrica cerebral (Tabela 2); diminuindo as potências dos ritmos teta, alfa e beta. O consumo da dieta rica em lipídeos apresentou efeito contrário ao *status epilepticus*, causando a lentificação dos ritmos cerebrais. Os resultados indicam que dietas ricas em gorduras podem causar uma diminuição da atividade elétrica cerebral.

**Tabela 2.** Valores da potência média (em  $\mu\text{v}^2 \cdot \text{Hz}^{-1}$ ) das diferentes ritmos cerebrais nos animais alimentados com dieta padrão e hiperlipídica antes e durante o *status epilepticus*.

	Dieta Padrão		Dieta hiperlipídica	
	Controle	<i>Status epilepticus</i>	Controle	<i>Status epilepticus</i>
Delta	26,55 ± 4,62 <sup>a</sup>	9,60 ± 3,82 <sup>b</sup>	30,95 ± 5,30 <sup>a</sup>	10,33 ± 6,08 <sup>b</sup>
Teta	3,48 ± 1,46 <sup>a</sup>	4,32 ± 1,22 <sup>b</sup>	2,47 ± 0,54 <sup>c</sup>	3,82 ± 1,36 <sup>b</sup>
Alfa	1,35 ± 0,82 <sup>a</sup>	3,25 ± 1,24 <sup>b</sup>	1,15 ± 0,64 <sup>c</sup>	2,38 ± 1,36 <sup>b</sup>
Beta	0,49 ± 0,36 <sup>a</sup>	1,57 ± 0,60 <sup>b</sup>	0,19 ± 0,24 <sup>c</sup>	0,43 ± 0,08 <sup>b</sup>

Valores da mediana ± intervalo quartílico com letra diferente sobrescrita possuem diferença estatisticamente significativa entre si.

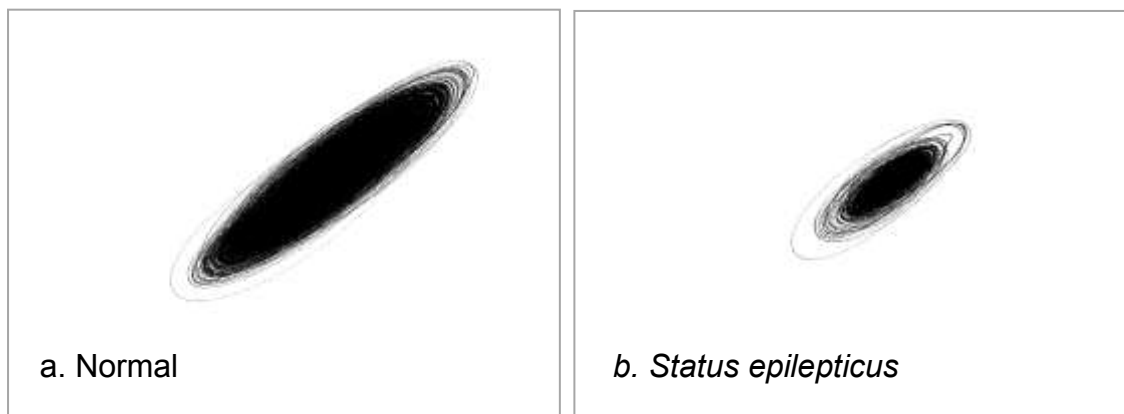
O *status epilepticus* também aumentou a complexidade de Lempel- Ziv (CLZ) e, portanto, diminuiu a auto-similaridade da atividade elétrica cortical (Tabela 3). Em contrapartida, a dieta hiperlipídica diminuiu a CLZ da atividade elétrica cerebral, demonstrando seu efeito oposto ao *status epilepticus* (Tabela 3) e indicando uma diminuição da atividade cerebral.

**Tabela 3.** Valores da CLZ nos animais alimentados com a dieta padrão ou hiperlipídica antes e durante o *status epilepticus*.

Dieta/Condição	Normal	<i>Status epilepticus</i>
Controle	0,23 ± 0,08 <sup>a</sup>	0,49 ± 0,10 <sup>b</sup>
Dieta hiperlipídica	0,17 ± 0,06 <sup>c</sup>	0,43 ± 0,08 <sup>b</sup>

Valores da mediana ± intervalo quartílico com letra diferente sobrescrita possuem diferença estatisticamente significativa entre si.

A figura 3 demonstra o espaço de fase do ECoG antes e após a administração da pilocarpina. Nesta figura é possível observar no espaço de fase a contração do atrator do ritmo delta. Não foram observadas alterações significativas nos espaços de fases para as demais ritmos cerebrais.



**Figura 3.** Espaço de fase do ECoG para o ritmo delta antes e durante o *status epilepticus*.

A dieta hiperlipídica não alterou a dimensão fractal da atividade elétrica cerebral dos animais; entretanto, o *status epilepticus* causou a diminuição da dimensão fractal no ritmo delta (Tabela 4). Esta redução na dimensão fractal durante o *status epilepticus* indica perda de fractalidade, característica de um comportamento patológico como o *status epilepticus*. A dimensão fractal dos ritmos cerebrais teta, alfa e beta não foram alteradas pelos tratamentos experimentais.

**Tabela 4.** Valores da dimensão fractal das diferentes ritmos cerebrais nos animais alimentados com a dieta padrão ou hiperlipídica antes e durante o *status epilepticus*.

	Dieta padrão		Dieta hiperlipídica	
	Normal	<i>Status epilepticus</i>	Normal	<i>Status epilepticus</i>
Delta	1,67 ± 0,12 <sup>a</sup>	1,49 ± 0,10 <sup>b</sup>	1,71 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,47 ± 0,08 <sup>b</sup>
Teta	1,61 ± 0,12 <sup>c</sup>	1,55 ± 0,10 <sup>c</sup>	1,62 ± 0,08 <sup>c</sup>	1,53 ± 0,08 <sup>c</sup>
Alfa	1,64 ± 0,06 <sup>d</sup>	1,63 ± 0,02 <sup>d</sup>	1,62 ± 0,08 <sup>d</sup>	1,61 ± 0,04 <sup>d</sup>
Beta	1,64 ± 0,04 <sup>e</sup>	1,68 ± 0,02 <sup>e</sup>	1,64 ± 0,08 <sup>e</sup>	1,66 ± 0,04 <sup>e</sup>

Valores da mediana ± intervalo quartílico com letra diferente sobrescrita para a mesma linha possuem diferença estatisticamente significativa entre si.

## 4 Discussão

### *Análise ponderal e dos níveis séricos de colesterol e triglicerídeos*

O ganho de peso relacionado a dietas hiperlipídicas é controverso. No presente estudo, a dieta hiperlipídica não alterou o ganho de peso dos animais, corroborando os resultados citados por Franco et al. (2009) e Mello et al. (2007). Os níveis séricos de colesterol e triglicerídeos também não diferiram significativamente entre os dois grupos nutricionais. Porém, esses resultados foram obtidos em curto período (30 dias), em longo prazo pode haver diferença nesses resultados. A manutenção dos níveis de colesterol e triglicerídeos nos animais alimentados com a dieta hiperlipídica também pode estar relacionada com a adaptação e ou eliminação do organismo do animal ao excesso de lipídios. Os níveis séricos de colesterol e triglicerídeos foram aferidos no momento da preparação do ECoG; portanto, no momento do registro os dois grupos apresentavam níveis séricos semelhantes de lipídeos, não interferindo na absorção das drogas administradas.

### *Sensibilidade dos métodos matemáticos aplicados na análise do ECoG*

Os métodos matemáticos e computacionais aplicados nesse estudo foram sensíveis a alterações nos padrões eletroencefalográficos, mesmo quando essas alterações não foram perceptíveis à análise visual. Os métodos de análise não linear podem revelar informações incapazes de serem observadas apenas com a inspeção visual do ECoG (LEHNERTZ, 2008).

Dessa forma, métodos de análise matemático computacionais baseados na dinâmica não-linear podem apresentar vantagem no auxílio do diagnóstico da epilepsia. Algumas das vantagens da aplicação de métodos quantitativos são: a diminuição da subjetividade e do custo financeiro, bem como o aumento na agilidade e precisão do diagnóstico (AGARWAL e GOTMAN, 2002).

### *Análise do ECoG durante o status epilepticus*

O espectro de potência do ECoG, em animais normais, mostra que o ritmo delta possui maior potência, pois os animais analisados estavam anestesiados, ou seja, em sono induzido. Em organismos saudáveis, na faixa de frequência cerebral mais comum (0,5 a 30 Hz), quanto menor for a velocidade do ritmo, menor será a

atividade cerebral (GUYTON, 2002), portanto, é esperado que em narcose o ritmo delta seja realmente prevalente. No entanto, durante o *status epilepticus*, induzido pela pilocarpina, observa-se uma drástica diminuição na potência do ritmo delta e aumento nas potências dos ritmos teta, alfa e beta; indicando o aumento abrupto na velocidade dos ritmos cerebrais causada por uma hiperexcitação cerebral patológica. A pilocarpina ativa as vias colinérgicas muscarínicas e glutamatérgicas, resultando na liberação exagerada de glutamato e hiperexcitação cerebral (TURSKI, 1989; CAVALHEIRO, 1995; CAVALHEIRO, 1996). Esta hiperexcitação altera sensivelmente o padrão de ondas cerebrais e foram detectadas no ECoG através dos métodos matemáticos computacionais aplicados no presente estudo.

A diminuição da dimensão fractal durante o *status epilepticus* significa que a atividade cerebral perdeu auto-similaridade, apresentando-se mais aleatória e perdendo parcialmente a capacidade de auto-regulação do organismo (GOLDBERGER, 1996). A diminuição da fractalidade durante o *status epilepticus* foi decorrente da redução do atrator do ritmo delta, pois não houve alteração significativa dos atratores das demais faixas de onda. O método de contagem por caixas, que revelou a diminuição da fractalidade durante o *status epilepticus*, foi sensível a detecção da condição patológica; estes resultados estão em acordo com a teoria da perda da fractalidade nas enfermidades. Os sinais fisiológicos dos organismos saudáveis obedecem a processos fractais e essa fractalidade tende a ser perdida no envelhecimento ou condição patológica (GOLDBERGER, 1996).

A diminuição da auto-similaridade da atividade cerebral no *status epilepticus* também foi confirmada pelo aumento da CLZ, demonstrando o aumento da atividade cerebral. O aumento da CLZ significa uma maior diversidade dos padrões eletrográficos cerebrais, ou seja, diminuição da auto-similaridade da série temporal tornando-a mais aleatória (KASPAR e SCHUSTER, 1987). Esse resultado parece ser decorrente do aumento dos ritmos teta, alfa e beta; estas são mais rápidas que o ritmo delta, a qual diminui durante o *status epilepticus*. Abásolo (2007) também mostrou que nas crises epiléticas há um aumento da CLZ, evidenciando que o método da complexidade de Lempel-Ziv tem sensibilidade para revelar mudanças do perfil ECoG durante a crise.

### *Análise do ECoG de animais alimentados com dieta hiperlipídica*

A dieta hiperlipídica foi capaz de diminuir significativamente os ritmos teta, alfa e beta, causando uma lentificação da atividade cerebral. O ritmo delta não apresentou diferença significativa, indicando que os dois grupos nutricionais mantiveram o mesmo nível de sono profundo induzido pela anestesia. Esses resultados sugerem que indivíduos que se alimentam habitualmente de dietas ricas em lipídeos podem apresentar atividade cerebral mais lenta e, conseqüente, diminuição da capacidade de excitação e atividade cerebral. Essa diminuição pode causar um declínio da função cognitiva ou dificuldade de concentração em determinadas tarefas que exijam atenção, pois os ritmos mais rápidos característicos destas funções foram atenuadas (GUYTON, 2002). Estudos relataram que dietas ricas em gordura, principalmente saturada, causam declínio cognitivo e comprometimento da memória (KALMIJN et al., 2004; WINOCUR e GREENWOOD, 2005; DARWISH et al., 2010).

De acordo com Kessler et al. (2011), a dieta cetogênica causou uma desaceleração do registro eletroencefalográfico, resultado semelhante ao obtido no presente estudo. Vale ressaltar que a dieta cetogênica tem como requisito o aumento da quantidade de lipídeos e a diminuição drástica de carboidratos. A dieta utilizada no presente estudo se baseou apenas no acréscimo de gordura animal sem restrição ao consumo de carboidrato, se aproximando mais à dieta comum e sendo mais conveniente para a alimentação humana.

O método da CLZ demonstrou que a dieta hiperlipídica causou uma diminuição da complexidade da atividade cerebral, corroborando com o espectro de potência para indicar uma atenuação da atividade cerebral. A diminuição da CLZ indica que o ECoG reduziu a variação de padrões eletroencefalográficos. Esse resultado parece ser decorrente da diminuição dos ritmos teta, alfa e beta, ritmos mais rápidos que o delta.

### *Considerações finais*

Os métodos matemáticos computacionais derivados da transformada de Fourier, complexidade de Lempel-Ziv e dimensão fractal foram sensíveis à detecção

de alterações nos padrões eletroencefalográficos nos animais em *status epilepticus*. Portanto, estes métodos matemáticos podem ser viáveis para o desenvolvimento de novas técnicas de diagnóstico em doenças que causem alterações nos padrões eletroencefalográficos, como a epilepsia. Esses métodos matemáticos são capazes de detectar alterações tênues no ECoG, muitas vezes imperceptíveis ao olho humano. Mesmo quando as alterações são claramente perceptíveis, esses métodos podem complementar a análise subjetiva dos médicos, automatizando a detecção e quantificando as alterações causadas pela epilepsia.

Os portadores de epilepsia só desenvolvem crise quando a excitação neuronal ultrapassa o seu limiar crítico (GUYTON, 2002). Os resultados do presente estudo demonstraram que a dieta hiperlipídica pode diminuir a excitabilidade do sistema nervoso, o que pode dificultar a ultrapassagem deste limiar. Desta forma, dietas ricas em lipídeos podem apresentar efeito protetor diante das crises epiléticas. No entanto, novas pesquisas são necessárias para elucidar os mecanismos envolvidos no efeito protetor da dieta hiperlipídica em indivíduos epiléticos, especialmente em pacientes com epilepsia refratária.

## **5 Conclusão**

Os métodos matemáticos computacionais utilizados no presente estudo para a análise dos ECoG's foram sensíveis na detecção de mudanças nos padrões eletroencefalográficos causados pelo *status epilepticus*; revelando o aumento da velocidade dos ritmos cerebrais, a diminuição da fractalidade e o aumento da complexidade da atividade cerebral. A dieta hiperlipídica causou uma desaceleração dos ritmos cerebrais e diminuição da complexidade da atividade cerebral, efeitos contrários aos do *status epilepticus*.



## Referências

Abásolo D, James CJ, Hornero R (2007) Non-linear analysis of intracranial electroencephalogram recordings with approximate entropy and Lempel-Ziv complexity for epileptic seizure detection. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* p.1953-6.

Aboy M, Hornero R, Abásolo D, Álvarez D, (2006) Interpretation of the Lempel-Ziv Complexity Measure in the Context of Biomedical Signal Analysis. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering.* 53:2282-2288.

Agarwal R, Gotman J (2002). Digital tools in polysomnography, *J Clin Neurophysiol.* 19 (2): 136-143

Cavalheiro EA (1995) The pilocarpine model of epilepsy. *Italian Journal of Neurological Sciences.* 16 (1-2): 33-37.

Cavalheiro EA, Santos NF, Priel MR (1996) The Pilocarpine Model of epilepsy in Mice. *Epilepsia,* 37: 1015-1019.

Darwish DS, Wang D, Konat GW, Schreurs BG (2010) Dietary cholesterol impairs memory and memory increases brain cholesterol and sulfatide levels. *Behavioral neuroscience,* 124 (1):115-23.

Durand DM, Bikson M, (2001) Suppression and control of Epileptiform Activity by Electrical Stimulation: A Review. *Proceedings of the IEEE,* 89:1065-1082.

Engel Jr J (2001) A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy. *Epilepsia,* 42:796-903.

Franco LDP, Campos JADB, Demonte A (2009) Teor lipídico da dieta, lipídios séricos e peso corporal em ratos exercitados. *Revista de Nutrição.* 22(3): 359.

Feoli AM, Roehrig C, Rotta LN, Kruger AH, Souza KB, Kessler AM, et al. (2003) Serum and liver lipids in rats and chicks fed with diets containing different oils. *Nutrition*, 9 (19): 789-93.

Gandur MC (2001) Comportamento Dinâmico Complexo em Despelamento de Fitas Adesivas. Universidade Estadual de Campinas.

Gleick J (1987) *Chaos: Making a new science*, New York: Viking.

Goldberger AL (1996) Non-linear dynamics for clinicians: Chaos theory, fractals, and complexity at the bedside. *Lancet*, 34:1312-1314.

Guyton AC (2002) *Tratado de Fisiologia Médica*. 10ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.

Kwan P, Brodie MJ (2000) Early identification of refractory epilepsy. *N Engl J Med*. 342:314–319.

Kalmijn S, van Boxtel PJ, Ockem M, Verschuren WMM, Kromhout D, LAUNER LJ. (2004) Dietary intake of fatty acids and fish in relation to cognitive performance at middle age. *Neurology*. 62(2): 275-80.

Kaspar F, Schuster HG (1987) Easily calculable measure for the complexity of spatiotemporal patterns. *Physical Review*, 36:842–848.

Kellaway P, Petersén I (1976) Quantitative analytic studies in epilepsy. *Raven Press*. New York.

Kessler SK, Gallagher PR, Shellhaas RA, Clancy RR, Bergqvist AG (2011) Early EEG improvement after ketogenic diet initiation. *Epilepsy Research*, 94:94-101.

Klaus L. (2008) Epilepsy and Nonlinear Dynamics. *Journal of Biological Physics*. 34(3-4): 253-266.

Klopfenstein DR, Tomishige M, Stuurman N, Vale RD (2002) Role of phosphatidylinositol (4,5) bisphosphate organization in membrane transport by the Unc104 kinesin motor. *Cell*. 109: 347–358.

Koudinov AR, Berezov TT, Koudinova NV (2001) The levels of soluble amyloid beta in different HDL subfractions distinguish Alzheimer's and normal aging CSF: implication for brain cholesterol pathology? *Neuroscience Letters*. 314:115-18.

Kossoff EH, Rowley H, Sinha SR, Vining EPG. (2008) A prospective study of the modified Atkins diet for intractable epilepsy in adults. *Epilepsia* 49:316–319.

Lempel A, Ziv J (1976) On the complexity of finite sequences. *IEEE Transactions on*

Lehnertz K (2008) Epilepsy and nonlinear dynamics. *J Biol Phys*. 22(1): 75-81.

Mauch DH, Nagler K, Schumacher S, Göritz C, Müller EC, Otto A, Pfrieder FW (2001) CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. *Science*. 294: 1354–1357.

Mayer-Kress G, Layne SP (1987) Dimensionality of the human electroencephalogram. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 504: 62-87.

Melo SS, Nunes NSI, Baumgarten C, Tressoldi C, Faccin G, Zanuzo K, Michels MK, Cunha N, Specht S, Silva MW (2007). Efeito da erva-mate (*ilex paraguariensis* a. St. Hil.) Sobre o perfil metabólico em ratos alimentados com dietas hiperlipídicas. *Alimentos e nutrição*. 18(4): 439-447.

Niedermeyer E (2005) The normal EEG of the waking adult, in *Electroencephalography : basic principles, clinical applications, and related fields*. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins, 167-192.

Nordli D. (2002) The ketogenic diet: uses and abuses. *Neurology*. 58.(suppl7): 21-24.

- Nordli JR D R, de V (1997) The ketogenic diet revisited: back to the future. *Epilepsia*, 38:7439.
- Priel MR, Santos NF, Cavalheiro EA (1996) Developmental aspects of the pilocarpine model of epilepsy. *epilepsy research*, 26: 115-121
- Radhakrishnan N, Gangadhar B (1998) Estimating regularity in epileptic seizure time-series data. *IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine*. 17(3): 89–94.
- Reiss AB, Voloshyna I (2012) Regulation of cerebral cholesterol metabolism in Alzheimer disease. *Journal of Investigative Medicine*. 60(3): 576-82.
- Robinson PA (2003) Interpretation of scaling properties of electroencephalographic fluctuations via spectral analysis and underlying physiology. *Physical Review E*, 67(3): 032902.
- Turski L, Ikonomidou C, Turski WA, Bortolotto ZA, Cavalheiro EA. (1989) Review: cholinergic mechanisms and epileptogenesis. The seizures induced by pilocarpine: a novel experimental model of intractable epilepsy. *Synapse* 3(2): 154-171.
- Weisstein EW (2004) Fourier Transform. MathWorld, **A Wolfram Web Resource**.
- Winocur G, Greenwood CE (2005) Studies of the effects of high fat diets on cognitive function in a rat model. *Neurobiology of Aging* 26(1): 46-49.
- Wu X, Xu J (1991) Complexity and brain function. *Acta Biophysica Sinica*. 7:103–106.

## **ANEXO**

Artigo submetido a revista *Epilepsia*

**Nonlinear analysis of electroencephalographic patterns in rats fed with standard or hyperlipidic diets in a normal state or during *status epilepticus***

Daniella Pessoa<sup>1</sup>, Raquel Cruz<sup>2</sup>, Birajara Machado<sup>3</sup>, Bruno Tenorio<sup>1</sup> and Romildo Nogueira<sup>1\*</sup>

1 Department of Animal Morphology and Physiology, Federal Rural University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

2 Department of Physiology / Academic Center of Vitória, Federal University of Pernambuco, Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brazil

3 Albert Einstein Israelite Institute of Education and Research, Brain Institute. São Paulo, São Paulo, Brazil

\* Corresponding Author: R. A. Nogueira: Department of Animal Morphology and Physiology, Federal Rural University of Pernambuco, Dois Irmãos, 52171-900, Recife – PE, Brazil, Email: ran.pe@terra.com.br

**Purpose:** In recent decades, the consumption of high-fat diets has grown markedly. Studies have linked this consumption with the development of neurodegenerative diseases, such as Alzheimer's disease. On the other hand, hyperlipidic diets have been used as an alternative therapy for refractory epilepsy. In light of the foregoing, the present study proposes to use nonlinear analysis as a tool to evaluate and parameterize possible changes in electrocorticograms (ECoG) generated by *status epilepticus* and hyperlipidic diet.

**Methods:** ECoG were recorded in wistar rats fed with standard and hyperlipidic diets. Each recording was obtained during a 30 min period (control), after this time, the *status epilepticus* was induced by pilocarpine and recording was continued for another 30 min. The ECoG were analyzed by the following methods: power spectrum, Lempel-Ziv Complexity (CLZ) and fractal dimension of the phase space set.

**Key findings:** **1.** The mathematical methods proposed were sensitive enough to detect changes in the nonlinear behavior of electroencephalographic patterns, caused by a hyperlipidic diet or by *status epilepticus*; **2.** The effects of *Status epilepticus* on the brain's electrical activity were: the acceleration of brain rhythms, due to a decrease in the power of the delta rhythm (slower) and increased theta, alpha and beta rhythms (faster); increased complexity, revealed by CLZ, and the reduction of the fractality. **3.** Hyperlipidic diets presented the opposite effect to *status epilepticus*, causing a deceleration of brain rhythms, due to decreased theta, alpha and beta rhythms and the decreased complexity of brain activity.

**Significance:** **1.** The mathematical methods used in this study may be a viable tool in helping the diagnosis of epilepsy. **2.** The nonlinear methods showed the brains electrical hyperactivity during *status epilepticus* and a partial loss of chaotic behavior, which is in accordance with the reduction of the self-regulation of the organism in pathological conditions. **3.** The hyperlipidic diet caused an attenuation of the brains electrical activity, suggesting that healthy

individuals, which habitually feed on a high-fat diet, especially saturated, might suffer from dysfunctions in activities that require higher levels of consciousness, such as cognitive decline and attention deficit. On the other hand, the antagonistic effect between the hyperlipidic diet and *status epilepticus* suggests this diet could offer protection against seizures.

**Keywords:** Epilepsy, high-fat diet, electrocorticogram, Lempel-Ziv Complexity, power spectrum, phase space fractal dimension.



## 1 Introduction

The increased consumption of high-fat diets has been an increase in obesity rates and levels of serum cholesterol and triglycerides (Feoli et al., 2003). The interest in lipid metabolism and their relationship with the central nervous system (CNS) has been highlighted; studies have reported a correlation between lipids, particularly cholesterol, and neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease (Koudinov, 2001; Reiss & Voloshyna, 2012). On the other hand, lipids are fundamental for CNS development and function, being essential for neuronal plasticity, neurotransmitter release (Mauch et al., 2001) and the transport of synaptic vesicles (Klopfenstein et al., 2002).

The brain is a complex system in which their function depends on a neuronal network. Postsynaptic and action potentials in a population of neurons are responsible for electrical brain activity detected by electroencephalogram (EEG) or electrocorticogram (ECoG). The EEG recording appears to be random, however, it is possible to identify distinct rhythms, brain waves, which vary according to the emotional and consciousness state. Brain rhythms and the most common prevalent situations are: delta (0,5 - 4 Hz) in deep sleep; theta (4 - 8 Hz) during sleepiness or altered emotional states; alpha (8 - 14 Hz), relaxed yet aware; and beta (14 - 30 Hz) during physical or specific mental activity and stress state, as well as related to cognition (Niedermeyer, 2005).

Although seemingly random, ECoG shows chaotic properties. Chaotic phenomena exhibit as its main characteristic the critical sensitivity to initial conditions, ie, a small initial stimulus can lead to unpredictable responses (Gleick, 1987). The brain electrical activity, like other physiological systems, presents the capacity for self-regulation by chaotic rules.

Disorders of brain electrical activity can indicate pathological conditions such as epilepsy, in which occur abnormal firings in a neuron population induced by the imbalance between excitation and inhibition mechanisms (Durand & Bikson, 2001). Epilepsy has a

prevalence of approximately 1% of the world's population and about one-third of patients with epilepsy are refractory to conventional drug treatments (Kwan & Brodie, 2000). In these cases a treatment has been used based on diets rich in lipids, such as a ketogenic diet (Nordli, 2002) and atkins diet (Kossoff et al., 2008). In order to investigate the effects of hyperlipidic diets on ECoG in normal rats and during *status epilepticus*; the present study proposes the use of mathematical and computational methods able to perform a nonlinear analysis to detect alterations in electroencephalographic patterns induced by *status epilepticus* and hyperlipidic diet.

The mathematical methods used in the present study to characterize chaotic processes were: Fourier transform, which in chaotic systems shows broad bands in the power spectrum (Gandur, 2001); Lempel-Ziv Complexity, this method measures the complexity of a time series; and fractal dimension of ECoG phase space, which is able to analyze temporal self-similar processes, such as electroencephalographic patterns. These mathematical methods allow the detection and quantification of very small changes, unable to be directly observed in electroencephalographic recordings (Mayer-Kress & Layne, 1987; Robinson, 2003).

## **2 Methods**

### *Experimental design*

Wistar rats male (*Rattus norvegicus*, var. *Albinos*) from the biotery of the Animal Morphology and Physiology Department - Federal Rural University of Pernambuco, were kept in an environment with a controlled temperature ( $23 \pm 2$  °C), humidity (50%) and a 12 h light–dark cycle. Animals received food and water *ad libitum*.

Animals were divided into two groups: Group 1, animals fed with a standard balanced diet (Labina, 23% protein) until the ECoG recording and induction of *status epilepticus* (n =

11); Group 2, animals fed with hyperlipidic diet from 30 to 60 postnatal days and submitted to *status epilepticus* during the ECoG recording (n = 12). Both experimental groups had their brain activity recorded before (control) and during *status epilepticus*. The hyperlipidic diet was composed of 25% swine fat and 75% standard ration.

#### *Status epilepticus and ECoG*

At 60 days old, the animals were anesthetized (ketamine 10mg/kg and xylazine 75mg/kg) and an orifice was trepanned in the left hemisphere of the parietal bone. Subsequently, an electrode Ag-AgCl type was placed on the cerebral cortex and an identical electrode was put on the nasal bone (reference) to perform the ECoG.

The ECoG was recorded for 30 minutes (control) and then the *status epilepticus* was induced, brain activity was recorded for a further 30 minutes. The *status epilepticus* was induced by intraperitoneal administration of pilocarpine hydrochloride 350mg/kg (Priel et al., 1996).

#### *ECoG Analysis*

ECoG records were segmented into windows of two minutes with minimal noise. Calculation of the Lempel-Ziv Complexity (LZC) and the power spectrum of brain rhythms were performed using algorithms implemented in Matlab 7.8 (Mathworks, Natick, MA, USA). The phase space of different brain rhythms were generated in Origin 8 (OriginLab, Northampton, MA, USA) and the fractal dimension was calculated in Benoit 1.3 (Trusoft, St. Petersburg, FL, USA) by the box-counting method.

#### *Fourier transform and power spectrum of ECoG*

Fourier transform (FT) determines the contribution of each frequency component in a time series. FT is calculated from the decomposition of a complex oscillating signal in their frequency components. The function  $F(f)$  is the Fourier transform of the function  $F(t)$ , which represent the amplitudes of different rhythm frequencies that constitute the signal  $F(t)$ ; transforming time-domain data to frequency-domain data. Therefore,  $F(f)$  represents the contribution of frequency components of  $F(t)$ , as can be seen in the following equation (Weisstein, 2004):

$$F(f) = \int_{-\infty}^{\infty} F(t)e^{-i2\pi ft} dt$$

FT applied in time series originates the power spectrum. The mean power of each brain rhythm allows the estimation of the contribution of each brain rhythm in the ECoG signal.

#### *Lempel-Ziv Complexity (LZC)*

LZC is a method used to analyze data through the compression of their sequence via the recurrence of patterns (Lempel & Ziv, 1976); providing the quantification of different patterns in a series. Brain activity recorded through ECoG displays chaotic and self-similarity characteristics (Kellaway & Petersen, 1976), allowing the calculation of the complexity of a time series using the Lempel-Ziv method.

Before calculating the LZC it is necessary to transform the time series into a binary sequence. The binary sequence most appropriate in biological systems is composed of 0 and 1. This binary sequence is generated from the comparison of each point in the time series with the mean ( $m$ ) of all points. If the point value is greater than mean, it is represented by 1; if this value is smaller than mean, it is represented by 0. In this manner a sequence ( $P$ ) is obtained composed of 1's and 0's (Wu & Xu, 1991; Aboy et al., 2006):

$$P = s_{(1)}, s_{(2)}, \dots, s_{(n)}$$

Where,

$$s_{(1)} = \begin{cases} 0, & \text{if } s_{(i)} < \text{mean} \\ 1, & \text{if } s_{(i)} > \text{mean} \end{cases}$$

Lempel-Ziv algorithm is implemented as follows (Aboy et al., 2006):

1. The original sequence (P) is divided into subsequences of smaller sizes S and Q, obtained in order to verify if Q can be reconstructed from copies of S.

2. Subsequence S is reconstructed from P, which is fixed until the terms of sequence Q can no longer be simply copied from S. At this time a new term is inserted into S, each new subsequence S is limited by an inserted term:  $S = s_1, s_2, \dots, s_r$ , where  $s_r$  is the inserted term and  $Q = s_{r+1}, s_{r+2}, \dots, s_n$ .

3. After the insertion of a term, the next step is to define  $Q = s_{r+1}$  and verify if this term can be copied from vocabulary (SQ  $\pi$ ). This vocabulary is formed by concatenation of Q and S,  $\pi$  indicates that the last term should be removed. If the term  $Q = s_{r+1}$  belongs to vocabulary (SQ  $\pi$ ), the next term to be tested will be  $Q = s_{r+1}s_{r+2}$  and so on until Q can no longer be built from a copy of S. Therefore, Q no longer belongs to vocabulary (SQ $\pi$ ), at this time a new term is inserted in S and Q will return to be  $Q=s_{r+1}$ , starting from a new inserted term.

The greater the number of Q terms which can be copied from S, the greater is the series self-similarity and the smaller their complexity. Moreover, the greater the number of inserted terms the greater the complexity of the series will be.

The number of terms inserted is the complexity  $c(n)$ . LZC is defined by the following equation (Aboy et al., 2006):

$$CLZ = \frac{\frac{c(n)}{n}}{\log_2 n}$$

LZC calculation results in a value between 0 and 1. The closer the result is to 1, the greater the complexity will be and the signal behavior will be more random; the closer the result is to 0 the smaller the complexity will be, indicating a greater self-similarity in the series (Aboy et al., 2006).

### *Phase space and fractal dimension*

Phase space is obtained by a Cartesian graph in which the variable Y is the value of ECoG voltage (V) at the instant "t<sub>i+1</sub>" and X is the signal value V at time "t<sub>i</sub>" anterior.

The ECoG phase space fractal dimension was calculated by the method of box counting, obtained through the overlapping of the fractal object with N(r) boxes containing at least one point of the object. The procedure was successively repeated with boxes of different sizes. Subsequently, a graph double log N(r) as a function of r (box side) was plotted; the inclination of this graph with an inverted signal is the fractal dimension of phase space, which can be formally defined by the following equation:

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

### *Statistical Analysis*

Statistical design was performed using non-parametric tests. Wilcoxon test was used for dependent data (paired) and Mann-Whitney test was used for independent data (unpaired). Results were expressed as median and the difference between the third and first quartile (quartile range), as deviation. The significance level adopted was 0.05.

### 3 Results

Weight gain, serum triglycerides and cholesterol levels did not change significantly in animals fed with hyperlipidic diet compared to the standard diet (table 1).

#### Table 1

Figure 1 shows sections of electroencephalographic recordings. Figure 1A show a section of ECoG before *status epilepticus*, ie, in normal conditions. Figures 1B and 1C represent sections of ECoG records of animals during the *status epilepticus*. Epileptiform patterns are easily identified in figure 1B, while in figure 1C epileptiform patterns are not easily identifiable by visual analysis. However, the mathematical methods used in this study were able to detect the *status epilepticus* in both figure 1B and figure 1C. Likewise, the changes in ECoG patterns caused by hyperlipidic diet were not identifiable by visual analysis, but these changes were detected by the mathematical methods applied to their analysis.

#### Figure 1

ECoGs power spectrum in normal animals showed higher power mean values in slower brain rhythms when compared with *status epilepticus* (Figure 2). Figure 2 also shows that during *status epilepticus* there occurs a drastic reduction in power mean values of slower rhythms and an increase in power of faster rhythms.

#### Figure 2

Mean power values of different brain rhythms before and during *status epilepticus* obtained from power spectrum can be observed in table 2. Note that *status epilepticus* is characterized by a brain hyperexcitation, resulting in a drastic decrease of delta rhythms and increase of theta, alpha and beta rhythms. These results also confirmed the efficacy of power spectrum to detect changes in brain electrical activity.

Power spectrum also showed that hyperlipidic diet can alter brain electrical activity (Table 2); reducing the mean power of theta, alpha and beta rhythms. Consumption of hyperlipidic diets had an opposite effect of *status epilepticus*, slowing brain rhythms. These results indicate that high-fat diets may cause a decrease in brain electrical activity.

### **Table 2**

LZC values also increased during *status epilepticus*, indicating an increase in complexity and a reduction in the self-similarity of brain electrical activity (Table 4). In contrast, hyperlipidic diet decreased the LZC values of brain electrical activity, demonstrating again their opposite effect to *status epilepticus* (Table 3) and indicating a decrease in brain activity.

### **Table 3**

Figure 3 shows the ECoG phase space set before and during *status epilepticus*. In this figure it is possible to observe in phase space a contraction of the rhythm delta attractor (Figure 3). Phase space sets for the other brain rhythms did not alter significantly.

### **Figure 3**

The Hyperlipidic diet did not alter the fractal dimension of phase space set of brain electrical activity; however, status epilepticus decreased the fractal dimension of phase space set in the rhythm delta (Table 4). This reduction in fractal dimension during status epilepticus indicates a reduction in the fractality; this decrease is a characteristic of pathological behavior, such as status epilepticus. Fractal dimension of brain rhythms theta, alpha and beta were not altered by experimental treatments.

### **Table 4**



## 4 Discussion

### *Analysis of weight, serum cholesterol and triglycerides*

Weight gain related to hyperlipidic diets is controversial. In our study the diet did not alter the weight gain as shown before by Franco et al. (2009) and Mello et al. (2007). Serum levels of cholesterol and triglycerides also did not differ significantly between the nutritional groups. However, these results were obtained over a short time period (30 days); a longer period of time may show differences in these results. The maintenance of serum cholesterol and triglycerides levels in animals fed with a hyperlipidic diet may be related to adaptation or the elimination of excess lipids from animal organism, or both. Levels of serum cholesterol and triglycerides were measured immediately before the ECoG ; therefore, during the ECoG recording the two groups had similar levels of serum lipids, not interfering in the absorption of the administered drugs.

### *Sensitivity of the mathematical methods used in the analysis of the ECoG*

Mathematical and computational methods applied in this study were sensitive to changes in ECoG patterns, even when these changes were not seen by visual inspection. According to Lehnertz (2008), methods of nonlinear analysis can reveal information about the ECoG not observable by visual inspection alone.

Thus, mathematical and computational methods based on nonlinear dynamics can offer advantages to the diagnosis of epilepsy, such as: reduction of subjectivity and financial cost, as well as the increase of speed and accuracy of diagnosis (Agarwal & Gotman, 2002).

### *Analysis of ECoG during status epilepticus*

The power spectrum of ECoG in normal animals showed that delta rhythm have higher mean power because animals were analyzed anesthetized, ie, during induced sleep. In

healthy organisms, in the frequency range most common in the brain (0.5 to 30 Hz) the frequency increases as the brain activity increases (Guyton, 2002); therefore, the prevalence of the delta rhythm is expected in narcosis. However, during *status epilepticus* induced by pilocarpine a drastic reduction was observed in the mean power of the delta rhythm and an increase in the mean power of theta, alpha and beta; indicating an abrupt increase in brain frequency caused by abnormal cerebral hyperexcitation. Pilocarpine activates muscarinic and glutamatergic cholinergic pathways, resulting in the excessive release of glutamate and cerebral hiperexcitation (Turski et al., 1989; Cavalheiro, 1995; Cavalheiro, 1996). This hyperexcitation changes the brain rhythm patterns detected in ECoG, which can be revealed through the computational mathematical methods used in this study.

Fractal dimension decreasing, during *status epilepticus*, means that brain activity lost self-similarity, presenting a more random behavior and partially losing the organisms ability to self-regulate. The fractality decrease during *status epilepticus* occurred due to the reduction of the delta rhythm attractor, because there were no significant alterations in the attractors in other rhythms. The box - counting method which showed a decreased fractality during *status epilepticus* was sensitive to detect the abnormal brain electrical activity. These results agree with the theory of fractality loss in diseases, once physiological signals in healthy organisms follow fractal processes, this fractality tends to be lost on aging or pathological conditions (Goldberger, 1996).

The decrease of self-similarity in brain activity during *status epilepticus* was also confirmed by the increase of LZC, indicating increased brain activity. The increased LZC means a greater diversity of brain electrographic patterns, ie, reducing the time series self-similarity and becoming more random (Kaspar & Schuster, 1987). This result seems to be due to the increase of theta, alpha and beta rhythms; these are faster than delta, which decreases during *status epilepticus*. Abásolo (2007) also showed that during seizures there occurs an

LZC increase, evidencing the sensitivity of LZC method to reveal changes in ECoG during seizures.

#### *Analysis of the ECoG of animals fed hyperlipidic diet*

The hyperlipidic diet was able to decrease theta, alpha and beta rhythms, slowing brain activity. Delta rhythm did not alter significantly, indicating that both nutritional groups maintained the same level of deep sleep induced by anesthesia. These results suggest that individuals fed with high-fat diets have a slower brain activity and, consequently, a decrease of the excitatory response. This decrease can cause a decline of the cognitive function or difficulty of concentration on certain tasks which require attention or both; since the faster rhythm characteristics of these functions were attenuated (Guyton, 2002; Niedermeyer, 2005). Studies already reported that high-fat diets, especially saturated, cause cognitive decline and memory impairment (Kalmijn et al., 2004; Winocur & Greenwood, 2005; Darwish et al., 2010).

According to Kessler et al. (2011), ketogenic diet consumption caused a slowdown in brain activity, corroborating the results obtained in the present study. It is noteworthy that a ketogenic diet has as a requisite an increase in the quantity of lipids and a drastic reduction of carbohydrates. The diet used in this study was based only on the addition of animal fat, without restrictions on carbohydrate consumption; staying closer to a regular human diet and being more convenient for human consumption.

The LZC method demonstrated that a hyperlipidic diet caused a decrease in the complexity of brain activity, which agrees with the power spectrum method, showing an attenuation of brain activity. A decreasing LZC indicates lower variability ECoG patterns. This result seems to be due to a decrease in theta, alpha and beta, rhythms that are faster than the delta.

### *Final considerations*

The mathematical computational methods derived from Fourier transform, Lempel-Ziv complexity and the fractal dimension of ECoG phase space were sensitive to detect alterations in electroencephalographic patterns in animals during *status epilepticus*. Therefore, these mathematical methods may be viable for development of new diagnostic techniques of diseases that cause alterations in EEG patterns, such as epilepsy. These methods are able to detect very tenuous alterations in ECoG often imperceptible to the human eye. Even when alterations caused by epilepsy are clearly visible, these methods can quantify these changes and automate their detection, complementing the subjective clinical analysis.

Patients with epilepsy only develop seizures when neuronal excitation exceeds their critical threshold (Guyton, 2002). The present study demonstrated that a hyperlipidic diet can reduce the excitability of the nervous system, hampering the overshoot of the seizure threshold. Thus, hyperlipidic diets may have a protective effect on seizures. However, further research is needed to elucidate the mechanisms involved in the protective effect of a hyperlipidic diet in individuals with epilepsy, especially in refractory epilepsy.

## **5 Conclusions**

The mathematical and computational methods used in the present study to analyze the ECoG were sensitive enough to detect alterations caused by *status epilepticus*; revealing the increase in frequency of brain rhythms, reduction of the fractality and increase of the brain activity complexity. These methods were also effective at showing that a hyperlipidic diet caused a slowing of brain rhythms and decreased the complexity of brain activity, the opposite to the effects of *status epilepticus*.

## References

Abásolo D, James CJ, Hornero R (2007) Non-linear analysis of intracranial electroencephalogram recordings with approximate entropy and Lempel-Ziv complexity for epileptic seizure detection. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* p.1953-6.

Aboy M, Hornero R, Abásolo D, Álvarez D, (2006) Interpretation of the Lempel-Ziv Complexity Measure in the Context of Biomedical Signal Analysis. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering.* 53:2282-2288.

Agarwal R, Gotman J (2002). Digital tools in polysomnography, *J Clin Neurophysiol.* 19 (2): 136-143

Cavalheiro EA (1995) The pilocarpine model of epilepsy. *Italian Journal of Neurological Sciences.* 16 (1-2): 33-37.

Cavalheiro EA, Santos NF, Priel MR (1996) The Pilocarpine Model of epilepsy in Mice. *Epilepsia,* 37: 1015-1019.

Darwish DS, Wang D, Konat GW, Schreurs BG (2010) Dietary cholesterol impairs memory and memory increases brain cholesterol and sulfatide levels. *Behavioral neuroscience,* 124 (1):115-23.

Durand DM, Bikson M, (2001) Suppression and control of Epileptiform Activity by Electrical Stimulation: A Review. *Proceedings of the IEEE,* 89:1065-1082.

Engel Jr J (2001) A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy. *Epilepsia,* 42:796-903.

Franco LDP, Campos JADB, Demonte A (2009) Teor lipídico da dieta, lipídios séricos e peso corporal em ratos exercitados. *Revista de Nutrição*. 22(3): 359.

Feoli AM, Roehrig C, Rotta LN, Kruger AH, Souza KB, Kessler AM, et al. (2003) Serum and liver lipids in rats and chicks fed with diets containing different oils. *Nutrition*, 9 (19): 789-93.

Gandur MC (2001) Comportamento Dinâmico Complexo em Despelamento de Fitas Adesivas. Universidade Estadual de Campinas.

Gleick J (1987) *Chaos: Making a new science*, New York: Viking.

Goldberger AL (1996) Non-linear dynamics for clinicians: Chaos theory, fractals, and complexity at the bedside. *Lancet*, 34:1312-1314.

Guyton AC (2002) *Tratado de Fisiologia Médica*. 10ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.

Kwan P, Brodie MJ (2000) Early identification of refractory epilepsy. *N Engl J Med*. 342:314–319.

Kalmijn S, van Boxtel PJ, Ockem M, Verschuren WMM, Kromhout D, LAUNER LJ. (2004) Dietary intake of fatty acids and fish in relation to cognitive performance at middle age. *Neurology*. 62(2): 275-80.

Kaspar F, Schuster HG (1987) Easily calculable measure for the complexity of

spatiotemporal patterns. *Physical Review*, 36:842–848.

Kellaway P, Petersén I (1976) Quantitative analytic studies in epilepsy. *Raven Press*. New York.

Kessler SK, Gallagher PR, Shellhaas RA, Clancy RR, Bergqvist AG (2011) Early EEG improvement after ketogenic diet initiation. *Epilepsy Research*, 94:94-101.

Klaus L. (2008) Epilepsy and Nonlinear Dynamics. *Journal of Biological Physics*. 34(3-4): 253-266.

Klopfenstein DR, Tomishige M, Stuurman N, Vale RD (2002) Role of phosphatidylinositol (4,5) bisphosphate organization in membrane transport by the Unc104 kinesin motor. *Cell*. 109: 347–358.

Kossoff EH, Rowley H, Sinha SR, Vining EPG. (2008) A prospective study of the modified Atkins diet for intractable epilepsy in adults. *Epilepsia* 49:316–319.

Koudinov AR, Berezov TT, Koudinova NV (2001) The levels of soluble amyloid beta in different HDL subfractions distinguish Alzheimer's and normal aging CSF: implication for brain cholesterol pathology? *Neuroscience Letters*. 314:115-18.

Lempel A, Ziv J (1976) On the complexity of finite sequences. *IEEE Transactions on*

Lehnertz K (2008) Epilepsy and nonlinear dynamics. *J Biol Phys*. 22(1): 75-81.

Mauch DH, Nagler K, Schumacher S, Göritz C, Müller EC, Otto A, Pfrieder FW (2001) CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. *Science*. 294: 1354–1357.

Mayer-Kress G, Layne SP (1987) Dimensionality of the human electroencephalogram. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 504: 62-87.

Melo SS, Nunes NSI, Baumgarten C, Tressoldi C, Faccin G, Zanuzo K, Michels MK, Cunha N, Specht S, Silva MW (2007). Efeito da erva-mate (*ilex paraguariensis* a. St. Hil.) Sobre o perfil metabólico em ratos alimentados com dietas hiperlipídicas. *Alimentos e nutrição*. 18(4): 439-447.

Niedermeyer E (2005) The normal EEG of the waking adult, in *Electroencephalography : basic principles, clinical applications, and related fields*. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins,167-192.

Nordli D. (2002)The ketogenic diet: uses and abuses. *Neurology*. 58.(suppl7): 21-24.

Nordli JR D R, de V (1997)The ketogenic diet revisited: back to the future. *Epilepsia*, 38:7439.

Priel MR, Santos NF, Cavalheiro EA (1996) Developmental aspects of the pilocarpine model of epilepsy. *epilepsy research*, 26: 115-121

Radhakrishnan N, Gangadhar B (1998) Estimating regularity in epileptic seizure time-series data. *IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine*. 17(3): 89–94.



Reiss AB, Voloshyna I (2012) Regulation of cerebral cholesterol metabolism in Alzheimer disease. *Journal of Investigative Medicine*. 60(3): 576-82.

Robinson PA (2003) Interpretation of scaling properties of electroencephalographic fluctuations via spectral analysis and underlying physiology. *Physical Review E*, 67(3): 032902.

Turski L, Ikonomidou C, Turski WA, Bortolotto ZA, Cavalheiro EA. (1989) Review: cholinergic mechanisms and epileptogenesis. The seizures induced by pilocarpine: a novel experimental model of intractable epilepsy. *Synapse* 3(2): 154-171.

Weisstein EW (2004) Fourier Transform. MathWorld, *A Wolfram Web Resource*.

Winocur G, Greenwood CE (2005) Studies of the effects of high fat diets on cognitive function in a rat model. *Neurobiology of Aging* 26: 46-49.

Wu X, Xu J (1991) Complexity and brain function. *Acta Biophysica Sinica*. 7:103–106.

**Table 1.** Weight gain (g) and serum cholesterol and triglycerides levels (mg/dl) in rats fed with a hyperlipidic or a standard diet for 30 days.

Diet	Weight gain	Cholesterol	Triglycerides
Standard	124.00 ± 62.00	152.00 ± 7.0	130.00 ± 38.00
Hyperlipidic	126.00 ± 76.00	153.00 ± 7.0	153.00 ± 68.50

**Table 2.** Mean power values ( $\mu\text{v}^2 \cdot \text{Hz}^{-1}$ ) of different brain rhythms in animals fed with a standard or hyperlipidic diet before and during *status epilepticus*.

	Standard diet		Hyperlipidic diet	
	Control	<i>Status epilepticus</i>	Control	<i>Status epilepticus</i>
Delta	$26.55 \pm 4.62^a$	$9.60 \pm 3.82^b$	$30.95 \pm 5.30^a$	$10.33 \pm 6.08^b$
Theta	$3.48 \pm 1.46^a$	$4.32 \pm 1.22^b$	$2.47 \pm 0.54^c$	$3.82 \pm 1.36^b$
Alpha	$1.35 \pm 0.82^a$	$3.25 \pm 1.24^b$	$1.15 \pm 0.64^c$	$2.38 \pm 1.36^b$
Beta	$0.49 \pm 0.36^a$	$1.57 \pm 0.60^b$	$0.19 \pm 0.24^c$	$0.43 \pm 0.08^b$

Median  $\pm$  quartile range. Different letters in the same line represent a statistically significant difference.

**Table 3.** LZC values in animals fed with a standard or a hyperlipidic diet before and during *status epilepticus*.

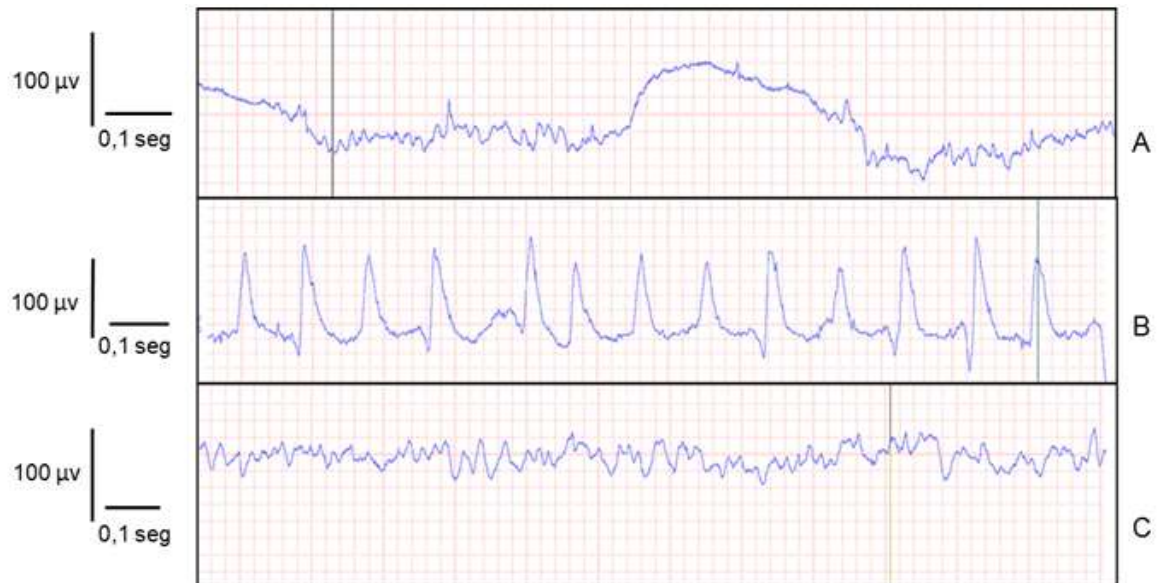
Diet \ Condition	Control	<i>Status epilepticus</i>
Standard	0.23 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.49 ± 0.10 <sup>b</sup>
Hyperlipidic	0.17 ± 0.06 <sup>c</sup>	0.43 ± 0.08 <sup>b</sup>

Median ± quartile range. Different letters represent a statistically significant difference.

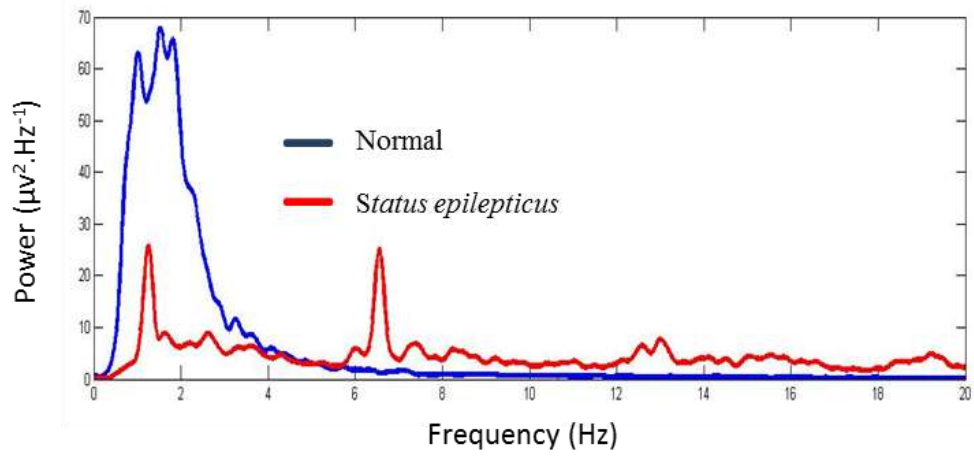
**Table 4.** Fractal dimension of phase space of different brain rhythms in animals fed with a standard or a hyperlipidic diet before and during *status epilepticus*.

	Standard diet		Hyperlipidic diet	
	Control	<i>Status epilepticus</i>	Control	<i>Status epilepticus</i>
Delta	1.67 ± 0.12 <sup>a</sup>	1.49 ± 0.10 <sup>b</sup>	1.71 ± 0.06 <sup>a</sup>	1.47 ± 0.08 <sup>b</sup>
Theta	1.61 ± 0.12 <sup>c</sup>	1.55 ± 0.10 <sup>c</sup>	1.62 ± 0.08 <sup>c</sup>	1.53 ± 0.08 <sup>c</sup>
Alpha	1.64 ± 0.06 <sup>d</sup>	1.63 ± 0.02 <sup>d</sup>	1.62 ± 0.08 <sup>d</sup>	1.61 ± 0.04 <sup>d</sup>
Beta	1.64 ± 0.04 <sup>e</sup>	1.68 ± 0.02 <sup>e</sup>	1.64 ± 0.08 <sup>e</sup>	1.66 ± 0.04 <sup>e</sup>

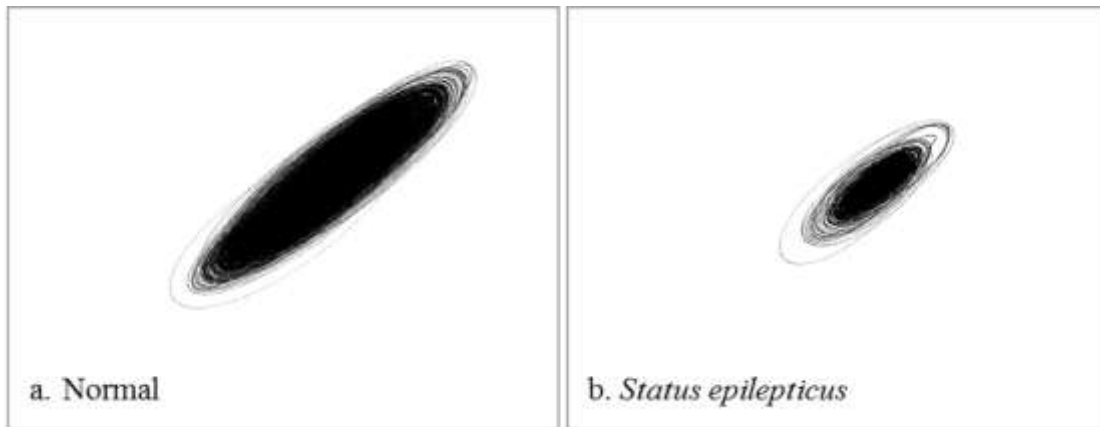
Median ± quartile range. Different letters in same line represent a statistically significant difference.



**Figure 1.** ECoG recording of the control rat before (1A) and during *status epilepticus* (1B and 1C). Note the epileptiform patterns in figure 1B. In figure 1C the epileptiform patterns are not easily perceptible by visual inspection; however, mathematical methods detected significant alterations in this recording.



**Figure 2.** Power spectrum of a rat fed with a standard diet before and during *status epilepticus*.



**Figure 3.** ECoG phase space for a delta rhythm before and during *status epilepticus*.